



Universidad Veracruzana

Instituto De Ciencias Básicas

**Compuestos fenólicos y perfil de ácidos grasos
en granos de café (*Coffea arabica* L.) verde
y tostado de variedades e híbridos cultivados
en Coatepec, Veracruz**

Tesis

**Para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias Alimentarias**

Presenta:

I. en A. Mónica Lilian Pérez Ochoa

Directores de Tesis:

**Dra. Elia Nora Aquino Bolaños, ICB-UV
Dr. José Luis Chávez Servia, CIIDIR-IPN**

**Xalapa de Enríquez, Veracruz, México
Octubre, 2016**



La presente tesis titulada

"Compuestos fenólicos y perfil de ácidos grasos en granos de café (*Coffea arabica* L.) verde y tostado de variedades e híbridos cultivados en Coatepec, Veracruz"

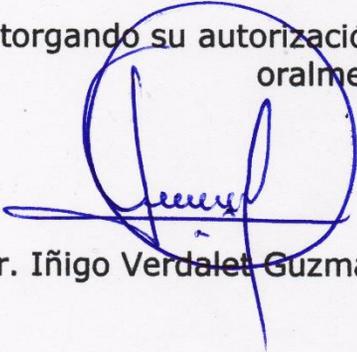
Realizada por la

I. en A. MÓNICA LILIAN PÉREZ OCHOA

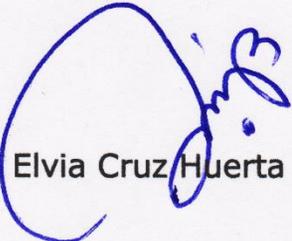
Ha sido aprobada por el comité de evaluación de tesis, y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

Maestro en Ciencias Alimentarias

Otorgando su autorización como jurado para ser presentada y defendida oralmente el 07 de octubre de 2016.



Dr. Iñigo Verdalet Guzmán



Dra. Elvia Cruz Huerta



M. en C. Araceli Minerva Vera Guzmán

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Alimentos del Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana, bajo la dirección de la Dra. Elia Nora Aquino Bolaños y el Dr. José Luis Chávez Servia (Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Oaxaca), y recibió financiamiento de la Fundación Educación Superior-Empresa A.C. a través del Programa FESE de Investigación para la Vinculación 2014: “Selección de variedades de café con alta actividad antioxidante para el mercado de cafés con valor agregado”.

DEDICATORIA

A mis padres, Juana Ochoa Reséndiz y Edgar Pérez Flores, por su amor, comprensión y apoyo incondicional y constante motivación para lograr mis objetivos. Porque sin su guía, no sería nada de lo que soy ahora.

A mis hermanos, Edgar Alejandro y Diego Adrián, porque siempre han estado a mi lado, por darme ánimo, apoyo y cariño incondicional.

A Andrés y Jesús, por acompañarme a lo largo de la realización de este trabajo, por su amistad, consejos y su apoyo y comprensión en momentos difíciles.

A Flor, Jazmín y Karina por hacer esta etapa más agradable con su entusiasmo y carisma y por compartir conmigo momentos felices, porque se convirtieron en grandes amigas a las que no olvidaré.

A Yatzil, por compartir el trayecto de esta etapa que marcó nuestras vidas, por brindarme su amistad y apoyo en todo momento.

A mis compañeros de laboratorio Francisco, Karen, Alejandra, Edgar y en especial a Ramón, Arely y Liliana por brindarme su amistad y por su entusiasmo, constancia y apoyo en la realización de este trabajo.

A mis amigas Paola, Moryna y Silvia, porque a pesar de estar lejos, siempre he contado con su amistad incondicional, sus consejos y apoyo en todo lo que me propongo.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de Maestría.

A la Dra. Elia Nora Aquino Bolaños, por su valiosa dirección, su constancia y apoyo para la culminación exitosa de este trabajo. Por sus enseñanzas y lecciones de vida y por depositar su confianza en mí desde el inicio de este proyecto.

Al Dr. José Luis Chávez Servia, por sus consejos y enseñanzas, por agregar valor a este trabajo a través de sus conocimientos y entusiasmo.

A los productores de café de la región de Coatepec, Veracruz: Álvaro Soberanes Fernández, Cuauhtémoc Apan y José Luis Andrade, por proporcionarnos el material biológico.

Al Ing. Ángel Luis Jácome, por brindarnos conocimiento, apoyo y las facilidades para el beneficiado de las muestras.

A la Dra. Elvia Cruz Huerta y Dra. Araceli Minerva Vera Guzmán por enriquecer el presente trabajo con sus atinadas observaciones.

Al Dr. Iñigo Verdalet Guzmán por ofrecerme su apoyo, consejos y enseñanzas en todo momento.

A la Dra. Sandra Teresita Martin del Campo y la Dra. Ma. Anaberta Cardador Martínez del Instituto Tecnológico de Monterrey campus Querétaro, por compartir conmigo sus conocimientos y por su apoyo en la realización de este trabajo.

INDICE GENERAL

Contenido

ÍNDICE DE CUADROS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XI
RESUMEN.....	XIII
SUMMARY	XV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO DE REFERENCIA.....	3
2.1 Origen del café	3
2.2 Distribución del café en el mundo	3
2.3 Producción mundial de café.....	4
2.4 Producción de café en México	4
2.5 El café en el estado de Veracruz	5
2.6 Consumo de café a nivel mundial	5
2.7 Consumo interno	6
2.8 Morfología del café	6
2.8.1 Flor.	7
2.8.2 Fruto	7
2.9 Descripción de las especies de café	8
2.9.1 Principales variedades de café cultivadas en México.....	9
2.10 La roya del café	10
2.10.1 Variedades con resistencia a la roya del cafeto (<i>H. vastatrix</i>)	11
2.11 Requerimientos agroecológicos del café.....	12
2.12 Procesamiento del café: Obtención de café verde	13
2.12.1 Recolección de los frutos y recepción del café.....	13
2.12.2 Beneficiado del café.....	14

2.12.3 Morteado	15
2.12.4 Tostado	16
2.12.5 Molienda y empaque	17
2.13 Composición química del café verde	17
2.13.1 Compuestos fenólicos	17
2.13.2 Agua	20
2.13.3 Carbohidratos	21
2.13.4 Proteínas	22
2.13.5 Cafeína	22
2.13.6 Trigonelina	23
2.13.7 Lípidos	23
2.13.8 Minerales	25
2.13.9 Compuestos volátiles en café verde	25
2.14 Cambios en la composición química durante el tostado	25
2.14.1 Componentes no volátiles en el café tostado	27
2.14.2 Compuestos volátiles en el café tostado	30
2.15 Composición química de la infusión del café	31
2.16 Beneficios a la salud por la ingesta de café	32
2.17 Características sensoriales del café	33
2.18 Café de especialidad	34
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	35
4. HIPÓTESIS	36
5. OBJETIVOS	37
5.1 OBJETIVO GENERAL	37
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
6. MATERIALES Y MÉTODOS	38
6.1 Diagrama general de trabajo	38
6.2 Material Biológico	39

6.3 Características biofísicas	40
6.3.1 <i>Tamaño y volumen del grano</i>	40
6.3.2 <i>Peso medio del grano</i>	40
6.3.3 <i>Peso específico</i>	41
6.3.4 <i>Color</i>	41
6.4 Parámetros fisicoquímicos y contenido de azúcares	41
6.4.1 <i>Humedad y actividad de agua (a_w)</i>	41
6.4.2 <i>Acidez titulable y pH</i>	42
6.4.3 <i>Azúcares totales</i>	42
6.4.4 <i>Azúcares reductores</i>	42
6.5 Compuestos con actividad antioxidante	43
6.5.1 <i>Polifenoles totales</i>	43
6.5.2 <i>Actividad antioxidante total por el método de DPPH</i>	44
6.5.3 <i>Actividad antioxidante total por el método de FRAP</i>	44
6.5.4 <i>Identificación y cuantificación de ácidos clorogénicos individuales y cafeína por HPLC</i>	45
Para la extracción de compuestos fenólicos, los granos fueron tr	45
6.6 Análisis de ácidos grasos por CG-MS	45
6.6.1 <i>Extracción y metilación de la fracción lipídica del grano de café</i>	45
6.6.2 <i>Identificación y cuantificación de ácidos grasos</i>	46
6.7 Análisis estadístico.....	47
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
7.1 Características biofísicas de granos de café verde y tostado	49
7.1.1 <i>Tamaño y peso específico de granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	49
7.1.2 <i>Parámetros de color de granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	51

7.2 Parámetros fisicoquímicos y azúcares en granos de café verde y tostado	53
7.2.1 <i>Humedad y actividad de agua (a_w) en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	53
7.2.2 <i>Acidez titulable y pH en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	55
7.2.3 <i>Azúcares totales y reductores en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	56
7.3 Polifenoles totales y actividad antioxidante en granos de café verde y tostado	58
7.3.1 <i>Polifenoles totales (PT) de granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	59
7.3.2 <i>Actividad antioxidante en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	61
7.4 Identificación de compuestos fenólicos individuales y cafeína por HPLC en granos de café verde y tostado.....	63
7.4.1 <i>Ácido clorogénico en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	63
7.4.2 <i>Ácido neoclorogénico (3-CQA) en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	66
7.4.3 <i>Cafeína en granos de café verde y sus cambios con el tostado</i>	67
7.5 Identificación y cuantificación de ácidos grasos por CG-MS	72
7.5.1 <i>Perfil de ácidos grasos de granos de café verde</i>	73
7.5.2 <i>Efecto del tostado en el perfil de ácidos grasos de granos de café</i>	76
7.5.3 <i>Efecto de la variedad en el perfil de ácidos grasos de granos de café</i>	78
8. CONCLUSIONES	84
9. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS.....	86
10. BIBLIOGRAFÍA	88
11. APENDICE.....	109

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Superficie sembrada, producción y rendimiento de café cereza en los estados de mayor producción en México	5
Cuadro 2. Clasificación de los tipos de café comercial según la altitud en que están establecidos los cafetos	12
Cuadro 3. Requerimientos agroecológicos para el cultivo del café	13
Cuadro 4. Composición química de las semillas de café verde por especie <i>Coffea arabica</i> y <i>Coffea canephora</i> (g 100 g ⁻¹)	18
Cuadro 5. Composición química de las semillas de café tostado por especie, <i>Coffea arabica</i> y <i>Coffea canephora</i> (g 100 g ⁻¹)	28
Cuadro 6. Composición química típica de una taza de 100 mL de café tostado.....	31
Cuadro 7. Origen de las variedades evaluadas y descripción general de la finca de producción.....	39
Cuadro 8. Significancia de los cuadrados medios del análisis de varianza de las características biofísicas, parámetros fisicoquímicos y compuestos con actividad antioxidante en granos de café verde y tostado	48
Cuadro 9. Tamaño y peso específico de grano de café verde y tostado	49
Cuadro 10. Comparación de medias del efecto del proceso de tostado en las características biofísicas de los granos de café	50
Cuadro 11. Parámetros de color de grano de café verde y tostado.....	52
Cuadro 12. Comparación de medias del efecto del proceso de tostado en los parámetros de color de los granos de café.....	53
Cuadro 13. Contenido de agua y acidez de granos de café verde y tostado... ..	54
Cuadro 14. Comparación de medias del efecto del tostado en los parámetros fisicoquímicos y azúcares de granos de café	55

Cuadro 15. Concentración de azúcares totales y reductores (mg glucosa g ⁻¹) en granos de café verde y tostado	57
Cuadro 16. Comparación de medias del efecto del tostado en compuestos fenólicos y actividad antioxidante de granos café verde.....	60
Cuadro 17. Correlación entre parámetros de acidez, color, compuestos fenólicos, cafeína y actividad antioxidante en granos de café verde	71
Cuadro 18. Correlación entre parámetros de acidez, color, compuestos fenólicos, cafeína y AA en granos de café tostado.	72
Cuadro 19. Significancia de los cuadrados medios del análisis de varianza de los ácidos grasos presentes en granos de café verde y tostado.....	73
Cuadro 20. Perfil de ácidos grasos promedio en granos de café verde y tostado	75
Cuadro 21. Perfil de ácidos grasos de granos de café verde por variedad	75
Cuadro 22. Perfil de ácidos grasos de granos de café tostado por variedad ...	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución del cultivo de café en el mundo y principales países productores en 2015.....	3
Figura 2. Producción mundial de café verde en 2015	4
Figura 3. Distribución de la producción de café 2011/12 por estado	6
Figura 4. Flor del cafeto	7
Figura 5. Características morfológicas del fruto del cafeto	8
Figura 6. Especies de importancia comercial: <i>Coffea arabica</i> (a) y <i>Coffea canephora</i> (b).	8
Figura 7. Efectos causados por la presencia de <i>H. vastatrix</i> . Defoliación de un árbol de café infectado (a), hojas del cafeto infectadas comparadas con hojas sanas (b)	10
Figura 8. Estructura química de los componentes de los ácidos clorogénicos. Ácido quínico (a) y ácidos hidroxicinámicos (b).....	19
Figura 9. Estructura química de los ácidos cafeoilquínicos más abundantes en los granos de café verde, ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) (a) y sus isómeros posicionales, ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA) (b) y ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA) (c).	20
Figura 10. Estructura de alcaloides de importancia biológica presentes en el grano de café, cafeína (a) y trigonelina (b).....	23
Figura 11. Formación de lactonas de ácidos clorogénicos.....	29
Figura 12. Diagrama general de trabajo.....	38
Figura 13. Concentración de polifenoles totales en granos de café verde y tostado por variedad	60
Figura 14. Actividad antioxidante por el método de DPPH en granos de café verde y tostado por variedad.....	62
Figura 15. Actividad antioxidante por el método de FRAP en granos de café verde y tostado por variedad.....	62

Figura 16. Concentración de ácido clorogénico en granos de café verde y tostado por variedad	64
Figura 17. Concentración de ácido neoclorogénico (3-CQA) en granos de café verde y tostado por variedad	66
Figura 18. Concentración de cafeína en granos de café verde y tostado por variedad	68
Figura 19. Dispersión de variedades en los dos primeros componentes canónicos, con base en la composición de ácidos grasos de café verde	79
Figura 20. Dispersión de variedades en los dos primeros componentes canónicos, con base en la composición de ácidos grasos en café tostado	80
Figura 21. Primeros ejes del análisis canónico discriminante, usados como índices de diferenciación varietal. Todo con base en la composición de ácidos grasos en café verde y tostado	82

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar las características biofísicas, parámetros fisicoquímicos, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, cafeína y perfil de ácidos grasos en granos de café (*Coffea arabica* L.) verde y tostado de variedades e híbridos cultivados en la región de Coatepec, Veracruz para determinar su potencial como fuente de antioxidantes naturales y diferenciar las variedades. En la cosecha 2014-2015 se colectaron bayas de café cereza de cuatro variedades de *C. arabica* (Typica, Bourbon, Mundo Novo y Caturra Roja); dos variedades híbridas: Catimor (Timor × Caturra) CR95 y Sarchimor (Timor × Villa Sarchi); y una de Robusta (*C. canephora*), utilizada como control. La variedad Catimor CR95 se cosechó en tres fincas diferentes denominadas F1, F2 y F3.

En general, las variedades de café presentaron diferencia en todos los parámetros evaluados ($p < 0.01$). Los granos de café verde registraron alta concentración de polifenoles totales (PT) (40.8-85.8 mg EAG g⁻¹), el ácido clorogénico resultó ser el mayoritario (5-CQA) con concentraciones de 44.05-59.73 mg ACG g⁻¹ bs; de igual forma también presentaron alta actividad antioxidante por los métodos de DPPH (231-374 μmol Eq. Trolox g⁻¹) y FRAP (468-837 μmol Eq. Trolox g⁻¹). Catimor CR95 F3 presentó la mayor actividad antioxidante y PT, y Typica mostró la mayor concentración de ácido clorogénico, por lo que podrían utilizarse como fuente de antioxidantes naturales.

Con el tostado se presentaron cambios físicos como el aumento del tamaño y volumen del grano y la disminución del peso y peso específico; así como en los parámetros de color. La concentración de azúcares totales disminuyó hasta en un 68% y se observó un aumento en los azúcares reductores. El contenido de

ácido clorogénico, PT, así como la actividad antioxidante por los métodos de DPPH y FRAP disminuyeron, en promedio el 80, 15, 9 y 18%, respectivamente.

En café tostado, las variedades analizadas mostraron un alto contenido de PT (41.1-56.2 mg EAG g⁻¹) y actividad antioxidante por DPPH (260.4-339.5 μmol Eq. Trolox g⁻¹) y FRAP (384-550.7 μmol Eq. Trolox g⁻¹). La variedad Robusta, CR95 F2, F3 y Bourbon presentaron la mayor concentración de PT y actividad antioxidante mientras que Sarchimor y Mundo Novo presentaron los niveles menores. La cafeína incrementó con el tostado y las variedades con mayor contenido fueron Robusta, CR95 F3 y Mundo Novo con valores de 23.2, 14.8 y 15.4 mg cafeína g⁻¹, respectivamente.

Con el uso de CG-MS se identificaron 17 ácidos grasos en los granos de café verde y tostado. Los ácidos grasos mayoritarios en café verde fueron palmítico (C16:0), linoleico (C18:2 n-6), oleico (C18:1 n-9c), esteárico (C18:0), araquídico (C20:0) y linolénico (C18:3 n-3) con porcentajes de área promedio de 41.5%, 27.7%, 11.0%, 9.9%, 4.3%, 2.2%, respectivamente y solo los ácidos C14:0, C22:0 y C24:0 mostraron cambios (P<0.05) con el proceso de tostado. Los perfiles de ácidos grasos de café verde y tostado y el uso de la técnica de Análisis Discriminante Canónico permitieron la diferenciación de las variedades de café de *C. arabica*, *C. canephora* y las variedades híbridas analizadas.

Palabras clave: actividad antioxidante, ácido clorogénico, cafeína, análisis discriminante canónico, características biofísicas.

SUMMARY

The aim of this research was to evaluate the biophysical characteristics, physicochemical parameters, phenolic compounds, antioxidant activity, caffeine and fatty acids profile in green and roasted coffee beans (*Coffea arabica* L.) of varieties and hybrids grown in Coatepec, Veracruz region to determine its potential as a natural antioxidant source and discriminate its varieties. In the 2014-2015 harvest four varieties of cherry coffee of *C. arabica* (Typica, Bourbon, Mundo Novo and Red Caturra) were collected; two hybrid varieties Catimor CR95 (Timor × Caturra) y Sarchimor (Timor × Villa Sarchi); and one of Robusta (*C. canephora*), were used as control. The Catimor CR95 variety was grown in three different locations named F1, F2 y F3.

Overall, the coffee varieties showed differences in every evaluated parameter ($p < 0.01$). High total phenolics (TP) were registered in green coffee beans (40.8-85.8 mg GA g⁻¹), chlorogenic acid (5-CQA) turned out to be the highest in concentration with 44.05-59.73 mg g⁻¹ dm; they showed high antioxidant activity as well using DPPH (231-374 μmol Trolox g⁻¹) and FRAP (468-837 μmol Trolox g⁻¹) methods. Catimor CR95 F3 showed the highest antioxidant activity and TP and Typica showed the highest concentration of chlorogenic acid, therefore they could be used as a source of natural antioxidants.

Roasting process induced physical changes, such as an increase in size and volume and decrease of weight and specific weight; as well as the color parameters. The concentration of total sugar decreased up to a 68% and an increase in reducing sugars was observed. The content of chlorogenic acid, TP, as well as antioxidant activity by DPPH and FRAP methods, decreased in 80%, 15%, 9% and 18% average respectively.

In roasted coffee, the analyzed varieties showed a high content of TP (41.1-56.2 mg GA g⁻¹) and the antioxidant activity by DPPH (260.4-339.5 μmol Trolox g⁻¹) and FRAP (384-550.7 μmol Trolox g⁻¹). Robusta, CR95 F2, F3 and Bourbon showed the highest concentration of TP and antioxidant activity while the Sarchimor and Mundo Novo presented the lowest levels. Caffeine increased after roast and the varieties with the highest content were Robusta, CR95 F3 and Mundo Novo (23.2, 14.8, 15.4 mg caffeine g⁻¹, respectively).

17 Fatty acids were identified in green and roasted coffee beans by GC-MS. The main fatty acids in green coffee were palmitic (C16:0), linoleic (C18:2 n-6), oleic (C18:1 n-9c), stearic (C18:0), arachidic (C20:0) and linolenic (C18:3 n-3) with area percentages of 41.5%, 27.7%, 11.0%, 9.9%, 4.3%, 2.2% respectively and just the C14:0, C22:0 and C24:0 acids showed changes (P<0.05) with the roasting process. The fatty acids profiles of green and roasted coffee and the use of Discriminate Canonical Analysis allowed the differentiation of coffee varieties *C. arabica*, *C. canephora* and hybrid varieties.

Key words: antioxidant activity, phenolic compounds, chlorogenic acid, caffeine, discriminate canonical analysis, biophysical characteristics.

1. INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más populares en el mundo y posiblemente la más consumida. El café se prepara a partir de las semillas tostadas (granos) derivadas de un arbusto del género *Coffea*. De alrededor de 500 especies de café, solamente *Coffea arabica* y *Coffea canephora* son económicamente importantes. Estas dos especies difieren en apariencia, origen, calidad y, lo más importante, en su composición química (Jeszka-Skowron *et al.*, 2015).

El consumo de café va en aumento, esto se ve reflejado en el incremento de la producción mundial que pasó de 134 millones de sacos (60 kg) en el año de cosecha 2010/2011 a 143 millones en 2015/2016 (ICO, 2016). La razón del aumento continuo en el consumo de café incluye las mejoras en la calidad de la bebida a través de la selección y cultivo de variedades, la creación de tiendas especializadas y un cambio en la imagen del café a través de la difusión de información sobre los beneficios a la salud que otorga su consumo a largo plazo (Yeretzian *et al.*, 2003).

En México se cultiva principalmente *C. arabica* por las características organolépticas de la bebida, y en muy pequeña escala, *C. canephora* por sus propiedades físicas para la elaboración de café soluble y su adaptación a zonas de altitud baja. Las variedades de café arábica cultivadas en mayor proporción en nuestro país son Typica, Bourbon, Caturra, Mundo Novo, Garnica, Catuai entre otras (Santoyo *et al.*, 1994). Veracruz es uno de los principales productores de café en México. El municipio de Coatepec se encuentra dentro de los municipios de mayor producción en el estado, junto con Tezonapa, Atzalan, Zongolica, Huatusco e Ixhuatlán del Café (SAGARPA, 2016).

Actualmente, el café es considerado un alimento funcional, debido a su alto contenido de compuestos que ejercen propiedades antioxidantes y beneficios a la salud (Esquivel y Jiménez, 2012). Diversos estudios han demostrado que algunos constituyentes del café, como la cafeína, los ácidos fenólicos (derivados del ácido clorogénico), y los compuestos formados por la Reacción de Maillard durante el tostado (melanoidinas) poseen propiedades antioxidantes (Yanagimoto *et al.*, 2004; Fujioka y Shibamoto, 2008; Vota-vova *et al.*, 2009).

Por otro lado, estudios recientes reportan que los ácidos grasos saturados e insaturados presentes en el café tanto verde como tostado, pueden ser utilizados como descriptores químicos para la diferenciación de variedades de las especies arábica y robusta (Martin *et al.*, 2001).

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad antioxidante, identificar y cuantificar los compuestos fenólicos presentes en café verde y tostado; y analizar el perfil de ácidos grasos presentes en el café con el fin de generar información sobre la composición química de algunas variedades cultivadas en la región de Coatepec, Veracruz.

2. MARCO DE REFERENCIA

2.1 Origen del café

El consumo de café se originó en Etiopía alrededor del siglo IX y posteriormente, en el siglo XV se difundió de los monasterios sufíes yemeníes al resto del Medio Oriente y el norte de África. El intenso comercio de las naves venecianas con el Medio Oriente abrió las puertas de Europa para el café, posteriormente fue introducido a Estados Unidos (Wolf *et al.*, 2008). Para el siglo XVIII la bebida ya era muy popular en Europa siendo los originarios de ese continente quienes comenzaron a introducir el cultivo en muchas de sus colonias tropicales a fin de atender la creciente demanda (AMECAFE, 2012).

2.2 Distribución del café en el mundo

Posterior a su descubrimiento, el cultivo del café se extendió por las regiones ubicadas entre el trópico de Cáncer y el de Capricornio (Figura 1), mientras que sus consumidores estaban principalmente en países del hemisferio norte (Contreras y Hernández-Martínez, 2008).

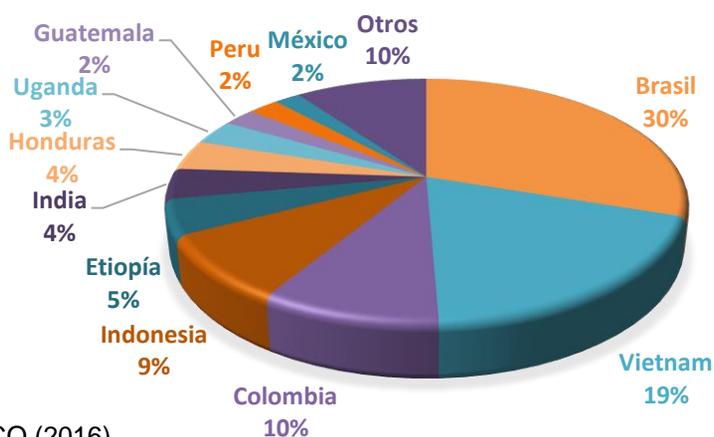


Figura 1. Distribución del cultivo de café en el mundo y principales países productores en 2015.

2.3 Producción mundial de café

El café es uno de los productos primarios más valiosos en el comercio mundial, de acuerdo a la Organización Internacional del Café, la producción mundial de éste producto fue de alrededor de 143 millones de sacos de 60 kg en el año 2015. La mayor producción se ubica en América (62%), Asia (24%), África (13%) y Oceanía (1%). A nivel mundial, México ocupa el onceavo lugar (2%) después de Brasil, Vietnam, Colombia, Indonesia, entre otros (ICO, 2016; Figura 1 y 2).

PRODUCCIÓN MUNDIAL DE CAFÉ VERDE 2015



Fuente: ICO (2016)

Figura 2. Producción mundial de café verde en 2015

2.4 Producción de café en México

El café se introdujo a México en el año de 1796, y actualmente se ha extendido por cuatro regiones del país: Vertiente del Golfo de México (San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Veracruz y la parte norte de Oaxaca y Tabasco), Vertiente del Océano Pacífico (Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit y parte de Oaxaca), Región Soconusco (gran parte del estado de Chiapas) y la Región Centro-Norte de Chiapas (ASERCA, 2002).

Para México, el café representa una actividad estratégica; emplea a más de 500 mil productores, 727 mil hectáreas de 12 entidades federativas y 391 municipios (SAGARPA, 2016). Desde el punto de vista biológico, las áreas cafetaleras coinciden con las regiones más ricas y diversas en flora y fauna. La cosecha de café en México se realiza principalmente de octubre a marzo (ASERCA, 2002). La actividad cafetalera nacional se concentra en los estados de Chiapas, Veracruz, Oaxaca y Puebla. La producción nacional de café cereza en el periodo enero-abril del 2015 fue de 1,026,252 toneladas. En el Cuadro 1 se muestra la superficie sembrada, la producción por toneladas y el rendimiento de café cereza hasta abril del 2015 (SAGARPA, 2016).

Cuadro 1. Superficie sembrada, producción y rendimiento de café cereza en los estados de mayor producción en México.

Estado	Superficie sembrada (ha)	Producción (ton)	Rendimiento (ton/ha)
Chiapas	261, 571	383,059	1.56
Veracruz	145,373	276,054	2.03
Oaxaca	139,819	171,320	0.7
Puebla	73,645	82,512	2.87
Guerrero	47,192	45,230	1.08
Hidalgo	24,653	31,732	1.32

Fuente: SAGARPA (2016).

2.5 El café en el estado de Veracruz

El estado de Veracruz ocupa el segundo lugar en producción de café en el país, en tanto que las regiones de Córdoba y Coatepec son reconocidas por su calidad en el mercado internacional (Mestries, 2006; ASERCA, 2002). En cuanto a la distribución de la producción de café, Veracruz se encuentra en la zona de alta producción con un 89% (SAGARPA, 2014; Figura 3).

2.6 Consumo de café a nivel mundial

Los principales países importadores de café a nivel mundial son la Unión Europea, Estados Unidos y Japón. Dentro de los países exportadores de café, Brasil, Indonesia y

Etiopía son los principales consumidores, México ocupa el quinto lugar, con un consumo anual de 2.4 millones de sacos de 60 kg en el año 2015 (ICO, 2016).

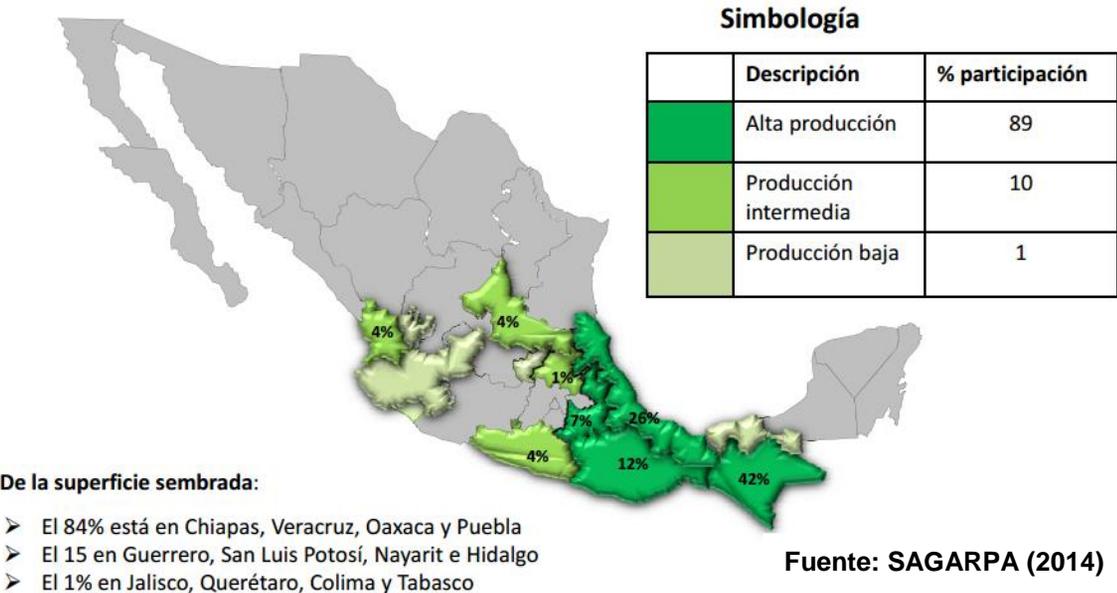


Figura 3. Distribución de la producción de café 2011/12 por estado.

2.7 Consumo interno

El consumo de café en México va en aumento, en 2015 el consumo fue de 2.4 millones de sacos al año con un consumo per cápita de 1.13 kg, por otro lado, el consumo de café a nivel mundial ha mostrado un incremento del 2% desde el 2011 con un consumo per cápita de hasta 12.2 kg en Finlandia, lo que equivale a 2.64 tazas por día (ICO, 2016).

2.8 Morfología del café

El árbol del café pertenece a la familia *Rubiaceae*. Según la especie, alcanza alturas de 3-12 m. Para facilitar la recolección, se suele dirigir su desarrollo de manera que adopte la forma de arbusto de 2-2.5 m, tiene hojas correosas perennes y peciolo corto.

2.8.1 Flor. La floración inicia a los 3-4 años, las flores son blancas, de olor parecido al jazmín y a partir de ellas se forman los frutos (Belitz *et al.*, 2009; Figura 4).

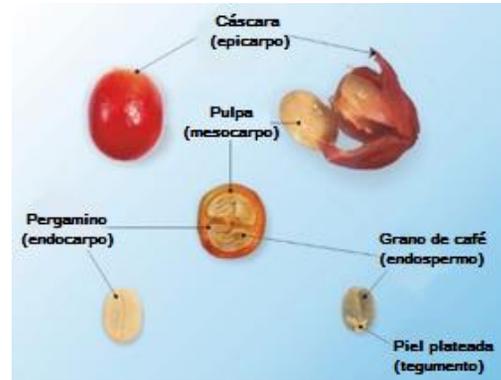
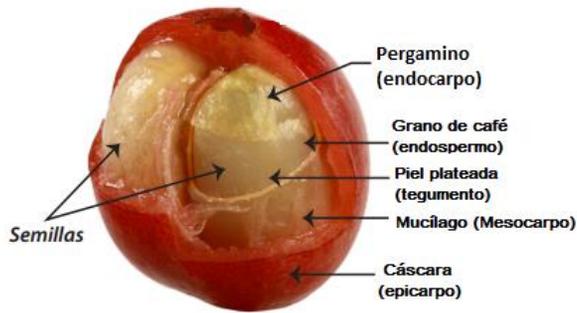


Figura 4. Flor del cafeto

2.8.2 Fruto. El fruto del cafeto es conocido como “cereza”, y las semillas se desarrollan en su interior, constituyendo el producto básico para la producción de café tostado en grano y todos sus derivados para la preparación en taza (Arcila, 1987).

El fruto es una drupa (fruto monospermo de mesocarpio carnoso, fibroso que rodea un endocarpio leñoso) de 1.5 cm de diámetro aproximadamente. Éste contiene en su pulpa dulce (mesocarpio), dos semillas que contactan con su cara lisa; exhiben un surco, están envueltas por una membrana amarillenta, transparente y sólidamente adherida (tegumento) y luego recubiertas por una capa córnea o apergaminada que es el endocarpio bien desarrollado (pergamino) (Arcila *et al.*, 2007; Figura 5).

El color de la cáscara varía de verde a rojo, por la aparición de sustancias como la clorofila y las antocianinas, respectivamente, las tonalidades presentes sobre la epidermis del fruto indican directamente el grado de maduración (Marín *et al.*, 2003). El arbusto proporciona buenas cosechas pasado el sexto año y alcanza su máxima al cabo de 10-15 años. La maduración de los frutos tiene lugar 8-12 meses después de la floración (Belitz *et al.*, 2009).



Fuente: Marín *et al.* (2003); Arcila *et al.* (2007)

Figura 5. Características morfológicas del fruto del café.

2.9 Descripción de las especies de café

Las especies de café que se cultivan en México son: *Coffea arabica* y *C. canephora* (Figura 6). En los estados mexicanos el 97% de la producción cafetalera se obtiene de las especies arábicas y sólo el 3% corresponde a la especie *C. canephora* (ASERCA, 2002).



(a)



(b)



Fuente: ASERCA (2002)

Figura 6. Especies de importancia comercial: *Coffea arabica* (a) y *Coffea canephora* (b).

La especie *C. arabica* es de mayor importancia por su calidad, valor en el mercado nacional e internacional y por su extensión territorial, se caracteriza por un mayor contenido de azúcares (6-9%), su sistema de raíces es profundo, crece en altitudes

entre 1500-2000 msnm y la forma de su semilla es plana, mientras que *C. canephora* se caracteriza por tener un mayor contenido de cafeína (1.5-2.5%), su altitud óptima de crecimiento es 0-700 msnm y la forma de su semilla es ovalada (Clifford y Willson, 1985).

2.9.1 Principales variedades de café cultivadas en México

Las variedades comerciales de *C. arabica* son Typica y Bourbon, y las variedades que se derivan de ellas por cruzamientos espontáneos o dirigidos, y mutaciones naturales son: Caturra, Mundo Novo, Catuaí, Villa Sarchi entre otras; lo que explica la estrecha base genética de todas ellas, una característica de la especie *C. arabica* es que no tienen en su genética la resistencia a enfermedades y plagas, incluida la roya del cafeto (Santoyo *et al.*, 1994; Pérez, 1997).

Typica. Producción y alternancia bajas. Frutos de madurez temprana de color rojo, persistentes en la rama. Su grano es grande. Produce 2.8 kg de café cereza por planta.

Bourbon. Planta de porte alto, de 2.40 a 3.0 m de altura. Maduración media, sus frutos maduros son rojos, también existe la variedad Bourbon amarilla, su semilla es pequeña. Con una producción de 5 a 5.1 kg de café cereza por cafeto.

Mundo Novo. Es una cruce o híbrido natural entre Bourbon y Sumatra. Sus frutos son de color rojo y el tamaño del grano es mayor al de Bourbon. Produce de 5.4 hasta 6.6 kg de café cereza por planta.

Caturra. Es una mutación de Bourbon, más precoz y productiva que cualquier tipo de Bourbon y Typica. De porte bajo, estructura compacta, puede desarrollar alturas de 1.80 a 2.10 metros. Similar a Bourbon tanto en frutos como en semillas. El sistema radical es abundante en densidad y extenso en alcance. Rendimientos hasta de 7.5 kg de café cereza por planta.

2.10 La roya del café

La Roya (*Hemileia vastatrix*) es un hongo fitopatógeno del café que ataca a especies del género *Coffea*, especialmente a las plantas de la especie arábica (APS, 2011). La presencia de *H. vastatrix* en México, representa un riesgo potencial para la actividad cafetícola nacional (SAGARPA, 2013).

La Roya causa defoliaciones en los cafetos (Figura 7a), que se traducen en disminuciones importantes en la producción, dependiendo del grado de severidad del ataque (Macías, 2001). El grado de avance y progreso de la enfermedad depende de las condiciones del clima, especialmente de la cantidad y distribución de las lluvias, de la predisposición del hospedante susceptible y de la presencia del patógeno (Rivillas *et al.*, 1999). Si la infección ocurre en etapas tempranas se puede presentar una reducción en el rendimiento, ocasionar muerte regresiva en ramas e incluso la muerte de los árboles (APS, 2011).



(a)



(b)

Fuente: APS (2011)

Figura 7. Efectos causados por la presencia de *H. vastatrix*. Defoliación de un árbol de café infectado (a), hojas del café infectadas comparadas con hojas sanas (b).

Los síntomas empiezan con pequeños puntos de manchas redondas, de 1 a 3 mm de diámetro, de color amarillo claro en el envés de la hoja, luego estas manchas o

pústulas crecen rápidamente hasta alcanzar unos 2 cm de diámetro (Orozco, 2008), cubriéndose de un polvo anaranjado formado por las esporas del hongo (Figura 7b). La germinación de esporas requiere de la presencia de agua libre por al menos 6 horas y también es favorecida con temperaturas entre 21-25 °C y condiciones de oscuridad (Rayner, 1961).

Las prácticas de cultivo que más contribuyen a crear condiciones desfavorables al hongo, son una sombra bien regulada, la poda sistemática del cafetal, la fertilización adecuada, control eficiente de la maleza y la reducción de humedad en el microambiente del cafetal (Castillo *et al.*, 1997). Sin embargo, la topografía accidentada y las altas precipitaciones les resta eficacia a estas prácticas, por lo que la resistencia genética del cafeto a la roya del café se considera como la principal forma de control de la enfermedad (Moreno, 2004).

2.10.1 Variedades con resistencia a la roya del cafeto (*H. vastatrix*)

Existen variedades comerciales de *C. arabica* que presentan resistencia genética a la roya del café; la resistencia ha sido transferida a través del Híbrido de Timor (Cruce interespecífico natural y espontáneo de *C. arabica* y *C. canephora*). El Híbrido de Timor puede cruzarse fácilmente con variedades de *C. arabica* (Moreno, 2004). A continuación, se mencionan algunas variedades resistentes a la roya que se cultivan en México.

Catimor. Café de la especie botánica *C. arabica* L., derivado del cruce entre Caturra e Híbrido de Timor. Es una planta de porte intermedio, con una altura de 1.90 a 2.30 metros.

Costa Rica-95. Planta de porte bajo, es el resultado de la hibridación artificial Caturra Roja y el Híbrido de Timor. Presenta rendimientos altos, superando en algunas ocasiones a las variedades comerciales regionales. Tiene buenas características de grano, se adapta bien en altitudes mayores a 800 m. La precocidad es alta, con

marcada bianualidad en la producción. El fruto es rojo y la maduración es de temprana a intermedia (Aguilar, 1995).

Sarchimor. Es el resultado del cruzamiento controlado entre Villa Sarchi y el Híbrido de Timor. Planta de porte bajo, brote verde o bronce o ambos según la línea, vigor y producción alta, bien adaptado en zonas de baja y media altura (Anacafé, 2013).

2.11 Requerimientos agroecológicos del café

Al ubicar las zonas que cumplen con las demandas de clima, suelo y topografía de un cultivo, se asegura que las plantas manifiesten su máximo rendimiento y calidad potencial posible (Soto *et al.*, 2001). Si no se satisfacen los requerimientos ambientales del cultivo como la altitud, temperatura y precipitación pluvial entre otras, puede afectarse la calidad intrínseca del grano (acidez, cuerpo, aroma y sabor), que se encuentra determinada principalmente por la altitud en que se produce (Santoyo *et al.*, 1994). La altitud es uno de los criterios para clasificar la calidad del café; un intervalo de altitudes para cultivar *C. arabica* en México, es de 600 a 1500 m (Contreras, 2000). El café mexicano, en cuanto a calidad, se comercializa en función a la altitud, clasificándose el grano de exportación como se muestra en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación de los tipos de café comercial según la altitud en que están establecidos los cafetos.

Tipo de café	Franja altitudinal (m)
Lavado	400 - 600
Prima Lavado	600 - 900
Altura	900 - 1200
Estricta Altura	1200 - 1600

Fuente: NMX-F-177-SCFI-2009

La temperatura promedio anual favorable para el cultivo del café oscila entre los 17 y los 23 °C; a su vez las temperaturas medias mensuales de 19 a 22 °C, con mínimas de 16 °C y máximas de 25 °C son las más adecuadas (Castillo *et al.*, 1997). La precipitación óptima para el desarrollo del café, se ubica en rangos que van desde 1600 a 2800 mm de agua y éstas deben estar bien distribuidas en todo el año; por otro lado,

Arnold (2001) indicó que precipitaciones superiores a 3000 mm e inferiores a 1000 mm anuales, presentan problemas en la calidad del grano. Los suelos deben tener más de un metro de profundidad, de textura franca a migajón arcilloso, pH de 4.5 a 5.5, contenidos de materia orgánica por arriba de 7% (Contreras y Hernández-Martínez, 2008). Un resumen de los requerimientos agroecológicos para el cultivo del café se muestra en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Requerimientos agroecológicos para el cultivo del café.

Factor	<i>C. arabica</i>	<i>C. canephora</i> Var. <i>Robusta</i>
Altitud (m)	600 - 1600 m	0 - 600 m
Temperatura (°C)	17 - 23	22 - 28
Precipitación (mm)	1000 - 3000	2000 - 3500

Fuente: Arnold (2001); Arcila (2007).

El municipio de Coatepec se localiza a 19° 27' 20" LN y 96° 56' 40" LO, cuenta con altitudes en un rango de 500 hasta 2900 msnm, temperaturas promedio entre 12 y 27 °C, clima templado-húmedo y precipitaciones promedio de 1100 a 2100 mm de agua (CONAGUA, 2015). Coatepec es una región de alta producción de café en México ya que presenta los requerimientos ambientales para el desarrollo óptimo del cafeto por lo que tiene el potencial para producir café de alta calidad (Mestries, 2006; ASERCA, 2002).

2.12 Procesamiento del café

2.12.1 Recolección de los frutos y recepción del café

Los frutos maduros deben presentar una coloración rojo brillante. El café debe procesarse el mismo día de la recepción, y debe lavarse previamente al proceso de despulpado. Antes del despulpado, los frutos de café se clasifican por densidad, por medio de un separador hidráulico de tolva y tornillo sinfín (Oliveros *et al.*, 2007), con esta máquina, se retiran del proceso frutos vanos, secos o atacados por broca, los cuales flotan en la tolva de precipitación, además de piedras y objetos pesados.

2.12.2 Beneficiado del café

El beneficiado del café se define como el proceso que permite separar las coberturas que envuelven las semillas del fruto y que disminuye la humedad del grano hasta un 12%, a fin de preservarlo almacenado (Obando *et al.*, 1996). Existen métodos diferentes de beneficiado de café, beneficio seco o natural, tecnificado o ecológico y húmedo, este último se describe a continuación.

2.12.2.1 Beneficio húmedo Permite obtener café de mejor calidad, con menor cuerpo, mayor acidez y aroma que el beneficio seco (Mazzafera y Padilha-Purcino, 2004). El café obtenido a través de este método es identificado en el mercado mundial como suave, se utiliza en México, Centro América y otros países (Santos, 2005) y consta de las siguientes fases:

Despulpado

Consiste en separar el epicarpio y mesocarpio (cáscara y pulpa) del fruto de las semillas mediante una despulpadora (Pantoja, 1990); ésta práctica debe realizarse el mismo día en que los frutos fueron recolectados, para evitar daños en los frutos en sí, y a sus semillas por sobre fermentación. La pulpa se elimina por compresión mediante un sistema de discos y rodillos graduables de superficie áspera (Belitz *et al.*, 2009). Es importante tomar precauciones de ajustes en la calibración de la despulpadora para prevenir daños mecánicos al café pergamino (Ordoñez, 2001).

Fermentación y lavado

Después del despulpado las semillas contienen todavía una cantidad considerable de pulpa, se dejan fermentar 12-48 horas en tinajas de fermentación por las que discurre una corriente de agua, con cuyo procedimiento se afloja y descompone la pulpa residual (mucílago) bajo la acción de las enzimas pectinolíticas propias del café, pudiendo eliminarse fácilmente por lavado (Belitz *et al.*, 2009).

El mucílago fresco presenta entre 85% a 91% de agua y entre 6,2-7,4% de azúcares, constituidos por 63% de azúcares reductores. El contenido de azúcares y las levaduras y bacterias del mucílago de café explican su propiedad perecedera, y la ocurrencia de su fermentación natural. Durante la fermentación a temperatura ambiente, los azúcares totales y reductores del mucílago de café disminuyen, aumenta la acidez, se forma etanol y se degradan los lípidos (Puerta y Ríos, 2011). Una fermentación pobre puede dejar residuos del mucílago luego del lavado, lo que afecta su apariencia y aumenta las posibilidades de ataques de hongos durante el almacenamiento de la semilla (Pantoja, 1990).

Secado y almacenamiento de la semilla

El contenido de humedad que tiene el grano después del lavado está entre 50 y 55%, la cual debe disminuir hasta un 10-12% mediante el secado, lo que permite almacenar el grano como café pergamino seco, sin el deterioro de su calidad (Pineda *et al.*, 2001). El secado debe ser uniforme ya que, durante este proceso, el color y los atributos de sabor cambian dentro de los granos (Clifford, 1985).

Las semillas se pasan por tamices para eliminar piedras y basura, y posteriormente se colocan en suelos de cemento, en los que se secan al sol o se colocan en secadores rotatorios a 65-85 °C (Belitz *et al.*, 2009). Se prefiere el secado mecánico para evitar fluctuaciones, sin embargo, se deben controlar la temperatura y el tiempo de oreado previo al secado mecánico. La humedad adecuada del grano para que entre a la secadora, es del 25 al 30% (Obando *et al.*, 1996). En éste punto, la semilla aún conserva el endocarpio, lo que se conoce como pergamino.

2.12.3 Morteado

Se remueve mecánicamente el pergamino y el tegumento del grano de café, esto se realiza con una morteadora, mediante fricción y una corriente de aire, en esta etapa se obtiene el café verde (Clifford, 1985).

El grano de café verde se define como el grano obtenido del fruto de los árboles del género *Coffea*, descascarado, no descafeinado y listo para el tostado. Se denomina también café crudo o café oro (NMX-F-551-SCFI-2008).

2.12.4 Tostado

El tostado es un paso esencial en la producción de café para la generación de aroma, sabor y color de los granos. El modo de transferencia de calor y el perfil de temperatura aplicado (180-240 °C) son los parámetros de procesamiento más críticos que afectan las propiedades físicas y químicas de los granos de café tostado (Schenker *et al.*, 2002).

Los dos tipos de tostado más comunes, se realizan mediante tostadores de tambor, donde los granos de café tienen contacto directo con una superficie caliente, y de lecho fluidizado, donde los granos están en contacto con aire caliente a temperaturas entre 210-240 °C. En este último, la temperatura del aire puede controlarse con mayor facilidad y los tiempos de tostado se reducen, resultando en un tostado más rápido y homogéneo, por lo que es el tipo de tostado preferido industrialmente (Belitz *et al.*, 2009). Este proceso se interrumpe en el punto deseado basándose en el color de la semilla (grado de tostado) o el tiempo programado. Las semillas se enfrían rápidamente con agua o aire, éste último se prefiere porque el agua aumenta el riesgo de crecimiento microbiano (Clarke, 2003).

El café tostado y molido está comercialmente disponible en diferentes colores (grados de tostado) que varían desde muy claro hasta muy oscuro, esta característica se controla con el tiempo y la temperatura de tostado y puede medirse tanto cualitativa como cuantitativamente (Somporn *et al.*, 2011; Farah, 2012). El cambio de color es consecuencia de reacciones provocadas por las altas temperaturas dentro del grano, como la caramelización y la reacción de Maillard (Sunarharum *et al.*, 2014). Estos cambios afectan a un gran número de parámetros fisicoquímicos y químicos y por lo tanto el sabor y la bioactividad de la bebida (Toci *et al.*, 2009).

2.12.5 Molienda y empaque

El tamaño del grano molido depende del uso al que esté destinado. En cada caso, el tamaño de partícula tiene un efecto en el tiempo de preparación, el grado de turbidez en la taza y otras propiedades de la bebida. El café molido desprende cantidades considerables de CO₂ y ya que el aroma y el sabor del café molido son altamente dependientes de éste y los compuestos volátiles, generalmente se empaca en envases con vacío o bajo almacenamiento de gas inerte por largos periodos (Clifford, 1985).

2.13 Composición química del café verde

La composición química del café verde depende principalmente de aspectos genéticos, especialmente de la especie, y de aspectos fisiológicos como el cultivo, el grado de maduración, prácticas agrícolas, clima, composición del suelo y los métodos de análisis (Clifford y Ramírez-Martínez, 1991; Clifford y Kazi, 1987; Duarte *et al.*, 2009; Komes y Vojvodić, 2014). El Cuadro 4 aporta información sobre la composición del grano de café verde para la especie *C. arabica* y *C. canephora*.

Los compuestos bioactivos más importantes del café incluyen los siguientes: compuestos fenólicos (ácidos clorogénicos y sus derivados), metilxantinas (cafeína, teofilina y teobromina), diterpenos, (incluyendo cafestol y kahweol), ácido nicotínico (vitamina B3) y su precursor trigonelina, magnesio y potasio (Gómez-Ruiz *et al.*, 2007).

2.13.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un amplio grupo de sustancias que se caracterizan por tener un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo (OH). Estos compuestos están presentes en todos los tejidos de las plantas, frecuentemente constituyen el grupo más abundante de metabolitos secundarios en frutas y por lo general están involucrados en la defensa contra la radiación ultravioleta, agresión por agentes patógenos o daño mecánico (Macheix *et al.*, 1990; Manach *et al.*, 2004). Estos compuestos se pueden clasificar en diferentes grupos en función del número de anillos de fenol que contienen y de los elementos estructurales unidos a ellos, los principales

grupos son los ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, y lignanos (Manach *et al.*, 2004).

Cuadro 4. Composición química de las semillas de café verde por especie *Coffea arabica* y *Coffea canephora* (g 100 g⁻¹).

Componente	<i>C. arabica</i>	<i>C. canephora</i>
Carbohidratos/fibra		
Sacarosa	6.0 - 9.0	0.9 - 4.0
Azúcares reductores	0.1	0.4
Polisacáridos	34 - 44	48 - 55
Lignina	3.0	3.0
Pectina	2.0	2.0
Compuestos nitrogenados		
Proteínas/péptidos	10.0 - 11.0	11.0 - 15.0
Aminoácidos libres	0.5	0.8 - 1.0
Cafeína	0.9 - 1.3	1.5 - 2.5
Trigonelina	0.6 - 2.0	0.6 - 0.7
Lípidos		
Triglicéridos con esteroides/tocoferoles insaponificables	15.0 - 17.0	7.0 - 10.0
Diterpenos (libres y esterificados)	0.5 - 1.2	0.2 - 0.8
Minerales	3.0 - 4.2	4.4 - 4.5
Ácidos y ésteres		
Ácidos clorogénicos	4.1 - 7.9	6.1 - 11.3
Ácidos alifáticos	1.0	1.0
Ácido quínico	0.4	0.4

Fuente: Farah, (2012).

Los compuestos fenólicos presentes principalmente en la pulpa de café son los taninos condensados, en cambio, en la semilla, predomina una familia de ésteres formados entre ciertos ácidos hidroxicinámicos y ácido quínico, conocidos colectivamente como los ácidos clorogénicos (Clifford, 1985).

Ácidos clorogénicos

Los ácidos clorogénicos se derivan principalmente de la esterificación de los ácidos trans-cinámicos (ej., cafeico, ferúlico y *p*-cumárico) con el ácido quínico (Clifford, 2000;

Figura 8). Estos ácidos no están presentes de forma libre comúnmente, sin embargo, se han encontrado pequeñas cantidades de ácidos cafeico, ferúlico, *p*-cumárico y quínico en granos de café verde (Clifford 1985; Clifford y Kazi, 1987).

Las subclases principales de ácidos clorogénicos en café verde son los ácidos cafeoilquínicos, dicafeoilquínicos, feruloilquínicos y en menor abundancia, *p*-cumaroilquínicos y cafeoil-feruloilquínicos, cada una de estas subclases contiene al menos tres isómeros de posición (Clifford *et al.*, 2003; Farah *et al.*, 2005). Dentro de estos tipos, los ácidos cafeoilquínicos representan aproximadamente el 80% del contenido total de ácidos clorogénicos (Farah y Donangelo, 2006).

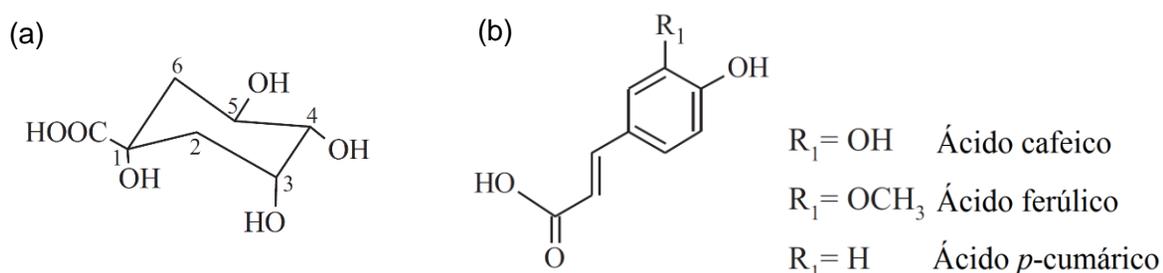


Figura 8. Estructura química de los componentes de los ácidos clorogénicos. Ácido quínico (a) y ácidos hidroxicinámicos (b).

El ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), comúnmente llamado ácido clorogénico, representa casi el 60% de los ácidos fenólicos totales y por lo tanto es el isómero más estudiado (Farah, 2012). También se han reportado isómeros del 5-CQA (Figura 9) como el ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA) y 4-cafeoilquínico (4-CQA) aunque en menor proporción (Rodrigues y Bragagnolo, 2013; Figura 9).

Los ácidos clorogénicos determinan la calidad y sabor del café tostado ya que confieren astringencia, amargor y acidez a la bebida. Sin embargo, concentraciones elevadas de ACG's en especial cafeoilquínicos y feruloilquínicos puede producir sabores indeseables posiblemente debido a sus productos de oxidación y degradación formados antes del tostado (Farah *et al.*, 2006). El contenido de ácido clorogénico en *C.*

canephora es generalmente 1.5 a 2 veces más que en *C. arabica*, pero esta concentración varía considerablemente en ambas especies (Farah, 2012).

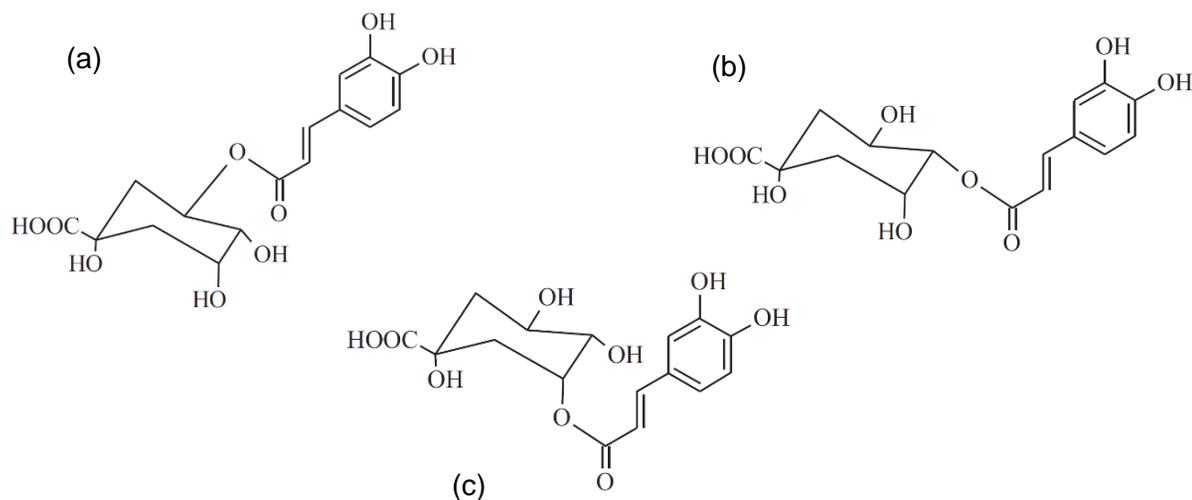


Figura 9. Estructura química de los ácidos cafeoilquínicos más abundantes en los granos de café verde, ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) (a) y sus isómeros posicionales, ácido 4-cafeoilquínico (4-CQA) (b) y ácido 3-cafeoilquínico (3-CQA) (c).

El café es una de las principales fuentes de ácidos clorogénicos en la dieta humana (Clifford, 2000). Estos ácidos son ampliamente conocidos por su actividad antioxidante y captadora de radicales libres, junto con una amplia gama de propiedades biológicas, entre ellas actividad antibacteriana, antiinflamatoria y anticancerígena (Almeida *et al.*, 2006; Santos *et al.*, 2006; Nkondjock, 2009).

2.13.2 Agua

El contenido de agua influye en la actividad de agua (a_w) y en la estabilidad del café durante su almacenamiento. El café verde tiene a_w intermedia de 0.5-0.6 (Diaz *et al.*, 1973). Por encima de este nivel, la humedad no es deseable tanto para el aroma y la calidad del sabor y efectos sobre la salud, ya que aumenta la a_w y por lo tanto la probabilidad de crecimiento microbiano. Los granos de café tostado y los polvos de café

soluble se almacenan normalmente a contenidos de agua que no exceda el 4%, el cual corresponde a una actividad de agua en un intervalo de 0.1-0.3 a 20 °C (Clifford, 1985).

2.13.3 Carbohidratos

Los carbohidratos son uno de los principales constituyentes del café y pueden representar más del 50% del peso seco en café verde. Estos componentes son precursores para la reacción de Maillard (en el caso de la sacarosa, después de la inversión) y caramelización, que son importantes para el desarrollo del color y aroma del café tostado (Farah, 2012; Ginz *et al.*, 2000). También aportan características a la bebida como acidez, estabilización de la espuma e incremento de viscosidad (Arya y Rao, 2007). La fracción de carbohidratos presente en los granos de café puede dividirse en pectina, lignina, polisacáridos solubles e insolubles, azúcares reductores y sacarosa. La concentración de estos compuestos en la especie *C. arabica* y *C. canephora* se muestra en el Cuadro 4.

Los polisacáridos representan la fracción más abundante de estos compuestos con aproximadamente 44% de materia seca en granos de café verde *C. arabica* y 47% en *C. canephora*. Los más relevantes por su participación durante el proceso de tostado y su aporte a características sensoriales de la bebida son los polisacáridos, arabinogalactano-proteínas y galactomananos, que son retenidos en la pared celular del grano de café verde como parte del complejo polisacárido insoluble, sin embargo, como consecuencia del tostado, los carbohidratos de bajo peso molecular (Mono y oligosacáridos) son degradados, lo que puede llevar a una disminución del polisacárido de hasta el 60 y 36% respectivamente, incrementando su solubilidad (Redgwell *et al.*, 2002; Arya y Rao, 2007).

Además de mejorar la calidad organoléptica de la bebida de café, los carbohidratos poliméricos poseen diversas actividades biológicas tales como la reducción de riesgo de cáncer de colon, ya que tienen el potencial de funcionar como fibra dietética y prebióticos (Clifford, 1985; Rao *et al.*, 1998).

La sacarosa es el principal carbohidrato de bajo peso molecular ya que constituye hasta un 9% del grano de *C. arabica* en peso seco y aproximadamente la mitad en *C. canephora*, también se han identificado pequeñas cantidades de monosacáridos como fructosa, glucosa, manosa, arabinosa y ramnosa en café verde (Flament, 2001; Kölling-Speer y Speer, 2005; Arya y Rao, 2007; Farah, 2012). Durante el tostado, tanto la sacarosa como los azúcares reductores son térmicamente degradados, por lo tanto, su contenido en los granos de café tostado es mínimo (Noyes y Chu, 1993).

2.13.4 Proteínas

Las proteínas, péptidos y aminoácidos libres son vitales para el sabor del café ya que son necesarios para la reacción de Maillard. Éstos sirven como precursores para la formación de compuestos volátiles como furanos, piridinas, pirazinas, pirroles, aldehídos y melanoidinas. Los compuestos nitrogenados totales (excluyendo la cafeína y trigonelina) representan del 9-16% de la composición química del café verde, con un contenido ligeramente más alto en *C. canephora* que en *C. arabica* (Farah, 2012).

2.13.5 Cafeína

Los principales efectos fisiológicos del café se deben a la cafeína (Figura 10), un alcaloide termoestable capaz de estimular el sistema nervioso central como un antagonista del receptor de adenosina. La cafeína es una metilxantina con características de amargor; sin embargo, es responsable de no más del 10% del sabor amargo percibido en la bebida de café (Flament, 2001). El café verde contiene de 0.9-2.5% de cafeína, cifra que en los robusta llega a ser del 4.0% (Belitz *et al.*, 2009).

Un bajo a moderado consumo de cafeína generalmente se asocia con mayor estado de alerta, capacidad de aprendizaje, rendimiento deportivo, y mejor estado de ánimo en algunos casos, pero las dosis elevadas pueden producir efectos negativos en algunos individuos sensibles (por ejemplo, ansiedad, taquicardia e insomnio) durante su vida media, que es 2-6 horas después de la ingesta de café (Toci *et al.*, 2006; Ogita *et al.*, 2003; Clifford, 2000).

2.13.6 Trigonelina

Es un alcaloide derivado biológicamente de la metilación enzimática del ácido nicotínico (Figura 10). Contribuye al amargor de la infusión de café y es un precursor de la formación de diferentes clases de compuestos volátiles durante el tostado tales como pirroles, piridinas, los cuáles pueden conferir un sabor desagradable (Flament, 2001). La cantidad de trigonelina en *C. canephora* es aproximadamente dos tercios que la presente en *C. arabica*. La desmetilación de la trigonelina durante el tostado produce ácido nicotínico, una vitamina del complejo B, mejor conocida como niacina (Trugo, 2003).

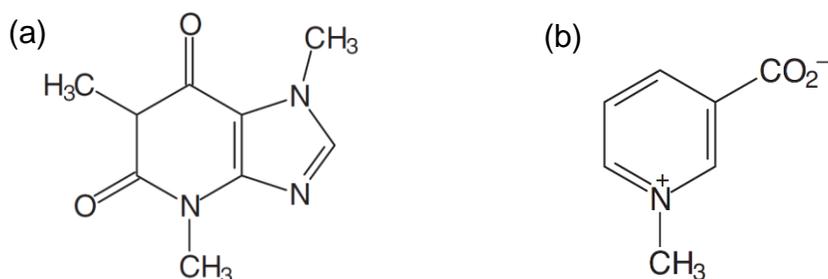


Figura 10. Estructura de alcaloides de importancia biológica presentes en el grano de café, cafeína (a) y trigonelina (b).

2.13.7 Lípidos

La presencia de estos componentes en el café también es de gran importancia, y como sucede con la mayoría de los componentes del grano aromático, el contenido total de éstos varía considerablemente entre especies, el contenido total de lípidos en las semillas arábica (aprox. 14%) es aproximadamente el doble que en las semillas de robusta (Clarke y Macrae, 1985).

La fracción de lípidos se compone principalmente de triglicéridos (75% aprox.), ácidos grasos libres (1%), esteroides (2.2% no esterificados y 3.2% esterificados con

ácidos grasos), y tocoferoles (0.05%). Esta fracción también contiene diterpenos de la familia kaureno como el cafestol y kahweol.

Se ha reportado que los granos de café de ambas especies, *C. arabica* y *C. canephora*, son ricos en ácidos grasos insaturados, oleico (C18:1 n-9) y linoleico (C18:2 n-6), saturados como palmítico (C16:0) y esteárico (C18:0) y se ha encontrado trazas de mirístico (C14:0), linolénico (C18:3 n-3) y lignocérico (C24:0) (Martin *et al.*, 2001; Speer y Kölling-Speer, 2006). Los triacilgliceroles son importantes portadores de aroma en los granos de café tostado (Petracco, 2005). La presencia de ácidos grasos en el café durante el tostado determina la generación de productos de oxidación inducidos térmicamente, en particular los aldehídos, que reaccionan fácilmente con los intermediarios de Maillard dando lugar a compuestos de aroma adicionales (Flament, 2001). A pesar de esto, algunos autores han registrado solo cambios ligeros en la composición de ácidos grasos del grano de café verde durante el proceso de tostado (Martin *et al.*, 2001; Budryn *et al.*, 2012).

La composición de triacilgliceroles y ácidos grasos libres de granos de café verde y tostado puede sufrir cambios provocados por reacciones de hidrólisis u oxidación durante el almacenamiento, lo que puede producir una pérdida en la calidad sensorial del café tostado (Toci *et al.*, 2013). Por otro lado, los componentes lipídicos, principalmente los ácidos grasos del café han sido ampliamente propuestos como una herramienta útil para diferenciar muestras de café arábica y robusta (Martin *et al.*, 2001; Bertrand *et al.*, 2008; Villarreal *et al.*, 2009).

Otros componentes lipídicos del grano de café que han recibido atención recientemente son los compuestos bioactivos, cafestol y kahweol. Estos son alcoholes diterpénicos pentacíclicos, los cuales son principalmente sales o ésteres de ácidos grasos saturados (predominantemente) e insaturados, representan aproximadamente el 20% de la fracción lipídica del café (Cavin *et al.*, 2002; Kölling-Speer y Speer, 2005; Speer y Kölling-Speer, 2006). Se encuentran niveles más altos de diterpenos en *C. arabica* que en *C. canephora*. El Cafestol es el constituyente primario de la fracción

insaponificable del café, conteniendo aproximadamente 0.2-0.6%. El Kahweol es más sensible al calor, oxígeno, luz, ácidos y por lo tanto es menos abundante (Flament, 2001).

2.13.8 Minerales

El contenido de minerales de los granos verdes es generalmente de 4% en base de cenizas. Algunos minerales importantes en el café verde son el potasio (40% peso total de cenizas) y el fósforo (4%) (Belitz *et al.*, 2009). El perfil de los minerales en el café varía de acuerdo a la composición del suelo, lo que sugiere que puede ser posible diferenciar café cultivado en diferentes tipos de suelo por su perfil de minerales (Costa *et al.*, 2010).

2.13.9 Compuestos volátiles en café verde

Se han identificado aproximadamente 100 compuestos volátiles en las semillas de café verde (Flament, 2001). Las clases más abundantes de compuestos volátiles son alcoholes, ésteres, hidrocarburos, y aldehídos. También se han identificado cetonas, pirazinas, furanos y compuestos azufrados (Toci y Farah, 2008; Flament, 2001).

2.14 Cambios en la composición química durante el tostado

La composición de la semilla cambia drásticamente durante el tostado como consecuencia del calentamiento. Las altas temperaturas aceleran considerablemente todos los cambios que sufren los monosacáridos y otros compuestos en condiciones tanto ácidas como alcalinas, pero a pH neutro catalizan las reacciones de oscurecimiento no enzimático (Ajandouz *et al.*, 2001).

La caramelización y la reacción de Maillard son reacciones de oscurecimiento no enzimático que ocurren en el grano de café verde durante el proceso de tostado, en las que intervienen principalmente los azúcares reductores. El comportamiento de los azúcares varía considerablemente según el pH, la temperatura, la presencia de otras

sustancias, etc., por lo que pueden seguir diversas rutas químicas dependiendo de la composición del grano. Los productos no solo generan cambios en la coloración del grano, sino que también generan una gama muy amplia de compuestos que contribuyen al sabor y aroma del café tostado, principalmente aldehídos, cetonas, furanos, furanonas, pironas, pirazinas, furfurales, lactonas entre otros (Martins *et al.*, 2001; Cheong *et al.*, 2013).

Caramelización

Esta reacción, también llamada pirólisis, ocurre cuando los azúcares se calientan por arriba de su punto de fusión. La reacción se lleva a cabo tanto a pH ácidos como alcalinos, y se acelera con la adición de ácidos carboxílicos y algunas sales e incluye reacciones de isomerización y deshidratación de los carbohidratos que generan principalmente furfural y sus derivados insaturados, que se polimerizan consigo mismos o con otras sustancias semejantes para formar las macromoléculas de pigmentos llamadas melanoidinas (Valdés, 2006).

Durante esta transformación también se sintetiza una serie de compuestos de bajo peso molecular y muy olorosos, como furanos, furanonas, lactonas, pironas, aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres y pirazinas, así como otros con dobles ligaduras conjugadas que igualmente absorben la energía radiante y, por lo tanto, producen colores marrón oscuros (Ajandouz *et al.*, 2001).

Reacción de Maillard

En esta reacción ocurren complejas transformaciones que traen consigo la producción de múltiples compuestos. Entre ellos las melanoidinas coloreadas, que van desde amarillo claro hasta café oscuro e incluso negro. El mecanismo de reacción se da a través de un azúcar reductor (cetosa o aldosa) y un grupo amino libre, proveniente de un aminoácido o de una proteína (Bekedam *et al.*, 2008).

Esta reacción puede acelerarse a pH alcalino (Ashoor y Zent, 1984), temperatura elevada, aunque, también puede observarse en condiciones de refrigeración debido a

su energía de activación baja (16.4 a 19.3 kcal mol⁻¹) (Valdés, 2006), actividad de agua intermedia, de 0.6-0.9 (Buera *et al.*, 1987) y también depende del tipo de aminoácido (siendo más reactivos los aminoácidos de longitud de cadena y número de grupos amino mayor) y azúcar reductor que participen en la reacción. Dependiendo de lo anterior, la reacción se ha dividido en cuatro etapas principales: condensación del azúcar reductor con el grupo amino; transposición de los productos de condensación; reacción de los productos de la transposición (Degradación de Strecker), y polimerización y formación de sustancias coloreadas (melanoidinas) (Hodge, 1953).

Algunos compuestos generados por esta reacción presentan habilidad antioxidante, principalmente las melanoidinas, que actúan básicamente como quelantes y eliminadores de oxígeno y radicales peróxidos e hidroxilos (Wang *et al.*, 2011).

La composición final del café tostado depende principalmente de las características y composición del café verde, además de las variables de tostado comentadas en la sección 2.11.4 (Trugo y Macrae, 1984, Farah, 2004). En el Cuadro 5 se muestra la composición de granos de café tostado de *C. arabica* y *C. canephora*.

2.14.1 Componentes no volátiles en el café tostado

El contenido de humedad del café tostado (1.5-5%) es mucho más bajo que en el café verde (10-12%) y varía dependiendo del grado de tostado (Farah, 2004; Trugo y Macrae, 1984).

El calentamiento de las proteínas en presencia de carbohidratos durante el tostado, genera grandes modificaciones, traducidas en un cambio de perfil de aminoácidos, la porción de proteína del café se degrada, y los aminoácidos y péptidos se consumen con la reacción de Strecker. Algunos de los aminoácidos reaccionan con los azúcares reductores para formar (a través de la reacción de Maillard) compuestos de bajo peso molecular y las melanoidinas que incorporan en su estructura otros componentes, como ácidos clorogénicos, galactomananos, y arabinogalactano-proteínas (Bekedam *et al.*, 2008). Los polímeros de melanoidinas, los cuales presentan composición y peso

molecular variable, son responsables del color marrón del café tostado y del 25% de su materia seca (Nicoli *et al.*, 1997).

Cuadro 5. Composición química de las semillas de café tostado por especie, *Coffea arabica* y *Coffea canephora* (g 100 g⁻¹).

Componente	<i>C. arabica</i>	<i>C. canephora</i>
Carbohidratos/fibra		
Sacarosa	4.2 - trazas	1.6 - trazas
Azúcares reductores	0.3	0.3
Polisacáridos (arabinogalactano, manano y glucano)	31 - 33	37.0
Lignina	3.0	3.0
Pectina	2.0	2.0
Compuestos nitrogenados		
Proteínas/péptidos	7.5 - 10.0	7.5 - 10.0
Aminoácidos libres	ND	ND
Cafeína	1.1 - 1.3	2.4 - 2.5
Trigonelina	1.2 - 0.2	0.7 - 0.3
Ácido nicotínico	0.016 - 0.026	0.014 - 0.025
Lípidos		
Triglicéridos con esteroides/tocoferoles insaponificables	17.0	11.0
Diterpenos (esterificados)	0.9	0.2
Minerales	4.5	4.7
Ácidos y ésteres		
Ácidos clorogénicos	1.9 - 2.5	3.3 - 3.8
Ácidos alifáticos	1.6	1.6
Ácido quínico	0.8	1.0
Melanoidinas	25	25

Fuente: Farah, A. (2012)

La sacarosa, al calentarse a más de 160 °C, genera simultáneamente la hidrólisis, deshidratación y dimerización de los productos resultantes, dando lugar a la isosacarosana que al incrementar la temperatura y provocar su deshidratación forma caramelana (caramelización), el resultado es una mezcla de azúcares anhidros, oligosacáridos, sustancias coloridas y un gran número de compuestos de bajo peso molecular que imparten olores característicos (Valdés, 2006)

La fibra soluble (arabinogalactano-proteínas y galactomananos) es parcialmente degradada e incorporada a las melanoidinas. La acidez de la bebida puede incrementar debido a los niveles de ácidos alifáticos (fórmico, acético, glicólico y láctico) que aumentan a través de la degradación de la sacarosa, los polisacáridos y otros compuestos (Clarke y Macrae, 1985; Ginz *et al.*, 2000).

Los ácidos clorogénicos experimentan muchos cambios durante el tostado por su inestabilidad térmica, es decir, isomerización, epimerización, lactonización, degradación de compuestos de bajo peso molecular (incluyendo fenoles y catecoles) y su incorporación a las melanoidinas, contribuyendo al color y desarrollo del sabor. Dependiendo del grado de tostado, los ácidos clorogénicos totales se reducen a menos del 1% del contenido original. En café tostado comercial puede variar de 0.5-6.0 g 100 g⁻¹ peso seco (Toci *et al.*, 2009; Farah y Donangelo, 2006; Farah *et al.*, 2005).

Durante el proceso de tostado de café, lactonas del ácido clorogénico se forman por la pérdida de una molécula de agua de la fracción de ácido quínico y la formación de un enlace éster intramolecular (Scholz y Maier, 1990; Figura 11).

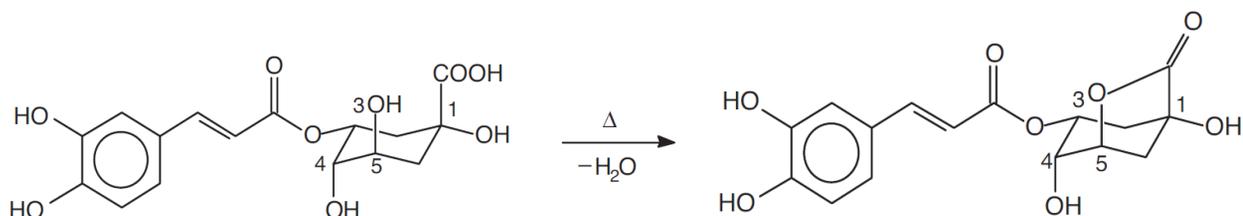


Figura 11. Formación de lactonas de ácidos clorogénicos.

Se han reportado altos niveles de lactonas de ácidos clorogénicos en café tostado como 3-cafeoilquínico lactonas (3-CQL), 4-cafeoilquínico lactonas (4-CQL) y bajos niveles de feruloilquínico lactonas (3-FQL y 4-FQL) (Rodrigues y Bragagnolo, 2013). Además de estos compuestos, conjugados de ácido cinamoilamino también se han reportado en los granos de café (Clifford y Knight, 2004).

La cafeína no sufre alteraciones significativas durante el tostado debido a su estabilidad térmica (Farah, 2012), pero pueden ocurrir pequeñas pérdidas debido a la sublimación. Además, puede observarse un incremento en el contenido de cafeína debido a que, durante el tostado, los granos de café reducen su peso hasta en un 10% de materia seca (Farah, 2012; Tfouni *et al.*, 2012). El tostado degrada la trigonelina, produciendo una variedad de compuestos que incluye el ácido nicotínico (3%) y compuestos volátiles como pirroles (3%), piridinas (46%), pirazinas y nicotinato de metilo (Flament, 2001; Trugo y Macrae, 1984). La fracción lipídica que incluye triacilglicéridos y esteroides es relativamente estable al calor. Aunque los diterpenos son más termolábiles (Speer y Kölling-Speer, 2006).

2.14.2 Compuestos volátiles en el café tostado

Durante el tostado se forma el complejo aroma del café debido a la pirolisis, degradación de Strecker y la reacción de Maillard. La variedad y concentración de compuestos volátiles en el café tostado dependen de la composición de los compuestos no volátiles en las semillas verdes y de las condiciones del tostado. Se han identificado más de 950 compuestos después del tostado, algunos de estos son furanos y piranos, pirazinas, pirroles, cetonas y fenoles, hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, ácidos y anhídridos, ésteres, lactonas, tiofenos, oxazoles, tiazoles, piridinas, aminas y varios compuestos sulfurados y nitrogenados (Toci y Farah, 2008; Flament, 2001; Blank *et al.*, 1991).

Generalmente, los carbohidratos (incluyendo los polisacáridos solubles) producen furanos, entre ellos el 5-hidroximetilfurfural (compuesto volátil más abundante en café tostado), aldehídos, cetonas y fenoles (Fuster *et al.*, 2000); las proteínas, péptidos y aminoácidos producen cetonas, pirroles y pirazinas; los lípidos solo son responsables de una pequeña cantidad de aldehídos y cetonas dada su resistencia a los cambios durante el proceso de tostado; los ácidos clorogénicos producen compuestos fenólicos volátiles (ej. catecol, pirogalol y fenol); y la trigonelina produce pirroles, piridinas y pirazinas. Casi todos los tiofenos, oxazoles y tiazoles se forman durante el tostado, ya que no son usualmente detectados en el café verde (Farah, 2012).

Las semillas de las especies *C. arabica* y *C. canephora* tienen diferente composición no volátil, por lo tanto, exhiben diferentes perfiles de compuestos volátiles, los cuáles resultan en marcadas diferencias de aromas (Ludwig *et al.*, 2014; Vignoli *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2015).

2.15 Composición química de la infusión del café

Los factores que afectan la composición de la bebida de café incluyen la composición del café tostado y molido, el método de elaboración de la bebida, proporción de café y agua, dureza y temperatura del agua, duración del tiempo que el café está en contacto con el agua, y el material del filtro.

La cantidad de sólidos solubles en el café preparado varía de 2 a 6 g/taza de 100 mL, la composición típica de una taza de café se muestra en el cuadro 6 (Petracco, 2005). Por lo general, la extracción de componentes solubles en agua, incluye a los ácidos clorogénicos, cafeína, ácido nicotínico, melanoidinas solubles y los compuestos volátiles hidrofílicos y su concentración en la bebida es mayor a temperaturas y presiones altas (Trugo, 1985).

Cuadro 6. Composición química típica de una taza de 100 mL de café tostado.

Componente	Contenido mg/100 mL
Cafeína	50-380
Ácidos clorogénicos	35-500
Trigonelina	40-50
Fibra soluble	200-800
Proteína	100
Lípidos	0.8
Minerales	250-700
Niacina	10
Melanoidinas	500-1500

Fuente: Farah (2012).

2.16 Beneficios a la salud por la ingesta de café

El estrés oxidativo impuesto por especies reactivas del oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) tiene un papel importante en muchas enfermedades crónico degenerativas, como enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas (Azizova, 2002; Young y Woodside, 2001). Se considera que la captación de ROS es una medida efectiva para reducir el nivel de estrés oxidativo en el organismo para prevenir y tratar algunas enfermedades crónico-degenerativas. Los antioxidantes naturales en frutas y hortalizas, como vitaminas y polifenoles, son considerados como responsables de éstos beneficios a la salud (Bartosz, 1997; Leja *et al.*, 2003).

El café puede ser una fuente importante de antioxidantes naturales para la prevención de enfermedades causadas por estrés oxidativo (Fu *et al.*, 2011), debido a que contiene diversos compuestos bioactivos que han presentado actividad antioxidante, principalmente los ácidos clorogénicos.

El ácido clorogénico es un potente antioxidante, Saqib *et al.* (2016) propone la eliminación de átomos de H del grupo -OH del anillo aromático como el mecanismo principal de su potencial antioxidante. En los últimos años, se han reportado una serie de estudios epidemiológicos y clínicos sobre el consumo del café, independientemente del consumo de cafeína, asociado con beneficios a la salud tales como menor riesgo de diabetes tipo 2 (Van Dam *et al.*, 2006), enfermedades de Parkinson y Alzheimer (Lindsay *et al.*, 2002), y cáncer de hígado (Ranheim y Halvorsen, 2005).

Los estudios *in vitro* y en animales son la principal fuente de datos que atribuyen estas propiedades benéficas de antioxidantes y otros mecanismos que involucra a los ácidos clorogénicos (Natella *et al.*, 2002). Estudios recientes han confirmado estos hallazgos y se han dilucidado varios mecanismos de acción incluyendo la captación de radicales libres, propiedad quelante de metales, inactivación de compuestos reactivos, y cambios vía metabólica (Williamson, 2012).

Los metabolitos de la cafeína, especialmente 1-metilxantinas, han exhibido actividad antioxidante *in vitro*, y la capacidad de reducción del hierro *in vivo* del café regular es mayor que la del café descafeinado (Lee, 2000). El efecto antibacteriano del café regular contra microorganismos carcinogénicos también fue mayor que el del café descafeinado (Antonio *et al.*, 2010).

En cuanto al potencial bioactivo, la trigonelina inhibe la invasividad del cáncer en células *in vitro* (Hirakawa *et al.*, 2005). Además, tienen la capacidad de regenerar dendritas y axones en modelos animales, sugiriendo que puede mejorar la memoria (Tohda *et al.*, 2005).

Diversos estudios sugieren que las melanoidinas presentes en la bebida de café se pueden considerar como compuestos bioactivos por su actividad antioxidante, antibacteriana y propiedades quelantes de metales (Nicoli *et al.*, 1997; Daglia *et al.*, 1994; Homma y Murata, 1995; Daglia *et al.*, 2000). Sin embargo, su relevancia fisiológica en los seres humanos aun es objeto de estudio.

La bebida de café ha sido nombrada como alimento funcional por su efecto biológico en el organismo humano (Esquivel y Jiménez, 2012). El consumo de café en cantidad apropiada tiene impacto en el sistema cardiovascular y sobre el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El café reduce la incidencia de cáncer, diabetes y enfermedades del hígado, protege contra la enfermedad de Parkinson e incluso reduce el riesgo de mortalidad. Además, las enfermedades cardiovasculares, arritmia o insuficiencia cardíaca, parecen no ser afectadas por el consumo de café. (Williamson, 2012; Cano-Marquina, 2013).

2.17 Características sensoriales del café

La composición química del café proporciona el sabor y aroma característico de una taza de café, sin embargo, la calidad de la bebida se evalúa no solo por su composición sino por la prueba de taza de la infusión. La prueba de taza o cata, evidencia numerosas características del café y puede definirse como el método usado para definir

el aroma, el sabor y la sanidad de esta bebida. Este análisis también se llama evaluación sensorial de la calidad del café y debe llevarse a cabo por personas capacitadas y expertas, que utilizan métodos conocidos y estandarizados (Puerta, 2009).

2.18 Café de especialidad

El consumo de café presenta una tendencia alcista a nivel internacional, sin embargo, en un mercado donde el producto se encuentra homogenizado, surge la búsqueda de productos con una mayor calidad, lo que lleva a la denominación de café de especialidad. Este concepto hace alusión a la geografía y a los microclimas, que permiten la producción de granos de café con características físicas, sensoriales, prácticas agrícolas y de procesamiento que preservan su identidad, por las cuales, el cliente está dispuesto a pagar un precio superior (Farfán, 2007).

Dentro del café de especialidad se encuentra el café de origen, que proviene de un país, región o finca con cualidades únicas, reconocidas debido a que crece en lugares determinados, estos se comercializan sin mezclarse con café de otros orígenes o calidades (Arcila *et al.*, 2007).

La producción de café de especialidad se ha convertido en una de las principales estrategias para mantener la viabilidad económica de la producción de café, estimulado por el incremento de su valor y la demanda (Figueiredo *et al.*, 2015). Por tanto, además de la necesidad crucial de métodos eficientes para determinar la autenticidad de los granos de las variedades arábica comerciales y su discriminación entre variedades híbridas y de *C. canephora*, también existe una demanda creciente para la determinación del origen del café (Tzouros y Arvanitoyannis, 2001).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al café se le atribuyen diversos beneficios a la salud por su alto contenido de compuestos bioactivos y antioxidantes. Sin embargo, la composición química del café verde depende principalmente de factores intrínsecos y extrínsecos como la especie, variedad y prácticas agrícolas.

Hoy en día, además del café genérico o convencional, existe oportunidad creciente para el café de especialidad, el cual tiene requerimientos específicos de sistemas de cultivo, variedades, prácticas agronómicas, cualidades físicas y organolépticas.

Coatepec cumple con los requerimientos agroecológicos para obtener un producto de café de alta calidad. Por lo que resulta de importancia potencial caracterizar las variedades cultivadas en esta región para dar valor agregado al producto, aumentar los estándares de calidad, penetrar el mercado de café de especialidad y además fomentar su consumo interno.

4. HIPÓTESIS

El perfil de compuestos fenólicos, ácidos grasos y actividad antioxidante del café verde y tostado difieren en función de la variedad.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características biofísicas, parámetros fisicoquímicos, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, cafeína y perfil de ácidos grasos en granos de café (*Coffea arabica* L.) verde y tostado de variedades e híbridos cultivados en la región de Coatepec, Veracruz, para determinar su potencial como fuente de antioxidantes naturales y diferenciar las variedades.

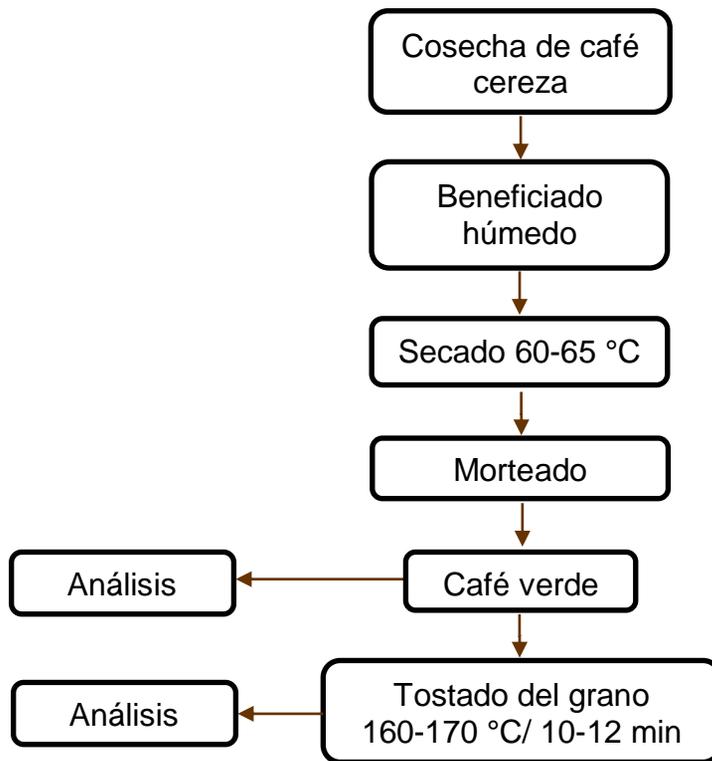
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar las características biofísicas del grano verde y tostado de café de diferentes variedades.
2. Analizar los parámetros fisicoquímicos y el contenido de azúcares en granos de café verde y tostado de diferentes variedades.
3. Evaluar el contenido de polifenoles y actividad antioxidante en granos de café verde y tostado de diferentes variedades.
4. Identificar y cuantificar los compuestos fenólicos individuales y la cafeína en granos de café verde y tostado por HPLC.
5. Identificar y cuantificar los ácidos grasos del grano de café verde y tostado de diferentes variedades por CG-MS.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Diagrama general de trabajo

En la Figura 12 se muestra el diagrama general de trabajo.



Análisis:

- Características biofísicas
- Parámetros físico-químicos y contenido de azúcares
- Compuestos con actividad antioxidante
- Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos individuales por HPLC
- Análisis de ácidos grasos por CG-MS

Figura 12. Diagrama general de trabajo.

6.2 Material Biológico

Se recolectaron bayas de café de cuatro variedades de *Coffea arabica* L. cv. Typica, Bourbon, Mundo Novo y Caturra Roja y dos variedades híbridas (*C. arabica* × *C. canephora*): *C. arabica* L. cv. Catimor CR95 y Sarchimor en cuatro fincas de la zona de Coatepec, Veracruz, entre noviembre 2014 y febrero 2015 (Cuadro 7). Una de las variedades Catimor CR95 se muestreó en tres fincas y se consideraron como independientes en función de la finca. Además, se recolectaron bayas de café de la especie *C. canephora* cv. Robusta como control. Se recolectaron frutos maduros de cada variedad de acuerdo al tiempo de la cosecha. Las bayas de cada variedad por finca recibieron el proceso húmedo para retirar las capas del endocarpio y tegumento de la semilla (grano de café verde).

Cuadro 7. Origen de las variedades evaluadas y descripción general de la finca de producción.

Especie	Variedad	Finca, lugar	Latitud N	Longitud O	Altitud (m)
<i>C. arabica</i> L.	Typica				
	Bourbon				
	Mundo Novo	1. La Reserva, Las Lomas, Coatepec, Ver.	19° 25' 23.2"	96° 54' 26.02"	1026
	Caturra Roja				
Catimor (Timor × Caturra*) CR95 F1					
Catimor (Timor × Caturra*) CR95 F2	2. Las Lajas, Coatepec, Ver.	19° 29' 8.2"	96° 58' 43.8"	1388	
Catimor (Timor × Caturra*) CR95 F3	3. Andrade, Limonas, Cosautlán, Ver.	19° 18' 45.2"	96° 56' 34.1"	1081	
Sarchimor (Timor × Villa Sarchi*)					
<i>C. canephora</i> L.	Robusta	4. Córdoba, Ver	18° 53' 39.0"	96° 56' 5.0"	860

*Resultado del cruzamiento entre variedades (Moreno, 2004)

Posterior al beneficiado, las muestras se transportaron al Laboratorio de Alimentos del Instituto de Ciencias Básicas de la UV donde se secaron de 60 a 65 °C en un deshidratador de alimentos (L'Equipe modelo 528) hasta obtener una humedad

constante entre 10 y 12% (Figura A1 en el apéndice). Cada muestra se dividió en dos fracciones: granos de café verde libre de defectos y se almacenó a -20 °C. En la segunda fracción, se realizó el tostado mediante un tostador marca NESCO® Professional (modelo CR-1000 Series, USA) durante 10-12 min a 160-170 °C hasta obtener un tostado ligero con base en las recomendaciones de Somporn *et al.* (2011), para conservar la mayor composición de grano y actividad antioxidante (Figura A2 en el apéndice).

Preparación de los extractos de café

Se pulverizó el grano a un tamaño de partícula de 0.6 mm mediante un molino (Krupps®, modelo GX4100, México), después se homogeneizó (DAIHAN-brand modelo HG-15A, Korea) una muestra de 0.5 g con 50 mL de agua destilada a 90 °C (Budryn *et al.*, 2009), se filtró y se centrifugó a 4000 rpm a 10 °C durante 30 min. El sobrenadante se consideró el extracto de café verde o tostado ligero y se utilizó para las diferentes evaluaciones descritas para el extracto.

6.3 Características biofísicas

6.3.1 Tamaño y volumen del grano

Se midió la longitud (mm), ancho (mm) y grosor (mm) de grano con vernier digital en grupos de 100 y se calculó el promedio de cada parámetro. El volumen (cm³) se calculó mediante el método de desplazamiento de agua. En una probeta de vidrio con un volumen conocido de agua, se colocaron 100 granos de café, y se registró la diferencia originada por estos como el volumen.

6.3.2 Peso medio del grano

Se registró el peso de 100 granos de café verde y tostado con una balanza Ohaus, Scout Pro SPU6001 (± 0.01 g).

6.3.3 Peso específico

Se calculó la relación peso/volumen (g cm^{-3}) de 100 granos de café.

6.3.4 Color

Se evaluó el color del grano de café mediante el sistema CIE Lab usando un espectrofotómetro para sólidos (Konica-Minolta, modelo CM-2600d, Osaka, Japón). Los granos de café se trituraron y se colocaron en una placa de cristal (5 cm de diámetro, 1 cm de altura) cuidando que el recipiente estuviera completamente cubierto con la muestra y se realizó la lectura, se registraron los parámetros L^* , a^* y b^* (Mc Guire, 1992).

L^* . Este parámetro representa la luminosidad, los valores van de 0 a 100 que corresponden al negro y blanco, respectivamente.

a^* y b^* . Estos parámetros no tienen límites numéricos específicos, valores positivos para a^* corresponden al color rojo y valores negativos corresponden al color verde, mientras que valores positivos para b^* corresponden al color amarillo y valores negativos al color azul.

6.4 Parámetros fisicoquímicos y contenido de azúcares

6.4.1 Humedad y actividad de agua (a_w)

Las muestras de café verde fueron trituradas, se colocaron 3 gramos en una termobalanza WMB-50G-3, la humedad se leyó directamente del equipo como porcentaje de humedad. La actividad de agua (a_w) se midió a través de un medidor de a_w marca AquaLab Serie 4 (Washington, USA) y se reportó como el promedio de mediciones por cuadruplicado.

6.4.2 Acidez titulable y pH

La acidez titulable se evaluó por el método 942.15 de la AOAC (2005); 10 mL del extracto se tituló con una solución de NaOH a 0.01 N hasta llegar a un pH de 8.2, y se registró el volumen de NaOH requerido para neutralizar la solución. Los valores de acidez se calcularon mediante la siguiente expresión

$$g \text{ ácido málico} = \frac{(mL \text{ NaOH}) (0.01 \text{ N}) (meq \text{ ácido málico})}{100 \text{ g}} \times 100$$

El resultado se expresó en términos de g de ácido málico por 100 g de muestra. El pH se midió directamente con un potenciómetro (HANNA Instruments, HI 8424, Rhode Island, USA).

6.4.3 Azúcares totales

La determinación de azúcares totales se realizó con base en el método descrito por Dubois *et al.* (1956). Se homogeneizó 1 gramo de café en 30 mL de etanol al 80% (v/v), el homogeneizado se almacenó a -20 °C durante 24 h. El extracto se filtró y centrifugó a 4000 rpm durante 30 min (centrífuga Hettich, Universal 32R, Tuttlingen, Alemania). Para el análisis se preparó una dilución 1:20. Se tomó 1 mL de la dilución, posteriormente se adicionaron 100 µL de fenol al 80% (v/v), 5 mL de H₂SO₄ concentrado y se agitó en vortex. La mezcla se incubó durante 20 min a 30 °C y se registró su absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6305, Staffordshire, United Kingdom). El contenido de azúcares se determinó con una curva estándar de glucosa (0.02 a 0.12 mg glucosa mL⁻¹) (Figura A3 en el apéndice). El resultado se expresó como miligramos de glucosa por gramo de café en base seca (mg glucosa g⁻¹ bs).

6.4.4 Azúcares reductores

Se cuantificaron los azúcares reductores por el método DNS (Miller, 1959). Para preparar el reactivo DNS, se disolvieron 0,8 g de NaOH en agua destilada, luego se adicionó 15 g de tartrato de Na-K y 0,5 g de DNS (ácido 3, 5-dinitrosalisílico) con agitación para evitar la formación de grumos. Esta mezcla se aforó a 50 mL con agua

destilada y se almacenó en frasco ámbar a 4 °C. Para la muestra, se pesó 1 g de café y se homogeneizó con 30 mL de etanol al 80% (v/v), después se almacenó en congelación por 24 horas, antes del análisis. El extracto se filtró y centrifugó a 4000 rpm durante 30 min. Para el análisis se preparó una dilución 1:2. En tubos de ensayo se colocó 0.5 mL de la dilución y se agregó 0.5 mL de reactivo DNS, los tubos se llevaron a ebullición por 10 min en baño maría e inmediatamente se detuvo la reacción con baño de agua y hielo. Se reconstruyen las muestras con 5 mL de agua destilada, se agitaron y dejaron en reposo por 15 min. Se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 540 nm en un espectrofotómetro. El mismo tratamiento se realizó para el blanco con agua destilada. La concentración de azúcares reductores se determinó utilizando una curva de calibración de glucosa (0.2-1.9 mg glucosa mL⁻¹) (Figura A4 en el apéndice) y el resultado se expresó como miligramos de glucosa por gramo de café en base seca (mg glucosa g⁻¹ bs).

6.5 Compuestos con actividad antioxidante

6.5.1 Polifenoles totales

La determinación de fenoles totales se llevó a cabo por el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965). Para el análisis se preparó una dilución 1:10 del extracto. Se tomaron 400 µL de la dilución y se depositó en viales ámbar de 5 mL, a los que se añadió 200 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 1 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y se incubó de 5 a 8 minutos en ausencia de luz. Posterior a la incubación se agregaron 2 mL de solución Na₂CO₃ al 7% (p/v) y 1.4 mL de agua destilada, llevando el volumen final a 5 mL. La mezcla final se agitó y se dejó en reposo durante 1 h a temperatura ambiente. Después de la incubación se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro UV/Vis a una longitud de onda de 750 nm previamente calibrado con agua destilada como blanco. La Figura A5 muestra la curva estándar de ácido gálico (0.02 a 0.16 mg mL⁻¹) que se realizó para la cuantificación de polifenoles totales y el resultado se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de café en base seca (mg EAG g⁻¹ bs).

6.5.2 Actividad antioxidante total por el método de DPPH

Siguiendo el método de Brand-Williams *et al.* (1995). Para el análisis se preparó una dilución 1:10 del extracto. Se mezcló 100 μL del extracto diluido con 2.9 mL de reactivo de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) el cual se preparó diluyendo 6 mg del reactivo en 100 mL de metanol al 80% (v/v), todo lo anterior en ausencia total de luz. La mezcla se agitó y se dejó incubar durante 30 min a temperatura ambiente. Después del tiempo de incubación, se registró su absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm, usando como blanco metanol al 80% (v/v). La actividad antioxidante se cuantificó empleando una curva estándar de Trolox (ácido 6-hidroxi- 2, 5, 7, 8-tetrametilcroman-2-carboxílico) (0 a 1.0 $\mu\text{mol Eq. Trolox mL}^{-1}$) que se muestra en la Figura A6 y se expresó como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de café en base seca ($\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs).

6.5.3 Actividad antioxidante total por el método de FRAP

De acuerdo al método de Benzie y Strain (1999), para determinar la actividad antioxidante total se tomaron 100 μL de la dilución del extracto (1:20 para café verde y 1:10 para café tostado) y se colocó en tubos de ensayo, se mezcló con 3 mL de reactivo de FRAP y se incubó en un baño maría a 37 °C durante 30 min en ausencia total de luz. Posterior a la incubación se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Para la preparación del reactivo de FRAP se mezcló: a) 300 mM de búfer de acetato a pH 3.6 (3.1 g de acetato de sodio trihidratado, añadir 16 mL de ácido acético glacial y aforar a 1 L con agua destilada), b) 10 mM de TPTZ (2, 4, 6-tripiridyl-s-triazine) en 40 mM de HCl y c) 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (cloruro férrico hexahidratado) en una relación 10:1:1, respectivamente. La cuantificación de la actividad antioxidante se realizó mediante una curva estándar de Trolox (0-0.8 $\mu\text{mol Eq. Trolox mL}^{-1}$) (Figura A7). El resultado se expresó como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de café en base seca ($\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ bs).

6.5.4 Identificación y cuantificación de ácidos clorogénicos individuales y cafeína por HPLC

Para la extracción de compuestos fenólicos, los granos fueron triturados mecánicamente a un tamaño de partícula de 0.6 mm antes de cada extracción. Se homogenizó 0.5 g de café en 20 mL de agua destilada a 90 °C, se filtró y centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos a 10 °C.

Para la determinación de la composición de ácidos fenólicos se utilizó un HPLC (Agilent Technologies 1200 series, CA, USA) con detector de arreglo de diodos. Las separaciones cromatográficas se realizaron a través de una columna Poroshell 120 EC C-18 (4.6 x 250 mm, 5 µm) marca Agilent (USA), mediante el método descrito por Somporn *et al.* (2011) con modificaciones. Los compuestos fueron eluidos usando como fase móvil A: ác. acético 0.2% y B: metanol grado HPLC, se utilizó un gradiente donde el solvente B incrementó de 15 a 90% durante 50 minutos con un flujo de 1 mL min⁻¹. Se inyectó un volumen de 20 µL y la detección fue a 280 y 320 nm. Las muestras fueron analizadas por cuadruplicado. La detección de cafeína (280 nm), ácido clorogénico (ACG) y neoclorogénico (ANCG) (320 nm) se realizó comparando el tiempo de retención de los cromatogramas (Figura A8-A11) y espectro UV con los de sus respectivos estándares (Figura A12-A14). La cuantificación se hizo con referencia a una curva estándar de ácido clorogénico (0.156 a 2.5 mg ACG mL⁻¹, r² = 0.99), ácido neoclorogénico (0.063 a 1 mg ANCG mL⁻¹, r² = 0.97) y cafeína (0.156 a 1.25 mg cafeína mL⁻¹, r² = 0.99). El software utilizado fue Agilent ChemStation for LC 3D Systems B.04.03.

6.6 Análisis de ácidos grasos por CG-MS

6.6.1 Extracción y metilación de la fracción lipídica del grano de café

Para la extracción de la fracción lipídica de los granos de café se utilizó el método de Folch *et al.* (1957) con modificaciones. Se pesaron 10 g de café molido, se agregó una mezcla 1:2 de cloroformo:metanol grado HPLC y 0.05 mL sol. MgCl₂ 20% (p/v) se agitó por 10 min. Se agregaron 5 mL de cloroformo y se agitó durante 10 min, por último, se

agregaron 9 mL de agua destilada y se agitó durante 30 s. Se filtró y centrifugó a 5000 rpm, 4 °C durante 10 min, posteriormente se eliminó la capa superior acuosa y se añadieron 10 mL de sol. NaCl 0.1% (p/v). Se centrifugó de nuevo a las condiciones antes descritas, se separó la fase orgánica (inferior) y se agregó Na₂SO₄ anhidro a fin de eliminar restos de agua. Se evaporó el cloroformo en un baño seco (Thermolyne Type DB28100) entre 40-45 °C.

6.6.2 Identificación y cuantificación de ácidos grasos

Para la identificación y cuantificación de ácidos grasos presentes en granos de café, se tomó como referencia el método de metilación descrito por Hernández-Galán (2011) que consistió en pesar 50 mg de la grasa purificada y disolverla con 900 µL de cloroformo grado HPLC. La esterificación se llevó a cabo adicionando 100 µL de metóxido de sodio 0.5 N en metanol (Sigma Aldrich) y agitando por 5 min.

El análisis de ácidos grasos se realizó utilizando un cromatógrafo de gases modelo 7890 A (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) acoplado a un detector de masas modelo 5975 C (Agilent Technologies, USA), equipado con un inyector *split-splitless* y un detector selectivo de masas de impacto electrónico a 70 eV. Para la separación de los ácidos grasos se utilizó una columna capilar HP-88 (Agilent, 100 m x 250 µm x 0.25 µm). La temperatura inicial fue de 50 °C, se incrementó a 85 °C (2.5 °C min⁻¹), se elevó a 170 °C (10 °C min⁻¹), manteniéndose durante 20 min, disminuyó a 150 °C (2 °C min⁻¹) y se mantuvo 20 min, finalmente se incrementó a 250 °C (10 °C min⁻¹) constantes por 25 min. Se inyectó 1 µL de la muestra metilada utilizando un *split* 2:1, la temperatura del inyector se mantuvo en 250 °C.

Se empleó helio como gas acarreador con un flujo de 6.6 mL min⁻¹. La identificación de los picos de cada ácido graso se realizó con el *software* MSD ChemStation E.02.00.493 (Agilent Technologies, USA) y la base de datos NIST (*National Institute of Standards and Technology*), para la cuantificación se utilizó el método de cuantificación relativa por porcentaje de área. Las muestras fueron analizadas por cuadruplicado.

6.7 Análisis estadístico

Con los valores de cada variable respuesta incluyendo el perfil de ácidos grasos, se hicieron análisis de varianzas mediante el modelo lineal de bloques al azar de un diseño bifactorial; factor A, estado de procesamiento de grano de café (verde y tostado) y factor B, variedades de café.

Se hizo una comparación múltiple de medias por la prueba de Tukey ($P < 0.05$), cuando hubo diferencias significativas con el proceso de tostado, entre variedades y en su interacción procesamiento x variedades. Adicionalmente, se realizaron correlaciones entre todos los parámetros evaluados en café verde y tostado.

Para diferenciar las variedades de café en grano verde y tostado se realizó un Análisis Discriminante Canónico (ADC) usando la composición de ácidos grasos como variables independientes o discriminantes. El ADC es una técnica estadística multivariante que nos indica que variables nos permiten diferenciar a dos o más grupos a través de la combinación lineal (función discriminante) de las variables discriminantes que maximiza su capacidad de discriminación. Todos los análisis se hicieron en el paquete estadístico SAS® (2002).

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El factor tostado, variedad y su interacción (tostado × variedad) mostraron diferencia significativa ($P < 0.01$) en las características biofísicas, parámetros fisicoquímicos y actividad antioxidante de los granos de café (Cuadro 8). Solamente el parámetro ancho de grano, no mostró contraste entre variedades, y la concentración de ácido neoclorogénico fue similar en café verde y tostado.

Cuadro 8. Significancia de los cuadrados medios del análisis de varianza de las características biofísicas, parámetros fisicoquímicos y compuestos con actividad antioxidante en granos de café verde y tostado.

Fuentes de variación		Tostado	Variedad	Tostado × Variedad	Error	CV (%)
GL		1	8	8	32	
Características biofísicas						
Tamaño del grano (mm)	Largo	35.689**	1.996**	0.434**	0.13	3.3
	Ancho	18.845**	0.064ns	0.172**	0.03	2.4
	Grosor	6.338**	0.463**	0.211**	0.03	4.2
Peso específico (g/cm ³)	Peso (g)	90.741**	12.244**	1.653**	0.01	0.6
	Volumen (cm ³)	1236.492**	19.447**	9.330**	0.65	3.8
Parámetros de color	Peso específico (g/cm ³)	3.202**	0.004**	0.002**	0.001	3.0
	a*	427.91**	3.29**	1.99**	0.02	2.8
	b*	1578.96**	3.63**	5.51**	0.10	2.9
	L*	11463.97**	7.22**	11.61**	0.03	0.3
Parámetros fisicoquímicos, azúcares y actividad antioxidante						
Acidez	Acidez Titulable	8.043**	0.141**	0.261**	0.002	2.9
	pH	13.540**	0.184**	0.216**	0.001	0.4
Humedad	%	843.32**	0.44**	1.19**	0.1	5.6
	a _w	2.092**	0.003**	0.006**	<0.001	1.6
Azúcares	Totales	5327.7**	151.44**	83.13**	3.5	0.4
	Reductores	2331.85**	106.20**	18.60**	0.6	0.4
Actividad antioxidante	DPPH	11504.8**	2842.8**	6400.0**	76.0	2.7
	FRAP	144346.4**	29677.6**	32512.7**	153.5	2.4
	PT	876.8**	310.2**	388.8**	1.5	2.3
Compuestos fenólicos	5-CQA	23959.64**	46.87**	82.97**	0.4	0.7
	3-CQA	0.05 ns	3.28**	1.63**	0.02	0.2
Cafeína		105.01**	64.90**	1.00**	0.02	0.3

L* = luminosidad; PT = polifenoles totales; 5-CQA = ácido clorogénico; 3-CQA = ácido neoclorogénico; ns = No significativo $P > 0.05$; * = $P < 0.05$; ** = $P < 0.01$.

7.1 Características biofísicas de granos de café verde y tostado

7.1.1 Tamaño y peso específico de granos de café verde y sus cambios con el tostado

El largo de grano se registró en un intervalo entre 9.5 y 10.8 mm, solo la variedad CR95 F3, con el valor más alto, fue diferente de la variedad Robusta (Cuadro 9). El ancho del grano estuvo en un intervalo de 6.7-7.2 mm sin mostrar contraste entre las variedades; en el grosor, Robusta presentó el mayor valor (4.3 mm) y fue diferente de CR95 F2 (3.7 mm), Mundo Novo (3.7 mm), Sarchimor (3.6 mm) y Typica (3.6 mm). En el peso de 100 granos se encontró una amplia variación registrando valores desde 15.7 a 20.4 g (Cuadro 9). Es de resaltar que los granos cosechados de la misma variedad CR95, pero cultivados en diferentes fincas (F1, F2 y F3) presentaron diferencias de peso desde 15.8 hasta 20.4 gramos (Cuadro 9).

Cuadro 9. Tamaño y peso específico de grano de café verde y tostado.

Variedad	Tamaño del grano			Peso específico del grano		
	Largo (mm)	Ancho (mm)	Grosor (mm)	Peso de 100 granos (g)	Volumen de 100 granos (cm ³)	Peso específico (g cm ⁻³)
Mundo Novo Verde	9.7 fg	6.9 d	3.7 gh	15.7 g	15.3 h	1.02 a
Bourbon	9.6 g	6.9 d	4.0 defgh	17.2 d	16.3 gh	1.05 a
Typica	10.0 efg	7.0 d	3.6 h	15.8 g	15.0 h	1.06 a
Caturra Roja	10.4 defg	7.1 cd	3.8 efgh	16.6 e	16.0 gh	1.04 a
CR95 F1	9.7 efg	6.9 d	3.8 fgh	16.3 f	15.7 gh	1.04 a
CR95 F2	10.0 efg	6.7 d	3.7 gh	15.8 g	15.0 h	1.05 a
CR95 F3	10.8 cdef	7.0 d	4.1 defgh	20.4 a	19.0 ef	1.08 a
Sarchimor	10.5 defg	6.9 d	3.6 h	19.3 b	18.0 fg	1.08 a
Robusta	9.5 g	7.2 cd	4.3 cdef	17.9 c	16.7 fgh	1.07 a
Intervalo	9.5-10.8	6.7-7.2	3.6-4.3	15.7-20.4	15.0-19.0	1.02-1.08
Mundo Novo Tostado	10.8 cde	7.9 ab	4.7 abc	13.5 l	24.0 d	0.56 cde
Bourbon	11.8 abc	8.4 a	4.5 bcd	14.8 i	28.0 b	0.53 de
Typica	11.8 abc	8.1 ab	3.9 defgh	13.8 k	27.2 bc	0.51 e
Caturra Roja	11.7 abc	8.1 ab	4.3 cdef	15.3 h	25.0 cd	0.61 bc
CR95 F1	12.0 ab	8.3 a	4.2 cdefg	14.0 jk	25.3 cd	0.55 cde
CR95 F2	11.4 bcd	8.2 ab	4.4 bcde	14.1 j	25.6 bcd	0.55 cde
CR95 F3	12.6 a	8.3 a	5.2 a	17.3 d	30.7 a	0.57 bcde
Sarchimor	12.5 a	8.3 a	5.0 a	15.9 g	26.7 bc	0.59 bcd
Robusta	10.2 efg	7.7 bc	4.9 ab	13.1 m	20.7 e	0.64 b
Intervalo	10.2-12.6	7.7-8.4	3.9-5.2	13.1-17.3	20.7-30.7	0.51-0.64

Las medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey, P<0.05).

Puerta (2003) clasificó los granos de café verde como de buena calidad cuando el peso promedio de 100 granos fue de 18.0 ± 3.0 g, de acuerdo a este autor, los granos de café evaluados en este estudio entran en esta categoría (Cuadro 9).

En el volumen del grano, el intervalo estuvo entre 15 y 19 cm^3 , CR95 F3 y Sarchimor, presentaron los valores más altos de 19 y 18 cm^3 , respectivamente, estas dos variedades fueron cosechadas en la misma finca (Limonos, Cosautlán). El peso específico estuvo en el intervalo de 1.02-1.08 g cm^{-3} , sin presentar diferencias entre variedades (Cuadro 9).

El proceso de tostado modificó el tamaño de los granos, independientemente de la variedad el largo incrementó de 10 a 11.6 mm, el ancho de 6.9 a 8.1 mm y el grosor de 3.9 a 4.6 mm, resumidos en el incremento del volumen en promedio de 16.3 a 25.9 cm^3 (Cuadro 10). El aumento de tamaño se debe al incremento de la presión interna de los granos causada por los productos de las reacciones térmicas (entre ellas la pirólisis), principalmente vapor de agua y dióxido de carbono, lo que causa su expansión (Massini *et al.*, 1990). Al mismo tiempo, debido a la pérdida de agua y algunos productos de reacción, se observó pérdida de peso y por lo tanto la disminución del peso específico de los granos de café de 1.15 a 0.57 g cm^{-3} (Cuadro 10). Las dimensiones y peso específico de los granos tostados de cada variedad se presentan en el Cuadro 9.

Cuadro 10. Comparación de medias del efecto del proceso de tostado en las características biofísicas de los granos de café.

	Tamaño del grano (mm)			Peso específico		
	Largo	Ancho	Grosor	Peso (g)	Volumen (cm^3)	Peso específico (g cm^{-3})
Verde	10.0 b	6.9 b	3.9 b	17.2 a	16.3 b	1.15 a
Tostado	11.6 a	8.1 a	4.6 a	14.6 b	25.9 a	0.57 b

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $P < 0.05$).

El volumen de grano de café tostado presentó un amplio intervalo, de 20.7 hasta 30.7 cm^3 , Robusta en el límite inferior y CR95 F3 en el superior. El peso y peso

específico de los granos disminuyó considerablemente hasta un intervalo de 13.1-17.3 g y 0.51-0.64 g cm⁻³ respectivamente (Cuadro 9).

Las diferencias entre variedades fueron más notables en los granos tostados, CR95 F3 presentó el mayor volumen, esta vez seguido de Bourbon (28.0 cm³), Typica (27.2 cm³) y Sarchimor (26.7 cm³), en caso del peso de 100 granos, al igual que los granos de café verde, CR95 F3 y Sarchimor presentaron los valores mayores (17.3 g y 15.9 g, respectivamente), por el contrario, los granos de café Robusta tuvieron los menores valores de peso y volumen (13.1 g y 20.7 cm³) (Cuadro 9).

7.1.2 Parámetros de color de granos de café verde y sus cambios con el tostado

El color es uno de los atributos más importantes en la aceptación del consumidor tanto en café verde como en tostado. El valor de luminosidad de café verde estuvo en el intervalo de 63.47-70.57, los valores mayores se observaron en granos de la variedad Typica y Caturra Roja, por el contrario, el menor valor se presentó en Robusta (Cuadro 11).

El color de los granos de café verde ha sido utilizado como indicador de calidad en taza, Farah *et al.* (2006) determinaron el color de los granos de café verde midiendo la reflectancia (Color Test II – Neuhaus Neotec) en una escala de 0-200 y encontraron que el grado de luminosidad de los granos de café verde (164-185) correlacionó negativamente con la calidad del café tostado (-0.96), es decir, conforme la calidad del café disminuyó, los granos eran más oscuros, esta relación la atribuyeron a la presencia de granos defectuosos y a la formación de ortoquinonas por la acción de la polifenol oxidasa en el 5-CQA que puede producir el oscurecimiento de los granos verdes (Mazzafera y Robinson, 2000; Farah y Donangelo, 2006).

En el caso del parámetro b*, los valores estuvieron en el intervalo de 15.37 a 17.73, valores que corresponden al color amarillo, con mayor intensidad en la variedad Typica, por el contrario, la menor intensidad se presentó en Robusta (Cuadro 11). El parámetro a* presentó valores cercanos a cero (0.10-2.30) que indica que está cercano a la región

acromática (McGuire, 1992) por lo que este parámetro parece no ser un buen indicador para diferenciar el color del grano de variedades en café verde.

Cuadro 11. Parámetros de color de grano de café verde y tostado.

Variedad		L*	a*	b*
Mundo Novo	Verde	66.10 f	0.65 gh	16.00 cde
Bourbon		66.73 e	0.29 jk	15.70 de
Typica		70.77 a	0.24 hi	17.73 a
Caturra Roja		70.57 a	0.45 k	16.53 cd
CR95 F1		69.50 b	0.10 ij	17.57 ab
CR95 F2		68.23 c	0.72 gh	17.67 ab
CR95 F3		68.77 c	1.05 g	15.70 de
Sarchimor		67.47 d	2.05 f	16.70 bc
Robusta		63.47 g	2.30 f	15.37 e
Intervalo		63.47-70.57	0.10-2.30	15.37-17.73
Mundo Novo	Tostado	38.10 j	5.92 d	4.77 i
Bourbon		38.70 i	5.20 e	5.00 hi
Typica		37.77 j	5.77 d	4.77 i
Caturra Roja		40.17 h	7.86 a	8.07 f
CR95 F1		38.83 i	6.67 c	5.93 gh
CR95 F2		39.00 i	6.90 bc	6.40 g
CR95 F3		38.10 j	5.62 bc	4.27 i
Sarchimor		39.20 i	7.11 bc	6.77 g
Robusta		40.37 h	7.27 b	7.80 f
Intervalo		37.77-40.37	5.20-7.86	4.27-8.07

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $P < 0.05$).

El proceso de tostado afectó significativamente ($P < 0.05$) los parámetros de color del grano verde, que pasó de un color amarillo-verde ($a^* = 0.71$, $b^* = 16.55$ y $L = 67.95$) a marrón claro ($a^* = 6.34$, $b^* = 5.74$ y $L = 38.81$) (Cuadro 12). La luminosidad presentó una disminución promedio del 42% en los granos tostados, observando valores de $L^* = 37.77-40.37$ (Cuadro 11) que como es de esperarse, corresponde a un color más oscuro, en el caso de las coordenadas, a^* (color rojo) presentó un aumento a un intervalo de 5.20-7.86 y b^* (color amarillo) disminuyó a un intervalo de 4.27-8.07 (Cuadro 11).

El cambio de color se ha atribuido a la formación de melanoidinas, pigmentos marrón capaces de absorber luz a longitudes de onda de hasta 420 nm, producto de diversas

reacciones, principalmente entre mono- y di- sacáridos con péptidos, proteínas y/o aminoácidos libres, ocasionadas por las altas temperaturas (Reacción de Maillard) (Saklar *et al.*, 2001; Lindenmeier *et al.*, 2002).

Cuadro 12. Comparación de medias del efecto del proceso de tostado en los parámetros de color de los granos de café.

	L*	a*	b*
Verde	67.95 a	0.71 b	16.55 a
Tostado	38.81 b	6.34 a	5.74 b

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, $P < 0.05$).

La intensidad del color oscuro de los granos ha sido usado para controlar el grado de tostado (Somporn *et al.*, 2011). El parámetro de luminosidad (L^*) se correlaciona negativamente con el grado de tostado ya que disminuye gradualmente conforme aumenta el tiempo y temperatura (Saklar *et al.*, 2001), por esta razón, y para obtener un grado de tostado ligero en todas las variedades se utilizó este parámetro como referencia. Las muestras evaluadas registraron valores de L^* en un intervalo estrecho de 37.77 a 40.37 (Cuadro 11), similares a lo reportado por Somporn *et al.* (2011) y Cho *et al.* (2014) para café tostado ligero.

El efecto de la variedad en las características biofísicas de granos de café verde y tostado se puede observar en el Cuadro A3 del apéndice.

7.2 Parámetros fisicoquímicos y azúcares en granos de café verde y tostado

7.2.1 Humedad y actividad de agua (a_w) en granos de café verde y sus cambios con el tostado

El contenido de humedad en los granos de café verde estuvo en el intervalo de 10.0-11.5% (Cuadro 13), valores que se encuentran dentro del intervalo establecido por la norma para café verde (NMX-F-551-SCFI-2008). Adicionalmente, Pineda *et al.* (2001) indicaron que los granos de café verde almacenados con humedad entre el 10-12%, permite almacenarlos sin el deterioro de su calidad. Las muestras de café verde

evaluadas en este estudio registraron a_w en un intervalo de 0.51 a 0.65 (Cuadro 13), al respecto, Diaz *et al.* (1973) señalaron que los granos de café verde con a_w entre 0.5 y 0.6, permanecen estables hasta por un año mientras la temperatura no exceda 25 °C.

Cuadro 13. Contenido de agua y acidez de granos de café verde y tostado.

Variedad		Humedad (%)	a_w	Acidez titulable	pH
Mundo Novo	Verde	10.9 ab	0.65 a	1.19 f	5.9 d
Bourbon		10.4 abc	0.58 bc	1.20 f	6.0 c
Typica		10.8 ab	0.51 d	1.31 f	5.8 e
Caturra Roja		10.0 c	0.58 bc	0.94 g	6.38 b
CR95 F1		10.3 bc	0.58 bc	0.82 g	6.5 a
CR95 F2		10.2 bc	0.57 c	1.24 f	5.9 d
CR95 F3		10.4 abc	0.51 d	0.92 g	6.34 ab
Sarchimor		10.3 bc	0.52 d	1.32 f	6.35 b
Robusta		11.5 a	0.60 b	1.23 f	5.9 cd
Intervalo		10-11.5	0.51-0.65	0.82-1.32	5.8-6.38
Mundo Novo	Tostado	2.2 e	0.12 i	1.51 e	5.4 g
Bourbon		2.6 de	0.17 gh	1.98 c	5.0 j
Typica		2.5 e	0.19 fg	1.86 cd	5.1 i
Caturra Roja		2.5 e	0.17 gh	2.13 b	4.9 k
CR95 F1		2.9 de	0.16 h	2.19 b	4.9 k
CR95 F2		3.7 d	0.23 e	2.46 a	4.7 l
CR95 F3		2.4 e	0.16 h	1.79 d	5.2 h
Sarchimor		2.4 e	0.16 h	1.58 e	5.4 fg
Robusta		2.0 e	0.20 f	1.64 e	5.5 f
Intervalo		2.0-3.7	0.12-0.23	1.51-2.46	4.7-5.5

a_w = actividad de agua; Acidez titulable = g ác. málico 100 g⁻¹. Las medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

El efecto del tostado en la humedad y a_w en los granos de café fue significativo ($P < 0.05$). Independientemente de la variedad, la humedad disminuyó en promedio de 10.5 a 2.6%, así como también la a_w de 0.6 a 0.2 (Cuadro 14). Como se indicó, la pérdida de peso de los granos de café tostado se debe principalmente a la pérdida de agua en forma de vapor debido a la temperatura elevada del tostado (> 160 °C), lo que se demostró con la disminución del contenido de agua en los granos de café durante el proceso lo que provocó que la humedad y a_w disminuyeran en un 75 y 70%, respectivamente.

Clifford (1985) indicó que los granos de café tostado y molido se almacenan normalmente a humedad no superior al 4%, lo que, a 20 °C, corresponde a actividades de agua entre 0.10 y 0.30, esto corresponde con el intervalo de a_w que presentaron los granos de café tostado en este estudio, de 0.12-0.23 (Cuadro 13).

Cuadro 14. Comparación de medias del efecto del tostado en los parámetros fisicoquímicos y azúcares de granos de café.

	Humedad (%)	a_w	Acidez		Azúcares (mg glucosa g ⁻¹)	
			At	pH	Totales	Reductores
Verde	10.5 a	0.60 a	1.1 b	6.1 a	40.52 a	15.24 b
Tostado	2.6 b	0.20 b	1.9 a	5.1 b	20.65 b	28.38 a

a_w = actividad de agua, At = acidez titulable (g ác. málico 100 g⁻¹ bs). Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

7.2.2 Acidez titulable y pH en granos de café verde y sus cambios con el tostado

La acidez es un atributo importante de la calidad del café en combinación con el dulzor, amargor y perfil aromático. La acidez titulable de los granos de café verde estuvo en el intervalo de 0.82–1.32 g ác. málico 100 g⁻¹, valores homogéneos para la mayoría de las variedades, excepto para CR95 F1, F3 y Caturra Roja (0.82, 0.94 y 0.92, respectivamente) que tuvieron los valores menores (Cuadro 13). El pH que presentaron los granos de café verde estuvo en un intervalo de 5.8 a 6.38, los granos con mayor pH fueron los de las variedades CR95 F1, F3, Sarchimor y Caturra Roja (6.5-6.34) y los de menor pH fue Typica con 5.8. La acidez en el café verde se debe principalmente a la presencia de ácidos cítrico, málico, clorogénico y quínico (Ginz *et al.*, 2000; Van der Stegen y Van Duijn, 1987).

El proceso de tostado provocó un incremento en la acidez y disminución del pH (Cuadro 14) con una correlación negativa ($r = -0.97$, Cuadro 18). Se ha reportado que el aumento de la acidez en granos tostados está relacionado con la presencia de ácidos alifáticos (fórmico, acético, glicólico y láctico) y ácido quínico, productos de degradación de mono- y di- sacáridos y del ácido clorogénico durante el tostado (Ginz *et al.*, 2000). Somporn *et al.* (2011) reportaron la disminución del pH de 5.53 a 5.46 en granos de café

verde variedad Catimor provenientes de Tailandia (cultivados a 780 msnm) con el proceso de tostado ligero.

El intervalo de acidez en café tostado fue de 1.51-2.46 g ác. málico 100 g⁻¹ (Cuadro 13). El pH más bajo se observó en la variedad CR95 F2 que tuvo también mayor acidez (2.46 g ác. málico 100 g⁻¹; Cuadro 13). Vitzthum (1976) reportó que las bebidas de café arábica son más ácidas que robusta, con intervalos de pH de 4.85 a 5.15 y de 5.25 a 5.40, respectivamente. En este estudio la variedad Robusta mostró el mayor pH (5.5) y la menor acidez titulable (1.64 g ác. málico 100 g⁻¹) en comparación con las variedades de *C. arabica* a excepción de las variedades Sarchimor y Mundo Novo que presentaron similitud con Robusta en ambos parámetros (Cuadro 13).

7.2.3 Azúcares totales y reductores en granos de café verde y sus cambios con el tostado

La concentración de azúcares totales y reductores de los granos de café verde se presentó en un amplio intervalo (Cuadro 15). La variedad CR95 F2 presentó el mayor contenido de azúcares totales y coincidió con el nivel más alto de azúcares reductores (49.40 y 23.44 mg glucosa g⁻¹, respectivamente), a diferencia de CR95 F1 y F3, que presentaron concentraciones de azúcares similares a las variedades de *C. arabica*, Typica y Bourbon, de 43.24 a 45.60 mg glucosa g⁻¹ para azúcares totales y de 14.20 a 16.60 mg glucosa g⁻¹ para azúcares reductores (Cuadro 15).

A pesar que se ha reportado que la variedad Robusta presenta concentraciones mayores de polisacáridos y azúcares reductores (Silwar y Lüllman, 1988; Farah, 2012), la variedad Robusta analizada en este estudio presentó el menor contenido de azúcares totales (29.02 mg glucosa g⁻¹) y reductores (11.14 mg glucosa g⁻¹), sin embargo, también se ha reportado que *C. canephora* presenta un contenido menor de sacarosa que *C. arabica* (Silwar y Lüllman, 1988), a lo que puede atribuirse la menor concentración de azúcares totales (Cuadro 15). Por otro lado, Mundo Novo presentó concentraciones similares a Robusta (30.83 mg glucosa g⁻¹ en azúcares totales y 11.67

mg glucosa g⁻¹ en azúcares reductores) a pesar de pertenecer a la especie *C. arabica* (Cuadro 15).

Cuadro 15. Concentración de azúcares totales y reductores (mg glucosa g⁻¹) en granos de café verde y tostado.

Variedad		Totales	Reductores
Mundo Novo	Verde	30.83 d	11.67 i
Bourbon		43.36 b	14.79 gh
Typica		43.24 b	15.26 gh
Caturra Roja		39.19 bc	13.50 hi
CR95 F1		45.61 ab	14.19 gh
CR95 F2		49.40 a	23.44 e
CR95 F3		43.67 b	16.58 fg
Sarchimor		40.32 bc	16.60 fg
Robusta		29.02 d	11.14 i
Intervalo		29.02-49.40	11.14-23.44
Mundo Novo	Tostado	17.32 gh	23.40 e
Bourbon		25.85 e	32.67 b
Typica		28.55 d	26.69 d
Caturra Roja		12.30 i	29.67 c
CR95 F1		27.75 de	29.36 c
CR95 F2		20.80 f	39.90 a
CR95 F3		15.15 h	26.05 de
Sarchimor		16.68 gh	23.94 e
Robusta		21.46 f	23.77 e
Intervalo		12.30-28.55	23.40-39.90

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, P<0.05).

El proceso de tostado provocó una disminución de azúcares totales de un promedio de 40.52 a 20.65 mg glucosa g⁻¹ (Cuadro 14), con una reducción desde 26% en Robusta hasta 68% en Caturra Roja (Cuadro 15). La mayor concentración de azúcares totales en café tostado la presentó Typica (28.55 mg glucosa g⁻¹) y la menor Caturra Roja (12.30 mg glucosa g⁻¹).

La reducción de los azúcares totales se debe a la degradación térmica de los carbohidratos presentes en café verde, principalmente sacarosa (que se degrada rápidamente en glucosa y fructosa) y azúcares reductores, que además son precursores de la reacción de Maillard y caramelización, donde se producen compuestos de bajo peso molecular como furanos, aldehídos, cetonas y fenoles, y las

melanoidinas que incorporan en su estructura otros componentes, como ácidos clorogénicos y carbohidratos de alto peso molecular presentes en la pared celular del grano como galactomananos, y arabinogalactano-proteínas (Redgwell *et al.*, 2002, Bekedam *et al.*, 2008), todos estos productos, son importantes en el desarrollo del color y aroma del café tostado.

Se observó un aumento en el contenido de azúcares reductores de un promedio de 15.24 a 28.38 mg glucosa g⁻¹ (Cuadro 14). El incremento de azúcares reductores en el café tostado puede atribuirse a la presencia de arabinanos y galactanos, productos de la degradación de los polisacáridos de la pared celular, especialmente de las arabinogalactano-proteínas ya que son más susceptibles a la degradación térmica durante el tostado como lo indicaron Redgwell y Fischer (2006) y Redgwell *et al.* (2002).

En este estudio, los azúcares reductores superaron la concentración de azúcares totales en la mayoría de las variedades, excepto Typica que tuvo una concentración de azúcares reductores de 26.69 mg glucosa g⁻¹, menor a los azúcares totales del grano tostado (Cuadro 15). El método usado para determinar azúcares reductores en los granos se basa en la reducción del ácido 3-5 dinitrosalicílico (DNS), sin embargo, otros compuestos presentes en los granos de café tostado pudieron haber reaccionado, como las melanoidinas que son compuestos principalmente aniónicos, es decir, presentan iones negativos, por lo que es posible que actúen como reductores (Wang *et al.*, 2011).

El efecto de la variedad en los parámetros fisicoquímicos y el contenido de azúcares totales y reductores de granos de café verde y tostado se puede observar en el Cuadro A4 del apéndice.

7.3 Polifenoles totales y actividad antioxidante en granos de café verde y tostado

Los granos de café son considerados una fuente rica de compuestos biológicamente activos como la cafeína, ácidos clorogénicos, ácido nicotínico, trigonelina, cafestol, y kahweol, que tienen gran potencial como antioxidantes (Komes y Bušić, 2014). La capacidad antioxidante del café verde se asocia principalmente al contenido de

compuestos fenólicos, así como la del café tostado a la presencia tanto de compuestos nativos remanentes como a los formados durante el proceso de tostado como las melanoidinas (Komes y Bušić, 2014; Vignoli *et al.*, 2011).

7.3.1 Polifenoles totales (PT) de granos de café verde y sus cambios con el tostado

Los polifenoles son abundantes micronutrientes en la dieta y sus efectos sobre la salud como la prevención de enfermedades degenerativas y cardiovasculares dependen de la cantidad consumida y de su biodisponibilidad (Manach *et al.*, 2004). Los ácidos fenólicos son los compuestos fenólicos más abundantes en el grano de café verde, y su biodisponibilidad en el ser humano ha sido bien estudiada (Nardini *et al.*, 2002; Upadhyay y Rao, 2013).

El café verde mostró un intervalo amplio de PT, de 40.8 hasta 85.8 mg EAG g⁻¹, las variedades que presentaron mayor concentración de estos compuestos fueron CR95 F3 y Robusta (85.8 y 71.8, respectivamente), seguido de Mundo Novo, Typica y CR95 F2; mientras que las de menor concentración fueron Sarchimor y Bourbon (40.8 y 42.3, respectivamente) (Figura 13).

El contenido de PT de estas variedades de café fue superior a las reportadas por algunos autores como Somporn *et al.* (2011) quienes reportaron una concentración de 34.32 mg EAG g⁻¹ en granos de café verde de la variedad Catimor cultivada a 780 msnm (Tailandia), Hecimovic *et al.* (2011) reportaron concentraciones de 31 y 22 mg EAG g⁻¹ para variedades de *C. arabica*, Minas y Cioccolatato, respectivamente, obtenidas en un mercado local de Croacia y Cho *et al.* (2014) reportaron 38 mg EAG g⁻¹ para la variedad Medellin (*C. arabica*) proveniente de Korea. Por otro lado, Cheong *et al.* (2013) reportaron concentraciones dentro del intervalo de PT obtenido en este estudio, con concentraciones de 48.51 y 53.76 mg EAG g⁻¹ para variedades Typica y Catimor provenientes de Indonesia y China, respectivamente.

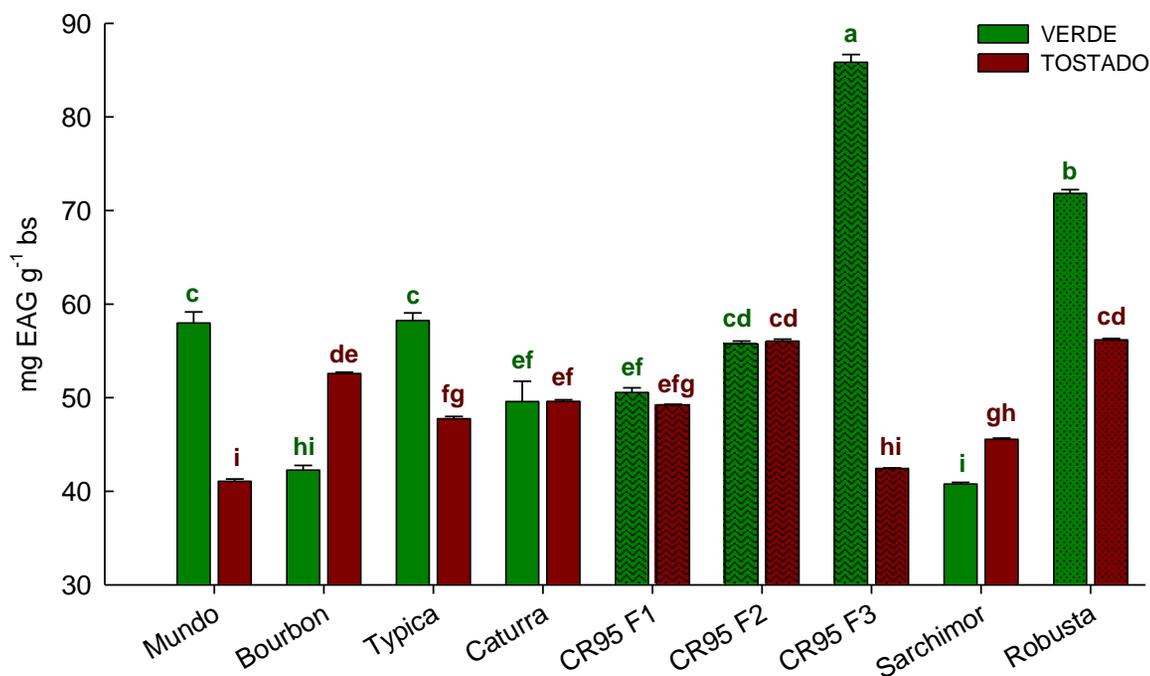


Figura 13. Concentración de polifenoles totales en granos de café verde y tostado por variedad.

Independientemente de la variedad, el contenido de PT disminuyó en promedio un 15% con el proceso de tostado (Cuadro 16). Las variedades con mayor contenido de PT en café verde (CR95 F3, Robusta, Mundo Novo y Typica) disminuyeron su concentración con el tostado y las de menor contenido en verde aumentaron (Bourbon y Sarchimor), mientras que las de concentración intermedia, permanecieron sin cambios (CR95 F2, F1 y Caturra Roja).

Cuadro 16. Comparación de medias del efecto del tostado en compuestos fenólicos y actividad antioxidante en granos de café verde.

	DPPH	FRAP	PT	ACG	ANCG	Cafeína
Verde	330.6 a	560.2 a	57.0 a	52.3 a	4.6 a	11.7 b
Tostado	301.4 b	456.8 b	48.9 b	10.1 b	4.5 a	14.5 a

PT=Polifenoles totales (mg EAG/g bs). AT=Acidez titulable (g ác. málico/100 g bs), aw= Actividad de agua. Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

Los cambios en los PT se han atribuido a reacciones de degradación, isomerización, epimerización y lactonización que ocurren durante el tratamiento térmico que involucra a los compuestos fenólicos, principalmente los ácidos clorogénicos por su abundancia en los granos de café verde (Trugo y Macrae, 1984; Farah *et al.*, 2005; Perrone *et al.*, 2008).

La concentración de PT en café tostado estuvo en un intervalo de 41.1-56.2 mg EAG g⁻¹. Kitzberger *et al.* (2014) reportaron una concentración de polifenoles totales en granos de café tostado de la variedad Bourbon y Sarchimor (47 y 45 mg EAG g⁻¹) similar a las reportadas en este estudio para Sarchimor (45.6 mg EAG g⁻¹) y Caturra Roja y CR95 F1 (49.3 y 49.6 mg EAG g⁻¹, respectivamente). Cho *et al.* (2014) reportaron un incremento en la concentración de PT con el proceso de tostado ligero, de 38 a 55 mg EAG g⁻¹ mientras que Somporn *et al.* (2011) reportaron una ligera disminución, de 34.32 a 31.55 mg EAG g⁻¹.

7.3.2 Actividad antioxidante en granos de café verde y sus cambios con el tostado

La actividad antioxidante (AA) en café verde por los métodos DPPH y FRAP estuvo en un intervalo entre 231-374 y 468-837 $\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$, respectivamente. Los granos de la variedad CR95 F3 presentaron la mayor AA por los dos métodos evaluados, seguida de CR95 F1, Typica y Mundo Novo en DPPH y de Robusta y CR95 F1 y F2 en FRAP (Figura 14 y 15).

Las variedades de café que presentaron mayor AA en café tostado fueron CR95 F2, Bourbon y Robusta que, a pesar de pertenecer a genotipos y fincas diferentes, presentaron similitudes en este parámetro. Por otro lado, las variedades que presentaron menor AA por ambos métodos fueron Sarchimor, Mundo Novo y CR95 F3 (Figuras 14 y 15).

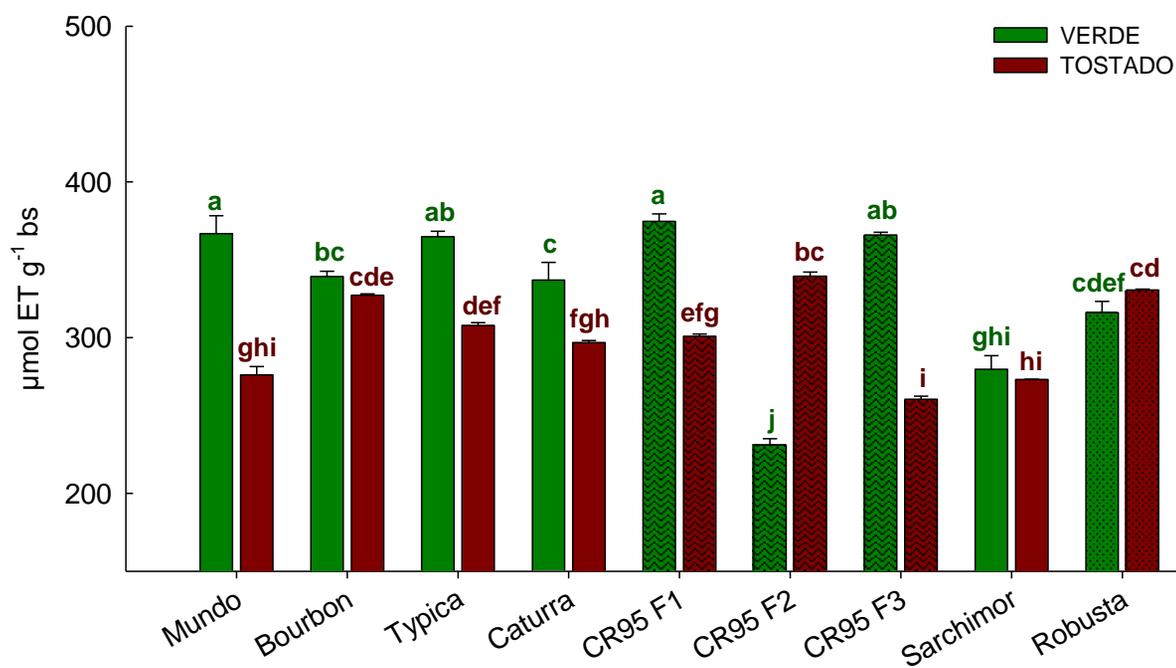


Figura 14. Actividad antioxidante por el método de DPPH en granos de café verde y tostado por variedad.

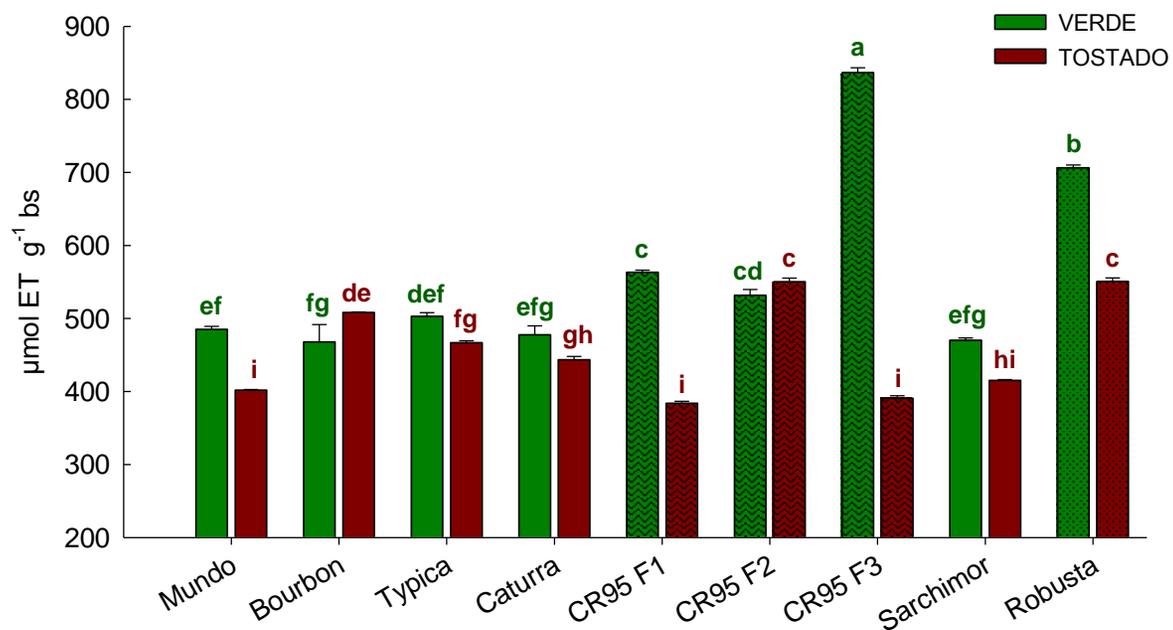


Figura 15. Actividad antioxidante por el método de FRAP en granos de café verde y tostado por variedad.

La actividad antioxidante disminuyó significativamente ($P < 0.05$) con el proceso de tostado, independientemente de la variedad, se observó la disminución de la AA en un 9% por el método de DPPH y en un 18% por el método de FRAP (Cuadro 16). Sin embargo, se observó el incremento de la AA en la variedad CR95 F2 por los dos métodos y en Robusta y Bourbon por DPPH y FRAP, respectivamente (Figura 14 y 15). Durante el tostado, la actividad antioxidante puede disminuir, mantenerse sin cambios o aumentar debido a que ocurre la degradación parcial de compuestos fenólicos y la generación de productos de la Reacción de Maillard, que se ha reportado que presentan actividad antioxidante como capacidad quelante de metales y actividad captadora de radicales (Wang *et al.*, 2011).

Generalmente en la literatura se describe el aumento de la actividad antioxidante del grano de café verde con el proceso de tostado, sin embargo, puede ocurrir una disminución conforme aumenta el grado de tostado, lo que se asocia principalmente a la degradación de los ácidos clorogénicos, Somporn *et al.* (2011) y Cho *et al.* (2014) reportaron el incremento de la actividad antioxidante por el método de DPPH, de los granos de café verde con el proceso de tostado ligero y la subsecuente disminución conforme aumenta el grado de tostado hasta un tostado oscuro.

7.4 Identificación de compuestos fenólicos individuales y cafeína por HPLC en granos de café verde y tostado

Además de su aspecto funcional, los ácidos clorogénicos son importantes para la calidad sensorial de la bebida de café. Estos compuestos generan ácidos fenólicos libres, y, por lo tanto, son precursores de los compuestos fenólicos volátiles que participan en el desarrollo del aroma de café (Farah y Donangelo, 2006).

7.4.1 Ácido clorogénico en granos de café verde y sus cambios con el tostado

El 5-cafeoilquinico o 5-CQA por su nombre en inglés (5-caffeoylquinic acid) es el compuesto fenólico más abundante y constituye de 76-84% de los ácidos clorogénicos totales (ACGT) en café verde (Perrone *et al.*, 2008). En las muestras analizadas en este

estudio, la concentración de ACG estuvo en un intervalo de 44.05-59.73 mg ACG g⁻¹, donde la variedad Typica registró la mayor concentración y la variedad Robusta la menor (Figura 16).

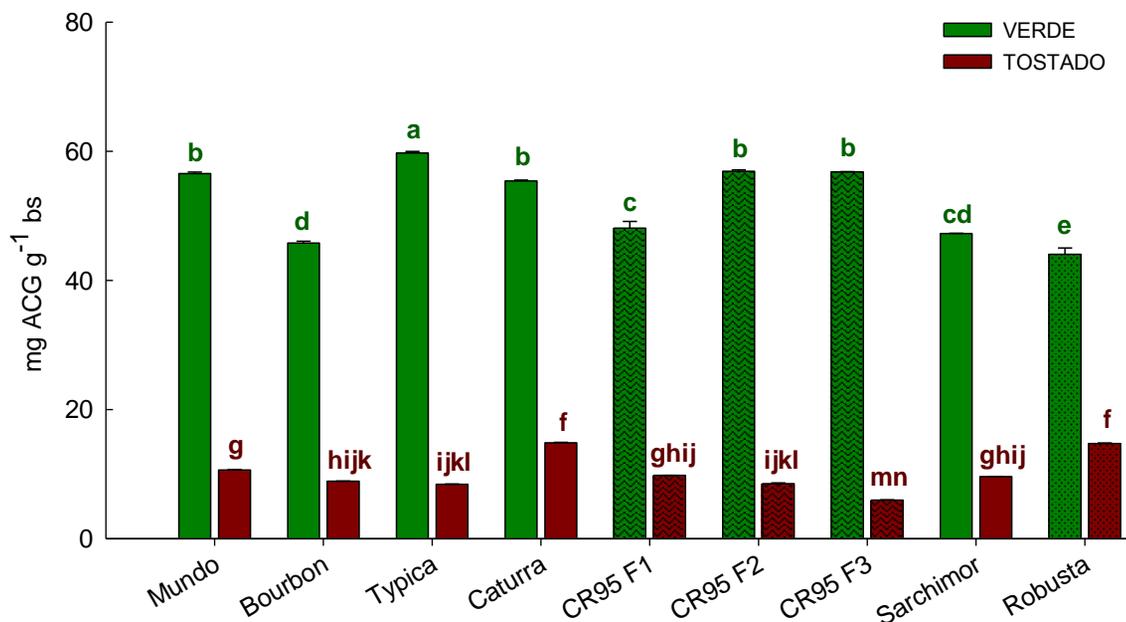


Figura 16. Concentración de ácido clorogénico en granos de café verde y tostado por variedad.

Bertrand *et al.* (2008) evaluaron el contenido de ácidos clorogénicos en granos de café verde Caturra y Catimor provenientes de tres localidades de Colombia ubicadas a diferentes altitudes, Naranjal (1381 m), Paraguacito (1203 m) y Rosario (1635 m), la concentración de ácido clorogénico no mostró contraste entre localidades, pero sí entre variedades, una de las variedades Catimor (BGB.1040) presentó la concentración más alta (46.51 mg ACG g⁻¹) y Caturra la más baja (39.15 mg ACG g⁻¹). Duarte *et al.* (2010) evaluaron la concentración de ácidos clorogénicos de granos de café verde procesados por beneficio húmedo provenientes de Brasil y reportó concentraciones menores de ACG, 35.28 y 28.52 mg 5-CQA g⁻¹ para variedades Catimor. Es importante señalar que, a excepción de Robusta y Bourbon, todas las variedades analizadas en este estudio

tuvieron mayor contenido de ácido clorogénico (48.10-59.73 mg 5-CQA g⁻¹) en comparación con los estudios antes señalados.

Independientemente de la variedad, el proceso de tostado provocó una disminución drástica en el contenido de 5-CQA en promedio de 52.3 a 10.1 mg ACG g⁻¹ (80%) La disminución del ácido clorogénico (5-CQA) en café verde es consecuencia de la degradación térmica a partir de la ruptura de los enlaces covalentes carbono-carbono, resultando en isomerización en las primeras etapas del tostado, los niveles de 5-CQA disminuyen considerablemente, mientras que los sustitutos en las posiciones 3 y 4 (3-CQA y 4-CQA) pueden aumentar hasta el doble de su nivel original (Trugo y Macrae, 1984; Farah *et al.*, 2005).

Además de la isomerización, ocurren reacciones de epimerización y lactonización en las últimas etapas. Durante la lactonización, se producen cinamoil-1-5-quinolactonas por la pérdida de una molécula de agua y la formación de un enlace intramolecular entre las posiciones 1 y 5 del ácido quínico (Farah *et al.*, 2005; Perrone *et al.*, 2008). Los ácidos clorogénicos también participan en reacciones de polimerización, incorporándose así a las melanoidinas del café tostado (Bekedam *et al.*, 2008; Perrone *et al.*, 2012).

Los granos tostados registraron un intervalo de concentración de 5.96-14.83 mg ACG g⁻¹, las variedades que presentaron mayor contenido de este compuesto fueron Caturra y Robusta (14.83 y 14.73 mg ACG g⁻¹, respectivamente) mientras que las de menor concentración fueron CR95 F3, F2 y Typica (5.96, 8.50 y 8.43 mg ACG g⁻¹ respectivamente) (Figura 16). Kitzberger *et al.* (2014) reportaron la concentración de 5-CQA en granos de café tostado medio (8-11 min a 200-210 °C) de la variedad Sarchimor (9.36 mg ACG g⁻¹) y Bourbon (16.95 mg ACG g⁻¹) cultivadas en Brasil (650 m de altitud), estas concentraciones fueron similares a las reportadas en este estudio para la variedad Sarchimor (9.6 mg ACG g⁻¹) pero superiores a la variedad Bourbon (8.87 mg ACG g⁻¹; Figura 16).

7.4.2 Ácido neoclorogénico (3-CQA) en granos de café verde y sus cambios con el tostado

La concentración del ácido neoclorogénico en café verde mostró contraste entre variedades ($P < 0.05$), en la Figura 17 se observa que algunas variedades aumentaron y otras disminuyeron su concentración durante el tostado, sin embargo, a diferencia de su isómero más abundante (5-CQA) el cambio no fue drástico ya que se encontraron intervalos de 2.88 a 6.04 mg ANCG g^{-1} en café verde y de 3.42 a 5.65 mg ANCG g^{-1} en café tostado.

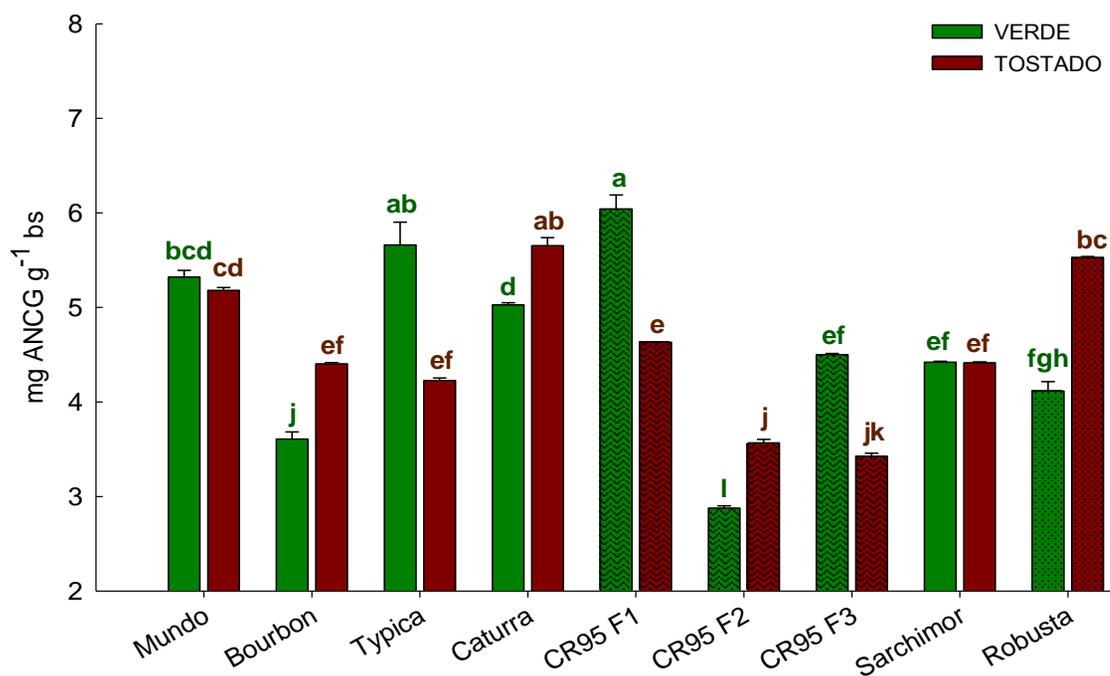


Figura 17. Concentración de ácido neoclorogénico (3-CQA) en granos de café verde y tostado por variedad.

Bertrand *et al.* (2008) no encontraron contraste ($P < 0.05$) en granos de café verde de variedades Caturra y Catimor con base en su concentración de ácido neoclorogénico (3-CQA) que estuvo en un intervalo de 3.54-3.83 mg ANCG g^{-1} , sin embargo, éste ácido mostró diferencias significativas entre localidades, donde la localidad Paraguacito presentó la concentración más alta (4.09 mg ANCG g^{-1}) en comparación con Naranjal y

Rosario (3.45 y 3.49, respectivamente). Estas concentraciones fueron similares a la variedad CR95 F2 y F3 (3.6 y 4.5 mg ANCG g⁻¹) pero inferiores a Caturra roja y CR95 F1 (5.03 y 6.04 mg ANCG g⁻¹; Figura 17).

En café tostado las variedades con mayor concentración fueron Caturra Roja, Robusta y Mundo Novo (5.7, 5.5 y 5.2 mg ANCG g⁻¹ respectivamente) y las de menor concentración CR95 F3 (3.4 ANCG g⁻¹) y F2 (3.6 mg ANCG g⁻¹) (Figura 17).

Farah *et al.* (2005) evaluaron los cambios en la concentración de ácidos clorogénicos con el proceso de tostado a 230 °C en grados de tostado muy ligero (5 min), ligero (6 min), ligero medio (7 min), oscuro medio (8 min), oscuro (9 min) y muy oscuro (10 min), estos autores encontraron que al minuto cinco se observó un incremento en el contenido del ácido 3-cafeoilquínico en comparación con el café verde, y a partir de 6 minutos, la concentración comenzó a bajar, de 9.96 mg ANCG g⁻¹ en tostado muy ligero hasta 0.8 mg ANCG g⁻¹ en tostado muy oscuro. Los autores atribuyen este comportamiento a la isomerización y degradación de los ácidos clorogénicos que ocurre en las primeras etapas del tostado además es posible que ocurra una hidrólisis parcial en di-CQA a monoésteres derivados (Leloup *et al.*, 1995) y la pérdida de otros compuestos que son más sensibles al calor, causando un aumento relativo en los niveles de los restantes.

Se ha reportado que la causa principal de la variación en la concentración de ácidos clorogénicos dentro de un grupo genético se debe al origen geográfico (Ky *et al.*, 2001), lo que puede explicar las diferencias en la concentración de 5-CQA y 3-CQA en las variedades evaluadas.

7.4.3 Cafeína en granos de café verde y sus cambios con el tostado

La cafeína es un alcaloide presente en cantidad variable en los granos de café, ésta es la responsable de los efectos fisiológicos de la bebida como la disminución de la fatiga y el aumento en la agilidad mental (Harland, 2000). La concentración de cafeína en café verde estuvo en un intervalo de 9.02-18.87 mg cafeína g⁻¹ (Figura 18). Esto fue

similar a lo reportado por Duarte *et al.* (2010) quienes observaron concentraciones de 12.3 y 12.2 mg cafeína g⁻¹ para variedades Catimor provenientes de Minas Gerais en Brasil.

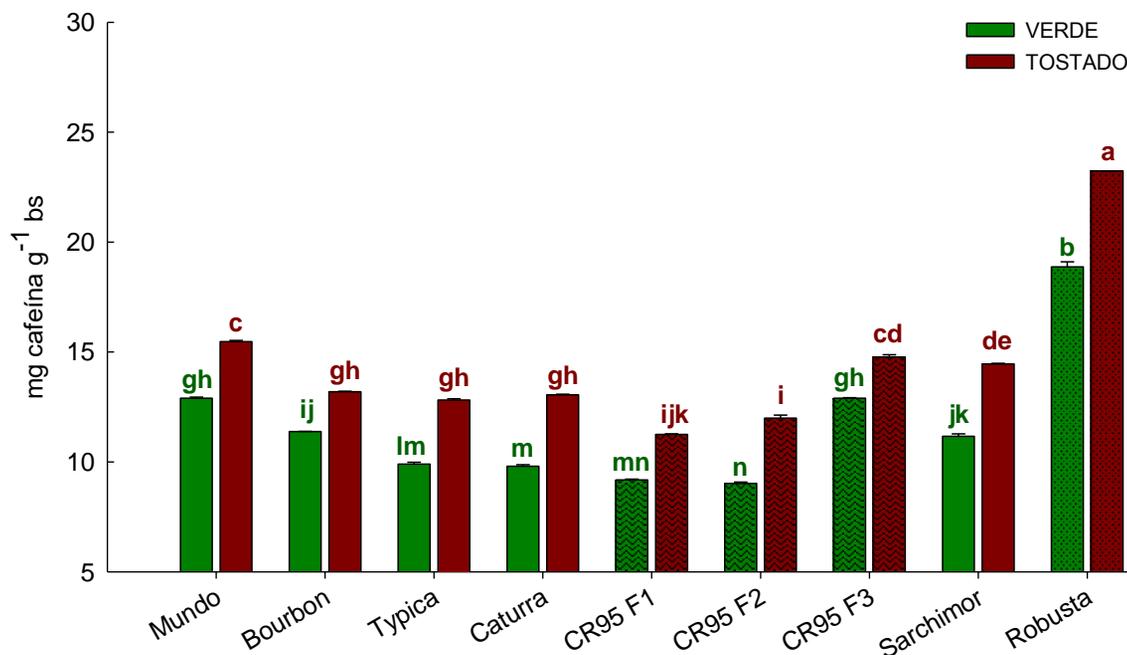


Figura 18. Concentración de cafeína en granos de café verde y tostado por variedad.

La variedad Robusta (*C. canephora*), presentó el mayor contenido de cafeína en verde y tostado (18.9 y 23.2 mg cafeína g⁻¹) lo que concuerda con lo reportado por algunos autores, que indican que esta especie presenta mayor contenido de cafeína que *C. arabica* (Ky *et al.*, 2001; Tfouni *et al.*, 2012). Se observó que las variedades híbridas (Catimor CR95 y Sarchimor) no mostraron altos contenidos de cafeína (Figura 18).

Las variedades de *C. arabica* que mostraron mayor contenido de cafeína en granos verdes y tostados fue CR95 F3 (12.9 y 14.8 mg cafeína g⁻¹) y Mundo Novo (12.9 y 15.4 mg cafeína g⁻¹) mientras que las de niveles menores fueron CR95 F1 y F2 (Figura 18). Mazzafera y Silvarolla (2010) reportan que en granos de la especie *C. arabica*, la mayor

concentración de cafeína se encuentra en los granos de café de mayor calidad y viceversa, y que la misma tendencia se mantiene durante el tostado.

Independientemente de la variedad, la cafeína incrementó significativamente ($P < 0.05$) con el tostado, en promedio de 11.7 a 14.5 mg cafeína g^{-1} (Cuadro 16). Tfouni *et al.* (2012) evaluaron la influencia del tostado en granos de café verde y tostado de *C. arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 y *C. canephora* cv. Apoata IAC-2258 cultivadas en la región de Campinas, Sao Paulo, Brasil y reportaron un incremento con el proceso de tostado ligero, de 11.10 a 11.92 mg cafeína g^{-1} en la variedad Catuaí y de 14.86 a 16.98 mg cafeína g^{-1} en la variedad Apoata, estos autores mencionan que el aumento en la concentración de la cafeína puede deberse a que, durante el tostado, los granos de café reducen su peso hasta en un 10% de materia seca.

Adicionalmente, Farah (2012) indicó que la cafeína no se altera durante el proceso de tostado, pero pueden ocurrir pequeñas pérdidas conforme incrementa el grado de tostado debido a la sublimación. Sin embargo, se puede observar un incremento en el contenido de cafeína debido a la pérdida de otros compuestos.

La concentración de cafeína en granos de café tostado mostró un intervalo de 11.23-23.20 mg cafeína g^{-1} (Figura 18). Kitzberger *et al.* (2014) reportaron la concentración de cafeína en variedades híbridas Sarchimor en un intervalo de 10.38-13.09 mg cafeína g^{-1} y 10.83 mg cafeína g^{-1} para la variedad Bourbon, estos resultados son similares a los observados en las variedades de *C. arabica* evaluadas en este estudio (Figura 18).

Como conclusión de este apartado podemos indicar que la composición química de los granos de café verde fue muy variable, se observó que la variedad Catimor-CR95 cosechada en fincas diferentes (F1, F2 y F3) presentó diferencias entre ellas (en especial CR95 F3) en parámetros como volumen y peso de grano, acidez y pH, actividad antioxidante y polifenoles totales. A pesar de ser variedades híbridas (*C. arabica* \times *C. canephora*), las muestras de café CR95 F1 y F2, tuvieron concentraciones diferentes a la variedad Robusta y similares a las variedades de *C. arabica* en el

contenido de cafeína, ácidos clorogénicos (5-CQA y 3-CQA), azúcares totales y reductores y acidez entre otros.

Es de notar que las cinco variedades cosechadas en la Finca La reserva (Typica, Bourbon, Mundo Novo, Caturra Roja y CR95 F1) también presentaron diferencias significativas entre ellas ($P < 0.05$) en algunos parámetros como acidez y pH, azúcares totales, PT, contenido de ácidos clorogénicos y cafeína. Hay que resaltar que la variedad Mundo Novo a pesar de haber sido cultivada en la misma finca que las otras variedades de *C. arabica*, presenta concentraciones similares a la variedad Robusta en acidez, pH y azúcares totales y reductores.

Las diferencias observadas entre variedades, en especial la variedad Catimor CR95 puede deberse a que la composición química del grano de café está determinada no solamente por el componente genético, sino por la interacción entre éste y el medio ambiente en el cual se desarrolla el grano, es decir, de la zona geográfica donde es cultivado, además de las prácticas agrícolas (Ky *et al.*, 2001; Leroy *et al.*, 2006; Da Silva *et al.*, 2005; Komes y Vojvodić, 2014).

López-Castillo *et al.* (2016) resaltaron la importancia de evaluar las variedades regionales, en especial los híbridos ya que han demostrado superar a las variedades arabica tradicionales en cuanto a producción y calidad del grano (Bertrand *et al.*, 2006). Por otro lado, estos autores evaluaron la calidad sensorial (aroma, acidez, sabor y cuerpo) en 20 variedades comerciales de *C. arabica*, entre ellas Caturra, Bourbon, Typica y dos híbridos (Híbrido de Timor x Caturra) en el municipio de Zentla, Veracruz ubicado a 19° 02' 30" N, 96° 47' 30" O a una altitud promedio de 800 msnm. La calidad sensorial de los granos de café de las variedades evaluadas por estos autores no presentó diferencias en cuanto a sabor y las variedades híbridas presentaron valores similares a la variedad de mayor calidad (Pacamara) junto con Garnica, Typica y Bourbon, entre otras.

López-Castillo *et al.* (2016) indicaron que lo anterior puede deberse a que la calidad en taza de los granos de café se relaciona en mayor medida con los microclimas de las regiones de producción de acuerdo a lo reportado por Avelino *et al.* (2005) y no solo se ve influenciada por factores genéticos (Montagnon *et al.*, 1998).

El efecto de la variedad en la concentración de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y contenido de cafeína de granos de café verde y tostado se puede observar en el Cuadro A5 del apéndice.

7.5 Correlaciones entre parámetros evaluados en café verde y tostado

Las correlaciones significativas ($P < 0.05$) encontradas entre los parámetros medidos en granos de café verde (Cuadro 17) y tostado (Cuadro 18) indicaron una correlación inversa entre la acidez titulable y el pH en café verde ($r = -0.74$, Cuadro 17) y tostado ($r = -0.97$; Cuadro 18).

Cuadro 17. Correlación entre parámetros de acidez, color, compuestos fenólicos, cafeína y actividad antioxidante en granos de café verde.

Variable	At	pH	a*	b*	L*	AT	AR	PT	DPPH	FRAP	3-CQA	CAFEÍNA
At	1.00	-0.74	0.39	0.01	-0.39	-0.21	0.16	-0.24	-0.50	-0.37	-0.39	0.21
pH	-0.74	1.00	-0.03	0.04	0.38	0.26	-0.04	-0.12	0.19	0.15	0.30	-0.29
a*	0.39	-0.03	1.00	-0.47	-0.67	-0.52	-0.12	0.25	-0.43	0.36	-0.35	0.72
b*	0.01	0.04	-0.47	1.00	0.68	0.65	0.54	-0.37	-0.21	-0.42	0.25	-0.78
L*	-0.39	0.38	-0.67	0.68	1.00	0.67	0.33	-0.17	0.22	-0.22	0.42	-0.83
AT	-0.21	0.26	-0.52	0.65	0.67	1.00	0.80	-0.21	-0.24	-0.09	-0.20	-0.79
AR	0.16	-0.04	-0.12	0.54	0.33	0.80	1.00	-0.08	-0.70	-0.04	-0.58	-0.55
PT	-0.24	-0.12	0.25	-0.37	-0.17	-0.21	-0.08	1.00	0.25	0.92	0.00	0.53
DPPH	-0.50	0.19	-0.43	-0.21	0.22	-0.24	-0.70	0.25	1.00	0.19	0.79	0.07
FRAP	-0.37	0.15	0.36	-0.42	-0.22	-0.09	-0.04	0.92	0.19	1.00	-0.09	0.54
3-CQA	-0.39	0.30	-0.35	0.25	0.42	-0.20	-0.58	0.00	0.79	-0.09	1.00	-0.17
CAFEÍNA	0.21	-0.29	0.72	-0.78	-0.83	-0.79	-0.55	0.53	0.07	0.54	-0.17	1.00

At= acidez titulable, AT= azúcares totales, AR= azúcares reductores, a* y b*= coordenadas cromáticas, L*= luminosidad, PT= polifenoles totales; 3-CQA= ácido neoclorogénico, CAF= cafeína. Valores en color rojo muestran correlación significativa ($P < 0.05$).

La actividad antioxidante correlacionó positivamente con PT en café verde, $r = 0.92$ para el método de FRAP (Cuadro 17) y en café tostado $r = 0.94$ para DPPH y $r = 0.87$ para FRAP (Cuadro 18). Estas relaciones se deben a que los dos métodos utilizados para

evaluar la actividad antioxidante en este estudio (FRAP y DPPH) y la técnica de polifenoles totales (Folin-Ciocalteu) presentan mecanismos de reacción similares, al medir la capacidad del antioxidante de reducir a un oxidante a través de reacciones de transferencia de electrones (Huang *et al.*, 2005).

Cuadro 18. Correlación entre parámetros de acidez, color, compuestos fenólicos, cafeína y AA en granos de café tostado.

Variable	At	pH	a*	b*	L*	AR	PT	DPPH	FRAP	5-CQA	3-CQA	CAFEÍNA
At	1.00	-0.97	0.20	0.17	0.12	0.91	0.55	0.54	0.30	-0.10	-0.29	-0.60
pH	-0.97	1.00	-0.05	-0.02	0.05	-0.89	-0.38	-0.42	-0.16	0.21	0.33	0.76
a*	0.20	-0.05	1.00	0.94	0.83	0.02	0.36	0.14	0.15	0.73	0.51	0.21
b*	0.17	-0.02	0.94	1.00	0.96	0.06	0.56	0.34	0.37	0.83	0.60	0.34
L*	0.12	0.05	0.83	0.96	1.00	0.04	0.60	0.37	0.42	0.83	0.60	0.47
AR	0.91	-0.89	0.02	0.06	0.04	1.00	0.59	0.63	0.49	-0.22	-0.41	-0.54
PT	0.55	-0.38	0.36	0.56	0.60	0.59	1.00	0.94	0.87	0.37	0.11	0.20
DPPH	0.54	-0.42	0.14	0.34	0.37	0.63	0.94	1.00	0.89	0.28	0.09	0.11
FRAP	0.30	-0.16	0.15	0.37	0.42	0.49	0.87	0.89	1.00	0.28	0.04	0.37
5-CQA	-0.10	0.21	0.73	0.83	0.83	-0.22	0.37	0.28	0.28	1.00	0.93	0.51
3-CQA	-0.29	0.33	0.51	0.60	0.60	-0.41	0.11	0.09	0.04	0.93	1.00	0.43
CAFEÍNA	-0.60	0.76	0.21	0.34	0.47	-0.54	0.20	0.11	0.37	0.51	0.43	1.00

At= Acidez titulable, AR= azúcares reductores, a* y b*= coordenadas cromáticas, L*= Luminosidad, PT= polifenoles totales; 5-CQA= ácido clorogénico, 3-CQA= ácido neoclorogénico. Valores en color rojo muestran correlación significativa (P < 0.05).

Por otro lado, a pesar de ser el ácido clorogénico más abundante, no se encontró correlación significativa entre el ácido clorogénico (5-CQA) y la concentración de polifenoles totales en este estudio (dato no incluido), sin embargo, el ácido neoclorogénico (3-CQA) mostró correlación positiva con la actividad antioxidante por DPPH en café verde (r=0.79; Cuadro 17).

7.5 Identificación y cuantificación de ácidos grasos por CG-MS

Mediante el análisis de CG-MS se identificaron 17 ácidos grasos (AG) en muestras de café verde y tostado (Figura A15). Independientemente de la variedad, solo los ácidos mirístico (C14:0), behénico (C22:0) y lignocérico (C24:0) mostraron diferencias significativas (P<0.05) entre granos de café verde y tostado (Cuadro 19).

Cuadro 19. Significancia de los cuadrados medios del análisis de varianza de los ácidos grasos presentes en granos de café verde y tostado.

Fuentes de variación		Tostado	Variedad	Tostado x Variedad	Error	C.V. (%)
GL		1	8	8	54	
Mirístico	C14:0	0.005*	0.002**	0.001ns	0	26.2
Pentadecanoico	C15:0	0.003ns	0.016*	0.002ns	0.01	37.6
Palmítico	C16:0	2.69ns	13.62**	0.61ns	2.25	3.6
Margárico	C17:0	0.002ns	0.014**	0.003ns	0	15.6
Estearico	C18:0	0.815ns	5.515**	0.969ns	0.87	9.5
Araquídico	C20:0	0.126ns	0.416ns	0.488ns	0.34	13.7
Eneicosanoato	C21:0	0.009ns	0.005ns	0.008ns	0.006	18.4
Behénico	C22:0	0.542*	0.714ns	0.975ns	0.09	24.3
Tricosanoato	C23:0	0.044ns	0.030ns	0.024ns	0.018	30.1
Lignocérico	C24:0	0.045*	0.024*	0.015ns	0.009	20.1
Pentacosanoico	C25:0	<0.001ns	0.003**	<0.001ns	<0.001	28.1
Cerótico	C26:0	0.001ns	0.015**	0.002ns	0.001	16.4
Oleico	C18:1	1.33ns	6.74**	1.53ns	0.91	8.6
Eicosenoico	C20:1	<0.001ns	0.014 ns	0.022ns	0.018	21.7
Linoleico	C18:2	10.26ns	4.73ns	11.25ns	8.24	10.2
Eicosadienoico	C20:2	0.006ns	0.008*	0.004ns	0.003	18.6
Linolénico	C18:3	0.007ns	0.598**	0.088ns	0.082	12.9

GL= grados de libertad, ns=No significativo $P>0.05$; *=Significativo a $P<0.05$; **=Significativo a $P<0.01$.

Independientemente del proceso de tostado se observó efecto significativo de la variedad ($P<0.05$ y $P<0.01$) en ácidos grasos con porcentajes de área menores a 0.5% como C14:0, C15:0, C17:0, C24:0, C25:0, C26:0 y C20:2 y en ácidos grasos mayoritarios como C16:0, C18:0, C18:1 y C18:3 (Cuadro 19).

7.5.1 Perfil de ácidos grasos de granos de café verde

Los ácidos grasos mayoritarios identificados en granos de café verde fueron palmítico (C16:0) con un porcentaje de área promedio de 41.5%, linoleico (C18:2 n-6) con 27.7%, oleico (C18:1 n-9c) con 11%, esteárico (C18:0) con 9.9%, araquídico (C20:0) con 4.3% y linolénico (C18:3 n-3) con 2.2% (Cuadro 20).

Los porcentajes de área de AG de las variedades analizadas en este trabajo fueron diferentes a las reportadas por algunos autores como Bertrand *et al.* (2008) y Villarreal *et al.* (2009) quienes identificaron el perfil de ácidos grasos en variedades híbridas

Catimor (Caturra × Híbrido de Timor) y una variedad Caturra cultivadas en tres localidades de Colombia, y reportaron una mayor concentración de ácido linoleico (ω_2) (42-45%) y menor de ácido palmítico (31-35%), sin embargo, estas diferencias pueden ser atribuidas al origen genético y al lugar de cultivo de las muestras evaluadas. Por el contrario, Hurtado-Benavides *et al.* (2016) realizaron la extracción de aceite de café mediante dióxido de carbono supercrítico en café tostado y encontraron un porcentaje de ácido palmítico mayor al de ácido linoleico (46.1% y 32.9%, respectivamente), cabe señalar que la muestra de café analizada por estos autores fue producto de una mezcla de variedades Caturra y Castilla.

La concentración de ácidos grasos en café verde fue homogénea en 11 de ellos (C15:0, C17:0, C18:0, C20:0, C21:0, C22:0, C23:0, C24:0, C20:1, C18:2 y C20:2), por el contrario, los ácidos grasos saturados mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), pentacosanoico (C25:0), cerótico (C26:0) y los insaturados, oleico (C18:1) y linolénico (C18:3) mostraron contraste ($P < 0.01$) entre variedades (Cuadro 21).

Los granos de café verde de las variedades Mundo Novo y Bourbon mostraron el contenido menor de ácido palmítico (39.5 y 39.9%, respectivamente). Robusta presentó porcentaje de área de ácido mirístico superior a las demás variedades (0.16%), mientras que su contenido de ácido linolénico fue el menor (1.71%) junto con Caturra Roja (2.0%). Para el ácido C18:1, las variedades que presentaron el nivel mayor y menor fueron diferentes entre sí y corresponden a Robusta y CR95 F2 (12.5 y 9.37%, respectivamente).

Se observó similitud en el porcentaje de C25:0 y C26:0 entre las variedades CR95 F2, F3, Sarchimor y Robusta, que presentaron los niveles más altos, por el contrario, las variedades cosechadas en la finca La Reserva (F1), Bourbon, Typica, Caturra Roja y CR95 F1 presentaron los niveles menores, excepto Mundo Novo, que tuvo porcentajes más elevados (0.08 y 0.05% respectivamente; Cuadro 21).

Cuadro 20. Perfil de ácidos grasos promedio en granos de café verde y tostado.

	C14:0	C15:0	C16:0	C17:0	C18:0	C20:0	C21:0	C22:0	C23:0	C24:0	C25:0	C26:0	C18:1	C20:1	C18:2	C20:2	C18:3
Verde	0.11 a	0.05 a	41.5 a	0.16 a	9.91 a	4.3 a	0.19 a	1.32 a	0.25 a	0.49 a	0.08 a	0.05 a	11.0 a	0.61 a	27.7 a	0.11 a	2.23 a
Tostado	0.09 b	0.06 a	41.1 a	0.16 a	9.70 a	4.2 a	0.16 a	1.16 b	0.18 a	0.44 b	0.08 a	0.05 a	11.3 a	0.61 a	28.4 a	0.10 a	2.22 a

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

Cuadro 21. Perfil de ácidos grasos de granos de café verde por variedad.

AG	Mundo Novo	Bourbon	Typica	Caturra Roja	CR95 F1	CR95 F2	CR95 F3	Sarchimor	Robusta	Intervalo
C14:0	0.09 ± 0.01 ^b	0.11 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.01 ^b	0.12 ± 0.02 ^b	0.09 ± 0.00 ^b	0.10 ± 0.02 ^b	0.10 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.01 ^b	0.16 ± 0.01 ^a	0.09-0.16
C15:0	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.07 ± 0.03	0.03 ± 0.00	0.05 ± 0.03	0.06 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.12 ± 0.06	0.05 ± 0.00	0.02-0.12
C16:0	39.9 ± 0.20 ^b	39.5 ± 0.38 ^b	41.2 ± 0.82 ^a	42.1 ± 2.06 ^a	41.5 ± 0.32 ^a	44.3 ± 0.79 ^a	42.5 ± 0.37 ^a	41.0 ± 0.84 ^a	41.4 ± 0.86 ^a	39.5-44.3
C17:0	0.18 ± 0.01	0.14 ± 0.01	0.16 ± 0.04	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.04	0.14 ± 0.01	0.20 ± 0.01	0.21 ± 0.03	0.14 ± 0.02	0.12-0.21
C18:0	10.45 ± 0.10	10.5 ± 0.19	10.85 ± 0.54	9.47 ± 1.06	11.1 ± 0.16	9.28 ± 0.42	9.85 ± 0.10	8.76 ± 0.52	8.95 ± 0.63	8.80-11.1
C20:0	4.73 ± 0.03	4.40 ± 0.08	4.26 ± 0.35	3.79 ± 0.71	4.51 ± 0.06	4.12 ± 0.25	4.29 ± 0.03	4.07 ± 0.24	4.45 ± 0.30	3.80-4.70
C21:0	0.19 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.03	0.20 ± 0.01	0.17 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.17 ± 0.03	0.30 ± 0.14	0.14-0.30
C22:0	1.52 ± 0.04	1.32 ± 0.05	1.29 ± 0.12	1.12 ± 0.26	1.44 ± 0.07	1.16 ± 0.08	1.37 ± 0.07	1.28 ± 0.10	1.38 ± 0.43	1.12-1.52
C23:0	0.24 ± 0.03	0.16 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.02	0.30 ± 0.07	0.18 ± 0.02	0.72 ± 0.50	0.14-0.72
C24:0	0.50 ± 0.02	0.41 ± 0.02	0.40 ± 0.06	0.40 ± 0.03	0.47 ± 0.03	0.51 ± 0.04	0.57 ± 0.01	0.51 ± 0.02	0.61 ± 0.12	0.40-0.61
C25:0	0.08 ± 0.01 ^{ab}	0.05 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.01 ^b	0.06 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.01 ^b	0.1 ± 0.01 ^{ab}	0.12 ± 0.03 ^a	0.09 ± 0.01 ^{ab}	0.09 ± 0.01 ^{ab}	0.05-0.12
C26:0	0.05 ± 0.01 ^{ab}	0.03 ± 0.00 ^b	0.05 ± 0.01 ^{ab}	0.03 ± 0.00 ^b	0.04 ± 0.00 ^b	0.06 ± 0.01 ^{ab}	0.08 ± 0.01 ^a	0.09 ± 0.02 ^a	0.7 ± 0.00 ^{ab}	0.03-0.09
C18:1	11.5 ± 0.03 ^{ab}	11.2 ± 0.3 ^{ab}	10.9 ± 0.50 ^{ab}	10.0 ± 1.09 ^{ab}	12.0 ± 0.05 ^a	9.37 ± 0.39 ^b	10.4 ± 0.08 ^{ab}	11.1 ± 0.63 ^{ab}	12.5 ± 0.52 ^a	9.40-12.5
C20:1	0.64 ± 0.01	0.59 ± 0.03	0.53 ± 0.06	0.47 ± 0.11	0.62 ± 0.01	0.7 ± 0.05	0.67 ± 0.02	0.62 ± 0.05	0.69 ± 0.10	0.47-0.70
C18:2	26.9 ± 0.32	29.0 ± 1.09	27.7 ± 1.29	30.1 ± 2.59	25.2 ± 0.32	27.3 ± 1.25	26.8 ± 0.34	29.4 ± 1.63	26.7 ± 1.20	25.2-30.1
C20:2	0.12 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.03	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.04	0.10 ± 0.01	0.07-0.16
C18:3	2.75 ± 0.05 ^a	2.3 ± 0.05 ^{ab}	2.2 ± 0.13 ^{ab}	2.0 ± 0.35 ^b	2.31 ± 0.03 ^{ab}	2.3 ± 0.13 ^{ab}	2.35 ± 0.03 ^{ab}	2.30 ± 0.13 ^{ab}	1.71 ± 0.15 ^b	1.71-2.75

AG= ácido graso. Valores promedio (± error estándar) de cuatro repeticiones. Niveles con diferente letra indican diferencias significativas P<0.05, valores sin letra no presentaron diferencia significativa (P<0.05).

La variedad Robusta presentó menor concentración de ácido linolénico (1.71%) en comparación con la variedad Mundo Novo (2.75%). Lercker *et al.* (1996) y Martin *et al.* (2001), indicaron que las variedades de la especie *C. canephora* contienen niveles menores de ác. linolénico que *C. arabica*. Por otro lado, se ha reportado que la variedad Robusta presenta mayor contenido de ácido oleico (Martin *et al.*, 2001), sin embargo, en este estudio, solo fue mayor que la variedad CR95 F2 y no hubo diferencia con el resto de las variedades (Cuadro 21).

Bertrand *et al.* (2008) reportaron diferencias en los porcentajes de ácidos grasos entre la variedad tradicional Caturra y variedades híbridas y las relacionó con la disminución del ácido esteárico (C16:0) y el aumento del ácido oleico (C18:1 ω9), sin embargo, esto no se observó en este estudio para las variedades de *C. arabica* y los híbridos (Catimor CR95).

7.5.2 Efecto del tostado en el perfil de ácidos grasos de granos de café

Independientemente de la variedad, el proceso de tostado afectó la concentración solo de tres ácidos grasos, C14:0, C22:0 y C24:0, que disminuyeron su concentración en 18.2, 12.1 y 10.2% (Cuadro 20).

Respecto a las concentraciones de ácidos grasos en café tostado, diez de los ácidos grasos identificados mostraron contraste entre las variedades ($P < 0.05$): C16:0, C17:0, C18:0, C22:0, C23:0, C24:0, C25:0, C26:0, C18:1 y C18:3 (Cuadro 22). Las tres variedades Catimor CR95 (F1, F2 y F3) mostraron el mayor contenido de ácido palmítico, mientras que la variedad Mundo Novo presentó los niveles más altos en la mayoría de los ácidos grasos, a diferencia de Robusta que presentó los niveles más bajos en los ácidos C17:0, C18:0, C22:0 y C18:3 (Cuadro 22).

Martin *et al.* (2001) identificaron solo diez ácidos grasos en muestras de café verde y tostado de *C. arabica* y *C. canephora*, entre ellos C14:0 y C22:0, estos autores no detectaron diferencia en la concentración de ácidos grasos en granos de café verde y

Cuadro 22. Perfil de ácidos grasos de granos de café tostado por variedad.

AG	Mundo Novo	Bourbon	Typica	Caturra Roja	CR95 F1	CR95 F2	CR95 F3	Sarchimor	Robusta	Intervalo
C14:0	0.10 ± 0.03	0.06 ± 0.01	0.10 ± 0.00	0.07 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.13 ± 0.00	0.06-0.13
C15:0	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.12 ± 0.06	0.05 ± 0.00	0.04-0.12
C16:0	40.2 ± 0.10 ^{bc}	39.1 ± 0.32 ^c	40.4 ± 0.85 ^{bc}	40.9 ± 0.53 ^{bc}	41.8 ± 0.21 ^{ab}	43.3 ± 0.58 ^a	42.5 ± 0.41 ^{ab}	41.0 ± 0.84 ^{bc}	41.0 ± 0.58 ^{bc}	39.1-43.3
C17:0	0.23 ± 0.04 ^a	0.14 ± 0.01 ^{ab}	0.15 ± 0.01 ^{ab}	0.15 ± 0.01 ^{ab}	0.19 ± 0.06 ^{ab}	0.13 ± 0.01 ^{ab}	0.19 ± 0.00 ^{ab}	0.21 ± 0.03 ^{ab}	0.10 ± 0.01 ^b	0.10-0.23
C18:0	10.4 ± 0.15 ^a	10.7 ± 0.32 ^a	10.6 ± 0.09 ^a	10.7 ± 0.37 ^a	9.70 ± 0.93 ^{ab}	8.84 ± 0.25 ^{ab}	9.47 ± 0.21 ^{ab}	8.76 ± 0.52 ^{ab}	8.15 ± 0.22 ^b	8.10-10.7
C20:0	4.41 ± 0.06	4.24 ± 0.04	4.74 ± 0.25	4.52 ± 0.22	3.56 ± 0.53	3.83 ± 0.24	3.92 ± 0.13	4.07 ± 0.24	4.55 ± 0.39	3.60-4.70
C21:0	0.21 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.20 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.13 ± 0.04	0.13 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.03	0.15 ± 0.01	0.13-0.21
C22:0	1.33 ± 0.07 ^{ab}	1.18 ± 0.02 ^{ab}	1.28 ± 0.10 ^{ab}	1.36 ± 0.14 ^a	0.93 ± 0.24 ^{ab}	0.98 ± 0.06 ^{ab}	1.12 ± 0.04 ^{ab}	1.28 ± 0.10 ^{ab}	0.83 ± 0.02 ^b	0.83-1.36
C23:0	0.24 ± 0.01 ^a	0.18 ± 0.01 ^{ab}	0.18 ± 0.02 ^{ab}	0.18 ± 0.02 ^{ab}	0.12 ± 0.04 ^b	0.15 ± 0.01 ^b	0.20 ± 0.02 ^{ab}	0.18 ± 0.02 ^{ab}	0.17 ± 0.00 ^{ab}	0.12-0.24
C24:0	0.51 ± 0.02 ^a	0.45 ± 0.01 ^{ab}	0.42 ± 0.01 ^{ab}	0.42 ± 0.04 ^{ab}	0.29 ± 0.11 ^b	0.43 ± 0.03 ^{ab}	0.49 ± 0.03 ^{ab}	0.51 ± 0.02 ^a	0.42 ± 0.02 ^{ab}	0.29-0.51
C25:0	0.10 ± 0.01 ^a	0.07 ± 0.00 ^{ab}	0.07 ± 0.00 ^{ab}	0.06 ± 0.01 ^{ab}	0.04 ± 0.02 ^b	0.08 ± 0.00 ^{ab}	0.11 ± 0.02 ^a	0.09 ± 0.01 ^{ab}	0.08 ± 0.00 ^{ab}	0.05-0.11
C26:0	0.07 ± 0.01 ^{ab}	0.04 ± 0.01 ^{ab}	0.03 ± 0.00 ^b	0.03 ± 0.00 ^b	0.02 ± 0.01 ^b	0.05 ± 0.00 ^{ab}	0.08 ± 0.02 ^{ab}	0.09 ± 0.02 ^a	0.06 ± 0.00 ^{ab}	0.03-0.09
C18:1	11.7 ± 0.09 ^{ab}	12.3 ± 0.33 ^{ab}	11.6 ± 0.11 ^{ab}	11.8 ± 0.44 ^{ab}	10.6 ± 0.92 ^{bc}	9.22 ± 0.23 ^c	10.4 ± 0.19 ^{bc}	11.1 ± 0.63 ^{bc}	12.7 ± 0.23 ^a	9.22-12.7
C20:1	0.51 ± 0.14	0.66 ± 0.02	0.66 ± 0.05	0.64 ± 0.05	0.53 ± 0.13	0.57 ± 0.04	0.62 ± 0.03	0.62 ± 0.05	0.69 ± 0.02	0.51-0.69
C18:2	27.1 ± 0.22	28.2 ± 0.73	27.0 ± 0.31	26.6 ± 1.76	29.8 ± 3.15	30.0 ± 1.50	28.3 ± 1.00	29.4 ± 1.63	29.2 ± 1.37	26.6-30.0
C20:2	0.12 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.11 ± 0.02	0.14 ± 0.04	0.09 ± 0.01	0.07-0.14
C18:3	2.75 ± 0.18 ^a	2.24 ± 0.03 ^{abc}	2.42 ± 0.14 ^{ab}	2.33 ± 0.16 ^{ab}	2.03 ± 0.21 ^{bc}	2.03 ± 0.09 ^{bc}	2.20 ± 0.03 ^{abc}	2.30 ± 0.13 ^{ab}	1.64 ± 0.11 ^c	1.64-2.75

AG= ácido graso. Valores promedio (± error estándar) de cuatro repeticiones. Niveles con diferente letra indican diferencias significativas $p < 0.05$, valores sin letra no presentaron diferencia significativa ($P < 0.05$).

tostado, sin embargo, no especifican la variedad de los granos de café verde, ni el grado de tostado de las muestras evaluadas.

7.5.3 Efecto de la variedad en el perfil de ácidos grasos de granos de café

Con el objetivo de evaluar las diferencias entre las variedades analizadas en este estudio se realizó un análisis discriminante canónico.

7.5.3.1 Análisis discriminante canónico (ADC) con base en el perfil de ácidos grasos de granos de café verde y tostado.

El análisis discriminante es un análisis multivariante que combina un análisis discriminante múltiple y la correlación canónica, y ayuda en la discriminación o diferenciación de “n-objetos” en función de un conjunto de variables evaluadas en todos los “objetos” bajo estudio.

Se graficaron los dos primeros componentes canónicos obtenidos mediante el ADC del perfil de ácidos grasos. La dispersión de variedades en granos de café verde se muestra en la Figura 19 y en granos de café tostado en la Figura 20.

Los ácidos grasos que mostraron efecto discriminante en café verde en el eje canónico uno (EC1) fueron el ácido cerótico, C26:0 (0.57), lignocérico, C24:0 (0.55), pentacosanoico, C25:0 (0.48) y esteárico, C18:0 (-0.50) y en el eje canónico dos (EC2), mirístico, C14:0 (0.61) y linolénico, C18:3 (-0.58; Cuadro A1). De acuerdo a los resultados obtenidos con el ADC, podemos indicar que los ácidos grasos que logran la diferenciación de las variedades de *C. arabica* son el ácido esteárico por su valor negativo en el EC1 y el ácido mirístico por su valor positivo en el EC2, mientras que con los ácidos C26:0, C24:0 y C25:0 en el EC1 y C18:3 en el EC2 es posible diferenciar las variedades híbridas (Figura 19).

Los dos primeros componentes canónicos para café verde explicaron el 91.1% del total de la variación (Figura 19) y permitieron una clara separación de las variedades

arabica (Cuadrante I), la variedad de *C. canephora* (Cuadrante II) y los híbridos, CR95 F2 y F3, y Sarchimor (Cuadrante III), sin embargo, la variedad Mundo Novo (Cuadrante IV) presentó un perfil lipídico distinto a las otras variedades de *C. arabica* a pesar de haber sido cosechada en la misma finca (La Reserva). Por otro lado, se puede notar la influencia del ambiente en la variedad Catimor CR95 ya que CR95 F1 presentó una composición similar a las variedades arabica que también fueron cultivadas en la finca La Reserva a diferencia de CR95 F2 y F3 cosechadas en fincas diferentes.

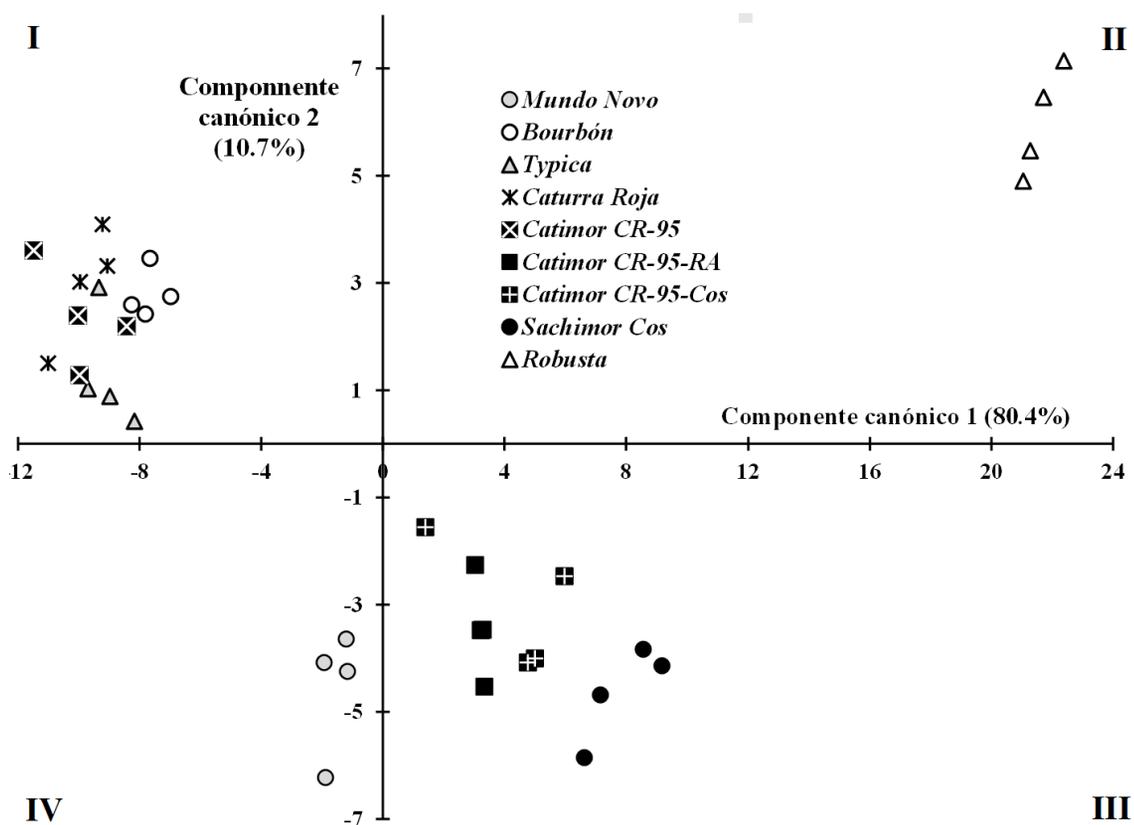


Figura 19. Dispersión de variedades en los dos primeros componentes canónicos, con base en la composición de ácidos grasos de café verde.

Respecto a la dispersión de las variedades en granos de café tostado (Figura 20), el porcentaje de discriminación del EC1 en las muestras de café tostado (61.7%) fue menor que en el mismo eje de las de café verde (80.4%), mientras que el EC2 presenta

un porcentaje mayor que en café verde (26.0 y 10.7%, respectivamente). La dispersión de las variedades se muestra en la Figura 20.

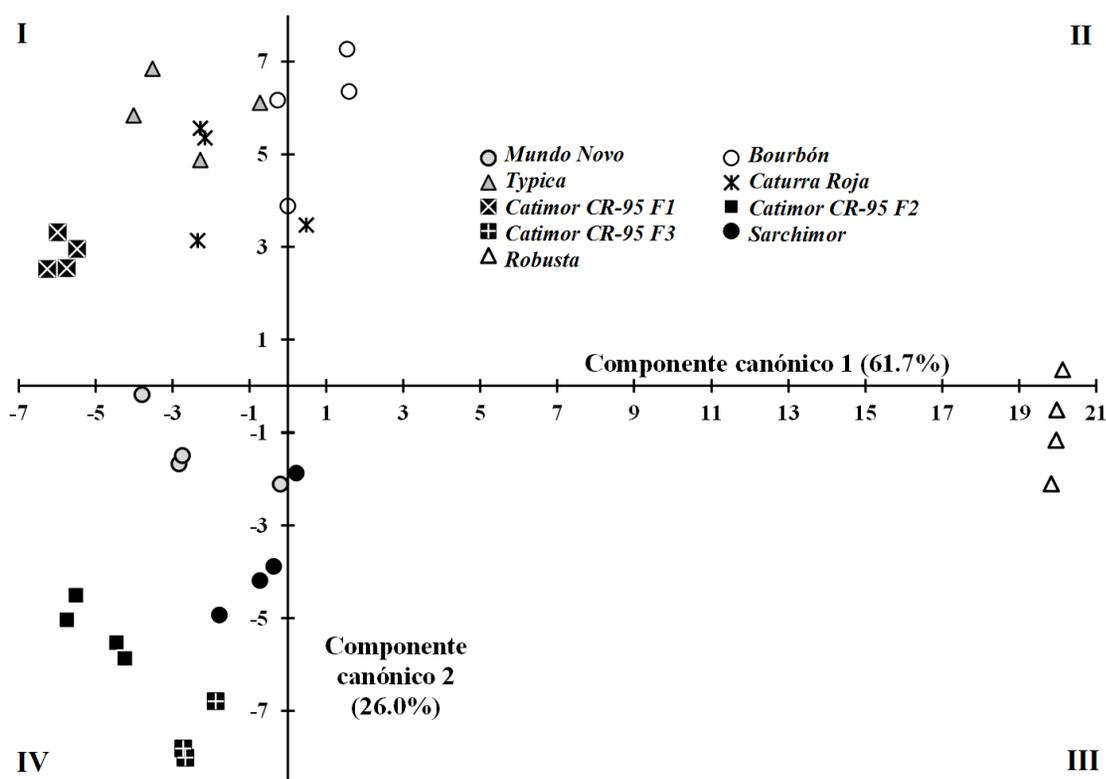


Figura 20. Dispersión de variedades en los dos primeros componentes canónicos, con base en la composición de ácidos grasos en café tostado.

En este caso los ácidos grasos de mayor poder discriminante fueron los ácidos oleico, C18:1 (0.52) y linolénico, C18:3 (-0.47) en el EC1 y pentacosanoico, C25:0 y cerótico, C26:0 (-0.59), palmítico, C16:0 (-0.56) y esteárico, C18:0 (0.53) y oleico (0.48) en el EC2 (Cuadro A2).

La separación fue evidente entre variedades, los ácidos grasos que lograron la diferenciación de las variedades de *C. arabica* (Cuadrante I) fueron el ácido linolénico por su valor negativo en el EC1 y esteárico y oleico por su valor positivo en el EC2. Los ácidos grasos que lograron diferenciar los híbridos y Robusta de las variedades arabica,

con valores negativos en el EC2 fueron C25:0 (-0.59), C26:0 (-0.59) y C16:0 (-0.56), aunque, fue el ácido linolénico (-0.47) en el EC1 quien logró discriminar las variedades híbridas CR95 F2, F3 y Sarchimor en el Cuadrante IV y CR95 F1 en el Cuadrante I, mientras que Mundo Novo continúa situándose en un punto intermedio entre estas variedades y las de *C. arabica* (Cuadrante IV; Figura 20).

Villarreal *et al.* (2012) indicaron que los ácidos grasos mayoritarios palmítico, esteárico, oleico, linoleico, araquídico y behénico mostraron mayor poder discriminante, mientras que Martin *et al.* (2001) reportaron que los que presentaron mayor diferenciación fueron oleico, linolénico, linoleico y mirístico en muestras de café verde y tostado *C. arabica* y *C. canephora*.

En este estudio, los ácidos grasos con mayor potencial discriminante tanto para café verde como en café tostado fueron los ácidos esteárico (C18:0), linolénico (C18:3), pentacosanoico (C25:0) y cerótico (C26:0), por otro lado, el de menor poder discriminante en ambos casos fue el ácido linoleico (C18:2). Estos datos corresponden con lo reportado por Martin *et al.* (2001) y Villarreal *et al.* (2012) en el caso de los ácidos esteárico y linolénico, sin embargo, es importante mencionar que los ácidos pentacosanoico y cerótico influyen de manera significativa para la discriminación de variedades a pesar de ser AG minoritarios con porcentaje de área < 0.1% (Cuadro 20), mientras que en este estudio el ácido linoleico (C18:2) no contribuyó a la diferenciación en café verde, ni en café tostado.

Con el objetivo de obtener una mayor discriminación de las muestras de café, por especie, variedad y sitio de cultivo, se graficó el EC1 del ADC en café verde (80.4%) y el EC1 del ADC en café tostado (61.7%) como índices de diferenciación. El gráfico resultante se muestra en la Figura 21.

La Figura 21 presenta claramente la clasificación por variedades, situando a Robusta en el Cuadrante II, los híbridos cosechados en la finca Las Lajas y Los Limones en el Cuadrante III y las variedades arabica y CR95 F1 cosechadas en la finca La Reserva

en el Cuadrante IV. Los resultados obtenidos indican que el uso del análisis discriminante canónico con base en la composición de ácidos grasos permite diferenciar las variedades de café en verde y también en tostado. Y al hacer el análisis en ambos (verde y tostado) se obtiene una mayor discriminación.

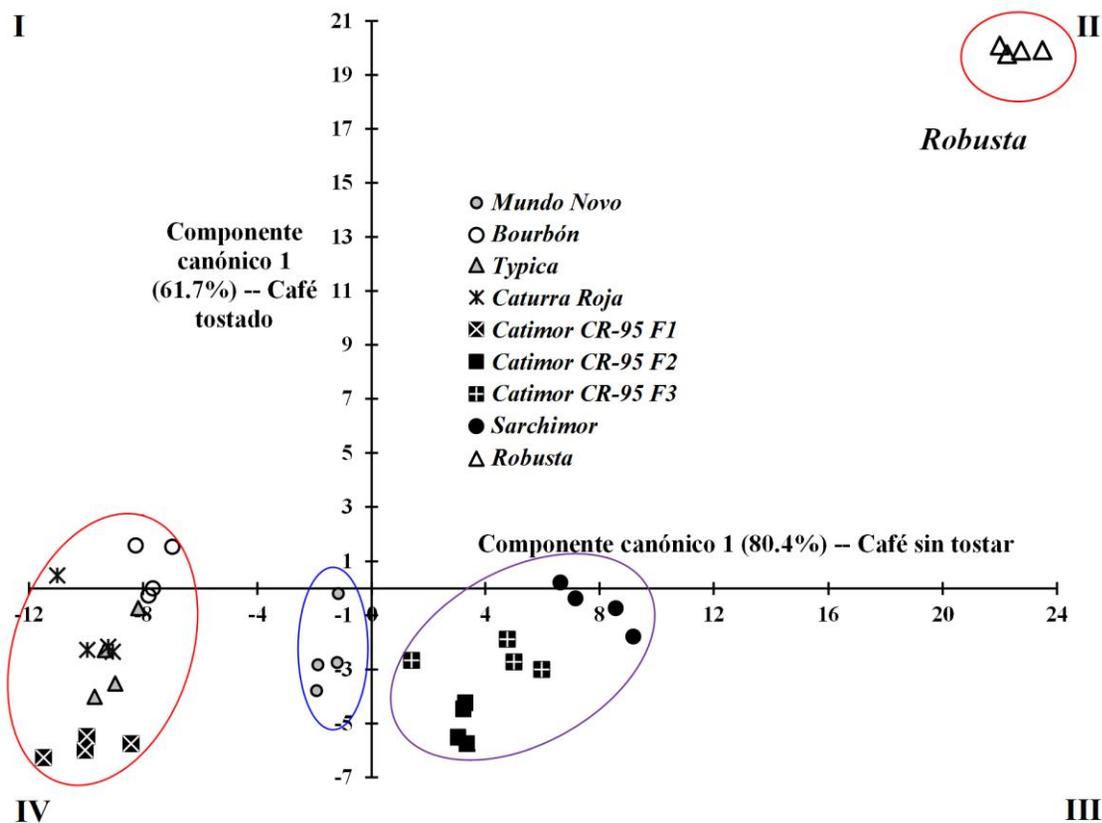


Figura 21. Primeros ejes del análisis canónico discriminante, usados como índices de diferenciación varietal. Todo con base en la composición de ácidos grasos en café verde y tostado.

La variedad Mundo Novo presentó un perfil lipídico distinto a las variedades arabica y a los híbridos, situándola en un punto intermedio entre estos dos grupos. Como se mencionó en la sección anterior, Mundo Novo también presentó diferencias en el contenido de azúcares y acidez en comparación con las demás variedades, esto nos indica la influencia del genotipo en la composición del grano de café, aunque fue

cultivada en el mismo sitio y bajo las mismas condiciones ambientales que las variedades cultivadas en la Finca La Reserva, presentó composición química diferente.

Lo contrario se observó en la variedad CR95 F1, a pesar de ser una de las variedades híbridas, su composición química y perfil lipídico fue similar a las variedades arabica. Esto se confirmó con el ADC que logró diferenciar los híbridos CR95 F2, F3 y Sarchimor de CR95 F1 en café verde y tostado.

8. CONCLUSIONES

Los granos de café verde mostraron diferencias en características biofísicas, acidez y contenido de azúcares, destacaron las variedades Catimor F3 y Sarchimor con mayor volumen de grano, Typica con mayor acidez y Catimor F2 con el mayor contenido de azúcares totales y reductores.

Las variedades de café verde registraron alta concentración de polifenoles totales y ácido clorogénico, así como también alta actividad antioxidante, destacaron CR-95 F3 y Typica, por lo que podrían utilizarse como fuente de antioxidantes naturales.

Con el tostado, se incrementó el tamaño y el volumen del grano; y disminuyó el peso y el peso específico. Los parámetros de color indicaron el cambio de color de amarillo claro a marrón claro. Se registró disminución de humedad y actividad de agua mientras que la acidez se incrementó y fueron los granos de café tostado de las variedades Catimor F2, F1 y Caturra Roja quienes registraron mayor acidez.

Independientemente de la variedad, disminuyeron el contenido promedio de PT en un 15%, la actividad antioxidante por los métodos DPPH y FRAP en un 9% y 18%, y el ácido clorogénico en un 80%, mientras que el ácido neoclorogénico permaneció sin cambios.

En café tostado, las variedades analizadas mostraron alta actividad antioxidante y concentración de polifenoles totales. Las variedades Robusta, Catimor F2, F3 y Bourbon presentaron la mayor concentración de polifenoles totales y actividad antioxidante mientras que Sarchimor y Mundo Novo

presentaron los niveles menores. La cafeína incrementó con el tostado y las variedades con mayor contenido fueron Robusta, Catimor F3 y Mundo Novo.

Los ácidos grasos con mayor proporción en las variedades analizadas en este estudio fueron los AGS palmítico y esteárico (40 y 10% respectivamente), en cuanto a los AGMI el de mayor concentración fue el ácido oleico (11%) y los AGPI, el linoleico ($\omega 6$) y linolénico ($\omega 3$) (27 y 2%, respectivamente).

A través del ADC obtenido con el perfil de ácidos grasos en café verde y tostado se obtuvo la diferenciación de las variedades evaluadas en este trabajo. A excepción de la variedad Mundo Novo que presentó un perfil lipídico diferente a las variedades *C. arabica* y a las variedades cultivadas en la misma finca.

Se observó el efecto del sitio de cultivo en la variedad CR95 F1 ya que presentó composición química similar a las variedades de *C. arabica* cosechadas en la misma finca. En cuanto a la variedad Mundo Novo, observamos un efecto marcado del genotipo, pues a pesar de ser cultivada y cosechada en la misma finca que Typica, Bourbon y Caturra Roja y pertenecer a la misma especie (*C. arabica*) presentó composición química diferente.

Como conclusión general tenemos que las variedades analizadas en este estudio presentaron diferencias ($P < 0.01$) en las propiedades físicas, fisicoquímicas y compuestos con actividad antioxidante en granos de café verde y tostado. Las variedades híbridas mostraron mayor semejanza con las variedades de *C. arabica* en comparación con *C. canephora*.

Los resultados indican que las variedades analizadas, cultivadas bajo las condiciones ambientales de la región de Coatepec, Veracruz, tienen el potencial para producir café con alto contenido de compuestos antioxidantes.

9. RECOMENDACIONES

Debido a la importancia de la calidad sensorial del café para el consumidor, se recomienda correlacionar los parámetros evaluados en este estudio (físicos, fisicoquímicos y de composición) en grano de café verde y tostado con parámetros sensoriales de la bebida como acidez, cuerpo, aroma y sabor.

Se propone la identificación y cuantificación de compuestos volátiles en café tostado, debido a que son responsables del aroma del café, que es uno de los atributos de calidad más apreciados.

Se recomienda realizar la cuantificación del alcaloide trigonelina en granos de café verde y sus cambios con el tostado, así como también, determinar el contenido y capacidad antioxidante de la porción de melanoidinas debido a su impacto en la calidad sensorial y su importancia biológica.

Para efectos de caracterización de variedades se sugiere el análisis de macro y microelementos de los granos de café. Así como también se debería incluir el análisis de suelos para evaluar su efecto en los distintos parámetros.

La variedad Mundo Novo presentó características muy particulares en cuanto a composición química por lo que resulta interesante continuar las investigaciones con este genotipo modificando el sitio de cultivo y las condiciones ambientales.

Por último y debido a las fluctuaciones en la composición de los granos de café evaluados en este estudio, se recomienda la implementación de parcelas demostrativas donde pueda llevarse a cabo un control efectivo de los factores que pueden influir en el grano de café como las condiciones climáticas, nutrición

del suelo y uso de fertilizantes. Así como también ampliar el número de repeticiones en los análisis.

10. BIBLIOGRAFÍA

AOAC. 2005. AOAC Official Method 942.15. Acidity (Titratable) of Fruit Products. Official method of Analysis.

Aguilar V. G. J. 1995. Variedad Costa Rica-95. Primera Ed. ICAFÉ. San José, Costa Rica. 30 p.

Ajandouz, E. H., Tchiakpe L. S., Dalle O. F., Benajiba A., Puigserver A. 2001. Effects of pH on caramelization and maillard reaction kinetics in fructose-lysine model systems. Journal of food science 66: 926-931.

Almeida A. A., Farah A., Silva D. A. M., Nunam E. A., Glória M. B. A. 2006. Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against enterobacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 8738- 8743.

AMECAFE. 2012. Plan integral de promoción del café de México. Recuperado en abril del 2015. Disponible en: <http://amecafe.org.mx/backup/pcm2012.pdf>

Anacafé. 2013. Variedades de café resistente a la roya. Revista El Cafetal. (Disponible en: https://www.anacafe.org/glifos/index.php/Variedades_resistentes_a_roya) (Consulta: 6 de Julio de 2015).

Antonio A. G., Moraes R. S., Perrone D., Maia L. C., Santos K. R. N., Iório N. L. P., Farah A. 2010. Species, roasting degree and decaffeination influence the antibacterial activity of coffee against Streptococcus mutans. Food Chemistry 118: 782-788.

- APS, 2011.** The american phytopathological society. Coffee rust (*Hemileia vastatrix*). (Disponible en: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/CoffeeRust.aspx>) (Consulta: 18 de octubre de 2016).
- Arcila P. J. 1987.** Aspectos fisiológicos de la producción del café *Coffea arabica* L. En: Centro Nacional de Investigaciones de Café - Cenicafé. Chinchiná. Colombia. Tecnología del cultivo del café. Chinchiná, Cenicafé. pp. 59-111.
- Arcila P. J. 2007.** Factores que determinan la productividad del cafetal. *En:* Sistemas de producción de café en Colombia. Chinchiná, Cenicafé. pp. 61-86.
- Arcila P., J., Farfán V. F., Moreno B. A. M., Salazar G. I. F., Hincapié G. E. 2007.** Sistemas de producción de café en Colombia. Chinchiná, Cenicafé. pp. 49-51.
- Arnold J. 2001.** Manual de caficultura. 3ª ed. Instituto Hondureño del Café. Tegucigalpa, Honduras. 238 p.
- Arya M. and Rao L. J. M. 2007.** An impression of Coffee Carbohydrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47: 51-67.
- ASERCA. 2002.** Claridades Agropecuarias, México, D.F. (103). Marzo. (Disponible en: <http://www.infoaserca.gob.mx/claridades/revistas/103/ca103.pdf>) (Consulta: 21 de agosto de 2016).
- Ashoor S. H. y Zent J. B. 1984.** Maillard browning of common amino acids and sugars. *Journal of Food Science* 49: 1206-1207.
- Avelino J., Barboza B., Araya J. C., Fonseca C., Davrieux F., Guyot B., Cilas C. 2005.** Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude *terroirs* of Costa Rica, Orosi and Santa Maria de Dota. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85: 1869-1876.

- Azizova O. A. 2002.** Role of free radical processes in the development of atherosclerosis. *Biologicheskie Membrany* 19: 451-471.
- Bartosz G. 1997.** Oxidative stress in plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 19: 47-64.
- Bekedam E. K., Loots M. J., Schols H. A., Van Boekel M. A. J. S., Smit, G. 2008.** Roasting effects on formation mechanisms of coffee brew melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 7138-7145.
- Belitz H. D., Grosch W. y Schieberle P. 2009.** Coffee, tea, cocoa. *In: Food chemistry* (4th Edn.), Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp. 938-970.
- Benzie I. F. F. y Strain J. J. 1999.** Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology* 299: 15-27.
- Bertrand B., Vaast P. Alpizar E., Etienne H., Davrieux F., Charmetant P. 2006.** Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. *Tree Physiology* 26: 1239-1248.
- Bertrand B., Villarreal D., Laffargue A., Posada H., Lashermes P., y Dussert S. 2008.** Comparison of the effectiveness of fatty acids, chlorogenic acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 56: 2273-2280.
- Blank I., Sen A., Grosh W. 1991.** Aroma impact compounds of Arabica and Robusta coffee. Qualitative and quantitative investigations. Proc. 14th Coll. ASIC, San Francisco. pp 117-129.
- Brand-Williams W., Cuvelier M., and Berset C. 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28: 25-30.

- Budryn G., Nebesny E., Podsedek A., Zyzelewicz D., Materska M., Jankowski S., Janda B. 2009.** Effect of different extraction methods on the recovery of chlorogenic acids, caffeine and maillard reaction products in coffee beans. *European Food Research and Technology* 228: 913-922.
- Budryn G., Nebesny E., Zyzelewicz D., Oracz J., Miskiewicz K., and Rosicka-Kaczmarek J. 2012.** Influence of roasting conditions on fatty acids and oxidative changes of Robusta coffee oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* 114: 1052-1061.
- Buera M. P., Chirife J., Resnik S. L. y Lozano R. D. 1987.** Nonenzymatic browning liquid model systems of high water activity: Kinetics of color changes due to caramelization of various single sugars. *Journal of Food Science* 52: 1059.
- Cano-Marquina A., Tarín J. J., Cano A. 2013.** The impact of coffee on health. *Maturitas* 75: 7-21.
- Castillo P. G., Contreras A., Zamarrita C. A., Méndez L. I., Vázquez M., Olgui M. F. y Fernández R. A. 1997.** Tecnología para la producción de café en México. Folleto Técnico No. 8. INIFAP. Veracruz, México. 90 p.
- Cavin C., Holzhaeuser D., Scharf G., Constable A., Huber W. W., Schilter B. 2002.** Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food and Chemical Toxicology* 40: 1155-1163.
- Cheong M. W., Tong K. H., Ming-Ong J. J., Liu S. Q., Curran P., Yu B. 2013.** Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. *Food Research International* 51: 388-396.
- Cho A. R., Park K. W., Kim K. M., Kim S. Y., Han J. 2014.** Influence of roasting conditions on the antioxidant characteristics of Colombian coffee (*Coffea Arabica* L.) beans. *Journal of Food Biochemistry* 38: 271-280.

- Clarke R. J. and Macrae R. 1985.** Coffee. Vol. 1. Chemistry. England: Elsevier Applied Science Publisher. 306 p.
- Clarke R. J. 2003.** Coffee: green coffee/roast and ground. *In*: Encyclopedia of Food Science and Nutrition, 2nd edition, Caballero, B., Trugo L. C., Finglas P., eds. Oxford: Academic Press; Vol. 3.
- Clifford M. N. 1985.** Chemical and physical aspects of green and coffee products. *In*: Coffee-Botany, biochemistry and production of beans and beverage, pp. 305-374. Clifford M. N. and Willson K. C., Eds., Croom Helm, London.
- Clifford M. N. 2000.** Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of Science Food and Agriculture* 80: 1033-1043.
- Clifford M. N. and Kazi T. 1987.** The influence of coffee seed maturity on the content of chlorogenic acids, caffeine and trigonelline. *Food Chemistry* 26: 59-69.
- Clifford M. N. and Knight S. 2004.** The cinnamoyl-amino acid conjugates of green robusta coffee beans. *Food Chemistry* 87: 457-463.
- Clifford M. N. and Willson K. C. 1985.** Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage. (Editors) Croom Helm. London and Sidney/Westport, CT. pp. 13-47.
- Clifford M. N. and Ramirez-Martinez J. R. 1991.** Phenols and caffeine in wet-processed coffee seeds and coffee pulp. *Food Chemistry* 40: 35-42.
- Clifford M. N., Johnston K. L., Knight S. and Kuhnert N. 2003.** Hierarchical scheme for LC-MS n identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51: 2900-2911.

- Contreras, L. A. 2000.** Áreas con potencial productivo para cultivar café en el estado de Veracruz: un enfoque regional. Informe técnico. INIFAP. Campo Experimental Xalapa. Xalapa, Ver., México. 23 p.
- Contreras A. y Hernández-Martínez G. 2008.** ¡Qué bien huele, mejor sabrá! La organización de productores del proyecto Biocafé. Instituto de Ecología A. C. Primera Edición. pp 9-22.
- Costa L. L., Toci A. T., Silveira C. L. P., Herszkowicz N., M., Pinto A., Farah A. 2010.** Discrimination of Brazilian *C. canephora* by location using mineral composition. Proc. 23rd Int. Conf. Coffee Sci. ASIC. Bali, Indonesia.
- Da Silva E., Mazzafera P., Brunini O., Sakai E., Arruda F. B., Mattoso L. H. C., Carvalho C. R. L., Pires R. C. M. 2005.** The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. Brazilian Journal of Plant Physiology 17: 229-238.
- Daglia M., Cuzzoni M. T., Dacarro C. 1994.** Antibacterial activity of coffee. Journal of Agricultural and Food Chemistry 42: 2270-2272.
- Daglia M., Papetti A., Gregotti C., Berte F., Gazzani G. 2000.** In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 1449-1454.
- Diaz J. S., Gomez G. S., Felsner G., and Fritsch G. 1973.** Estudio de la señal ancha resonancia magnética nuclear (Resonancia de Protones) en muestras de café colombiano preparado en diferentes condiciones, In: *6th International Colloquim on the chemistry of coffee ASIC*. Paris, France. pp. 172-177.
- Duarte G., Pereira A., Marques V., Farah A. 2009.** Comparison of chlorogenic acids contents in *Coffea arabica*, *Coffea canephora* and hybrids resistant to *Meloidogyne exigua*. Proc. 22rd Int. Conf. Coffee Sci. ASIC. Trieste, Italy. pp. 508-512.

- Duarte G. S., Pereira A. A., and Farah A. 2010.** Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry* 118: 851-855.
- Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P., Smith F. 1956.** Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- Esquivel P. and Jiménez V. M. 2012.** Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International* 46: 488-495.
- Farah A. 2004.** Distribuição nos grãos, influência sobre a qualidade da bebida e biodisponibilidade dos ácidos clorogênicos do café. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil. Doctorate Thesis.
- Farah A. 2012.** Coffee constituents. *In: Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention, First Edition.* Edited by Yi-Fang Chu. John Wiley & Sons, Inc. pp. 27-43.
- Farah A. and Donangelo C. M. 2006.** Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18: 23-36.
- Farah A., de Paulis T., Trugo L. C., Martin P. R. 2005.** Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53: 1505-1513.
- Farah A., Monteiro M. C., Calado V., Franca A. S., Trugo L.C. 2006.** Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry* 98: 373-380.
- Farfán V. F. 2007.** Cafés especiales. *En: Sistemas de producción de café en Colombia.* Chinchiná, Cenicafé. pp. 233-254.

- Figueiredo L. P., Borém F. M., Ribeiro F.C., Giomo G. S., Taveira J. H. S., Malta M. R. 2015.** Fatty acid profiles and parameters of quality of specialty coffees produced in different Brazilian regions. *African Journal of Agricultural Research* 10: 3484-3493.
- Folch J., Lees M., Sloane-Stanley G. H. 1957.** A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry* 226: 497-509.
- Flament I. 2001.** *Coffee Flavor Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd, First edition. West Sussex, England. 410 p.
- Fu L., Xu B.-T., Xu X.-R., Gan R.-Y., Zhang Y., Xia E.-Q., Li H.-B. 2011.** Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry* 129: 345-350.
- Fujioka K. and Shibamoto T. 2008.** Chlorogenic acid and caffeine contents in various commercial brewed coffees. *Food Chemistry* 106: 217-221.
- Fuster M. D., Mitchell A. E., Ochi H., Shibamoto T. 2000.** Antioxidative activities of heterocyclic compounds formed in brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48: 5600-5603.
- Ginz M., Balzer H. H., Bradbury A. G. W., Maier H. G. 2000.** Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. *European Food Research and Technology* 211: 404-410.
- Gómez-Ruiz J. A., Leake D. S., Ames J. M. 2007.** In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55: 6962-6969.
- Harland B. F. 2000.** Caffeine and nutrition. *Nutrition* 16: 522-526.

- Hecimovic I., Belacak-Cvitanovic A., Horzic D. & Komes D. 2011.** Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry* 129: 991-1000.
- Hernández-Galán L. 2011.** Mejoramiento del perfil de ácidos grasos y aroma de leche de cabra por fermentación. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana. Veracruz, México. 115 p.
- Hirakawa N., Okauchi R., Miura Y., Yagasaki K. 2005.** Anti-invasive activity of niacin and trigonelline against cancer cells. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 69: 653-658.
- Hodge, J. E. 1953.** Chemistry of browning reactions in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1: 928-943.
- Homma S. and Murata M. 1995.** Characterization of metal-chelating compounds in instant coffee. *In: Proceedings of the 16th International Scientific Colloquium on coffee.* ASIC, Kyoto, Japan. pp. 183-191.
- Huang D., Ou B., Prior R. L. 2005.** The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 1841-1856.
- Hurtado-Benavides A., Dorado D., Sánchez-Camargo A. 2016.** Study of the fatty acid profile and the aroma composition of oil obtained from roasted Colombian coffee beans by supercritical fluid extraction. *Journal of Supercritical Fluids* 113: 44-52.
- International Coffee Organization (ICO). 2016.** Total production by all exporting countries. Disponible en: <http://www.ico.org/prices/po-production.pdf>. (Consulta: 19 de junio de 2016).
- Jeszka-Skowron M., Zgoła-Grzeskowiak A., Grzeskowiak T. 2015.** Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research and Technology* 240: 19-31.

- Kitzberger C. S. G., Scholz M. B. S., Benassi M. T. 2014.** Bioactive compounds content in roasted coffee from traditional and modern *Coffea arabica* cultivars grown under the same edapho-climatic conditions. *Food Research International* 61: 61-66.
- Kölling-Speer L. and Speer K. 2005.** The raw seed composition. *In: Espresso Coffee, the Science of Quality.* Illy, A., Viani, R., eds. Italy: Elsevier Academic Press. pp. 148-178.
- Komes D. y Bušić A. 2014.** Antioxidants in coffee. *In: Processing and impact on antioxidants in beverages.* Ed. Victor Preedy. Elsevier Inc. pp. 25-32.
- Komes D. y Vojvodić A. 2014.** Effects of varieties and growing conditions on antioxidant capacity of coffee. *In: Processing and impact on antioxidants in beverages.* Ed. Victor Preedy. Elsevier Inc. pp. 77-85.
- Ky C. L., Louarn J., Dussert S., Guyot B., Hamon S., Noirot M. 2001.** Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry* 75: 223-230.
- Lee C. 2000.** Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clinica Chimica Acta* 295: 141-154.
- Lee L. W., Cheong M. W., Curran P., Yu B., Liu S. Q. 2015.** Coffee fermentation and flavor - An intricate and delicate relationship. *Food Chemistry* 185: 182-191.
- Leja M., Mareczek A., Ben J. 2003.** Antioxidant properties of two apple cultivars during long-term storage. *Food Chemistry* 80: 303-307.
- Leloup V., Louvrier A., Liardon R. 1995.** Degradation mechanisms of chlorogenic acids during roasting. *In: Proceedings of the 16th International Scientific Colloquium on coffee.* ASIC, Kyoto, Japan. pp. 192-198.

- Lercker G., Caboni M. F., Bertacco G., Turchetto E., Lucci A., Bortolomeazzi R., Frega N., Bocci F. 1996.** Coffee lipid fraction I. Influence of roasting and decaffeination. *Industrie Alimentari* 35: 1057-1065.
- Leroy T., Ribeyre F., Bertrand B., Charmetant P., Dufour M., Montagnon C., Marraccini P. and Pot D. 2006.** Genetics of coffee quality. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18: 229-242.
- Lindenmeier M., Faist V., y Hofmann T. 2002.** Structural and functional characterization of pronyl-lysine, a novel protein modification in bread crust melanoidins showing in vitro antioxidative and phase I/II enzyme modulating activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6997-7006.
- Lindsay J., Laurin D., Verreault R., Heber R., Helliwell B., Hill G. B., McDowell I. 2002.** Risk factors for Alzheimer's disease: a prospective analysis from the Canadian study of health and aging. *American Journal of Epidemiology* 156: 445-453.
- López-Castillo F. J., Escamilla-Prado E., Zamarripa-Colmenero A., Cruz-Castillo J. G. 2016.** Producción y calidad en variedades de café (*Coffea arabica* L.) en Veracruz, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39: 297-304.
- Ludwig I. A., Sánchez L., De Peña, M. P., Cid C. 2014.** Contribution of volatile compounds to the antioxidant capacity of coffee. *Food Research International* 61: 67-74.
- Macheix J. J., Fleuriet A., Billot J. 1990.** Fruit phenolics. CRC Press. Boca Raton. pp. 1-378.
- Macías T. N. 2001.** Principales enfermedades del cultivo del cafeto. *In*: Arnold, J. Manual de Caficultura. 3ª ed. Insituto Hondureño del Café. Tegucigalpa, Honduras. pp. 176-191.

- Manach C., Scalbert A, Morand C., Rémésy C., Jimenez L. 2004.** Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79: 727-747.
- Marín L. S. M., Arcila P. J., Montoya R. E. C., Oliveros T. C. E. 2003.** Escala de maduración para los frutos del cafeto *Coffea arabica* L. *Avances Técnicos Cenicafé* 315: 1-8.
- Martin M. J., Pablos F., González G. A., Valdenebro M. S., León-Camacho M. 2001.** Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. *Talanta* 54: 291-297.
- Martins S. I. F., Jongen W. M., Van Boekel M. A. J. 2001.** A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology* 11: 364-373.
- Massini R., Nicoli M. C., Cassará A. y Lericci C. R. 1990.** Study on physical and physicochemical changes of coffee beans during roasting. *Italian Journal of Food Science* 2: 123-130.
- Mazzafera P. and Robinson S. P. 2000.** Characterization of polyphenol oxidase in coffee. *Phytochemistry* 55: 285-296.
- Mazzafera P. and Padilha-Purcino R. 2004.** Post harvest processing methods and physiological alterations in the coffee fruit. Paper presented at the 20th International scientific Colloquium on Coffee, Bangalore, India.
- Mazzafera P. and Silvarolla M. B. 2010.** Caffeine content variation in single green Arabica coffee seeds. *Seed Science Research* 20: 163-167.
- McGuire R. G. 1992.** Reporting of objective color measurements. *Horticultural Science* 27: 1254-1255.

- Mestries B., F. 2006.** Migración Internacional y campesinado cafetalero en México. Fases, circuitos y trayectorias migratorias. *Análisis Económico XXI* 46: 263-289.
- Miller G. L. 1959.** Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry* 31: 426-428.
- Montagnon C., Guyot B., Cilas C., Leroy T. 1998.** Genetic parameters of several biochemical compounds from green coffee, *Coffea canephora*. *Plant Breeding* 117: 576-578.
- Moreno G. 2004.** Obtención de variedades de café con resistencia durable a enfermedades, usando la diversidad genética como estrategia de mejoramiento. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 28: 187-200.
- Nardini M., Cirillo E., Natella F. y Scaccini C. 2002.** Absorption of phenolic acids in humans after coffee consumption. *Journal of agricultural and food chemistry* 50: 5735-5741.
- Natella F., Nardini M., Giannetti I., Dattilo C., Scaccini C. 2002.** Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6211-6216.
- Nicoli M. C., Anese M., Manzocco L., Lericci C. R. 1997.** Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree, *LWT Food Science and Technology* 30: 292-297.
- Nkondjock A. 2009.** Coffee consumption and the risk of cancer: An overview. *Cancer Letters* 277: 121-125.
- NMX-F-551-SCFI-2008.** Café verde – especificaciones, preparaciones y evaluación sensorial.
Disponible en: <http://amecafe.org.mx/backup/2011/documentos/normas/nmx-f-551-scfi-2008.pdf>.

NMX-F-177-SCFI-2009. Café verde de especialidad – especificaciones, clasificación y evaluación sensorial.

Disponible en <http://amecafe.org.mx/backup/2011/documentos/normas/nmx-f-177-scfi-2009.pdf>.

Noyes R. M. and Chu, C. M. 1993. Material balance on free sugars in the production of instant coffee. *In*: Proceedings of the 15th Colloquium (Montpellier). ASIC, Paris, France. pp. 577-582.

Obando S. A., Guerrero R., Orúe M., Zelaya B., Guevara Z., Contreras E. 1996. Proceso de beneficiado de café y su reconversión. *In*: Manual de Caficultura de Nicaragua. UNICAFÉ. Fondo de Contravalor Italia/Nicaragua. CENACOR. Managua, Nicaragua. pp. 195-207.

Ogita S., Uefugi H., Yamaguchi Y., Koizumi N., Sano H. 2003. Producing decaffeinated coffee plants. *Nature* 423: 823.

Oliveros T. C. E., Sanz U. J. R., Ramírez G. C. A., Mejía G. C. A. 2007. Separador hidráulico de tolva y tornillo sinfín. Sistema Informático de la Caficultura Nacional (SICN). *Avances Técnicos Cenicafe* 360: 1-8.

Ordoñez M. A. 2001. Producción de semilleros y viveros de café. *In*: Arnold, J. Manual de Caficultura. 3ª ed. Instituto Hondureño del Café. Tegucigalpa, Honduras. pp. 42-54.

Orozco, M. E. F. 2008. Enfermedades del cultivo del café en época lluviosa. *El Cafetal (Guatemala)* 18: 7.

Pantoja R. J. R. 1990. Obtención de semilla. *In*: Instituto Mexicano del Café-Nestlé (eds.) El cultivo del cafeto en México. Ed. La Fuente, S.A. Xalapa. Ver. México. pp. 43-49.

Pérez V. M. 1997. Proceso histórico de las variedades, cruces y mutaciones de *Coffea arabica* y catimores en Costa Rica. *Boletín PROMECAFE*, Guatemala, 73-74: 13-15.

- Perrone D., Farah A., Donangelo C. M., de Paulis T., Martin R. P. 2008.** Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. *Food Chemistry* 106: 859-867.
- Perrone D., Farah A., Donangelo C. M. 2012.** Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 4265-4275.
- Petraco M. 2005.** The cup. *In: Espresso Coffee: The Science of Quality*, 2nd edition, Illy A., Viani R., eds. Italy: Elsevier Academic Press. pp. 290-298.
- Pineda M., Reyes F., Alonso O. 2001.** Beneficiado y calidad del café. *In: Instituto Hondureño del café. Manual de Caficultura*, 3ª ed. Tegucigalpa, Honduras. pp. 213-241.
- Puerta Q. G. I. 2003.** Especificaciones de origen y buena calidad del café de Colombia. *Avances técnicos*, 316. Chinchiná, Cenicafé. 25 p.
- Puerta Q. G. I. 2009.** Los catadores de café. Chinchiná, Cenicafé. *Avances técnicos* 381.
- Puerta Q. G. I. y Ríos A. S. 2011.** Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración. *Cenicafé* 62: 23-40.
- Ranheim T. y Halvorsen B. 2005.** Coffee consumption and human health-beneficial or detrimental? Mechanisms for effects of coffee consumption on different risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes mellitus. *Molecular Nutrition and Food Research* 49: 274-284.
- Rao C. V., Chou D., Simib B., Herching K. and Reddy B. S. 1998.** Prevention of colonic aberrant crypt foci and modulation of large bowel microbial activity by dietary coffee fiber inulin and pectin. *Carcinogenesis* 19: 1815-1819.

- Rayner R. W. 1961.** Germination and penetration studies on coffee rust (*Hemileia vastatrix* B. & Br.). *Annals of applied biology* 49: 497-505.
- Redgwell R. and Fischer M. 2006.** Coffee carbohydrates. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18: 165-174.
- Redgwell R. J., Trovato V., Curti D. and Fischer M. 2002.** Effect of roasting on degradation and structural features of polysaccharides in Arabica coffee beans. *Carbohydrate Research* 337: 421-431.
- Rivillas O. C. A., Leguizamón C. J. E., Gil V. L. F., Duque O. H. 1999.** Recomendaciones para el manejo de la roya en Colombia. Boletín Técnico No. 19. 2ª ed. FEDERACAFÉ-CENICAFÉ. Chinchiná, Caldas, Colombia. 36 p.
- Rodrigues, N. P. and Bragagnolo, N. 2013.** Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC–DAD–MSⁿ. *Journal of Food Composition and Analysis* 32: 105-115.
- SAGARPA. 2013.** Situación epidemiológica de la roya del cafeto en México. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria (SINAVEF), 244, marzo 2013. Disponible en: <http://www.infocafes.com/descargas/biblioteca/244.pdf>
- SAGARPA. 2014.** Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON). Reporte 2014. México.
- SAGARPA. 2016.** Servicio de información agroalimentaria y pesquera (SIAP). “Avance de siembras y cosechas. Resumen nacional por estado, perennes 2015”. México.
- Saklar S., Katnas S., Ungan S. 2001.** Determination of optimum hazelnut roasting conditions. *International Journal of Food Science and Technology* 36: 271-281.
- Santos S. D. 2005.** Uso eficiente del agua en el beneficiado húmedo del café. *El Cafetal (Guatemala)* 7: 14-15.

- Santos M. D., Almeida M. C., Lopes N. P., Souza G. E. P. 2006.** Evaluation of the anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the natural polyphenol chlorogenic acid. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 29: 2236-2240.
- Santoyo C. V. H., Díaz C. S., Rodríguez P. B., Pérez P. J. R. 1994.** Sistema agroindustrial café en México: diagnóstico, problemática y alternativas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México, México. 157 p.
- Saqib M., Iqbal S., Mahmood A. y Akram R. 2016.** Theoretical Investigation for Exploring the Antioxidant Potential of Chlorogenic Acid: A Density Functional Theory Study. *International Journal of Food Properties* 19: 745-751.
- Schenker, S., Heinemann, C., Huber, R., Pompizzi, R., Ferren, R. and Escher, F. 2002.** Impact of roasting temperature profiles on chemical reaction conditions in coffee beans. *Journal of Food Science* 67: 60-66.
- Scholz B. M. and Maier H. G. 1990.** Isomers of quinic acid and quinide in roasted coffee. *Lebensmittel Untersuchung und Forschung* 190: 132-134.
- Silwar R. and Lüllman C. 1988.** The determination of mono- and disaccharides in green arabica and robusta coffees using high performance liquid chromatography. *Café, cacao, thé* 32: 319-322.
- Singleton V. L. and Rossi J. A. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16 (5): 144-158.
- Somporn C., Kamtuo A., Theerakulpisut P., Siriamornpu S. 2011.** Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). *International Journal of Food Science and Technology* 46: 2287-229.

- Soto F. A., Vantour A., Hernández A., Planas A., Figueroa P., Fuentes O. 2001.** La zonificación agroecológica del *Coffea arabica* L. en Cuba. Macizo montañoso Sagua-Nipe-Baracoa. Cultivos Tropicales 22: 27-52.
- Speer K. and Kolling-Speer I. 2006.** The lipid fraction of the coffee bean. Brazilian Journal of Plant Physiology 18: 201-216.
- Van Der Stegen G. H. D. and Van Duijn J. 1987.** Analysis of normal organic acids in coffee. Association Scientifique Internationale du Café, Paris (France). Paper presented at the 12th International Scientific Colloquium on Coffee, Montreal, Canadá.
- Sunarharum W. B., Williams D. J. and Smyth H. E. 2014.** Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. Food Research International 62: 315-325.
- Tfouni S. A. V., Serrate C. S., Carreiro L. B., Camargo, M. C. R., Teles C. R. A., Cipolli M. V. A. B, and Furlani R. P. Z. 2012.** Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine, and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two *Coffea* cultivars: *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and *Coffea canephora* cv. Apoatã IAC-2258. International Journal of Food Science and Technology 47: 406-415.
- Toci A. T., Farah A., Trugo L. C. 2006.** Efeito do processo de desafinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés Arábica e Robusta antes e após a torração. Química Nova 29: 965-971.
- Toci A. T. and Farah A. 2008.** Volatile compounds as potential defective coffee seeds markers. Food Chemistry 108: 1133-1141.
- Toci A. T., Silva C. M., Fernandes F., Farah A. 2009.** Effect of the fluid speed changes on the chemical composition of coffee samples roasted in an industrial semi-fluidized bed roaster. Proc. 23rd Int. Conf. Coffee Sci. ASIC, Trieste, Italy. pp. 500-503.

- Toci A. T., Neto V. J. F. M., Torres A. G., Calado V., Farah A. 2013.** Changes in triacylglycerols and free fatty acids composition during storage of roasted coffee. *LWT - Food Science and Technology* 50: 581-590.
- Tohda C., Kuboyama T., Komatsu K. 2005.** Search for natural products related to regeneration of the neuronal network. *Neurosignals* 14: 34-45.
- Trugo L. C. and Macrae R. 1984.** A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry* 15: 219-227.
- Trugo L. C. 1985.** Carbohydrates. *In: Coffee Vol 1: Chemistry.* 1st edition, Clarke R. J., Macrae R., eds. Essex: Elsevier Applied Science Publishers. 83 p.
- Trugo L. C. 2003.** Coffee Analysis. *In: Encyclopedia of Food Science and Nutrition,* 2nd edition, Caballero B., Trugo L. C., Finglas P. M., eds. Oxford, UK: Oxford Academic Press Vol. 2, 498 p.
- Tzouros N. E. and Arvanitoyannis I. S. 2001.** Agricultural produces: synopsis of employed quality control methods for the authentication of foods and application of chemometric for the classification of foods according to their variety or geographical origin. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 41: 287-319.
- Upadhyay R., y Rao L. J. M. 2013.** An outlook on chlorogenic acids—occurrence, chemistry, technology, and biological activities. *Critical reviews in Food Science and Nutrition* 53: 968-984.
- Valdés M. S. E. 2006.** Hidratos de Carbono *In: Química de los alimentos.* Badui D. S. (Ed). 4 Ed. Pearson educación, México. pp. 56-71.
- Van Dam R. M., Willett W. C., Manson J. E., Hu F. B. 2006.** Coffee, caffeine, and risk of type 2 diabetes: a prospective cohort study in younger and middle-aged U.S. women. *Diabetes Care* 29: 398-403.

- Vignoli J. A., Bassoli D. G., Benassi M. T. 2011.** Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry* 124: 863-868.
- Vignoli J. A., Viegas M. C., Bassoli D. G. y Benassi M. T. 2014.** Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International* 61: 279-285.
- Vitzthum O. G. 1976.** Chemie und Bearbeitung des Kaffees. In: Eichler O. (ed), *Kaffee und Coffein*, 2nd edn. Springer, Berlin Heidelberg New York. pp 3-64.
- Villarreal D., Laffargue A., Posada H., Bertrand B., Lashermes P., Dussert S. 2009.** Genotypic and environmental effects on coffee (*Coffea arabica* L.) bean fatty acid profile: Impact on variety and origin chemometric determination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 11321-11327.
- Villarreal D., Baena C., Posada H. 2012.** Análisis de lípidos y ácidos grasos en café verde de líneas avanzadas de *Coffea arabica* cultivadas en Colombia. *Cenicafé* 63: 19-40.
- Vota-vova L., Voldrich M., Sevcik R., Cizkova H., Mlejnecka J., Stolar M. y Fleisman T. 2009.** Changes on the antioxidant capacity of Robusta coffee during roasting. *Czech Journal of Food Science* 27: S49-S52.
- Wang H. Y., Qian H., Yao W. R. 2011.** Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry* 128: 573-584.
- Williamson G. 2012.** Coffee and Health. *In: Teas, Cocoa and Coffee: Plant Secondary Metabolites and Health*, First Edition. Crozier A., Hiroshi A., Tomás-Barbéran F. (Eds). John Wiley & Sons, Ltd. pp. 169-192.
- Wolf A., Bray G. A., Popkin B. M. 2008.** A short history of beverages and how our body treats them. *Obesity Reviews* 9: 151-164.

Yanagimoto K., Ochi H., Lee K. G., Shibamoto T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 592-596.

Yeretzian C., Jordan A., Lindinger W. 2003. Analyzing the headspace of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry* 223-224: 115-139.

Young I. S. and Woodside J. V. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology* 54: 176-186.

11. APENDICE



Figura A1. Muestras de café verde con 10-12% de humedad.



Figura A2. Muestras de café tostado ligero con 2-4% de humedad.

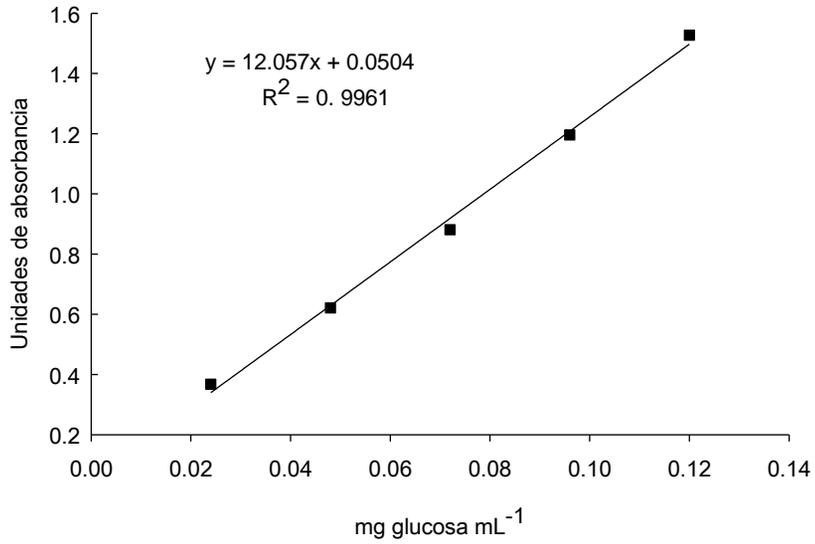


Figura A3. Curva estándar para la cuantificación de azúcares totales por el método fenol-sulfúrico (Dubois *et al.*, 1956).

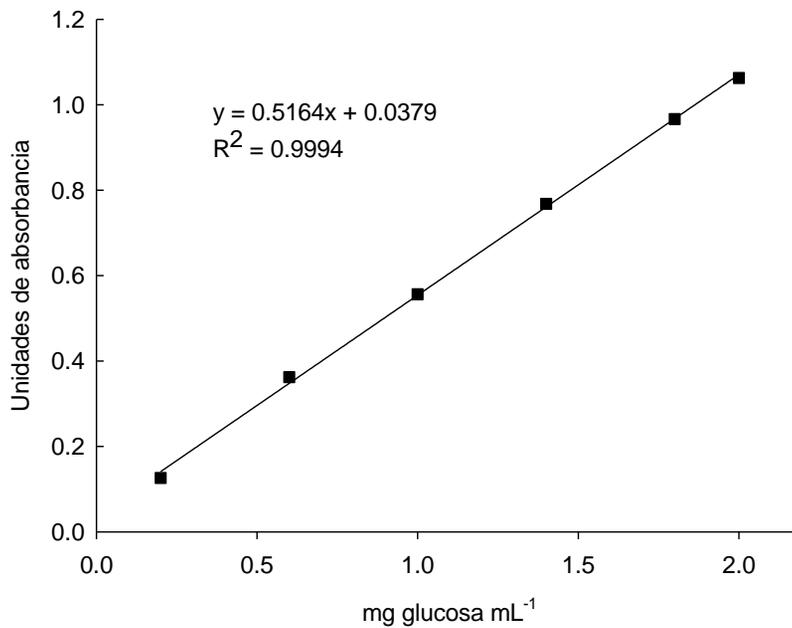


Figura A4. Curva estándar para la cuantificación de azúcares reductores por el método DNS (ácido 3, 5-dinitrosalisílico) (Miller, 1959).

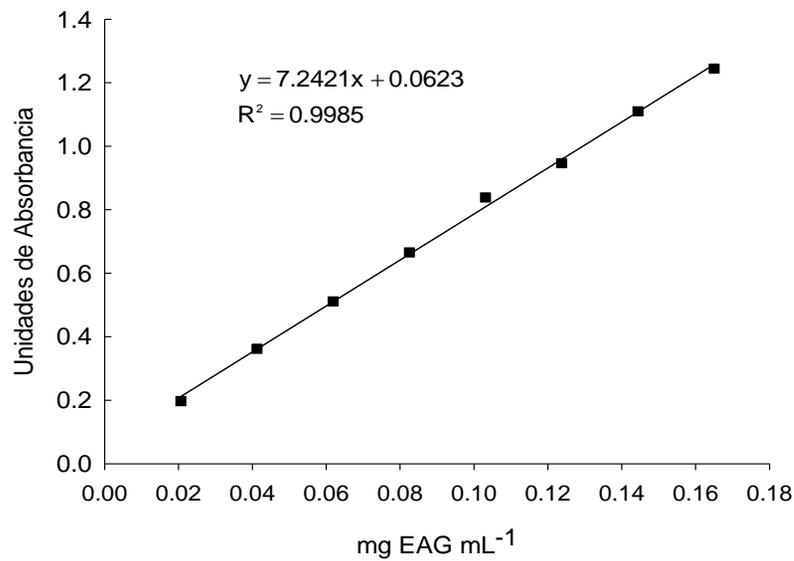


Figura A5. Curva estándar para la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965).

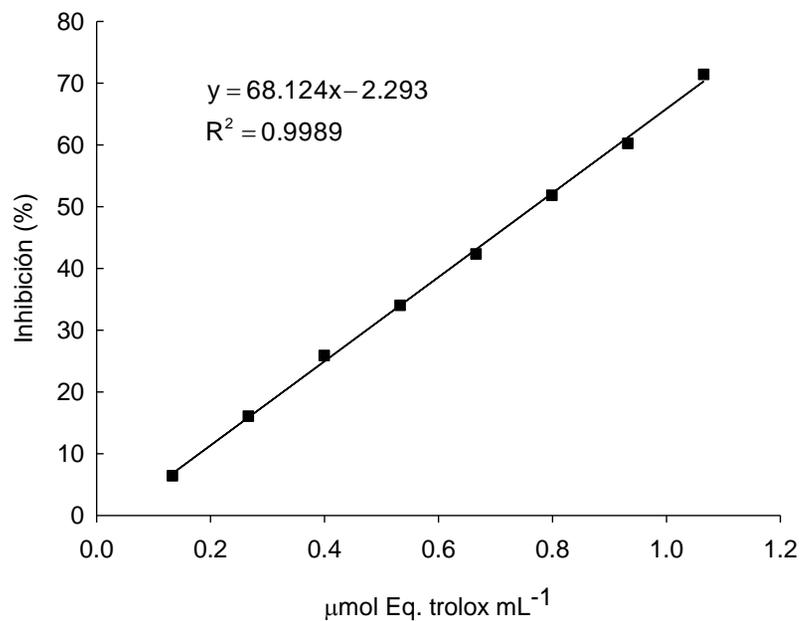


Figura A6. Curva estándar para la determinación de actividad antioxidante por el método de DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995).

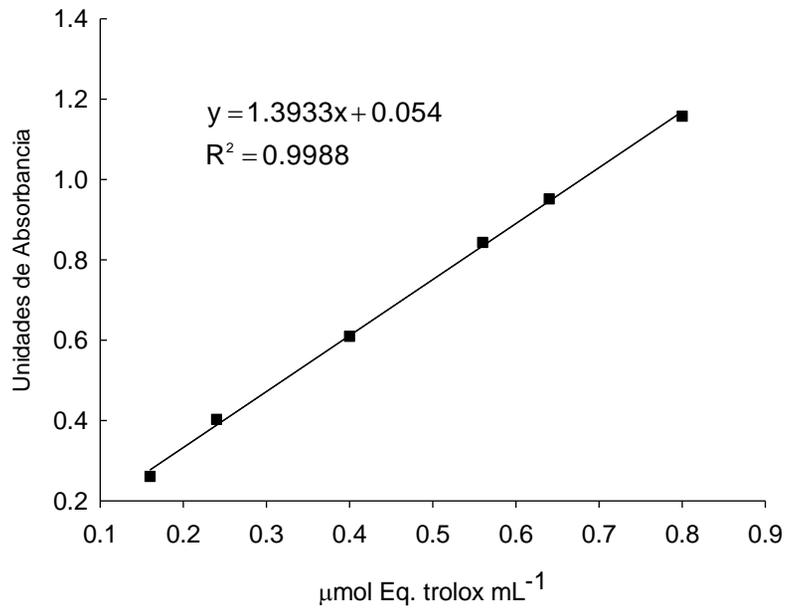


Figura A7. Curva estándar para la determinación de actividad antioxidante por el método de FRAP (Benzie y Strain *et al.*, 1999).

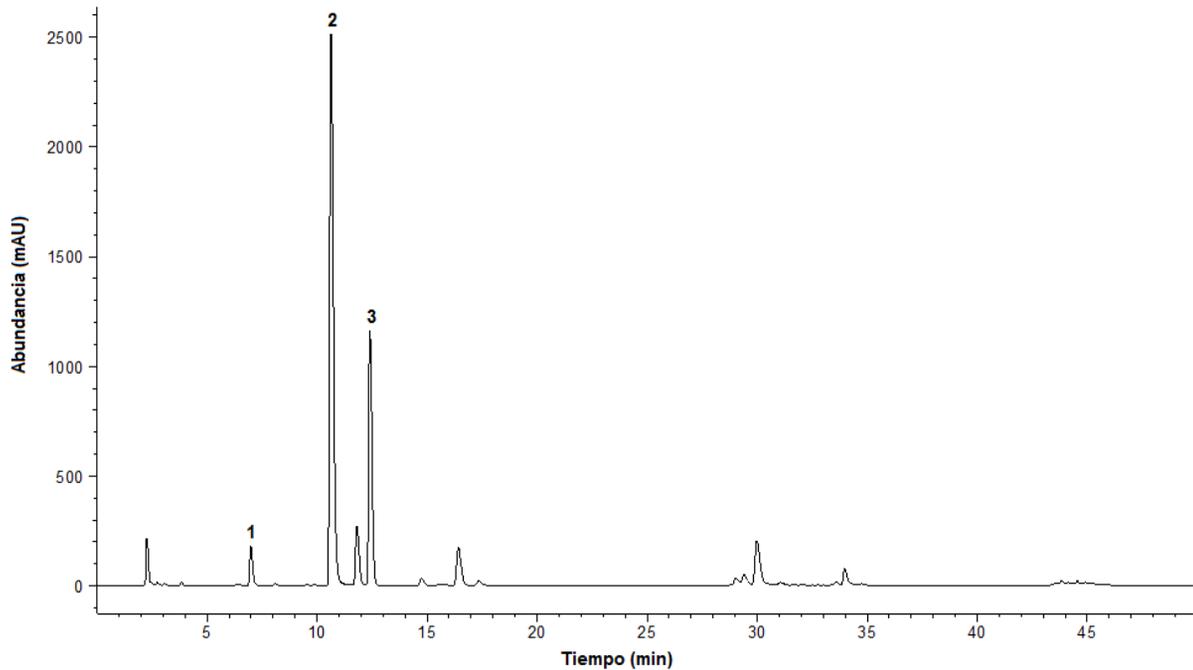


Figura A8. Cromatograma con detección UV a 280 nm obtenido mediante HPLC de una muestra de café verde de la variedad Catimor CR95 F2. Los picos identificados corresponden a 1) ácido neoclorogénico (3-CQA), 2) ácido clorogénico (5-CQA) y 3) cafeína.

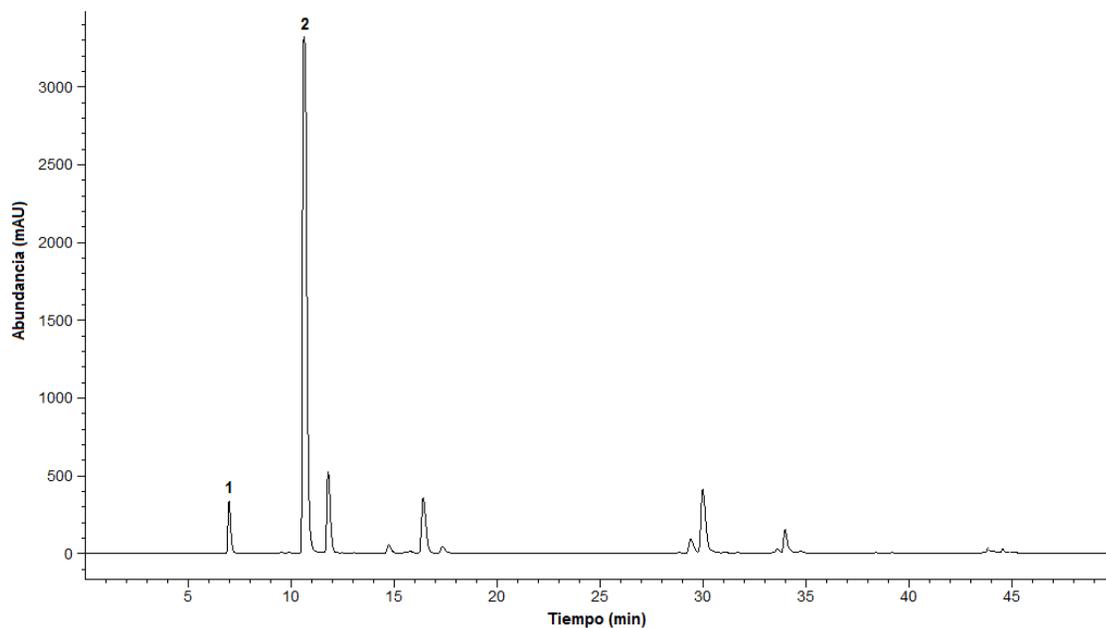


Figura A9. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante HPLC de una muestra de café verde de la variedad Catimor CR95 F2. Los picos identificados corresponden a 1) ácido neoclorogénico (3-CQA) y 2) ácido clorogénico (5-CQA).

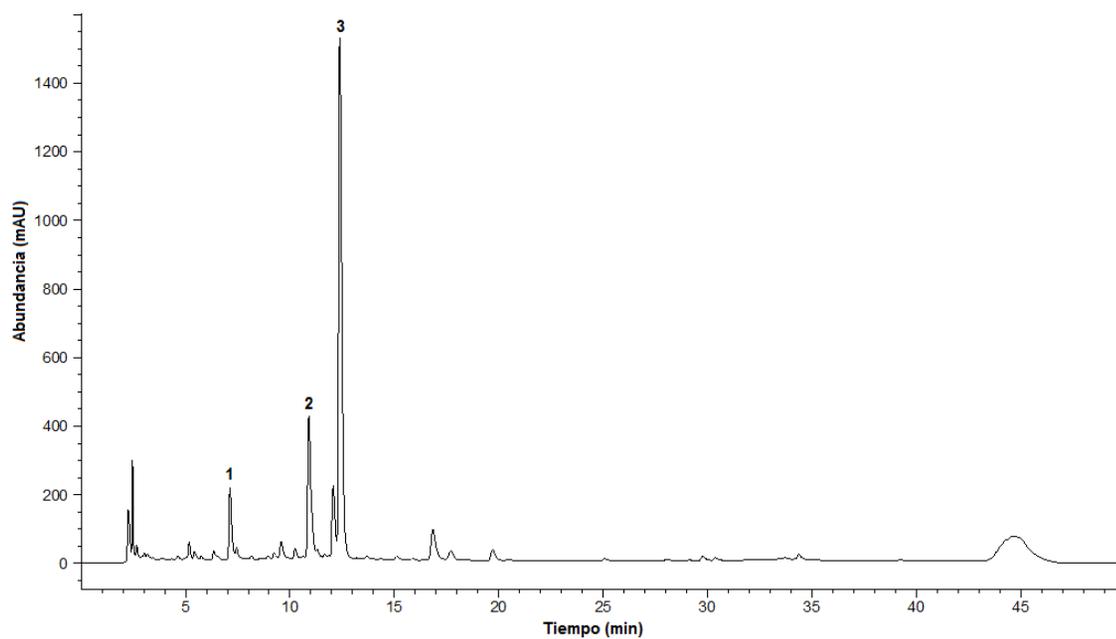


Figura A10. Cromatograma con detección UV a 280 nm obtenido mediante HPLC de una muestra de café tostado de la variedad Catimor CR95 F3. Los picos identificados corresponden a 1) ácido neoclorogénico (3-CQA), 2) ácido clorogénico (5-CQA) y 3) cafeína.

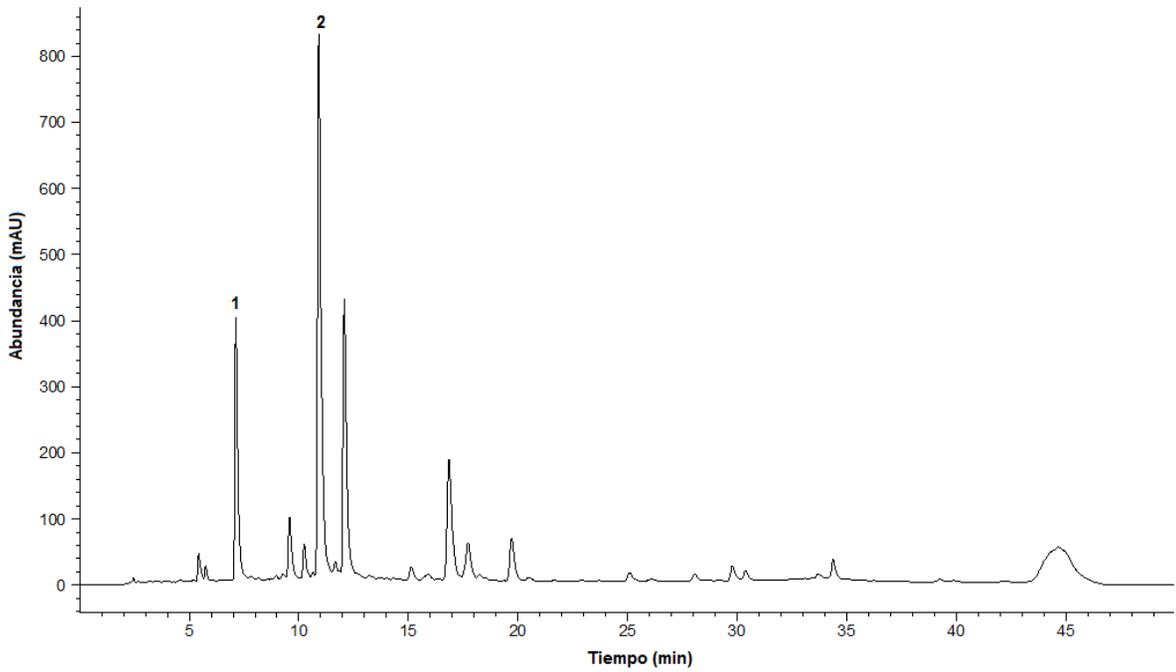


Figura A11. Cromatograma con detección UV a 320 nm obtenido mediante HPLC de una muestra de café tostado de la variedad Catimor CR95 F3. Los picos identificados corresponden a 1) ácido neoclorogénico (3-CQA) y 2) ácido clorogénico (5-CQA).

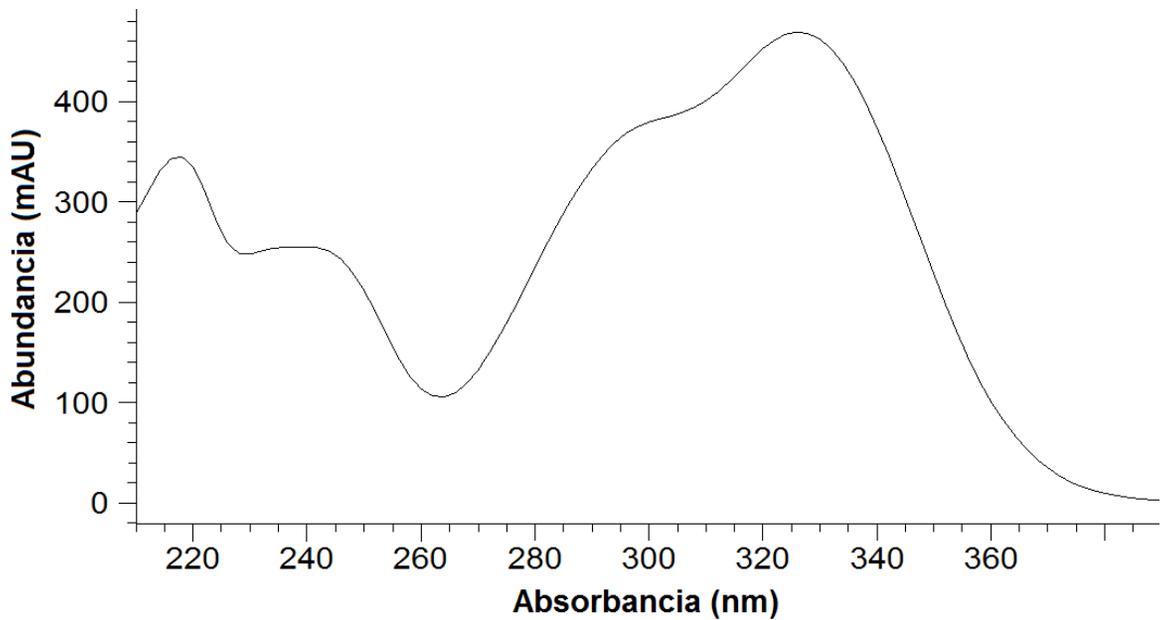


Figura A12. Espectro de absorbancia de ácido clorogénico.

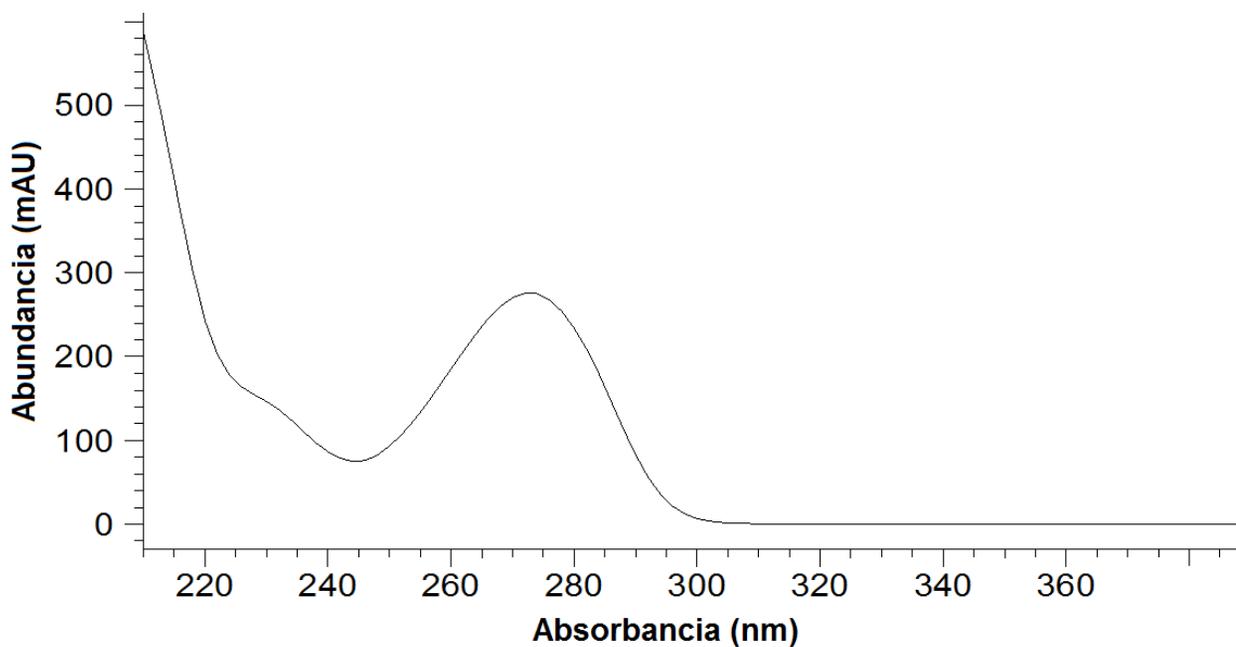


Figura A13. Espectro de absorbancia de cafeína.

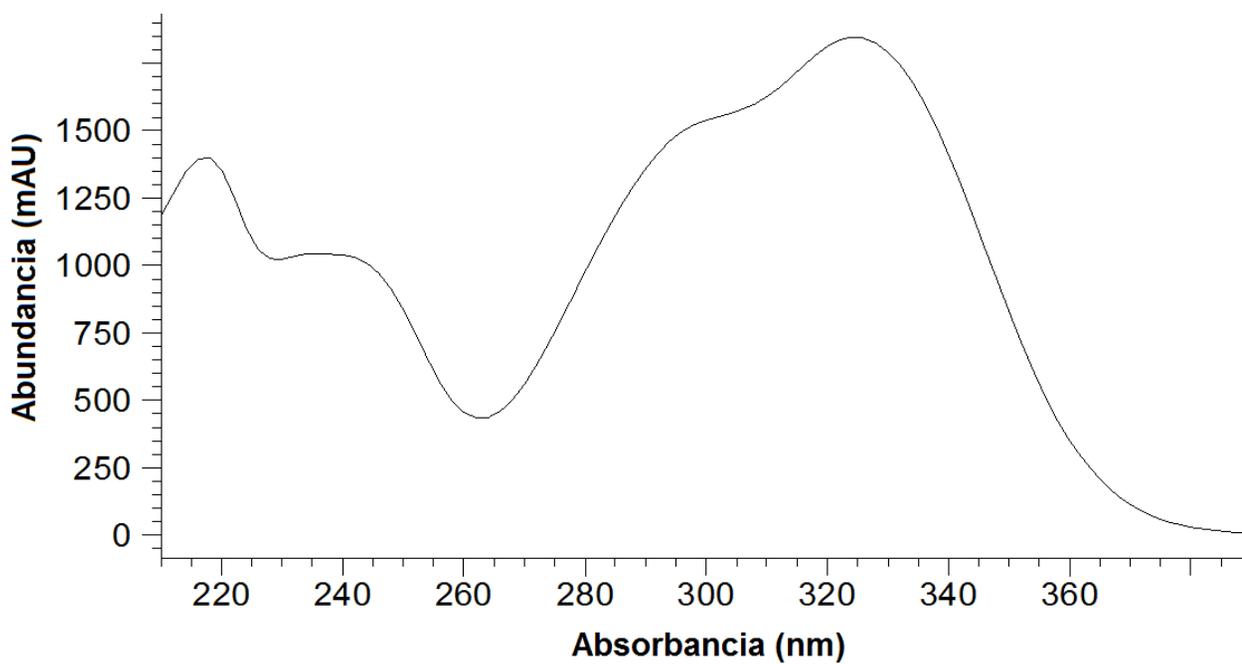


Figura A14. Espectro de absorbancia de ácido neoclorogénico.

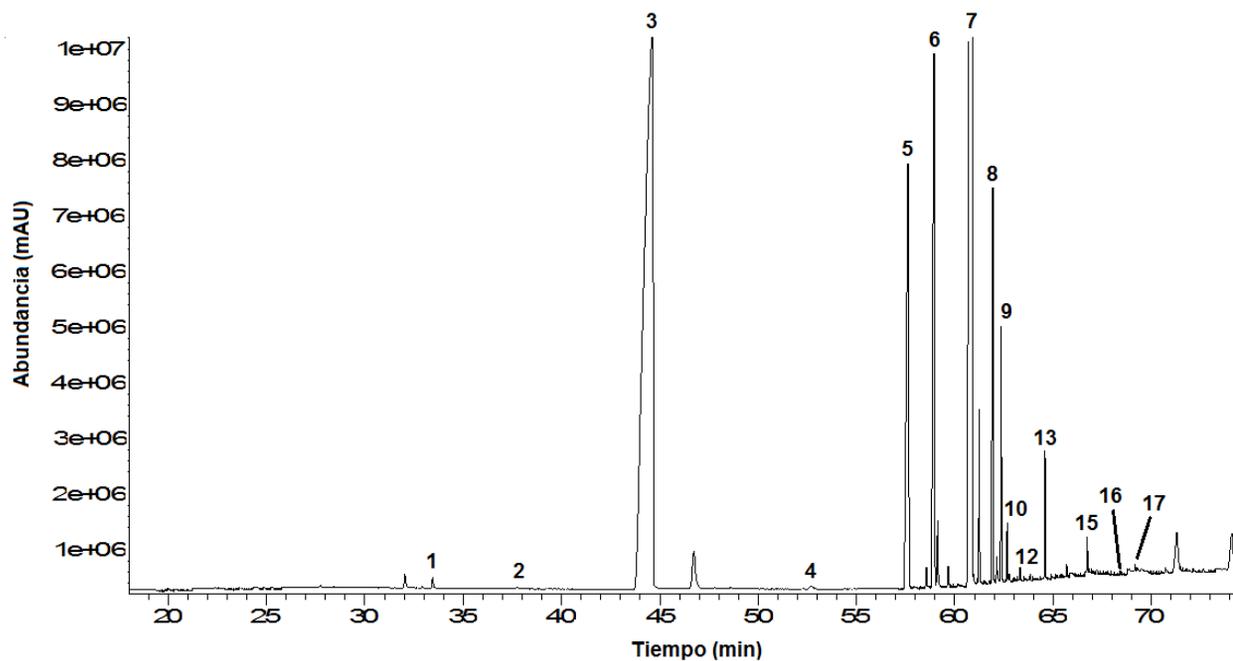


Figura A15. Cromatograma de los ésteres metílicos de los ácidos grasos presentes en una muestra de café verde de la variedad Typica. (1) C14:0, (2) C15:0, (3) C16:0, (4) C17:0, (5) C18:0, (6) C18:1, (7) C:18:2, (8) C20:0, (9) C18:3, (10) C20:1, (11) C21:0, (12) C20:2, (13) C22:0, (14) C23:0, (15) C24:0, (16) C25:0 y (17) C26:0.

Cuadro A1. Poder discriminante de cada variable canónica de los tres primeros ejes canónicos en granos de café verde.

Ácidos grasos		EC1	EC2	EC3
C14:0	Mirístico	0.29	0.61	0.01
C15:0	Pentadecanoico	0.17	-0.27	0.03
C16:0	Palmítico	0.11	-0.12	-0.55
C17:0	Margárico	0.15	-0.45	0.16
C18:0	Esteárico	-0.5	0.09	-0.02
C20:0	Araquídico	0.05	-0.01	0.07
C21:0	Eneicosanoato	0.38	0.15	-0.02
C22:0	Behénico	0.05	-0.03	0.14
C23:0	Tricosanoato	0.43	0.22	-0.01
C24:0	Lignocérico	0.55	-0.1	-0.1
C25:0	Pentacosanoico	0.48	-0.41	-0.28
C26:0	Cerótico	0.57	-0.44	-0.01
C18:1	Oleico	0.21	0.33	0.39
C20:1	Eicosenoico	0.39	-0.13	-0.14
C18:2	Linoleico	-0.09	-0.02	0.22
C20:2	Eicosadienoico	0.26	-0.44	-0.04
C18:3	Linolénico	-0.27	-0.58	0.1

EC= Eje canónico. Valores en negritas muestran AG de mayor poder discriminante, valores en color rojo muestran AG de menor poder discriminante.

Cuadro A2. Poder discriminante de cada variable canónica de los tres primeros ejes canónicos en granos de café tostado.

Ácidos grasos		EC1	EC2	EC3
C14:0	Mirístico	0.28	-0.15	0.12
C15:0	Pentadecanoico	0.00	-0.06	-0.29
C16:0	Palmítico	-0.19	-0.56	0.47
C17:0	Margárico	-0.37	-0.2	-0.46
C18:0	Esteárico	-0.4	0.53	-0.08
C20:0	Araquídico	0.28	0.28	-0.04
C21:0	Eneicosanoato	-0.04	0.07	-0.25
C22:0	Behénico	-0.31	0.17	-0.35
C23:0	Tricosanoato	0.07	-0.11	-0.3
C24:0	Lignocérico	0.04	-0.31	-0.34
C25:0	Pentacosanoico	0.09	-0.59	-0.15
C26:0	Cerótico	0.21	-0.59	-0.46
C18:1	Oleico	0.52	0.48	-0.31
C20:1	Eicosenoico	0.26	0.12	0.07
C18:2	Linoleico	0.05	-0.19	0.05
C20:2	Eicosadienoico	-0.03	-0.18	-0.4
C18:3	Linolénico	-0.47	0.12	-0.38

EC= Eje canónico. Valores en negritas muestran AG de mayor poder discriminante, valores en color rojo muestran AG de menor poder discriminante.

Cuadro A3. Comparación de medias de las características biofísicas de granos de café verde y tostado por variedad.

Variedad	Tamaño del grano (mm)			Peso específico		
	Largo	Ancho	Grosor	Peso de 100 granos (g)	Volumen de 100 granos (cm ³)	Peso específico (g cm ⁻³)
Mundo Novo	10.2 de	7.4 a	4.2 b	14.6 g	19.7 cd	0.80 bc
Bourbon	10.7 cd	7.7 a	4.2 b	16.0 c	22.2 b	0.80 bc
Typica	10.9 bcd	7.6 a	3.8 c	14.8 f	21.1 bc	0.78 c
Caturra Roja	11.0 abc	7.6 a	4.1 bc	15.9 c	20.5 c	0.82 abc
CR95 F1	10.8 bcd	7.6 a	4.0 bc	15.1 e	20.5 c	0.80 bc
CR95 F2	10.7 cd	7.4 a	4.1 bc	14.9 ef	20.3 c	0.80 bc
CR95 F3	11.7 a	7.6 a	4.6 a	18.9 a	24.8 a	0.82 abc
Sarchimor	11.5 ab	7.6 a	4.3 ab	17.6 b	22.3 b	0.83 ab
Robusta	9.8 e	7.4 a	4.6 a	15.5 d	18.7 d	0.85 a

Variedad	L*	a*	b*
	Mundo Novo	52.10 e	3.29 cd
Bourbon	52.72 d	2.46 e	10.35 e
Typica	54.27 b	3.00 d	11.25 bc
Caturra Roja	55.37 a	3.70 b	12.30 a
CR95 F1	54.17 b	3.38 c	11.75 ab
CR95 F2	53.17 c	3.17 cd	11.00 cd
CR95 F3	53.43 c	3.34 c	9.98 e
Sarchimor	53.33 c	4.58 a	11.73 ab
Robusta	51.92 e	4.78 a	11.58 b

Las medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey, $P < 0.05$).

Cuadro A4. Comparación de medias de los parámetros fisicoquímicos y contenido de azúcares de granos de café verde y tostado por variedad.

Variedad	Acidez				Azúcares	
	Humedad (%)	a _w	At	pH	Totales	Reductores
Mundo Novo	6.5 ab	0.38 b	1.34 f	5.6 cd	24.08 b	17.53 e
Bourbon	6.5 ab	0.37 bc	1.59 b	5.5 e	34.60 a	23.73 b
Typica	6.6 ab	0.35 d	1.58 bc	5.5 e	35.89 a	20.97 c
Caturra Roja	6.0 b	0.37 bc	1.54 bc	5.5 d	25.74 b	21.58 c
CR95 F1	6.6 ab	0.36 c	1.50 cd	5.6 cd	36.68 a	21.78 c
CR95 F2	7.0 a	0.40 a	1.85 a	5.3 f	35.10 a	31.67 a
CR95 F3	6.4 ab	0.33 e	1.35 ef	5.8 b	29.41 c	21.32 cd
Sarchimor	6.4 ab	0.34 de	1.45 d	5.9 a	28.50 bc	20.27 d
Robusta	6.7 a	0.40 a	1.43 de	5.7 c	25.24 b	17.45 e

At=Acidez titulable (g ác. málico 100 g⁻¹ bs), a_w= Actividad de agua. Las medias con la misma letra en la misma columna no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

Cuadro A5. Comparación de medias de compuestos con actividad antioxidante de granos de café verde y tostado por variedad.

Variedad	DPPH	FRAP	PT	5-CQA	3-CQA	Cafeína
Mundo Novo	321.4 abc	443.4 e	49.5 de	33.58	5.25	14.18
Bourbon	333.2 ab	488.0 c	47.4 e	27.33	4.01	12.29
Typica	336.4 a	484.9 c	53.0 c	34.07	4.94	11.36
Caturra Roja	316.9 bc	460.6 de	49.6 de	35.11	5.34	11.43
CR95 F1	337.8 a	473.6 cd	49.9 d	28.93	5.34	10.22
CR95 F2	285.2 d	541.0 b	55.9 b	32.70	3.22	10.51
CR95 F3	313.2 c	613.6 a	64.1 a	31.37	3.96	13.84
Sarchimor	276.4 d	442.7 e	43.2 f	28.43	4.42	12.81
Robusta	323.3 abc	628.5 a	64.0 a	29.39	4.82	21.05

PT=Polifenoles totales (mg EAG g⁻¹ bs); 5-CQA= ácido clorogénico (mg g⁻¹); 3-CQA= ácido neoclorogénico (mg g⁻¹). Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).