

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE FENOLES TOTALES EN CAFÉ Y SUBPRODUCTOS DEL CAFÉ PRODUCIDO Y COMERCIALIZADO EN NORTE DE SANTANDER (COLOMBIA)

ANTIOXIDANT CAPACITY AND TOTAL PHENOL CONTENT IN COFFEE AND COFFEE BY-PRODUCTS PRODUCED AND MARKETED IN NORTE DE SANTANDER (COLOMBIA)

Libia FONSECA-GARCÍA M.Sc.^{*1}, Lilia S. CALDERÓN-JAIMES Ph.D.², María E. RIVERA Ph.D.³

Recibido: Octubre 27 de 2013. Aceptado: Octubre 20 de 2014.

RESUMEN

Antecedentes: El café, una de las bebidas más consumidas en el mundo, contiene varios compuestos bioactivos como los antioxidantes, que han demostrado eficacia en reducir la incidencia de enfermedades crónicas y neurodegenerativas. Como Norte de Santander es la cuna del café en Colombia, resulta relevante estudiar las propiedades antioxidantes de su café y de la industria del café, que ofrece varios productos que se pueden usar como fuente de sustancias funcionales. **Objetivo:** Evaluar la capacidad antioxidante y determinar el contenido de fenoles totales en el café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia) y en sus residuos o subproductos. **Métodos:** Las muestras comerciales se seleccionaron mediante una encuesta aplicada en 12 municipios de Norte de Santander. Las almendras y los residuos de café provinieron de los municipios de Toledo y Lourdes. La capacidad antioxidante se evaluó por los métodos FRAP y ABTS y el contenido de fenoles totales se determinó por Folin Ciocalteu (FC). **Resultados:** El contenido de fenoles totales se encontró entre $1129 \pm 0,000$ y $2582 \pm 0,000$ mg EAG/g café, y entre $52,57 \pm 4,767$ y $1904 \pm 8,288$ mg EAG/g café, para las muestras comerciales y sin tostar, respectivamente. La capacidad antioxidante en las muestras comerciales varió entre $3095 \pm 0,000$ y $6857 \pm 8,115$ para FRAP, y entre $224,0 \pm 0,245$ y $245,0 \pm 0,000$ μmol Etrolox/g café para ABTS. En el caso de las almendras y los residuos, la capacidad antioxidante varió entre $2,265 \pm 0,000$ y $1894 \pm 1,627$ por FRAP, y entre $71,78 \pm 0,000$ y $233,0 \pm 0,000$ μmol Etrolox/g café por ABTS. **Conclusiones:** Todas las muestras presentaron capacidad antioxidante y fenoles totales, incluidos los residuos del procesamiento del café tales como el pergamino, la cáscara y la pulpa de la cereza. Por lo tanto, se confirma el potencial de los residuos de café como fuentes naturales de antioxidantes. Esta investigación reporta por primera vez propiedades antioxidantes en el pergamino y en cafés especiales.

Palabras clave: Café, fenoles, antioxidantes, subproductos del café, Norte de Santander

¹ Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Pamplona, Ciudad Universitaria. Pamplona, Colombia.

² Dirección Nacional de Investigación, Universidad Cooperativa de Colombia. Medellín, Colombia.

³ Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Universidad de Pamplona, Ciudad Universitaria. Pamplona, Colombia.

* Autor a quien se debe dirigir la correspondencia: libiafonseca@yahoo.com

ABSTRACT

Background: Coffee, one of the most consumed beverages in the world, contains several bioactive compounds such as antioxidants, which have shown effectiveness in reducing the incidence of chronic and neurodegenerative diseases. As Norte de Santander is the birthplace of coffee in Colombia, it is important to study the antioxidant properties of its coffee and of this coffee industry, which delivers several products that may be used as a source of functional substances. **Objective:** To evaluate the antioxidant capacity and to determine the total phenol content in the coffee produced and marketed in Norte de Santander (Colombia) and in its waste or by-products. **Methods:** Commercial samples were selected by a survey conducted in 12 municipalities of Norte de Santander. Almonds and coffee waste came from the towns of Toledo and Lourdes. The antioxidant capacity was evaluated by FRAP and ABTS methods and the total phenol content was determined by Folin Ciocalteu (FC). **Results:** total phenol content was found between 1129 ± 0.000 and 2582 ± 0.000 mg EAG / g coffee and between 52.57 ± 4.767 and 1904 ± 8.288 mg EAG / g coffee, for commercial and unroasted samples, respectively. The antioxidant capacity in commercial samples varied between 3095 ± 0.000 and 6857 ± 8.115 for FRAP and between 224.0 ± 0.245 and 245.0 ± 0.000 μmol Etrolox/g coffee for ABTS. In the case of almonds and waste, the antioxidant capacity varied between 2.265 ± 0.000 and 1894 ± 1.627 by FRAP and between 71.78 ± 0.000 and 233.0 ± 0.000 μmol Etrolox / g coffee by ABTS. **Conclusions:** All samples showed antioxidant capacity and total phenols, including coffee processing wastes such as parchment, peel and pulp of the cherry. Therefore, the potential of coffee wastes as natural sources of antioxidants is confirmed. This study reports for the first time antioxidant properties of parchment and specialty coffees.

Keywords: Coffee, phenols, antioxidants, coffee by-products, Norte de Santander

INTRODUCCIÓN

El café fue cultivado por primera vez en Etiopía en la provincia de Keffa (1). Posteriormente fue introducido en Yemen, Arabia y Egipto (2). Fue llevado a Europa a través de Italia, mientras a América fue traído por los franceses en la colonización (3). En 1730 el sacerdote jesuita José Gumilla, en su libro *El Orinoco Ilustrado*, documentó por primera vez la presencia del cafeto en Colombia. En 1787 el Arzobispo-Virrey Caballero y Góngora informó a las autoridades españolas sobre cultivos en regiones cercanas a Girón (Santander) y a Muzo (Boyacá). En 1835 se dio la primera producción comercial, los primeros 2560 sacos se exportaron desde la aduana de Cúcuta. A partir de 1850, el café se extiende hacia el centro y el occidente de Colombia a través de Cundinamarca, Antioquia y el antiguo Caldas. La propagación del cultivo se le atribuye al sacerdote Francisco Romero, ya que imponía sembrar café como penitencia a los habitantes de Salazar de las Palmas (Norte de Santander), por lo anterior, este municipio es reconocido como la cuna del café en Colombia (4).

Norte de Santander contribuye con el 2,63 % de la producción nacional de café. La caficultura se realiza bajo sombra y semisombra. Existen dos

categorías de cafés especiales: de origen y sostenible. El café de origen proviene de Toledo y Labateca, ocupó el tercer lugar en la competencia internacional “Taza de la Excelencia Colombia 2013” y en el 2009 se lanzó la edición especial “Cosecha Dorada Juan Valdez”. Entre los cafés sostenibles se cuenta con Certificado UTZ *Kapeh*, Café licenciado 4C y Certificado *Rainforest Alliance*. En el 2011, este último se hizo merecedor al tercer puesto en el Concurso Internacional de Calidad, *Rainforest Alliance* (5, 6).

El café es uno de los alimentos más documentados (1). Estudios epidemiológicos han demostrado que reduce de manera significativa el riesgo de diabetes tipo 2, cirrosis hepática, cáncer de hígado y colorrectal, enfermedades cardiovasculares e inflamatorias (7) y enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson (8, 9). Se ha sugerido que existe un efecto positivo entre el consumo del café y la velocidad de raciocinio y una relación inversa con el riesgo de suicidio (10). Además, ha demostrado tener actividad anticariogénica *in vitro* e *in vivo* (11). Este efecto beneficioso se debe a la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes (8). Se ha reportado mayor capacidad antioxidante (CA) en café Colombiano que en mezclas convencionales (12). Los compuestos que más

contribuyen con la CA del café son los compuestos fenólicos llamados ácidos clorogénicos, seguidos por las melanoidinas (9). El café es la principal fuente de ácido clorogénico en la dieta humana (13). Se calcula que solo una taza contiene 70-350 mg de ácidos clorogénicos (2, 3).

Durante el tostado del café se presenta la formación de acrilamida y de furano como productos de la reacción de Maillard. Estos compuestos han sido clasificados como posibles cancerígenos en humanos por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), en el grupo 2A y 2B para la acrilamida y el furano, respectivamente.

Algunas investigaciones reportan que el contenido de acrilamida en el café depende de la especie, del grado de tostado y de las condiciones de almacenamiento. La alta solubilidad de esta sustancia en el agua, permite que se transfiera con facilidad a la bebida. Según Summa CA *et al.*, 2007, la reducción de la concentración de la acrilamida (con grado de tostado oscuro) es acompañada por una disminución de la CA del café.

La temperatura y el tiempo de tostado son los parámetros más importantes que influyen en la formación de furano en el café. De acuerdo con Altaki MS *et al.*, 2011, el furano se encuentra en el café en concentraciones inferiores al valor aceptable y para reducir su formación se recomienda 140 °C y 20 minutos como condiciones de tostado (14-17).

En la industrialización del café se genera gran cantidad de desechos que pueden ocasionar contaminación en agua, aire y suelo. Por ejemplo, las descargas de aguas residuales constituyen focos de vectores y la acumulación de residuos altera la calidad del aire (18, 19). Se estima que solo el 5 % de la biomasa generada se utiliza en la elaboración de la bebida. El porcentaje restante son residuos o subproductos tales como hojas, ramas, tallos, frutos verdes, borra y pulpa (representa el 44 % del fruto fresco).

Esta problemática ha ocasionado la búsqueda de usos alternativos de estos subproductos, con el fin de minimizar el impacto ambiental. Se han empleado la pulpa y la cascara como fertilizante y compost (20). Se ha estudiado la pulpa del café como sustituto en los concentrados para ganado lechero hasta en un 20 %, lo que representa un 30 % de ahorro en el costo de alimentación (21). Se ha evaluado el uso de los subproductos del café como fuente de energía renovable por ejemplo, la pulpa y el mucilago en la producción de biogás y bioetanol,

y el pergamino como combustible (19, 22, 23). Se ha reportado la pulpa como sustrato rico en azúcares fermentables, para la producción de enzimas, ácidos orgánicos y champiñones (20).

En los últimos años se ha sugerido el uso de los subproductos del café como fuente promisoría de sustancias químicas funcionales y bioactivas para la industria alimenticia y farmacéutica, como los polifenoles y la cafeína (24, 25). Puertas-Mejía MA *et al.*, 2013 (26) ha demostrado que la borra del café, un residuo de la preparación de la bebida, presenta capacidad atrapadora de radicales libres y ha identificado los ácidos clorogénico, isoclorogénico y feruloilquínico. Arellano González MA, 2009 (27) ha estudiado la capacidad antioxidante de los ácidos hidroxycinámicos obtenidos de la pulpa de café.

Existen muchos trabajos donde se han analizado muestras de café colombiano, sin embargo, estas corresponden a café con calidad de exportación. Las materias primas del café producido y comercializado en Colombia son diferentes, tal como lo afirma Naranjo M *et al.*, 2011 (28), quien estudió la CA de cinco calidades de café colombiano (excelso UGQ, excelso D3, chorreado de pergamino, consumo y pasilla de máquinas). Por lo anterior, los propósitos de este trabajo fueron, primero: determinar la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales en cafés producidos y comercializados en Norte de Santander, ya que a pesar de su importancia como cuna del café en Colombia, hasta el momento no se ha reportado este tipo de estudios. Segundo: evaluar las propiedades antioxidantes de los subproductos de la industria del café (pergamino, pulpa y cascara), con el fin de explorar otros posibles usos de estos residuos

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Los reactivos ABTS (ácido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)); TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) y Folin-Ciocalteu fueron adquiridos de Fluka. El Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) y el ácido gálico de Sigma-Aldrich. El Persulfato de potasio y di-hidrogeno fosfato de sodio anhidro de Panreac. El carbonato de sodio anhidro y cloruro férrico hexahidratado de Mallinckrodt. El ácido clorhídrico y el ácido acético glacial de Merck. El acetato de sodio de Carlo Erba. El metanol de J. T. Baker

Muestras comerciales

Las muestras comerciales se identificaron mediante una encuesta realizada entre los meses de mayo a septiembre de 2011 en los municipios de Norte de Santander. Se empleó el muestreo por conveniencia, el Tipo de pregunta: cerrada y filtro, y de elección múltiple con abanico de respuestas con un ítem abierto; mediante entrevista personal y telefónica (29,30), dirigida a los establecimientos que comercializan café. De cada una de las seis regiones del departamento, se seleccionaron las dos marcas más representativas. Adicionalmente se incluyeron dos muestras de cafés especiales: especial de origen Toledo (EOT), especial sostenible- certificado *Rainforest* (ESR); una muestra del café más comercializado de circulación nacional (CNA) y una de café con un año de almacenamiento (UNA). El total de muestras comerciales fue de 16.

Muestras sin tostar

Las muestras sin tostar fueron ocho, provenientes de los municipios de Toledo y de Lourdes, Norte de Santander- Colombia. Se nombraron por tipo y procedencia: almendra (ALT), pergamino (PET), cáscara (CAT) y pulpa (PUT) para las muestras de Toledo; almendra (ALL), pergamino (PEL), cáscara (CAL) y pulpa (PUL) para las muestras de Lourdes.

Preparación de la muestra

Las muestras (comerciales y sin tostar) se prepararon en el momento del uso, siguiendo el procedimiento descrito por Abrahão SA *et al.*, 2010 (31); Santos MH *et al.*, 2007 (13) y Lima AR *et al.*, 2010 (32): se colocaron 10 gramos de café sobre un papel filtro Whatman N° 3 y se añadió 100 mL de agua destilada a 90 °C. Se diluyó al 10 % con agua destilada. Previa a su preparación, las muestras se trituraron y tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de 850 μm (20 mesh).

Determinación del contenido de fenoles totales

Se usó el método FC (33,34). Se añadió 7,4 mL de agua y 500 μL de FC al 10 % a 100 μL de muestra, estándar o blanco. Después de 2 minutos a temperatura ambiente, se añadieron 2 mL de carbonato de sodio al 10 %. La mezcla se agitó y se mantuvo a 40 °C en la oscuridad por 30 minutos. Se enfrió hasta temperatura ambiente. La absorbancia se leyó a 765 nm por triplicado (espectrofotómetro UV-2401 PC, Shimadzu, dotado con el *software* UVProbe 2.01).

La curva de calibración de ácido gálico se realizó desde 0 hasta 400 ppm. El resultado se reportó como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de café (mg EAG/g café).

Determinación de la capacidad antioxidante

Método FRAP (poder reductor/antioxidante férrico) (34,35):

En el ensayo FRAP a 900 μL de FRAP (mezcla de: TPTZ 10 mM preparado en HCl 40 mM, FeCl_3 20 mM y tampón acetato 0,3 M a pH 3,6; estabilizada a 37 °C durante 30 minutos antes del ensayo), se añadió 90 μL de agua destilada y 30 μL de muestra, estándar o blanco. La mezcla se incubó a 37 °C por 30 minutos. Se leyó la absorbancia a 595 nm por triplicado (espectrofotómetro UV-2401 PC, Shimadzu, dotado con el *software* UVProbe 2.01). La curva de calibración se realizó con trolox de 0 a 2500 μM . El resultado se reportó como μmoles equivalentes de trolox por gramo de café (μmol Etrolox/g café).

Método ABTS (inhibición del catión radical ABTS) (34,36):

Para el método ABTS, el radical se generó por reacción de ABTS 7 mM con $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2,45 mM; la mezcla se dejó en la oscuridad a temperatura ambiente por 16 horas. Esta solución se diluyó con tampón fosfato hasta una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ a 734 nm, y se estabilizó a 30 °C. La solución resultante se usó para el ensayo.

A 100 μL de muestra, estándar o blanco; se añadió 1 mL de solución de ABTS. Después de 30 minutos en la oscuridad a 30 °C, se midió la absorbancia a 734 nm por triplicado (espectrofotómetro UV-2401 PC, Shimadzu, dotado con el *software* UVProbe 2.01). La curva de calibración se realizó con trolox en el intervalo de 0 a 230 μM . El resultado se reportó como μmoles equivalentes de trolox por gramo de café (μmol Etrolox/g café).

Análisis estadístico

Se evaluó la correlación entre los métodos mediante el coeficiente de correlación de Pearson, para lo cual se empleó el software XLSTAT versión 2012.6.08 para *Windows*. La significancia de la correlación se determinó por medio del estadístico *t* (contraste basado en la *t* de Student) (37):

$$t = \frac{r \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}} \quad \text{Ecuación 1}$$

El estadístico *t* se distribuye según la *t* de Student con *n*-2 grados de libertad. *r* es el coeficiente de correlación y *n* es número de muestras (*n*=24)

RESULTADOS

Muestras comerciales

Se realizaron 408 encuestas, mediante las cuales se identificaron 30 marcas de café propias de Norte de Santander, distribuidas por regiones así: suroriente 12, oriente 7, occidente 4, suroccidente 3, norte 2 y centro 2. A continuación, en la tabla 1 se reporta la procedencia de las muestras comerciales más representativas de cada región

Tabla 1. Procedencia de las muestras comerciales seleccionadas

| Procedencia de la muestra | | Nombre de la muestra |
|---------------------------|-------------------|----------------------|
| Región | Municipio | |
| Norte | Sardinata | NT1 |
| | Tibú | NT2 |
| Suroccidente | Pamplona | SC1 |
| | Pamplona | SC2 |
| Oriente | Cúcuta | OR1 |
| | Villa del Rosario | OR2 |
| Centro | Lourdes | CT1 |
| | Cucutilla | CT2 |
| Occidente | Ocaña | OC1 |
| | San Calixto | OC2 |
| Suroriente | Toledo | SR1 |
| | Chinácota | SR2 |

En la ciudad de Cúcuta, de la región oriental se encuentran los cafés más comercializados, mientras la región suroriental del Departamento se destaca por la variedad en marcas de café, principalmente el municipio de Toledo, en donde se identificaron diez.

Los resultados de la CA y del contenido de fenoles totales de las muestras comerciales se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Capacidad antioxidante y fenoles totales de cafés comerciales de Norte de Santander.

| Muestra | FENOLES TOTALES, mg EAG/ g café* | FRAP, μmol Etrolox/ g café* | ABTS, μmol Etrolox/ g café* |
|---------|----------------------------------|--|--|
| OR1 | 1782 \pm 0,000 | 5117 \pm 1,622 | 233,6 \pm 0,000 |
| OR2 | 1512 \pm 0,000 | 4069 \pm 1,624 | 231,0 \pm 0,000 |
| OC1 | 2262 \pm 4,795 | 5720 \pm 4,890 | 232,5 \pm 0,246 |
| OC2 | 1928 \pm 0,000 | 5188 \pm 1,633 | 244,7 \pm 0,000 |
| NT1 | 1979 \pm 4,801 | 4953 \pm 0,000 | 244,9 \pm 0,000 |
| NT2 | 1134 \pm 0,000 | 3095 \pm 0,000 | 231,1 \pm 0,000 |
| SR1 | 1753 \pm 0,000 | 3982 \pm 0,000 | 229,4 \pm 0,000 |
| SR2 | 1129 \pm 0,000 | 5076 \pm 4,321 | 230,6 \pm 0,000 |
| SC1 | 2439 \pm 0,000 | 3206 \pm 0,000 | 227,4 \pm 0,246 |
| SC2 | 1404 \pm 0,000 | 6199 \pm 0,000 | 224,0 \pm 0,245 |
| CT1 | 1658 \pm 4,801 | 4556 \pm 1,632 | 227,9 \pm 0,000 |
| CT2 | 1758 \pm 4,809 | 4471 \pm 0,000 | 238,9 \pm 0,000 |
| EOT | 2024 \pm 0,000 | 5384 \pm 0,000 | 245,0 \pm 0,000 |
| ESR | 2113 \pm 4,777 | 4682 \pm 1,624 | 239,5 \pm 0,000 |
| CNA | 2478 \pm 0,000 | 6857 \pm 8,115 | 227,4 \pm 0,000 |
| UNA | 2582 \pm 0,000 | 6755 \pm 8,131 | 233,4 \pm 0,000 |

*valor promedio \pm desviación estándar, n=3

En las muestras comerciales el contenido de fenoles totales presentó valores en el intervalo de 1129 \pm 0,000 a 2582 \pm 0,000 mg EAG/ g café. La CA estuvo en el rango de 3095 \pm 0,000 a 6857 \pm 8,115 y de 224,0 \pm 0,245 a 245,0 \pm 0,000 μmol Etrolox/ g café por FRAP y ABTS, respectivamente.

Muestras sin tostar

En la tabla 3 se muestran los resultados de la CA y del contenido de fenoles totales de las muestras sin tostar

Tabla 3. Capacidad antioxidante y fenoles totales de las almendras y de los subproductos del café.

| Muestra | FENOLES TOTALES, mg EAG/ g café* | FRAP, μmol Etrolox/ g café* | ABTS, μmol Etrolox/ g café* |
|---------|----------------------------------|--|--|
| PET | 102,6 \pm 4,792 | 10,72 \pm 0,000 | 97,26 \pm 0,000 |
| PEL | 647,5 \pm 4,790 | 64,32 \pm 0,000 | 131,2 \pm 0,000 |
| ALT | 735,0 \pm 0,000 | 1671 \pm 1,626 | 233,0 \pm 0,000 |
| ALL | 1904 \pm 8,288 | 1894 \pm 1,627 | 223,2 \pm 0,245 |
| CAT | 97,44 \pm 0,000 | 2,265 \pm 0,000 | 128,5 \pm 0,246 |
| CAL | 52,57 \pm 4,767 | 7,861 \pm 0,000 | 71,78 \pm 0,000 |
| PUT | 252,2 \pm 4,795 | 58,73 \pm 0,000 | 91,49 \pm 1,721 |
| PUL | 346,9 \pm 0,000 | 72,97 \pm 0,000 | 158,0 \pm 0,000 |

*valor promedio \pm desviación estándar, n=3

En las muestras sin tostar se obtuvieron valores en el intervalo de $52,57 \pm 4,767$ a $1904 \pm 8,288$ mg EAG/g café para el contenido de fenoles totales. En la CA los resultados estuvieron en el rango de $2,265 \pm 0,000$ a $1894 \pm 1,627$ y de $71,78 \pm 0,000$ a $233,0 \pm 0,000$ μmol Etrolox/ g café por FRAP y ABTS, respectivamente.

Análisis de correlación

Los resultados del análisis de correlación, se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Análisis de correlación de Pearson.

| Correlación | r* | r ² * | t | Valor p |
|-------------|--------|------------------|-------|---------|
| FC y FRAP | 0,8579 | 0,7359 | 7,831 | <0,05 |
| FC y ABTS | 0,8343 | 0,6961 | 7,098 | <0,05 |
| FRAP y ABTS | 0,8268 | 0,6836 | 6,895 | <0,05 |

*r: coeficiente de correlación y r² coeficiente de determinación

DISCUSIÓN

Muestras comerciales

La variabilidad en los resultados (fenoles totales y CA) se debe a los diferentes grados de tostado y a las diferentes mezclas de variedades y calidades empleadas por los fabricantes para el procesamiento de cada uno de los cafés. Las muestras comerciales que mostraron los mayores valores en dos de tres ensayos fueron: UNA, CNA, ESR, EOT, OC1. CNA es un café de circulación nacional y UNA es un café que fue almacenado por el término de un año. La región occidental representada por OC1, tiene el café con mejores propiedades antioxidantes. EOT y ESR son cafés especiales; EOT se caracteriza por llegar al consumidor sin ser mezclado con otras calidades ni con cafés de otros orígenes y ESR por su práctica de producción amigable con el medio ambiente, mediante una agricultura sostenible. Por lo anterior, se puede aseverar que los cafés especiales presentan relevantes propiedades antioxidantes, que valdrían la pena explorar en mayor detalle, ya que dan mayor valor agregado a estos cafés; lo que redundaría en mejor calidad de vida para los productores, pues estos cafés se cotizan a precios superiores en el mercado, siendo sus principales destinos Japón, Estados Unidos, Canadá, Suiza, Bélgica, Italia, Reino Unido, Suecia y Finlandia (5). Este es el primer trabajo en donde se reporta el estudio de antioxidantes en cafés de esta denominación.

Las muestras que presentaron los menores valores en dos de tres ensayos fueron: OR2, NT2, SC1, SC2. Por lo tanto, la región suroccidental tiene el café con menor CA y contenido de fenoles totales.

Según Naranjo *et al.*, 2011 (28) el café excelso UGQ presenta mayor CA ($21338,5$ y $12224,5$ μmol Trolox/L bebida por DPPH y ORAC, respectivamente) que los cafés de otras calidades, debido a su mayor contenido de ácidos fenólicos; pero no existen diferencias significativas en la composición fenólica ($1941,7$ a $2178,5$ mg AG/L bebida) entre las cinco calidades de café que estudió.

De Souza RMN *et al.*, 2010 (38), quien estudió el contenido de compuestos bioactivos en cafés comerciales, encontró que el café *Gourmet* tiene altas concentraciones de diterpenos, trigonelina y ácido 5-cafeoilquínico, y bajos niveles de cafeína, lo que indica una alta proporción de café arábica presente en esta mezcla.

Almeida MB y Benassi M, 2011 (39) caracterizaron los cafés tipo *Gourmet* con los menores valores de CA frente a otras denominaciones como tradicional, fuerte, extrafuerte, *premium*, expreso y exportación. También determinaron CA por el ensayo ABTS (entre $2,28$ y $6,76$ g trolox/100 g muestra) y fenoles totales por FC ($1,58$ - $4,11$ g AG/100 g muestra). Los resultados de esta investigación de CA caen dentro de este rango, mientras el contenido de fenoles totales es mayor. Los resultados de este trabajo también son consistentes con los encontrados por Londoño J *et al.*, 2013 (40); cuyos resultados del ensayo ABTS estuvieron en el rango de $1896,40$ y $5322,90$ μmol Trolox/100 mL de extracto.

Muestras sin tostar

Todas las muestras sin tostar (almendra, pergamino, pulpa y cáscara de la cereza) contienen fenoles totales y mostraron poder reductor/antioxidante férrico e inhibición del radical ABTS. La almendra presentó el mayor contenido de fenoles totales y la mayor CA, seguida por la pulpa, el pergamino y la cáscara.

Murthy PS y Madhava Naidu M, 2012 (24) encontraron fenoles totales en subproductos entre 1 y $1,5$ % (pulpa= $1,48$ % y cáscara= $1,22$ %) y una producción de conservas entre $11,7$ y 25 %, con un contenido de ácidos clorogénicos de 10 - 23 %. Los resultados de esta investigación son similares a los reportados por estos autores, y al igual que estos, se encontró mayor cantidad de fenoles totales en pulpa que en cáscara. Murthy PS y Madhava Naidu M

también determinaron por el método DPPH, una CA de 65 y 69 % a 500 ppm para pulpa y cascara, respectivamente; este resultado es contrario al reportado en este trabajo, donde se encontró mayor CA en la pulpa que la cáscara. Dicha divergencia puede explicarse por la diferencia de ensayos usados en el análisis de la CA. Otros autores (41) también reportaron CA en todos los residuos del café, cuando se realizó el ensayo DPPH.

Arellano-González MA *et al.*, 2011 (42) estudió la CA de extractos de pulpa fermentados y no fermentados, encontrando que no existen diferencias significativas en el contenido de fenoles totales entre estos procedimientos; sin embargo, el contenido de ácidos hidroxycinámicos es más alto en los extractos de pulpa no fermentados. También se ha reportado la extracción de antocianidinas y cafeína de la pulpa y la cascara del café (43,44).

La borra del café ha sido objeto de numerosas investigaciones. Puertas-Mejía MA *et al.*, 2013 (26) demostró un alto rendimiento en la extracción (56,14 a 22,38 %) de antioxidantes; siendo la mezcla etanol:agua (1:1), el método de extracción con la mejor CA, seguido por el metanol acidulado. Bravo J *et al.*, 2012 (45) determinó que todos los residuos de borra, excepto los provenientes de la máquina de café moka contienen ácidos cafeoilquínicos (6,22–13,24 mg/g borra), principalmente ácidos dicafeoilquínicos (3,31–5,79 mg/g borra). La cantidad de cafeína fue de 3,59–8,09 mg/g borra. La CA de los extractos acuosos fue de <42– 102,3 % en comparación con sus respectivas bebidas (expresado como 100 %). Panusa A *et al.*, 2013 (46) observó correlación entre el contenido de fenoles totales y el ensayo DPPH, sugiriendo que los compuestos fenólicos son los principales responsables de dicha CA.

También se ha demostrado CA en la película plateada del café (47), un residuo que consiste en una fina piel que recubre la almendra (48). Costa ASG *et al.*, 2014 (49) encontró una opción para maximizar la extracción de antioxidantes mediante el uso de solvente hidroalcohólico (50 %: 50 %) a 40 °C por 60 minutos. Ballesteros LF *et al.*, 2014 (50) también optimizó este proceso encontrando las condiciones de extracción como: etanol al 60 % y en una relación de 35 mL/g película plateada a 60–65 °C durante 30 minutos.

Las propiedades antioxidantes de los residuos del café se pueden atribuir a la presencia de ácidos clorogénicos. Trabajos previos (25) identificaron por HPLC varios polifenoles en la pulpa, tales

como: ácido 5-cafeoilquínico, epicatequina, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico, ácido 4,5-dicafeoilquínico, catequina, ácido protocatequico, rutina, ácido ferúlico y ácido 5-feruloilquinico. La cascara ha sido reportada como una fuente de cianidina-3-rutinósido (51).

Se resalta que hasta el momento el presente estudio es pionero en evaluar las características antioxidantes del pergamino del café. Este subproducto recubre ambos hemisferios de la semilla del café y está compuesto por: celulosa (40–49 %), hemicelulosa (25–32 %), lignina (33–35 %) y cenizas (0,5–1 %) (25). Este estudio es pionero, demostrando que si tiene CA, incluso mostró mayor poder reductor/antioxidante férrico y mayor contenido de fenoles totales que la cáscara. Los residuos de la producción del café, que actualmente se desechan, pueden considerarse como una fuente natural y segura de antioxidantes (24,52); el uso de estos residuos agroindustriales contribuye a la sostenibilidad y en la conservación del medio ambiente. Por lo anterior, se recomienda estudiar la viabilidad económica de la extracción de antioxidantes a partir de los subproductos del café, tales como pergamino, pulpa y cáscara, lo que podría generar oportunidades de negocio

Análisis de correlación

En todos los casos se presenta alta correlación directa entre los tres métodos (FC, FRAP, ABTS) aplicados en las pruebas de CA y contenido de fenoles totales de las muestras, con un nivel de significación de 0,05. La mejor relación fue observada entre FC y FRAP seguida por FC y ABTS y por FRAP y ABTS. Otros autores también encontraron correlación entre estas variables: ABTS y FRAP (53); FC y FRAP (54); FC y ABTS (52,55). La correlación encontrada se puede explicar por el mecanismo de acción antioxidante que tienen en común los ensayos (9). Es decir, la mayor correlación observada entre FC y FRAP ocurre pues los dos métodos actúan por transferencia de un electrón desapareado (SET). Entretanto, una correlación similar de aproximadamente $r=0,83$ entre FC y ABTS y entre FRAP y ABTS, se presenta ya que mientras los ensayos FC y FRAP solo actúan por el mecanismo SET, el método ABTS actúa tanto por SET como por transferencia de un átomo de hidrogeno (HAT), según Gülçin İ 2012 (56) y Prior RL *et al.*, 2005 (57).

De acuerdo con el coeficiente de determinación (ver Tabla 4), entre el 69 y el 73 % de la CA del café

de Norte de Santander y de los subproductos del café es producto principalmente de la contribución de los fenoles

Se recomienda en futuras investigaciones usar ensayos como ORAC y TRAP, cuyo mecanismo de reacción se lleva a cabo por HAT (56). Estas mediciones permitirían determinar la contribución exclusiva de los antioxidantes que actúan por este mecanismo a la CA del café. Así mismo en futuros estudios se podría cuantificar los ácidos clorogénicos por métodos cromatográficos.

CONCLUSIONES

Todas las muestras evaluadas (comerciales y sin tostar) registraron fenoles totales y capacidad antioxidante, incluso los subproductos del café (pergamino, pulpa y cascara). Estos residuos que actualmente se generan en grandes cantidades ocasionando daño ambiental, pueden emplearse como fuente segura y natural de antioxidantes. Este estudio es pionero, demostrando que el pergamino presenta capacidad antioxidante y evaluando por primera vez las propiedades antioxidantes de los cafés especiales.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen al Laboratorio de Control de Calidad y Diagnóstico de la Universidad de Pamplona. Igualmente, a los habitantes de los municipios de Norte de Santander por la información y las muestras suministradas.

Conflicto de intereses

Las autoras declaran que no tienen conflicto de intereses.

REFERENCIAS

- Gómez-Ruiz JA, Leake DS, Ames JM. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *J. Agric. Food Chem.* 2007 Jul 27; 55 (17): 6962-6969.
- Gotteland M, Pablo S. Algunas verdades sobre el café. *Rev. Chil. Nutr.* 2007 Jun; 34 (2): 105-115.
- Wang Y, Ho CT. Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. *J. Agric. Food Chem.* 2009 Aug 31; 57 (18): 8109-8114.
- Café de Colombia. Una bonita historia. [Internet]. Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. 2010. [Citado el 17 de julio de 2013]. Disponible en: http://www.cafedecolombia.com/particulares/es/el_cafe_de_colombia/una_bonita_historia/.
- Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. [Internet]. Colombia: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. 2013. [Citado el 17 de julio de 2013]. Disponible en: <http://federaciondefcafeteros.org/>.
- Nullvalue. Llegó una nueva cosecha dorada de Juan Valdez. [Internet]. Colombia: El Tiempo. 2009. [Citado el 17 de julio de 2013]. Disponible en: <http://www.eltiempo.com/archivo/documento/MAM-3317908>.
- Fukushima Y, Ohie T, Yonekawa Y, Yonemoto K, Aizawa H, Mori Y, et al. Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *J. Agric. Food Chem.* 2009 Feb 2; 57 (4): 1253-1259.
- Niseteo T, Komes D, Belščak-Cvitanović A, Horžić D, Budeč M. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Food Chem.* 2012; 134 (4): 1870-1877.
- Perrone D, Farah A, Donangelo CM. Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *J. Agric. Food Chem.* 2012 Apr 10; 60 (17): 4265-4275.
- Morais SAL, Aquino FJT, Nascimento EA, Oliveira GS, Chang R, Santos NC, et al. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2008; 28 (suppl): 198-207.
- Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Natale A, Pollio A. Anticarcinogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia.* 2009 Jul; 80 (5): 255-262.
- López-Galilea I, Andueza S, Di Leonardo I, Peña MP, Cid C. Influence of torrefacto roast on antioxidant and pro-oxidant activity of coffee. *Food Chem.* 2006 Jan; 94 (1): 75-80.
- Santos MH, Batista BL, Duarte SMS, Abreu CMP, Gouvêa CMCP. Influência do processamento e da torrefação sobre a atividade antioxidante do café (*Coffea arabica*). *Quim. Nova.* 2007 Jul 22; 30 (3): 604-610.
- Summa CA, de la Calle B, Brohee M, Stadler RH, Anklam E. Impact of the roasting degree of coffee on the in vitro radical scavenging capacity and content of acrylamide. *LWT.* 2007; 40: 1849-1854.
- Altaki MS, Santos FJ y Galceran MT. Occurrence of furan in coffee from Spanish market: Contribution of brewing and roasting. *Food Chem.* 2011; 26: 1527-1532.
- Alves RC, Soares C, Casal S, Fernandes JO, Oliveira MBPP. Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length. *Food Chem.* 2010; 119: 929-934.
- Chaichi M, Mohammadi A, Hashemi M. Optimization and application of headspace liquid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for determination of furanic compounds in coffee using response surface methodology. *Microchem. J.* 2013; 108: 46-52.
- Alfaro MR, Rodríguez JJ. Impacto ambiental del procesamiento del café en Costa Rica. *Agron. Costarricense.* 1994; 18 (2): 217-225.
- Corro G, Paniagua L, Pal U, Bañuelos F, Rosas M. Generation of biogas from coffee-pulp and cow-dung co-digestion: Infrared studies of postcombustion emissions. *Energ Convers Manage.* 2013; 74: 471-481.
- Murthy PS, Madhava Naidu M. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. *Resour. Conserv. Recy.* 2012 Sep; 66: 45-58.
- Suarez-Agudelo JM. Aprovechamiento de los residuos sólidos provenientes del beneficio del café, en el municipio de Betania Antioquia: usos y aplicaciones. [Trabajo de Especialización]. [Antioquia, Colombia]: Corporación Universitaria Lasallista. 2012. p. 38-40.
- Valencia NR, Zambrano-Franco DA. Los subproductos del café: fuente de energía renovable. Chinchiná, Colombia: Cenicafé; 2010. 8 p.
- Saenger M, Hartge EU, Werther J, Ogada T, Siagi Z. Combustion of coffee husks. *Renew. Energ.* 2001 May; 23 (1): 103-121.

24. Murthy PS, Madhava Naidu M. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food Bioprocess Technol.* 2012 apr; 5 (3): 897-903.
25. Esquivel P, Jiménez VM. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Res. Int.* 2012 May; 46 (2): 488-495.
26. Puertas-Mejía MA, Villegas-Guzmán P, Rojano BA. Borra del café colombiano (*Coffea arabica*) como fuente potencial de sustancias con capacidad antirradicales libres *in vitro*. *Rev Cubana Plant Med.* 2013 Jul-Set; 18 (3): 469-478.
27. Arellano González MA. Estimación de la capacidad antioxidante de ácidos hidroxycinámicos obtenidos de la pulpa de café. [Tesis]. [México D. F.]: Universidad Autónoma Metropolitana. 2009. 84 p.
28. Naranjo M, Vélez LT, Rojano BA. Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Rev. Cubana Plant Med.* 2011 Abr-Jun; 16 (2): 164-173.
29. Casas-Anguita J, Repullo-Labrador JR, Donado-Campos J. La encuesta como técnica de investigación. Elaboración de cuestionarios y tratamiento estadístico de los datos (I). *Aten primaria.* 2003; 31(8): 527-538.
30. Anderson D, Sweeney D, Williams T. Estadística para Administración y Economía. 7ª ed. México D. F.: International Thomson Editores; 2001. p. 298, 313-315, 873-909.
31. Abrahão SA, Pereira RGFA, Lima AR, Duarte SMS, Alvarenga DJ, Ferreira EB. Compostos bioativos e atividade antioxidante do café (*Coffea arabica* L.). *Cienc. Agrotec.* 2010 Mar-Abr; 34 (2): 414-420.
31. Lima AR, Pereira RGFA, Abrahão SA, Duarte SMS, Paula FBA. Compostos bioativos do café: atividade antioxidante *in vitro* do café verde e torrado antes e após a descafeinação. *Quim. Nova.* 2010; 33 (1): 20-24.
32. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 1999; 299: 152-178.
33. Contreras-Calderón J, Calderón-Jaimes L, Guerra-Hernández E, García-Villanova B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Res. Int.* 2011 Aug; 44 (7): 2047-2053.
34. Pulido R, Hernández-García M, Saura-Calixto F. Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003 Oct; 57 (3): 1275-1282.
35. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 1999 May; 26 (9-10): 1231-1237.
36. Vargas-Sabadías A. Estadística descriptiva e inferencial. Murcia: Universidad de Castilla- La Mancha; 1995. p. 470-471.
37. De Souza RMN, Canuto GAB, Dias RCE, Benassi MT. Teores de compostos bioativos em cafés torrados e moídos comerciais. *Quim. Nova.* 2010; 33 (4): 885-890.
38. Almeida MB, Benassi MT. Atividade antioxidante e estimativa do teor de melanoidinas em cafés torrados comerciais. *Ciênc. Agrár.* 2011; 32 (Supl 1): 1893-1900.
39. Londoño J, Naranjo M, QUINTERO M. Estudio de los cambios de la actividad antioxidante en bebidas de café durante su periodo de vida útil usando métodos *in-vitro* y *ex-vivo*. *Vitae.* 2013; 20 (2): 95-104.
40. Yen WJ, Wang BS, Chang LW, Duh PD. Antioxidant Properties of Roasted Coffee Residues. *J. Agric. Food Chem.* 2005 Mar 11; 53 (7): 2658-2663.
41. Arellano-González MA, Ramírez-Coronel MA, Torres-Mancera MT, Pérez-Morales GG, Saucedo-Castañeda G. Antioxidant activity of fermented and nonfermented coffee (*coffea arabica*) pulp extracts. *Food Technol. Biotechnol.* 2011; 49 (3): 374-378.
42. Murthy PS, Manjunatha MR, Sulochannama G, M. Naidu M. Extraction, characterization and bioactivity of coffee anthocyanins. *Eur. J. Biol. Sci.* 2012; 4 (1): 13-19.
43. Tello J, Viguera M, Calvo L. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffea canephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. *J. Supercrit. Fluids.* 2011; 59: 53-60.
44. Bravo J, Juárez I, Monente C, Caemmerer B, Kroh LW, De Peña MP, Cid C. Evaluation of spent coffee obtained from the most common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. *J. Agric. Food Chem.* 2012 Dec 8; 60: 12565-12573.
45. Panusa A, Zuurro A, Lavecchia R, Marrosu G, Petrucci R. Recovery of Natural Antioxidants from Spent Coffee Grounds. *J. Agric. Food Chem.* 2013 Apr 11; 61: 4162-4168.
46. Bravo J, Monente C, Juaniz I, Paz de Peña M, Cid C. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Res. Int.* 2013 Mar; 50 (2): 610-616.
47. Narita Y, Inouye K. Review on utilization and composition of coffee silverskin. *Food Res. Int.* 2014; <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.01.023>.
48. Costa ASG, Alves RC, Vinha AF, Barreirac SV, Nunes MA, Cunha LM, Oliveira MBPP. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. *Ind. Crop. Prod.* 2014; 53: 350-357.
49. Ballesteros LF, Teixeira JA, Mussatto SI. Selection of the solvent and extraction conditions for maximum recovery of antioxidant phenolic compounds from coffee silverskin. *Food Bioprocess Tech.* 2014; 7: 1322-1332.
50. Prata ERBA, Oliveira LS. Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. *LWT.* 2007 Nov; 40 (9): 1555-1560.
51. Baggio J, Lima A, Mancini-Filho J, Fett R. Identification of phenolic acids in coffee (*Coffea arabica* L.) dust and its antioxidant activity. *Ital. J. Food Sci.* 2007; 19 (2): 191-201.
52. Delgado-Andrade C, Rufián-Henares JA, Morales FJ. Assessing the Antioxidant Activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J. Agric. Food Chem.* 2005 Sep 9; 53 (20): 7832-7836.
53. Parras P, Martínez-Tomé M, Jiménez AM, Murcia MA. Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chem.* 2007; 102 (3): 582-592.
54. Vignoli JA, Bassoli DG, Benssi MT. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: the influence of processing conditions and raw material. *Food Chem.* 2011 Feb; 124 (3): 863-868.
55. Gülçin İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Arch. Toxicol.* 2012; 86: 345-391.
56. Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem.* 2005 Apr 19; 53 (10): 4290-4302.