



EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Veracruz

Subdirección Académica

División de Estudios de Posgrado e Investigación

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

OFICIO: ITV/DEPI/No.088/2020

A QUIEN CORRESPONDA PRESENTE

Por medio de la presente el que suscribe Dr. Benigno Ortiz Muñiz, Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Veracruz me permito hacer **CONSTAR** que, de acuerdo a los archivos de esta División de Estudios, el (la) **Dra. Mirna Leonor Suárez Quiroz** fungió como **Director(a)** de la Tesis de Doctorado en Ciencias en Alimentos titulada: **"Estudio de la dinámica de poblaciones fúngicas y su impacto en los marcadores de calidad durante el almacenamiento de café verde"** desarrollada por el (la) **C. Lia Marisol Broissin Vargas**, número de control **D13020001**.

Se extiende la presente a la Ciudad de Veracruz, Veracruz a los cinco días del mes de marzo del año dos mil veinte.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica®
Antorcha y Luz de Fuego Permanente®

BENIGNO ORTIZ MUÑIZ
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE VERACRUZ
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.c. Archivo



Calz. Miguel Ángel de Quevedo 2779, Col. Formando Hogar
C.P. 91897, Veracruz, Ver. Tel. (229) 934 1500

www.veracruz.tecnm.mx





EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Veracruz

Subdirección Académica

División de Estudios de Posgrado e Investigación

"2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria"

OFICIO: ITV/DEPI/No.089/2020

A QUIEN CORRESPONDA PRESENTE

Por medio de la presente el que suscribe Dr. Benigno Ortiz Muñiz, Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Tecnológico de Veracruz me permito hacer **CONSTAR** que, de acuerdo a los archivos de esta División de Estudios, el (la) **Dr. Oscar González Ríos** fungió como **Co-Director(a)** de la Tesis de Doctorado en Ciencias en Alimentos titulada: **"Estudio de la dinámica de poblaciones fúngicas y su impacto en los marcadores de calidad durante el almacenamiento de café verde"** desarrollada por el (la) **C. Lia Marisol Broissin Vargas**, número de control **D13020001**.

Se extiende la presente a la Ciudad de Veracruz, Veracruz a los cinco días del mes de marzo del año dos mil veinte.

ATENTAMENTE

*Excelencia en Educación Tecnológica®
Antorcha y Luz de Fuego Permanente*

BENIGNO ORTIZ MUÑIZ

JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



SEP
SECRETARÍA
DE EDUCACIÓN
PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE VERACRUZ
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.c. Archivo



Calz. Miguel Ángel de Quevedo 2779, Col. Formando Hogar

C.P. 91897, Veracruz, Ver. Tel. (229) 934 1500

www.veracruz.tecnm.mx





ACTA DE EXAMEN DE GRADO DE DOCTORADO

En la H. Veracruz, Veracruz a los 21 días del mes de JUNIO de 2017, siendo las 10:00 horas., se reunieron en el Aula Magna del Instituto Tecnológico de Veracruz, clave 30DIT0002U, el jurado integrado por:

Presidente(a): DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS AUMENTOS
MIRNA LEONOR SUÁREZ QUIROZ
Secretario(a): DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS AUMENTOS
OSCAR GONZÁLEZ RÍOS
Vocal: DOCTORADO EN CIENCIAS EN AUMENTOS
JOSÉ ALBERTO MONROY RIVERA
Vocal: DOCTORADO EN CIENCIAS EN AUMENTOS
PATRICIA GUILDECIMINA MENDOZA GARCÍA
Vocal: DOCTORADO EN CIENCIAS DE LOS AUMENTOS
PAÚL SNEEL CASTRO

Y de acuerdo con las disposiciones reglamentarias en vigor, se procedió a efectuar el examen de Grado de Doctorado a el (la) C. LIA MARISOL BROISSIN VARGAS número de control DB020001, aspirante al Grado de Doctor en CIENCIAS EN AUMENTOS

Tomando en cuenta el contenido de la tesis cuyo título es: ESTUDIO DE LA DINÁMICA DE POBLACIONES FUNGICAS Y SU IMPACTO EN LOS MARCADORES DE CALIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO DE CAFÉ VERDE que fue dirigida por DR. MIRNA L. SUÁREZ QUIROZ; DR. OSCAR GONZÁLEZ RÍOS; DR. PAÚL SNEEL CASTRO una vez concluido el examen oral, dictaminó que fuera APROBADA

El (la) Presidente (a) del jurado le hizo saber a el (la) sustentante el resultado obtenido, el Código de Ética Profesional y le tomó la Protesta de Ley. Dándose por terminado el Acto a las 12:00 horas, y una vez escrita, leída y aprobada, fue firmada para constancia, por las personas que en el acto intervinieron, para los efectos legales a que haya lugar se asienta la presente.

PRESIDENTE (A)

DR. MIRNA L. SUÁREZ QUIROZ
Cédula de Grado: 5691003



SECRETARIO(A)

Oscar C. Ríos
DR. OSCAR GONZÁLEZ RÍOS
Cédula de Grado: 5691004

VOCAL

José Alberto Monroy Rivera
DR. JOSÉ ALBERTO MONROY RIVERA
Cédula de Grado: 4738006

VOCAL

Patricia G. Mendoza García
DR. PATRICIA G. MENDOZA GARCÍA
Cédula de Grado: 7768863

VOCAL

Paúl Snell Castro
DR. PAÚL SNEEL CASTRO
Cédula de Grado: 5328025



**SECRETARIA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
DIRECCIÓN GENERAL DE EDUCACIÓN SUPERIOR
TECNOLÓGICA**

**“DETERMINACIÓN DEL PERFIL FENÓLICO DEL CAFE
ORGÁNICO Y SU IMPACTO SENSORIAL EN LA BEBIDA”.**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRIA EN CIENCIAS EN
INGENIERIA BIOQUÍMICA**

PRESENTA:

LQC. LIA MARISOL BROISSIN VARGAS

ASESORES:

**DR. OSCAR GONZÁLEZ RÍOS
DRA. MIRNA LEONOR SUÁREZ QUIROZ
DRA. ERIKA SALAS MUÑOZ**

H. VERACRUZ, VER. MEX

SEPTIEMBRE 2012

**“DETERMINACIÓN DEL PERFIL FENÓLICO DEL CAFE
ORGÁNICO Y SU IMPACTO SENSORIAL EN LA BEBIDA”.**

Por:

LQC. LIA MARISOL BROISSIN VARGAS

Tesis propuesta a la

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN ALIMENTOS

del

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE VERACRUZ

Con requerimiento parcial para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

en

Ingeniería Bioquímica

Septiembre de 2012

DEDICATORIA

Mi tesis la dedico con todo mi amor y cariño.

A ti **DIOS** por ayudarme a cruzar el camino, por ayudarme a sortear todos los obstáculos. Sin tí nada soy y nada puedo porque tu amor tendido en el camino me hace ver las cosas más claramente. Gracias infinitas por ayudarme en el proyecto que tienes para mí.

A ti **Ailton** por darle sentido a todo lo que realizo y llenar mi vida de felicidad y ser la alegría en mis momentos de flaqueza, te amo hijo; gracias por ser el soporte que me ha ayudado a no caer y por ser la motivación en estos momentos tan significativos para mí.

A mi **familia** por su motivación en todo momento difícil de mi vida, por la firmeza, la seguridad que me brindaron al saber que cuento con su apoyo y oraciones que fueron vitales en mi vida durante este periodo.

Un agradecimiento especial a todas las personas apoyaron en la realización de este trabajo; por los momentos de convivencia que complementaron mi paso por la maestría y que juntos formamos la base para construir logros y metas.

RECONOCIMIENTOS

Reconocimiento al CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por el apoyo financiero que brindan a la ciencia, base de la nueva generación de científicos, con el cual se llevó a cabo este trabajo.

Al apoyo de mis asesores: Dr. Oscar González Ríos y Dra. Mirna L. Suárez Quiroz quienes con sus valiosos conocimientos, paciencia y acertada dirección condujeron a buen término la realización de esta investigación así como la confianza que depositaron en mí y que tras este arduo camino he llegado a considerarlos no sólo como mentores académicos, sino como auténticos ejemplos de vida, sintiéndome honrada de contar con su apoyo y amistad.

A la Dra. Erika Salas Muñoz por su dirección y su apoyo trascendental en la realización de este trabajo.

A los revisores el Dr. Gerardo Valerio Alfaro y Dr. José Alberto Monroy Rivera por su invaluable colaboración en la supervisión de esta tesis y sugerencias que sin lugar a duda ayudaron a enriquecer esta investigación.

A la Universidad Autónoma de Chihuahua por el apoyo brindado por medio del Laboratorio de Química Analítica para llevar a cabo esta investigación

RESUMEN

Broissin Vargas, Lia Marisol. M. en C. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Instituto Tecnológico de Veracruz, Septiembre del 2012. Determinación del perfil fenólico del café orgánico y su impacto sensorial en la bebida. Asesores: Dr. Oscar González Ríos (ITV); Dra. Mirna Leonor Suárez Quiroz (ITV), Dra. Erika Salas Muñoz (UACH).

Los compuestos fenólicos son considerados como una fuente de sustancias bioquímicamente activas, dentro de este grupo los ácidos clorogénicos (ACG) son compuestos que se asocian a múltiples actividades biológicas e importantes atributos sensoriales de color y astringencia en los productos que los contienen (vino, sidra y té). El café es considerado como una fuente importante de polifenoles. Por otra parte, existe un aumento en la demanda de productos orgánicos como consecuencia de la adopción de conciencias ambientalistas entre los consumidores, lo que ha originado mayores preferencias hacia el consumo de café orgánico. Esto ha provocado que muchos productores cambien sus prácticas de cultivo adoptando sistemas de cultivo orgánico de café. Sin embargo no existen estudios que demuestren que este tipo de prácticas de cultivo y sus variantes (especie, origen, prácticas post-cosecha, etc.) tengan un efecto sobre el contenido de ACG y los atributos sensoriales de la bebida. El presente estudio tuvo por objetivo estudiar el contenido de ácidos clorogénicos totales (ACG-T) en café orgánico y su impacto sobre el atributo astringencia en la bebida.

Se estudiaron dos especies de café *Coffea arabica* y *Coffea canephora* provenientes de los estados de Veracruz y Chiapas y Oaxaca. Se identificaron y cuantificaron los ACG-T en extractos de café verde, tostado así como la bebida, así mismo se determinó la cantidad de fenoles totales

mediante la técnica de Folin-Ciocalteu. Se realizó una evaluación sensorial de todas las muestras, utilizando un panel entrenado conformado de 7 personas, se utilizaron técnicas de diferenciación (2-AFC) y análisis descriptivo (Escala de intensidad de 11 puntos) para evaluar el atributo astringencia de la bebida de café.

El contenido de los ácidos clorogénicos totales (ACG-T) fue superior en la especie *C. canephora* en comparación con la especie *C. arabica*, con 8.3% y 7.3% respectivamente; con respecto al origen, el café verde del estado de Oaxaca presentó un mayor contenido de ACG-T con un 8.0%, las muestras de Veracruz y Chiapas no presentaron diferencia significativa con 7.7%; al evaluar la transformación de café verde en café tostado la degradación de ACG-T osciló entre 71-80% para ambas especies; sin embargo, el café de Oaxaca presentó una menor pérdida de ACG-T. Se obtuvieron intensidades del atributo astringencia de 0.4 a 5.6 mostrando que los cafés de la especie *C. arabica* fueron menos astringentes que la bebida preparada con *C. canephora*.

A partir de los resultados obtenidos se concluye que existe diferencia en el contenido de ACG-T en café verde orgánico entre las especies estudiadas (*C. arabica* y *C. canephora*) y el origen del cultivo, siendo mayor el contenido de ACG-T en la especie *C. canephora* del estado de Oaxaca. Existe correlación entre el perfil químico (Fenoles-T y ACG-T) y el perfil sensorial en el atributo astringencia de la bebida de café orgánico. El proceso de tostado a un nivel medio disminuye el contenido de ACG-T entre un 71-80% no observándose diferencias entre las especies; sin embargo se encontraron diferencias significativas entre los orígenes estudiados. El contenido de ácidos clorogénicos totales en la bebida de café, impactan en la percepción del atributo astringencia.

ABSTRAC

Broissin Vargas, Marisol Lia. M. in C. Food Research and Development Unit. Technological Institute of Veracruz. September, 2012. Determination of organic coffee phenolic profile and sensory impact in the drink. Advisores: Dr. Oscar González Ríos (ITV), Dra. Mirna Leonor Suárez Quiroz (ITV), Dr. Erika Salas Muñoz (UACH).

Phenolic compounds are considered as a source of biochemically active substances, within this group of chlorogenic acid (CGA) are compounds that are associated with multiple biological activities important sensory attributes of color and astringency containing products (wine, cider and tea). Coffee is considered as an important source of polyphenols. Moreover, there is an increased demand for organic products as a result of the adoption of environmental consciousness among consumers, which has led to increased preferences towards consumption of organic coffee. This has caused many farmers to change their farming practices organic farming systems adopting coffee however no studies that show that this type of farming practices and its variants (species, origin, post-harvest practices, etc.) Have an effect on the content of ACG and sensory attributes of the drink. The present study was undertaken to study the total chlorogenic acid content (ACG-T) in organic coffee and their impact on astringency attribute in the drink.

We studied two coffee species *Coffea arabica* and *Coffea canephora* from the states of Veracruz and Chiapas and Oaxaca. We identified and quantified ACG-T in extracts of green coffee, toast and drink, so it was determined the amount of total phenols by Folin-Ciocalteu technique. Sensory evaluation was performed for all samples using a trained panel consisting of 7 persons, differentiation techniques were used (2-AFC) and descriptive analysis

(intensity scale of 11 points) to evaluate the attribute astringency of the coffee beverage.

The content of total chlorogenic acids (ACG-T) was higher in *C. canephora* compared with the species *C. arabica*, with 8.3% and 7.3% respectively, with respect to the origin, green coffee Oaxaca state had a higher content of ACG-T with 8.0%, samples of Veracruz and Chiapas showed no significant difference with 7.7%, to evaluating the processing green coffee roasted coffee degradation AGC-T ranged from 71-80% for both species, however Oaxaca coffee had less loss of AGC-T. Intensities were obtained attribute of the astringency of 0.4 to 5.6 by showing that the cafes of the species *C. arabica* were less astringent that the drink prepared with *C. canephora*.

From the results it is concluded that there is a difference in the content of AGC-T organic green coffee in between the studied species (*C.arabica* and *C. canephora*) and the origin of the crop, with the highest content of AGC-T in the species *C. canephora* of the state of Oaxaca. There is a correlation between chemical profile (Phenols-T and ACG-T) and the sensory profile attribute in the astringency of the drink, organic coffee. The roasting process to medium decreases ACG-T content between 71-80% no differences between species; however there were significant differences between the origins studied. The total content of chlorogenic acid in coffee beverage impact attribute in the perception of astringency.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iv
ABSTRAC	vi
CONTENIDO.....	viii
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xv
Capítulo I	
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	3
1. Importancia de los polifenoles en los sistemas alimentarios.....	3
1.1 Definición y clasificación.....	3
1.2 Importancia biológica.....	8
1.3 Fuentes naturales de polifenoles.....	10
2. Historia y origen del café orgánico.....	12
2.1 Definición de café orgánico	12
2.2 Producción de café orgánico	13
2.3 Sistema de cultivo.....	14
2.3.1 Técnicas para la caficultura orgánica	15
2.3.2 Diferencias y similitudes entre el sistema de producción convencional y orgánico.....	16
2.4 Transformación primaria del café orgánico.....	16
2.4.1 Método de procesamiento de café por la vía seca	17
2.4.2 Método de procesamiento de café por la vía húmeda.....	18
2.5 Procesamiento primario.....	22
2.6 Procesamiento secundario	23

2.7 Almacenamiento.....	23
2.8 Comercialización de café orgánico.....	24
3. Ácidos clorogénicos en café.....	26
3.1 Propiedades físicas:.....	26
3.2 Composición química.....	27
3.3 Actividad biológica de los ácidos clorogénicos.....	29
3.3.1. Propiedad antioxidante.....	29
3.3.2. Propiedades quelantes y anticancerígenas.....	32
3.3.3. Reducción del riesgo de Diabetes tipo II.....	33
3.3.4 Efecto de ACG contra la acumulación de grasas.....	33
3.3.5 Inmunoreguladores.....	34
3.3.6 Propiedades antimicrobianas de los ACG.....	34
3.4 Efecto del procesamiento sobre el contenido de ACG.....	35
4. Impacto sensorial de los polifenoles.....	37
JUSTIFICACION DEL PROBLEMA.....	39
OBJETIVOS.....	40
Capítulo II	
MATERIALES Y MÉTODOS.....	42
5.1 Materiales.....	43
5.1.1 Material biológico.....	43
5.1.2. Equipo para la industrialización de café.....	44
5.1.3 Equipo para la extracción de ACG-T.....	46
5.1.4 Equipo para el análisis químico.....	47
5.1.5 Material para el análisis sensorial.....	47
5.2 Métodos.....	49
5.2.1 Determinación de la calidad física en café verde.....	49
5.2.2 Estandarización de tostado de café.....	51
5.2.3 Molienda de café tostado.....	53
5.2.4 Método para el análisis sensorial.....	54
5.2.5 Método para el análisis químico.....	61
5.2.6 Análisis estadístico.....	65
Capítulo III	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	67
6.1 Calidad física del café verde orgánico.....	67

6.1.1	Número de defectos	68
6.1.2	Distribución de tamaño del café orgánico.....	70
6.2	Determinación de ACG-T en granos de café verde.....	72
6.2.1	Cuantificación de ACG-T en granos de café verde por HPLC.....	72
6.3	Cuantificación de ACG-T durante el proceso de tostado	80
6.4	Concentración de ACG-T y polifenoles-T en la bebida de café orgánico	83
6.5	Evaluación sensorial	86
6.5.1	Intensidad de la astringencia de las bebidas de café	86
6.5.2	Correlación estadística entre los análisis químicos y sensoriales ...	88
Capítulo IV		
CONCLUSIONES		91
Capítulo V		
BIBLIOGRAFÍA		94
APÉNDICES		105
Apéndice I Formato del análisis de defectos en café verde.....		105
Apéndice II Cuestionario de preselección de candidatos para el panel de evaluación sensorial del café.....		106
Apéndice III Formato para la prueba de identificación de sabores		107
Apéndice IV Formato para la prueba de identificación de olores.....		108
Apéndice V Formato para la prueba de ordenación de sabores.....		109
Apéndice VI Protocolo utilizado para la prueba triangular		110
Apéndice VII Formato para la prueba triangular		111
Apéndice VIII Protocolo utilizado en la 2-AFC (Alternative Forced Choice).....		112
Apéndice IX Formato para la prueba 2-AFC (Alternative Forced Choice).....		113
Apéndice X Formato para la prueba de intensidad (escala 11 puntos).....		114

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura de los principales flavonoles.....	5
Tabla 2. Estructura general de los antocianos. Veáse tabla 3 para R.	6
Tabla 3. Antocianos: subclases definidas por la substitución en la posición C3.....	6
Tabla 4. Cuantificación de compuestos fenólicos en alimentos (% g/100g) ..	12
Tabla 5. Propiedades físicas del ACG	26
Tabla 6. Ácidos clorogénicos identificados en el grano de café verde.....	27
Tabla 7. Ácidos Clorogénicos en café verde (% base seca).....	29
Tabla 8. Condiciones para la estandarización del tostado medio en café orgánico arábica.....	53
Tabla 9. Concentraciones utilizadas en la prueba de identificación de sabores.....	56
Tabla 10. Concentraciones utilizadas en la prueba de ordenación.....	58
Tabla 11. Gradiente de disolventes para la separación de polifenoles por HPLC.....	64
Tabla 12. Concentración de ACG-T en granos de café verde expresados en % en base seca g/100g.....	77
Tabla 13. Comparación de AGC-T bajo los esquemas de producción	78
Tabla 14. Concentración de ACG-T en granos de café verde expresados en % en base seca g/100g.....	79
Tabla 15. Concentración de ACG-T en el café tostado.	82

Tabla 16. Concentración de fenoles totales en equivalente de ácido gálico en ppm (g/100mL) de las fracciones derivadas de la fase acuosa y ACG-T en la bebida de café.....	84
Tabla 17. Contenido de ACG-T en café verde, tostado y bebida.....	85
Tabla 18. Escala Intensidad (11 puntos).....	87
Tabla 19. Correlación estadística entre la concentración de Fenoles-T y ACG-T con respecto a la intensidad astringente.....	89

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del fenol.....	3
Figura 2. Estructura química y patrón de numeración de los flavonoides	4
Figura 3. Estructura química de los flavonoles	5
Figura 4. Estructura química de los antocianos.....	6
Figura 5. Numeración de los radicales para formar los antocianos.....	6
Figura 6. Estructura química de los principales ácidos fenólicos	7
Figura 7. Etapas en la transformación primaria por el método de la vía seca y el método de la vía húmeda.....	17
Figura 8. Café bola tratado por el método de la vía seca.....	18
Figura 9. Clasificación de los Ácidos Clorogénicos (ACG).....	27
Figura 10. Estructuras de los principales ácidos clorogénicos en café (Farah, A. y Donangelo, 2006).....	28
Figura 11. Mecanismo propuesto de la actividad antioxidante por el ácido clorogénico (Morishita y Kido, 1995).....	31
Figura 12. Mecanismo de degradación del ácido 3,5 dicafeoilquinico durante el proceso de tostado. Fuente: (Trugo, L. C y Macrae, 1985).....	36
Figura 13. Diagrama general de la metodología	42
Figura 14. Despergaminador eléctrico.....	44
Figura 15. Torre de zarandas	44
Figura 16. Tostador con capacidad de 10 kg	45
Figura 17. Molino eléctrico para café. Tipo 1RF3.....	45

Figura 18. Equipo para extracción. Rotavapor® (Buchi R-210).....	46
Figura 19. Baño de ultrasonido BRANSON®.	46
Figura 20. Espectrofotómetro de luz ultravioleta visible	47
Figura 21. Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución	47
Figura 22. Método de cuarteo	49
Figura 23. Escala visual Agtron (SCAA).....	52
Figura 24. Presentación de muestras. Prueba 2 AFC	60
Figura 25. Extracción líquido-líquido	62
Figura 26. Comparación del promedio de defectos físicos de café	69
Figura 27. Comparación del promedio de defectos físicos de café verde	70
Figura 28. Análisis granulométrico del café verde <i>C. arabica</i> de las.....	71
Figura 29. Análisis granulométrico de café verde <i>C. canephora</i> de las.....	71
Figura 30. Cromatogramas correspondientes al contenido de ACG-T en el grano de café orgánico verde de la especie <i>Coffea arabica</i>	74
Figura 31. Cromatogramas correspondientes al contenido de ACG-T en el grano de café orgánico verde de la especie <i>Coffea canephora</i> ...	75
Figura 32. Degradación de ACG-T durante el proceso de tostado.....	81
Figura 33. Intensidad del atributo astringencia en la bebida de café.....	87
Figura 34. Diagrama de correlación entre la concentración de Fenoles-T	89

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
ACG	Ácidos clorogénicos
ACG-T	Ácidos clorogénico totales
ANACAFE	Asociación Nacional de la Industria del Café A.C.
ANOVA	Análisis de varianza
b.s.	Base seca
cm ²	Centímetro cuadrado
DMS	Sulfuro de dimetilo
DMDS	Disulfuro de dimetilo
ICO	Organización Internacional del Café
ISO	Organización Internacional para la estandarización
g	Gramo
kg	Kilogramo
L	Litros
MANCOVA	Análisis multivariado de covarianzas
mg	Miligramos
min	Minuto
mL	Mililitros
msnm	Metros sobre el nivel de mar
nm	Nanómetro
PBS	Solución Buffer fosfato
ppm	Partes por millón
pH	Logaritmo inverso de la concentración de iones hidronio
ton	Toneladas
μmol	Micro mol
μL	Micro litros

Capítulo I

INTRODUCCIÓN

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo (Robbins, 2003). Los compuestos fenólicos son conocidos como potentes nutraceuticos por que proporcionan beneficios a la salud y se caracterizan por poseer propiedades sensoriales en bebidas como el vino y café (Loredo *et al.*, 2008). Estas sustancias fenólicas se dividen en dos grandes familias: los flavonoides y no flavonoides. Los no flavonoides son los más importantes, los cuales se dividen en varias familias; esta denominación abarca a los ácidos fenólicos, divididos en ácidos benzoicos (C6-C1) y ácidos cinámicos (Flanzy, 2003). De estos, los ácidos benzoicos son más comunes; en particular los ácidos clorogénicos (ACG) corresponde al éster de un ácido hidroxicinámico (ácido cafeico, ferúlico o un ácido *p*-cumarico) con el ácido quínico. Los ácidos clorogénicos (AGC) son los mayores componentes fenólicos del café, papa, jugo de manzana, té, alcachofa, berenjena y melocotón (Rechner *et al.*, 2001). El ácido 5-O-cafeoilquínico es el principal constituyente de los ácidos clorogénicos encontrados en el café verde (7-14% de acuerdo a la especie, *Coffea arabica* y *Coffea canephora* Clifford *et al.*, 1985). Dentro de las funciones más importantes se caracteriza por poseer propiedades antioxidantes, anticancerígenas y sensoriales (Wang y Ho, 2009); el contenido de ACG en el grano de café depende de diversos factores tales como; genéticos, origen geográfico y prácticas agrícolas (Farah, A. y Donangelo, 2006).

Dentro de las prácticas agrícolas destaca el sistema de producción orgánico ya que la tendencia mundial creciente en favor de los cafés especiales que incluyen estándares sociales y ambientales, derivados de la mayor preocupación mundial por estos asuntos. Entre los más conocidos están los cafés orgánicos, definidos como una estrategia productiva orientada a la obtención de café de calidad y la protección del ambiente, sin la aplicación de insumos de síntesis química, y que se rige por normas de producción y procesamiento, mismas que son vigiladas mediante un proceso de certificación que garantiza al consumidor la adquisición de alimentos de calidad sin residuos químicos, como son fertilizantes y plaguicidas (CERTIMEX, 2011) haciendo mención que México es el pionero en la producción y exportación de café orgánico a nivel mundial y a nivel nacional destacan los estados de Veracruz, Oaxaca y Chiapas; siendo este último que ocupa más del 50% en producción de café. (Sosa *et al.*, 2004; Giovannucci y Juárez, 2006; Guadarrama *et al.*, 2006; Giovannuci y Ponte, 2011).

Así mismo se ha demostrado que la calidad del café como ya se ha mencionado en la literatura, además de analizarse desde el punto de vista físico se complementa con la evaluación sensorial, considerando que la bebida de café se caracteriza por los atributos siguientes: acidez, amargor, dulzor, cuerpo y astringencia; siendo los ACG responsables del resabio, sequedad y arrugamiento de la cavidad bucal lo que sensorialmente se define como atributo astringente en el café genérico (café fertilizado) (Wang y Ho, 2009).

Por lo anterior, se desea investigar el impacto sensorial de los ACG en la bebida de café bajo el esquema de producción orgánico; por lo que este trabajo de investigación permitiría determinar el papel que juega la interacción del atributo astringente sobre la concentración de ácidos clorogénicos presentes en la bebida de café orgánica y lo que aportaría los elementos científicos para validarlo.

ANTECEDENTES

1. Importancia de los polifenoles en los sistemas alimentarios

1.1 Definición y clasificación

Las plantas vasculares sintetizan una gran cantidad de moléculas orgánicas, como consecuencia de su metabolismo secundario.

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo (Robbins, 2003).

La estructura de los compuestos fenólicos o polifenoles, consta de uno o más anillos aromáticos, los cuales poseen uno o más grupos hidroxilos como sustituyentes (Figura 1). Estos compuestos se dividen en dos grandes familias para su estudio: los flavonoides y no flavonoides (Bylka *et al.*, 2004).

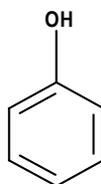


Figura 1. Estructura química del fenol

Los flavonoides son un grupo de pigmentos responsables del color de flores y frutas. La palabra flavonoide proviene del latín “*flavus*” que significa amarillo, sin embargo los flavonoides también pueden ser de color rojo, azul, púrpura o incoloros. La función de los flavonoides en las flores es proveer colores atractivos para sus polinizadores. En las hojas se incrementan cada

2. Antecedentes

vez más para promover la supervivencia fisiológica de la planta, protegiéndose así de patógenos fúngicos y de los rayos ultravioleta. Además, los flavonoides están involucrados en la transferencia de energía, en el crecimiento de la planta, en el control de la respiración, en fotosíntesis, morfogénesis y en determinación del género. (Cushnie y Lamb, 2005).

Químicamente son compuestos con estructura base $C_6-C_3-C_6$ en los cuales los dos grupos C_6 son anillos bencénicos sustituidos (A y B), y el C_3 es una cadena alifática que contiene un anillo pirano (C) (Figura 2).

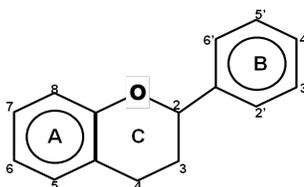


Figura 2. Estructura química y patrón de numeración de los flavonoides

Las principales fuentes de los flavonoides son el vino tinto, manzanas, arándanos, cebollas, productos de soya y té. Numerosas plantas medicinales contienen grandes cantidades de flavonoides, las cuales son utilizadas para tratar problemas de circulación, presión arterial baja, como agentes antiinflamatorio, antiespasmódico y antialérgico. (Cushnie y Lamb, 2005).

a) Flavonoides

Los flavonoides se subdividen en las familias: flavonas, flavonoles, flavononas, chalconas, xantonas, isoflavonas y biflavonas. (Bylka *et al.*, 2004).

Los flavonoides pueden ser clasificados de acuerdo a su origen biosintético. Por ejemplo las chalconas, flavanonas, flavano-3-ols y flavano-3-4-diols son intermediarios en la biosíntesis en las plantas que pueden acumularse en sus tejidos. Otras clases son solo conocidas como productos finales de la biosíntesis, por ejemplo las antocianidinas, proantocianidinas, flavonas y flavonoles. Dos clases adicionales de flavonoides son en los cuales la cadena lateral 2-fenil de las flavononas isomerizadas en la posición 3, dando lugar a las isoflavonas, pertenecientes a los isoflavonoides. Los

neoflavonoides se forman por la isomerización de la posición 4. (Cushnie y Lamb, 2005).

Los flavonoles como distinción, poseen un doble enlace en el anillo C entre los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo en el C3 y en el C4 un grupo oxo (Beecher, 2003). Véase figura 3

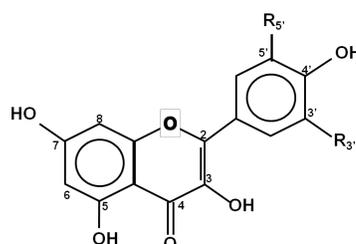


Figura 3. Estructura química de los flavonoles

Son componentes que protegen tejidos vegetales del daño debido a la radiación ultravioleta. Los flavonoles tienen un ligero color amarillo, parece que tales compuestos son producidos en la vaina de algunos frutos en respuesta a la exposición de la luz (Allen, 1998).

Tabla 1. Nomenclatura de los principales flavonoles

Flavonol	R _{5'}	R _{3'}
Quercetina	OH	H
Kaempferol	H	H
Miricetina	OH	OH
Isorhamnetina	OMe	H

Los antocianos están presentes en los alimentos principalmente como monoglucósidos, siendo la glucosa el azúcar más común. Otros azúcares pueden ser la arabinosa y la galactosa. Los antocianos se dividen en varias subclases según la naturaleza de sus sustitutos (Figura 5 y Tabla 2). Los antocianos constituyen la composición fenólica de los taninos de algunas frutas, como la uva y flor de Jamaica (Beecher, 2003; Cisse *et al.*, 2009).

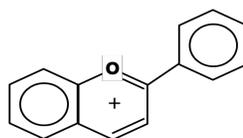


Figura 4. Estructura química de los antocianos

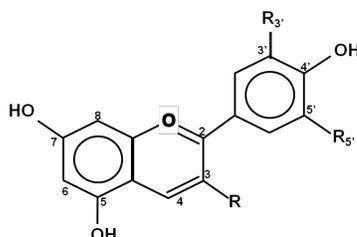


Figura 5. Numeración de los radicales para formar los antocianos

Tabla 2. Estructura general de los antocianos. Véase tabla 3 para R.

Antocianos	R _{3'}	R _{5'}
Delfinidina	OH	OH
Cianidina	OH	H
Petunidina	OCH ₃	OH
Peonidina	OCH ₃	H
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃

Tabla 3. Antocianos: subclases definidas por la sustitución en la posición C3

Subclases	R
Antocianidinas	OH
Antocianos	O-glucosa
Antocianos acilados	
Antocianos acetilados	3-O-acetil-glucósido
Antocianos p-cumarilados	3-O-6-p-cumaril-
Antocianos cafeilados	glucósido
	3-O-6-cafeil-glucósido

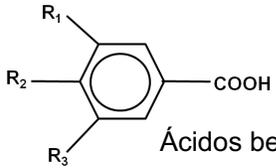
Los antocianos constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales. Existen siempre en forma de heterósidos, cuyo aglucón (o antocianidina) es un derivado del ión flavilio, en el cual los tres anillos de la estructura se encuentran conjugados. La diversidad adicional resulta de la

acilación de la glucosa por los ácidos: acético, *p*-cumárico y cafeico (Andersen y Markham, 2006).

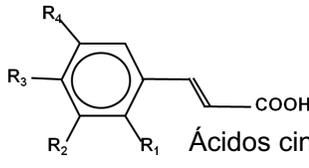
b) No flavonoides

Esta denominación abarca a los ácidos fenólicos, divididos en ácidos benzoicos (C6-C1) y ácidos cinámicos, portadores de una cadena lateral insaturada (C6-C3), pero también a otros derivados fenólicos como los estilbenos (Flanzy, 2003).

Los ácidos fenólicos (Figura 6) son abundantes en los alimentos. Los más frecuentes son el ácido cafeico, y en menor medida el ácido ferúlico, que se encuentra asociado a la fibra dietética mediante la formación de enlaces éster con la hemicelulosa. El ácido cafeico también se encuentra esterificado, principalmente con el ácido quínico, dando lugar al ácido clorogénico (ácido 5-cafeoilquínico), que está presente en el café, y en muchas frutas y verduras (Scalbert y Williamson, 2000). Se pueden diferenciar dos grupos principales de ácidos fenólicos, los ácidos benzoicos y los ácidos cinámicos.



Ácidos benzoicos



Ácidos cinámicos

Ácido	R ₁	R ₂	R ₃	Ácido	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Gálico	OH	OH	OH	Ferúlico	H	H	OH	OCH ₃
Protocatequínico	H	OH	OH	<i>p</i> -cumárico	H	H	OH	H
Vaníllico	H	OH	OCH ₃	Cafeico	H	H	OH	OH
Siríngico	OCH ₃	OH	OCH ₃	Sinápico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Figura 6. Estructura química de los principales ácidos fenólicos

Los ácidos benzoicos o derivados del ácido hidroxibenzoico, tienen una estructura básica C6-C1. Los principales ácidos son: gálico, salicílico, *p*-hidroxibenzoico, protocatéchuico, vainillico y siríngico. Estos cuatro últimos se

consideran universales ya que forman parte de las ligninas, generalmente se presentan de forma conjugada en los vegetales, aunque pueden ser detectados en forma libre en algunas frutas o tras su liberación como consecuencia del procesado. El ácido gálico se puede encontrar conjugado como tal o como sus dímeros (ácido elágico), trímeros (ácido tergálico) o tetrámeros (ácido galágico), los dos últimos menos frecuentes. Los ácidos gálico y elágico son componentes esenciales de los taninos hidrolizables, como por ejemplo los elagitaninos de fresas, frambuesas y zarzamoras. Generalmente los contenidos en estos ácidos son bajos a excepción de las frutas rojas (Manach *et al.*, 2004).

Los ácidos cinámicos o derivados del ácido hidroxicinámico, están ampliamente distribuidos como conjugados en materias vegetales, incluyendo muchos alimentos y bebidas. Entre ellas, las frutas rojas constituyen una fuente significativa de estos compuestos. Salvo en el caso de alimentos procesados, raramente se encuentran como ácidos libres y de forma predominante aparecen esterificados con ácido quínico, tartárico o glucosa. Los más comunes son los ácidos cafeico, ferúlico, sinápico y *p*-cumárico. Uno de los conjugados más frecuentes en frutas es el ácido clorogénico, que resulta de la esterificación de los ácidos cafeico y quínico. Así, el ácido cafeico, libre o esterificado, constituye el ácido fenólico más abundante en muchas frutas (Manach *et al.*, 2004).

1.2 Importancia biológica

Los compuestos fenólicos poseen acciones molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiúlceras, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia Humana (VIH) y del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosil transferasas del *Streptococcus mutans* (caries dental), inhiben la autoxidación del ascorbato, también inhiben efectos

2. Antecedentes

citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral y la enzima xantina monoamina oxidasa. (Proestos *et al.*, 2005).

Los flavonoides, en particular, exhiben una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, antioxidante, antitrombótica y vasodilatadora (Proestos *et al.*, 2005; Yen *et al.*, 1993; Siddhuraju y Becker, 2003;).

Existe evidencia epidemiológica acerca de los beneficios para la salud del consumo abundante de frutas y verduras en la dieta. Altas ingestas de frutas y verduras están asociadas con el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades. El pensamiento vigente vincula el alto contenido de antioxidantes con la inhibición de las enfermedades provocadas por el daño oxidativo, tales como la enfermedad cardíaca, las hemiplejias y el cáncer (Robbins, 2003).

Se ha probado, tanto epidemiológica, así como experimentalmente, la relación existente entre una ingesta aumentada de antioxidantes en la dieta, así como de vitaminas C y E, y β caroteno y la prevención de la enfermedad coronaria. Vinson (1995) determinó que la ingesta de flavonoides en la dieta, la mayoría a partir de té, se asoció con una reducción de las muertes por enfermedades coronarias. Los flavonoides de las plantas, específicamente los del té, son poderosos antioxidantes, comprobados *in vitro* en un sistema de oxidación de lipoproteínas (LDL) simulando lo que ocurre en el cuerpo humano.

Las hierbas aromáticas utilizadas para realzar y complementar los sabores de los alimentos son fuentes de compuestos fenólicos; el consumo de hierbas está asociado con una baja incidencia de cáncer y baja mortalidad por esta misma enfermedad (Wei-Zheng y Wang, 2001).

La ingestión de vino tinto desalcoholizado o de una mezcla de compuestos fenólicos extraída del vino tinto mejora el status antioxidante del plasma en humanos. El consumo de dietas controladas altas en frutas y verduras incrementa significativamente la capacidad antioxidante del plasma en humanos. Estudios epidemiológicos han demostrado una asociación

negativa significativa entre la ingesta de frutas y verduras y la mortalidad debida a la enfermedad cardíaca (Kähkönen *et al.*, 1999).

Dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida. Sus propiedades conocidas incluyen la captura de radicales libres, fuerte actividad antioxidante, inhibición de las enzimas hidrolíticas y oxidativas (fosfolipasa A2, ciclooxigenasa, lipoxigenasa) y acción antiinflamatoria (Siddhuraju y Becker, 2003).

Los flavonoides del vino tinto han demostrado fuerte actividad de inhibición de la oxidación de las LDL; *in vitro* e *in vivo* reducen la agregación de las plaquetas y esto se asocia con la reducción de la mortalidad por enfermedad cardiovascular. La (+) catequina ha demostrado prevenir la oxidación del plasma humano e inhibir la oxidación de las LDL. Los flavonoides pueden explicar los efectos protectores de la dieta mediterránea (rica en vegetales, frutas y vino) contra las enfermedades cardiovasculares. La mayor concentración de (+) catequina en el plasma se observó en sujetos que consumieron frutas, verduras y vino. Su acción antioxidante y antiagregación de las plaquetas puede explicar parcialmente la protección relativa contra la enfermedad coronaria (Ruidavets *et al.*, 2000).

1.3 Fuentes naturales de polifenoles

a) Vino

Los compuestos fenólicos de los vinos pueden dividirse en dos categorías: los no flavonoides (comprenden los hidroxibenzoatos y los hidroxicinamatos) y los flavonoides, que incluyen los flavonoles (quercetina, miricetina), los flavan 3 oles (catequina y epicatequina), los polímeros de la catequina o procianidinas, y los antocianos, colectivamente son 20 veces más abundantes en vinos tintos que en vinos blancos. Estudios reportados por Minussi *et al.*, (2003) se obtuvo una correlación positiva entre el potencial antioxidante total del vino y el ácido gálico, la catequina y la epicatequina, así como los polifenoles totales.

b) Té

El té es una de las bebidas con un mayor contenido en compuestos fenólicos de interés nutricional, destacando por su alta concentración en catequinas, las cuales constituyen más del 30% del peso seco de la hoja, flavonoles (quercitina, kaempferol y sus glicósidos), flavonas y ácidos fenólicos (ácido gálico y ácido clorogénico). La fermentación del té conlleva importantes variaciones en su composición fenólica: el té verde es muy rico en flavanoles, mientras que el té negro contiene elevadas concentraciones de polifenoles oxidados (teoflavinas y teorubigins). Las infusiones de té poseen concentraciones elevadas de quercitina oscilan entre 10 y 25 mg/L (Roedig-Penman y Gordon, 1997; Benzie y Szeto, 1999)

c) Cacao

Los granos de cacao no fermentados son ricos en polifenoles, los cuales comprenden 12% al 18% del peso seco total del grano entero. Los polifenoles presentes son catequinas, procianidinas y antocianidinas. Luego de la fermentación y el secado, los flavonoides sufren una variedad de reacciones de oxidación y polimerización que originan taninos. Los fenoles del cacao tienen propiedades antioxidantes *in vitro* (Richelle *et al.*, 2001).

d) Café

El café verde tiene alto contenido de polifenoles, entre ellos el ácido ferúlico y cafeico, cuya actividad antioxidante ha sido demostrada *in vitro e in vivo*. El grado de tostado disminuye la concentración en polifenoles. El café descafeinado no presenta diferencias con el café sin descafeinar respecto de su poder antioxidante. La protección contra la oxidación de las LDL no se debe a un solo compuesto, sino que es el resultado de la acción de varios compuestos fenólicos, tales como el ácido cafeico y en mayor grado el ácido clorogénico (Richelle *et al.*, 2001).

Se ha medido el contenido de ACG en alimentos, concluyendo que el café es la fuente más rica entre las bebidas consumidas, comparado con el jugo de manzana, jugo de naranja, vino tinto, cerveza, té negro, té verde y otros; y de acuerdo a diversos estudios este contenido de ACG varía de acuerdo a las a factores genéticos, origen geográfico y prácticas agrícolas el cual se destacan los sistemas de producción genérico y orgánico (Farah, A. y Donangelo, 2006; Gotteland y Pablo, 2007).

Tabla 4. Cuantificación de compuestos fenólicos en alimentos (% g/100g)

Alimento	Compuestos fenólicos	Referencia
Manzana	110.6	Hertog <i>et al.</i> , 1992
Papa	17.4	Justesen <i>et al.</i> , 1998
Pulpa de pomelo	1.5	Hertog <i>et al.</i> , 1993
Naranjas	49.3	Hertog <i>et al.</i> , 1992
Moras	232.0	Hertog <i>et al.</i> , 1992
Uva negra	88.7	Justesen <i>et al.</i> , 1998
Vino tinto	100-400	Hertog <i>et al.</i> , 1993
Té verde	75-100	Farah, A. y Donangelo, 2006
Té negro	66	Farah, A. y Donangelo, 2006
Café	100-250	Gotteland y Pablo, 2007

2. Historia y origen del café orgánico

2.1 Definición de café orgánico

En México se pueden distinguir dos sistemas de producción: genérico (café convencional) y orgánico; el primero se caracteriza por el cultivo fertilizados a base del uso de productos químicos sintéticos y la caficultura orgánica se define como un sistema holístico de gestión de la producción que fomenta y mejora los agroecosistemas, y en particular la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo, a través de prácticas que

evitan el uso de productos de síntesis química, así como de organismos genéticamente modificados, aguas negras, edulcorantes y conservadores sintéticos en productos transformados (Cruz *et al.*, 2005).

De acuerdo con la International "Federation of Organic Agriculture Movements" (IFOAM) organismo con sede en Alemania, incluye «todos los sistemas agrícolas que promueven la producción de alimentos y fibras con una viabilidad ambiental, social y económica», y está basado en cuatro principios: en la salud del suelo, las plantas, las personas y el planeta como un único ente que es indivisible; en la promoción y conservación de los ecosistemas y ciclos ecológicos; en la equidad, que implica que se basa en relaciones de igualdad para los humanos y el medio ambiente; y en la precaución, pues no compromete el bienestar de las sociedades presentes ni futuras ni el del medio ambiente (IFOAM, 2011). Se considera una actividad estratégica fundamental en el país, debido a que permite la integración de cadenas productivas, la generación de divisas y empleos, el modo de subsistencia de muchos pequeños productores y alrededor de 30 grupos indígenas y, en forma reciente, de enorme relevancia ecológica, pues más del 90% de la superficie cultivada con café se encuentra bajo sombra diversificada, que contribuye considerablemente a conservar biodiversidad y como proveedor de vitales servicios ambientales a la sociedad (Moguel y Toledo, 1999; Escamilla y Díaz, 2002; Vandermeer, 2003; Giovannucci y Juárez, 2006).

2.2 Producción de café orgánico

México ha sido pionero en la exportación de café orgánico y es el líder mundial en comercio justo (Sosa *et al.*, 2004; Giovannucci y Juárez, 2006; Guadarrama *et al.*, 2006). La producción de café orgánico en México inició hace más de cincuenta años con la experiencia de la Finca Irlanda en el Soconusco en Chiapas, pero es hasta la crisis cafetalera de 1989-1994 cuando se consolida la producción orgánica al ser retomada por las organizaciones cafetaleras, debido a que esta actividad se caracteriza por

incluir los conocimientos de la caficultura tradicional, evita el uso de insumos sintéticos procedentes del exterior e intensifica el uso de mano de obra, bajo normas y reglamentos establecidos por agencias certificadoras. De esta manera, el café orgánico se integra a procesos organizativos democráticos y autogestionados de organizaciones de pequeños productores, aspectos sociales que además han impulsado la creación del comercio justo (AMAE/ IFOAM/UACH 1995(Roozen y Vanderhoff, 2002).

Los principales estados productores de café orgánico se encuentran Chiapas, Oaxaca, Veracruz, que exportan directamente a mercados de especialidad y reciben ingresos significativos. Entre las organizaciones productoras de café orgánico más exitosas se encuentran UCIRI, ISMAM, CEPCO, Majomut, MICHIZA, La Selva, Federación Indígena Ecológica, Tiemelonla Nich K Lum, Tosepan Titataniske, Unión Regional de Huatusco y REDCAFES, por citar algunas (Sosa *et al.*, 2004; Giovannucci y Juárez, 2006).

El cultivo orgánico en México se ha desarrollado con éxito debido impulsado por las propias organizaciones de productores; sin embargo, este dinámico sector enfrenta diversos problemas que requieren apoyo científico y técnico. Las necesidades de investigación y desarrollo del sector cafetalero orgánico en este contexto es importante identificar los diferentes factores que inciden en la calidad del café para mantenerse en estos nichos de mercado.

2.3 Sistema de cultivo

Se caracteriza por el establecimiento de plantaciones con semillas o viveros procedentes de fincas que en los últimos 2 o 3 años no se les ha aplicado insumos tóxicos agroquímicos; y que por consiguiente, dicha finca orgánica será mantenida y desarrollada exclusivamente mediante el uso de abonos orgánicos bajo sombra.

Esto implica que los abonos serán elaborados con material de origen animal o vegetal tales como la pulpa de café, gallinaza de aves,

murcielaguina, estiércol de ganado, y minerales que provienen de rocas fosfóricas (salitre).

El manejo fitosanitario es realizado exclusivamente a partir del uso de productos biológicos, especies botánicas locales como repelentes, manejo preventivo de plagas y enfermedades comunes que afectan el cultivo del café sin causar daño a los recursos naturales.

La aplicación de estas técnicas y labores culturales contribuyen a restablecer el equilibrio agroecológico en el entorno de las unidades de producción, contribuyendo a la conservación y mejoramiento de suelos, mejorando la biodiversidad, protegiendo las cuencas hidrográficas y la salud humana (CENICAFE, 2011).

2.3.1 Técnicas para la caficultura orgánica

Las técnicas y métodos de los procesos de producción del sistema del café orgánico tienen como propósito el manejo integral del agroecosistema, basándose en los siguientes principios:

1. Uso de especies y variedades de café altamente resistente a condiciones adversas, adaptados al clima local, y de poca exigencia en nutrientes.
2. Garantizar la biodiversidad del agroecosistema (uso de sombras diversas y cultivos de cobertura entre otros).
3. Manejo sostenible del suelo, realizando prácticas de conservación y protección, utilizando abonos orgánicos, mejorando su estructura, textura y fertilidad.
4. Establece mecanismos de control de los procesos productivos, manejo de fincas, cosecha y calidad del producto.
5. Este sistema determina el sostenimiento de los procesos productivos del café orgánico y la sustentabilidad económico del productor (Arvalho *et al.*, 2002).

2.3.2 Diferencias y similitudes entre el sistema de producción convencional y orgánico

La presencia de material biodegradable en las zonas de influencia garantiza la continuidad de éste importante esfuerzo de producción orgánica; comprobándose “rastros” de cultivos como maíz, frijol y sorgo; además el estiércol de ganado mayor y aves de corral que con procesamiento regulado ayuda en la producción de abono orgánico.

Los desperdicios y cenizas de los hogares rurales también contribuyen a la sostenibilidad de éste tipo de producción y lo más importante es el cambio de actitud en los productores y productoras quienes han participado activamente en estas actividades, demostrando elevado interés y eficiencia en el manejo de las diferentes actividades.

Los caficultores identificaron las diferencias y similitudes existentes entre caficultura orgánica y tradicional; comprendiendo que la producción convencional contempla el uso de capital, energía, insumos, mano de obra, manejo ambiental, cubriendo costos operacionales para el mantenimiento de las unidades de producción agrícola, penetrando en la industrialización del fruto del café sin aplicar las medidas de mitigación.

El sistema de producción orgánica también incurre en costos operacionales, pero aplicando medidas para la eliminación de desechos sólidos y control en las aguas residuales; desarrollándose un ciclo para el mejor aprovechamiento de la pulpa, cascarillo y el reciclado de agua, alcanzándose mayor biodiversidad y producción de diversos tipos de abono orgánico con la participación activa y real de los productores y productoras (OIRSA, 2011).

2.4 Transformación primaria del café orgánico

La transformación primaria consiste en procesar el café cereza para obtener café seco sin clasificar y puede llevarse a cabo por dos vías: la vía

seca o la vía húmeda (Figura 7). Dependiendo del método empleado se obtiene café bola (vía seca) o café pergamino (vía húmeda). Estos dos métodos de preparación del café antes de la etapa de tostado afectan significativamente la calidad y el precio del producto final (Clarke y Macrae, 1985).

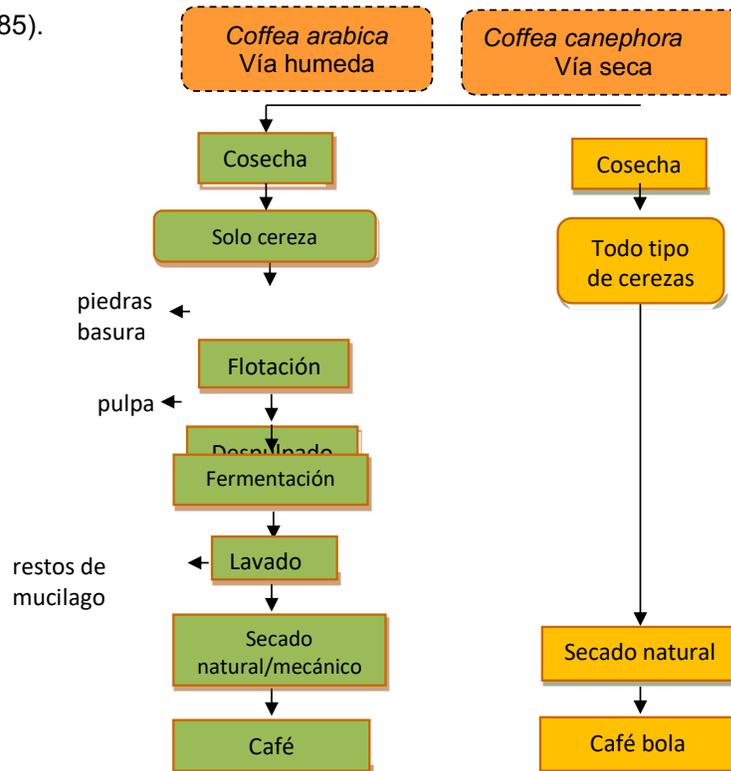


Figura 7. Etapas en la transformación primaria por el método de la vía seca y el método de la vía húmeda
Fuente: Adaptado de (Vicent, 1987)

2.4.1 Método de procesamiento de café por la vía seca

Es un método simple, económico y tradicional que produce café de menor calidad que los obtenidos por el método de la vía húmeda, llamado "Natural" o "no lavado". Este método de procesamiento no utiliza agua y contempla el secado directo de las cerezas al sol para posteriormente pasar al

2. Antecedentes

decorticado. De manera general, las operaciones que se realizan en esta vía son sencillas, que consiste en extender las cerezas recogidas sobre una superficie de cemento, ladrillo o estera exponiéndolas al sol y cuando la humedad del grano es de alrededor del 12%, lo cual ocurre en un tiempo aproximado de cuatro semanas, los granos se consideran secos (Figura 8).



Figura 8. Café bola tratado por el método de la vía seca

Se puede aplicar un secado mecánico para obtener el mismo resultado con un tiempo aproximado de 2 días. Sin embargo un secado temperaturas altas puede afectar la calidad sensorial (Wood, 1998).

2.4.2 Método de procesamiento de café por la vía húmeda

Más de la tercera parte de la producción mundial de café es procesada por el método húmedo o vía húmeda. La mayor parte del café arábico sigue el proceso húmedo, a excepción de los procedentes de Brasil y Etiopía, lugares en donde el método de la vía seca es más habitual. Este método necesita de instalaciones y maquinaria adecuada, disponibilidad y uso de fuentes de agua y gastos de inversión. La diferencia del método de la vía seca y el de la vía húmeda, es que en este último se elimina la pulpa y el mucílago del grano antes de ser secado, obteniéndose café pergamino.

El café obtenido por este método es llamado “lavado” y requieren materia prima compuesta únicamente de café cereza madura cosechada de manera selectiva.

Este método presenta las siguientes ventajas:

- Reduce los tiempos de secado por lo que las áreas de secado son más pequeñas.
- Los granos presentan mejor apariencia física.
- Produce café con sabores más finos en la bebida.

En general el método de la vía húmeda produce café con mejores características físicas y sensoriales en la bebida, pero requiere de mucho más cuidado y técnica. Al conjunto de etapas en este método también se le conoce como beneficio húmedo.

El beneficio húmedo tiene como objetivo producir café pergamino seco (Humedad aproximada del 12%). Las principales etapas son: recepción, selección, flotación, despulpado, fermentación o desmucilaginado, lavado y secado. En cada una de estas etapas se deben seguir buenas prácticas de procesamiento para obtener un producto final dentro de los estándares de calidad.

a) Recepción, selección y flotación

El método de la vía húmeda requiere una maduración uniforme del café cereza, por lo que la recolección y selección deben realizarse de manera manual. El personal que realiza estas operaciones debe estar capacitado para reconocer los granos de café maduro que son deseables y separar los indeseables. Posteriormente se efectúa la flotación del café que consiste en hacer sumergir el grano de café seleccionado en agua y por diferencia de densidades seleccionar y separar los granos ligeros (secos, vanos o sobre maduros) y los granos pesados (granos inmaduros) que hayan quedado, que son indeseable, así como cereza vana que en la mayoría de las veces es cereza brocada y a simple vista es difícil de distinguir, además de eliminar ramas secas y hojas de café. Otro de los objetivos es el de eliminar tierra que pudieran traer los granos, así como también el de hidratar a las cerezas antes

de despulparlas. Esto ocurre antes de remover la pulpa para facilitar el secado posterior y hacer los lotes más homogéneos (ANACAFE, 1998).

b) Despulpado

En esta operación se elimina el exocarpio del café para obtener la semilla con el mucílago. Las cerezas son llevadas a través de una corriente de agua a un elevador hacia una tolva arriba del despulpador para separar la pulpa del resto del grano. Tradicionalmente el despulpado se realiza adicionando agua, pero los nuevos aparatos funcionan en seco a fin de disminuir las cantidades de agua utilizadas en el proceso. Los despulpadores mecánicos o eléctricos funcionan por fricción de las cerezas sobre un disco o tambor. El rodillo se debe calibrar para no dañar el pergamino o lo que es peor la semilla de café, ya que este daño permanecería a través de las distintas etapas del beneficiado, provocando trastornos en las etapa de desmucilaginado y secado, afectando la calidad final del café en taza; por lo que es preferible dejar pasar a través del despulpador granos sin despulpar de menor tamaño. Las semillas son transportadas por canales de agua a la zona de desmucilaginado (ANACAFE, 1998).

c) Desmucilaginado natural o Fermentación

La etapa de desmucilaginado o fermentación y consisten en la eliminación del mucílago del grano de café que puede llevarse a cabo por varios métodos, natural, mecánico, químico, etc., (ANACAFE, 1998).

d) Lavado

Al término del desmucilaginado, los granos de café son lavados con agua para eliminar por completo los restos de mucílago adheridos al grano de café y también para eliminar granos vanos que aún flotan en la superficie del

agua. En esta etapa se lava el café con agua potable hasta que se obtenga agua clara (ANACAFE, 1998).

e) Secado

El proceso de secado puede realizarse de manera natural bajo el sol, en patios o en tablas suspendidas o también, utilizando secadores mecánicos o una combinación de ambos. En café inmaduro, la humedad alcanza 70%, mientras que en cereza madura esta varía de 50 a 70%; en café sobremaduro oscila entre 35 y 50% y en cereza seca entre 16 y 30%. El café pergamino se coloca en el patio, ya sea de concreto o en las zarandas formando una capa de 2-3 cm de espesor rotándolo constantemente, esto es para facilitar la eliminación del agua y evitar la aparición de grano fermentado o enmohecido de 6-9 kg de café pergamino por m² pueden ser secados para obtener este grosor. Radiaciones solares, entre 400 y 480nm, son importantes para mantener la calidad del café, mejorando el aroma y la acidez, y reduciendo la carga microbiana. En regiones con climas adversos el secado mecánico es usado después de un secado parcial en patios, cuando el café ha alcanzado niveles de humedad de entre 20 y 30%. La temperatura en el grano de café no debe exceder 40-45°C para evitar la muerte del embrión y posteriores olores desagradables.

En esta etapa se pueden producir defectos conocidos como grano negro o grano blanco, que es el que proviene de granos inmaduros que han sido secados a temperaturas superiores a 30°C. El grano es removido del secador y es almacenado cuando se alcanza la humedad de 12%, con el fin de evitar el desarrollo de sabores a mohoso, terroso o fermentado (ANACAFE, 1998).

2.5 Procesamiento primario

El procesamiento primario también conocido como beneficio seco, es la etapa en donde el café seco, pergamino o bola dependiendo del método de transformación empleado, es procesado para obtener café verde sin clasificar. En el caso del café pergamino se efectúa un despergaminado y en el caso del café bola un decortinado, obteniéndose como producto primario café verde y como producto secundario pergamino y pulpa seca respectivamente (ANACAFE, 1998).

➤ **Decortinado o Despergaminado**

El café bola y el café pergamino son separados de la cáscara y la pulpa en el decortinado (café bola) o del pergamino en el despergaminado (café pergamino). El aparato empleado es llamado morteadora, descascarilladora o despergaminador. El objetivo de esta máquina es eliminar la cascarilla apergaminada que cubre al grano de café lavado y seco. La máquina tiene un tornillo horizontal que gira dentro de una cubierta ajustada, la parte inferior de la cubierta está perforada, a través de las perforaciones y mediante un ventilador se aplica una fuerza de succión, originándose fricción y presión entre los granos, la cascarilla es desgarrada y pasa a través de las perforaciones, en la descarga un ventilador produce corriente de aire para eliminar la cascarilla no desprendida por la succión. La presión de la máquina se ajusta en su etapa final para eliminar la fina membrana exterior del grano, esta etapa del proceso se conoce como pulido.

El método de transformación empleado, ya sea por la vía húmeda o por la vía seca, se distingue por producir dos tipos de café verde comerciales:

- Café “Lavado” que son obtenidos por la vía húmeda y principalmente utilizan café arábico y muy poco café robusta; se caracterizan por presentar una mayor acidez que los no lavados.

- Café “No lavado” que son obtenidos por la vía seca y principalmente utilizan cafés arábico y robusta Brasileños (Clarke y Vitzthum, 2001).

2.6 Procesamiento secundario

El café verde obtenido se clasifica a través de tres procesos de selección: granulométrico, densimétrico y clasificación colorimétrica.

La clasificación granulométrica permite obtener granos de café de un mismo tamaño y facilitar la eliminación de defectos que se concentran, por lo general, en granos de menor talla y permitir de esta forma, homogenizar la etapa de tostado (Pochet, 1963).

La densimetría permite eliminar granos ligeros (picado, malformado), pedazos de granos, pedazos de pergaminos, granos no descortados, piedras, etc. Para ello, se usan máquinas de limpieza haciendo por flujos de aire.

La clasificación colorimétrica permite separar los granos que tienen un color indeseable (granos negros, blancos o parduscos). Esta puede ser manual o utilizando una máquina electrónica. La máquina electrónica proyecta una luz sobre los granos aplicando una técnica colorimétrica basada en la medición de la diferencia de reflectancia entre los granos y una referencia. Los granos de coloración diferente son eliminados (fermentados o podridos) los cuales darían malos sabores a la bebida de café (Suárez-Quiroz *et al.*, 2004).

2.7 Almacenamiento

El café procesado es almacenado antes de ser tostado; esta etapa demanda todas las precauciones para que se conserve la calidad hasta la bebida. Para garantizar una buena conservación es necesario almacenar el

café seco con grado de humedad confiable (11-13%; aproximadamente 0.55-0.60 de humedad relativa en equilibrio), condición en la cual el café es microbiológicamente estable (Suárez-Quiroz *et al.*, 2004).

2.8 Comercialización de café orgánico

No obstante su relevancia, el sector cafetalero ha estado inmerso en las recurrentes crisis por la caída de los precios en el mercado internacional. La más reciente, en el período 1998-2004, fue considerada la más severa del pasado siglo. Las consecuencias de esta crisis son diversas y sus repercusiones impactan desfavorablemente al sector; sus indicadores más relevantes son la elevada e incontenible migración de productores, el abandono de las plantaciones, el enorme impacto ambiental al sustituir cafetales por otros cultivos más agresivos con la ecología, los niveles de incidencia de la broca del grano, la disminución de la producción y exportación de café mexicano y, sobre todo, la dramática caída del nivel de desarrollo humano en las regiones cafetaleras (UACH, 2005; Guadarrama *et al.*, 2006).

En México se han impulsado y desarrollado diversas alternativas para superar esta situación desfavorable e incluso poder seguir aprovechando el café como eje de desarrollo comunitario y regional. Entre estas experiencias, las más exitosas son la producción y comercialización de café orgánico y el comercio justo certificados; de esta manera, el café mexicano se ha diferenciado e incursionado en mercados muy especializados (Pohlan., 2002; Roozen y Vanderhoff, 2002; Sosa *et al.*, 2004).

La tendencia mundial creciente en favor de los cafés de especialidad se refleja en que actualmente los mercados de cafés diferenciados importan entre 7 y 9 millones de sacos de café verde, que representan del 9 al 12% de las importaciones mundiales. En particular, sobresalen los cafés especiales que incluyen estándares sociales y ambientales, derivados de la mayor preocupación mundial por estos asuntos. Entre los más conocidos están los

café orgánicos, los amigables con el ambiente y el comercio justo (Giovannucci y Juárez, 2006).

Los cafés orgánicos son los líderes certificados de café en los EUA, seguidos por el comercio justo. Ambos mercados crecen aceleradamente y cada vez más los compradores demandan las dos certificaciones. También los mercados europeos de cafés sostenibles están dominados por el comercio justo y orgánico: el mercado orgánico mundial en el 2005 fue de 700.000 sacos (Giovannucci y Juárez, 2006). Así mismo, se estima que entre el 2006 y el 2010 los índices de crecimiento del café orgánico serán de 10 a 20% al año (CCA 1999).

La importancia del café orgánico en el ámbito mundial aumentó aceleradamente desde la década de los ochenta, década en la que aparecieron algunas de las agencias certificadoras más relevantes para el contexto mexicano, como "Naturland" y "OCIA". En el año de 1992 se registró un consumo mundial de 24,000 sacos orgánicos (ICO, 1997), mientras que en 2005 las exportaciones reportadas por la "International Coffee Organization", ICO, fueron de 797,616 sacos orgánicos (ICO, 2006). Estas cifras muestran un crecimiento anual promedio de 31% en dicho periodo.

En el 2002, México aportó el 66% del total mundial con una producción de 47.461 ton de café orgánico (FIRA, 2003); para el año 2011 la producción incremento a 132,925 ton. Los principales destinos del café orgánico son Estados Unidos, Alemania, Holanda, Suiza, Japón, Italia, Dinamarca, España, Francia, Australia, Inglaterra y Bélgica (ICO, 2011). La demanda de café orgánico se ha incrementado en los últimos años debido a que es considerado como una fuente de sustancias bioquímicamente activas; entre las más importantes se encuentran los compuestos fenólicos, particularmente los ACG, éstos se asocian a múltiples actividades biológicas dentro del organismo (Fujiota y Shibamoto, 2008; Joet *et al.*, 2011).

3. Ácidos clorogénicos en café

Los ACG son los mayores componentes fenólicos del café, papa, jugo de manzana, té, alcachofa, berenjena y melocotón (Rechner *et al.*, 2001). Algunas personas que beben varias tazas de café por día pueden ingerir alrededor de 500-800 mg de ácidos hidroxicinámicos/día, mientras las personas que no beben café y consumen pequeñas cantidades de fruta y verduras no ingieren más de 25 mg/día (Manach *et al.*, 2004). Cada taza de café contiene de 15 a 325 mg, con un promedio de 200 mg de ACG por taza de café americano (Clifford, 1999).

3.1 Propiedades físicas:

El ACG tiene adecuada solubilidad en agua a 25°C (25mg/mL) y puede disolverse en soluciones tampón PBS a pH 7.2, en solución etanol, DMSO y DMS.

Tabla 5. Propiedades físicas del ACG

Nombre químico	3-[[[3-(3,4-Dihidroxifenil)-1-oxo-2-propenil]oxi]-1,4,5-ácido trihidroxiciclohexanocarboxílico
Formula química	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
Masa molecular	354.31 g/mol
Densidad	1.28 g/cm ³
Punto de fusión	207-209°C
Punto de ebullición	Desconocido

Fuente:(Iwai *et al.*, 2004).

3.2 Composición química

Los ACG corresponde al éster de un ácido hidroxicinámico (ácido cafeíco, ferúlico o un ácido *p*-cumárico) con el ácido quínico.

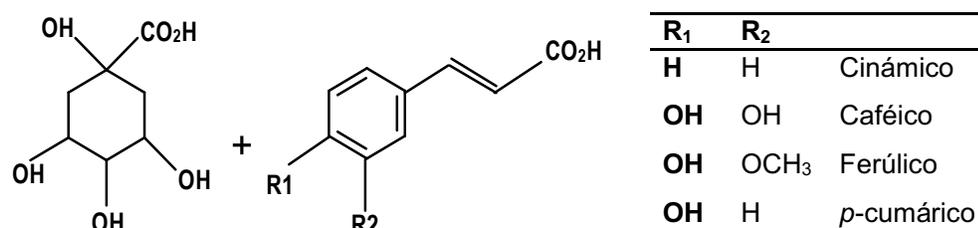


Figura 9. Clasificación de los Ácidos Clorogénicos

Ácidos fenólicos que conforman a los ACG

De acuerdo a los sustituyentes en el ácido quínico, los ACG se dividen en tres grupos principales: Ácidos cafeoilquínicos, dicaféoilquínicos y feruloilquínicos.

Tabla 6. Ácidos clorogénicos identificados en el grano de café verde

Ácidos cafeoilquínicos (CQA)	Ácidos dicaféoilquínicos (diCQA)	Ácidos feruloilquínicos (FQA)
Ac. 3-CQA	Ac. 3,4-diCQA	Ac. 3-FQA
Ac. 4-CQA	Ac. 3,5-diCQA	Ac. 4-FQA
Ac. 5-CQA	Ac. 4,5-diCQA	Ac. 5-FQA

Fuente: (Clifford, 1999).

El ácido 5-*O*-caféoilquínico es el principal constituyente de los ácidos clorogénicos encontrados en el café verde (7-14%) de acuerdo a la especie,

2. Antecedentes

Coffea arabica y *Coffea canephora* (Clifford., 1985) constituido de una molécula de ácido cafeico esterificado con una molécula del ácido quínico, en la mayoría de las ocasiones se le da el nombre de ácido clorogénico.

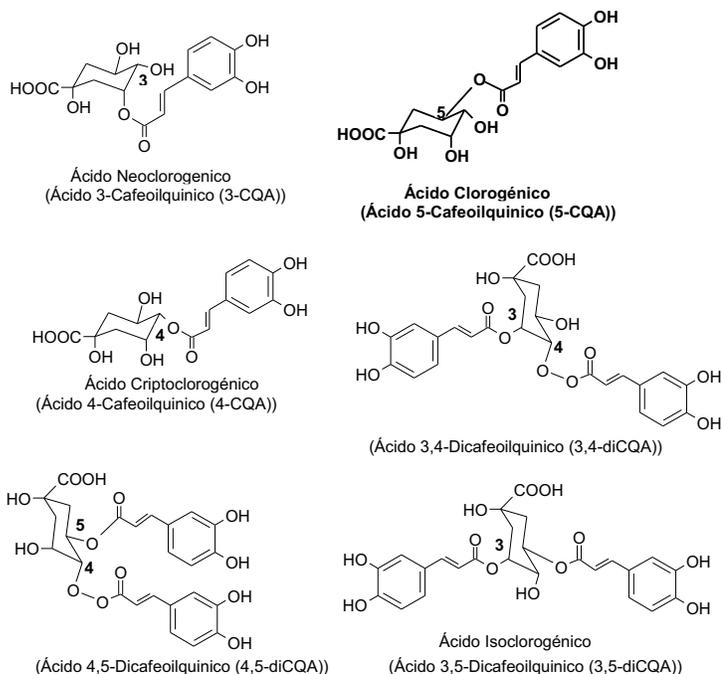


Figura 10. Estructuras de los principales ácidos clorogénicos en café. (Farah, A. y Donangelo, 2006).

Varios isómeros del ácido clorogénico han sido aislados y caracterizados: los ácidos 3,4- , 3,5- y 4,5- dicaféolquínicos, el ácido 3-caféoilquínico (ácido neochlorogénico) y el ácido 4-caféoilquínico (ácido criptoclorogénico) (Clifford, *et al.*, 2003).

La composición de los ACG en el café verde, se muestra en la tabla 7, en donde los ácidos cafeoilquínicos sobresalen; de 3.8- 7 % para café arábica y de 5.7-8.6 % para café robusta en porcentaje base seca.

Tabla 7. Ácidos Clorogénicos en café verde (% base seca)

Componente	Arábica	Robusta
Ac. 5-CQA	3.0 – 5.6	4.4 – 6.5
Ac. 4-CQA	0.5 – 0.7	0.7 – 1.1
Ac. 3-CQA	0.3 – 0.7	0.6 – 1.0
Total	3.8 – 7.0	5.7 – 8.6
Ac. 3,4-diCQA	0.1 – 0.2	0.5 – 0.7
Ac. 3,5-diCQA	0.2 – 0.6	0.4 – 0.8
Ac. 4,5-diCQA	0.2 – 0.4	0.6 – 1.0
Total	0.5 – 1.2	1.5 – 2.5
Ac. 3-FQA	Trazas	0.1
Ac. 4-FQA	Trazas	0.1
Ac. 5-FQA	0.3	1.0
Total	1.2	1.2

Fuente:(Clifford., Michael N *et al.*, 2003)

3.3 Actividad biológica de los ácidos clorogénicos

3.3.1. Propiedad antioxidante

Reportado por varios autores, estos diferentes caféoil y féruloil ésteres y di ésteres, *in vitro e in vivo* han mostrado actividad como antioxidantes (Kono, Y. *et al.*, 1995; Morishita y Kido, 1995; Kono, Y *et al.*, 1997; Ohnishi *et al.*, 1997; Nakatani *et al.*, 2000; Morishita, H y Ohnishi, 2001; Allam y Bassiuny, 2002).

2. Antecedentes

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para la generación de energía, liberan radicales libres los cuales son incompatibles con la vida a menos que existan mecanismos de defensa contra estos. Estas defensas se realizan a través de los antioxidantes (García-Ballacao *et al.*, 2001).

Se puede definir un antioxidante como a toda sustancia presente a bajas concentraciones respecto a las de una molécula oxidable (biomolécula), que retarda o previene la oxidación de este sustrato. El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, se debilita su acción y en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes (García-Ballacao *et al.*, 2001).

Se ha comprobado la capacidad antioxidante del café, que es bastante homogénea y potente. Estudios realizados en los cuales emplearon las 2 especies principales de café: el Robusta y el Arábica, comprobaron que el primero duplica la capacidad antioxidante del segundo, por su mayor contenido en ácido clorogénico; y aunque usualmente ambos se mezclan para producir café con diferentes sabores, la capacidad antioxidante de estas combinaciones varía poco (Gutiérrez y Maydata, 2002).

Varios autores han reportado un efecto inhibitorio de ACG sobre la actividad de lipoxigenasa en el metabolismo de la prostaglandina, inhibición de la oxidación de la vitamina A, protección contra la oxidación de la epinefrina e inhibición de 5,6-epoxidación del ácido retinoico (Kono, Y. *et al.*, 1995). En su estudio, dichos investigadores, proponen un mecanismo de actividad antioxidante de ACG que inhibe la peroxidación del ácido linoleico en donde, primeramente, actúa como donador de un átomo de hidrogeno al radical peroxi para reaccionar, posteriormente, con otro radical peroxi convirtiéndolo en un producto mucho menos activos (Figura 11) (Morishita y Kido, 1995).

Stewart y Crozier (2004) calcularon la capacidad antioxidante de los ácidos clorogénicos del café usando HPLC con un sistema on-line ABTS⁺. Dicha actividad antioxidante fue claramente asociada con la presencia de los estos ácidos teniendo como principales contribuyentes a 3-, 4- y 5-CQA. En

dicho estudio los autores también determinaron que por una taza de café se tenía una capacidad antioxidante más alta que por una taza de cocoa, té verde o té negro. Se detectó el incremento en la actividad antioxidante en el plasma después de consumo de café.

Los ácidos clorogénicos que pasan, al torrente sanguíneo a través del tracto gastrointestinal, del intestino delgado (70% ACG absorbidos) al grueso (remanentes de ACG), en el cuerpo, tienen actividad antioxidante aumentando la posibilidad de que estos puedan ejercer un efecto protector contra el cáncer de colon (Stewart y Crozier, 2004).

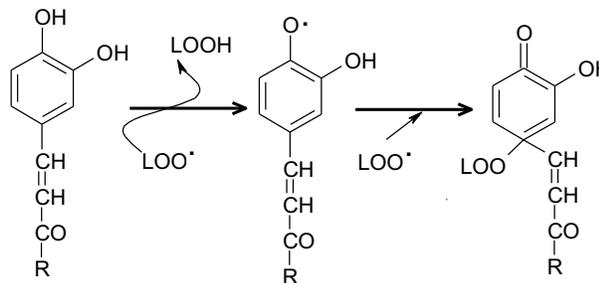


Figura 11. Mecanismo propuesto de la actividad antioxidante por el ácido clorogénico (Morishita y Kido, 1995)

La capacidad de atrapar radicales libres por parte de ACG es más efectiva que la presentada por los α -tocoferoles y el ácido ascórbico. Estos últimos, juntos con la vitamina E protegen la membrana de lípidos de la peroxidación aunque no se sabe que tengan un efecto sobre el cáncer de varios órganos (Kono, Y. *et al.*, 1995).

Los di-CQA tienen mayor actividad atrapante de radicales DPPH que los antioxidantes mencionados (vitamina E, α -tocoferoles y el ácido ascórbico). La capacidad de atrapar radicales por 3-, 4-, 5-CQA y 5-FQA fue también más alta que la presentada por los α -tocoferoles (Iwai *et al.*, 2004).

Los di-CQA mostraron una mayor actividad para atrapar el radical anión superóxido al comparado con los CQA, 5-FQA y ácido cafeico. Los di-CQA contienen 2 grupos cafeoil que mostraron una fuerte actividad antioxidativa

comparada a los CQA que contiene un grupo cafeoil y ácido cafeico (Iwai *et al.*, 2004).

Los derivados de los ácidos hidroxicinámicos, especialmente el di-CQA, deberían ser usados como agentes protectores contra especies activas de oxígeno, como agente aclarante de piel en cosméticos y como agentes quimiopreventivos (Iwai *et al.*, 2004).

En un estudio con extractos de tejidos de zanahoria, 150 µg/mL de ACG presentaron una actividad antioxidante de 15.8% en el sistema de blanqueo de β-caroteno; una solución de 1.2×10^{-5} M de ACG inhibe arriba del 80% de formación de peróxido de hidrogeno en un sistema de prueba de ácido linoleico (Zhang y Hamazu, 2004)

3.3.2. Propiedades quelantes y anticancerígenas

Algunos ácidos fenólicos, entre ellos, ACG y el ácido cafeico, muestran un efecto quelante sobre iones Fe^{2+} , sobre la inhibición de radicales pentil- y ácido octanoico formados en la mezcla de reacción de hidroperóxidos de ácido linoleico con iones Fe^{2+} . Los hidroperóxidos han mostrado ser extremadamente tóxicos al inyectarse en ratones (Iwahashi, 2000).

En un estudio se mostró que el ácido 3-cafeoilquinico y otros polifenoles son excelentes para capturar radicales libres nitrogenados y por ende, son buenos inhibidores de la reacción N-nitrosación. Dichos autores sugieren que los polifenoles pueden ser efectivos no solamente como protección contra el daño oxidativo sino también como inhibidor de la formación de potentes compuestos mutagénicos y carcinogénicos *N*-nitroso *in vivo* (Kono *et al.*, 1995).

3.3.3. Reducción del riesgo de Diabetes tipo II

Los ACG puede disminuir la absorción de carbohidratos en el cuerpo, por inhibición del transportador de glucosa; los ACG inhiben la actividad de la glucosa-6-fosfato translocasa, que hoy en día se considera que juega un papel importante en la absorción de glucosa (Mccarty, A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk, 2005, Nutraceutical resources for diabetes prevention-an update, 2005).

El café instantáneo, el cual contiene ACG, inhibe más del 50% la actividad de la 6-glucosa fosfatasa sobre una fracción microsomal de hepatocitos, donde la enzima se encuentra y el ACG no tiene entrada a la célula (Bassoli *et al.*, 2006). Además el café es buena fuente de magnesio el cual tiene efectos favorables sobre el metabolismo de la glucosa.

3.3.4 Efecto de ACG contra la acumulación de grasas

Tanto la cafeína como el ACG han mostrado una tendencia a reducir las grasas y ganancia de peso. En un estudio *in vivo* en donde se administró ACG (60 mg/kg*día), en forma oral, durante 13 días; se mostró una reducción de triglicéridos hepáticos en ratones. El extracto de granos de café (1%), el ácido neoclorogénico (0.055%) y una mezcla de ácidos feruloilquínicos (0.081%), suministrados durante 6 días, mejoró significativamente la actividad de la carnitina palmitoiltrasferasa hepática en ratones (Shimoda *et al.*, 2006).

3.3.5 Inmunoreguladores

Uno de los ACG, el ácido 3-cafeoilquínico, se ha reportado que activa la calcineurina e incrementa la habilidad de las funciones de los macrófagos. Este ACG activa significativamente la calcineurina a rangos de concentración de 2.25-1412.4 $\mu\text{mol/L}$, la máxima concentración de activación del ACG para calcineurina fue de 282.5 $\mu\text{mol/L}$.

La calcineurina, que es una fosfatasa calcio-dependiente, juega un papel importante sobre la regulación de la inmunidad a través de la activación de células T. Los macrófagos funcionan fundamentalmente en el sistema inmune, en donde se comportan como reguladores de homeostasis y como células de efecto sobre infecciones, curación de heridas y crecimiento de tumores (Wu *et al.*, 2004).

3.3.6 Propiedades antimicrobianas de los ACG

Diversos estudios han puesto de manifiesto la capacidad antimicrobiana de los ACG (Scholz *et al.*, 1994; Hongpattarakere y Johnson, 1999; Zhu *et al.*, 2004).

El café tiene un uso potencial como agente antibacteriano natural debido a la significativa cantidad de polifenoles que contiene, esta actividad ha sido mostrada sobre bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *S. faecalis*, *Bacillus subtilis*) y bacterias Gram negativas (*Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, y *Enterobacter cloacae*) (Almeida *et al.*, 2004).

Dentro de los componentes antimicrobianos del café se encuentran el ACG y la cafeína como lo demuestra Suárez-Quiroz *et al.* (2004) en su estudio, en donde observan que el ACG tiene poco efecto sobre la velocidad de crecimiento de *Aspergillus ochraceus*; mientras que un incremento en la concentración de cafeína disminuye notablemente el crecimiento. Sin

embargo, ambos componentes disminuyen la producción de Ocratoxina A (OTA).

3.4 Efecto del procesamiento sobre el contenido de ACG

Los ACG juegan un papel importante en la formación del sabor del café tostado y tienen una marcada influencia en la determinación de la calidad del café taza (Farah, A. *et al.*, 2006). Debido a su inestabilidad térmica, ACG puede ser casi completamente degradado a derivados de fenol cuando se somete a condiciones de tostado intensas. Durante tostado, parte de ACG se isomeriza, parte se transforma en lactonas debido a la deshidratación y formación de un enlace intramolecular (Figura 12), y parte se hidroliza y se degrada en compuestos de bajo peso molecular (Trugo, L C y Macrae, 1984; Trugo, L. C y Macrae, 1985; Clifford, 2000; Farah *et al.*, 2005). Los ACG también participan en la formación de material polimérico, como melanoidinas (Menezes, 1994, Steinhart y Luger, 1997). Las condiciones de tostado drásticas puede producir pérdidas de hasta un 95% de la ACG (Trugo, 1984), con 1% de materia seca se pierde el 10.8% (Clifford, 1999, 2000). El contenido total de CGA en rangos comerciales de café tostado de aproximadamente 0.5 a 7% (Tabla 3), dependiendo del tipo de tratamiento, el grado tostado, mezcla y condiciones de análisis.

En el esquema de la figura 12 propone las rutas posibles de la degradación de un ACG. Se observó que en tiempos de tostado menor; el contenido inicial de agua del grano de café verde es utilizado para reacciones de hidrólisis. Los ácidos dicafeoilquínicos (Ac. DiCQ) son hidrolizados produciendo ACG y ácido cafeico en mayor parte; el ACG en particular 5-cafeoilquínico (5-CQA) es el más reactivo debido a su mayor contenido en el grano de café verde interviene en las reacciones de esterificación. Al mismo tiempo el ácido cafeico es degradado en catecol y 4-etilcatecol. A temperaturas altas de tostado, la fracción fenólica es liberada y degradada; mientras que ácido quínico libre se observa una ligera degradación final.

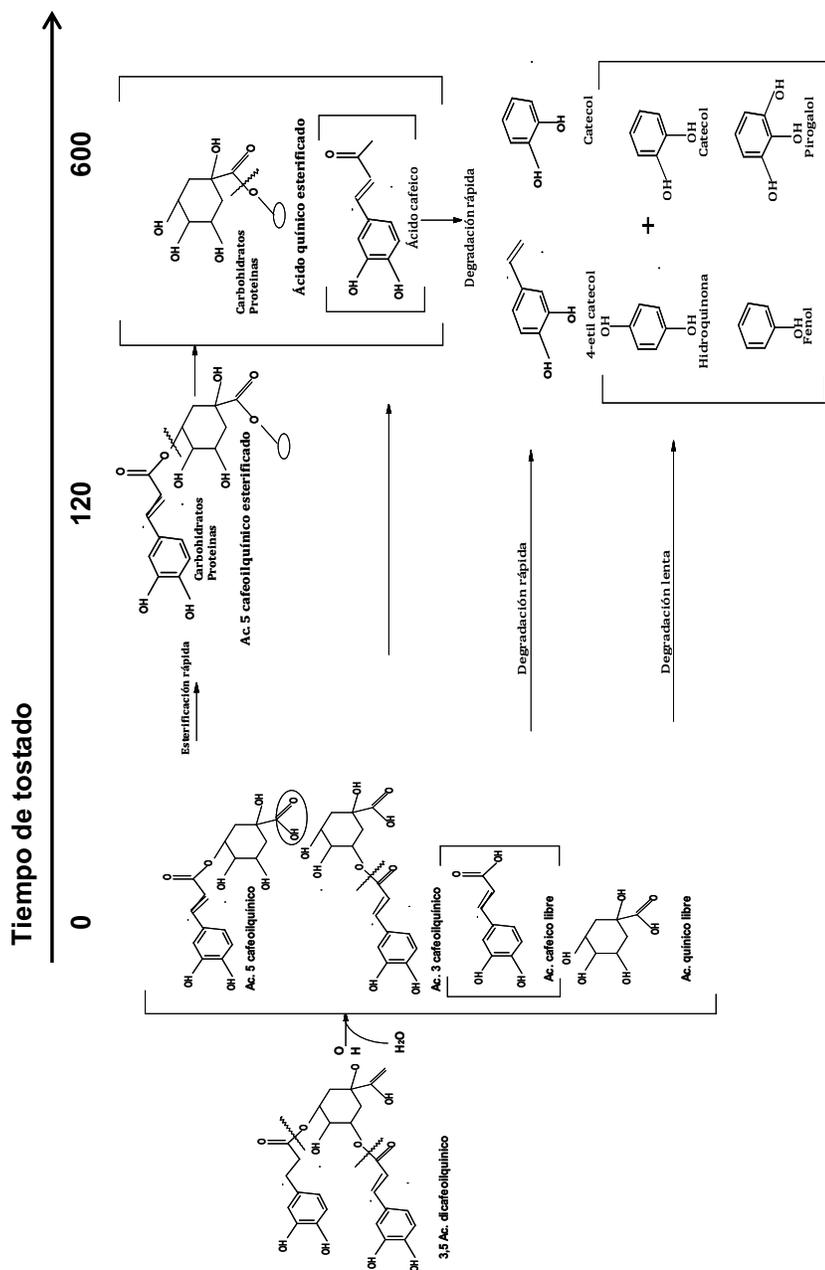


Figura 12. Mecanismo de degradación del ácido 3,5 dicafeoilquinico durante el proceso de tostado. Fuente: (Trugo, L. C y Macrae, 1985).

4. Impacto sensorial de los polifenoles

En bebidas como el té, sidra y vino tinto como también en varios tipos de frutas, nueces, chocolate, cereales como sorgo y mijo, el gusto amargo y la sensación de astringencia están dados principalmente por fenoles flavonoides, fundamentalmente flavanoles y flavonoles (Charlton *et al.*, 2002; Lesschaeve y Noble, 2005).

Los monómeros de flavanol [(+) catequina, (-) epicatequina, epigallocatequina, epicatequina galato y epigallocatequina galato] sus oligómeros y también polímeros, llamados procianidinas o taninos condensados son los más abundantes en vino tinto y té. Ambas procianidinas (polímeros de (-)epicatequina y (+)catequina) y prodelfinidinas (polímeros de epigallocatequina) han sido detectadas en uvas (Piretti *et al.*, 1976; Czochanska *et al.*, 1979). Con la excepción del amargor de la cafeína en té, los flavanoles son la principal fuente de amargor y astringencia en té y vino tinto (Piretti *et al.*, 1976; Czochanska *et al.*, 1979; Arnold *et al.*, 1980; Lee y Lawless, 1991; Zoecklein *et al.*, 2001; Vidal *et al.*, 2004).

Estos compuestos son inestables y por medio de diferentes reacciones químicas durante el envejecimiento de un vino dan como resultado cambios de color y sabor. Las variaciones en la composición de proantocianidinas, tales como el tamaño del polímero, grado de galoilacion y formación de derivados, afectan tanto a la astringencia como al amargor (Vidal *et al.*, 2002). Otros factores también influyen sobre estas sensaciones, como el pH, el nivel de etanol, dulzor (Lesschaeve y Noble, 2005) y viscosidad (Burns y Noble, 1985; Lesschaeve y Noble, 2005).

La astringencia de pequeños fenoles como los ácidos benzoicos sustituidos, de masas moleculares entre 122 y 170 son hipotéticamente el resultado de la precipitación, o de una fuerte unión, con proteínas debido a la presencia de dos o tres grupos hidroxilo los cuales quizás expliquen la astringencia de los monómeros de flavanol (Mc-Manus *et al.*, 1981).

La astringencia de diferentes proantocianidinas, degustadas a iguales concentraciones, se ve incrementada con el largo de la cadena o grado de polimerización. Evaluaciones de fracciones poliméricas de ácido tánico y

taninos han demostrado que a medida que el tamaño molecular se incrementa el amargor decrece, mientras la astringencia aumenta para el caso del vino (Lea y G.Arnold, 1978; Robichaud y Noble, 1990; Peleg *et al.*, 1999; Peleg y Noble, 1999).

La saliva producida por las glándulas salivares está formada por un grupo de proteínas constituidas de múltiples repeticiones de una secuencia inusual de aminoácidos que contienen una gran cantidad de prolina siendo al parecer su principal función la acomplejación de polifenoles formando complejos insolubles, previniendo su absorción e interacción con otros compuestos biológicos (Jöbstl *et al.*, 2004).

Thorngate (1993) sugiere que al aumentar la polimerización aumenta el número de lugares posibles de unión de puentes de hidrógeno entre las proteínas de la saliva y taninos, lo que supone aumenta la astringencia.

En la bebida de café de origen genérico; tanto los ácidos clorogénicos como la trigonelina, se han asociado con la formación de sabor y la producción de aroma en el proceso de tueste del café. Los ácidos clorogénicos tienen un sabor astringente, y su degradación en los cafés muy tostados proporciona tazas más suaves. Contribuyen también a la sensación de cuerpo de la taza, y proporcionan un sabor residual persistente y metálico (Astiasarán y Martínez, 2003). Definiendo así sensorialmente el atributo astringente en una taza de café como una sensación táctil, percibida vía mecanorreceptores (Martin y Jessel, 1991), descrita en términos sensoriales como: sequedad, dureza y arrugamiento de la cavidad bucal relacionada con la precipitación de las proteínas de la saliva, llevando a la pérdida de lubricación de la boca (Lyman y Green, 1990; Lee y Lawless, 1991; Martin y Jessel, 1991; Smith *et al.*, 1996; Vidal *et al.*, 2004).

La astringencia se percibe de manera diferente según variaciones en el flujo salivar de cada individuo, por lo cual la preferencia y aceptabilidad de un producto puede variar tremendamente entre personas. Los menores niveles de astringencia percibidos por sujetos con un alto flujo salival quizás sea reflejo de su mayor capacidad para restablecer la lubricación de la cavidad oral, dado su mayor volumen de producción de saliva (Lesschaeve y Noble, 2005).

JUSTIFICACION DEL PROBLEMA

El café orgánico se ha convertido en una alternativa de preferencia para los consumidores; debido a las consideraciones ambientales y beneficios a la salud; cabe mencionar que México ocupa el primer lugar en producción y exportación de café orgánico; la bebida de café es considerado como una fuente de sustancias bioquímicamente activas; entre las más importantes se encuentran los compuestos fenólicos como los ácidos clorogénicos (ACG). Se ha demostrado que la composición de ACG depende de factores tales como prácticas agrícolas, factores genéticos y origen geográfico, etc, y se les ha atribuido diversas funciones biológicas (antiinflamatorias, anticancerígenas, antioxidantes) y sensoriales (precursores de sabor) ya que influyen fuertemente en los principales indicadores de la calidad de café en taza. Dentro de los atributos poco estudiados se encuentra la astringencia sin embargo es un criterio de calidad de la bebida de café para el comercio internacional.

No se conoce el impacto sensorial de los ACG en la bebida de café bajo el esquema de producción orgánico; por lo que este trabajo de investigación permitiría determinar el papel que juega la interacción del atributo astringente sobre la concentración de ácidos clorogénicos presentes en la bebida de café orgánica y lo que aportaría los elementos científicos para validarlo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar el contenido de ácidos clorogénicos totales (ACG-T) en café orgánico y su impacto sobre el atributo astringencia en la bebida.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Comparar la calidad física del café verde orgánico de las especies *C. arabica* y *C. canephora* de los estados productores (Veracruz, Chiapas y Oaxaca).
2. Comparar el contenido de ACG-T en muestras de café verde bajo el esquema de producción orgánico de las especies *C.arabiga* y *C.canephora* de los estados productores (Veracruz, Chiapas y Oaxaca).
3. Determinar el contenido de ACG totales durante la transformación de café verde a café tostado.
4. Evaluar sensorialmente el atributo astringencia en la infusión de café orgánico de las muestras en estudio.

Capítulo II

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo constó de 4 etapas. En la figura 13 se muestra la metodología para el desarrollo de esta investigación.

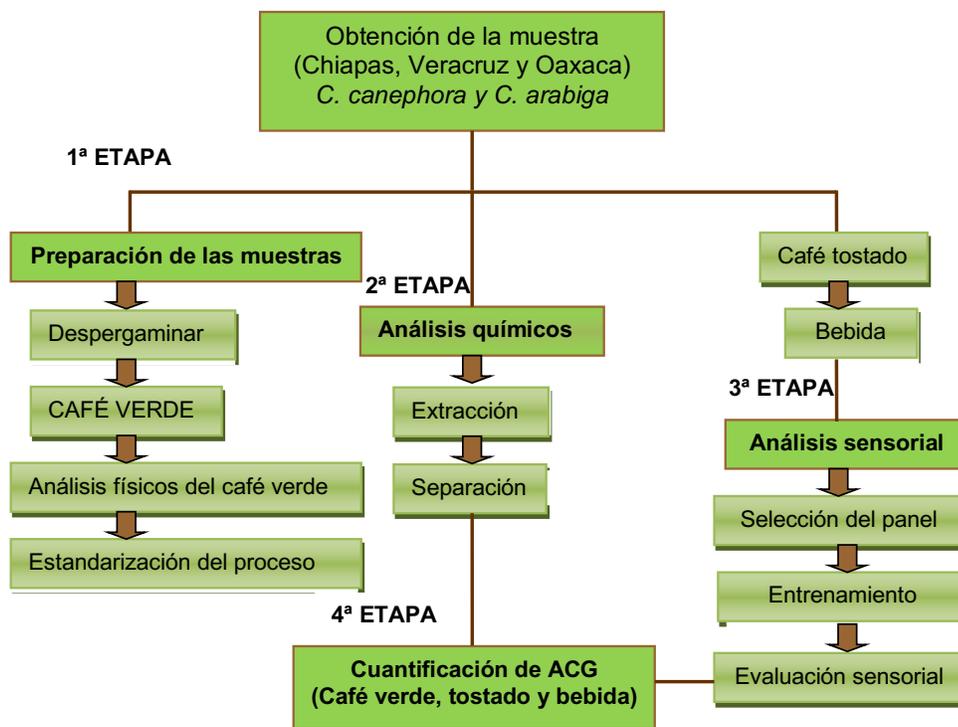


Figura 13. Diagrama general de la metodología

5.1 Materiales

El material y equipo utilizado para la cuantificación y cualificación del presente trabajo es el que describe a continuación.

5.1.1 Material biológico

Se utilizaron muestras de café pergamino de sistema de cultivo orgánico (*Coffea arabica* y *Coffea canephora*) provenientes de dos regiones productoras de los principales estados productores (Veracruz, Chiapas y Oaxaca), las muestras de café verde orgánico fueron facilitados por la comercializadora Agroindustrias Unidas de México S.A (AMSA), ubicada en Dos Ríos, Xalapa, Veracruz; las muestras fueron despergaminadas y almacenadas en bolsas de polietileno a temperatura ambiente.

El procedimiento fue realizado por duplicado y se codificaron de la siguiente manera:

Código	Muestra
COAVER	Café Orgánico <i>C. arabica</i> Veracruz
COACHIS	Café Orgánico <i>C. arabica</i> Chiapas
COAOAX	Café Orgánico <i>C. arabica</i> Oaxaca
COCVER	Café Orgánico <i>C. canephora</i> Veracruz
COCCHIS	Café Orgánico <i>C. canephora</i> Chiapas
COCOAX	Café Orgánico <i>C. canephora</i> Oaxaca

5.1.2. Equipo para la industrialización de café

Despergaminador

El despergaminador (PROMOR motor SIEMENS serie C04) como su nombre lo indica es el equipo utilizado para eliminar el pergamino del grano seco, conocido como café oro y trabaja por medio de fricción. El rendimiento de este equipo es de 50 g de café pergamino/min.



Figura 14. Despergaminador eléctrico

Zarandas

El análisis granulométrico del café verde se realizó en zarandas son bases de tela de alambre con soporte de madera, de 50 X 50 cm (Figura 15).



Figura 15. Torre de zarandas

Tostador

El equipo utilizado fue un tostador (MAQAFE serie T010-04) con capacidad de 5-10 kg de café verde por una carga con una producción de 30-40 kg/h, equipado con una tolva de carga, termómetro análogo, mirilla-puerta de acceso del café, saca muestras y sistema de enfriamiento y utilizando aire con paletas giratorias. Este equipo utiliza gas LP para su combustión (Figura 16). El equipo se encuentra ubicado dentro de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos de Instituto Tecnológico de Veracruz.



Figura 16. Tostador con capacidad de 10 kg

Molino

El equipo utilizado en este proceso fue un molino de discos eléctrico (PROMOR motor SIEMENS serie K04), con nueve niveles de graduación del (1-5 grueso, del 6-7 fino y de 8-9 extrafino). La capacidad de la tolva es de 1200 g con un rendimiento 0.5 kg/min, (Figura 17). El equipo se encuentra en el Laboratorio de Tecnología del Café de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos.



Figura 17. Molino eléctrico para café. Tipo 1RF3

5.1.3 Equipo para la extracción de ACG-T

Rotavapor

Rotavapor Buchi® con evaporador rotatorio de baño de agua BUCHI. B-419.



Figura 18. Equipo para extracción. Rotavapor® (Buchi R-210)

Baño de ultrasonido

Equipo para incubar y disolver en la etapa de extracción; capacidad de 2.8 L y 115 V. Modelo 2510.



Figura 19. Baño de ultrasonido BRANSON®.

5.1.4 Equipo para el análisis químico

Espectrofotómetro

Espectrofotómetro de UV-VIS. Shimadzu Scientific. Modelo UV1201.



Figura 20. Espectrofotómetro de luz ultravioleta visible

Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución. Modelo Agilent 1100
Alemania.



Figura 21. Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución

5.1.5 Material para el análisis sensorial

a) Lugar de trabajo

Las pruebas de evaluación sensorial se realizaron en el Laboratorio de Evaluación Sensorial del Instituto Tecnológico de Veracruz el cual se

5. Materiales y métodos

encuentra comprendido por un área de preparación y área de prueba, separadas la una de la otra. Los panelistas no deben entrar al área de preparación para evitar influencias en la evaluación. Generalmente, en el área de prueba, los panelistas se ubican en seis cabinas individuales que de acuerdo con la facilidad, pueden ser divisiones a lo largo de la pared, comunicadas por una ventanilla con el área de preparación, permitiendo el paso de las muestras del área de preparación a la de prueba. Se exige al panelista no fumar, evitar perfumes y cosméticos con olores porque influyen en la prueba. Entre prueba y prueba, el panelista debe hacerse un enjuague bucal; por lo tanto, la luz del área de prueba es uniforme, con el fin de que no influya la apariencia del producto.

En esta etapa se seleccionó a las personas que desempeñaron el papel de jueces entrenados. Para lograrlo, primeramente se realizó una preselección y posteriormente la selección y entrenamiento de los jueces durante el periodo de mayo-septiembre del año 2011.

b) Utensilios

Los utensilios utilizados en la preparación de las muestras de café fueron las siguientes: cafeteras tipo pistón de 1.5 L (Bodum), recipientes con termostato de 1.5 L (T-fal ®), balanza analítica (OHAUS), termómetro y cronómetro.

c) Reactivos

Los reactivos utilizados en la preparación del panel de evaluación sensorial fueron los siguientes: cloruro de Sodio (J.T. Baker), sacarosa (J.T Baker), ácido cítrico (J. T. Baker), cafeína (Pfizer), alúmina de potasio y magnesio (Sigma-Aldrich).

5.2 Métodos

A las muestras de café verde obtenidas después del despergaminado se les realizaron pruebas físicas para determinar su calidad.

5.2.1 Determinación de la calidad física en café verde

a) Análisis de defectos físicos

Las 6 muestras de café verde obtenidas en los sistemas de producción orgánico de los Estados de Veracruz, Chiapas y Oaxaca en estudio se evaluó el número de defecto físicos y se realiza siguiendo la norma ISO-4149-2005.

Para efectuar este análisis se realizó la técnica de cuarteo, esto consistió en expandir el lote de café (10 kg) sobre la superficie horizontal y dividir la muestra en cuatro partes iguales, esta operación se repitió hasta obtener una submuestra de aproximadamente 400 g de café pergamino (Figura 22) (González-Ríos *et al.*, 2004; Gálvez-Ponce, 2007).



Figura 22. Método de cuarteo

Posteriormente se eliminó el pergamino utilizando un despergamador eléctrico (Figura 14) obteniendo café verde. A continuación se pesaron 300 g de café verde y se prosiguió a contar granos que presentaban defectos genéticos (café triángulo, café concha o elefante y café caracol); granos defectos agronómicos (café brocado y dañado por frío) y café con defectos debido al beneficio. Al número de cafés defectuosos se les multiplicó por un coeficiente asignado al tipo de defecto (ISO 10470:2004(E)).

b) Análisis granulométrico

El análisis granulométrico tiene como objetivo determinar el tamaño del café verde se siguió el método de la Norma ISO 4150:1991(E). Se depositó el café verde (30 kg) sobre una mesa y se dividió la muestra en cuatro partes iguales; enseguida se separó una parte para dividirla otra vez en cuatro partes iguales. Esta operación se repitió hasta obtener una submuestra de aproximadamente 300 g de café verde; se pesaron 300 g de café verde de cada tratamiento y se procedió al despergaminado; estas muestras se hicieron pasar por cribas de diferentes diámetros que van desde 18/64 in (7.10 mm) hasta 13/64 in (5 mm) (Figura 15). Los granos retenidos en cada criba se pesan y los resultados son expresados en peso y porcentaje de café verde retenido. El análisis se realizó para las 6 muestras de café verde.

La fórmula para calcular el porcentaje de granos retenidos en cada criba fue:

$$\% \text{ retenido de la criba} = C/n * 100$$

Donde C: peso en gramos retenido en cada criba

n: muestra utilizada de 300g

La tabla utilizada para reportar los resultados se muestra en el (Apéndice I).

Determinación de pérdida de masa en café verde.

La determinación de pérdida de masa se realizó en el grano verde, se pesó 10 g de muestra de cada especie y estado para cada determinación; se realizó a 105°C durante 16 h por duplicado para cada tratamiento (ISO 6673:2003(E)).

5.2.2 Estandarización de tostado de café

El beneficio seco tiene por objetivo homogenizar los granos de café para el proceso de tostado. En esta etapa el café es despergaminado y cribado, eliminando los granos defectuosos y los granos pequeños y libre de defectos (ISO 10470:2004(E), es decir, se eliminaron los granos de café inferiores a la criba 16/64 y únicamente se tostaron los granos correspondientes a las cribas 18/64 in (7.10 mm) y 16/64 in (6.3 mm).

Se realizó un tipo de tostado en término medio (Tabla 7). Se utilizó un tostador de tambor rotatorio (Figura 16) el cual se calentó previamente hasta alcanzar una temperatura de 250°C. La estandarización se logró monitoreando el tiempo de tostado, la temperatura del café, el aumento de volumen y corroborando estos datos con una escala visual AGTRON generada por la SCAA “Specialty Coffee Assosiation of American” obteniéndose 6 muestras de café tostado que se empaquetaron en bolsas de plástico (Ziploc®) y se almacenaron a -20°C hasta su utilización.

Con la finalidad de no alterar la evaluación sensorial de los diferentes tratamientos se estandarizó el proceso de tostado para un tostado medio ya que permite un balance entre el sabor y aroma y es el término por preferencia comercial en México. Se ha reportado que cambios en los procesos de post-cosecha proporcionan cambios en el sabor de la infusión (González-Ríos *et al.*, 2007).

Para la estandarización del proceso de tostado se trataron de controlar las condiciones de tostado de café para 2 kg de café verde; la temperatura inicial dentro del tostador fue de 250°C. Posteriormente, el café tostado se almacenó a -20°C hasta su evaluación. El tostado medio se caracterizó por una pérdida de peso de 14.6% y un aumento de volumen de 68.7% para el café orgánico arábica; y para el café orgánico robusta una pérdida de peso de 14.2% y un aumento de volumen de 66.2% (Tabla 7). Se observó que el tostado fue homogéneo debido al control del mismo y sobre todo porque no se encontraron granos vanos en el análisis de defectos.

5. Materiales y métodos

Cabe mencionar que los tres tostados para café arábica y los tres tostados para café robusta obtenidos se estandarizaron en estas condiciones; con esto se aseguró el proceso de tostado no influenciara en la evaluación sensorial de la bebida, las condiciones de temperatura y tiempo tiene un gran impacto sobre las propiedades estructurales del grano del café y como consecuencia en el sabor final de la bebida aun cuando se trate de un mismo grado de tostado.

Con respecto al tiempo de tostado, éste varió debido al contenido de humedad del café. El contenido de humedad para la muestras de café verde de la especie *C. arabica* de la región de Veracruz fue de 7.9%, Chiapas de 8.6% y la región de Oaxaca fue de 8.9%. Por lo tanto se observó un ligero aumento en el tiempo de tostado en las tres regiones.

Se utilizó una escala visual de acuerdo al color del tostado “The Agrtron classification System” (SCAA) N°55 correspondiente a un tostado medio.

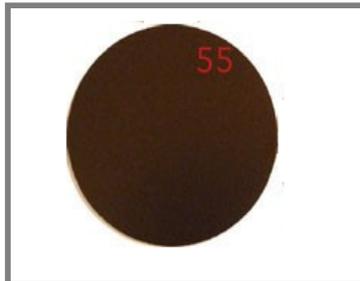


Figura 23. Escala visual Agtron (SCAA)

Tabla 8. Condiciones para la estandarización del tostado medio en café orgánico arábica

	Región Veracruz (1250msnm)	Región Chiapas (580msnm)	Región Oaxaca (1480msnm)
Tostado	Medio	Medio	Medio
Pérdida de peso (%)	14.8 ± 0.1	14.5 ± 0.3	14.5 ± 0.2
Temperatura de salida (°C)	230 ± 0.5	231 ± 0.5	231 ± 0.5
Tiempo (min)	12 50"	12 52"	12 55"
Aumento de volumen (%)	68.77 ± 0.1	69.03 ± 0.4	68.57 ± 0.2

Para la cinética de tostado del café verde orgánico de la especie *C. canephora* éste varió debido al contenido de humedad del café. El contenido de humedad para la muestra de la región de Veracruz fue de 9.7%; la muestra de la región de Chiapas de 8.9% y la muestra de la región de Oaxaca fue de 9.8%. Por lo tanto con respecto a los tiempos de tostado del café arábica se observan tiempos más prolongados debido al menor contenido de humedad que presenta el grano robusta.

5.2.3 Molienda de café tostado

La molienda del café tostado se debe realizar en el momento de la preparación de la bebida, de lo contrario las características sensoriales del café pueden verse afectada; se llevó a cabo de acuerdo al tamaño de partícula (Gálvez-Ponce, 2007).

5.2.4 Método para el análisis sensorial

a) Preparación de la bebida

La infusión es la bebida de café que va a ser degustada. La infusión se preparó de 50 g de café/L de agua, las muestras fueron pesadas en una balanza analítica (OHAUS). Una vez pesadas las muestras fueron vertidas en cafeteras tipo pistón de 1.5 L (Bodum). Posteriormente se calentó agua en recipientes con termostato de 1.5 L (T-Fal®) a 95°C, una vez alcanzado la temperatura fue vertida en las cafeteras. El tiempo de contacto del café molido con el agua fue de 5 min (González-Ríos *et al.*, 2004).

El agua para preparar el café debe estar libre de cloro, sabores extraños, con grado de dureza media y pH neutro (ISO 3996:1987) es importante mencionar que el agua utilizada no debe hervir; ya que esto originaría la concentración de sus sales originando sabores ásperos en la bebida, una opción segura es el empleo de agua embotellada, el agua que se utilizó fue el agua embotellada Santa María®, cumpliendo con las especificaciones por lo que fue utilizada.

b) Invitación

Se invitó a la población estudiantil de la Licenciatura del Instituto Tecnológico de Veracruz a participar en la evaluación de café. Los candidatos fueron informados sobre el trabajo de tesis, la importancia de la evaluación sensorial y aplicación en el área de alimentos, y sobre todo en la evaluación sensorial del café.

c) Preselección

En la preselección primeramente se invitó a los estudiantes de Licenciatura del Instituto Tecnológico de Veracruz a participar en este trabajo de investigación y posteriormente se aplicó un cuestionario a cada aspirante.

d) Cuestionario

La preselección se llevó a cabo mediante la aplicación de un cuestionario sobre hábitos de consumo, estado de salud, existencia de restricciones alimenticias y disponibilidad de tiempo (Apéndice II); el grupo de precandidatos estuvo conformado de 30 personas, 18 hombres y 11 mujeres entre 20 a 30 años.

e) Selección del panel

Los candidatos fueron citados en una sesión diaria de evaluación, de lunes a viernes. Los candidatos participaron en cuatro pruebas sensoriales: Identificación de sabores, identificación de olores, ordenación de sabores y prueba triangular para el análisis secuencial.

f) Prueba de identificación de sabores

El objetivo de la prueba fue conocer la capacidad de los candidatos a identificar los cuatro sabores principales: salado, dulce, ácido y amargo. Las soluciones típicas para cada sabor se prepararon a las concentraciones descritas en la tabla:

Tabla 9. Concentraciones utilizadas en la prueba de identificación de sabores

Sabor común	Sustancia referencia	Concentración (g/L)
Ácido	Ácido Cítrico (Sigma-Aldrich)	0.04% (0.0020 M)
Amargo	Cafeína (Merck)	0.05 % (0.0025 M)
Salado	Cloruro de sodio (NaCl) (Sigma-Aldrich)	0.07% (0.0119 M)
Dulce	Sacarosa (Merck)	1% (0.0292 M)
Simple	Agua	Agua Santa Maria®

Fuente: (ASTM; 1981; López y Montesinos, 1999; O'Mahony, 1985)

El agua que se utilizó para la preparación de las soluciones y enjuague de bocas fue agua purificada. Las soluciones se presentaron en vasos de plástico desechables del número 0, previamente codificados con números de tres dígitos. Enseguida, los candidatos recibieron el formato el cual llenaron que posteriormente fue evaluado. Los precandidatos que identificaron los cuatro sabores básicos, es decir, el 100% fueron seleccionados para continuar con la siguiente prueba los demás se descartaron (ASTM, 1981).

g) Prueba de identificación de olores

Esta prueba se les aplicó únicamente a los candidatos que aprobaron la prueba anterior con el 100% de aciertos; teniendo como objetivo evaluar la capacidad de los candidatos para identificar olores, únicamente con el sentido del olfato y de algunas especies y de algunos productos comunes y conocidos como: ajo, alcohol, canela, cebolla, chocolate, clavo, pimienta, yogurt, vainilla y café. Las muestras (ajo y cebolla) fueron finamente picadas para facilitar su empleo. Los olores fueron codificados con número de tres dígitos y ordenados de manera aleatoria en frascos pequeños de color ámbar. Las evaluaciones se realizaron en ciego para evitar alterar la prueba y se les presentaron las sustancias y este indicaba a cual aroma correspondía y el candidato expresaba la respuesta verbalmente. El criterio de selección fue que el

panelista obtuviera un número de aciertos igual o mayor del 75% (ASTM, 1981).

h) Reconocimiento de estándares

Se presentaron estándares astringentes en solución acuosa y bebida de café, con el fin de dar a conocer y familiarizar a los evaluadores con las sensaciones de astringencia. Para el reconocimiento la sensación de astringencia se utilizó alumbre de potasio en concentraciones de 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 y 1.5 g/L en agua y bebida de café. Los evaluadores pudieron comparar las diferencias en sesión abierta y comentar sus impresiones.

i) Prueba de ordenación de sabores

A los candidatos que reconocieron de olores con un porcentaje mayor o igual al 75% de aciertos se les aplicó esta prueba.

Esta prueba consistió en ordenar las intensidades del atributo amargor y astringencia como parámetros característicos de la investigación con el Método de Ranking (Amerine et al., 1965). Las muestras evaluar fueron preparadas utilizando compuestos en distintas concentraciones que permite mejorar la capacidad de los evaluadores de reconocer intensidades y por lo tanto desarrolla la habilidad de jerarquizar según la característica dada. Este método consiste en ordenar seis muestras, de menor a mayor intensidad en orden aleatorio. (Tabla 9), las soluciones preparadas se colocaron en vasos desechables del número 0, previamente codificados en donde fueron colocadas las sustancias con diferentes concentraciones. El criterio de selección para continuar fue que obtuvieran un máximo de aciertos mayor o igual al 75%.

Tabla 10. Concentraciones utilizadas en la prueba de ordenación

Sabor común	Estimulo químico	Concentración (%)
Astringente	Alúmina de potasio (Sigma-Aldrich)	0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8 g/L y agua Santa María®

Fuente: (ASTM, 1981; López y Montesinos, 1999)

j) Prueba para la selección del panel

➤ Prueba triangular y análisis secuencial

La prueba triangular se aplicó a los candidatos que tuvieron éxito en las pruebas de identificación de sabores, identificación de olores y ordenación de sabores.

La degustación se efectuó según el método de la prueba triangular en base a la norma ISO 4120-1983.

La prueba triangular tiene como objetivo determinar si existe diferencia sensorial perceptible entre dos muestras, comparando tres a la vez, de las cuales dos son iguales entre sí y la otra diferente. La prueba triangular requiere que se presenten a los jueces tres muestras codificadas empleando las siguientes combinaciones: AAB, ABA, ABB, BBA, BAB, BAA. Estas series no necesariamente tiene que presentarse en una misma sesión; todo depende de la naturaleza del atributo a evaluar. La misma letra indica muestra iguales.

Esta prueba, al igual que las demás de diferenciación, requiere que el atributo motivo de evaluación sensorial sea la única causa de variabilidad. Pero en otros casos puede desconocerse la variable sensorial, por lo que simplemente esta prueba permitiría detectar si existe o no diferencia entre las muestras, sin saber en cual atributo.

Como primer paso se preparó la bebida (ver preparación de la bebida), inmediatamente fue invertido en tazas de porcelana, previamente codificadas con números de tres dígitos. Se utilizaron cuatro protocolos, cada uno de los

cuales contenía diferentes combinaciones de las tres muestras (Apéndice VII). La temperatura a la que se sirvió la bebida fue de $55 \pm 2^\circ\text{C}$.

Posteriormente, las muestras de café así como el formato de respuestas (Apéndice VI), se presentaron a los candidatos; el cual detectaban la muestra que era diferente. En una sesión se realizaron dos evaluaciones por candidato, es decir, se le presentaron en total seis muestras de café (tres de cada evaluación).

➤ **Presentación de muestra**

Las muestras presentadas a cada uno de los candidatos fueron en apariencia iguales, es decir, que las tres muestras eran servidas en una taza igual la misma temperatura y con la misma cantidad de café.

Con los datos obtenidos de la prueba triangular se llevó a cabo un análisis secuencial para cada uno de los candidatos a jueces. Se construyó una gráfica para demostrar la habilidad discriminatoria lo cual reflejó su capacidad de percepción, obteniendo 7 jueces que integraron el panel de catado que se encontraban en el límite de aceptación (Pedrero y Pangborn, 1989). El número de sesiones que se realizaron fueron ocho.

k) Entrenamiento y Evaluación Sensorial de la bebida.

El panel de catado quedó conformado por 7 personas (6 hombres y 1 mujer) con un rango de edad de 20-30 años.

Entrenamiento en el atributo astringencia

1) Test pareado 2-AFC (Comparación por pares)

El objetivo de esta prueba fue determinar si existía diferencia significativa entre las tres muestras de la bebida de café del mismo tostado (medio) de tres estados en estudio. Esto se realizó comprando por pares las muestras detectando mayor astringencia dentro de cada par.

5. Materiales y métodos

La prueba consistió en presentar a cada juez tres pares de café, en tazas de porcelana previamente aleatorizadas y codificadas con números de tres dígitos, utilizando diferentes protocolos (Apéndice VIII) y se solicita determinar si son iguales o diferentes. Se evaluaron 18 pares de muestras distribuidas en seis sesiones para cada juez; considerando que un evaluador discrimina significativamente cuando tiene un porcentaje de respuestas correctas igual o superior a 50% (UNE, 1995).



Figura 24. Presentación de muestras. Prueba 2 AFC

Las muestras evaluadas fueron preparadas (Ver preparación de la bebida) y presentadas en las mismas condiciones (temperatura, cantidad y apariencia). Cada ensayo se realizó por triplicado.

2) Prueba de intensidad (escala estructurada de 11 puntos)

Con el objetivo de evaluar la discriminación (capacidad de diferenciar entre muestras) y la repetibilidad (determinar si sus respuestas eran constantes en el tiempo) de los evaluadores, se analizaron los parámetros de astringencia en una prueba estructurada con una escala de 10 centímetros en 11 puntos (0-10) (Apéndice X), para la alúmina de potasio en agua y café con tres repeticiones; en dos sesiones para cada muestra, en días diferentes. La concentración utilizada para la alúmina de potasio en agua y café es 0, 0.2, 0.3, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/L.

5.2.5 Método para el análisis químico

➤ **Materia prima**

Para este trabajo en la etapa analítica se utilizaron muestras de café verde, tostado y bebida; se procedió a realizar el proceso de extracción para las muestras en café verde y tostado.

➤ **Método para la extracción de ACG-T**

a) Preparación de las muestras

Café verde; después del proceso de despergaminado y obtener el grano verde; se procedió a congelar a -20°C y se tamizó a un tamaño de partícula 0.5 mm.

Café tostado; tras el proceso de la estandarización de tostado; se procedió a congelar a -20°C y se tamizó a un tamaño de partícula 0.5 mm.

b) Extracción de Polifenoles del café

Se realizó en granos de café verde y tostado en un cuarto con temperatura controlada y poca presencia de luz, se llevó a cabo el molido de 20 g de café verde hasta obtener un molido similar al comercial y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 500 mL que contenía 250 mL de acetona, agua acidificada 1% (ácido acético) y metanol en volúmenes de 50-35-15 (% v/v) respectivamente durante 20 min, posteriormente se sometió a extracción en un baño ultrasónico por 30 min, con cama de hielo. El extracto se filtró en filtros de café y filtro milipore (tamaño de poro de $0.45\ \mu$) para ser evaporado en un Rotavapor® (Buchi R-210) con baño maría a una temperatura de 37°C , hasta sequedad. El volumen restante se recuperó con 30 mL de agua acidificada al (1% ácido acético). El extracto polifenólico se colocó en un frasco ámbar y se almacenó en refrigeración para su conservación y posterior análisis.

c) Extracción líquido – líquido

Para llevar a cabo la extracción líquido-líquido con hexano el extracto se recuperó con agua acidificada al 1% o previamente evaporado.

La muestra se colocó en un embudo de separación de 250 mL (PYREX®) con 20 mL de hexano, se agitó suavemente liberando la presión producida. Se recuperó la fase orgánica (café) y se realizó dos veces más la extracción líquido-líquido. Tanto la fase orgánica (café) como la fase inorgánica (hexano) se evaporaron en un Rotavapor con baño maría a una temperatura de 37°C hasta sequedad. Se recuperaron con 20 mL de agua/metanol 1% de ácido fórmico. Finalmente se almacenó y se refrigeró para su conservación y posterior análisis. Método modificado de (Loredo *et al.*, 2008).



Figura 25. Extracción líquido-líquido

➤ **Cuantificación de Polifenoles Totales**

Se realizaron en las muestras del extracto café orgánico de dos variedades *C. arabica* y *C. canephora* (verde, tostado y bebida) de las zonas productoras de café de Veracruz, Oaxaca y Chiapas se cuantificó por el método de Folin-Ciocalteu, las soluciones utilizadas fueron las siguientes:

*Solución madre de ácido gálico. Se colocó 0.01 g de ácido gálico en un matraz volumétrico con capacidad de 10 mL y se completó con agua

acidificada (1% v/v ácido acético glacial) hasta la marca del aforo, para obtener así una concentración de 1000 ppm.

*Estándares de ácido gálico. A partir de la solución madre de ácido gálico (JT Baker, USA) se tomaron 1, 2, 3 y 4 mL, aforados a 100 mL con agua acidificada (1% v/v ácido acético glacial), para preparar los estándares de, 100, 200, 300 y 400 ppm.

*Carbonato de sodio al 0.5%. Se pesaron 5 g de Na_2CO_3 anhidro (Faga Lab, México) y se aforaron a un volumen de 100 mL con agua destilada.

*Extracto. Se tomaron 200 μL del extracto café completando un volumen de 2 mL utilizando agua acidificada (1% v/v ácido acético glacial). Se realizó la misma metodología para la cuantificación de las fases orgánica (AE), 50 μL acuosa (AC) y 50 μL bebida (B).

- **Método Folin-Ciocalteu**

En tubos de ensaye conteniendo 3 mL de agua destilada, se añadieron 50 μL de cada uno de los estándares, así como también 50 μL de la solución del extracto, luego se añadieron 200 μL del reactivo de Folin-ciocalteu's reactivo fenol , 2N (SIGMA-ALDRICH, Alemania) y se dejó reaccionar por 10 min a temperatura ambiente, después se añadieron 600 μL de Na_2CO_3 al 0.5%, luego se llevaron los tubos a la incubadora (SHEL LAB, E.U.A) a 40°C por 10 min, se realizó por triplicado. Al paso de este tiempo se enfriaron en un baño con hielo hasta llegar a la temperatura ambiente por 10 min, posteriormente se colocaron en celdas de plástico, se tomó la lectura de absorbancia y concentración en el espectrofotómetro (Perkin Elmer, Lambda 25, E.U.A), a una longitud de onda de 755nm. Primero se tomó la lectura de los estándares de ácido gálico para obtener la curva de calibración y después las celdas con la solución del extracto para obtener la concentración de polifenoles totales existente en el extracto (Singleton *et al.*, 1999).

➤ **Caracterización de polifenoles por HPLC**

La caracterización por HPLC para el extracto se realizó bajo las siguientes condiciones:

Flujo de 0.4 mL/min, temperatura de la columna 30°C; volumen de inyección: 20 µL y la columna utilizada Zorbax SB-C₁₈ (3.0 X 250 mm I.D con diámetro de partícula de 5 µm (E.U.A).

Como fase móvil se utilizó un gradiente de disolventes: B, agua acidificada (0.5% V/V de ácido fórmico) y C, metanol grado HPLC (Merck, Alemania).

El gradiente utilizado se muestra en el siguiente cuadro.

Tabla 11. Gradiente de disolventes para la separación de polifenoles por HPLC

TIEMPO	%B	%C
0.00	90.00	10.0
7.00	85.00	15.0
23.00	70.00	30.0
30.00	60.00	40.0
45.00	40.00	60.0
50.00	20.00	80.0
55.00	0.0	100.0
60.00	0.0	100.0
65.00	90.0	10.0

El extracto se filtró con filtros de 0.22 µm (Millipore, Irlanda) y se colocó en viales de 1 mL (SUPLECO, E.U.A), antes de su inyección. Posterior a la

inyección y transcurridos los 65 min se analizaron los cromatogramas obtenidos a 280, 320, 360 y 520nm como resultado del barrido espectral.

- **Curva de calibración de polifenoles por HPLC**

Se preparó una solución madre del estándar del compuesto fenólico a calibrar, con 1 mg/mL aforada con agua y ácido fórmico (99:1 V/V) para elaborar estándares de 0.03, 0.05, 0.1 y 0.25 mg/mL, los cuales se filtraron e inyectaron a las mismas condiciones mencionadas con anterioridad. Después de la inyección se realizaron la curva de calibración graficando los valores del área de pico en función a la concentración.

5.2.6 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos que se aplicaron a los datos fueron los siguientes:

Análisis de Multivariado (MANCOVA) se utilizó para el análisis de los datos obtenidos de las concentraciones de ACG-T (café verde, tostado y bebida) y análisis sensorial (escala de intensidad astringencia) utilizando para ello el software estadístico SPSS®.

Capítulo III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Calidad física del café verde orgánico

La calidad del café es el resultado de un conjunto de procesos que permiten la expresión, desarrollo y conservación de las características físicas propias del café hasta el momento de su transformación. Se encuentra relacionada con diversos factores tales como la forma, tamaño, color, humedad, densidad, rendimiento y así como por la presencia de compuestos defectuosos propios del café y componentes extraños como palos y piedras (Cantú y Mushinskie, 2004).

Los principales factores que determinan la calidad del café son los siguientes: la altitud de la zona de cultivo, la composición del suelo y su fertilidad, la cantidad de lluvia y su distribución, la temperatura ambiental, el deficiente manejo agronómico (siembra, podas, fertilización, deshierbas y regulación de sombra) y el inapropiado control de los problemas fitosanitarios, impiden la obtención de altos rendimientos por unidad de superficie y afectan la calidad física del café verde. El incorrecto proceso post-cosecha, que incluye la cosecha de café inmaduro, la no calibración de los equipos y una manipulación inapropiada, contribuyen a elevar la proporción de defectos físicos del café; cabe mencionar que de la calidad física del café verde se varía de acuerdo a la especie, origen geográfico y sistema de cultivo.

Las empresas importadoras establecen los acuerdos de compra-venta, según sus requerimientos de calidad física y sensorial no existiendo información sobre la calidad física del café verde de origen orgánico (ANACAFE, 1998).

Por lo que en este trabajo de investigación se consideró necesario evaluar la calidad física del grano de café verde orgánico para evitar que los granos defectuosos causaran impacto en la composición química del grano y en la evaluación sensorial; así como también se propone un perfil de calidad físico de las principales zonas productoras de café orgánico a nivel nacional.

6.1.1 Número de defectos

Se determinó el número de defectos de las muestras de *C. arabica* obtenido de las 3 regiones de estudio de acuerdo a la norma ISO-4149-2005 (Figura 27), encontrando que el promedio osciló entre 6 y 15 defectos. La región de Veracruz presentó el mayor número de defectos (15), en comparación con las otras dos regiones, sin embargo en general todas las muestras presentaron una buena calidad del café verde ya que el número de defectos encontrados son menores al rango aceptado de acuerdo a la SCAA “Specialty Coffee American Association” (23 defectos como máximo). La mayoría de estos defectos encontrados en las regiones de estudio correspondieron a granos rotos y granos en concha (caracol). Los granos rotos se encuentran asociados al mal manejo de las despulpadoras y al inadecuado proceso de morteadado (Gálvez-Ponce, 2001).

Los granos concha o caracol son irregularidades en la forma del grano como y son independientes de los tratamientos ya que corresponden a los defectos genéticos de la unión de dos pústulas deformes (ISO 10470:2004). Los granos en forma de concha tuestan de manera regular en la presencia de granos normales, y no tienen ningún efecto significativo sobre la calidad en taza.

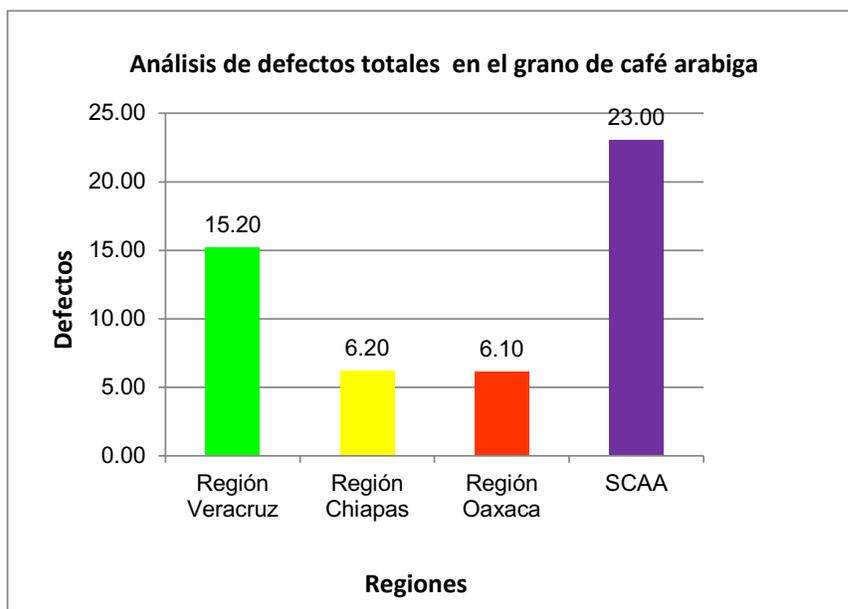


Figura 26. Comparación del promedio de defectos físicos de café verde *C. arabica* de las regiones de Chiapas, Veracruz y Oaxaca, con respecto al estándar para café verde de la SCAA

Así mismo, se determinó el número de defectos en las muestras de *C. canephora* obtenidas de las diferentes regiones (Figura 28), cabe mencionar que no existe una normatividad para determinar la calidad física de los cafés robusta, sin embargo se utilizó la misma tabla de ponderación para el *C. arabica*, encontrando que el promedio de defectos osciló entre 20 y 24; la mayoría de estos defectos encontrados fueron granos rotos y grano caracolillo, los primeros han sido asociados con malas prácticas durante el proceso postcosecha y los últimos están relacionados a irregularidades en la forma del grano debido a defectos genéticos o de cultivo (ISO 10470:2004).

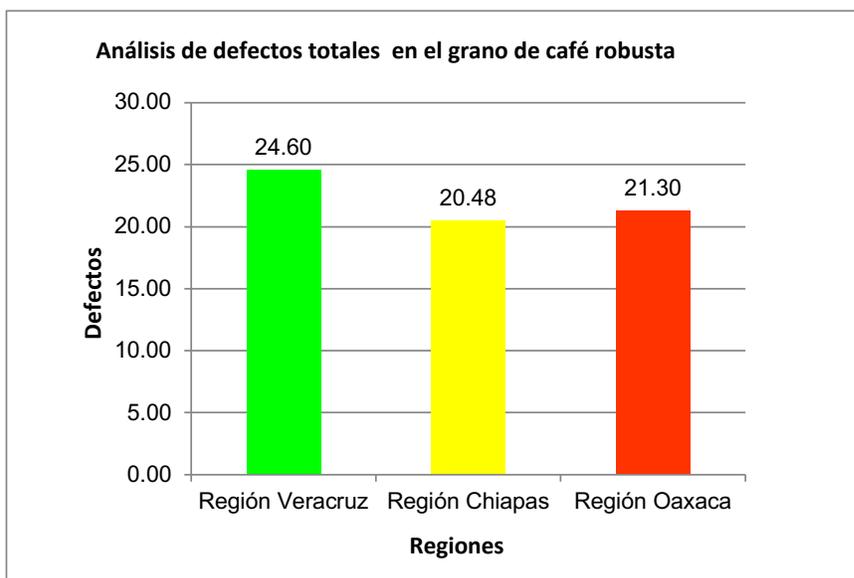


Figura 27. Comparación del promedio de defectos físicos de café verde *C. canephora* de las diferentes regiones: Chiapas, Veracruz y Oaxaca

Comparando el análisis de defectos físicos entre ambas especies y regiones de estudio podemos concluir que el café orgánico cultivado en el estado de Veracruz presenta el mayor daño físico, lo que indica que en este estado se tiene deficiencias en el beneficiado en comparación con las regiones en estudio.

6.1.2 Distribución de tamaño del café orgánico

El tamaño de los granos de café es otro parámetro para determinar su calidad, en la figura 29 se presentan los resultados del análisis granulométrico de las muestras de *C. arabica* de las regiones estudiadas, los resultados muestran que entre el 87-90% de granos fueron retenidos en la criba 18/64 in (7.10 mm). Estos valores sumados al resultado del número de defectos ubicaron a todas las muestras de café estudiadas dentro de la clasificación de

6. Resultados y discusión

Extra Prima Lavado Mexicano (Cantú y Mushinskie, 2004). La homogeneidad del tamaño del grano es un factor de calidad deseable por los industriales ya que facilita un tostado homogéneo, sin embargo el tamaño también es un factor de calidad ya que se han asociado a los granos de tamaño grande con cafés que han sido cultivados en su estado óptimo de maduración.

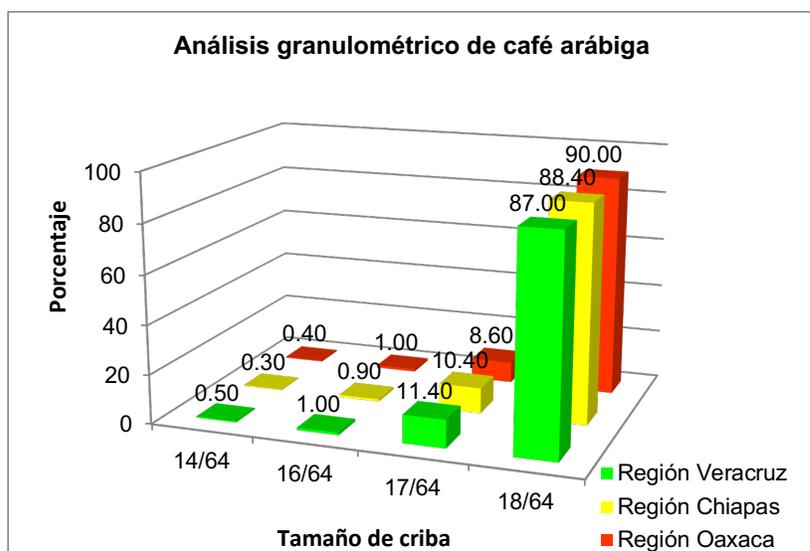


Figura 28. Análisis granulométrico del café verde *C. arabica* de las regiones en estudio: Chiapas, Veracruz y Oaxaca

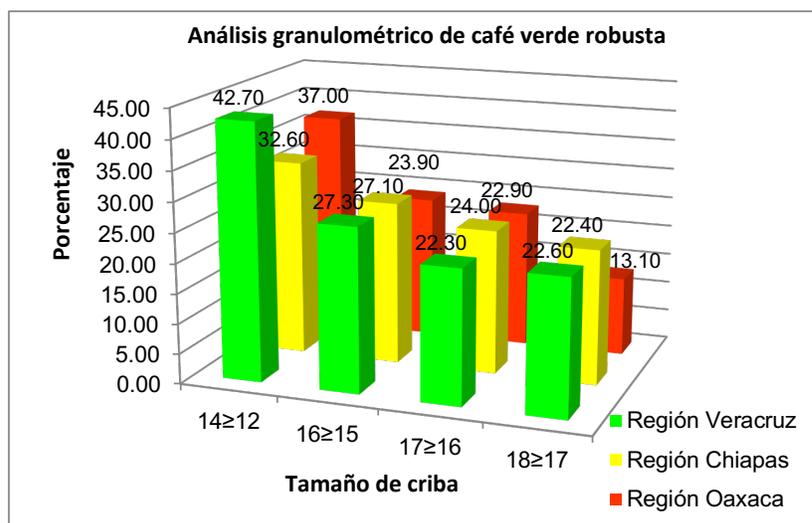


Figura 29. Análisis granulométrico de café verde *C. canephora* de las regiones en estudio: Chiapas, Veracruz y Oaxaca

El análisis granulométrico realizado a las muestras de *C. canephora* se presenta en la Figura 30, donde se puede observar que las muestras presentan granos de tamaño heterogéneo, en comparación con las muestras de *C. arabica*, para el caso de *C. canephora*, el tamaño puede influir en el precio del producto, ya que muchos productores de este tipo de café lo venden sobre la base del tamaño de los granos y con una tolerancia permisible de defectos.

6.2 Determinación de ACG-T en granos de café verde.

El café tiene componentes dignos de ser considerados como variables químicas durante la evaluación de la calidad del café; entre estos compuestos se encuentran la familia de los ácidos clorogénicos el cual el más abundante es el ácido 5-O-caféolquínico (Clifford., 1985). La cantidad de ácidos clorogénicos en el grano de café verde varía con el grado de maduración, especie y factores agronómicos tales como el sistema de producción orgánico los cuales hasta el momento no existe reportes citados sobre el contenido de ácidos clorogénicos en nuestro país de las regiones representativas de las principales estados productores de café orgánico a nivel nacional (Veracruz, Chiapas y Oaxaca) por lo que en este trabajo se realizó la cuantificación de ácidos clorogénicos en los granos de café verde comparado con los reportes citados por diferentes autores en café verde fertilizado o genérico.

6.2.1 Cuantificación de ACG-T en granos de café verde por HPLC

Se realizó la cuantificación de ACG-T en granos de café orgánico provenientes de las 3 regiones en estudio de la especie *C. arabica* y *C.*

6. Resultados y discusión

canephora mediante el análisis de los cromatogramas obtenidos a 280, 320, 360 y 520nm (Figura 31 y 32) utilizando como estándares el ácido 5-O-caféoilquínico y el ácido cafeico, los cuales presenta un tiempo de retención de 20 y 21 min respectivamente a 280nm.

Ambos compuestos fueron identificados como ácidos clorogénicos de las muestras de café verde de *C. arabica* y *C. canephora*. Sin embargo, los resultados demuestran que el compuesto más abundante en todas las muestras fue el ácido 5-O-caféoilquínico, siendo este reportado como el principal constituyente de los ácidos clorogénicos encontrados en el café verde (7-14%) de acuerdo a la especie, *Coffea arabica* y *Coffea canephora* (Clifford., 1985). El ácido cafeico fue encontrado en menor concentración se ha reportado que es un precursor del ácido 5-O-caféoilquínico. Los resultados observados en el presente trabajo concuerdan con los datos reportados por Perrone *et al*, (2006) donde reportaron niveles de 6.3 g/100g y de 8.2 g/100g de ACG-T para *C. arabica* y *C. Canephora* respectivamente; así mismo el alto contenido de ACG de *C. canephora* en comparación con *C. arabica* ha sido extensamente reportado por diferentes autores (Trugo, L C y Macrae, 1984; Correia *et al.*, 1995; Ky *et al.*, 2001; Farah *et al.*, 2005; Farah, A. *et al.*, 2006).

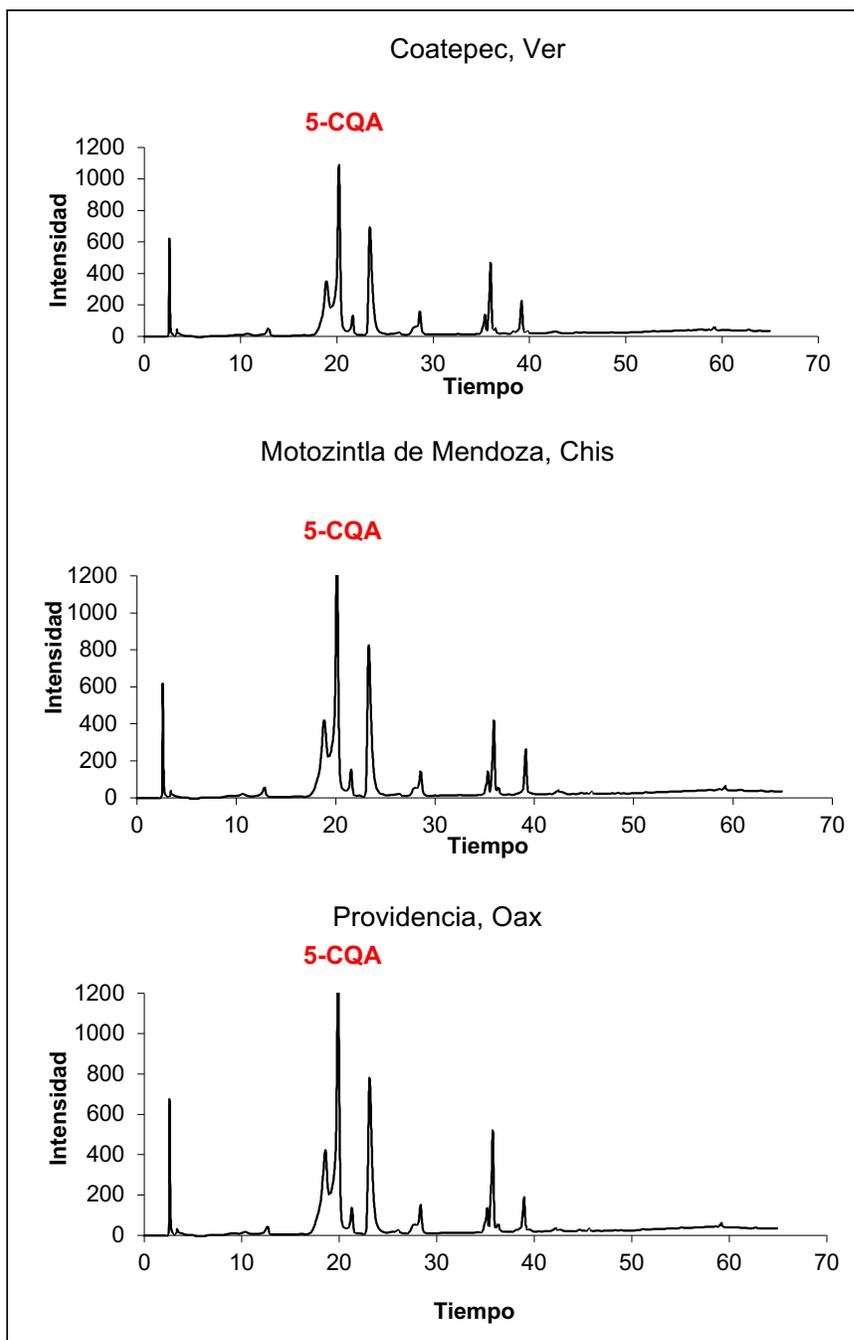


Figura 30. Cromatogramas correspondientes al contenido de ACG-T en granos de café orgánico verde de la especie *Coffea arabica*

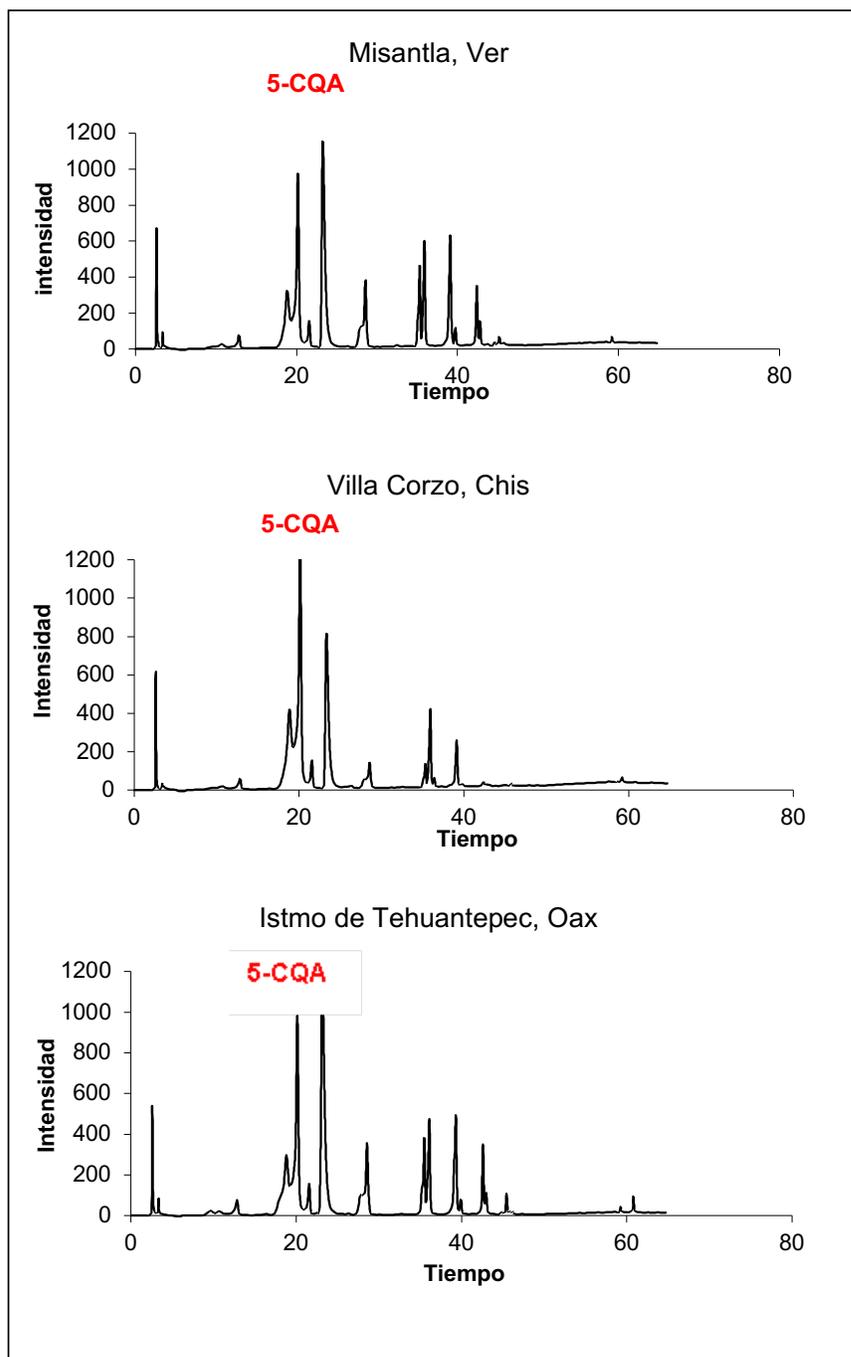


Figura 31. Cromatogramas correspondientes al contenido de ACG-T en granos de café orgánico verde de la especie *Coffea canephora*

6. Resultados y discusión

Cuando comparamos la concentración de AGC-T con respecto a las especies en estudio (Tabla 11) podemos observar que éstos son más abundantes en la especie *C. canephora* (8.40 g/100g) con respecto a la *C. arabiga* (6.10 g/100g), esto ya había sido extensamente reportado en el sistema de producción genérico (Trugo, L. C y Macrae, 1985; Clifford y Ramirez-Martinez, 1991; Correia *et al.*, 1995; Ky *et al.*, 2001; Farah *et al.*, 2005; Farah, A. y Donangelo, 2006; Farah, A. *et al.*, 2006).

Diversos trabajos han reportado que la diferencia en la concentración de ACG-T en ambas especies está asociada a tres factores principalmente; las diferencias físicas de los granos de *C. arabiga* en comparación con la especie *C. canephora* (granos más pequeños y oscuros), lo cual se infiere que la composición química es diferente; otro factor está asociado a la síntesis de ACG donde se ha demostrado que los granos con mayor contenido de AGC, son más sensibles a la oxidación incrementando la actividad de polifenol oxidasa y peroxidasa en presencia con mayor contenido de ACG, dando lugar a productos de la biosíntesis de (5-CQA, 5-FQA) como constituyentes principales de los ACG en el grano (Pulgarin y Valencia, 1975; Mazzafera y Robinson, 2000); de acuerdo a lo reportado por estos datos se infiere que debido al contenido más alto de ACG –T en la *C. canephora* es debido a que esta especie presenta mayor sensibilidad a la oxidación en comparación a la especie *C.arabiga* lo cual demuestra que hay una menor actividad de la enzima polifenol oxidasas para la síntesis de AGC.

Otro factor que se encuentra asociado al incremento de ACG-T en la especie *C. canephora* es atribuido a su mayor exposición de luz ultravioleta de las plantaciones de *C. canephora* las cuales crecen a temperaturas cálidas por debajo de los 600msnm y no necesitan árboles de sombra para el desarrollo de la planta (Douglas, 1996; Grace y Logan, 1998; Materska y Peruka, 2005; Pennycooke *et al.*, 2005).

Tabla 12. Concentración de ACG-T en granos de café verde expresados en % en base seca g/100g

Especie	ACG-T g/100g
<i>C. arabica</i>	6.10 ^a
<i>C. canephora</i>	8.40 ^b

Subíndices iguales no son significativamente diferentes
 Subíndices diferentes son significativamente diferentes
 $p(<0.05)$

En la Tabla 12 se presenta una comparación del contenido de ACG-T en muestras de café verde orgánico analizadas en el presente trabajo y los contenidos reportados para muestras obtenidas por el sistema de producción genérico de los países principales productores de café (Brasil, Angola, Etiopia y Uganda). Como se había observado existen diferencias entre el contenido de ACG-T en las especies *C. arabica* y *C. canephora*; sin embargo con los resultados de este trabajo se puede observar también que existe una mayor concentración de ACG-T en el en el café orgánico de ambas especies *C. arabica* y *C. canephora* provenientes de las tres regiones de México estudiadas. Estos resultados confirman lo reportado que el contenido de ACG-T depende de factores tales como especie, origen geográfico y prácticas agrícolas; de acuerdo a lo expuesto por (Farah, A. y Donangelo, 2006; Gotteland y Pablo, 2007).

Tabla 13. Comparación de AGC-T bajo los esquemas de producción genérico y orgánico

Café genérico	Origen	ACG-T g/100g	Referencias
<i>C. arabica</i> var. Bourbon	Brasil	5.25	Farah <i>et al.</i> , 2005
<i>C. arabica</i> var. Caturra	-----	5.62	Clifford <i>et al.</i> , 1991
<i>C. arabica</i>	Angola	5.98	Correia <i>et al.</i> , 1995
<i>C. arabica</i> var. Longberry.	Etiopia	5.73	Farah <i>et al.</i> , 2005
<i>C. canephora</i> var. Robusta.	Angola	6.08	Correia <i>et al.</i> , 1995
<i>C. canephora</i> var. Robusta	Uganda	7.58	Farah <i>et al.</i> , 2005
Café orgánico	Origen	ACG-T g/100g	
<i>C. arabica</i>	México	6.10	
<i>C. canephora</i>	México	8.40	

En la tabla 14 se muestran las concentraciones correspondientes al contenido de ACG-T en café verde orgánico de acuerdo a las características de origen de cada región productora (Veracruz, Chiapas y Oaxaca).

Tabla 14. Concentración de ACG-T en granos de café verde expresados en % en base seca g/100g

Regiones C. arabiga	Café verde	Regiones C. canephora	Café verde
Origen: Coatepec, Ver. Beneficio: Bola de Oro Cosecha: 2010-2011 Altitud: 1250 msnm Latitud: 19°27' 09"	5.60 ^a	Origen: Misantla, Ver. Beneficio: Plan Grande Cosecha: 2010-2011 Altitud: 300 msnm Latitud: 19°45' 55"	8.50 ^d
Origen: Tuxtla Gutierrez, Chis. Beneficio: Villa Corzo Cosecha: 2010-2011 Altitud: 580 msnm Latitud: 16°45' 10"	6.60 ^b	Origen: Tapachula, Chis. Beneficio: Chiapas Cosecha: 2010-2011 Altitud: 170 msnm Latitud: 16°45' 10"	8.10 ^d
Origen: Ixtlan de Juárez, Oax. Beneficio: Sto Domingo Cacalotepec, Oax. Cosecha: 2010-2011 Altitud: 1480 msnm Latitud: 96°19' 35"	6.20 ^c	Origen: Istmo, Oax. Beneficio: Sto Domingo Petapa, Oax Cosecha: 2010-2011 Altitud: 250 msnm Latitud: 16°49' 10"	8.90 ^e

Subíndices iguales no son significativamente diferentes

Subíndices diferentes son significativamente diferentes

$p(<0.05)$

Tomando en cuenta las concentraciones de ACG-T, del café verde orgánico proveniente de diferentes regiones se observó que no existe diferencia significativa entre las muestras de la especie *C. canephora* cultivadas en Veracruz y Chiapas; si tomamos en cuenta que uno de los factores importantes que contribuyen al aumento en la concentración de estos compuestos son las prácticas agrícolas, podemos suponer que existen semejanza en el contenido de nutrientes del suelo y sistemas de cultivo en ambos estados en cumplimiento con normatividad para el cultivo y certificación de café orgánico en nuestro país; por otra parte las muestras provenientes del estado de Oaxaca presentaron un contenido más elevado de ACG-T en ambas especies *C. arabiga* y *C. canephora* (6.20 y 8.90 g/100g respectivamente), lo cual puede ser debido al uso de abonos ricos en nitrógeno y un suelo deficiente en boro el cual ha sido reportado que

incrementa el contenido de AGC en granos de café (Camacho-Cristóbal *et al.*, 2002; Malta *et al.*, 2003).

6.3 Cuantificación de ACG-T durante el proceso de tostado

En este trabajo se estudió la influencia del grado del tostado sobre la degradación de los ácidos clorogénicos considerando que el proceso de tostado es el más importante en la tecnología del café ya que durante este proceso se desarrollan las características sensoriales como consecuencia de los cambios fisicoquímicos que se producen en el grano.

Los ácidos clorogénicos forman parte de los compuestos denominados precursores de sabor y aroma; su degradación se descompone parcialmente (30% a 70%) en el café verde infiriéndose que a mayor tueste menor contenido de ACG-T en el grano de café tostado, dando origen a la formación de nuevos compuestos como resultado de las reacciones de Maillard y “Strecker” durante el proceso. Para fines de este trabajo se consideró utilizar un nivel de tostado medio el cual permite un balance entre el sabor y aroma y es el término por preferencia comercial en México. Posterior al proceso de tostado se cuantificó el contenido residual de ACG-T cuyos resultados se presentan a continuación (Figura 32).

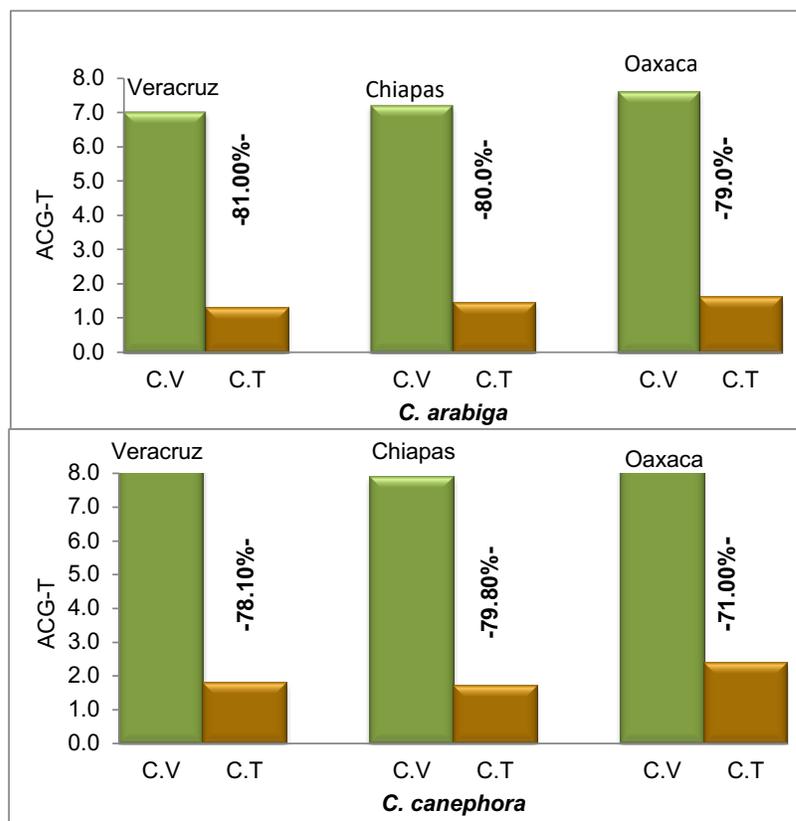


Figura 32. Degradación de ACG-T durante el proceso de tostado

En la Figura 32 se puede observar que la etapa del proceso de tostado disminuye el contenido de ACG-T en el café tostado en niveles que van de 71-80% en todas las muestras estudiadas, estos datos coinciden con los reportados por otros autores en donde han encontrado pérdidas de compuestos fenólicos utilizando un tostado medio de 40-80% para el café genérico (Trugo, L C y Macrae, 1984; Farah *et al.*, 2005; Farah, A. y Donangelo, 2006) los autores atribuyen esta pérdida debida al rompimiento térmico entre los enlaces carbono-carbono, para posteriormente sufrir una isomerización en las primeras etapas y posteriormente reacciones de epimerización, lactonización en las etapas finales del proceso del tostado.

Se puede observar también que la degradación de ACG-T entre las especies estudiadas no presenta diferencia significativa; sin embargo entre las regiones de estudio se observa diferencias significativas, siendo las muestras

6. Resultados y discusión

del estado de Oaxaca la que presenta menor degradación de los ACG-T con respecto a los cafés de Veracruz y Chiapas para ambas especies; estas diferencias pueden atribuidas a diferencias en su contenido de sacarosa, lo cual no fue determinado en este trabajo. Algunos estudios realizados por Trugo, L. C y Macrae (1985) atribuyen que la diferencia en la velocidad del desarrollo de color de las muestras de café es debida a su contenido de sacarosa es decir, los granos de café más ricos en sacarosa se encuentra asociado al rápido desarrollo de color durante el proceso de tostado establecido. Otro factor puede ser debido al contenido inicial de ACG-T de las muestras ya que las provenientes de Oaxaca presentaron mayor contenido.

En la Tabla 15 se presenta el contenido de ACG-T realizada por HPLC mostrando una concentración superior en las muestras de café tostado provenientes de la región de Oaxaca presentando niveles de 1.46 y 2.49 g/100g para *C. canephora* y *C. arabica* respectivamente.

Tabla 15. Concentración de ACG-T en el café tostado.

Café tostado	ACG-T g/100g
CAVER	1.35 ^a
CACHIS	1.60 ^b
CAOAX	1.46 ^c
CCVER	1.82 ^d
CCCHIS	1.49 ^c
CCOAX	2.49 ^e

6.4 Concentración de polifenoles-T y ACG-T en la bebida de café orgánico

Se preparó bebida de café utilizando el método francés con una relación de 50 g/L. Los ACG-T fueron cuantificados de la bebida utilizando el método de HPLC. Así mismo y tomando en cuenta la gran diversidad de compuestos fenólicos en este producto, se realizó la cuantificación de los mismos por la técnica colorimétrica de Folin-Ciocalteu, ya que es un ensayo simple para cuantificar los fenoles totales. En la Tabla 16 se presentan los resultados para ambos métodos. Al igual que los resultados observados en las muestras de café verde y tostado, en la bebida, la concentración de polifenoles totales y ACG-T, fue superior en las muestras provenientes del estado de Oaxaca. Los polifenoles totales presentan niveles de 0.15 y 0.18 g/100mL para *C. canephora* y *C. arabica* respectivamente, estos datos comparados con las concentraciones de ACG-T de la bebida de café se observa concentraciones inferiores de 0.46 y 0.70 g/100mL para *C. canephora* y *C. arabica* respectivamente; la baja concentración de compuestos fenólicos encontrados después del tostado puede ser atribuida a su papel en la formación de las estructuras de las melanoidinas (Bekedan *et al.*, 2008; Delgado-Andrade y Morales, 2005) o bien porque existan otros compuestos presentes en los extractos que interfieren con el método de Folin-Ciocalteu (Fukushima *et al.*, 2009).

Tabla 16. Concentración de fenoles totales en equivalente de ácido gálico en ppm (g/100mL) de las fracciones derivadas de la fase acuosa y ACG-T en la bebida de café

Bebida	Fenoles –T g/100mL	ACG-T g/100mL
CAVER	0.13 ^a	0.20 ^a
CACHIS	0.14 ^b	0.30 ^b
CAOAX	0.15 ^c	0.46 ^c
CCVER	0.16 ^d	0.56 ^d
CCCHIS	0.15 ^c	0.43 ^c
CCOAX	0.18 ^e	0.70 ^e

Subíndices iguales no son significativamente diferentes
 Subíndices diferentes son significativamente diferentes
 $p(<0.05)$

En la tabla 17 se puede observar la degradación de los ACG-T de café verde hasta la preparación de la bebida; en el cual se puede hacer notar que las concentraciones más altas de ACG-T se encontraron en la región de Oaxaca para ambas especies en los diferentes procesos, sin embargo las diferencias estadísticas encontradas de acuerdo a las zonas productoras de café orgánico podrían ser adjudicables de acuerdo a factores tales el origen geográfico y composición química (Farah, A. y Donangelo, 2006).

Tabla 17. Contenido de ACG-T en café verde, tostado y bebida.

Muestras	Café verde g/100g	Café tostado g/100g	Bebida g/100mL
CAVER	5.60 ^a	1.35 ^a	0.20 ^a
CACHIS	6.60 ^b	1.60 ^b	0.30 ^b
CAOAX	6.20 ^c	1.46 ^c	0.46 ^c
CCVER	8.50 ^d	1.82 ^d	0.56 ^d
CCCHIS	8.10 ^d	1.49 ^c	0.43 ^c
CCOAX	8.90 ^e	2.49 ^e	0.70 ^e

Subíndices iguales no son significativamente diferentes
 Subíndices diferentes son significativamente diferentes
 $p(<0.05)$

Cabe mencionar a pesar de la considerable pérdida de ACG-T durante el proceso de tostado ; sin embargo de acuerdo a lo reportado por diversos autores (Delgado-Andrade y Morales, 2005; Cämmere y Ykroh, 2005) han demostrado que la capacidad antioxidante de los ACG-T no se encuentra afectada; debido a que durante el tueste de café se desencadenan reacciones de Maillard dando lugar a la formación de polímeros marrones como las melanoidinas ya que en estos productos se han comprobado que tienen una significancia acción antioxidante.

De acuerdo a los resultados encontrados en este trabajo de investigación el contenido de ACG-T en café orgánico es superior a los reportados por diversos autores ya mencionados anteriormente en café genérico lo que indica además de las preocupaciones ambientalistas y beneficios a la salud; el café orgánico se podría considerar como una fuente importante de antioxidantes.

6.5 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial se llevó a cabo con 7 jueces entrenados para el atributo astringencia el cual se les proporcionó una escala de intensidad de 11 puntos para medir la astringencia de las bebidas de café; cabe señalar que estas fueron preparadas utilizando el mismo método para las en la cuantificación de Fenoles-T y ACG-T (método francés en una relación de 50 g/L). La evaluación sensorial de la bebida de café permite inferir las condiciones y cuidados brindados al grano de café, desde su cultivo hasta la obtención de la bebida; más de cuatrocientos compuestos químicos contribuyen al sabor distintivo de la taza de café; es así como se ha dado a la búsqueda de las diferencias químicas que puedan ser correlacionadas con sus atributos sensoriales de la bebida de café, por lo que esta investigación proporcionaría información acerca del impacto de los ACG-T sobre el atributo astringencia de las principales regiones productoras del café orgánico.

6.5.1 Intensidad de la astringencia de las bebidas de café

En el siguiente gráfico en el análisis sensorial realizado en la bebida de café de los tratamientos en estudio (Figura 35); se puede observar que el panel encontró mayor intensidad en las muestra de la región de Oaxaca (2.3 y 5.6) la para especie *C. canephora* y *C. arabica* respectivamente en comparación con las regiones estudiadas; sin embargo las diferencias estadísticas encontradas con respecto a la intensidad de la astringencia (Tabla 15) de acuerdo a los estudios realizados por diferentes autores (Santoyo *et al.*, 1996; Wintgens, 2004) ellos estudiaron una completa descripción de los factores que determinan las características sensoriales del café, y los subdividieron en factores ambientales y factores agronómicos. Los factores ambientales interactúan considerablemente entre sí para dar las

6. Resultados y discusión

condiciones de un sitio y de un año determinado; se consideran: altitud, humedad disponible, heladas y tipo de suelo [textura, profundidad, pH, contenido de materia orgánica (MO) y fertilidad]. Los factores agronómicos son: genotipo o variedades utilizadas, prácticas culturales (nutrición, control de plagas y enfermedades), edad de la planta, poda del cafeto, regulación de la sombra, control de las hierbas y el sistema de producción que se utilice.

Tabla 18. Escala Intensidad (11 puntos)

Bebida	Astringencia
CAVER	0.4 ^a
CACHIS	1.5 ^b
CAOAX	2.3 ^c
CCVER	4.5 ^d
CCCHIS	2.4 ^c
CCOAX	5.6 ^e

Subíndices iguales no son significativamente diferentes
Subíndices diferentes son significativamente diferentes
 $p(<0.05)$

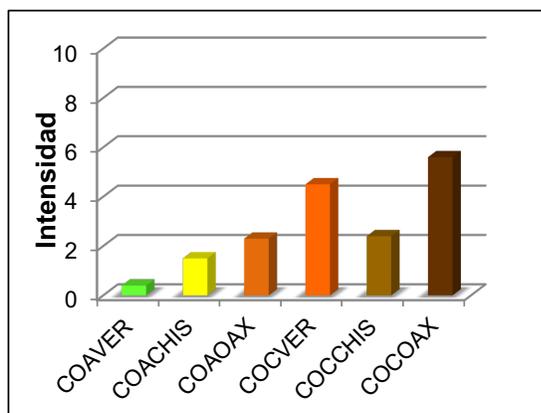


Figura 33. Intensidad del atributo astringencia en la bebida de café

6.5.2 Correlación estadística entre los análisis químicos y sensoriales

Finalmente para evaluar el impacto sensorial de los ACG-T en la bebida de café se llevó a cabo la correlación mediante software estadístico (SPSS®).

Se observa en la Tabla 19 una correlación significativa de $**0.975$ y $**0.964$ entre la intensidad sensorial para el atributo astringencia de la bebida de café con respecto a la concentración de fenoles totales y ACG-T lo cual sugiere una correlación estadística significativa entre la cantidad de fenoles totales y ACG-T y el atributo astringencia a medida de que las bebidas de café presentan mayor contenido de ACG el panel las diferenció como más astringentes (Figura 36); esto se infiere debido a que la astringencia de los fenoles son hipotéticamente el resultado de la precipitación o de una fuerte unión con proteínas debido a la presencia de 2 o 3 grupos hidroxilos; la astringencia se ve aumentada a lo largo de la cadena o grado de polimerización. La saliva producida por las glándulas salivares está formada por un grupo de proteínas constituidas de múltiples repeticiones de una secuencia inusual de aminoácidos que contienen una gran cantidad de prolina siendo al parecer su principal función la acomplejación de polifenoles formando complejos insolubles, previniendo su absorción e interacción con otros compuestos biológicos (Jöbstl *et al.*, 2004).

Thorngate (1993) sugiere que al aumentar la polimerización aumenta el número de lugares posibles de unión de puentes de hidrogeno entre las proteínas de la saliva y taninos, lo que supone aumenta la astringencia.

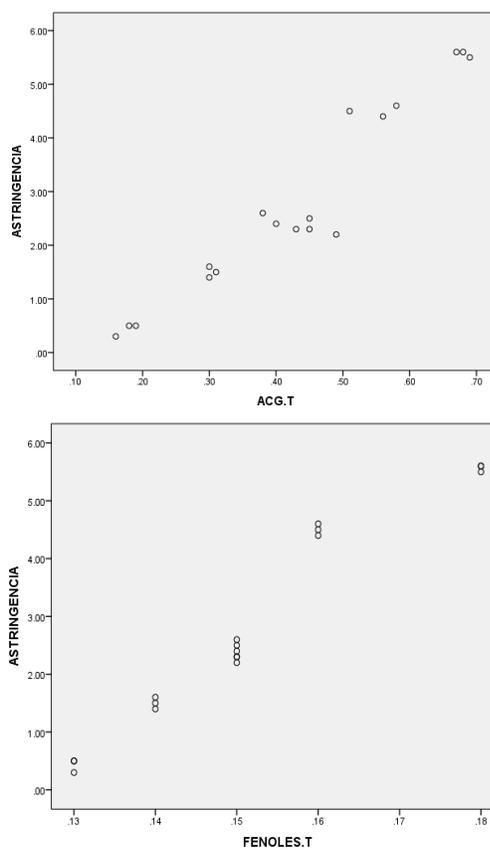
La astringencia se percibe de manera diferente según variaciones en el flujo salivar de cada individuo, por lo cual la preferencia y aceptabilidad de un producto puede variar tremendamente entre personas. Los menores niveles de astringencia percibidos por sujetos con un alto flujo salival quizás sea reflejo de su mayor capacidad para restablecer la lubricación de la cavidad oral, dado su mayor volumen de producción de saliva (Lesschaeve y Noble, 2005); correlacionándose en menor grado con el ácido cafeico.

Tabla 19. Correlación estadística entre la concentración de Fenoles-T y ACG-T con respecto a la intensidad astringente

	Fenoles-T	ACG-T	Ac. Cafeico	Astringencia
Fenoles-T	1	**0.974	*0.474	**0.975
ACG-T	**0.974	1	*0.496	**0.964
Ac. Cafeico	*0.474	*0.496	1	0.372
Astringencia	**0.975	**0.964	0.372	1

*La correlación es significativa a nivel del 0.05

**La correlación es significativa al nivel de 0.01

**Figura 34.** Diagrama de correlación entre la concentración de Fenoles-T y ACG-T con respecto a la intensidad astringente

Capítulo IV

CONCLUSIONES

Los cafés provenientes de la especie *C. arabica* y de la zona de cultivo de Oaxaca son superiores en calidad física en comparación con las regiones estudiadas.

Existe diferencia entre el contenido de AGC-T en el café verde orgánico de las especies estudiadas (*C.arabica* y *C.canephora*) y el origen del cultivo, teniendo mayor concentración de ACG-T en la especie *C.canephora* (8.9%) del estado de Oaxaca.

El proceso de tostado a un nivel medio disminuye el contenido de ACG-T entre un 71-80% con respecto al café verde, no observándose diferencias entre las especies; sin embargo se encontraron diferencias en la degradación de ACG-T del estado de Oaxaca (71%) con respecto a los estados de Veracruz y Chiapas para la especie *C. canephora*.

El contenido de Fenoles-T y ACG-T en la bebida de café impactan en la percepción del atributo astringencia; mostrando que la bebida preparada con café de la especie *C. canephora* del estado de Oaxaca presentó mayor contenido de ACG-T y mayor intensidad en astringencia.

Existe una mayor concentración de ACG-T en el modo de producción orgánico en las especies *C. arabica* y *C. canephora* de México comparado con la referencia citada del sistema de producción genérico de los países principales productores de café (Brasil, Angola, Etiopia y Uganda) en las especies *C. arabica* y *C. canephora*.

RECOMENDACIONES

- Comparar el contenido de ACG en café bajo el esquema de producción orgánico y genérico.
- Estudiar la correlación entre la composición química del suelo del sistema de producción orgánico con la síntesis de ACG en el desarrollo del grano.

Capítulo V

BIBLIOGRAFÍA

Almeida, A., Naghetini, C., Santos, V. y Glória, M. 2004. Antimicrobial Effect of Coffee Extract on *Streptococcus Mutans*. **ASIC, 20th International Conference**, Bangalore, India.

Allam, A. y Bassiuny, A. 2002. Chlorogenic acid, efficiency and safety aspects as antioxidant. *Sostanze Grasse*, Italy. **LXXIX**: 257-265.

Allen, M. 1998. Demystified. Proceedings: ASVO enology Seminar (Phenolics and Extraction). Adelaide: Australian Society of Viticulture and Oenology. 4-11.

AMAE-IFOAM-UACH. 1995. Federación Internacional de movimientos de agricultura orgánica. **Conferencia internacional sobre café orgánico**, México.

ANACAFE. 1998. Manual de Caficultura. Guatemala

Andersen, M. y Markham, K. 2006. Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications. Chapter 4. Flavonoids in Foods. B. R. CRC Press: 219-263.

Arnold, R., Noble, A. y Singleton, V. 1980. Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **28**: 675-678.

Arvalho, V. L., Cumba, D., Da, R. L. y Chalfound, S. 2002. Manejo ecológico das principais doenças do cafeeiro. *Informe Agropecuario* **23**: 214-215.

Astiasarán, I. y Martínez, A. 2003. Alimentos: Composición y Propiedades. México, D.F.

Bassoli, B., Cassolla, P., Borba-Murad, G., Silva, R., Bazotte, R. y Souza, H. 2006. Bioassays to evaluated the physiological functional properties of chlorogenic acids. **21st International Conference of Coffee, ASIC 2006**, Montpellier, France.

8. Bibliografía

- Beecher, G. R. 2003. Overview of Dietary Flavonoids: Nomenclature, Occurrence and Intake. *The Journal of Nutrition*. **133**: 3248S-3254S.
- Bekedam, E., Loots, M., Schols, H., Van-Boekel, M., Smit, G. 2008. Roasting effects on formation mechanisms of coffee brew melanoidins. *J. Agric. Food Chem.* **56**:7138-7145.
- Benzie, I. y Szeto, Y. T. 1999. Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/ antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 633-636.
- Burns, D. y Noble, A. 1985. Evaluation of the separate contribution of viscosity and sweetness of sucrose to perceived viscosity, sweetness and bitterness of vermouth. *Journal of Texture Studies*. **16**: 365-381.
- Bylka, W., Matlawska, I. y Pilewski, N. A. 2004. Natural Flavonoids as Antimicrobial Agents. *Jana*. **7**: 24-30.
- Camacho-Cristóbal, Anzelotti, J. J. y A, D. G.-F. 2002. Changes in phenolic metabolism of tobacco plants during short-term boron deficiency. *Journal Plant Physiol. Biochem.* **40**: 997-1002.
- Cämmere, B; Ykroh, L. 2005. Antioxidant activity of coffee brews. *European Food Research and Technology.* **223**: 469-474.
- Cantú, D. y Mushinskie, K. 2004. Guía de defectos del café. México.
- Cisse, M., Vaillant., F., Acosta., O., Dhuique-Mayer, C. y Dornier., M. 2009. Thermal Degradation Kinetics of Anthocyanins from Blood Orange, Blackberry, and Roselle Using the Arrhenius, Eyring, and Ball Models. *Journal Agricultural and Food Chemistry.* **57**: 6285-6291.
- Clarke, R. y Macrae, R. 1985. Coffee. Volumen 2: Technology. E. E. A. S. P. LTD. London, U.K. y New York, U.S.A. 2: 291.
- Clarke, R. y Vitzthum, O. 2001. Coffee. Recent Developments. London, United Kingdom.
- Clifford. 1999. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* **79**: 362-372.
- Clifford. 2000. Chlorogenic acids and other cinnamates - nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Science of Food and Agriculture.* **80**: 1033-1043.

8. Bibliografía

Clifford y Ramirez-Martinez, J. R. 1991. Phenols and caffeine in wet-processed coffee beans and coffee pulp. *Journal Food Chemistry*. **40**: 35–42.

Clifford. 1985. Chlorogenic acids in Coffee. Londres.

Clifford., M. N., Johnston., K. L., Knight., S. y Kuhnert., N. 2003. Hierarchical scheme for LC-MSⁿ identification of chlorogenic acids. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **51**: 2900-2911.

Correia, A. M. C., Leitão, M. C. A. y Clifford, M. 1995. Caffeoyl-tyrosine and Angola II as characteristic markers for Angolan robusta coffees. *Journal Food Chemistry*. **53**: 309–313.

Cruz, M. G., Rinderman, R. S., Alvarado, M. d. R. M., García, A. J. L. y Tovar., L. G. 2005. Agricultura, apicultura y ganadería orgánicas de México, 2005. México.

Cushnie, T. P. T. y Lamb, A. J. 2005. Antimicrobial activity flavonoides review. *International Journal of antimicrobial Agents*. **26**: 343-356.

Czochanska, Z., Foo, L. y Porter, L. 1979. Compositional changes in lower molecular weight flavans during maturation. *Phytochemistry* . **18**: 1819-1822.

Charlton, A. J., Baxter, N. J., Khan, M. L., Moir, A. J. G., Haslam, E., Davies, A. P. y Williamson, M. P. 2002. Polyphenol/peptide binding and precipitation. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **50**: 1593-1601.

Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J., Morales, F. 2005. Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *J. Agric. Food. Chem.* **53**:7832-7836.

Douglas, C. J. 1996. Phenylpropanoid metabolism and lignin biosynthesis: from weeds to trees. *Trends Plant Sci.* **1**: 171-178.

Escamilla, P. y Díaz, S. 2002. Sistemás de cultivo de café en México. Fundación Produce de Veracruz A.C. Huatusco, Ver, Méx. 2: 57.

Farah, Paulis, T. D., Trugo, L. y Martin, P. 2005. Effect of roasting on the formation of chlorogenic acids lactones in coffee. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **420**(53): 1505–1513.

Farah, A. y Donangelo, C. M. 2006. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*. **18**: 23-36.

8. Bibliografía

Farah, A., Monteiro, M. C., Calado, V., A., F. y Trugo, L. C. 2006. Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Journal Food Chemistry*. **98**: 373–380.

Flanzy, C. 2003. Capítulo 4. Los compuestos fenólicos. Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. A. Ediciones. Madrid, España. 2: 147.

Fujiota, K. y Shibamoto, T. 2008. Chlorogenic acid and caffeine contents in varios commercial brewed coffees. *ELSEVIER. Food Chemistry*. **106**: 217-221.

Fukushima Y., Ohie T., Yokenawa Y., Yonemoto K. 2009. Coffee and green tea as large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *J. Agric. Food. Chem.* **57**:1253-1259.

Gálvez-Ponce, E. Factores que identifican cafés terroir en la zona productora de Misantla, Veracruz. **Tesis de maestría**. Instituto Tecnológico de Veracruz. 2001.

García-Ballacao, García-Gómez, L., Rojo-Domínguez, D. y Sánchez-García, E. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. *Rev. Cubana Invest. Biomed.*

Giovannucci, D. y Juárez, C. 2006. Análisis Prospectivo de Política Cafetalera. Proyecto Evaluación Alianza para el campo 2005. México, FAO. SAGARPA.

Giovannuci, D. y Ponte, S. 2011. Standards as a new form of social contract? Sustainability initiatives in the coffee industry. *Food Policy. ELSEVIER*. **30**: 284-301.

González-Ríos, O., Suárez-Quiróz, M. L., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J. P. y Schorr-Galindo, S. 2004. Effects of post-harvest treatments and roasting on the final quality of mexican coffee. **International Conference Engineering and Food**, Montpellier, France.

Gotteland, M. y Pablo, S. 2007. Algunas verdades sobre el café. *Revista chilena de nutrición versión On-line* **34**: 2.

Grace, S. C. y Logan, B. A. 1998. Seasonal differences in foliar content of chlorogenic acid, a phenylpropanoid antioxidant, in *Mahonia repens*. *Plant Cell Environ.* **21**: 513-521.

Guadarrama, Z., Escamilla, P., Trujillo, L. y Partida, S. 2006. El valor agregado en la cadena agroalimentaria del café en México: cambio de entorno y perspectivas. Chapingo, México, Universidad Autónoma Chapingo.: 167 pp.

8. Bibliografía

Gutiérrez, A. y Maydata. 2002. Café, antioxidantes y protección a la salud. *MEDISAN*. **6**(4): 72-81.

Hertog, M. G. L.; Hollman, P. C. H y Katan, M. B. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonols of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem*. **40**: 2379-2383.

Hertog, M. G. L.; Hollman, P. C. H y Van de Putte B. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *J Agric Food Chem*. **41**:1242-1246.

Hongpattarakere, T. y Johnson, E. A. 1999. Natural antimicrobial components isolated from yerba mate (*Ilex paraguariensis*), Multiple Pathogens and Control, Food Reserch Institute.: 39.

ISO 1991. Green coffee: size analysis - manual sieving. Suiza. 4150:1991 (E), 6.

ISO 2003. Green coffee: Determination of loss in mass at 105 °C. Suiza. 6673:2003(E), 4.

ISO 2004. Green coffee: defect reference chart. Suiza. 10470:2004(E), 20.

ISO 2005. Coffee and coffee products: Vocabulary. Suiza. 3509:2005(E/F), 28.

Iwahashi, H. 2000. Some polyphenols inhibit the formation of pentyl radical and octanoic acid radical in the reaction mixture of linoleic acid hydroperoxide with ferrous ions. *Biochem J*. **346**: 265-273.

Iwai, K., Kishimoto, N., Kakino, Y., Mochida, K. y Fujita, T. 2004. Identification of Clorogenic Acids in Coffee Beans and Their Physiological Activities. **ASIC, 20th International Conference.**, Bangalore, India.

Jöbstl, E., JO'Connell, Fairclough, J. P. y Williamson, M. 2004. Biomacromolecules. Molecular model for astringency produced by polyphenol/proteins interactions. 5: 942-949.

Joet, T., Descroix, F., Doubeau, S., Bertrand, B., Kockko, A. y Dussert, S. 2011. Influence of enviromental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabiga coffee beans. *ELSEVIER. Food Chemistry*. **118**: 693-701.

8. Bibliografía

Justesen, U; Knuthsen, P y Leth, T. 1998. Quantitative analysis of flavonols, flavones and flavonones in fruits, vegetables and beverages by high performance liquid chromatography with photo-diode array and mass spectrometric detection. *J Chromatogr A*. **799**: 10 1-110.

Kähkönen, M., Copia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.-P., Piha-laja, K., Kujala, T. S. y Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 3954 - 3962.

Kono, Y., Kobayashi, K., Tagawa, S., Adachi, K., Ueda, A., Sawa, Y. y Shibata, H. 1997. Antioxidant Activity of polyphenolics in diets. Rates constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. *Biochem. Biophys. Acta.* **1335**: 335-342.

Kono, Y., Shibata, H., Kodama, Y., Ueda, A. y Sawa, Y. 1995. Chlorogenic acid as a natural scavenger for hypochlorous acid. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **217**: 972-978.

Ky, C. L., Lourarn, Dussert, S., Guyot, B., Hamon, S. y Noiro, M. 2001. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids in green coffee beans (*Coffea sp.*). *J. Agric. Food Chem.* **45**: 786-790.

Lea, A. y G. Arnold. 1978. The phenolics of ciders: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **29**: 478-483.

Lee, C. y Lawless, H. 1991. Time-course of astringent sensations. *Chemical Senses* **16**: 225-238.

Lesschaeve, I. y Noble, A. 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverages preferences. *American Journal of Clinical Nutrition*. **81**: 330-335.

Loredo, J., Nájera, C., Nevárez, V., Sánchez, B. R., Reed, J. D., Vestling, M. M. y Salas, E. 2008. Screening for biological activity in different phenolic extracts from vegetal origin. *Polyphenol Communications*.

Lyman, B. y Green, B. 1990. Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses* **15**: 151-164.

Malta, M. R., Nogueira, F. D. y Guimarães, P. 2003. Composição química, produção e qualidade do café fertilizado com diferentes fontes e doses de nitrogênio. *Ciênc. Agrotec. Lavras*. **27**: 1246-1252.

8. Bibliografía

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémés, C. y Jiménez., L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal Clinical Nutrition*. **79**: 727-747.

Martin, J. y Jessel, T. 1991. Modality coding in the somatic sensory system. Principles of Neural Sciences. *ELSEVIER. Food Chemistry*. New York, EEUU. **3**: 1135.

Materska, M. y Peruka, I. 2005. Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annum L.*). *J. Agric. Food Chem.* **53**: 1750-1756.

Mazzafera, P. y Robinson, S. 2000. Characterization of polyphenol oxidase in coffee. *Phytochemistry*. **55**: 285-296.

Mc-Manus, M., Davis, K., Lilley, T. y Haslam, E. 1981. The association of proteins with polyphenols. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications*. **7**: 309-311.

McCarty, M. 2005. A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. *Medical Hypotheses*. **64**(4): 848-853.

McCarty, M. 2005. Nutraceutical resources for diabetes prevention-an update. *Medical Hypotheses*. **64**(1): 151-158.

Minussi, R., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G. y Durán., N. 2003. Phenolic compounds and total antioxidant potencial of comercial wines. *Food Chemistry*. **82**: 409-416.

Moguel, P. y Toledo, V. 1999. El café en México. Ecología, cultura indígena y sustentabilidad. Xalapa, Ver. MX, Red de información y acción ambiental de Veracruz. Jarocho Verde 11: 3-12.

Morishita y Kido. 1995. Antioxidants activities of chlorogenic acids. **16^e Colloque**, Kyoto.

Morishita, H. y Ohnishi, M. 2001. Absortion metabolism and biological activities of chlorogenic acids and related compounds. En Studies in Natural Products Chemistry. E. E. S. B. V. Japan, Bioactive Natural Products, part F, Atta-ur-Rahman. 25: 919-953.

Nakatani, N., Kayano, S.-i., Kikuzaki, H., Sumino, K., Katagiri, K. y Mitani, T. 2000. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of

8. Bibliografía

chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.). *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **48**(11): 5512-5516.

Onhishi, M., Shiraishi, N., Morishita, H., Maeda, M., Toda, S. y Nishikimi, M. 1997. Antioxidant effects of chlorogenic acid *in vivo*. *Recent Res. Devel. in Phytochem.* **1**: 95-100.

Pedrero, D. L. y Pangborn, R. M. 1989. Evaluación sensorial de los alimentos: Métodos Analíticos. México.

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. y Noble., A. 1999. Bitterness and astringency of flavan- 3-ol monomers, dimmers and trimmers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **79**: 1123-1128.

Peleg, H. y Noble, A. 1999. Effect of viscosity, temperature and pH on astringency in cranberry juice. *Food Quality and Preference*. **10**: 343-347.

Pennycooke, J., Cox, S. y Stushnoff, C. 2005. Relationship of cold acclimation, total phenolic content and antioxidant capacity with chilling tolerance in petunia (*Petunia x hybrida*). *Environ. Exp. Bot.* **53**: 225-232.

Perrone, D., Farah, A., Donangelo, C., Paulis de T., Peter, M. 2008. Comprehensive analysis of major and minor Chlorogenic acid and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. *ELSEVIER. Food Chemistry*. **106**: 859-867.

Piretti, M., Ghedini, M. y Serrazanetti, G. 1976. Isolation and identification of the polyphenolics and terpenoids constituents of vitis vinifera. Trebbiano variety. *Phytochemistry*. **36**: 781-784.

Pochet, P. 1963. La qualité du café de la plantule à la tasse. Ed. Administration Générale de la Coopération au Développement. Bruxelles, Belgique: 78.

Pohlan, J. 2002. México y la caficultura chiapaneca. *Reflexiones y alternativas para los caficultores*. ECOSUR. SHAKER. VERLAG. Alemania.

Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas., G. J. E. y Komaitis., M. 2005. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J. Agric. Food Chem.* **53**: 1190-1195.

Pulgarin, J. y Valencia, G. 1975. Relation entre la actividade de la polifenoloxidase (PFO) y las pruebas de catación como medidas de la calidad de la bebida de café. *CENICAFE*. **26**: 55-71.

8. Bibliografía

Rechner, A. R., Spencer, J. P. E., Kuhnle, G., Hahn, U. y Rice-Evans, C. A. 2001. Novel Bionarkers of the metabolism of caffeic acid derivatives in vivo. *Free radical Biology y Medicine*. **30**(11): 1213-1222.

Richelle, M., Tavazzi, I. y Offord, E. 2001. Comparison of the anti-oxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (Coffee, Cocoa and Tea) prepared per cup serving. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **49**: 3438-3442.

Robbins, R. J. 2003. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **51**: 2866-2887.

Robichaud, J. y Noble, A. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **53**: 343-353.

Roedig-Penman, A. y Gordon, M. H. 1997. Antioxidant properties of catequins and Green tea extracts in model food emulsions. *J. Agric. Food Chem.* **45**: 4267-4270.

Roosen, N. y VanderHoff, F. 2002. La aventura del comercio justo. Una alternativa de globalización por los fundadores de Max Havelaar. E. Atajo. México: 231.

Ruidavets, J., Teissedre, P., Ferrières, J., Carando, S., Bougard, G. y Cabanis, J. 2000. Catechin in the mediterranean diet: vegetable, fruit or wine *Atherosclerosis*.

Santoyo, C., Díaz, S., Escamilla, E. y Robledo, J. 1996. Factores agronómicos y calidad del café. **Confederación Mexicana de Productores de café**, Chapingo, Estado de México.

Scalbert, A. y Williamson, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*. **130**: 2073S-2085S.

Scholz, E., Heinrich, M. y Hunkler, D. 1994. Caffeolquinic acids and some biological activities of *Pluchea symphytifolia*. *Plant Med.* **60**: 360-364.

Shimoda, H., Seki, E. y Aitani, M. 2006. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **6**(9): 1472-6882.

Siddhuraju, P. y Becker, K. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of

8. Bibliografía

drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 2144-2155.

Singleton, L.V; Orthofer, R; Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of Total Phenols and other Oxidation. Substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzimology*.

Smith, A., June, H. y Noble, A. 1996. Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tanin. *Food Quality and Preference*. **7**: 161-166.

Solares, P., Jiménez, O., León, E. L. d. y Anzueto, F. 2002. Influencia de la variedad y de la altitud en las características organolépticas y físicas del café. Boletín promecafe 2010.

Sosa, M., Escamilla, P. y Díaz, C. 2004. Organic Coffee. Coffee: Growing, Processing, Sustainable , Production. Weinheim, DE, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.: 339-354.

Stewart, A. y Crozier, A. 2004. Chlorogenic Acids in Coffee-Absorption and Excretion by Human Volunteers. **ASIC, 20th International Conference**, Bangalore, India.

Suárez-Quiroz, M., González-Ríos, O., Barel, M., Guyot, B., Schorr-Galindo, S. y Guiraud, J. 2004. Study of ochratoxin A-producing strains in coffee processing. *International Journal of Food Science and Technology*. **39**: 501-507.

Trugo, L. C. y Macrae, R. 1984. A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. **15**: 219-227.

Trugo, L. C. y Macrae, R. 1985. The use of the máss detector for sugar analysis of coffee products. **Onzième Colloque Scientifique International sur le Café. ASIC**, Paris, France.

UACH. 2005. Acciones de Fomento Productivo y Mejoramiento de la Calidad del Café en México, 2004. *Evaluación Nacional Externa. Huatusco, Veracruz. MX, Universidad Autónoma Chapingo (CRUO-CENIDERCAFÉ). SAGARPA. Consejo Mexicano del Café.*

Vandermeer, J. 2003. The coffee Agroecosystem in the Neotropics: Combining Ecological and Economic Goals. *In Tropical Agroecosystems*. Estados Unidos.

8. Bibliografía

Vidal, S., Cartalade, D., Souquet, J., Fulcrand, H. y Cheynier, V. 2002. Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**: 2261-2266.

Vidal, S., Francis, L., Williams, P., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. y Waters, E. 2004. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chemistry*. **85**: 519-525.

Wang, Y. y Ho, C. T. 2009. Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **57**: 8109-8114.

Wei-Zheng y Wang, Y. 2001. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 5165-5170.

Wintgens, J. E. 2004. Coffee: growing, processing, sustainable production. A guide book for growers, processors, traders and researchers. W.-V. V. Weinheim. Germany.

Wood, B. 1998. Microbiology of fermented food. London.

Wu, H., He-zhen, W., Luo, J., Yin, Y.-x. y Wei., Q. 2004. Effects of chlorogenic acid, and active compounds activating calcineurin, purified from *Flos Lonicerae* on macrophage. *Acta Pharmacologica Sinica*. **25**(12): 1685-1689.

Yen, G. C., Duh, P. D. y Tsai, C. L. 1993. Relationship between antioxidant activity and maturity in peanuts hulls. *J. Agric. Food Chem.* **41**: 67-70.

Zhang, D. y Hamazu, Y. 2004. Phenolic compounds and their antioxidant properties in different tissues of carrots (*Daucus carota L.*). *Food Agriculture & Environment*. **2**(1): 95-100.

Zhu, X., Zhang, H. y Lo, R. 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus L.*) and their antimicrobial activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **52**(24): 7272-7278.

Zoecklein, B., Fugelsang, K. C. y Gump, B. H. 2001. Analisis y Produccion de Vino. Zaragoza, España.

APÉNDICES

Apéndice I Formato del análisis de defectos en café verde

FECHA: _____ FOLIO: _____
 ORIGEN: _____
 CONTENIDO DE HÚMEDAD: _____ PESO 100 GRANOS: _____
 COLOR: _____
 OLOR: _____

Designación de defectos	Coeficiente	Número	Defectos	Peso	% en peso
Grano dañado seco	2				
Grano en cereza	1				
Grano negro	1				
Grano fermentado	1				
Grano medio negro	0.5				
Grano con pergamino	0.3				
Grano blanco	0.2				
Grano blanco y esponjoso	0.2				
Grano inmaduro	0.2				
Grano seco	0.2				
Grano indeseable	0.2				
Rotos (dañados)	0.2				
Caracol	0.06				
Granos dañados en punta	0.1				
Cáscara gruesa	0.5				
Cáscara delgada	0.33				
Trozo de madera grueso	2				
Trozo de madera mediano	1				
Trozo de madera pequeño	0.33				
TOTAL					
Piedras					

ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO

TAMIS	18≥17	17≥16	16≥15	14≥12
%				
gr				

Estos resultados son válidos solamente para la muestra que nosotros hemos recibido.

Apéndice II Cuestionario de preselección de candidatos para el panel de evaluación sensorial del café.

Candidatos para el panel de evaluación sensorial de café

Candidato Núm: _____

Fecha: _____

Nombre: _____

Edad: _____

Sexo: _____

Carrera: _____ Semestre: _____ Núm de control: _____

Correo electrónico: _____ Teléfono: _____

Marque la respuesta correcta

¿Le gusta el café? Si _____ No _____

¿Padece intolerancia al café? Si _____ No _____

¿Estaría dispuesto participar en la degustación de café? Si _____ No _____

Si su última respuesta fue Si; favor de continuar con el cuestionario de lo contrario le damos las gracias por su participación.

Si su última respuesta fue Si; favor de continuar con el cuestionario de lo contrario le damos las gracias por su participación.

SALUD

Enfermedad que puede afectar sus

sentidos: _____ Frecuencia: _____

¿Consumo medicamentos que afecten sus sentidos en particular el gusto y el olfato?

¿Es usted daltónico? Si _____ No _____

HÁBITOS

¿Fuma? Si _____ No _____

¿Cuántos cigarros fuma al día? _____

¿Consumo alcohol? Si _____ No _____

Frecuencia _____

¿Le gustan los alimentos muy salados? Si _____ No _____

¿Le gustan los alimentos muy ácidos? Si _____ No _____

¿Le gustan los alimentos muy amargos? Si _____ No _____

¿Le gustan los alimentos muy dulces? Si _____ No _____

¿Le gustan los alimentos muy picosos? Si _____ No _____

Horario de alimentos:

Desayuno: _____ Comida _____

Cena: _____

Me considero una persona puntual:

100% de las veces

80% de las veces

60% de las veces

40% de las veces

Gracias por su participación!!



Apéndice III Formato para la prueba de identificación de sabores

NOMBRE: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES:

Deguste de izquierda a derecha cada una de las soluciones presentadas. Las soluciones pueden ser dulces, ácidas, amargas o saladas.

Puede haber una o más soluciones del mismo sabor identifiquen cada con el sabor correspondiente. Enjuáguese bien la boca antes de iniciar antes de iniciar la degustación y entre cada muestra.

MUESTRA	SABOR	MUESTRA	SABOR
135	_____	468	_____
879	_____	326	_____
204	_____		

GRACIAS 😊

Apéndice IV Formato para la prueba de identificación de olores

NOMBRE: _____		FECHA: _____	
INSTRUCCIONES:			
Las muestras que a continuación serán evaluadas son productos conocidos, identifíquelos con el sentido del olfato únicamente.			
MUESTRA		OLOR	
135		_____	
879		_____	
204		_____	
356		_____	
654		_____	
468		_____	
326		_____	
898		_____	
746		_____	
231		_____	
GRACIAS 😊			

Apéndice V Formato para la prueba de ordenación de sabores

NOMBRE: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES:

Deguste de izquierda a derecha las muestras y ordénelas según su incremento en intensidad de sabor. Considerando 1=mínima concentración y 4= máxima concentración.

Enjuague bien su boca antes de iniciar y entre cada muestra.

SABOR AMARGO

MUESTRAS	309	123	908	370
----------	-----	-----	-----	-----

ORDEN

SABOR ÁCIDO

MUESTRAS	468	256	783	840
----------	-----	-----	-----	-----

ORDEN

Apéndice VI Protocolo utilizado para la prueba triangular

NÚMERO	DE JUEZ	Taza 1	Taza 2	Taza 3	RESPUESTA
		DE COMBINACIONES LAS MUESTRAS			
1	Muestras	B	B	A	Taza 3
	Codificado	098	234	126	126
2	Muestras	A	B	A	Taza 2
	Codificado	309	124	236	124
3	Muestras	B	A	B	Taza 2
	Codificado	001	641	187	641
4	Muestras	B	A	A	Taza 1
	Codificado	908	342	189	908
5	Muestras	A	B	A	Taza 1
	Codificado	340	654	980	340
6	Muestras	A	A	B	Taza 3
	Codificado	128	634	912	912
7	Muestras	B	B	A	Taza 3
	Codificado	432	975	123	123
8	Muestras	A	B	A	Taza 2
	Codificado	903	97	343	097
9	Muestras	B	A	B	Taza 2
	Codificado	675	107	765	107
10	Muestras	B	A	A	Taza 1
	Codificado	123	387	654	123
11	Muestras	A	B	B	Taza 1
	Codificado	564	078	346	564
12	Muestras	A	A	B	Taza 3
	Codificado	340	875	127	127

Apéndice VII Formato para la prueba triangular

NOMBRE: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES:

Deguste cada una de las muestras de izquierda a derecha. Dos de ellas son iguales y una es diferente, identifique la muestra que es diferente por medio de una cruz en el código de la muestra correspondiente. Enjuague bien su boca antes de iniciar la degustación y entre cada muestra.

Ensayo	Muestras		
1	134	456	009
2	953	522	969

GRACIAS POR TU PARTICIPACION 😊

Apéndice VIII Protocolo utilizado en la 2-AFC (Alternative Forced Choice)

Juez	Ensayos	Muestras	y códigos
1	1	A= 102	B=876
	2	B=097	A=308
	3	A=901	B=739
2	1	A= 210	B=692
	2	B=342	A=109
	3	B=402	A=654
3	1	A=341	B=134
	2	B=566	A=297
	3	B=764	A=104
4	1	B=341	A=134
	2	A=566	B=297
	3	B=764	A=104
5	1	B=201	A=072
	2	B=390	A=701
	3	A=756	B=192
6	1	A=443	B=189
	2	B=008	A=986
	3	A=367	B=276
7	1	B=098	A=123
	2	B=476	A=376
	3	A=190	B=987
7	1	B=098	A=123
	2	B=476	A=376
	3	A=190	B=987

Apéndice IX Formato para la prueba 2-AFC (Alternative Forced Choice)

NOMBRE: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES:

Deguste de izquierda a derecha cada una de las muestras que a continuación se presentan una es más astringente que la otra. De acuerdo a su percepción identifique la muestra más astringente y marque por medio de una cruz en el código de la muestra correspondiente. Enjuague bien su boca antes de iniciar la degustación y entre cada ensayo.

Ensayo	Muestras	
1	234	056
2	453	282
3	382	872

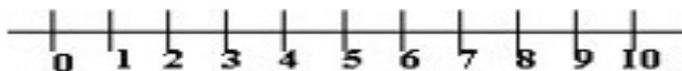
¡GRACIAS! 😊

Apéndice X Formato para la prueba de intensidad (escala 11 puntos)

NOMBRE: _____ FECHA: _____

INSTRUCCIONES:

Deguste cada una de las muestras que a continuación se presentan. De acuerdo a su percepción favor de marcar con una línea vertical sobre la línea horizontal indicando el código correspondiente de la muestra el punto que mejor describa el atributo astringencia; considerando que 0= nula astringencia detectable y 10= máxima astringencia detectable. Enjuague bien su boca antes de iniciar la degustación y entre cada ensayo.

**¡GRACIAS POR TU VALIOSA PARTICIPACION!!!**

