

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano**  
**Departamento de Agroindustria Alimentaria**  
**Ingeniería en Agroindustria Alimentaria**



Proyecto Especial de Graduación  
**Cuantificación de flavonoides totales, azúcares y capacidad  
antioxidante de los granos de café verde (*Coffea arabica var*)  
desmucilaginados y remojados en agua con ácidos orgánicos**

Estudiante

Nohelys Nicole Camaño Flores

Asesores

Luis Fernando Maldonado, Ph.D

Jorge Cardona, Ph.D

Honduras, noviembre 2021

**Autoridades**

**TANYA MÜLLER GARCÍA**

Rectora

**ANA M. MAIER ACOSTA**

Vicepresidenta y Decana Académica

**ADELA M. ACOSTA MARCHETTI**

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

**HUGO ZAVALA MEMBREÑO**

Secretario General

## Contenido

Índice de Cuadros .....	5
Índice de Figura.....	6
Resumen .....	7
Abstract.....	8
Introducción.....	9
Materiales y Métodos.....	12
Ubicación del Estudio.....	12
Origen del Café y Tratamientos .....	12
Preparación de la Muestra.....	12
Diseño Experimental.....	13
Obtención del Extracto Acuoso del Café .....	13
Análisis de Perfil de Azúcares por HPLC (AOAC 982.14) .....	14
Análisis de Color (AN 1018.00) .....	14
Determinación de la Actividad Antioxidante en Extracto Acuoso.....	14
Resultados y Discusión.....	16
Análisis Químicos .....	16
Análisis de Flavonoides .....	16
Análisis de Perfil de Azúcares.....	20
Análisis de Actividad Antioxidante.....	22
Actividad Antioxidante.....	22
Análisis Físicos.....	25
Análisis de Color.....	25

Conclusiones ..... 28

Recomendaciones ..... 29

Referencias ..... 30

### Índice de Cuadros

Cuadro 1 Descripción de tratamientos. ....	12
Cuadro 2 Contenido de flavonoides totales del café verde con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido, expresados en mg equivalentes a catequina/g de café verde. ...	17
Cuadro 3 Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre el contenido de flavonoides totales. ....	18
Cuadro 4 Contenido del disácarido sacarosa cuantificado vía HPLC en el café verde con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido, expresados en porcentaje. ....	20
Cuadro 5 Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre el contenido de sacarosa en el café verde con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido. ....	21
Cuadro 6 Actividad antioxidante medido por el ensayo de DPPH en las muestras de café verde expresado como mM equivalentes a ácido gálico/ g muestra de café verde. ....	23
Cuadro 7 Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre de actividad antioxidante medido por el ensayo de DPPH en las muestras de café verde expresado como mM EAG/ g. ....	23
Cuadro 8 Actividad captadora de radicales medido por el ensayo de DPPH en las muestras de café verde expresado como porcentaje. ....	24
Cuadro 9 Resultados en la escala L, a, b de análisis de color en cafés verdes con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido. ....	26
Cuadro 10 Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre los parámetros de L, a y b de los granos de café verde desmucilaginados y remojados en agua con ácidos orgánicos. ....	27

**Índice de Figura**

Figura 1 Gráfica de contenido de flavonoides (mg EC/g de café verde).....	18
---	----

## Resumen

Los ácidos orgánicos son compuestos bioactivos que se producen naturalmente durante la fermentación convencional, por lo cual, el café posee características únicas en el perfil de taza final. El fermentado y lavado convencional requiere altas cantidades de agua y genera agua mieles que tienen efectos contaminantes. Estudios indican que el desmucilaginado mecánico con remojo en ácidos orgánicos, desarrolla patrones similares a los de la fermentación. Este estudio evaluó el efecto del remojo en agua con diluciones (0.01 M), de ácidos orgánicos posterior al desmucilaginado mecánico en las propiedades físico químicas de los granos de café. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con un arreglo factorial ( $2 \times 4 + 2$ ) de tratamientos, los datos se analizaron con LSMEANS para encontrar interacciones entre factores y LSD de Fisher para comparar las medias de los factores con un nivel de significancia de 95%. Se cuantificó las propiedades químicas (Flavonoides, azúcares, capacidad antioxidante) mediante cromatografía líquida y espectrofotometría del extracto de café en verde. La cantidad de flavonoides en este estudio, estuvo en el rango de 22.00 a 35.16 mg EC/g. El extracto de café verde tuvo una actividad antioxidante superior al 80.87%. Por otra parte, el perfil de azúcar del extracto de café verde variedad Arábica, corresponde al disacárido sacarosa en un porcentaje entre 4 a 5%. Los resultados demostraron que el remojo en soluciones ácidas incrementa la capacidad antioxidante, el contenido de flavonoides y aumenta el porcentaje de azúcares. Su contenido dependerá del tipo de beneficiado, solución ácida utilizada y tiempo en remojo.

*Palabras clave:* Beneficio húmedo, compuestos bioactivos, extracto de café, solución ácida.

### Abstract

Organic acids are bioactive compounds that are naturally produced during conventional fermentation, which is why the coffee has unique characteristics in the final cup profile. Conventional fermenting and washing requires high amounts of water and generates honeys water that have contaminating effects. Studies indicate that mechanical demucilagination with soaking in organic acids develops patterns similar to those of fermentation. This study evaluated the effect of soaking in water with dilutions (0.01 M) of organic acids after mechanical demucilagination on the physicochemical properties of green coffee beans. A Completely Randomized Design (CRD) was used, with a factorial arrangement ( $2 \times 4 + 2$ ) of treatments, using LSMEANS to find interactions between factors and Fisher's LSD to compare the means of the factors with a significance level of 95%. Chemical properties (Flavonoids, sugars, antioxidant capacity) were quantified by liquid chromatography and spectrophotometry of green coffee extract. The amount of flavonoids in this study was in the range of 22.00– to 35.16 mg EC/g. The green coffee extract had an antioxidant activity greater than 80.87%. On the other hand, the sugar profile of the green coffee extract Arabica variety corresponds to the disaccharide sucrose in a percentage between 4 to 5%. The results showed that soaking in acid solutions increases the antioxidant capacity, the flavonoid content and increases the percentage of sugars. Its content will depend on the type of processing, acid solution used and soaking time.

*Key words:* Acid solution, bioactive compounds, coffee extract, wet milling.

## Introducción

El café es uno de los cultivos tropicales masivos en los países en desarrollo. *Coffea arabica*, pertenece al género *Coffea* de la familia Rubiaceae. Es conocida como la especie de *Coffea* más ampliamente reconocida y creada, sumando más del 75% de toda la creación de *Coffea*. Sus compuestos son una mezcla compleja de diferentes sustancias químicas que tienen muchos beneficios para la salud (Sorane Good Kitzberger *et al.* 2020). El café es una de las bebidas más populares en todo el mundo y se ha convertido en el producto comercializado más importante después del petróleo. Se estima que el café es cultivado por más de 25 millones de agricultores. Los cafetos se cultivan ampliamente en las regiones tropicales y subtropicales de África, el sudeste asiático, América Central y América del Sur. La producción mundial anual de café para el periodo 2019-2020 fue de 165 millones de sacos de 60 kg de café (Toledo V 2012).

Honduras es el mayor productor de café de Centroamérica y el quinto a nivel mundial. Se estima que para la cosecha 2020-2021, se exportarán unos 8 millones de quintales del grano (IHCAFE 2018). El café representa para Honduras más del 5 % del producto interno bruto (PIB) y cerca del 30 % del PIB agrícola, de acuerdo con cifras oficiales. Sunarharum *et al.* (2014), indica que la demanda de café especiales de alta calidad para el consumo, aumenta continuamente no sólo en los países consumidores (Importadores), sino también en los países productores (Exportadores). En los últimos años, la categoría de cafés certificados y especiales de Honduras pasó de tener una participación mínima en la producción y exportación, a ocupar el interés de un gran segmento del mercado. Es así como durante la cosecha 2017-2018 se exportaron 3.6 millones de sacos de café oro diferenciado que correspondió al 38.92% del total de sacos exportados (Forum del Café 2021).

La bebida de café es una fuente rica en compuestos bioactivos, especialmente polifenoles, como los ácidos fenólicos (Presentes en granos de café verde) y cafeicos (Que ocurren después del tostado). La composición bioquímica del café verde depende principalmente de la variación genética y de la maduración del grano (Dessalegn *et al.* 2008). La cafeína, los compuestos fenólicos

(Flavonoides, lignanos, estibenos, ácidos clorogénicos y ácidos fenólicos), la sacarosa y la trigonelina, son compuestos bioquímicos conocidos del café que se han utilizado para la caracterización de las especies de café y que son precursores del aroma y sabor Ky *et al.* (2001) Dichos compuestos pueden verse afectados durante el beneficiado y procesamiento, ya que, este afectará las diferentes reacciones metabólicas en los frutos del café y a su vez las composiciones químicas de los granos.

Existen distintos métodos para el beneficio del café, básicamente lo que se desea es convertir el grano en pergamino seco, siendo una parte importante la remoción del mucílago. Esta remoción puede ser por fermentación natural y/o lavado. Durante el beneficio del café se estima que el consumo global de agua es cercano a los 40 litros por cada kilogramo de café pergamino seco, por lo cual, se deben implementar el uso de nuevas tecnologías para estos procesos. Adicional al consumo de agua, durante el lavado se remueve el mucílago del café, que se describe como una capa viscosa cargada de pectinas, azúcares y otros compuestos orgánicos, que al mezclarse con el agua durante el lavado generan una elevada demanda química de oxígeno, contaminando afluentes si no se le da un debido tratamiento a las aguas residuales (Class M 2003).

El desmucilaginado mecánico, es una alternativa que se puede utilizar en el proceso de beneficio del café. Adicionalmente, el remojo de los granos en ácidos orgánicos puede disminuir el uso de agua durante la cadena de producción de café. Retes R (2021) indicó que el uso de agua para el desmucilaginado mecánico más el remojo en ácidos orgánicos no representó ni el 10% del total de agua necesaria para el proceso convencional de fermentación y lavado, manteniendo así la finalidad ecológica y sostenible al reducir el consumo y contaminación de agua en la postcosecha del café. Dicho estudio también concluye que el remojo del café en soluciones ácidas mantuvo las características del café en términos sensoriales con respecto al café fermentado.

En la actualidad se carece de información sobre las investigaciones realizadas para cuantificar la correlación cualitativa entre el método de beneficio del café, los atributos de calidad de

la taza final y la composición bioquímica de los granos de café verde y tostado, por lo que, este estudio tuvo como objetivos:

Cuantificar el contenido de flavonoides totales y la capacidad antioxidante de granos de café verde desmucilaginosos y en remojo con ácidos orgánicos.

Evaluar el efecto del tiempo y tipo de ácidos orgánicos durante el remojo en las físico-químicas del café.

Determinar y cuantificar el tipo de azúcares presentes en los granos de café verde.

## Materiales y Métodos

### Ubicación del Estudio

La investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ) de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano ubicado en el kilómetro 30 de la carretera de Tegucigalpa a Danlí, Valle de Yeguaré, San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras.

### Origen del Café y Tratamientos

El Cuadro 1 describe los tratamientos que consistieron en granos de café verde desmucilaginosos mecánicamente, los cuales fueron sometidos a dos tiempos de remojo, de 24 y 48 horas, y cuatro soluciones de remojo en ácidos orgánicos (Ácido cítrico, ácido ascórbico, ácido acético y solo agua). Adicionalmente, se utilizaron dos tratamientos testigos, siendo estos desmucilaginosos mecánicos sin remojo ni ácido y fermentación/lavado sin remojo ni ácidos.

### Cuadro 1

*Descripción de tratamientos.*

Desmucilaginoso	Número del tratamiento	Tipo de ácido	Horas de remojo
Mecánico	1	Cítrico	24
	2		48
	3	Ascórbico	24
	4		48
	5	Acético	24
	6		48
	7	Solo agua	24
	8		48
	9 <sup>2</sup>	Ninguno	0
	10 <sup>2</sup>	Ninguno	0

*Nota.* <sup>2</sup>Control, sin remojo ni adición de ácido.

### Preparación de la Muestra

Las muestras de café de grano verde fueron molidas mecánicamente en dos etapas. En la primera etapa se utilizó un molino marca Perten 3310 y en la segunda etapa, fueron pulverizadas en un molino marca FOSS CT 193 Cyclotex TM, utilizando un tamiz de 0.5 mm. Las muestras fueron almacenadas en frascos de vidrio color ámbar hasta el momento de su análisis.

### **Diseño Experimental**

El estudio se basó en cuatro análisis entre ellos físicos y químicos. Para el análisis de color, azúcares, determinación de flavonoides totales y capacidad antioxidante se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con un arreglo factorial ( $2 \times 4 + 2$ ) de 10 tratamientos. Se realizaron cuatro repeticiones por cada tratamiento para un total de 40 unidades experimentales. Los datos fueron analizados con el programa SAS® Versión 9.4, a través de un análisis de varianza y una separación de medias LSD de Fisher para comparar las medias de los factores, y LSMEANS para comparar las interacciones entre factores, usando una probabilidad del 95%.

### **Obtención del Extracto Acuoso del Café**

Se pesó un gramo de cada muestra de harina de café verde y se colocó en tubos cónicos de centrifugación, se disolvió con 50 mL de agua desionizada a 90 °C. Se mantuvo la temperatura a 90 °C en baño maría por 10 min. Después de esto las muestras fueron centrifugadas a 3500 por 5 minutos y se realizaron los análisis al sobrenadante.

### **Determinación de Flavonoides en Extracto Acuoso**

Los flavonoides totales se determinaron siguiendo la metodología reportada por Zhishen *et al.* (1999), con algunas modificaciones. Brevemente, se extrajeron 600 µL del extracto acuoso de cada muestra de café verde. Se le colocaron a cada muestra 2.58 mL de la solución A, compuesta por: 1.8 mL de NaNO<sub>2</sub> al 5% más 24 mL de agua desionizada. Se dejó reposar por 5 min y luego se adicionó 180 µL de AlCl<sub>3</sub> al 10%. Se dejó reposar por 1 min. Por último, se adicionó 2.52 mL de la solución B, compuesta por: 12 mL de NaOH 1M más 14.4 mL de agua desionizada. Luego se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies, EUA) a 415 nm. Se construyó una curva de calibración de catequina (Sigma-Aldrich Inc, MO, EUA) con concentraciones de 50, 200, 400, 600, 800 y 1000 ppm ( $R^2=9998$ ), disueltos en agua desionizada. Los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de catequina por gramo de café verde (mg EC/g café verde).

### **Análisis de Perfil de Azúcares por HPLC (AOAC 982.14)**

El análisis se inició pesando un gramo de muestra de cada unidad experimental. En matraces volumétricos, se colocó la muestra y se le añadió 100 mL de solución de agua desionizada más etanol en partes iguales (1:1), la cual fue previamente filtrada utilizando filtros de membranas de Nylon (0.45  $\mu\text{m}$   $\times$  47 mm) de la marca Agilent Technologies. La mezcla fue sometida a baño maría a una temperatura entre 80 - 85 °C durante 45 minutos. Finalizado el tiempo, se dejaron reposar las muestras, se homogenizaron y se aforaron con la solución filtrada de agua más etanol. Del matraz de cada muestra, se extrajeron 3 mL haciendo uso de una pipeta y se colocó en una jeringa con filtro de nylon de 0.45  $\mu\text{m}$  marca Agilent Technologies. El contenido se expulsó a través de la jeringa hacia los viales de lectura. Se utilizó un equipo HPLC (High Performance Liquid Chromatography) con un detector de índice de refracción (RID, por sus siglas en inglés), de la marca Agilent Technologies. Se prepararon estándares para fructosa, glucosa, sacarosa, maltosa, lactosa y galactosa, para la cuantificación de los azúcares presentes. Se utilizó una guarda columna Hi Plex 50  $\times$  7.7 mm y una columna Hi Plex Ca 300  $\times$  7.7 mm 8  $\mu\text{m}$  a 85 °C para la segregación de azúcares en el HPLC. La velocidad del flujo fue de 0.6 mL/min, con un tiempo de corrida de 60 min y un volumen de inyección de 20  $\mu\text{L}$ . El análisis de datos se efectuó con el software Agilent Chemstation Software 2003 para sistemas de cromatografía y Microsoft Office Excel Professional Plus® 2016.

### **Análisis de Color (AN 1018.00)**

Se evaluó el color de las 40 unidades experimentales por medio del equipo Colorflex hunter L a b. Los valores hacen referencia a los colores en tres ejes de coordenadas L, a, b. Siendo L (0 - 100) para luminosidad, a (60 a -60) y b (+60 a -60), los cuales representan la intensidad del color.

### **Determinación de la Actividad Antioxidante en Extracto Acuoso**

La actividad antioxidante de los extractos de café fue medida en términos de reducción del radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH). La solución de DPPH (Sigma-Aldrich, MO, EUA), se preparó siguiendo la metodología previamente reportada por Trandafir *et al.* (2013) y Ricci *et al.* (2019), con

algunas modificaciones. Brevemente, la solución de DPPH se elaboró al 0.004% (w/v). Seguido, a 2.50 mL de solución metanólica de DPPH, se le adicionó 50  $\mu$ L del extracto acuoso de café y se agitó vigorosamente, se dejó incubar por 30 minutos a 27°C. Luego se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS (Cary 8454, Agilent Technologies) a 517 nm. La actividad antioxidante (Por inhibición del radical DPPH) se determinó según la Ecuación 1 (Shen et al. 2013).

$$\text{Porcentaje de inhibición} = \left( \frac{A_0 - A_s}{A_0} \right) * 100 \quad [1]$$

Donde:

$A_0$  = Absorbancia inicial de DPPH al tiempo de 0 minutos

$A_s$  = Absorbancia final al tiempo de 30 minutos

Además, se construyó una curva de calibración de catequina con concentraciones de 0.2, 0.4, 0.6, 0.7 mM de ácido gálico, disueltos en agua desionizada ( $R^2 = 9974$ ). Los resultados fueron expresados en mM equivalentes de ácido gálico por gramo de café (mg EAG/g café verde).

## Resultados y Discusión

### Análisis Químicos

#### *Análisis de Flavonoides*

Dentro del perfil bioactivo del café, los compuestos fenólicos tienen un papel importante. Los compuestos fenólicos son productos del metabolismo secundario de las plantas, los cuales están estrechamente relacionados con efectos benéficos en el organismo de quien los consume, además son responsables de otras propiedades en el producto, como el color y el sabor (Cheynier 2005). La familia de polifenoles es el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en alimentos de origen vegetal como bayas, uvas, granos de café, cacao, té (*Camellia sinensis*), entre otros (Quiñones *et al.* 2012). Durante los últimos años, se ha puntualizado y evaluado los beneficios de ingerir bebidas a base de café y té gracias a la presencia de los fenoles y flavonoides. Los compuestos fenólicos en café y té se clasifican en flavonoides, lignanos, estibenos, ácidos clorogénicos y ácidos fenólicos, presentándose en mayor concentración los flavonoides, en especial los flavonoles y los ácidos fenólicos (Wang y Ho 2009; Ferruzzi 2010). Los flavonoides son un grupo de sustancias naturales con estructuras fenólicas variables que actualmente se consideran un componente indispensable en una variedad de aplicaciones nutracéuticas, farmacéuticas, medicinales y cosméticas.

En términos generales, los resultados en el Cuadro 2, indican que el desmucilaginado mecánico con remojo entre 24 a 48 horas, tiene un efecto positivo sobre las características químicas del café verde. Esto concuerda con Velmourougane (2011), quién indica que, durante el beneficiado húmedo, el remojo en agua es uno de los pasos importantes que se siguen en la producción de café de calidad en la India, puesto que permite la lixiviación de algunos compuestos químicos (Diterpenos, polifenoles, taninos) responsables del amargor y del oscurecimiento de los granos de café, incrementando compuestos como los flavonoides. Esto concuerda con García-Mier *et al.* (2013),

quienes indican que la aplicación de ácidos orgánicos genera una reacción que puede elevar el contenido de compuestos fenólicos y por ende flavonoides totales.

## Cuadro 2

*Contenido de flavonoides totales del café verde con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido, expresados en mg equivalentes a catequina/g de café verde.*

Desmucilaginado	Ácido	Remojo (h)	Flavonoides (mg EC/g café) ± D.E	
Mecánico	Cítrico	24	32.95 ± 3.04 <sup>A</sup>	
		48	35.10 ± 2.31 <sup>A</sup>	
	Ascórbico	24	32.39 ± 2.49 <sup>A-B</sup>	
		48	33.95 ± 1.86 <sup>A</sup>	
	Acético	24	31.80 ± 3.08 <sup>A-B</sup>	
		48	32.39 ± 2.49 <sup>A-B</sup>	
	Solo agua	24	35.16 ± 3.49 <sup>A</sup>	
		48	28.95 ± 2.56 <sup>B-C</sup>	
		<sup>Y</sup> Ninguno	0	22.04 ± 1.59 <sup>D</sup>
	<sup>Z</sup> Fermentado	Ninguno	0	27.74 ± 1.78 <sup>C</sup>
C.V (%)			8.03	

*Nota.* <sup>A-D</sup> Medias seguidas de letras distintas indican diferencias entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). C.V: Coeficiente de Variación. D.E.

Desviación Estándar. <sup>Z</sup>Control fermentado, sin ácido ni remojo. <sup>Y</sup>Control desmucilaginado mecánico sin ácido ni remojo. mg EC/g café: Miligramos equivalentes de catequina por gramo de café verde.

En el Cuadro 3, se presentaron diferencias significativas para el tipo de remojo ( $P = 0.0170$ ) y la interacción del tipo de remojo con el tiempo ( $P = 0.0091$ ), lo que se puede corroborar con el Cuadro 2, el cual indica que los tratamientos con desmucilaginado mecánico sin remojo y fermentado obtuvieron las cantidades de flavonoides más bajas. En un estudio sobre el efecto ácido benzoico sobre el contenido de flavonoides en los germinados de trigo, Salas-Pérez *et al.* (2016), evidenciaron que el mayor contenido de flavonoides se obtuvo con la concentración de  $10^{-2}$  M de ácido benzoico, lo cual fue 252% más que lo obtenido por el control. Lo que coincide con el Cuadro 2, en donde si se compara el contenido de flavonoides encontrados en el café verde desmucilaginado y remojado en ácido cítrico por 48 horas, hay un incremento del 26.53% de contenido de flavonoides más que el control fermentado sin remojo. En adición, Guevara y Torres (2006), indican que el ácido cítrico incrementa la síntesis de metabolitos secundarios como flavonoides lo cual concuerda con los resultados de este estudio.

### Cuadro 3

Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre el contenido de flavonoides totales.

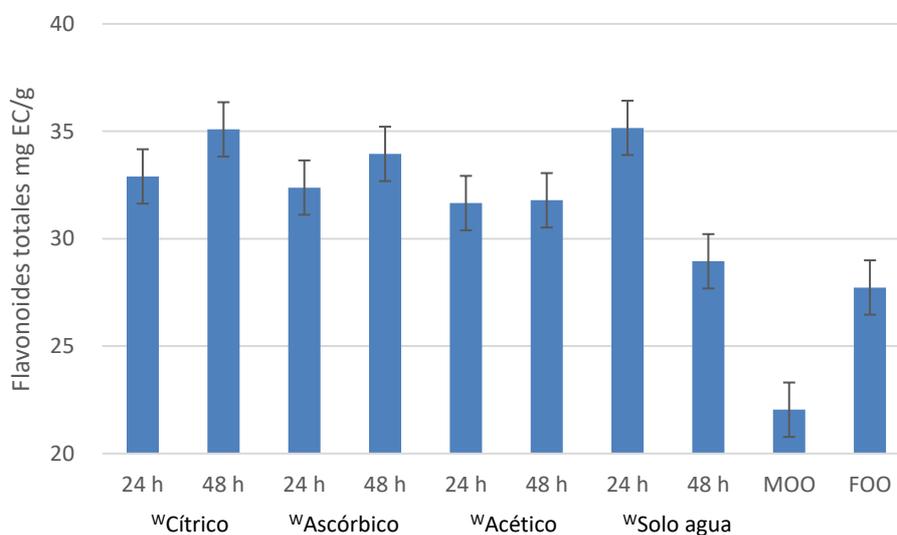
Parámetro	Probabilidad
Tipo de remojo	0.0170
Tiempo de remojo (horas)	0.5128
Tipo de remojo*Tiempo de remojo	0.0091
C.V (%)	8.03

Nota. C.V: Coeficiente de Variación.

Por otra parte, la Figura 1 muestra el contenido de flavonoides en los granos de café verde de este estudio. El contenido de flavonoides fue de 22.00 a 35.16 mg EC/g. Pacheco-Coello *et al.* (2020), reportó valores de flavonoides totales de 32.01 mg EC/g para granos verdes de café previo al proceso de tostado (*Coffea arabica*), cultivados durante el año 2019 en el estado Miranda, Venezuela.

### Figura 1

Gráfica de contenido de flavonoides (mg EC/g de café verde).



Nota. <sup>w</sup>Desmucilaginado mecánico con remojo en ácido. <sup>z</sup>Control fermentado, sin ácido ni remojo. <sup>y</sup>Control desmucilaginado mecánico sin ácido ni remojo.

Seguido, las muestras de café verde que pasaron por el proceso de fermentación obtuvieron cantidades bajas de flavonoides (27.73 mg EC/g), en comparación con las muestras de café verde que fueron desmucilaginadas mecánicamente y remoizadas. Esto puede deberse a que la fermentación fue

más eficaz para sinterizar otros compuestos fenólicos solubles diferentes a los flavonoides (Kwak *et al.* 2018).

En cuanto a las muestras que no fueron remojadas en ningún tipo de ácido orgánico estas obtuvieron las cantidades más bajas de flavonoides (22.04 mg EC/g), por lo cual, se puede observar que los ácidos orgánicos si tienen un efecto positivo sobre la cantidad de flavonoides en los granos verdes de café. Velmourougane (2011), realizó un estudio en donde desmucilaginó mecánicamente granos de café y los remojó en ácidos orgánicos. En dicho estudio se reportó que el mejor remojo en ácido orgánico correspondió al ácido cítrico y que en general, todos los tratamientos de granos de café remojados en ácidos orgánicos, obtuvieron una mejora en el aspecto y calidad del licor del café respecto al control.

Para la extracción de los flavonoides totales en este estudio, se utilizó agua destilada a 90 °C por 10 minutos. Muzykiewicz-Szymańska *et al.* (2021), indica que en la mayoría de los casos la infusión a 90 °C contribuye a extraer un mayor contenido de flavonoides. Hudáková *et al.* (2016), informaron del mayor contenido de flavonoides en el café variedad Arábica sin tostar. Sin embargo, Odžaković *et al.* (2016), confirmaron que el mayor contenido de flavonoides se encuentra en el café de tueste oscuro, mientras que las otras variedades fueron más beneficiosas en el café de tueste ligero y medio. Esto coincide con Díaz *et al.* (2018), quien describe que el proceso de tostado durante 5.5 y/o 6.5 minutos, permite una alta retención de compuestos antioxidantes como los flavonoides totales, fenoles, taninos condensados y una importante capacidad antioxidante en los granos de café.

Adicionalmente, la cafeína, ácidos clorogénicos y los flavonoides son responsables de conferir sabor amargo al café por su contenido de fenoles en su estructura (Díaz *et al.* 2018). No obstante, la cantidad de flavonoides totales dependerá de la variedad del café, metodología para su extracción, métodos de producción y procesamiento.

### Análisis de Perfil de Azúcares

Los hidratos de carbono o carbohidratos, son los compuestos orgánicos más abundantes en la naturaleza, se encuentran principalmente en el reino vegetal y se pueden clasificar en monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos. El contenido y naturaleza de estos carbohidratos es primordial en los granos de café verde, debido a su influencia sobre el desarrollo del sabor y la pigmentación durante el proceso de tueste (Gimase *et al.* 2014).

El Cuadro 4 muestra la identificación y cuantificación de los azúcares, se realizó a través de la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés), en donde se pudo determinar que los azúcares en todas las muestras de café verde corresponden al perfil de sacarosa. El disacárido sacarosa se presentó en un tiempo promedio de retención de 5.62 minutos.

#### Cuadro 4

*Contenido del disacárido sacarosa cuantificado vía HPLC en el café verde con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido, expresados en porcentaje.*

Desmucilaginado	Ácido	Remojo (h)	Sacarosa (%) ± D.E	
Mecánico	Cítrico	24	4.81 ± 0.31 <sup>A-B</sup>	
		48	5.01 ± 0.28 <sup>A</sup>	
	Ascórbico	24	4.46 ± 0.08 <sup>C-D</sup>	
		48	5.08 ± 0.29 <sup>A</sup>	
	Acético	24	4.33 ± 0.04 <sup>D</sup>	
		48	4.63 ± 0.25 <sup>B-C</sup>	
	Solo agua	24	4.38 ± 0.07 <sup>C-D</sup>	
		48	4.49 ± 0.26 <sup>C-D</sup>	
		<sup>Y</sup> Ninguno	0	4.52 ± 0.08 <sup>B-C-D</sup>
	<sup>Z</sup> Fermentado	Ninguno	0	4.42 ± 0.10 <sup>C-D</sup>
	C.V (%)			4.40

*Nota.* <sup>A-D</sup> Medias seguidas de letras distintas indican diferencias entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). C.V: Coeficiente de Variación. D.E. Desviación Estándar. <sup>Z</sup>Control fermentado, sin ácido ni remojo. <sup>Y</sup>Control desmucilaginado mecánico sin ácido ni remojo. Se analizaron otros azúcares (Galactosa, fructosa, maltosa, glucosa, lactosa), pero estaban por debajo del límite de detección. Límite de detección: 0.5/100g

En las muestras de café verde analizadas el porcentaje de sacarosa estuvo en un rango de 4 a 5%. Este porcentaje es similar a los obtenidos por Ramalakshmi *et al.* (2008), quienes especificaron que la sacarosa fue el principal carbohidrato presente en los granos de café verde (Var. Arábica) en un rango de 3 a 5%. El porcentaje o contenido de sacarosa en los granos de café verde es de mucha

importancia, puesto que, la sacarosa es el principal contribuyente de azúcares que están implicados en las reacciones de caramelización que se producen durante el proceso de tostado (Grosch 2001) y a su vez sobre los atributos de fragancia, sabor, cuerpo, acidez, dulzor, limpieza y balance de la taza.

Retes R (2021), estudió y describió los atributos mencionados anteriormente, mediante un análisis sensorial (Catación), en donde al comparar la vía de desmucilaginado y los tiempos de remojo de los tratamientos que pasaron por el desmucilaginado mecánico se observaron diferencias significativas ( $P = 0.014$ ) en las variables aroma, sabor, postgusto y puntaje total.

La separación de medias del análisis de perfil de azúcares (Cuadro 5), indica que entre el factor tipo de remojo y el tiempo de remojo se presentaron diferencias significativas ( $P = 0.0003$ ) sobre el porcentaje de azúcar.

#### **Cuadro 5**

*Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre el contenido de sacarosa en el café verde con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido.*

Factor	Probabilidad
Tipo de remojo	0.0003
Tiempo de remojo (horas)	0.0003
Tipo de remojo*Tiempo de remojo	0.0781
C.V (%)	1.57

*Nota.* C.V: Coeficiente de Variación.

Estas diferencias pueden ser observadas en el porcentaje de sacarosa que se obtuvo con el remojo ácido ascórbico ( $5.08 \pm 0.29$  %) durante 48 horas y el porcentaje de sacarosa que se obtuvo con el remojo en ácido acético ( $4.33 \pm 0.04$  %) durante 24 horas. Así mismo, se presentaron diferencias significativas en el factor tiempo de remojo ( $P = 0.0003$ ). En el Cuadro 4, se puede identificar que el tiempo de remojo durante 48 horas aumenta el porcentaje de azúcar. Sin embargo, la interacción de los factores tipo de ácido y tiempo de remojo (Cuadro 5) no presentaron diferencias significativas sobre el tipo de desmucilaginado ( $P = 0.0781$ ).

## **Análisis de Actividad Antioxidante**

### ***Actividad Antioxidante***

Los oxidantes son compuestos con tendencia a donar oxígeno a otras sustancias. Muchas especies reactivas de oxígeno son radicales libres. Un radical libre es cualquier especie química que tiene uno o más electrones no apareados Benítez-Estrada *et al.* (2020). Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, contrarrestan los radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno y se cree que ayudan a prevenir o retardar la progresión de muchas enfermedades no transmisibles que afectan a los seres humanos (Sun y Johnson 2015). La capacidad antioxidante se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas (< 1%, comúnmente 1-1000 mg/L). Su medición es útil para valorar la calidad de un alimento, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano (López-Alarcón y Denicola 2013).

Existen diferentes métodos para cuantificar la capacidad antioxidante que tiene un alimento. La cuantificación de la capacidad antioxidante de los extractos de café verde se realizó mediante el método espectrofotométrico y el ensayo que utiliza el radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo conocido por las siglas DPPH.

En el Cuadro 6, se puede observar que la capacidad antioxidante en los granos de café verde desmucilaginosos y remojados en ácidos orgánicos es significativamente diferente a la presente en el café fermentado. Esto puede atribuirse a que naturalmente el ácido cítrico, ascórbico y acético poseen propiedades antioxidantes. Así mismo, Córdoba y Guerrero (2016) describen que durante el proceso de fermentación del café se generan metabolitos como el ácido láctico y su concentración incrementa después de las 12 horas. Por lo tanto, las muestras de café fermentadas posiblemente aumentaron su capacidad antioxidante por el ácido láctico que se generó durante la fermentación.

**Cuadro 6**

*Actividad antioxidante medido por el ensayo de DPPH en las muestras de café verde expresado como mM equivalentes a ácido gálico/ g muestra de café verde.*

Desmucilaginado	Ácido	Remojo (h)	Actividad antioxidante mM EAG/g $\pm$ D.E	
Mecánico	Cítrico	24	32.26 $\pm$ 0.40 <sup>A</sup>	
		48	30.67 $\pm$ 0.98 <sup>C-D</sup>	
	Ascórbico	24	31.13 $\pm$ 0.56 <sup>B-C-D</sup>	
		48	30.70 $\pm$ 0.77 <sup>B-C-D</sup>	
	Acético	24	31.34 $\pm$ 0.34 <sup>A-B-C</sup>	
		48	30.36 $\pm$ 0.55 <sup>D-E</sup>	
	Solo agua	24	29.67 $\pm$ 0.26 <sup>E</sup>	
		48	30.60 $\pm$ 0.95 <sup>C-D-E</sup>	
	<sup>Y</sup> Ninguno	Ninguno	0	30.67 $\pm$ 0.36 <sup>C-D</sup>
	<sup>Z</sup> Fermentado	Ninguno	0	31.61 $\pm$ 0.54 <sup>A-B</sup>
C.V (%)			2.08	

*Nota.* <sup>A-E</sup> Medias seguidas de letras distintas indican diferencias entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). C.V: Coeficiente de Variación. D.E.

Desviación Estándar. <sup>Z</sup>Control fermentado, sin ácido ni remojo. <sup>Y</sup>Control desmucilaginado mecánico sin ácido ni remojo. mM EAG/g café:

Milimolares equivalentes de ácido gálico por gramo de café verde.

El Cuadro 7, indica que se presentaron diferencias significativas ( $P = 0.0403$ ) entre el tipo y tiempo de remojo. Estas se pueden percibir en el tratamiento de desmucilaginado mecánico remojado en ácido cítrico durante 24 horas ( $32.26 \pm 0.40$  mM EAG/g café) y en el tratamiento de desmucilaginado mecánico remojado solo en agua durante 24 horas ( $29.67 \pm 0.26$  mM EAG/g café).

**Cuadro 7**

*Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre de actividad antioxidante medido por el ensayo de DPPH en las muestras de café verde expresado como mM EAG/g*

Factor	Probabilidad
Tipo de remojo	0.0036
Tiempo de remojo (horas)	0.0320
Tipo de remojo*Tiempo de remojo	0.0043
C.V (%)	2.08

*Nota.* C.V: Coeficiente de Variación.

Los resultados de la capacidad antioxidante no se relacionaron directamente con el contenido de flavonoides totales encontrados en las muestras. Esto indica que existen otros compuestos bioactivos en el café verde que están contribuyendo con la capacidad antioxidante.

### Actividad Captadora de Radicales.

Es la propiedad de una molécula de origen biológico o sintético para neutralizar la acción ejercida por un radical libre (Guija H 2019). Los radicales libres son un factor importante en daños biológicos y el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) se ha utilizado para evaluar la actividad captadora de radicales libres de antioxidantes naturales (Zhu *et al.* 2001). Mediante espectrofotometría se obtuvo la absorbancia inicial del DPPH y luego se midió el efecto de las muestras del extracto de café verde.

Como se muestra en el Cuadro 8, las muestras de café verde desmucilaginasadas y remojadas, así como, sus controles (Desmucilaginado mecánico sin remojo y fermentado), tuvieron una actividad captadora de radicales superior a 80.87%. Este porcentaje se asemeja a los reportados por Masek *et al.* (2020), en donde también encontraron una capacidad antioxidante del 81.6% en los extractos con agua de café verde para reducir los radicales DPPH.

### Cuadro 8

*Actividad captadora de radicales medido por el ensayo de DPPH en las muestras de café verde expresado como porcentaje.*

Desmucilaginado	Ácido	Remojo (h)	Actividad captadora de radicales (%) ± D.E
Mecánico	Cítrico	24	86.16 ± 0.83 <sup>A</sup>
		48	82.93 ± 2.01 <sup>C-D</sup>
	Ascórbico	24	83.86 ± 2.49 <sup>B-C-D</sup>
		48	82.99 ± 1.86 <sup>B-C-D</sup>
	Acético	24	84.29 ± 0.69 <sup>A-B-C</sup>
		48	82.29 ± 1.13 <sup>D-E</sup>
	Solo agua	24	80.87 ± 0.54 <sup>E</sup>
		48	82.77 ± 1.94 <sup>C-D-E</sup>
	Ninguno	0	82.92 ± 0.74 <sup>C-D</sup>
	Fermentado	Ninguno	0
C.V (%)			1.57

Nota. <sup>A-E</sup> Medias seguidas de letras distintas indican diferencias entre los tratamientos (P < 0.05). C.V: Coeficiente de Variación. D.E.

Desviación Estándar. <sup>1</sup>Control fermentado, sin ácido ni remojo. <sup>2</sup>Control desmucilaginado mecánico sin ácido ni remojo.

Consistente a diversos estudios, por naturaleza el café verde tiene mayor capacidad antioxidante que el café tostado. Esto puede atribuirse a que la capacidad o actividad antioxidante es proporcional al contenido de ácido clorogénico. Esta información fue corroborada por Lazcano-

Sánchez *et al.* (2015), quienes indicaron que sí existe una disminución en el contenido de ácido clorogénico, ésta afecta directamente la actividad antioxidante, ya que, en su estudio observó decremento en ambos parámetros en los granos de café con niveles de mayor tostado.

### **Análisis Físicos**

#### ***Análisis de Color***

El color es uno de los factores más importantes que influyen en los atributos sensoriales de los productos alimentarios y por tanto, desempeña un papel importante en la evaluación de la calidad de los alimentos por parte del consumidor (Dong *et al.* 2018). Wrolstad y Smith (2017), definen al color como una sensación experimentada por un individuo cuando la energía radiante entre el espectro visible (380-770 nm) hace contacto con la retina del ojo. Para la medición de color se utilizó el modelo Hunter L, a, b. En donde, valor de “L” es un indicador de luminosidad de tonos negros a blancos, en una escala de 0 a 100 respectivamente. El valor de “a” indica color entre verdes y rojos; en caso de que “a” sea un valor bajo, significa que la matriz posee colores más verdes (-) y un valor alto, colores más rojizos (+). El valor “b”, indica colores entre amarillo y azul, un valor bajo de “b” significa que la matriz posee colores azulados (-) y un valor alto de “b”, colores más amarillos (+).

En base a los resultados que corresponden al Cuadro 9 para los parámetros de L, a, b en este estudio, los valores para “L” fueron de 45.25 — 47.25, lo que significa que de acuerdo con su luminosidad, el color en general de los granos de café verde fue semioscuro. Para “a”, los valores fueron de 0.74 — 1.42, lo que hace énfasis en el color habitual del café verde y para “b”, los valores fueron de 14.44 — 18.04, cercano a la matriz de colores amarillentos. Esto concuerda con Ramalakshmi *et al.* (2008), quienes explican que los granos de café Arábica tienen un valor de color más alto que los de Robusta, esto se debe a la naturaleza verde brillante de las variedades Arábica.

**Cuadro 9**

Resultados en la escala L, a, b de análisis de color en cafés verdes con remojo en ácidos orgánicos y sus controles sin remojo ni ácido.

Desmucilaginado	Ácido	Remojo (h)	L	a	b
			Media ± D.E	Media ± D.E	Media ± D.E
Mecánico	Cítrico	24	45.53 ± 1.75 <sup>B</sup>	1.01 ± 0.20 <sup>B-C</sup>	15.28 ± 1.46 <sup>B-C</sup>
		48	45.89 ± 1.26 <sup>B</sup>	0.75 ± 1.75 <sup>B-C-D</sup>	15.26 ± 0.52 <sup>B-C</sup>
	Ascórbico	24	46.19 ± 0.96 <sup>A-B</sup>	0.66 ± 0.12 <sup>C-D</sup>	15.95 ± 0.11 <sup>B</sup>
		48	46.45 ± 1.13 <sup>A-B</sup>	0.64 ± 0.42 <sup>D</sup>	15.53 ± 0.89 <sup>B-C</sup>
	Acético	24	45.31 ± 0.39 <sup>B</sup>	0.74 ± 0.16 <sup>B-C-D</sup>	14.84 ± 0.50 <sup>B-C</sup>
		48	45.39 ± 1.17 <sup>B</sup>	1.10 ± 0.23 <sup>A-B</sup>	14.44 ± 0.54 <sup>C</sup>
Solo agua	24	46.51 ± 1.38 <sup>A</sup>	0.83 ± 0.18 <sup>B-C-D</sup>	15.61 ± 0.99 <sup>B-C</sup>	
	48	45.83 ± 0.86 <sup>B</sup>	0.96 ± 0.28 <sup>B-C-D</sup>	14.80 ± 0.34 <sup>B-C</sup>	
Ninguno	0	45.25 ± 1.68 <sup>B</sup>	1.05 ± 0.50 <sup>A-B</sup>	15.20 ± 1.83 <sup>B-C</sup>	
	0	47.25 ± 0.88 <sup>A</sup>	1.42 ± 0.34 <sup>A</sup>	18.04 ± 0.38 <sup>A</sup>	
Fermentado	Ninguno	0	47.25 ± 0.88 <sup>A</sup>	1.42 ± 0.34 <sup>A</sup>	18.04 ± 0.38 <sup>A</sup>
C.V (%)			2.50	0.41	5.51

Nota. <sup>A-D</sup> Medias seguidas de letras distintas indican diferencias entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). C.V: Coeficiente de Variación. D.E.

Desviación Estándar. <sup>z</sup>Control fermentado, sin ácido ni remojo. <sup>y</sup>Control desmucilaginado mecánico sin ácido ni remojo.

En este estudio, el tratamiento que presentó los valores de L ( $47.25 \pm 0.88$ ), a ( $1.42 \pm 0.34$ ) y b ( $18.04 \pm 0.38$ ) más altos, corresponde a las muestras de café verde que fueron fermentadas. Esto puede atribuirse a que durante el proceso de fermentación natural de un grano de café se obtiene la formación de ácidos, ésteres, alcoholes y cetonas. Estos compuestos son el resultado de la degradación de proteínas, lípidos, azúcares y ácidos en los cuales intervienen levaduras, hongos y bacterias presentes en el mucílago con ayuda de enzimas generando diferentes reacciones bioquímicas. Estas sustancias formadas cambian las características de color, así como también, olor, pH y composición del mucílago y de los granos de café (Puerta G 2015).

Los parámetros de L, a, b (Cuadro 9), son más bajos en comparación a otros estudios. Mehaya y Mohammad (2020), analizaron granos de café verde (*Coffea arabica*) con el modelo Hunter Lab y obtuvieron resultados mayores en los parámetros de color. Para el parámetro de "L" el valor fue de 64.30, para "a" fue de 2.71 y, por último, 20.78 para "b". Por lo tanto, comparando los resultados obtenidos (Cuadro 9) y los resultados de Mehaya y Mohammad (2020), se puede observar que en las muestras de café verde (Cuadro 9) hubo una disminución de color que puede estar asociado a los

tratamientos de desmucilaginado mecánico con remojo y sin remojo en ácidos orgánicos, y/o fermentado, aplicados a las muestras de café verde. Lo que concuerda con la separación de medias en los parámetros de L, a y b (Cuadro 10).

En el Cuadro 10, se puede observar que hubo diferencias significativas para los parámetros de a ( $P = 0.0020$ ) y b ( $P < 0.0001$ ), en cuanto a tipo de remojo. Por otro lado, el tiempo de remojo no tiene influencia sobre ninguno de los parámetros de color. Esto puede observarse en el parámetro b (Cuadro 9), en donde hay una disminución del matiz amarillo en los granos desmucilaginosos en comparación a los granos fermentados. Sin embargo, la disminución de color no es una desventaja en cuanto a percepción del cliente, ya que, Velmourougane (2011), indica que el pergamino remojado en soluciones básicas da un pergamino opaco, mientras que cuando se remoja en soluciones ácidas el pergamino es muy limpio, por lo que, el cliente por su percepción entiende que el pergamino ha pasado por un proceso más delicado e impecable.

#### Cuadro 10

*Probabilidades para la interacción de tipo de remojo y tiempo de remojo sobre los parámetros de L, a y b de los granos de café verde desmucilaginosos y remojados en agua con ácidos orgánicos.*

Factor	L	a	b
	Probabilidad		
Tipo de remojo	0.0400	0.0020	<0.0001
Tiempo de remojo (horas)	0.9927	0.5656	0.1849
Tipo de remojo*Tiempo de remojo	0.7958	0.1235	0.8334
C.V (%)			

*Nota.* C.V: Coeficiente de Variación. L: 0-100 (0 es más negro y 100 es más blanco). a: (Positivo = rojo, negativo = verde). b: (Positivo = amarillo, negativo = azul).

### **Conclusiones**

El café desmucilaginado y remojado en ácidos orgánicos obtuvo contenidos de flavonoides mayores a los tratamientos de desmucilaginado mecánico sin remojo y fermentado/lavado.

El remojo en ácidos orgánicos no afectó la actividad antioxidante en los granos de café verde desmucilaginados. Cabe destacar, que la actividad captadora de radicales dependerá de diversos factores desde la cosecha hasta el beneficiado y procesamiento que se le brinde al café.

La sacarosa fue el único azúcar encontrado utilizando cromatografía líquida de alta eficacia. Adicionalmente, se analizaron otros azúcares (Galactosa, fructosa, maltosa, glucosa, lactosa), pero estaban por debajo del límite de detección.

### **Recomendaciones**

Realizar análisis físico-químicos en las muestras de café verde desmucilaginas y remojadas en ácidos orgánicos una vez tostados, con el fin de detallar el comportamiento de los compuestos bioactivos durante el procesamiento de tueste.

Realizar análisis físico-químicos en café verde desmucilaginas y remojadas en ácidos orgánicos, cultivado en diferentes alturas y/o regiones.

Estudiar el comportamiento del remojo con otros ácidos orgánicos en el café verde, con variaciones de tiempo en remojo.

### Referencias

- Benítez-Estrada A, Villanueva-Sánchez J, González-Rosendo G, Alcántar-Rodríguez VE, Puga-Díaz R, Quintero-Gutiérrez AG. 2020. Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). TIP RECQB. 23:1–9. doi:10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244.
- Cheyrier V. 2005. Polyphenols in foods are more complex than often thought. Am J Clin Nutr. 81(1 Suppl):223S–229S. eng. doi:10.1093/ajcn/81.1.223S.
- Class M. 2003. Realización de una planta piloto de tratamiento descentralizada. Documentación e investigación de una pequeña planta técnica biológica para aguas residuales de la producción del café, desde la planeación hasta la optimización. [Doctoral]. Fachhochschule Huyesen Friedberg, Alemania: Facultad de Técnicas Ambientales y de Biotécnica.
- Córdoba Castro NM, Guerrero Fajardo Je. 2016. Caracterización de los procesos tradicionales de fermentación de café en el departamento de Nariño. BSAA. 14(2):75. doi:10.18684/BSAA(14)75-83.
- Dessalegn Y, Labuschagne MT, Osthoff G, Herselman L. 2008. Genetic diversity and correlation of bean caffeine content with cup quality and green bean physical characteristics in coffee (*Coffea arabica* L.). J. Sci. Food Agric. 88(10):1726–1730. doi:10.1002/jsfa.3271.
- Díaz FO, Ormaza AM, Rojano BA. 2018. Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza, Contenido de Compuestos Antioxidantes y la Actividad Antioxidante. Inf. tecnol. 29(4):31–42. doi:10.4067/S0718-07642018000400031.
- Dong W, Cheng K, Hu R, Chu Z, Zhao J, Long Y. 2018. Effect of Microwave Vacuum Drying on the Drying Characteristics, Color, Microstructure, and Antioxidant Activity of Green Coffee Beans. Molecules. 23(5). eng. doi:10.3390/molecules23051146.
- Ferruzzi MG. 2010. The influence of beverage composition on delivery of phenolic compounds from coffee and tea. Physiol Behav. 100(1):33–41. eng. doi:10.1016/j.physbeh.2010.01.035.
- Forum del Café. 2021. Actualidad del Mundo del Café. Fórum Cultural del Café. <http://www.forumdelcafe.com/>.
- García-Mier L, Guevara-González RG, Mondragón-Olguín VM, Del Rocío Verduzco-Cuellar B, Torres-Pacheco I. 2013. Agriculture and bioactives: achieving both crop yield and phytochemicals. Int J Mol Sci. 14(2):4203–4222. eng. doi:10.3390/ijms14024203.
- Gimase J, Thagana M, Kirubi D, Gichuru E, Kathurima C. 2014. Beverage quality and biochemical attributes of arabusta coffee (*C. arabica* L. x *C. canephora* Pierre) and their parental genotypes. Afr. J. Food Sci. 8(9):456–464. doi:10.5897/AJFS2014.1132.
- Grosch W. 2001. Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. Chem Senses. 26(5):533–545. eng. doi:10.1093/chemse/26.5.533.
- Guevara-González RG, Torres-Pacheco I. 2006. Advances in agricultural and food technology. Kerala: Research Signpost. ISBN: 81-7736-269-0.
- Guija H. 2019. Actividad antioxidante y cinética de reacción de compuestos bioactivos de hojas de *Rubus sparsiflorus* (shiraca) frente a radicales libres. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado.

- Hudáková J, Marcinčáková D, Legáth J. 2016. Study of Antioxidant Effects of Selected Types of Coffee. *Folia Veterinaria*. 60(3):34–38. doi:10.1515/fv-2016-0026.
- [IHCAFE] Instituto Hondureño del Café. 2018. Revista Cosecha IHCAFE 16 17. <https://www.ihcafe.hn/mdocs-posts/revista-cosecha-ihcafe-16-17/>.
- Kwak HS, Jeong Y, Kim M. 2018. Effect of Yeast Fermentation of Green Coffee Beans on Antioxidant Activity and Consumer Acceptability. *Journal of Food Quality*. 2018(3):1–8. doi:10.1155/2018/5967130.
- Ky C-L, Louarn J, Dussert S, Guyot B, Hamon S, Noirot M. 2001. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food Chemistry*. 75(2):223–230. doi:10.1016/S0308-8146(01)00204-7.
- Lazcano-Sánchez E, Trejo Ma, Vargas Ma, Pascual S. 2015. Contenido de fenoles, cafeína y capacidad antioxidante de granos de café verdes y tostados de diferentes estados de México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 16(2):293–298.
- López-Alarcón C, Denicola A. 2013. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: a review on chemical and cellular-based assays. *Anal Chim Acta*. 763:1–10. eng. doi:10.1016/j.aca.2012.11.051.
- Masek A, Latos-Brozio M, Kałużna-Czaplińska J, Rosiak A, Chrzescijanska E. 2020. Antioxidant Properties of Green Coffee Extract. *Forests*. 11(5):557. doi:10.3390/f11050557.
- Mehaya FM, Mohammad AA. 2020. Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon*. 6(11):e05508. eng. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e05508.
- Muzykiewicz-Szymańska A, Nowak A, Wira D, Klimowicz A. 2021. The Effect of Brewing Process Parameters on Antioxidant Activity and Caffeine Content in Infusions of Roasted and Unroasted Arabica Coffee Beans Originated from Different Countries. *Molecules*. 26(12). eng. doi:10.3390/molecules26123681.
- Odžaković B, Džinić N, Kukrić Z, Grujić S. 2016. Effect of roasting degree on the antioxidant activity of different Arabica coffee quality classes. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 15(4):409–417. eng. doi:10.17306/J.AFS.2016.4.39.
- Pacheco-Coello F, Torres R, Arvelo T, Velasquez I. 2020. Variación de la actividad antioxidante por efecto del tostado en granos de café (*Coffea arabica*), estado Miranda, Venezuela. *cac*. 3(2):49–56. doi:10.22206/cac.2020.v3i2.pp49-56.
- Puerta G EJ. 2015. Fermentación controlada del café: Tecnologías para agregar valor a la calidad. *Avances técnicos Cenicafe*. (454):12. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/558/1/avt0454.pdf>.
- Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. 27(1):76–89.
- Ramalakshmi K, Rahath Kubra I, Jagan Mohan Rao L. 2008. Antioxidant potential of low-grade coffee beans. *Food Research International*. 41(1):96–103. doi:10.1016/j.foodres.2007.10.003.
- Retes R. 2021. Efecto del desmucilaginado y remojo en agua con ácidos orgánicos en las características físico-químicas y sensoriales del café. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano.

- Ricci A, Teslic N, Petropolis V-I, Parpinello GP, Versari A. 2019. Fast Analysis of Total Polyphenol Content and Antioxidant Activity in Wines and Oenological Tannins Using a Flow Injection System with Tandem Diode Array and Electrochemical Detections. *Food Anal. Methods*. 12(2):347–354. doi:10.1007/s12161-018-1366-z.
- Salas-Pérez L, Gaucín J, Preciado P, Fortis M, Valenzuela J, Ayala A. 2016. Efecto del ácido benzoico en la capacidad antioxidante de germinados de trigo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. (17):3397–3404.
- Shen Y, Zhong L, Sun Y, Chen J, Liu D, Ye X. 2013. Influence of hot water dip on fruit quality, phenolic compounds and antioxidant capacity of Satsuma mandarin during storage. *Food Sci Technol Int*. 19(6):511–521. eng. doi:10.1177/1082013212457669.
- Sorane Good Kitzberger C, Pot D, Marraccini P, Filipe Protasio Pereira L, Brígida dos Santos Scholz, Maria. 2020. Flavor precursors and sensory attributes of coffee submitted to different post-harvest processing. *AIMS Agriculture and Food*. 5(4):700–714. doi:10.3934/agrfood.2020.4.700.
- Sun M, Johnson MA. 2015. Measurement of Total Antioxidant Capacity in Sub- $\mu$ L Blood Samples Using Craft Paper-based Analytical Devices. *RSC Adv*. 5(69):55633–55639. eng. doi:10.1039/C5RA06479A.
- Sunarharum WB, Williams DJ, Smyth HE. 2014. Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. *Food Research International*. 62(4):315–325. doi:10.1016/j.foodres.2014.02.030.
- Toledo V MP. 2012. Coffee and sustainability: The multiple values of traditional shaded coffee. *Journal of Sustainable Agriculture*. 36(3):355–377.
- Trandafir I, Nour V, Ionica ME. 2013. Antioxidant capacity, phenolic acids and caffeine contents of some commercial coffees available on the Romanian market. *Arch Latinoam Nutr*. 63(1):87–94. eng.
- Velmourougane K. 2011. Effects of wet processing methods and subsequent soaking of coffee under different organic acids on cup quality. *World Journal of Science and Technology*. 1:32–38.
- Wang Y, Ho C-T. 2009. Polyphenolic chemistry of tea and coffee: a century of progress. *J Agric Food Chem*. 57(18):8109–8114. eng. doi:10.1021/jf804025c.
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*. 64(4):555–559. doi:10.1016/S0308-8146(98)00102-2.
- Zhu H, Bilgin M, Bangham R, Hall D, Casamayor A, Bertone P, Lan N, Jansen R, Bidlingmaier S, Houfek T, et al. 2001. Global analysis of protein activities using proteome chips. *Science*. 293(5537):2101–2105. eng. doi:10.1126/science.1062191.