

IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE POLIFENOLES EN GRANOS DE CAFÉ  
CULTIVADO EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA, MEDIANTE  
ESPECTROSCOPIA INFRARROJA Y ULTRAVIOLETA

YUBELY SOBEIDA URREA MENESES

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE FÍSICA  
POPAYÁN  
2017

IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN DE POLIFENOLES EN GRANOS DE CAFÉ  
CULTIVADO EN EL DEPARTAMENTO DEL CAUCA, MEDIANTE  
ESPECTROSCOPIA INFRARROJA Y ULTRAVIOLETA

Presentado por:

YUBELY SOBEIDA URREA MENESES

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de  
Ingeniera Física

Director

M.Sc. WAYNER RIVERA MÁRQUEZ

Codirector

Dr. CARLOS ALBERTO RINCÓN LÓPEZ

PROFESORES TITULARES DEL DEPARTAMENTO DE FÍSICA

UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE FÍSICA  
POPAYÁN  
2017

Nota de aceptación

---

---

---

---

Director

---

M.Sc. Wayner Rivera Márquez

Codirector

---

Dr. Carlos Alberto Rincón López

Jurado

---

Dra. Sonia Gaona Jurado

Jurado

---

M.Sc. Jorge Washington Coronel

Fecha de sustentación: Popayán, 2 de marzo de 2017

## Dedicatoria

*A mis padres Diva y Germán, y a mi hermano Germán H,  
porque ellos siempre estuvieron presentes, brindándome su apoyo  
y con sus palabras de aliento no me dejaron decaer en las dificultades.*

*A mí amada hija Ariadna,  
por ser mi mayor fuente de motivación e inspiración para superarme cada día más  
y así continuar luchando para que la vida nos depare un futuro mejor.*

*A mi esposo Omar,  
por su amor incondicional, el sacrificio y esfuerzo en cada momento,  
que me han permitido realizarme, no sólo profesionalmente.*

*“Emprende todo lo que puedes hacer o hayas soñado que puedes hacer.  
El arrojo lleva consigo genio, fuerza y magia”  
Goethe*

## **Agradecimientos**

A Dios y la Virgen María Auxiliadora, por permitirme alcanzar este peldaño de mi vida, por acompañarme en mis angustias y alegrías, por guardar mí camino.

A los profesores, Wayner Rivera Márquez y Carlos Alberto Rincón, director y codirector de este proyecto, por sus valiosas enseñanzas, su apreciable orientación, sus acertadas observaciones a este trabajo y por tenerme en cuenta para la ejecución de este proyecto.

A mis jurados, Sonia Gaona Jurado y Jorge Washington Coronel, por el tiempo destinado a la lectura, las correcciones, comentarios hechos a este trabajo y por enseñarme que siempre hay algo más que aprender.

A la Federación Campesina del Cauca (FCC), en cabeza de su director Herney Chagüendo por el apoyo brindado mediante esta organización para el desarrollo del proyecto, a los técnicos Saúl y Diana, por su colaboración y el tiempo que dedicaron a la recolección de las muestras con los campesinos asociados, finalmente a la catadora Lisbeth Maca, por permitirme realizar parte del proceso con las muestras en su espacio de trabajo y compartir conmigo sus conocimientos sobre el café.

Al Dr. Nelson Bolívar Rojas, director del Laboratorio de Biología Celular y Molecular en la Universidad del Cauca (Departamento de Biología), por haberme abierto las puertas de su laboratorio para realizar gran parte del desarrollo de la metodología y realizar el estudio de espectroscopia ultravioleta. Al personal de laboratorio, Katherim y Ariane por su apreciable ayuda en el proceso y la compañía durante el tiempo que compartimos.

Al Dr. Germán Cuervo Ochoa, director de la Unidad de Análisis Industriales en la Universidad del Cauca (Departamento de Química), por las facilidades prestadas para realizar los primeros estudios de espectroscopia ultravioleta. Al personal de laboratorio por su tiempo e indicaciones para el desarrollo de estas mediciones.

Al Dr. Héctor Samuel Villada, director del Laboratorio de Reología en la Universidad del Cauca (Departamento de Agroindustria), por permitirme preparar las muestras y llevar a cabo los estudios de espectroscopia Infrarroja por ATR para las muestras líquidas. Al personal de laboratorio, Evelin y Luis por su colaboración en el proceso.

Al Dr. Pedro José Arango, director del Laboratorio de Física del Plasma en la Universidad Nacional de Colombia (sede Manizales), y a todo el personal del laboratorio por su valiosa ayuda en la realización de los estudios de espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier por ATR para las muestras en polvo.

A los profesores de Universidad del Cauca, que me han acompañado durante mi formación universitaria, por los conocimientos compartidos y las enseñanzas que siempre me dejaron algo más que un recuerdo. Al Mg. Luis Fernando Echeverry gracias por ser más que un profesor, un buen amigo y un apoyo incondicional en el transcurso de toda mi carrera.

A mis compañeros y amigos, presentes y pasados, quienes sin esperar nada cambio compartieron alegrías y tristezas, porque su amistad ha sido una bendición.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me ayudaron, aportaron, colaboraron y permitieron que este sueño se hiciera realidad.

# Contenido

Pág.

<b>Lista de Figuras .....</b>	<b>9</b>
<b>Lista de Tablas .....</b>	<b>12</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>8</b>
<b>1. GENERALIDADES DEL CAFÉ .....</b>	<b>10</b>
1.1 COMPOSICIÓN QUIMICA DEL GRANO DEL CAFÉ .....	12
1.2 CUALIDADES ORGANOLÉPTICAS DEL CAFÉ .....	13
1.3 EL CAFÉ DEL CAUCA .....	14
1.3.1 Factores Agroclimáticos .....	16
<b>2. POLIFENOLES EN GRANOS DE CAFÉ .....</b>	<b>17</b>
2.1 INCIDENCIA DE LOS COMPONENTES DEL CAFÉ EN LA SALUD HUMANA.....	22
<b>3. CAFÉ Y TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS .....</b>	<b>25</b>
3.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.....	26
3.2 ESPECTROSCOPIA UTRAVIOLETA.....	29
<b>4. MÉTODO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>31</b>
4.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS .....	34
4.1.1 Muestras de café para espectroscopia Infrarroja .....	34
4.1.2 Muestras de café para espectroscopia Ultravioleta.....	37
4.2 PROCEDIMIENTO DE TOMA DE ESPECTROS .....	40
4.2.1 Medidas de espectroscopia Infrarroja por ATR .....	40

4.2.2	Medidas de espectroscopia Ultravioleta.....	41
4.3	METODOLOGÍA.....	41
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS Y ANÁLISIS.....</b>	<b>43</b>
5.1	CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.....	43
5.2	CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA.....	58
	<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>68</b>
	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>70</b>



## Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Cereza del café madura [FNC] .....	10
Figura 2. Estructura interna del café [FNC].....	11
Figura 3. Representación gráfica de las cualidades organolépticas del café del Cauca, representado por la línea azul [Almacafé <sup>3</sup> ] .....	15
Figura 4. Temperatura promedio y diferencial térmico en Piendamó, Cauca [Cenicafé <sup>4</sup> ] .....	16
Figura 5. Núcleo estructural de los principales grupos de polifenoles [1] .....	18
Figura 6. Ácido clorogénico como resultado de la unión de del ácido cafeico y el ácido quínico.....	21
Figura 7. Isómeros de ácido clorogénico .....	22
Figura 8. Tipos de vibración molecular (+ Indica un movimiento del plano hacia la derecha), (- Indica un movimiento del plano hacia la izquierda) .....	28
Figura 9. Espectros de absorción FTIR de las muestras de café verde (curvas S1 verde y S2 verde) y de café sometido a tuestión por 5 min a 220°C (curvas S1 y S2) [22].....	28
Figura 10. Transiciones electrónicas y espectros de los átomos [26] .....	30
Figura 11. Transiciones electrónicas y espectros UV-Visible en moléculas [27] ..	30
Figura 12. Espectrofotómetro a) IRAffinity-1S b) Alpha Platinum Bruker y c) Spectronic Genesys 5.....	33
Figura 13. Café pergamino, trilladora y café verde .....	34
Figura 14. Molino analítico y tamiz eléctrico .....	35
Figura 15. Muestras de café verde .....	35
Figura 16. Tostadora y café tostado .....	35

Figura 17. Molino y café tostado y molido.....	36
Figura 18. Muestras de café tostado.....	36
Figura 19. Prensa de aceite piteba .....	37
Figura 20. Termo con nitrógeno líquido, proceso de trituración y café verde triturado con nitrógeno .....	37
Figura 21. Filtrado con bomba de vacío.....	38
Figura 22. Celdas porta-muestras con café verde .....	38
Figura 23. Café tostado, agua destilada y café disuelto agua .....	39
Figura 24. Café disuelto en agua y equipo de filtración .....	39
Figura 25. Celdas porta-muestras con café tostado .....	40
Figura 26. Espectros FTIR por ATR de extractos de café verde y tostado en agua .....	43
Figura 27. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Castillo .....	44
Figura 28. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Caturra .....	45
Figura 29. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Colombia ...	45
Figura 30. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Típica .....	46
Figura 31. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 1 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café verde .....	47
Figura 32. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 1 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café tostado .....	48
Figura 33. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 2 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café verde .....	49
Figura 34. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 2 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café tostado .....	50
Figura 35. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 3 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café verde .....	51
Figura 36. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 3 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café tostado .....	52
Figura 37. Espectro FTIR del ácido cafeico [34] .....	53

Figura 38. Espectro FTIR del café (verde y tostado) y el ácido cafeico en la región 1.....	54
Figura 39. Espectro FTIR del café (verde y tostado) y el ácido cafeico en la región 2.....	54
Figura 40. Espectro FTIR del café (verde y tostado) y el ácido cafeico en la región 3.....	55
Figura 41. Espectro FTIR del ácido clorogénico [35] .....	56
Figura 42. Espectro FTIR de la cafeína [35] .....	57
Figura 43. Espectros UV de extractos de café en agua tomados en celda plástica .....	59
Figura 44. Espectros UV de extractos de café en agua tomados en celda de cuarzo .....	60
Figura 45. Espectros de absorción UV-Vis de ácido clorogénico a) solvente agua y b) solventes acetonitrilo, etanol y metanol [23] .....	61
Figura 46. Espectro de absorción UV del ácido cafeico [36].....	62
Figura 47. Espectros de absorción UV de la cafeína [37] .....	62
Figura 48. Deconvolución por Gaussianas en la región de interés del espectro UV de las muestras de café verde .....	64
Figura 49. Deconvolución por Gaussianas en la región de interés del espectro UV de las muestras de café tostado .....	65

## Lista de Tablas

Pág.

Tabla 1. Características de las muestras de café .....	32
Tabla 2. Bandas de absorción UV para variedades de café verde con estimativos de área calculados por deconvolución.....	66
Tabla 3. Bandas de absorción UV para variedades de café tostado con estimativos de área calculados por deconvolución.....	66

## RESUMEN

En esta investigación el objetivo principal fue la identificación y evaluación de polifenoles (ácido clorogénico y ácido cafeico), importantes antioxidantes encontrados en el café producido en el departamento del Cauca. Se utilizaron muestras de cuatro variedades, Castillo, Caturra, Colombia y Típica, que fueron analizadas en granos verdes (almendra) y tostados. La tosti3n se realiz3 a una temperatura promedio de 205°C, durante un tiempo de 8 a 10 minutos para obtener una muestra tipo *cataci3n medio oscuro* <sup>1</sup>.

Se desarroll3 una metodolog3a para analizar los polifenoles en el caf3, utilizando las t3cnicas espectrosc3picas Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) por Reflexi3n Total Atenuada (ATR) y Ultravioleta (UV), pues los espectros obtenidos por estas t3cnicas son valiosos para determinar los grupos funcionales asociados a las sustancias presentes en el caf3.

En los espectros FTIR se reflejaron diferentes actividades, m3s por el alto n3mero de compuestos y sustancias presentes en el caf3, se obtuvo un registro de m3ltiples picos y bandas de absorci3n, que no permitieron realizar la identificaci3n del 3cido clorog3nico en las muestras analizadas. Por el contrario la t3cnica ultravioleta arroj3 espectros caracter3sticos del 3cido clorog3nico presente en el caf3 lo que permiti3 establecer una metodolog3a de extracci3n econ3mica, r3pida, simple y directa, sin uso de solventes y de baja tecnolog3a.

---

<sup>1</sup> Para la cataci3n se realiza una tosti3n de tipo medio oscura porque en este punto, es m3s f3cil evaluar a totalidad, las cualidades organol3pticas del caf3.

## INTRODUCCIÓN

El café es un producto muy comercializado y también es la bebida no alcohólica más consumida actualmente en el mundo <sup>2</sup>. Este alto consumo ha estimulado el desarrollo de estudios relacionados con la actividad biológica del grano y constituyentes del café destacando el hecho de que presenta una alta actividad antioxidante que esta potencialmente relacionada con su alto contenido de compuestos fenólicos, especialmente los ácidos clorogénicos que contribuyen en el aroma y sabor del producto final, siendo los principales determinantes del sabor del café, además de ser los precursores de los pigmentos característicos en la bebida. La mayoría de estos compuestos han recibido interés por sus efectos potencialmente protectores en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares [1], hipertensión [2], e incluso, neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson [3]. Por lo anterior el estudio es de alto interés.

Este trabajo busca desarrollar un método de análisis sencillo, directo y accesible, aplicando técnicas ópticas de caracterización de materiales, tales como espectroscopias infrarroja y ultravioleta, para la identificación de polifenoles en los granos de café verde y tostado. La búsqueda e identificación de estos compuestos está orientada a comprobar sus nobles propiedades y en lo posible aumentar su consumo. De otro lado, la determinación de sustancias en el café con potencial beneficio para la salud puede dar lugar a la producción selectiva de granos con mayor contenido de ellas y al surgimiento de planes de emprendimiento que hagan uso de estas propiedades.

---

<sup>2</sup> Según la Organización Internacional del Café (OIC), el consumo a nivel mundial de esta bebida se encuentra representado por 8,7 millones de sacos de nueva demanda en los cuatro últimos años, y las indicaciones son de que hay muchas posibilidades de más crecimiento en el futuro.

Para una mejor comprensión del desarrollo de esta investigación, en el primer capítulo se trata sobre las generalidades del café, en el segundo los polifenoles en granos de café, en el tercero el café y las técnicas espectroscópicas, en el cuarto el método experimental, en el quinto se muestra los resultados con sus respectivos análisis y finalmente las conclusiones de este trabajo.

# 1. GENERALIDADES DEL CAFÉ

Pocas bebidas en el mundo han llegado a ser tan populares y altamente apreciadas como una taza de café de alta calidad, bien preparada. Su exquisito aroma y sabor ofrecen una variada gama de sensaciones que reconfortan el estado físico y espiritual de quienes lo consumen.

Los granos de café son las semillas de un fruto llamado popularmente cereza. Esta semilla procede del árbol del cafeto, perteneciente a la familia de la Rubiácea y al género *Coffea*.

Las cerezas se desarrollan en el curso de 32 semanas siguientes a la aparición de la flor (color blanco) en el cafeto; cambian desde el verde claro a rojo oscuro o a amarillo según la variedad (ver figura 1), color en el cual ya se pueden considerar maduras, para luego ser recolectadas. Las cerezas del café se forman en racimos unidos a las ramas por tallos muy cortos. [4]



Figura 1. Cereza del café madura [FNC]

Las cerezas están compuestas por una cubierta exterior, el exocarpio, que determina el color del fruto; el interior, está conformado por el mesocarpio, una goma rica en azúcares adherida a las semillas que se conoce como mucílago; el



endocarpio, una capa amarillenta que cubre cada grano, llamada pergamino; la epidermis, una capa muy delgada conocida como película plateada; y los granos o semillas, el endosperma, conocido como café verde, que se tuesta para preparar los diferentes tipos de bebida de café (ver figura 2).

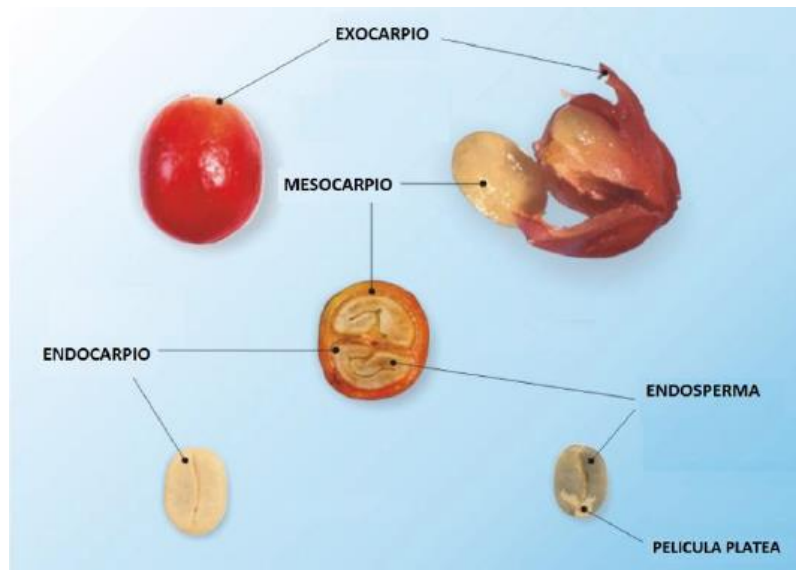


Figura 2. Estructura interna del café [FNC]

Los cafetos cultivados a nivel industrial son de la especie *Coffea Arábica* y *Coffea Canephora*.

La *Coffea Arábica* es la principal especie del género y constituye más del 60% del café que se comercializa en el mundo. Es autógama, es decir, se autopoliniza o autofertiliza. Es una especie tetraploide (44 cromosomas), que proviene de formas antiguas de dos especies diploides (es decir, combinación de *coffea eugenioides* y *canephora*). Se considera un café de altura, cultivado a temperaturas de 18 a 23°C. En Colombia las plantaciones están concentradas en altitudes de los 1200 a 1800 m.s.n.m.; el contenido de cafeína de los granos está entre 1 y 1,4% respecto a la materia seca, y es menos amargo que la otra especie. Es el café de mejor calidad en taza [5]. Dentro de éste género existen numerosas variedades, [4] entre ellas: típica, bourbon, maragogipe, caturra, amarella, castillo.

A su vez, la *Coffea Canephora* a la que pertenece el 35% del café que se comercializa en el mundo, conocida como Robusta. Es de polinización cruzada, por lo que para su cultivo se deben sembrar varios genotipos compatibles. Las zonas bajas tropicales de África permitieron que esta especie se desarrollara y fuera más resistente a la roya (*Hemileia vastatrix*), y esta característica determinó su cultivo en el mundo a comienzos del siglo pasado. Se cultiva generalmente en altitudes menores a 1000 m.s.n.m. En Colombia no se cultiva esta especie. Su contenido de cafeína es mayor al 2%; su taza es más amarga y con sabor a cereal [5]. Las variedades de esta especie, por lo general, tienen órganos pequeños (hojas, frutos, flores y granos) y las dos más conocidas son: Koulliou y Robusta.

### **1.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL GRANO DEL CAFÉ**

La composición química del grano de café depende de la especie, variedad, estado de desarrollo del fruto y ambiente o condiciones de producción, entre otros factores.

A continuación se mencionan los principales componentes del café: [5]

- *Agua*. Un grano de café verde tiene entre 10 y 13% de agua, que se evapora durante el proceso de tostado, de manera que el grano en estas últimas condiciones no tiene más de 5% de humedad.
- *Materias grasas*. Un grano de café contiene de 15 a 20% de materia grasa.
- *Alcaloides*. El principal alcaloide del café es la cafeína. Los cafés arábigos contienen entre 1 y 1,5% de cafeína y los Robusta entre 1,6 y 2,7%. Esto explica que el café Robusta sea más amargo que el arábigo.
- *Proteínas*. Un grano de café verde encierra un promedio de 11% de proteínas, parte de las cuales será destruida durante el tostado.
- *Materias minerales*. Un grano de café contiene pequeñas cantidades de potasio, calcio, magnesio y fósforo.

- *Ácidos orgánicos.* Los granos de café contienen diversos ácidos orgánicos, principalmente clorogénicos. Los expertos destacan su papel asociado con propiedades antioxidantes y antivirales, con absorción de iones metálicos y con oxidación de lípidos.

## 1.2 CUALIDADES ORGANOLÉPTICAS DEL CAFÉ

Se conoce como cualidades organolépticas a los atributos percibidos por el consumidor al probar la bebida. Estas cualidades se cuantifican de 1 a 10, siendo un 10 la nota para un café excepcional.

A continuación se describe cada una de estas cualidades [5]:

- *Fragancia/Aroma.* Los aspectos aromáticos incluyen la fragancia, definida como el olor del café molido cuando aún está seco, y el aroma, el olor del café cuando se prepara la infusión con agua caliente.
- *Sabor.* Representa la característica principal del café, es una impresión combinada de todas las sensaciones gustativas y los aromas retro-nasales que van de la boca a la nariz.
- *Sabor residual.* Es la permanencia del sabor en el paladar después de haber expulsado el café de la boca. Este puede ser agradable dejando un sabor dulce y refrescante o desagradable dejando un sabor amargo o áspero.
- *Acidez.* Se refiere a esa chispa ligeramente picante que se siente en la lengua y que hace que el bebedor se estremezca por un instante. Puede llegar a ser indeseable cuando se califica como agria, vinosa, picante, acre, astringente o ausente.
- *Cuerpo.* Es una cualidad mucho más sutil que el aroma y que el sabor, y es más difícil de diferenciar para el bebedor corriente. El cuerpo corresponde a la persistencia que tiene la bebida en la boca y a la manera como se desplaza

- por la lengua hacia la garganta, que es un indicio inequívoco de su suavidad.
- *Limpieza*. La no presencia de defectos en las tazas de una muestra.
  - *Impresión global*. Se refiere a la calificación general de la bebida de café. Por medio de ésta se acepta o rechaza la calidad del grano.
  - *Uniformidad*. La uniformidad entre distintas tazas de una sola muestra, puede ser uniforme tanto por atributos y características, como en defectos y/o contaminaciones, el catador la puede catalogar como positiva o negativa.
  - *Balance*. Es la combinación de los atributos de acidez, cuerpo y sabor, cuando se presentan cafés limpios y sanos.
  - *Dulzura*. No todos los cafés presentan esta característica, ya que se observa con más intensidad en los cafés de altura.

### 1.3 EL CAFÉ DEL CAUCA

El café del Cauca es 100% arábigo suave, cultivado en su gran mayoría en pequeñas parcelas, recolectado y procesado en las mismas fincas de manera selectiva, con apego a protocolos y estándares de calidad. Por su ubicación en Colombia y por las particulares características de la zona de producción del café de Cauca, este café tiene atributos sensoriales y de *calidad en taza* particulares.

En la figura 3, se pueden ver las cualidades organolépticas del café del Cauca, valores calculados bajo procedimientos ISO17025 por Almacafé<sup>3</sup>, los cuales oscilan entre 7 y 8 para la gran mayoría. Esto significa, que es un café de fragancia y aroma muy fuertes y acaramelados, que en taza presenta acidez alta, cuerpo medio, impresión global balanceada, limpia, suave, con algunas notas dulces y florales, atributos que están relacionados con las condiciones de la zona de producción [5].

---

<sup>3</sup> Almacafé, es una empresa especializada en el control de la calidad del café, almacenamiento, custodia, conservación, transformación, distribución y en la compra.

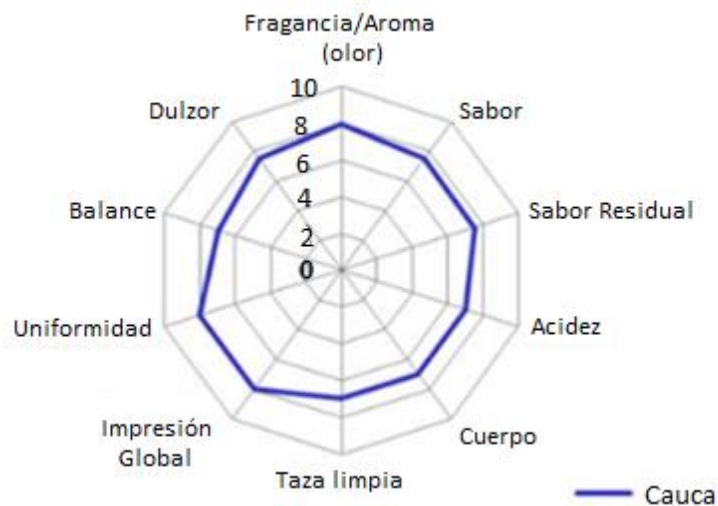


Figura 3. Representación gráfica de las cualidades organolépticas del café del Cauca, representado por la línea azul [Almacafé <sup>3</sup>]

Las cerezas de café en Cauca no solo toman más tiempo en madurar, sino que acumulan azúcares y compuestos que se traducen en una bebida con notas dulces y de alta acidez, atributo altamente deseado por los expertos. Además la interacción de los azúcares con el azufre, proveniente de los suelos de origen volcánico, permite generar los aromas acaramelados que se destacan en el café de esta región.

La región productora de café se encuentra al norte del Río Patía, y está rodeada por el volcán Puracé (4,600 m), por el Macizo Colombiano y por las estribaciones de la cordillera occidental que dan al océano pacífico, al suroccidente del país.

Al ser una zona de mayor altura, enfrenta menores temperaturas promedio. El café de Cauca se produce en 29 de sus municipios, en altitudes promedio de 1,758 y 2,100 m.s.n.m. Los suelos, de origen volcánico, son bastante homogéneos en esta zona, así como el clima y las estaciones de lluvia. <sup>4</sup>

<sup>4</sup> Centro Nacional de Investigaciones de Café, estudia los aspectos con la producción en las fincas, la cosecha, el beneficio, la calidad del grano, el manejo de los subproductos de la explotación cafetera y la conservación de los recursos naturales de la zona cafetera.

### 1.3.1 Factores Agroclimáticos

La zona cafetera del Cauca, está ubicada en rangos de altura superiores al promedio nacional, es particularmente homogénea por estar rodeada de altas montañas que la aíslan de buena parte de los efectos climáticos que se generan en los valles interandinos.

En la zona cafetera del Cauca se presenta una gran diferencia de temperatura entre la noche y el día, que los especialistas denominan diferencial térmico. En efecto, el diferencial térmico en el Cauca puede alcanzar hasta cerca de 12°C (ver figura 4), y es uno de los mayores en comparación con el resto del país. Teniendo en cuenta la altura a la cual se produce el café en el Cauca, es fácil concluir que las plantas soportan temperaturas bajas en la noche, lo que tiene un claro efecto sobre características del café que producen.

La zona cafetera de Cauca presenta suelos derivados de cenizas volcánicas, lo cual explica las altas concentraciones de azufre que generan en el café aromas acaramelados que lo hacen muy particular. Por supuesto, su vecindad con el Macizo Colombiano y las características de quienes lo cultivan, en simbiosis con un entorno natural particular, suman para que sea un origen colombiano reconocido.

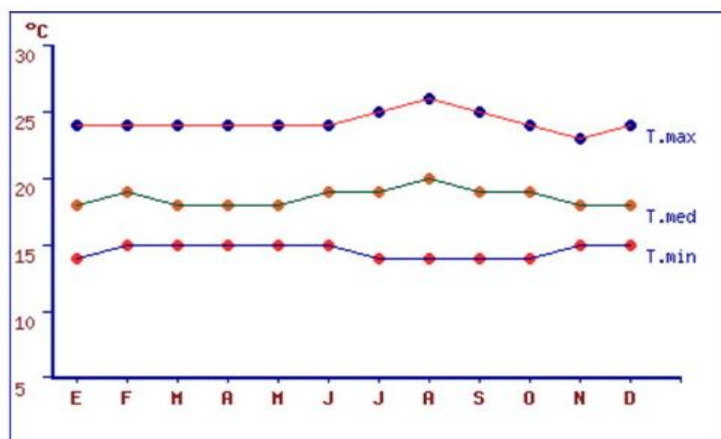


Figura 4. Temperatura promedio y diferencial térmico en Piendamó, Cauca [Cenicafé 4]

## 2. POLIFENOLES EN GRANOS DE CAFÉ

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares.

Los polifenoles son en realidad los principales antioxidantes de la dieta, y su ingesta es 10 veces superior a la de la vitamina C, y 100 veces superior a la de la vitamina E o los carotenoides [6]. Algunos alimentos que se destacan por su alto contenido en polifenoles son, café, té, vino y cacao. Los polifenoles contenidos en estos alimentos son altamente efectivos como defensa antioxidante [7].

El café, como el té y el vino, contiene importantes antioxidantes fenólicos, tales como los ácidos clorogénico y cafeico, en algunos aspectos similares a las epicatequinas y taninos del té o las quercetinas del vino tinto, pero con diferentes estructuras químicas y, por tanto, distintas funciones metabólicas.

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos son denominados polifenoles. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario.

Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos, estilbenos, alcoholes fenólicos, lignanos y flavonoides [1].

En la figura 5, se señalan los sustituyentes que corresponden a la estructura concreta de algunos compuestos, se numeran los átomos de carbono del núcleo estructural de los flavonoides y se presentan así mismo los distintos núcleos estructurales de los flavonoides que derivan del núcleo principal al que aparece.

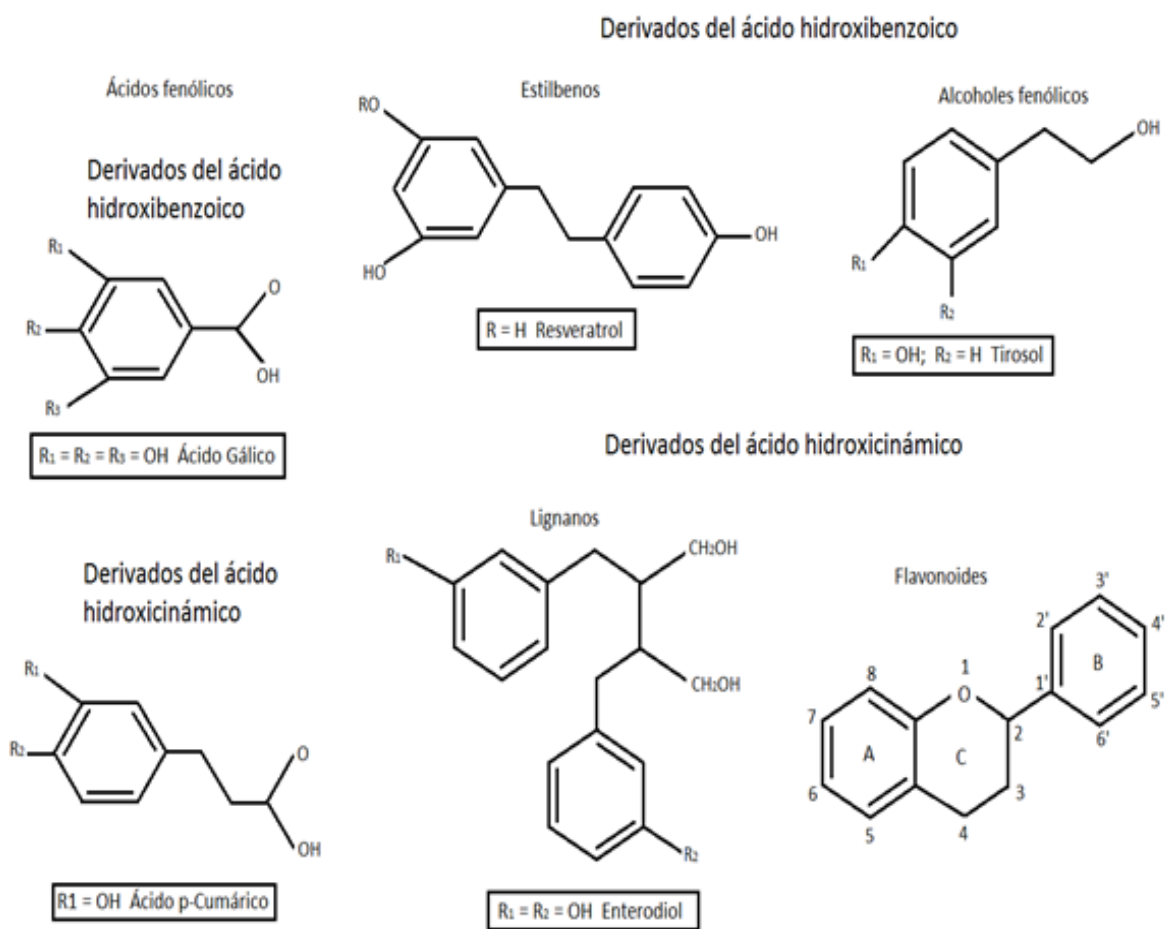


Figura 5. Núcleo estructural de los principales grupos de polifenoles [1]

La diversidad de estructuras de los compuestos fenólicos está relacionada con una variedad de propiedades biológicas, asociadas a roles específicos en plantas. Por ejemplo, los compuestos fenólicos actúan como pigmentos, protegen a los tejidos vegetales del daño oxidativo de la radiación UV y de los radicales libres, participan también en el proceso de interacción de las plantas con su medio ambiente.



Los compuestos fenólicos poseen al menos un anillo aromático con 1 o más grupos hidroxilos; entre ellos, los fenilpropanoides presentan la estructura básica de los fenoles más una cadena tricarbonada como grupo lateral. Los más comunes son los ácidos clorogénico (éster del ácido cafeico y el ácido quínico), cafeico, ferúlico, y p-cumárico [8].

El conocimiento de la biodisponibilidad de los niveles sanguíneos y tisulares de los compuestos fenólicos reviste importancia en la extrapolación de estudios de líneas celulares a modelos animales y humanos; sin embargo, en este momento hay poca información acerca de la absorción de la mayoría de los compuestos fenólicos presentes en el café, aunque se sabe que casi todo el ácido cafeico es absorbido en el intestino delgado y la mayor parte del ácido clorogénico (alrededor de dos tercios) alcanza el colon, donde es hidrolizado por esterasas <sup>5</sup> de la flora endógena [9].

Se especula que los productos resultantes podrían ejercer interacciones con las células de la mucosa del intestino distal, como sucede con otros compuestos fenólicos, pero en esta área se precisa de futuras investigaciones que aporten nuevas evidencias.

### ➤ **Ácido Quínico**

El ácido 1,3,4,5-tetrahidroxiclohexano-1-carboxílico, es un ácido vegetal muy abundante en la naturaleza que se encontró en la cinconarina y también se halla en los granos de café y en las hojas de muchas plantas [10]. En la figura 6 b se puede observar la estructura química del ácido quínico.

---

<sup>5</sup> Una esterasa, es una hidrolasa que rompe enlaces éster en los correspondientes alcoholes y ácidos por medio de una reacción química en la cual se utiliza una molécula de agua, es decir por medio de una hidrólisis.

### ➤ **Ácido Cafeico**

Los ácidos hidroxicinámicos como el ácido cafeico y sus correspondientes ésteres se encuentran como constituyentes de una gran variedad de plantas distribuidas en diversas zonas geográficas, así como también en productos naturales de origen vegetal como los propóleos [11]. Estos compuestos han recibido la atención de numerosos grupos de investigación en los últimos años debido a sus propiedades antifúngicas [12], insecticidas, antiproliferativas [13] y antioxidantes.

El ácido cafeico se conjuga con el ácido quínico para formar mono-, di-, tri- y tetra-ésteres. El ácido 5-O-cafeoilquínico o ácido clorogénico (ver figura 6 a), es el éster de ácido quínico y ácido cafeico más conocido, el principal compuesto hidroxicinámico en la dieta humana y el compuesto fenólico más abundante en el café [14].

### ➤ **Ácido Clorogénico**

El ácido clorogénico responde al estrés medioambiental. Cuando un fruto, o una hoja son rozados, el ácido clorogénico es el que repara esos desgarros, o cortes. Generalmente, la cantidad presente de este ácido en las plantas es muy pequeña como para que resulte en un efecto en el ser humano cuándo lo ingiere en la dieta. Sin embargo, el ácido clorogénico ocasionalmente se concentra en mayores proporciones en algunos frutos y semillas y en estos casos sí puede haber una experiencia de efectos fisiológicos. Esto es lo que ocurre, por ejemplo en el café sin tostar o café verde que contiene entre un 6% y 7% de ácido clorogénico. Una vez tostado, el ácido clorogénico cambia su estructura molecular, pasando a ser ácido cafeico y ácido quínico [15].

Los ácidos clorogénicos fueron aislados del café en el siglo XIX. Su nombre proviene del pigmento verde formado por la reacción entre el ácido cafeico con el cloruro férrico y también por la coloración de los precipitados de ácidos clorogénicos del café, formados en varias reacciones de oxidación. Se encuentran en los granos de café principalmente como mono y di-ésteres, y conforman más de 40 ácidos, en grupos de isómeros con sustituciones en las posiciones 1, 3-, 4- o 5- del ácido quínico (ver figura 7) [16].

La estructura del ácido clorogénico (ver figura 6 c), es un éster del ácido cafeico (fragmento fenólico, en la figura 6 a) y el ácido quínico (figura 6 b). El ácido clorogénico tiene propiedades antioxidantes, siendo un intermedio en la biosíntesis de la lignina, un polímero fenólico, material esencial en las paredes celulares de las plantas y de la madera [17].

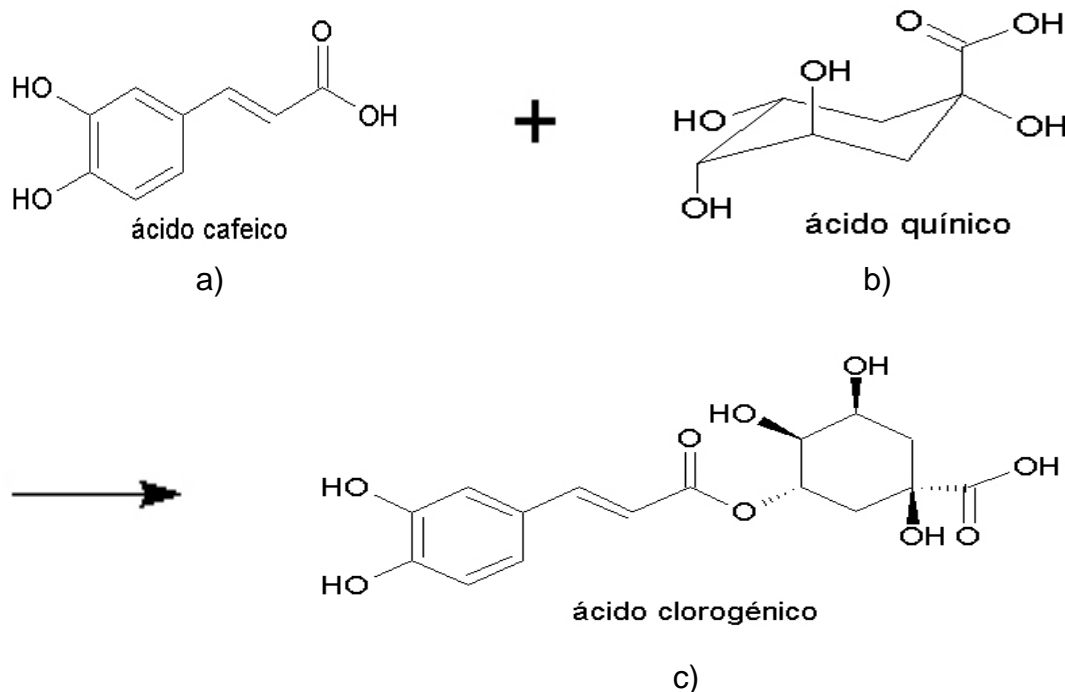


Figura 6. Ácido clorogénico como resultado de la unión de del ácido cafeico y el ácido quínico

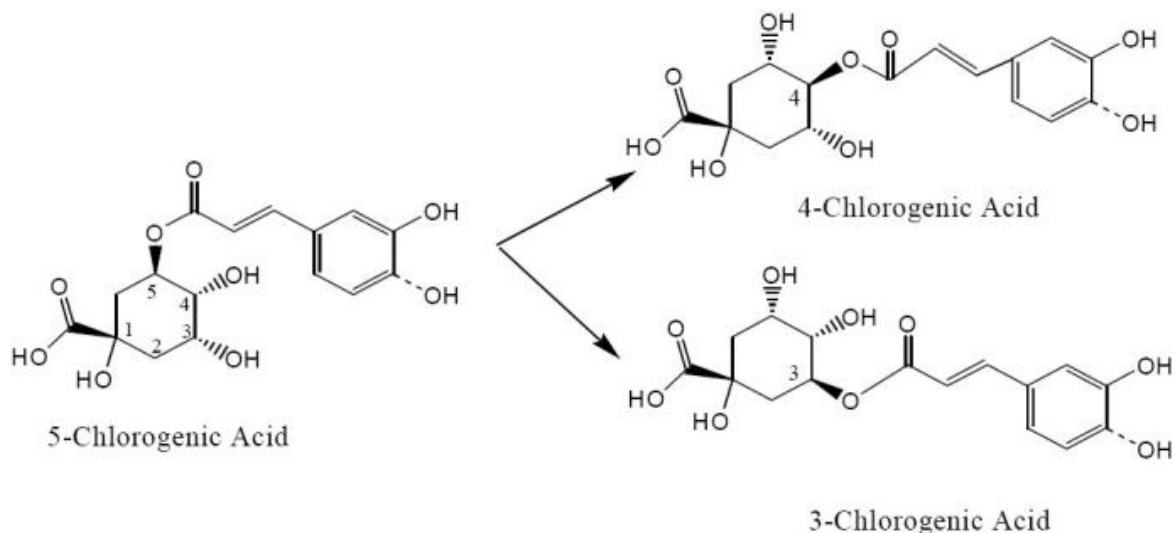


Figura 7. Isómeros de ácido clorogénico

El ácido clorogénico es el mayor componente fenólico del café, pues cada taza contiene de 15 a 325 mg, con un promedio de 200 mg por taza para el café americano; así, estimándose el consumo diario de personas adictas al café se estima entre 0,5 a 1 gramo por día [8].

## 2.1 INCIDENCIA DE LOS COMPONENTES DEL CAFÉ EN LA SALUD HUMANA

Los mayores efectos beneficiosos de los polifenoles en la salud, se han atribuido a su actividad antioxidante, es decir, su capacidad para eliminar los radicales libres.

A continuación se presentan algunos estudios sobre el efecto de los componentes del café en la salud humana:

- *Caffeinated coffee, decaffeinated coffee, and the phenolic phytochemical chlorogenic acid up-regulate NQO1 expression and prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis in primary cortical neurons*, de la autoría de J. Kim, S. Lee, J. Shim, H. Kim, J. Kim, Y. Jang, H. Yang, J. Park, S. Choi, J. Yoon, K. Lee, H. Lee.

Los resultados de este estudio muestran que el café, tanto con cafeína como descafeinado, inhibió la muerte neuronal apoptótica <sup>6</sup> inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogeno) y que el ácido clorogénico podría ser el principal responsable de estos efectos. La eficacia neuroprotectora del café con cafeína fue similar a la de café descafeinado, lo que indica que los compuestos activos presentes tanto en el café con cafeína y descafeinado, como el ácido clorogénico, pueden ser los responsables de esos efectos [18].

- *Does coffee enriched with chlorogenic acids improve mood and cognition after acute administration in healthy elderly? A pilot study*, de la autoría de V. Cropley, R. Croft, B. Silber, C. Neale, A. Scholey, C. Stough, J. Schmitt. La cafeína tiene efectos positivos sobre los procesos cognitivos y de comportamiento, especialmente en condiciones sub-óptimas cuando la excitación es baja. Este estudio piloto encontró que el café con cafeína muestra un efecto positivo en los procesos del estado de ánimo y la atención de más alto nivel. El café descafeinado con alto contenido de ácido clorogénico también mejoró algunas medidas del estado de ánimo y del comportamiento, en relación con el café descafeinado regular. Estos resultados experimentales sugieren que los compuestos en el café (no cafeína), tales como los ácidos clorogénicos pueden ser capaces de ejercer unos efectos conductuales agudos [19].
- *Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance*, de la autoría de A. Van Dijk, M. Olthof, J. Meeuse, E. Seebus, R. Heine, R. Van Dam. En este estudio les fue administrando 1 g de ácido clorogénico a 15 voluntarios

---

<sup>6</sup> La apoptosis es una vía de destrucción o muerte celular programada o provocada por el mismo organismo, con el fin de controlar su desarrollo y crecimiento, puede ser de naturaleza fisiológica y está desencadenada por señales celulares controladas genéticamente.

obesos, 30 minutos antes de un test estándar de tolerancia a la glucosa, que consta de la ingesta de 75 g de glucosa en un vaso de agua. El ácido clorogénico produjo una reducción significativa de los niveles de glucosa y de insulina en las primeras muestras de sangre. No se redujo la biodisponibilidad de la glucosa, ni el área bajo la curva de la insulina, pero los autores del estudio interpretan estos resultados sugiriendo que el ácido clorogénico puede tener varios efectos sobre el metabolismo de la glucosa “in vitro”; concluyendo que el ácido clorogénico y la trigonelina redujeron las respuestas previas a la glucosa y la insulina durante el OGTT (oral glucose tolerance test). Este hallazgo es consistente con la hipótesis de que estos compuestos contribuyen al efecto beneficioso del café sobre el desarrollo de la diabetes tipo II [20].

### 3. CAFÉ Y TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS

A continuación se muestran algunos estudios actuales, donde se han utilizado las técnicas de Espectroscopia Infrarroja y Ultravioleta en muestras de café.

- *Chemometric analysis of UV characteristic profile and infrared fingerprint variations of coffea arabica green beans under different space management treatments*, de la autoría de A. Terrile, G. Marcheafave, G. Oliveira, M. Rakocevic, R. Brunsd, L. Scarminio. En este trabajo utilizaron perfiles característicos de la espectroscopia de infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR) y ultravioleta de extractos de coffea arábica verde, y encontraron que los mayores contenidos de ácido clorogénico se dan a una menor densidad de plantación. Los extractos del solvente diclorometano del tratamiento S10 mostraron los niveles más altos de cafestol y kahweol <sup>7</sup>. El tratamiento R6 mostró un contenido ligeramente superior de cafestol y kahweol. El análisis en grupos de las huellas FTIR les confirmó que los niveles de ácido clorogénico y cafeína diferencian arreglos espaciales, además sugieren que los granos verdes de S6 y R10, son más ricos en lípidos y los otros dos tratamientos tenían más azúcares y proteínas [21].
- *Evaluación por TGA y FTIR de los cambios de composición producidos por la tostión en granos de café*, de la autoría de W. Rivera, X. Velasco, C. A. Rincón. En esta investigación determinan las transformaciones que produce la tostión y asocian los cambios a patrones de identificación de grupos funcionales por espectroscopia FTIR. Los picos de absorción infrarroja, que evidencian los cambios principales por efecto de la tostión del café, se

---

<sup>7</sup> Cafestol y Kahweol, son moléculas de diterpeno presentes en el café. Un grano típico de Coffea arábica contiene aproximadamente un 0,6% en peso de cafestol.

presentan en los 880 cm<sup>-1</sup> por bandas anoméricas de carbohidratos, en 1160, 1250 y 1380 cm<sup>-1</sup> por acción del ácido clorogénico y en la región de 1500 a 1800 cm<sup>-1</sup> con un pico mayor en 1650 cm<sup>-1</sup> por la presencia de cafeína [22].

- *Characterization and determination of chlorogenic acids (CGA) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy*, de la autoría de A. Belay, A. V. Gholap. En este trabajo desarrollaron por espectrometría UV-Vis la caracterización óptica y el método para la determinación de CGA en los granos de café. Las propiedades de transición óptica recientemente investigadas son útiles para estudios experimentales y teóricos de CGA. Por otro lado el método desarrollado para el análisis CGA en los granos de café es simple, rápido y sensible. Además, los productos químicos y equipos necesarios para llevar a cabo el análisis están disponibles en la mayoría de los laboratorios [23].

### 3.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

La espectroscopia Infrarroja (IR) es versátil, ya que permite estudiar prácticamente cualquier muestra con independencia del estado en que se encuentre: líquidos, disoluciones, pastas, polvos, fibras, films, gases o superficies.

Técnica que utiliza la radiación infrarroja del espectro electromagnético cuya longitud de onda este entre los (14000 y 20 cm<sup>-1</sup>)<sup>8</sup>. En la Figura 8, se observa los movimientos de torsión, flexión, rotación y vibración de los átomos de una molécula, implicados en la espectroscopia IR. La multiplicidad de las vibraciones que ocurren en forma simultánea produce un espectro de absorción altamente complejo que depende de las características de los grupos funcionales constitutivos de la molécula, así como de la configuración total de los átomos [24].

---

<sup>8</sup> Las unidades se dan en cm<sup>-1</sup>, número de onda (magnitud inversa de longitud de onda)  $k = \frac{1}{\lambda}$



La Reflexión Total Atenuada (ATR) es una técnica de muestreo utilizada en el IR, la cual se produce cuando una radiación IR entra en un cristal trasmisor de alto índice de refracción. El cristal está diseñado para permitir la reflexión interna total, que crea una onda evanescente sobre la superficie del cristal. Esta onda se extiende a la muestra que se mantiene en contacto íntimo con el cristal, registrándose el espectro IR del analito [25].

Las tres zonas en las que se divide el espectro Infrarrojo son [26]:

- IR cercano (NIR): (12800 - 4000)  $\text{cm}^{-1}$ , requiere una mínima o nula preparación de la muestra y ofrece un análisis cuantitativo sin consumir o destruir la muestra.
- IR medio: (4000 - 400)  $\text{cm}^{-1}$ , es donde se dan la mayoría de las aplicaciones analíticas tradicionales, los avances en la técnica se produjeron con el desarrollo de instrumentos que incorporan el método de transformada rápida de Fourier (FT-IR), que ha mejorado la calidad de los espectros y minimizado el tiempo requerido para la obtención de datos.
- IR lejano: (400 - 10)  $\text{cm}^{-1}$ , requiere el uso de fuentes y materiales ópticos especiales. Utilizado para el análisis de compuestos orgánicos, inorgánicos u organometálicos que contengan átomos pesados (masa atómica superior a 19) y proporciona información muy útil en estudios estructurales.

En la figura 9 se presentan espectros infrarrojo, para muestras de café verde y tostado. Los cuales fueron tomados del artículo, *Evaluación por TGA y FTIR de los cambios de composición producidos por la tostión en granos de café*.

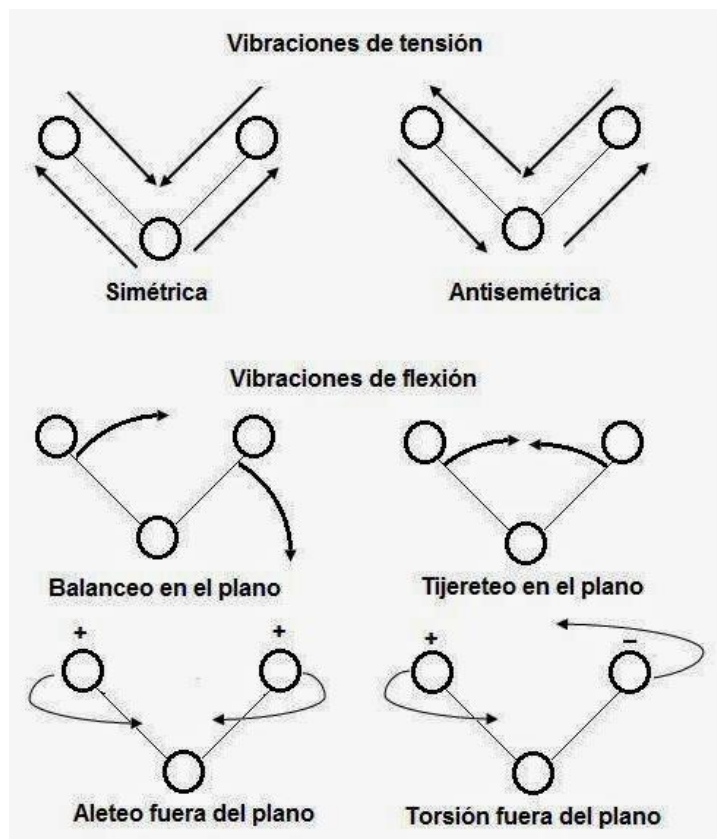


Figura 8. Tipos de vibración molecular (+ Indica un movimiento del plano hacia la derecha), (- Indica un movimiento del plano hacia la izquierda)

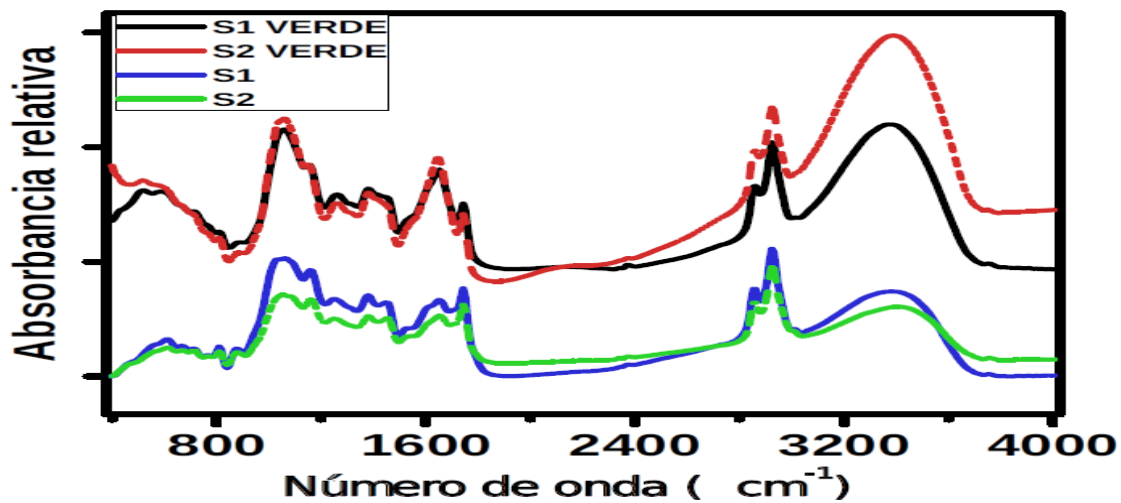


Figura 9. Espectros de absorción FTIR de las muestras de café verde (curvas S1 verde y S2 verde) y de café sometido a tostión por 5 min a 220°C (curvas S1 y S2) [22].

### 3.2 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Técnica espectroscópica que utiliza la radiación ultravioleta del espectro electromagnético cuya longitud de onda está comprendida entre los 10 y 400 nm. Su efecto sobre la materia orgánica es producir transiciones electrónicas entre los orbitales atómicos y/o moleculares de la sustancia.

En la radiación ultravioleta se distinguen cuatro zonas: UV cercano (300 - 400) nm, UV medio (200 - 300) nm, UV lejano (95 - 200) nm, y UV extremo (10 - 95) nm. Las zonas del ultravioleta cercano y medio son las de más interés puesto que los equipos existentes trabajan a partir de los 200 nm.

Cuando la radiación interacciona con la materia, pueden ocurrir varios procesos como reflexión, dispersión, absorbanza, fluorescencia/fosforescencia (absorción y reemisión) y una reacción fotoquímica (absorbancia y rotura de enlaces). En general, cuando se miden espectros UV-visible, sólo es deseable que ocurra absorbanza.

En algunas moléculas y átomos, los fotones de luz ultravioleta tienen suficiente energía para causar transiciones entre los diferentes niveles electrónicos. La longitud de onda de la luz absorbida es aquella que tiene la energía requerida para mover un electrón desde un nivel de energía inferior a uno superior. Estas transiciones deben resultar en bandas de absorbanza muy estrechas, a longitudes de onda características de la diferencia entre los niveles de energía de las especies absorbentes. Esto es cierto para los átomos, ver figura 10.

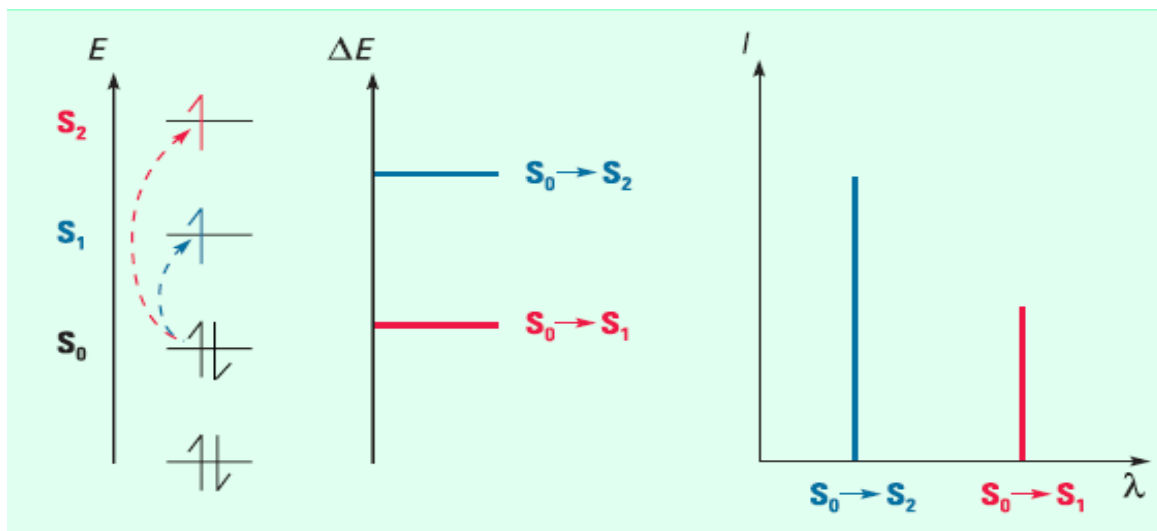


Figura 10. Transiciones electrónicas y espectros de los átomos [26]

Sin embargo en las moléculas, los niveles de energía vibracional y rotacional están superpuestos sobre los niveles de energía electrónica. En la figura 11, se ve cómo pueden ocurrir muchas transiciones con diferentes energías, las bandas se ensanchan. El ensanchamiento es incluso mayor en las disoluciones, debido a las interacciones disolvente-soluto. [27]

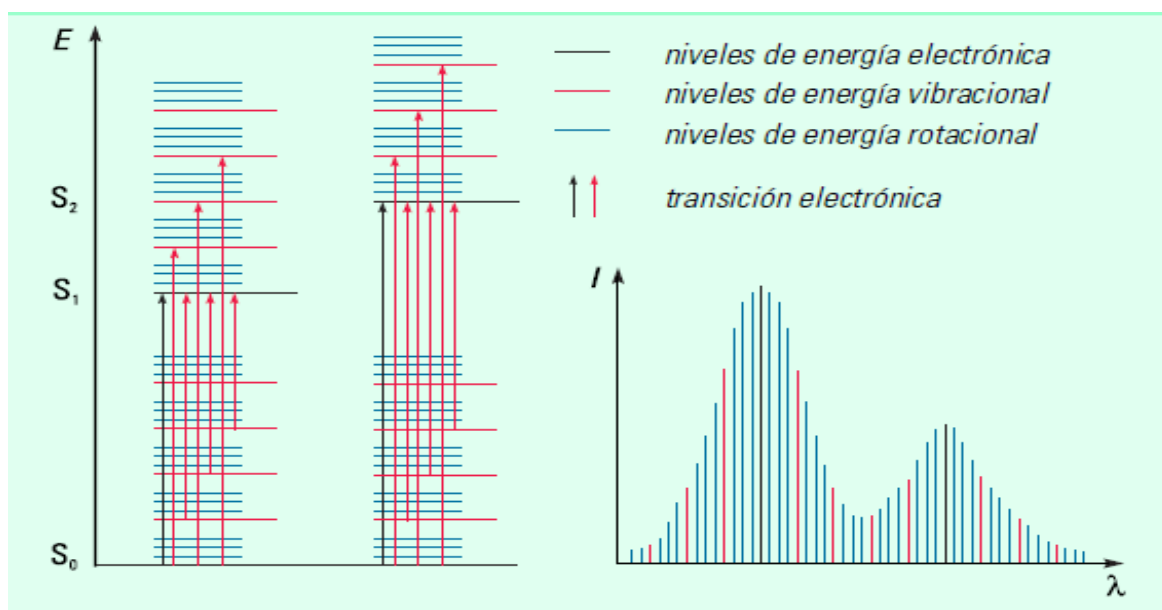


Figura 11. Transiciones electrónicas y espectros UV-Visible en moléculas [27]

## 4. MÉTODO EXPERIMENTAL

Los granos de café arábica utilizados en este proyecto fueron cultivados en el departamento del Cauca y proporcionados por la Federación Campesina del Cauca (FCC) [28]. Se trabajó con 10 muestras de café clasificadas por su variedad y provenientes de los municipios de Cajibío (los Pinos), la Sierra (las Delicias), Popayán (Figueroa, Santa Rosa y Villa Nueva) y Toribío (el Diviso), las cuales fueron obtenidas por el sistema de producción orgánico (sistema sostenible de producción y procesamiento en el cual no se utilizan químicos como plaguicidas, herbicidas y fertilizantes) y el convencional (sistema en el cual si se utilizan químicos).

En el desarrollo experimental de este proyecto se realizó el proceso de catación, con la ayuda de la catadora de la FCC. Este proceso consistió en un análisis sensorial de las cualidades organolépticas, cada una se califica con una puntuación del 1 al 10, donde la calificación de 5 hacia abajo es algo negativo y 6 hacia arriba es positivo, y mientras mayor sea la puntuación mejor es la calidad de la taza. Este análisis brinda la oportunidad de realizar una evaluación del olor, sabor y degustación y se realizó para cada muestra siguiendo el protocolo de la SCAA [29], pues este es el método tradicional a través del cual se evalúan las características de una muestra de café.

En la tabla 1 se enumeran las muestras con sus respectivas características y el puntaje obtenido por cada una, en la sesión de catación realizada en el laboratorio de calidades de la FCC.

Después de clasificadas y catadas, se eligieron las muestras 1, 5, 7 y 10, ya que fueron las que obtuvieron mayor puntaje de catación comparadas con las otras muestras de la misma variedad, pues esto garantiza la realización de los análisis por espectroscopia a las muestras de mejor calidad.

Tabla 1. Características de las muestras de café

N°	Variedad	Sistema de producción	Lugar		Puntaje de catación
			Vereda	Municipio	
1.	Castillo	Convencional	Las Delicias	La Sierra	83,75
2.	Castillo	Convencional	Villanueva	Popayán	83,00
3.	Castillo	Orgánico	Santa Rosa	Popayán	82,00
4.	Castillo	Orgánico	Los Pinos	Cajibío	79,75
5.	Caturra	Convencional	Las Delicias	La Sierra	83,75
6.	Caturra	Orgánico	Figueroa	Popayán	83,50
7.	Colombia	Orgánico	Figueroa	Popayán	83,00
8.	Colombia	Orgánico	Santa Rosa	Popayán	83,00
9.	Colombia	Convencional	El Diviso	Toribío	82,00
10.	Típica	Orgánico	Santa Rosa	Popayán	77,00

Los análisis de espectrometría IR para las muestras de café líquidas, se realizaron en el laboratorio de Reología (Departamento de Agroindustria) en la Universidad del Cauca, utilizando el IRAffinity-1S, espectrofotómetro FTIR (ver figura 12 a) que incluye las técnicas de transmisión, reflexión difusa y reflexión total atenuada. Este interferómetro de Michelson está optimizado continuamente por un mecanismo de alineación dinámica y un secador auto incorporado. Trabaja en el rango de número de onda de 7.800 a 350  $\text{cm}^{-1}$ , una resolución máxima de 0,5  $\text{cm}^{-1}$ , relación S/N de 30.000: 1 o superior (pico a pico, 4  $\text{cm}^{-1}$  de resolución, en un barrio de 2.100  $\text{cm}^{-1}$ , acumulación de 1 minuto) [30].

Los análisis de espectrometría IR para las muestras de café en polvo, se realizaron en el laboratorio de Física del Plasma en la Universidad Nacional de Colombia (sede Manizales), utilizado el Alpha Platinum Bruker, un espectrofotómetro FTIR compacto (ver figura 12 b). Un equipo perfecto para control de calidad que incorpora el interferómetro Rocksolid™ permanentemente alineado. Resolución espectral estándar menor a 2  $\text{cm}^{-1}$  (opcionalmente menor a 0,9  $\text{cm}^{-1}$ ), rango espectral de 7.500 - 375  $\text{cm}^{-1}$  y la conexión al ordenador de control se realiza vía Ethernet [31].

Los análisis de espectrometría UV se realizaron en el laboratorio de Biología Celular y Molecular (Departamento de Biología) en la Universidad del Cauca, utilizando el Spectronic Genesys 5, un espectrofotómetro fácil de usar, diseñado para mediciones cuantitativas (ver figura 12 c). Un instrumento de diseño óptico de haz dividido con dos receptores, tiene como fuente dos lámparas, tungsteno y deuterio, realiza mediciones de absorbancia, %transmitancia y concentración dentro del rango de longitud de onda de 200 a 1100 nm, un ancho de banda espectral de 5 nm, precisión de  $\pm 0,5$  nm, velocidad de barrido de 300 o 900 nm/min [32].

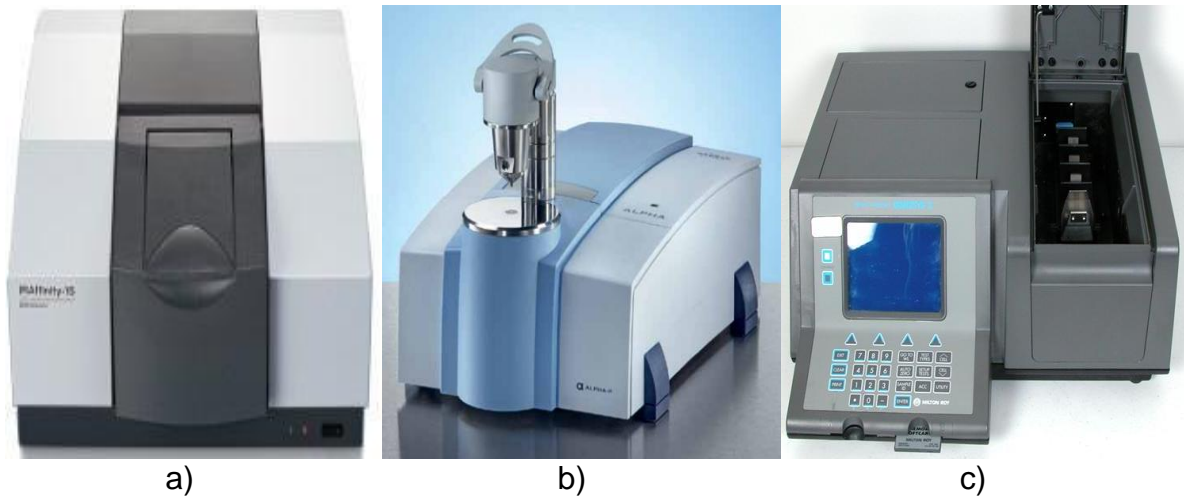


Figura 12. Espectrofotómetro a) IRAffinity-1S b) Alpha Platinum Bruker y c) Spectronic Genesys 5

Las cubetas son los recipientes donde se depositan las muestras líquidas a analizar por espectroscopia ultravioleta. El material del cual están hechas varía de acuerdo a la región que se esté trabajando; de vidrio o plástico si se trabaja en la región visible, de cuarzo si se trabaja en la ultravioleta. Se caracterizan por tener dos paredes correspondientes a los lados ópticos por donde cruza el haz de luz.

## 4.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Los granos de café en pergamino se procesaron mediante una trilladora GranEl, colocando 200 g de cada muestra, durante 5 min para obtener el llamado café verde.



Figura 13. Café pergamino, trilladora y café verde

### 4.1.1 Muestras de café para espectroscopia Infrarroja

Las muestras que fueron procesadas como café verde, se trituraron en un molino analítico Polymix aproximadamente a 5000 rpm. Posteriormente, se pasó por una malla N°50, en un tamiz eléctrico durante un tiempo de 10 min, porque en la molienda se obtuvo una muestra con diferente tamaño de grano y para realizar las medidas por IR se requiere de un polvo fino que de manera uniforme suelte sus componentes (ver figura 14).

Con las muestras obtenidas se toman los espectros Infrarrojo en el espectrofotómetro Alpha Platinum Bruker (ver figura 15).





Figura 14. Molino analítico y tamiz eléctrico



Figura 15. Muestras de café verde

- Las muestras que fueron procesadas como café tostado, se tostaron en una tostadora Joper durante un tiempo promedio de 8 a 10 min, a una temperatura promedio de 205°C, para obtener un café tipo *catación medio oscuro*. Pues en este tipo de catación el café muestra todas sus cualidades organolépticas.



Figura 16. Tostadora y café tostado

Una vez tostado el café se dejó enfriar alrededor de 10 min, pues esto permite a la muestra desgasificarse haciendo que la molienda sea más fácil de realizar. Posteriormente se hizo la molienda en un molino Fresh Ground Coffee en tipo espresso, que es la molienda más fina.



Figura 17. Molino y café tostado y molido

La muestra presentaba diferentes tamaños de grano, así que se pasó por una malla N°50, en un tamiz eléctrico durante un tiempo de 5 min, este menor tiempo se debió al tipo de molienda que se realizó. Con las muestras tamizadas, se toman los espectros IR en el espectrofotómetro Alpha Platinum Bruker.



Figura 18. Muestras de café tostado

#### 4.1.2 Muestras de café para espectroscopia Ultravioleta

Para realizar medidas por UV se requiere de muestras líquidas. Fue por esto que inicialmente se realizó una prueba con la prensa de aceite Piteba [33], utilizada para la extracción de aceite de semillas y frutos secos (ver figura 19). Después de muchos ensayos se encontró que debido a la dureza del grano, no es posible obtener una muestra líquida de café, mediante esta prensa.



Figura 19. Prensa de aceite piteba

- Las muestras que fueron procesadas como café verde fueron trituradas con nitrógeno líquido, porque este permitió congelar los granos facilitando triturarlos y conseguir que de manera uniforme soltará sus componentes.

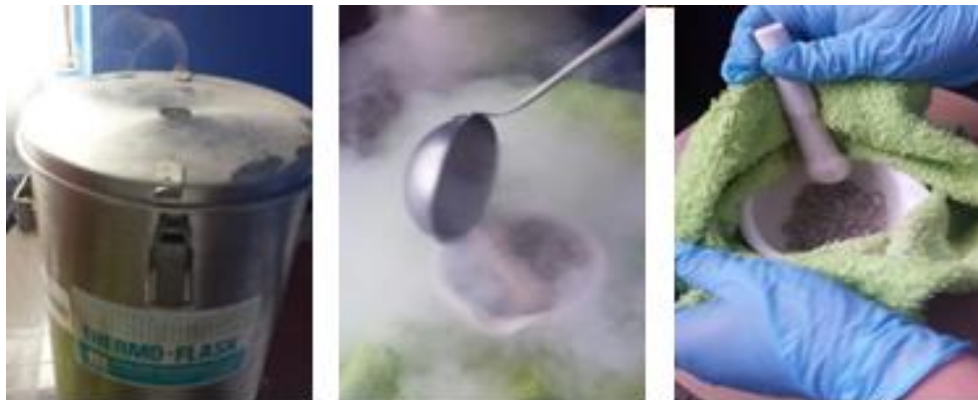


Figura 20. Termo con nitrógeno líquido, proceso de trituración y café verde triturado con nitrógeno

Con el fin de obtener los componentes del café disueltos en agua destilada (200 ml de agua a la que se le han eliminado las impurezas e iones mediante destilación), se sometió el grano del café verde triturado (100 g) a un proceso térmico, durante un tiempo de 15 min. La disolución obtenida fue filtrada con ayuda de una bomba de vacío, utilizando una membrana de filtración con un poro de 0.45  $\mu\text{m}$ , esto con el objetivo de tener una muestra que garantice una buena transmitancia en el momento de realizar la medida de espectroscopia.



Figura 21. Filtrado con bomba de vacío

Con las muestras obtenidas se tomaron los espectros ultravioleta de café verde en el espectrofotómetro Genesys 5.

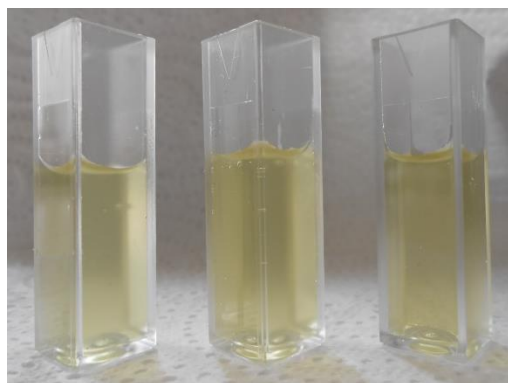


Figura 22. Celdas porta-muestras con café verde

- Las muestras que fueron procesadas como café tostado, se tostaron y molieron de la misma manera que para la espectroscopia IR. Luego se pesó 1 g de este café y se le agregó 20 ml de agua destilada, que previamente fue calentada hasta aproximadamente 90°C. Temperatura ideal para realiza el proceso de catación y a la cual se logran extraer los principales componentes del café solubles en agua.



Figura 23. Café tostado, agua destilada y café disuelto agua

La muestra líquida fue filtrada con la ayuda de una bomba de vacío, haciéndola pasar por una membrana de filtración con tamaño de poro de 0,45  $\mu\text{m}$ .



Figura 24. Café disuelto en agua y equipo de filtración

Con las muestras obtenidas se tomaron los espectros ultravioleta de café tostado en el espectrofotómetro Genesis 5.



Figura 25. Celdas porta-muestras con café tostado

## 4.2 PROCEDIMIENTO DE TOMA DE ESPECTROS

Para las muestras preparadas de café verde y tostado se realizan los siguientes procedimientos.

### 4.2.1 Medidas de espectroscopia Infrarroja por ATR

- Se realiza la calibración del espectrómetro de IR por transformada de Fourier.
- Se limpia el porta-muestras con agua destilada para retirar impurezas y posteriormente se seca.
- Se llena el interior del porta-muestras con la muestra de café (líquida o en polvo).
- Se coloca el porta-muestras en el espectrómetro y se realiza la medición.
- Finalmente se obtiene el espectro de IR por ATR para la muestra de café.

#### 4.2.2 Medidas de espectroscopia Ultravioleta

- Se hace una calibración del espectrofotómetro, realizando la alineación de la lámpara.
- Se selecciona el rango de trabajo, en este estudio la longitud de onda va de 200 a 500 nm.
- Se selecciona la velocidad a la que se realizará el barrido (a velocidad lenta de 300 nm/min).
- Se lavan varias veces las celdas con metanol y se enjuagan con agua destilada para eliminar posibles contaminantes.
- Se depositan 2 ml de agua destilada en una celda, se coloca en el porta-muestras marcado como *Base* y se mide la línea base con la que el equipo realiza la resta a la solución de la muestra.
- Se realizaron muchos ensayos de disolución de la muestra en agua destilada, hasta encontrar el rango apropiado para el equipo utilizado. Se encontró que se debe disolver 2 gotas de la muestra en 10 ml de agua destilada.
- Se depositan 2 ml de la disolución preparada en una celda, se coloca en una de las posiciones del porta-muestras marcadas para *Muestras* y después se mide la absorbancia.
- Finalmente se obtiene el espectro de ultravioleta para la muestra de café.

#### 4.3 METODOLOGÍA

Cada técnica espectroscópica que fue utilizada, requiere un tipo de preparación diferente, infrarrojo por ATR para muestras líquidas o sólidas (polvo) y ultravioleta para muestras líquidas.

- Se estandarizó un procedimiento para la preparación de las muestras de café verde y tostado, en fase líquida y sólida, para realizar los análisis por espectroscopia.
- Se realizó la toma de espectros infrarrojo por ATR y ultravioleta a las muestras de café disueltas en agua destilada, para cada variedad de café en verde y tostado.
- Debido a la escasa información que se tenía de la actividad infrarroja en las muestras disueltas en agua, se realizó la toma de espectros infrarrojo por ATR a las muestras de café en polvo, para además posteriormente realizar una comparación con los resultados obtenidos para las muestras líquidas.
- La información de los espectros obtenidos se analizó utilizando el Software Origin Pro 8.0, para realizar el modelamiento y análisis matemático, que permitió llevar a cabo la deconvolución mediante Lorentzianas para los análisis por infrarrojo y mediante Gaussianas para los análisis por ultravioleta.
- Se llevó a cabo un análisis de las bandas encontradas en las muestras, asociando los grupos funcionales a cada una de ellas.
- Se realizó una comparación de las bandas encontradas, con algunas referencias para estándares de compuestos puros de ácido clorogénico (principal polifenol), ácido cafeico y cafeína.
- Se obtuvo una relación de las áreas calculadas para la región de interés en el espectro UV para cada variedad en verde y tostado.



## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 5.1 CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

En la figura 26 se observan los espectros FTIR para los extractos de café verde y tostado, en agua destilada. Para las cuatro variedades de café analizadas no se observó diferencias apreciables o distintivas entre ellos. En general se presenta una banda ancha y pronunciada alrededor de  $3310\text{ cm}^{-1}$  que corresponde a la región de absorción del agua, la banda es tan ancha debido a que la muestra fue disuelta en agua. Las otras bandas FTIR que han sido reportadas en trabajos previos de composición en café no se aprecian con claridad en los espectros de la figura 26 y de manera particular se tiene que no hay registro de las bandas en  $1462$ ,  $1442$ ,  $1383$  y  $1271\text{ cm}^{-1}$  que se han reportado como características del ácido clorogénico [21].

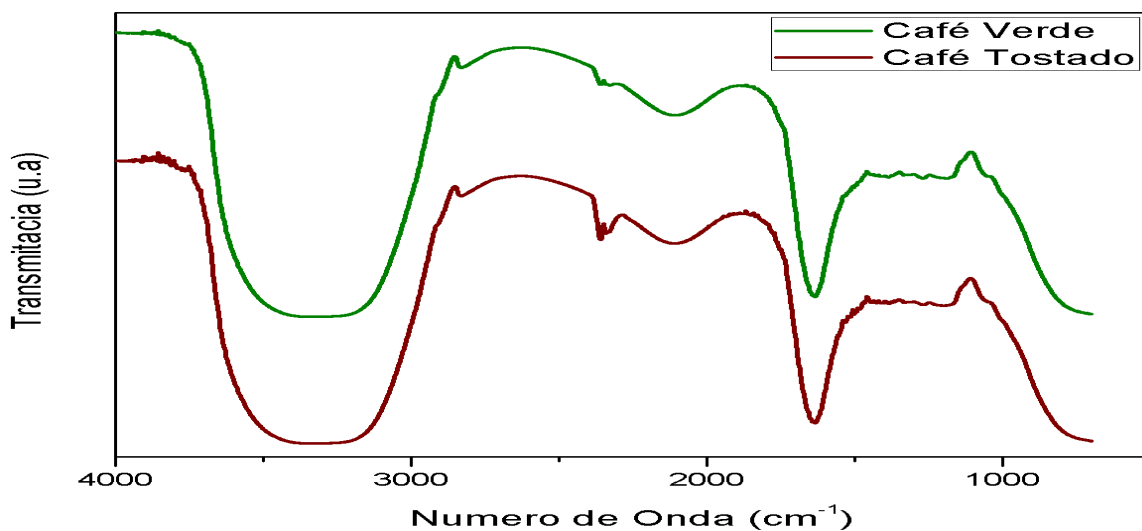


Figura 26. Espectros FTIR por ATR de extractos de café verde y tostado en agua

En contraste con la escasa información que ofrecen los espectros FTIR de las muestras líquidas de café, se tiene un abundante registro de actividades de absorción infrarroja en las muestras de café en polvo.

La figura 27 presenta los dos espectros FTIR obtenidos por la técnica ATR de muestras de café en polvo (verde y tostado de la variedad Castillo). Los espectros para ambas muestras tienen bandas de absorción, bien definidas y muy similares en forma y posición. Esto es un indicativo de que el café tostado conserva en buena medida los componentes presentes en el café verde. Se puede observar una pequeña diferencia en los picos visibles en la región de 1640 a 1720  $\text{cm}^{-1}$  porque en el café tostado existe la banda a 1694  $\text{cm}^{-1}$  asociada con ácidos carboxílicos que no se encuentra visible en el café verde de la misma variedad.

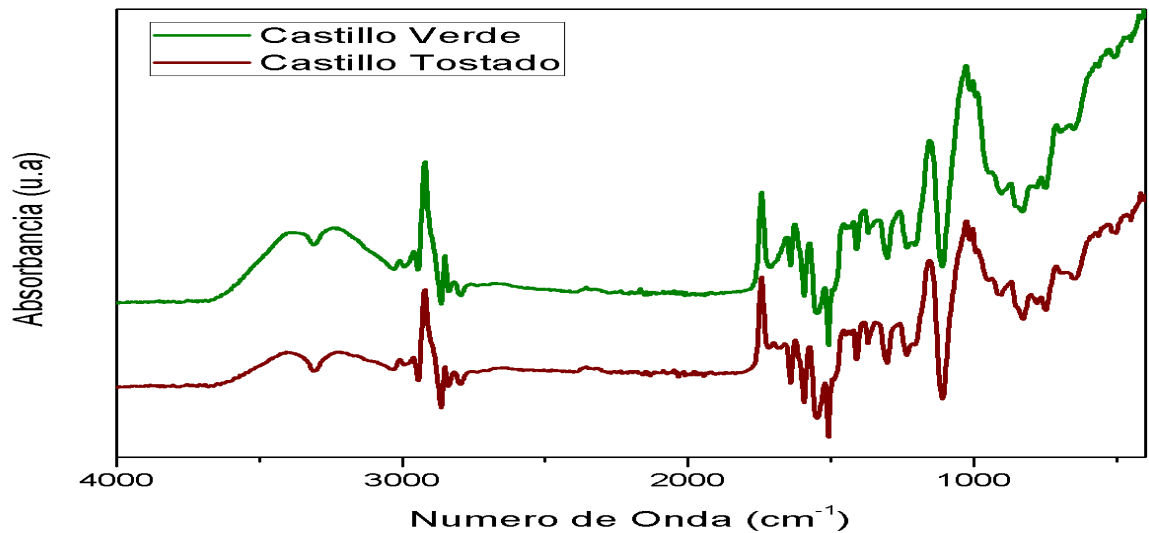


Figura 27. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Castillo

La figura 28 presenta dos espectros FTIR para las muestras en polvo de café Caturra verde y tostado. Los espectros presentan bandas de absorción agudas y con bastante semejanza. Se destaca sí una visible diferencia en los picos de la región entre 1200 y 1720  $\text{cm}^{-1}$ , porque en el café verde las bandas no están bien definidas y no se pueden identificar con precisión las bandas presentes en esta región.

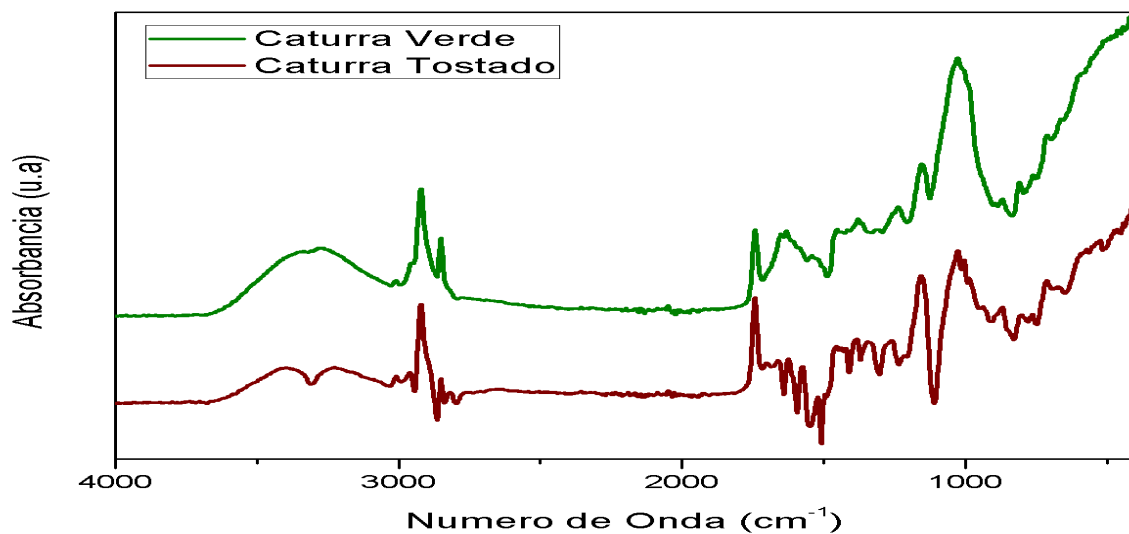


Figura 28. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Caturra

La figura 29 presenta los espectros FTIR de muestras en polvo de café variedad Colombia en estado verde y tostado. Al igual que lo visto en los espectros de las otras variedades, hay bastante similitud. Se observa en este caso una pequeña diferencia en los picos visibles entre la región de 1640 a 1720  $\text{cm}^{-1}$ , pues en el café tostado se aprecia una banda en 1696  $\text{cm}^{-1}$  que se asocia comúnmente a ácidos carboxílicos, que no se revela en el café verde de la misma variedad.

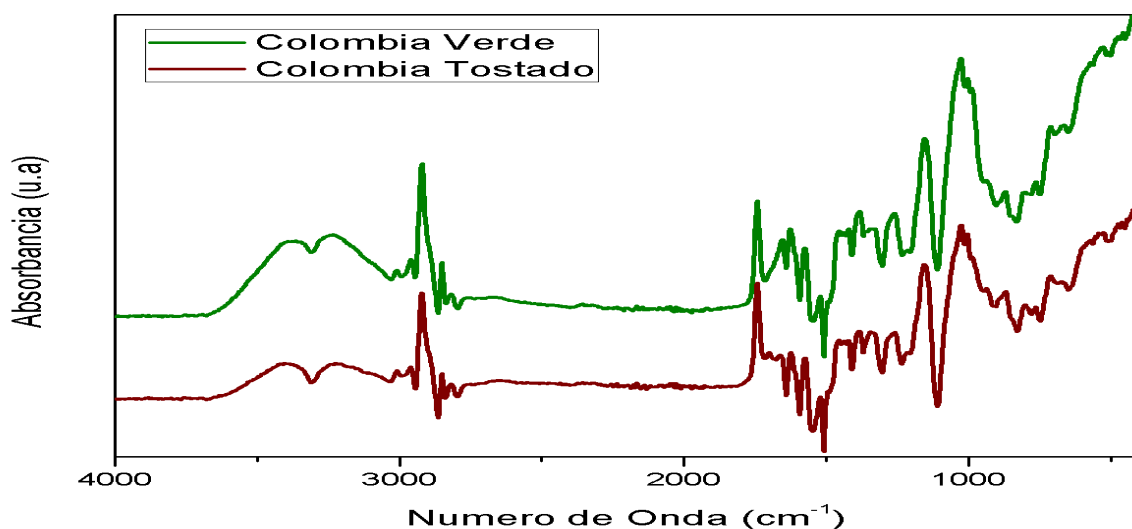


Figura 29. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Colombia

La figura 30 corresponde a los espectros FTIR de las muestras de polvo de café verde y tostado de la variedad Típica. Se observa una diferencia en la banda 1708  $\text{cm}^{-1}$  que solo está presente en la muestra de café verde y otra en la altura o magnitud del pico de la banda de 1744  $\text{cm}^{-1}$  que es mayor en el café tostado que en el café verde; tales diferencias pueden corresponder a cambios en la composición de los ésteres de estas muestras de café.

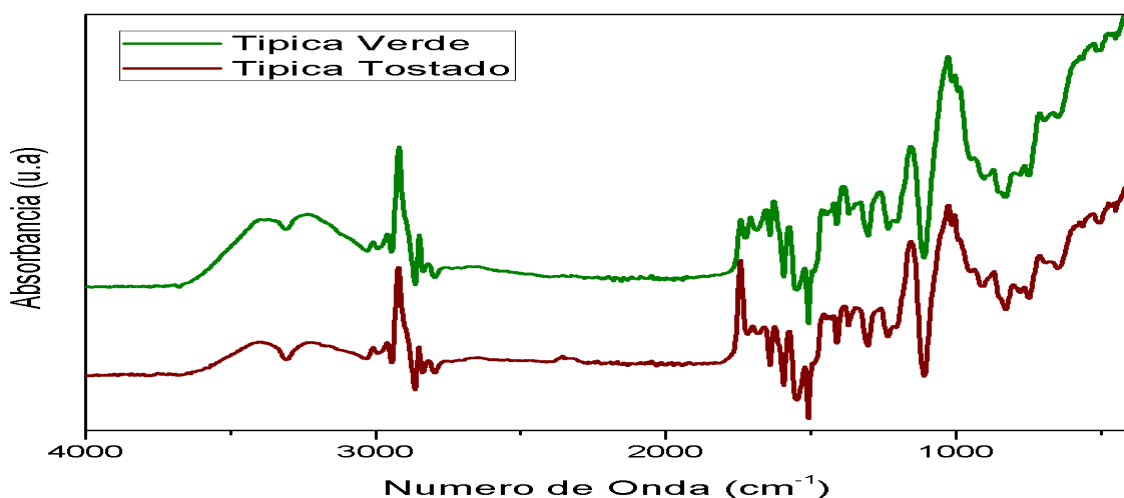


Figura 30. Espectros FTIR por ATR de café en polvo de la variedad Típica

En general las muestras en polvo, de café verde y tostado, para las cuatro variedades del grano analizadas por FTIR muestran actividades semejantes en ambos estados, lo que indica que el café tostado conserva en buena medida los componentes presentes en el café verde. Las múltiples bandas y picos de absorción que se registran en los espectros FTIR reflejan diferentes actividades por el alto número de compuestos y sustancias presentes en el café. En la región de 3000 a 2100  $\text{cm}^{-1}$  se observa la actividad por la tensión de enlaces C-H que están asociados con los compuestos aromáticos presentes en el café (2830, 2359, 2329 y 2111  $\text{cm}^{-1}$ ); en la región de 1800 a 1500  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran las tensiones C=O y C=N que están relacionadas con compuestos responsables del aroma y sabor del café (1635, 1530, 1513 y 1503  $\text{cm}^{-1}$ ), y la región con bandas en 1462, 1442, 1383 y 1271  $\text{cm}^{-1}$  es reportada como la actividad característica del ácido clorogénico [21].

De este modo se tiene el registro de múltiples bandas de absorción IR pero sin especificidad para evaluar los polifenoles en el café.

Las figuras 31 a 36 presentan la deconvolución por Lorentzianas de los espectros FTIR de los polvos de café verde y tostado para las cuatro variedades de café. La deconvolución permite establecer el centro, área, ancho y altura de las bandas que conforman el espectro en 3 regiones de interés: Región 1 (de 2700 a 3100  $\text{cm}^{-1}$ ), Región 2 (de 1550 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ ) y Región 3 (de 1100 a 1500  $\text{cm}^{-1}$ ).

En la figura 31 se presenta la deconvolución de las bandas encontradas para las muestras de café verde del espectro FTIR en la región 1.

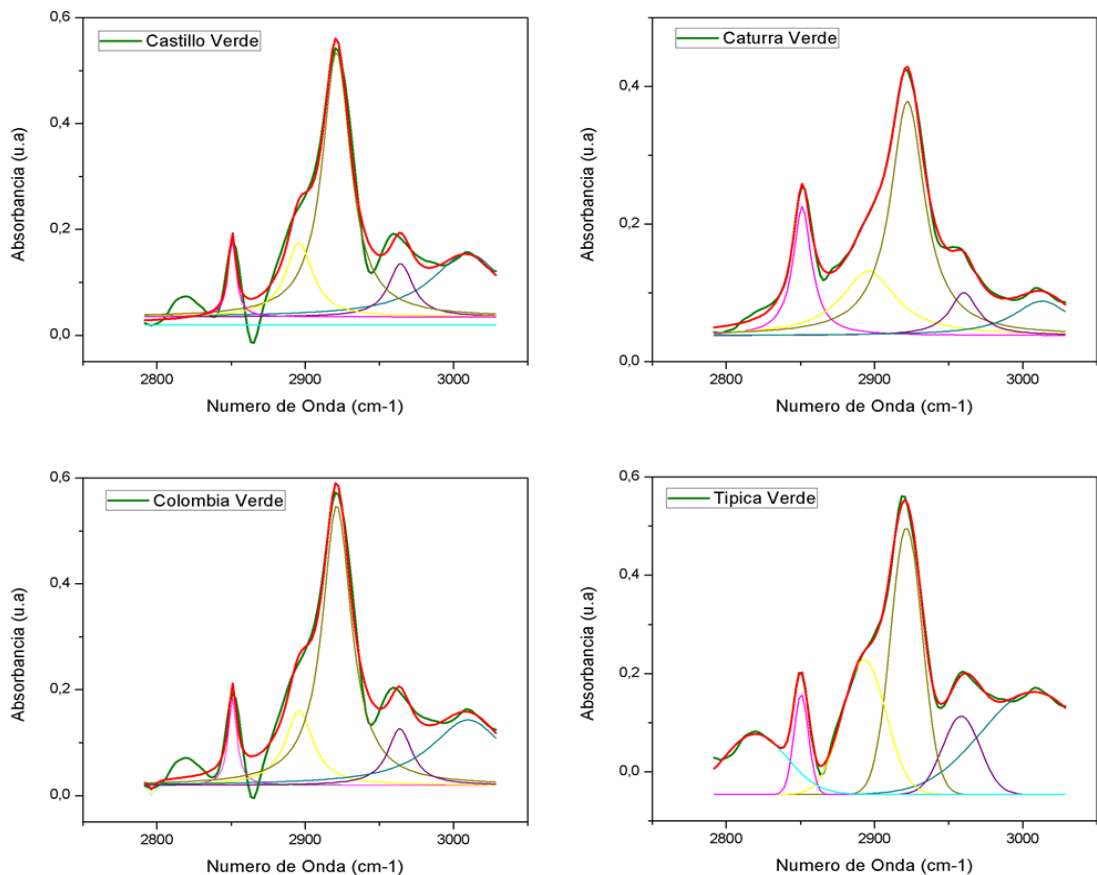


Figura 31. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 1 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café verde

Se observa la presencia de 4 bandas muy bien definidas en sus picos para las cuatro variedades de café verde. La banda débil en  $3009\text{ cm}^{-1}$  puede atribuirse al estiramiento de C-H en  $=\text{C-H}$ , lo cual indica la presencia de ácidos grasos insaturados [21], en la región de  $2850$  a  $2975\text{ cm}^{-1}$ , se observan las tensiones (C-H) que están relacionadas con los alcanos ( $2964$ ,  $2921$  y  $2851\text{ cm}^{-1}$ ).

En la figura 32 se presenta la deconvolución de las bandas encontradas para las muestras de café tostado del espectro FTIR en la región 1.

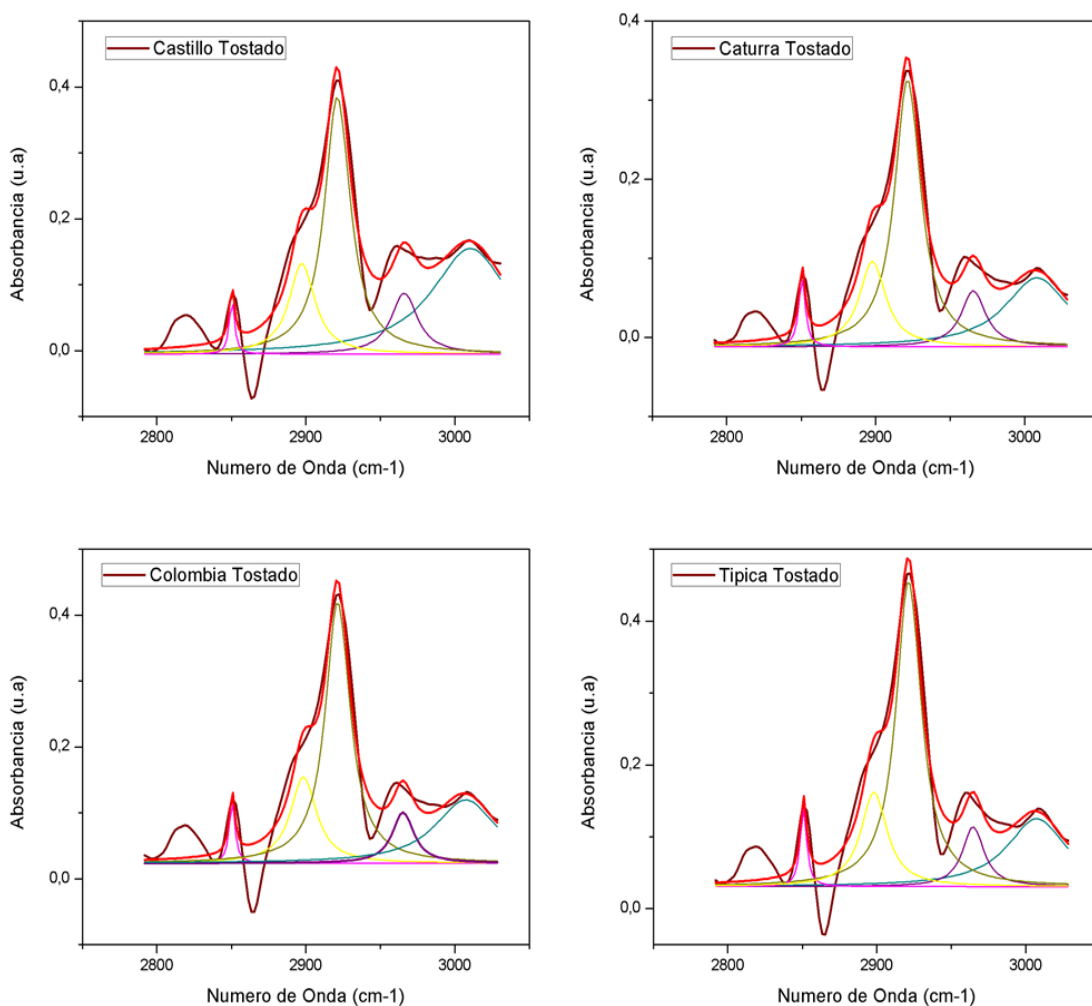


Figura 32. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 1 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café tostado

Se observa la presencia de 4 bandas muy bien definidas para las cuatro variedades de café tostado, las cuales coinciden con las encontradas anteriormente para las muestras de café verde. Esta región se puede asociar con la fragancia del café, en ella se encuentran dos bandas visibles en 2921 y 2851  $\text{cm}^{-1}$ , que pueden atribuirse a los lípidos o grasas presentes en la muestra, en particular por la presencia de Cafestol y Kahweol.

En la figura 33 se presenta la deconvolución de las bandas encontradas para las muestras de café verde del espectro FTIR en la región 2.

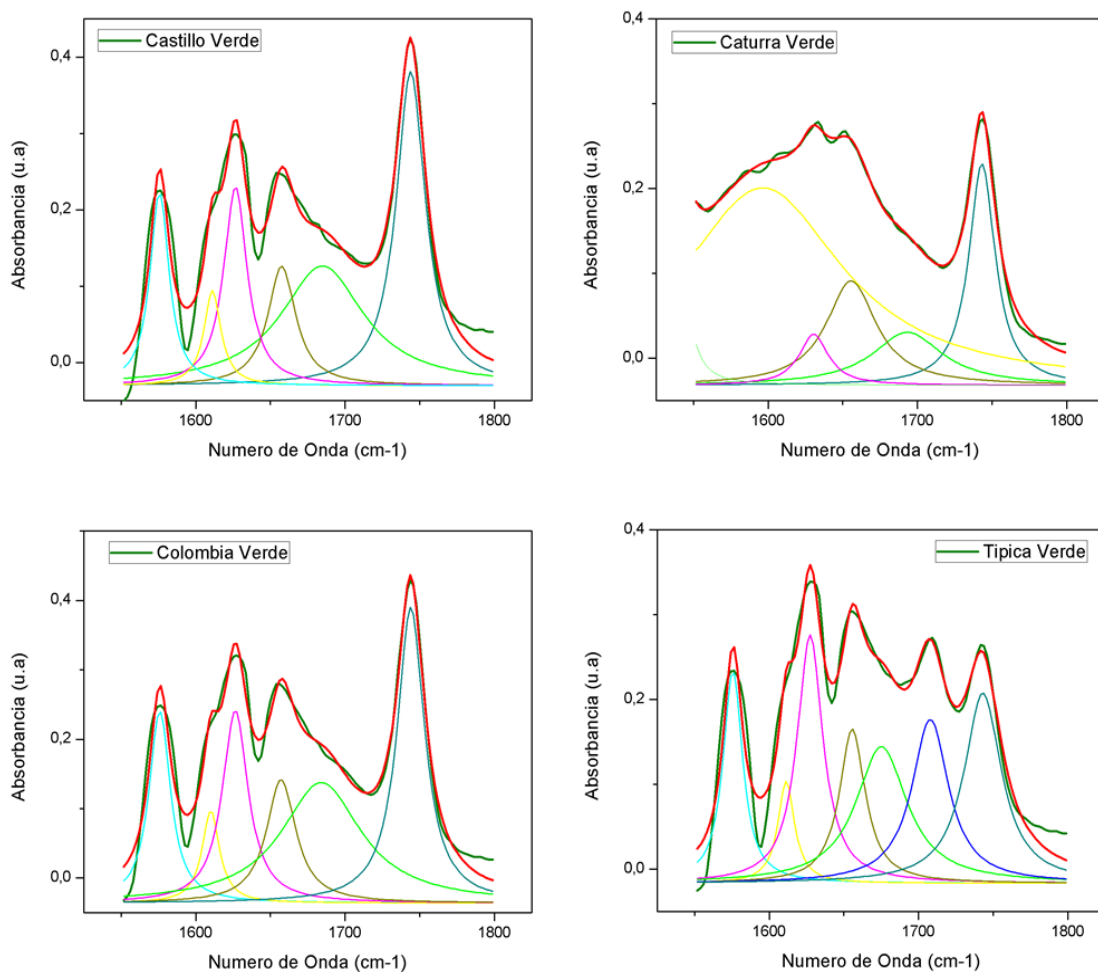


Figura 33. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 2 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café verde

Se observa la presencia de 4 bandas muy bien definidas en sus picos para las cuatro variedades de café verde. La banda en  $1576\text{ cm}^{-1}$  puede atribuirse a la presencia de anillos aromáticos, la banda en  $1627\text{ cm}^{-1}$  puede atribuirse a la tensión  $\text{C}=\text{N}$  que corresponden a las características de las amidas, la banda en  $1658\text{ cm}^{-1}$  puede atribuirse a la presencia de alquenos  $\text{C}=\text{C}$ , las bandas  $1708\text{ cm}^{-1}$  (presente solo en la variedad típica) y  $1744\text{ cm}^{-1}$  pueden atribuirse a las tensiones  $\text{C}=\text{O}$  que corresponden a las características de los ésteres.

En la figura 34 se presenta la deconvolución de las bandas encontradas para las muestras de café tostado del espectro FTIR en la región 2.

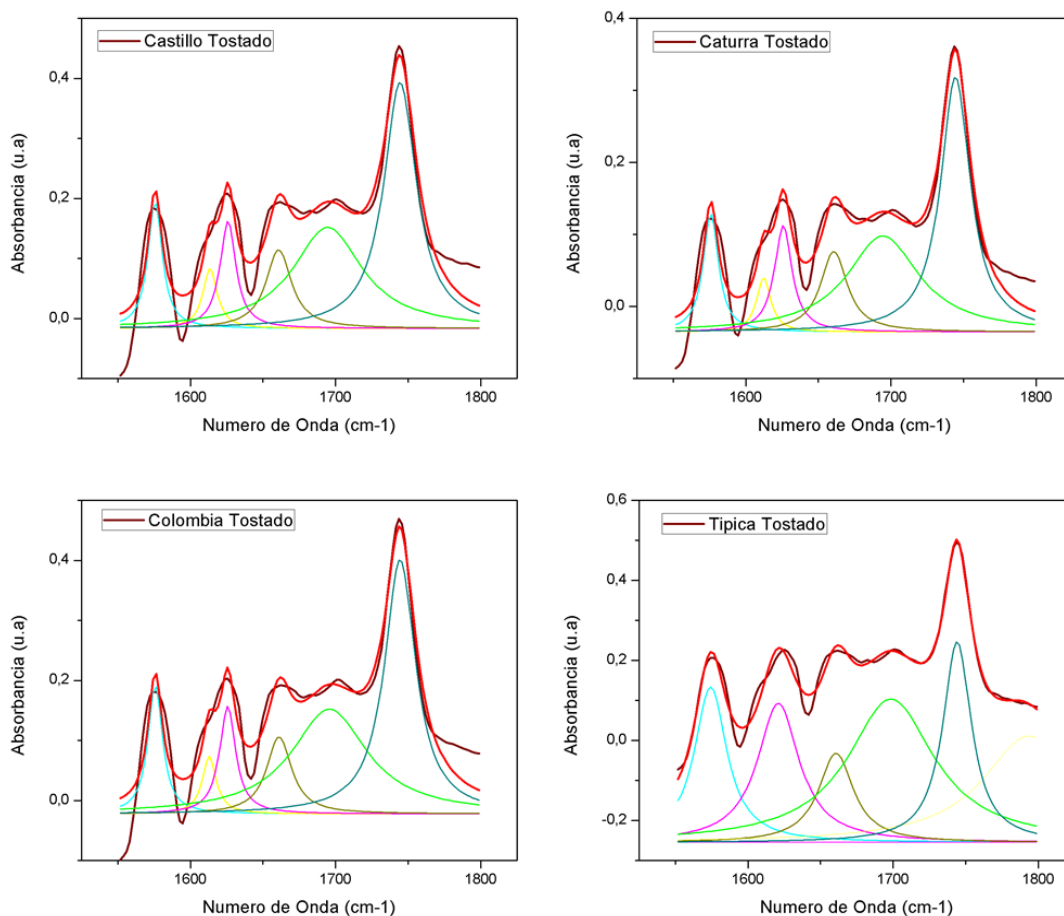


Figura 34. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 2 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café tostado



Se observa la presencia de 5 bandas muy bien definidas en sus picos para las cuatro variedades de café tostado. De las cuales 4 coinciden con las bandas encontradas anteriormente para las muestras de café verde, la banda  $1696\text{ cm}^{-1}$  (que en el café verde es un hombro) puede atribuirse al estiramiento  $\text{C}=\text{C}$  que está presente en la cafeína [21].

En la figura 35 se presenta la deconvolución de las bandas encontradas para las muestras de café verde del espectro FTIR, en la región 3.

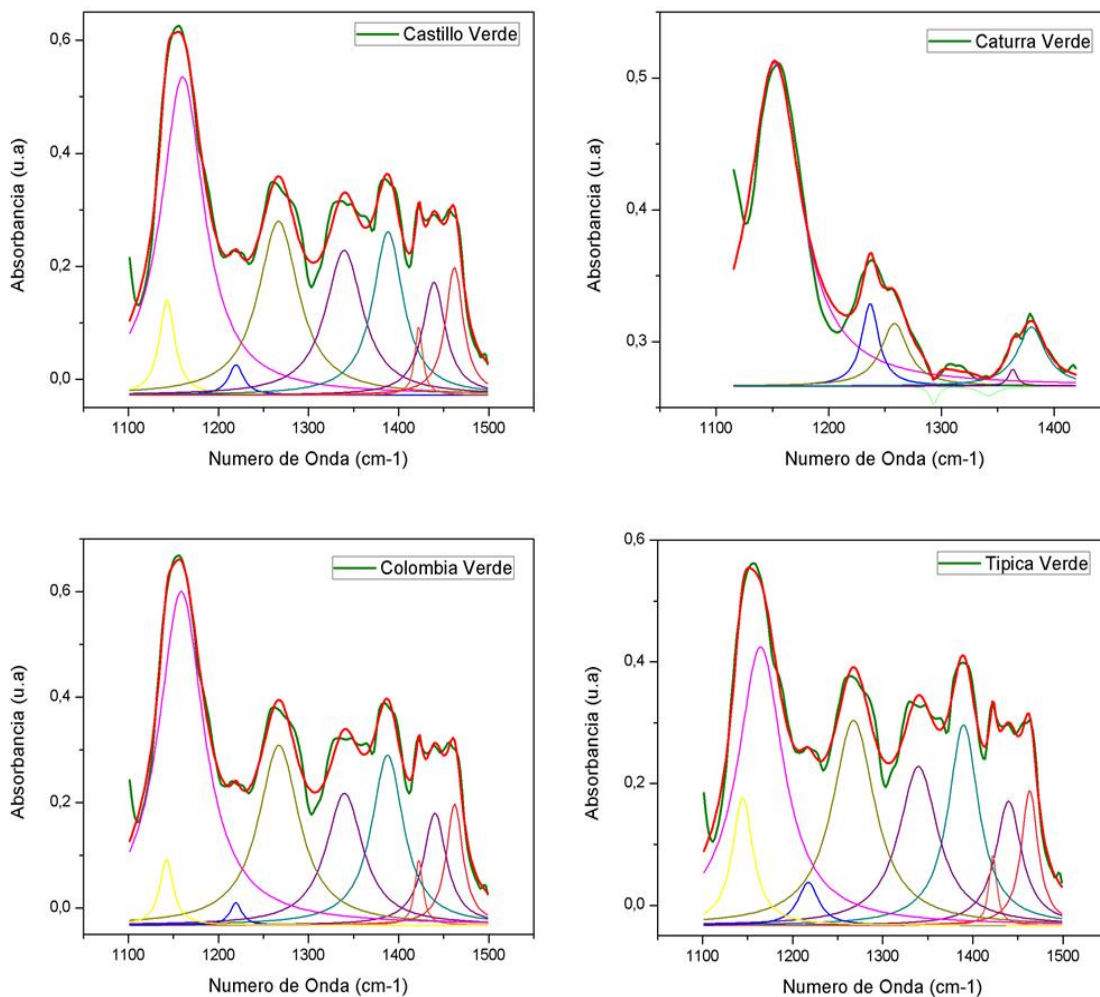


Figura 35. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 3 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café verde

Se observa la presencia de 8 bandas muy bien definidas en sus picos para tres variedades de café verde, en la variedad caturra no se pueden detectar todas las bandas debido a la baja intensidad en la señal. Las bandas 1160 y 1219  $\text{cm}^{-1}$  se pueden atribuir a la presencia de un estiramiento de ésteres C-O, la banda en 1422  $\text{cm}^{-1}$  se puede atribuir a la presencia de una vibración de estiramiento C=C, la región con las bandas (1462 y 1440), 1380 y 1267  $\text{cm}^{-1}$  se pueden atribuir a la actividad característica del ácido clorogénico [21], la banda 1462  $\text{cm}^{-1}$  se da por deformación angular simétrica de grupos metilenos que están en los ácidos grasos presentes en el café.

En la figura 36 se presenta la deconvolución de las bandas encontradas para las muestras de café tostado del espectro FTIR, en la región 3.

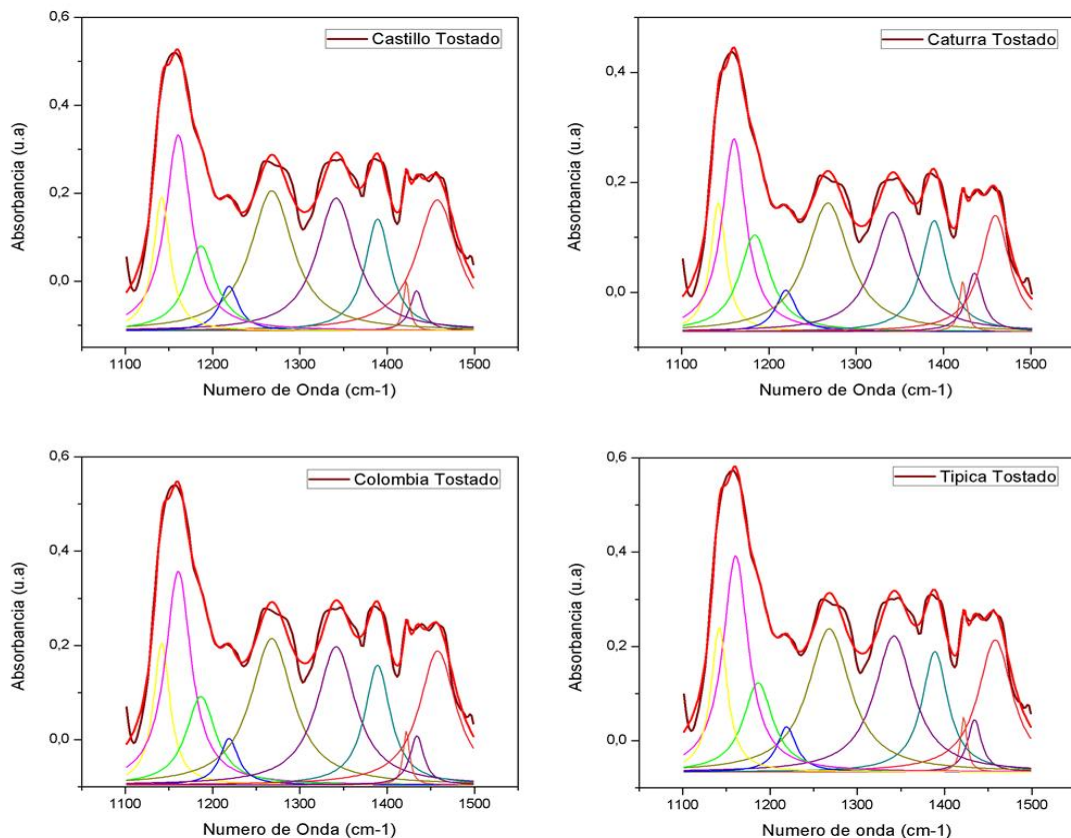


Figura 36. Deconvolución por Lorentzianas en la Región 3 del espectro FTIR por ATR de las muestras de polvo de café tostado

Se observa la presencia de 8 bandas muy bien definidas en sus picos para las cuatro variedades de café tostado. Las cuales coinciden con las encontradas anteriormente para las muestras de café verde. En esta región es importante la presencia de las bandas 1160 y 1219  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes a los ésteres, que le dan el sabor al café.

Después de haber encontrado las bandas para las muestras de café en las regiones de interés, se realizó una comparación con tres compuestos que son fundamentales en el café: el ácido cafeico, el ácido clorogénico (principal polifenol) y la cafeína.

- *Ácido Cafeico*

La figura 37 presenta el espectro FTIR del ácido cafeico (3,4-dihydroxicinámico), en las regiones de número de onda de 4000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ , obtenido de la base de datos NIST [34] y que tiene por fórmula molecular  $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ .

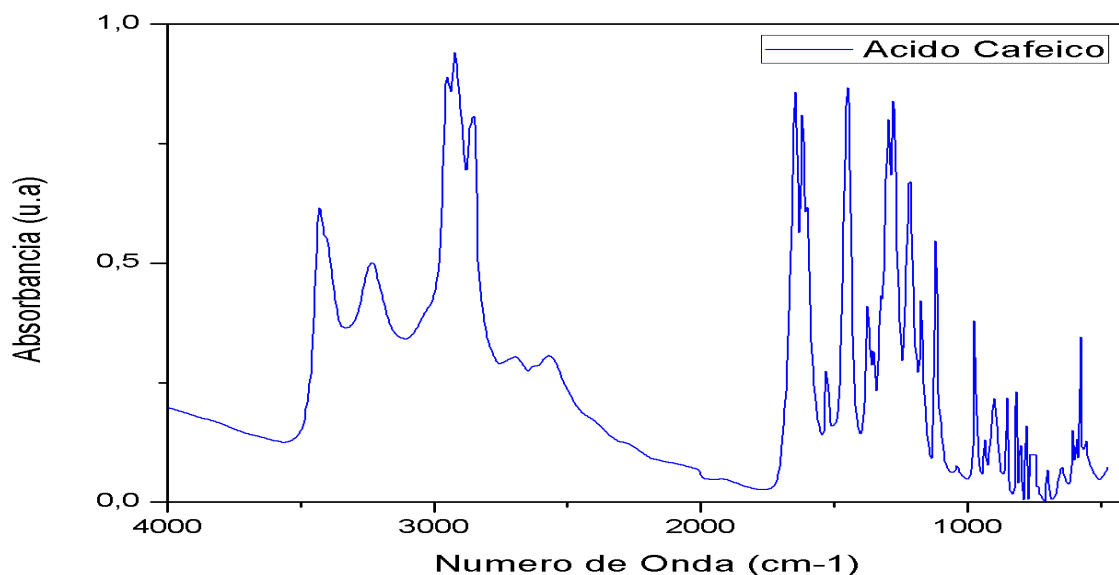


Figura 37. Espectro FTIR del ácido cafeico [34]

Este espectro fue comparado en las tres regiones de interés, para encontrar en los espectros de café las bandas correspondientes a este compuesto.

La figura 38 se presenta la comparación de los espectros FTIR en la región 1, del ácido cafeico y una muestra de café (verde y tostado).

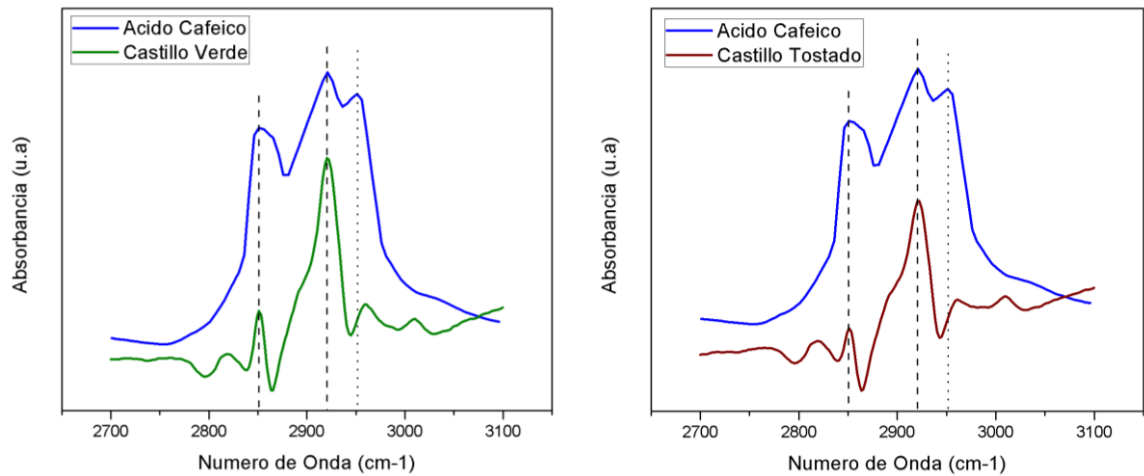


Figura 38. Espectro FTIR del café (verde y tostado) y el ácido cafeico en la región 1

Se observa que dos de las bandas del ácido cafeico ( $2922$  y  $2854\text{ cm}^{-1}$ ) coinciden perfectamente y la banda  $2955\text{ cm}^{-1}$  se encuentra desfasada con respecto a la banda  $2964\text{ cm}^{-1}$  de las muestras de café verde y tostado.

La figura 39 se presenta la comparación de los espectros FTIR en la región 2, del ácido cafeico y una muestra de café (verde y tostado).

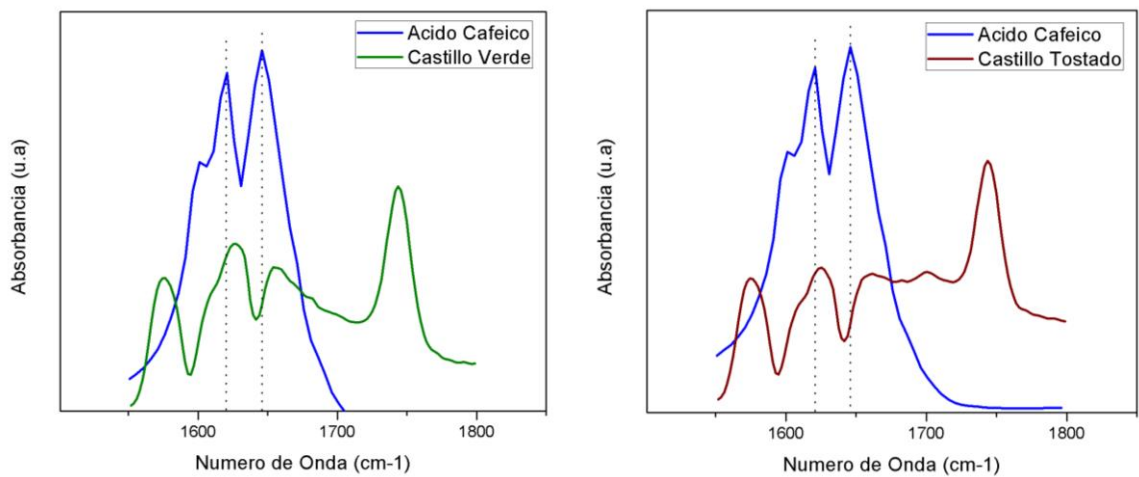


Figura 39. Espectro FTIR del café (verde y tostado) y el ácido cafeico en la región 2

Se observa que dos de las bandas del ácido cafeico ( $1619$  y  $1649\text{ cm}^{-1}$ ), se encuentran desfasadas con respecto a las bandas  $1627$  y  $1658\text{ cm}^{-1}$  de las muestras de café verde y tostado.

La figura 40 se presenta la comparación de los espectros FTIR en la región 3, del ácido cafeico y una muestra de café (verde y tostado).

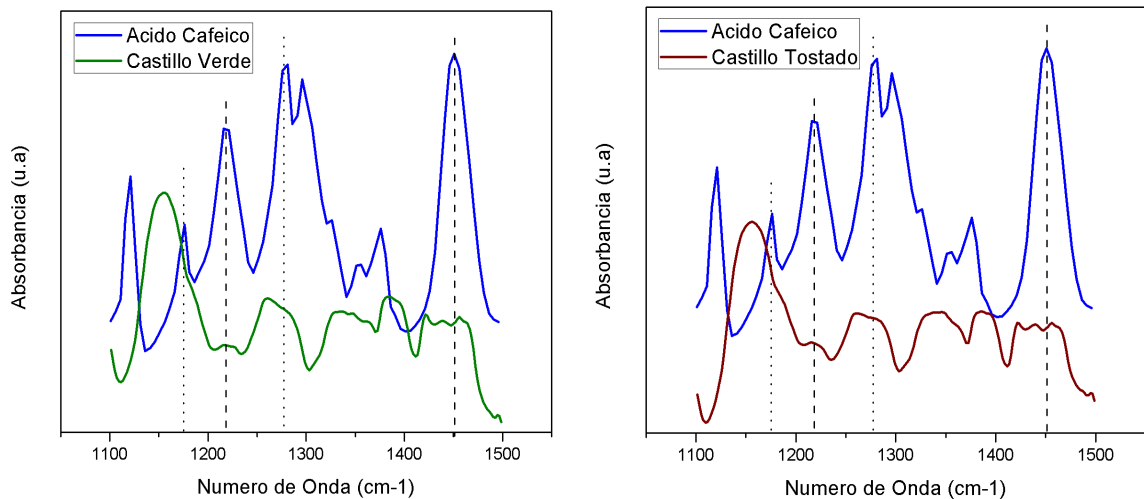


Figura 40. Espectro FTIR del café (verde y tostado) y el ácido cafeico en la región 3

Se observa que dos de las bandas del ácido cafeico ( $1462$  y  $1218\text{ cm}^{-1}$ ) coinciden y las bandas  $1277$  y  $1169\text{ cm}^{-1}$  están desfasadas con respecto a las bandas  $1267$  y  $1160\text{ cm}^{-1}$  de las muestras de café verde y tostado.

- Ácido Clorogénico

En la figura 41 se presenta el espectro FTIR del ácido clorogénico (ácido 5-O-Cafeoilquínico), en las regiones de número de onda de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ , obtenido de la base de datos AIST [35], que tiene por fórmula molecular  $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{O}_9$  y que adicionalmente muestra el reporte de los valores de las bandas de absorción presentes en este compuesto.

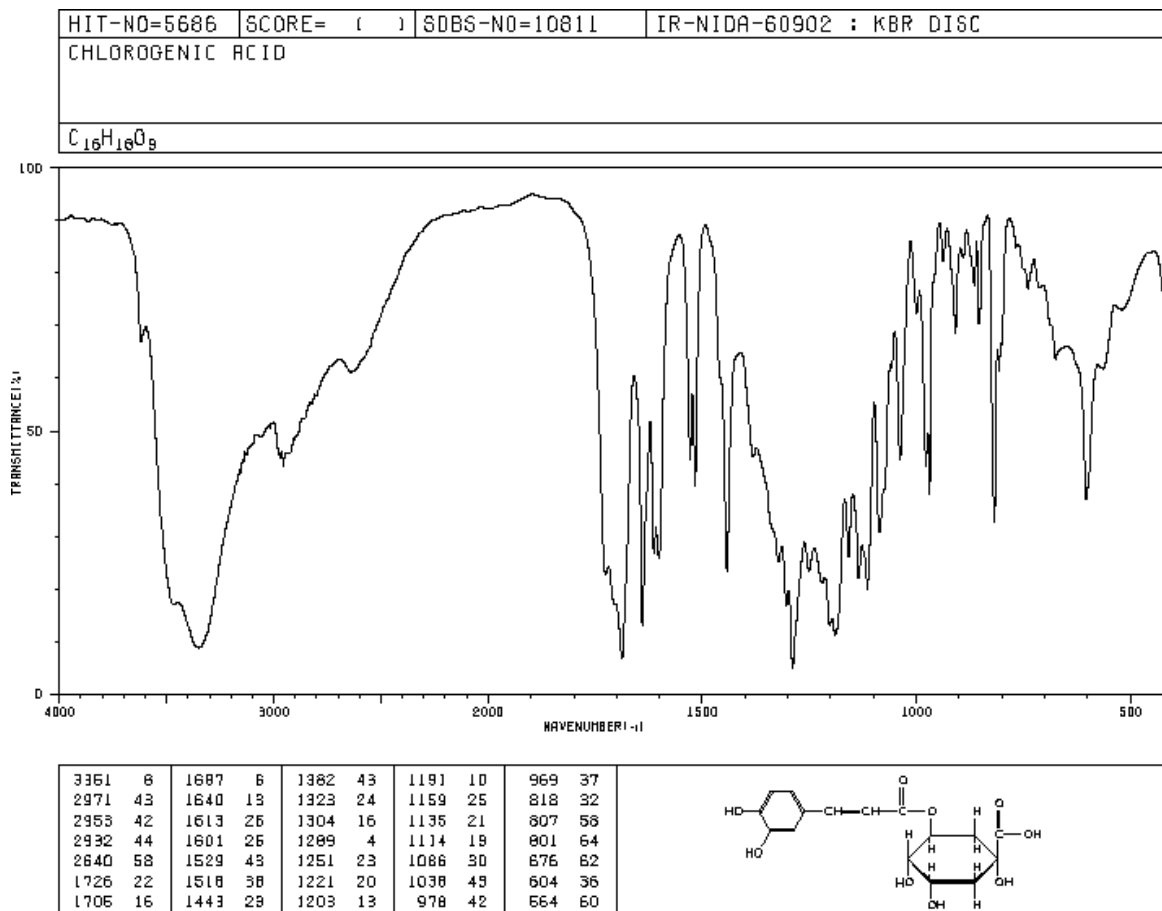


Figura 41. Espectro FTIR del ácido clorogénico [35]

Realizando una comparación entre las bandas de ácido clorogénico y las bandas encontradas en las regiones de interés, se puede observar que existen coincidencias, en la región 1 para la banda  $2971\text{ cm}^{-1}$ , en la región 2 para la banda  $1706\text{ cm}^{-1}$  y en la región 3 para las bandas ( $1443$ ,  $13482$ ,  $1221$  y  $1159$ )  $\text{cm}^{-1}$ .

○ *Cafeína*

La figura 42 presenta el espectro FTIR de la cafeína en las regiones de número de onda de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ , obtenido de la base de datos AIST [35], que tiene por fórmula molecular  $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$  y muestra el reporte de los valores de las bandas de absorción presentes en este compuesto.

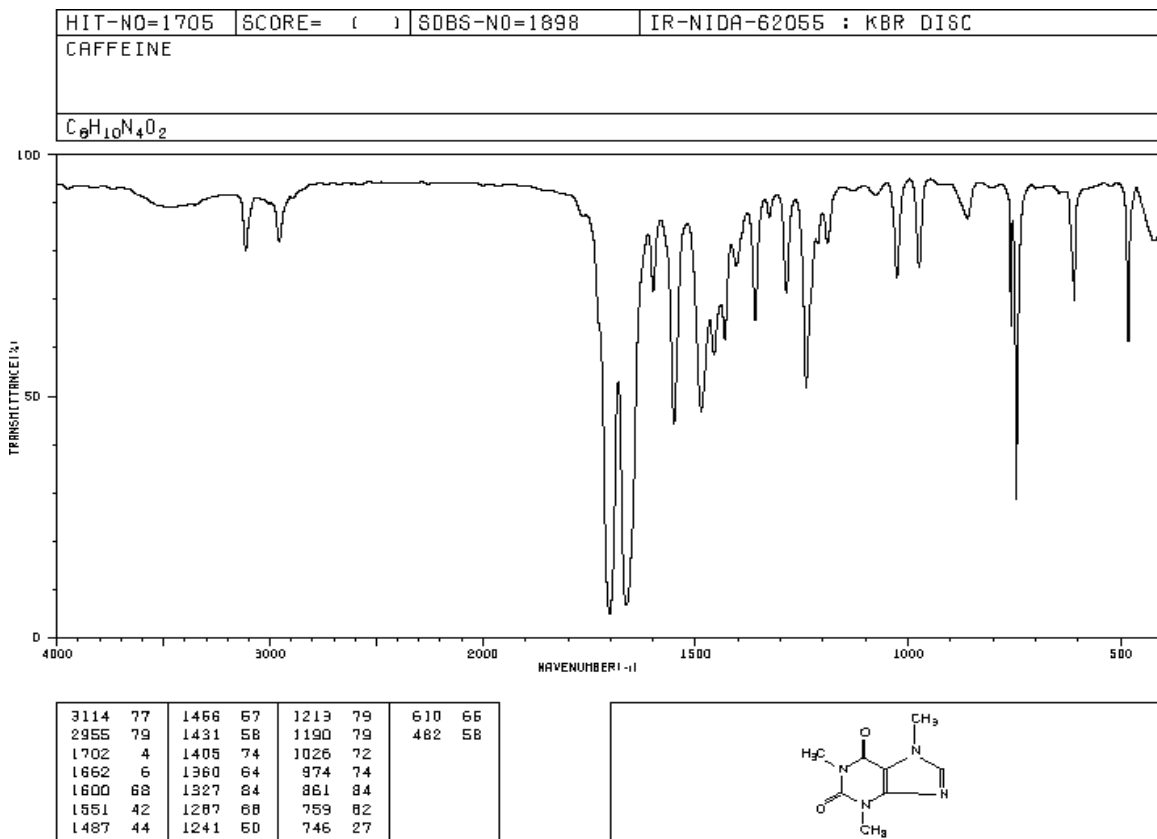


Figura 42. Espectro FTIR de la cafeína [35]

Aunque la cafeína no es un polifenol, es importante detectar las bandas asociadas con su actividad en los espectros FTR por tratarse de un compuesto característico del café soluble en agua. Realizando la comparación entre los FTIR se encontraron las siguientes coincidencias: en la región 1 la banda 2955, en la región 2 para las bandas 1702 y 1662  $\text{cm}^{-1}$  y en la región 3 para las bandas 1456, 1431 y 1213  $\text{cm}^{-1}$ .

Para determinar la presencia de cafeína en las muestras de café analizadas, se procede a utilizar la metodología de autoría de M. Paradkar y J. Irudayaraj, (*A Rapid FTIR Spectroscopic Method for Estimation of Caffeine in Soft Drinks and Total Methylxanthines in Tea and Coffee*) que se apoya en un modelo de calibración, que compara los valores de absorción del espectro de FTIR de la cafeína pura con las dos regiones espectrales de 1500 a 1800  $\text{cm}^{-1}$  y de 2800 a 3000  $\text{cm}^{-1}$  para hacer una estimación cuantitativa [36].

Realizando la comparación entre el espectro ATR de cafeína pura con las asignaciones de banda correspondientes y las zonas de interés se tienen las siguientes coincidencias:

- En la Región 1 para las bandas 2922 y 2850  $\text{cm}^{-1}$  que pueden ser debidas a enlaces C-H de grupos metilo ( $-\text{CH}_3$ ), ya que la molécula de cafeína tiene 3 grupos metilo sobre una estructura cíclica; por lo tanto, estas bandas juegan un papel importante en la estimación de la cafeína.
- En la Región 2 para las bandas 1659 y 1705  $\text{cm}^{-1}$  pueden deberse a la vibración de estiramiento de los grupos carbonilo ( $>\text{C}=\text{O}$ ), el enlace C=C y el enlace C=N de la cafeína.
- En la Región 3 para la banda 1419  $\text{cm}^{-1}$  relacionada con la vibración de estiramiento del enlace C=C (la cafeína contiene 1 doble enlace carbono-carbono), la vibración de flexión de enlaces CH y la región de vibración de estiramiento del enlace C=N (la cafeína contiene 1 enlace doble carbono-nitrógeno por molécula) y la banda 1218  $\text{cm}^{-1}$  que puede deberse a la contribución combinada de las vibraciones de estiramiento de los enlaces C=O y C-N de la cafeína.

## 5.2 CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Los espectros ultravioleta obtenidos de los extractos líquidos de las muestras de café verde o tostado, para las cuatro variedades de café analizadas, se realizaron inicialmente con celdas de plástico desechables, con el objetivo de minimizar la contaminación entre cada muestra, pero resultó que todas las muestras presentaban una absorción similar por la coincidencia entre el borde de absorción del material de la celda y la solución de café; por lo que se usó una cubeta de cuarzo para tomar los espectros UV.



Se observa en la figura 43 el espectro UV para los extractos de café verde y tostado, el cual solo arrojó un pico definido y visible en 293 y 296 nm para el café verde y tostado respectivamente, y en la región anterior a este pico no se obtuvo buena información de los valores de absorbancia; esto se debió a la composición del material de la celda utilizada. Posteriormente se volvieron a realizar las medidas utilizando celdas de cuarzo, las cuales no absorben en la región UV y adicionalmente las medidas se realizaron por triplicado, con el objetivo de reforzar la confianza en los resultados.

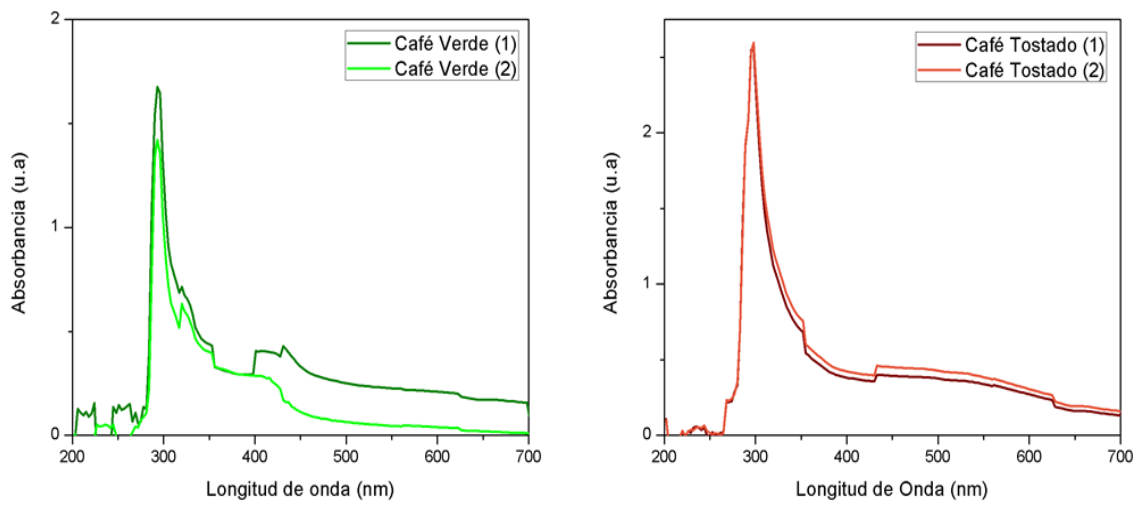


Figura 43. Espectros UV de extractos de café en agua tomados en celda plástica

Se observa en la figura 44 los espectros UV para los extractos de café verde y tostado. En cada muestra se tiene la repetición de los datos para tres muestras de la misma variedad, lo cual es una buena medida del método y de la reproducibilidad de los datos obtenidos. En las muestras de café verde se pueden ver dos bandas bien definidas alrededor de 215 y 325 nm y dos hombros aproximadamente en 240 y 292 nm, mientras que en las muestras de café tostado se observan dos bandas bien definidas alrededor de 285 y 321 nm y un hombro cerca de 240 nm.

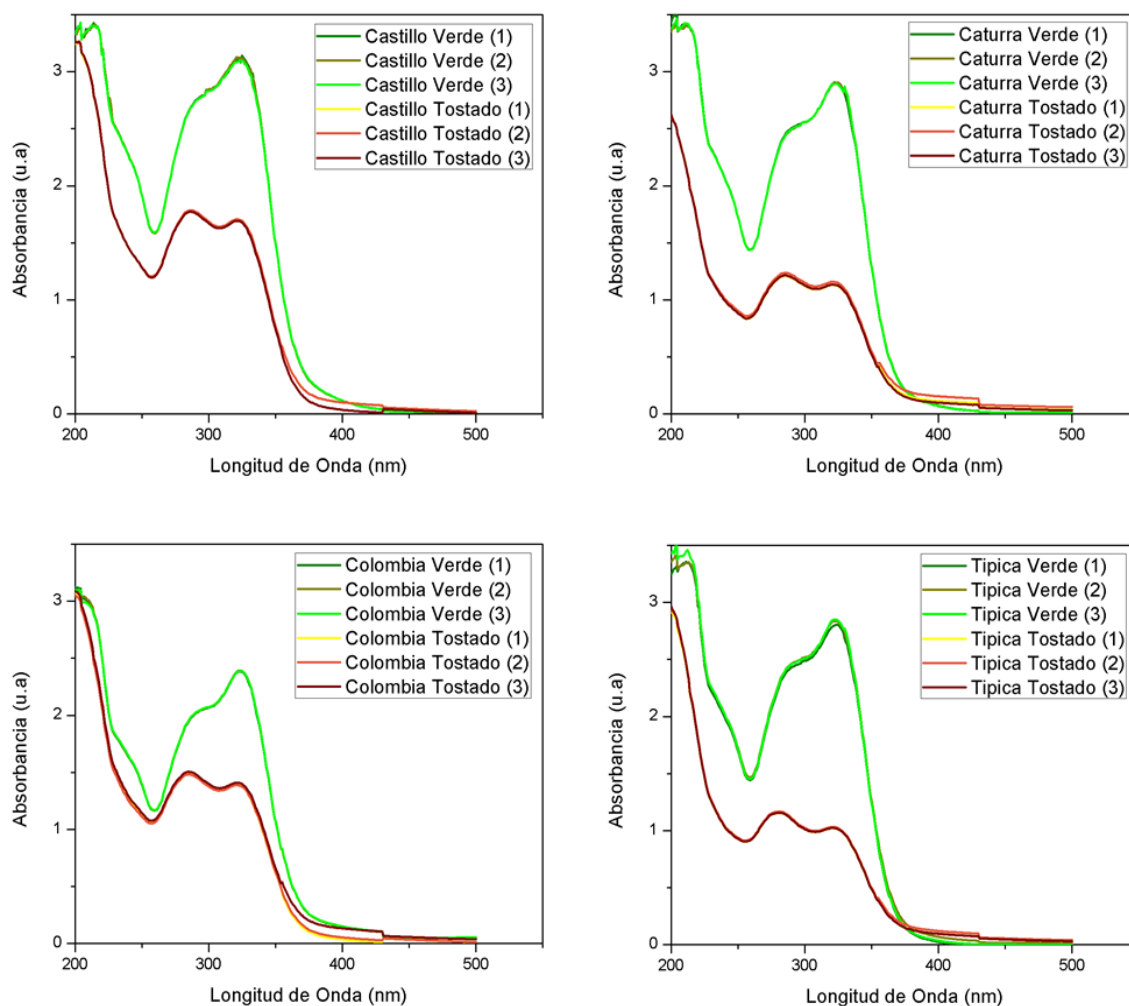


Figura 44. Espectros UV de extractos de café en agua tomados en celda de cuarzo

Al comparar los espectros obtenidos de las cuatro variedades de café con los espectros del ácido clorogénico (ver figura 45 a), el ácido cafeico (ver figura 46) y la cafeína (ver figura 47 a), que son sustancias que pueden disolverse en agua, encontramos que nuestros resultados coinciden en muy buena parte con el espectro del ácido clorogénico.

En esta exploración experimental no se tuvo en cuenta la presencia de grasas o de diterpenos como el cafestol y kahweol, porque el filtro utilizado con tamaño de poro de 0,45  $\mu\text{m}$  evita el paso de estas sustancias a la solución analizada.

En la figura 45 a) se presenta el espectro UV del ácido clorogénico en agua destilada [23]. El ácido clorogénico tiene dos puntos máximos; el primero a 217 nm con una saliente a 240 nm y el segundo en 324 nm con la saliente a 296 nm. Este reporte coincide bastante con el artículo [37], en el cual se indica que las bandas para ácido clorogénico son 218, 240, 298sh y 324 nm. En la figura 45 b) se presentan los espectros solapados de ácido clorogénico en diferentes solventes polares (acetonitrilo, etanol y metanol), los cuales se observan desfasados para cada solvente. Este desfase se puede explicar como un cambio causado tanto por la constante dieléctrica del solvente, como por los enlaces de hidrógeno [23].

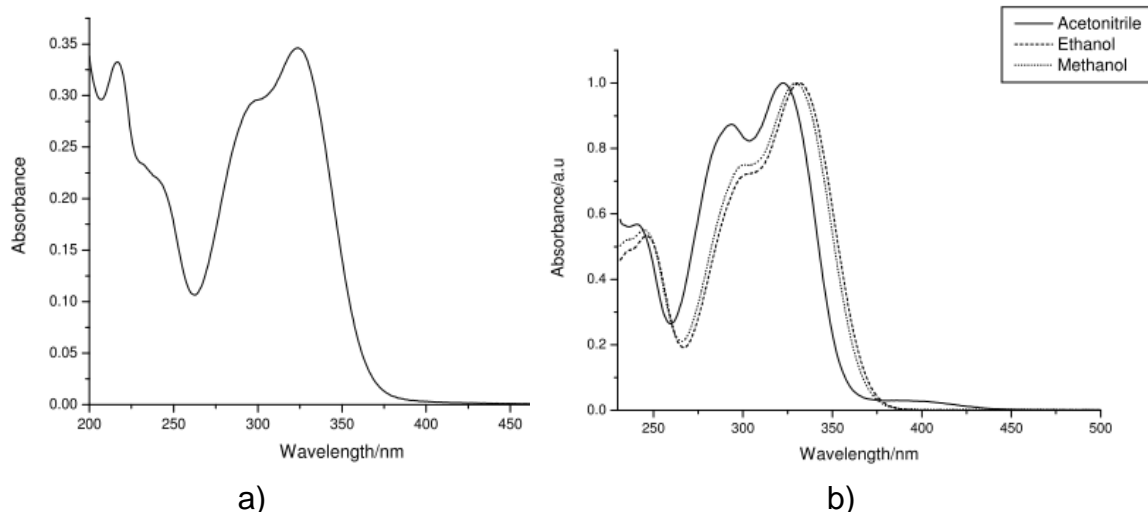


Figura 45. Espectros de absorción UV-Vis de ácido clorogénico a) solvente agua y b) solventes acetonitrilo, etanol y metanol [23]

En la figura 46 se presentan los espectros de absorción del ácido cafeico en agua para dos concentraciones. La línea punteada muestra el espectro del ácido cafeico a  $C = 23,9 \times 10^{-5}$  M. Las bandas principales de absorción están a 294, 319 y 216 nm. La línea continua del espectro pertenece a la concentración  $C = 1,49 \times 10^{-5}$  M; se observan las bandas a 287, 312 y 215 nm [38]. Como se observa, el ácido cafeico a pesar de estar disuelto en el mismo solvente, al presentarse un cambio en la concentración se genera un desfase en el espectro.

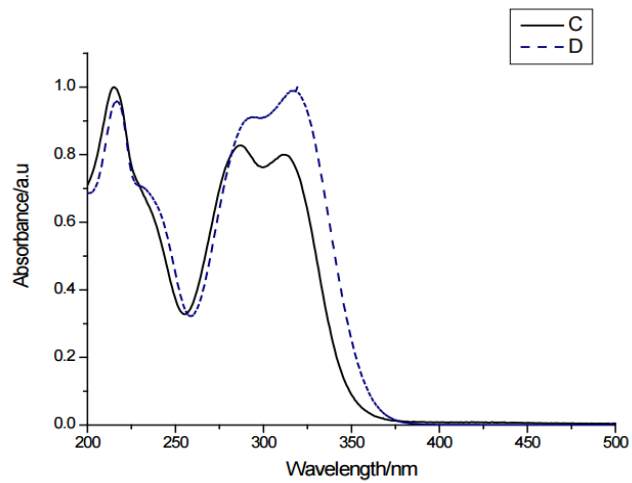


Figura 46. Espectro de absorción UV del ácido cafeico [38]

En la figura 47 a) se presenta el espectro de absorción UV de la cafeína en agua, tomado de [39]. La absorbancia máxima de la solución se encuentra en la longitud de onda máxima  $\lambda_{m\acute{a}x} = 272$  nm. De forma similar en, b) se presenta el espectro de la cafeína en diclorometano el cual tiene su máxima absorbancia se encuentra a la longitud de onda máxima  $\lambda_{m\acute{a}x} = 274.7$  nm.

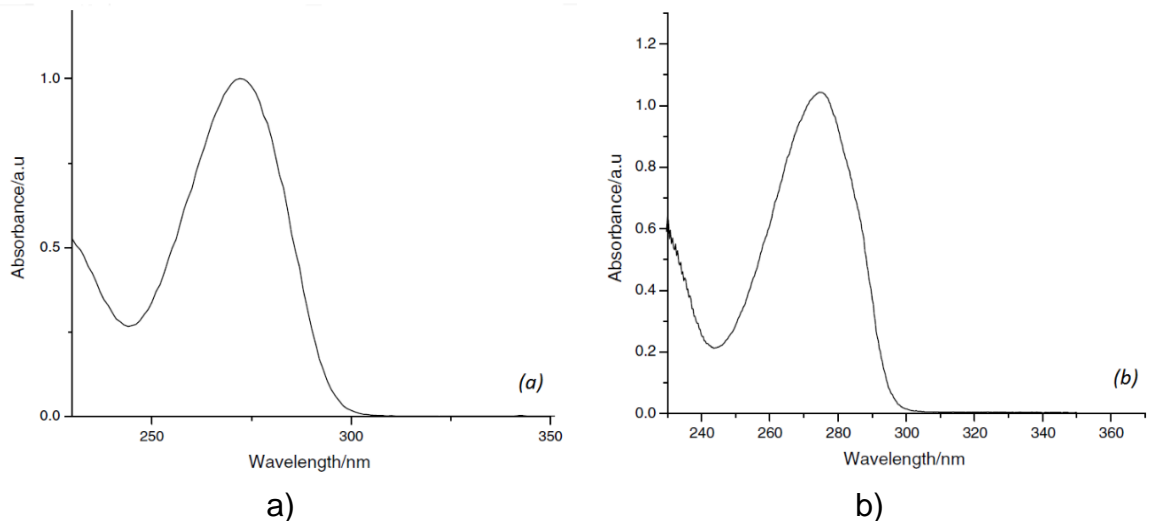


Figura 47. Espectros de absorción UV de la cafeína [39]

Las formas de los espectros UV y las alturas relativas de las bandas de absorción son características de cada sustancia química. Si se utilizan diferentes solventes los espectros de absorción UV van a presentar corrimientos en la posición de las bandas y cambios en la altura relativa de ellas.

Vamos a intentar con estos resultados evaluar la concentración de ácido clorogénico en las muestras. La relación de la altura de las bandas III y IV es un indicativo de la concentración. Así en el caso de la muestra de café de la solución obtenida con café verde, que debe contener mayor concentración de ácido clorogénico, presenta la banda mayor en 325 nm (ver figura 48) y la muestra de la solución obtenida con café tostado, que debe tener menor concentración de ácido clorogénico puesto que el proceso térmico de tostión degrada el ácido clorogénico y disminuye su concentración, muestra una banda en 321 nm que decae en intensidad (ver figura 49).

Al hacer un balance de las áreas correspondientes por el método de deconvolución mediante Gaussianas en el área de interés al espectro UV se encuentra de manera consistente, mayor área para la banda IV en las muestras de café verde y se da una inversión para las muestras de café tostado. De este modo podemos intentar el aprovechamiento de este método para correlacionar el cociente entre las áreas de las dos bandas con la concentración del ácido clorogénico.

La figura 48 muestra el proceso de deconvolución por Gauss de los espectros UV tomados a todas las muestras en verde en la región de interés (255 a 350 nm).

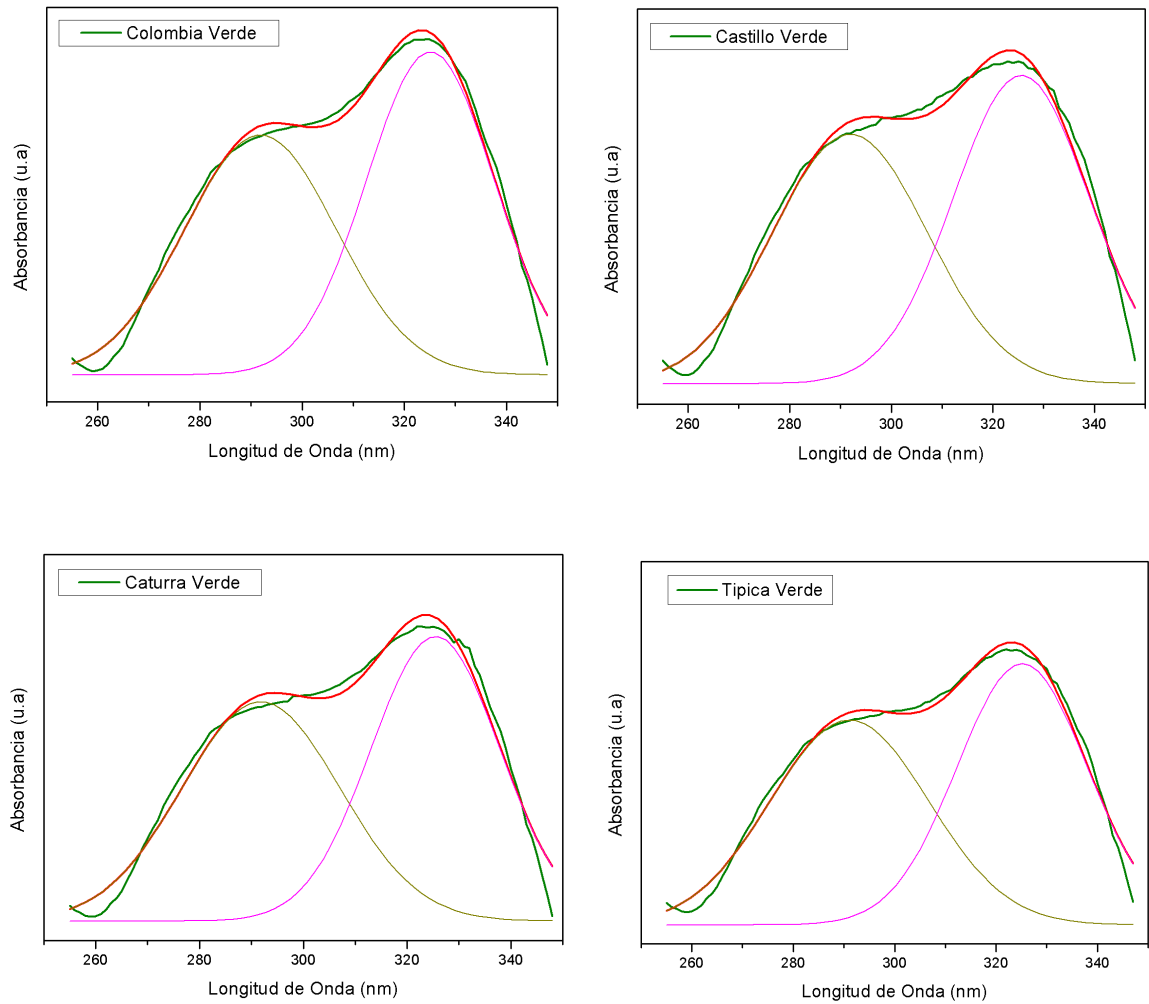


Figura 48. Deconvolución por Gaussianas en la región de interés del espectro UV de las muestras de café verde

La figura 49 muestra el proceso de deconvolución por Gauss de los espectros UV tomados a las cuatro variedades tostadas en la región de interés (250 a 340 nm).

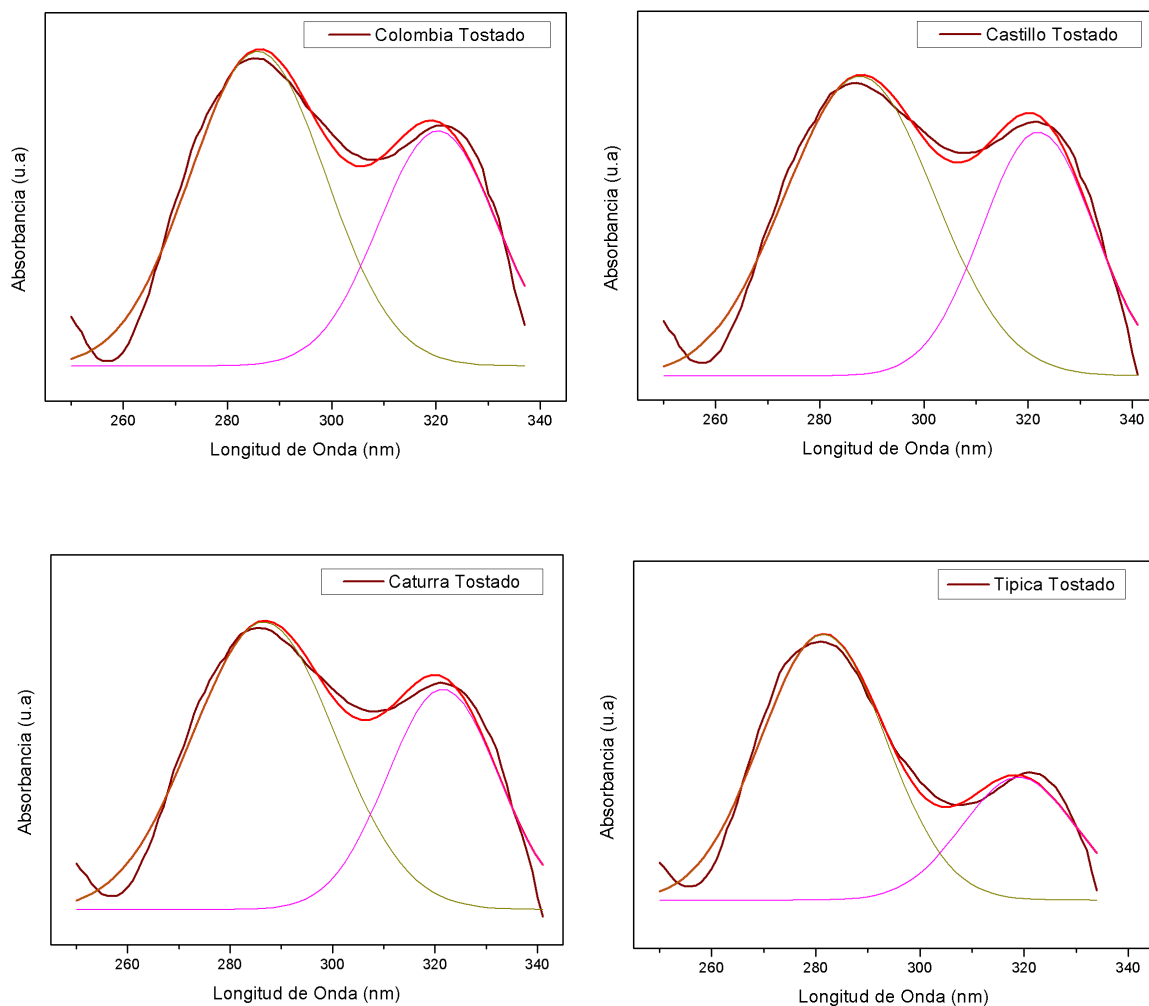


Figura 49. Deconvolución por Gaussianas en la región de interés del espectro UV de las muestras de café tostado

En las tablas 2 y 3 se presentan los resultados de la deconvolución y se observa que este coeficiente  $\frac{A_4}{A_3}$ , es muy superior para las muestras de café verde en comparación con las de café tostado que coincide con lo ya establecido en múltiples estudios, que el café verde tiene mayor concentración de ácido clorogénico que el café tostado [23,38].

A continuación en la tablas 2 y 3 se muestran las bandas de absorción encontradas por deconvolución mediante Gaussianas, para las muestras de café verde y tostado respectivamente, además se presenta los estimativos de las áreas para las bandas de interés (III y IV) y la relación entre ellas,  $\frac{A_4}{A_3}$ .

Tabla 2. Bandas de absorción UV para variedades de café verde con estimativos de área calculados por deconvolución

Variedad de Café Verde	Bandas de Absorción (nm)						Relación de áreas
	Banda	Hombro	Banda		Banda		$\frac{A_4}{A_3}$
	I	II	III	Área 3	IV	Área 4	
Colombia	217	240	292	32,81434	325	37,02792	1,1284
Castillo	217	240	292	45,76281	326	49,51578	1,0820
Caturra	216	240	292	42,26254	325	44,61656	1,0557
Típica	215	240	291	41,88327	325	43,87188	1,0475

Tabla 3. Bandas de absorción UV para variedades de café tostado con estimativos de área calculados por deconvolución

Variedad de Café Tostado	Bandas de Absorción (nm)					Relación de áreas
	Hombro	Banda		Banda		$\frac{A_4}{A_3}$
	II	III	Área 3	IV	Área 4	
Colombia	240	286	14,55063	320	9,43375	0,6483
Castillo	240	288	22,09131	322	13,54822	0,6133
Caturra	240	287	14,19108	321	8,48501	0,5979
Típica	240	281	8,27571	319	3,45966	0,4181



En la tabla 2 se observa que la relación  $\frac{A_4}{A_3}$ , de áreas en la región de interés ya comentada, presenta una variación gradual desde el valor 1,1284 para la variedad Colombia hasta 1,0475 para la variedad Típica. Esta disminución de dicho cociente corresponde a lo esperado, que el café de variedad Colombia tiene mayor contenido de ácido clorogénico que la variedad castillo, caturra y típica, siendo esta última la que se ha reportado con menor contenido de ácido clorogénico.

Para el café tostado en la tabla 3 se observa una variación de 0,64483 para la variedad Colombia hasta 0,4181 para la variedad Típica. Estos resultados evidencian la posibilidad de asociar este factor de áreas como un elemento de calibración de la concentración de ácido clorogénico en diferentes variedades de café mediante la metodología propuesta en este trabajo de investigación para establecer de manera cuantitativa y precisa el factor de calibración es necesario un trabajo adicional con otra técnica que permita cuantificar de manera absoluta el contenido de ácido clorogénico como lo es el HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia), pues esta es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica [40].

Mediante esta técnica espectroscópica se logró obtener una metodología económica, rápida, reproducible y debido a que se utiliza baja tecnología, es posible implementarla en un laboratorio de calidad como los que hay en las empresas dedicadas a la comercialización del café, donde se realice control de calidad del grano.

## CONCLUSIONES

Se analizaron muestras de cuatro variedades de café (tanto en estado verde como tostado) por las técnicas de espectroscopia FTIR-ATR y espectroscopia UV.

- ❖ Los resultados FTIR registran bandas de absorción que coinciden con las reportadas para el ácido clorogénico y el ácido cafeico puros, pero debido al alto número de compuestos y sustancias presentes en el café los espectros tienen una multiplicidad de picos y bandas de absorción que imposibilitan la identificación particular del ácido clorogénico en las muestras.
- ❖ Los resultados de los espectros UV del café muestran dos bandas (III y IV) de absorción muy bien definidas, centradas en 292 y 325 nm, que coinciden con las características de absorción UV reportadas del ácido clorogénico disuelto en agua. Estos picos muestran un notable cambio de altura cuando se comparan los espectros del café verde con los del café tostado lo que se corresponde con la bien establecida disminución en la concentración de ácido clorogénico por efecto del proceso térmico durante la tosti3n.
- ❖ El valor del cociente entre las 3reas de las bandas III y IV (estimadas por una deconvoluci3n de Gauss) de los espectros UV del caf3 presenta un valor m3ximo para la variedad Colombia, y decae de modo consistente y gradual para las otras variedades en el siguiente orden: Castillo, Caturra y T3pica.
- ❖ Los valores del cociente entre las 3reas de las curvas, producto de la deconvoluci3n del espectro ultravioleta para cada una de las variedades de caf3, es una v3a para evaluar el contenido de 3cido clorog3nico como componente sobresaliente de los polifenoles.

- ❖ En esta investigación se logró establecer un protocolo económico y simple para la extracción rápida y directa de ácido clorogénico disuelto en agua de muestras de café en el rango de concentración apropiado para ser analizadas con un espectroscopio UV.

## REFERENCIAS

- [1] M. Quiñones, M. Miguel, and A. Aleixandre, "Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular," *Nutrición hospitalaria*, vol. 27, no. 1. pp. 76–89, 2012.
- [2] Y. Zhao, J. Wang, O. Balleve, H. Luo, and W. Zhang, "Antihypertensive effects and mechanisms of chlorogenic acids," *Hypertens. Res.*, vol. 35, no. 4, pp. 370–374, 2012.
- [3] S. H. Kwon, H. K. Lee, J. A. Kim, S. I. Hong, H. C. Kim, T. H. Jo, Y. I. Park, C. K. Lee, Y. Bin Kim, S. Y. Lee, and C. G. Jang, "Neuroprotective effects of chlorogenic acid on scopolamine-induced amnesia via anti-acetylcholinesterase and anti-oxidative activities in mice," *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 649, no. 1–3, pp. 210–217, 2010.
- [4] R. J. Clarke and R. Macrae, *Coffee Chemistry*. Englad: Elsevier Science, 1985.
- [5] FNC, "Federación nacional de cafeteros de colombia," 2001.
- [6] C. A. Rice-Evans and N. J. Miller, "Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food.," *Biochem. Soc. Trans.*, vol. 24, no. 3, pp. 790–795, 1996.
- [7] A. S. Pannala, C. A. Rice-Evans, B. Halliwell, and S. Singh, "Inhibition of peroxy-nitrite-mediated tyrosine nitration by catechin polyphenols," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 232, no. 1, pp. 164–168, Mar. 1997.
- [8] A. Gutiérrez Maydata, "Café, Antioxidantes y Protección a la Salud," *MEDISAN*, vol. 6, no. 4, pp. 72–81, 2002.
- [9] D. Couteau, A. L. McCartney, G. R. Gibson, G. Williamson, and C. B. Faulds, "Isolation and characterization of human colonic bacteria able to hydrolyse chlorogenic acid," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 90, no. 6, pp. 873–881, Jun. 2001.
- [10] M. L. . . . [et al. ] Beyer and W. Walter, "Manual de química orgánica," in *Manual de química orgánica*, Dr. José Barluenga Mur, Ed. Barcelona: Editorial Reverté, S.A, 1987, pp. 463, 681.
- [11] N. Nenadis, H. Y. Zhang, and M. Z. Tsimidou, "Structure-antioxidant activity relationship of ferulic acid derivatives: Effect of carbon side chain characteristic groups," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 7, pp. 1874–1879, 2003.
- [12] C. L. Herrera, M. Alvear, L. Barrientos, G. Montenegro, and L. A. Salazar, "The antifungal effect of six commercial extracts of Chilean propolis on *Candida* spp," *Cienc. e Investig. Agrar.*, vol. 37, no. 1, pp. 75–84, 2010.
- [13] J. Hernandez, F. Goycoolea, J. Quintero, A. Acosta, M. Castañeda, Z. Dominguez, R. Robles, L. Vazquez-Moreno, E. Velazquez, H. Astiazaran, E. Lugo, and C. Velazquez, "Sonoran Propolis: Chemical Composition and Antiproliferative Activity on Cancer Cell Lines," *Planta Med.*, vol. 73, no. 14, pp. 1469–1474, Nov. 2007.

- [14] A. Mubarak, C. P. Bondonno, A. H. Liu, M. J. Considine, L. Rich, E. Mas, K. D. Croft, and J. M. Hodgson, "Acute effects of chlorogenic acid on nitric oxide status, endothelial function, and blood pressure in healthy volunteers: A randomized trial," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, no. 36, pp. 9130–9136, 2012.
- [15] G. Bandyopadhyay, T. Biswas, K. C. Roy, S. Mandal, C. Mandal, B. C. Pal, S. Bhattacharya, S. Rakshit, D. K. Bhattacharya, U. Chaudhuri, A. Konar, and S. Bandyopadhyay, "Chlorogenic acid inhibits Bcr-Abl tyrosine kinase and triggers p38 mitogen-activated protein kinase–dependent apoptosis in chronic myelogenous leukemic cells," *Blood*, vol. 104, no. 8, pp. 2514–2522, 2004.
- [16] C. Marín and G. I. Puerta, "Contenido de Ácidos Clorogénicos en Granos de Coffea Arabica y C. Canephora, según el desarrollo del fruto," *Cenicafé*, vol. 59, no. 1, pp. 7–28, 2008.
- [17] A. Hunyadi, A. Martins, T.-J. Hsieh, A. Seres, and I. Zupkó, "Chlorogenic acid and rutin play a major role in the in vivo anti-diabetic activity of Morus alba leaf extract on type II diabetic rats," *PLoS One*, vol. 7, no. 11, p. e50619, 2012.
- [18] J. Kim, S. Lee, J. Shim, H. W. Kim, J. Kim, Y. J. Jang, H. Yang, J. Park, S. H. Choi, J. H. Yoon, K. W. Lee, and H. J. Lee, "Caffeinated coffee, decaffeinated coffee, and the phenolic phytochemical chlorogenic acid up-regulate NQO1 expression and prevent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis in primary cortical neurons," *Neurochem. Int.*, vol. 60, no. 5, pp. 466–474, 2012.
- [19] V. Cropley, R. Croft, B. Silber, C. Neale, A. Scholey, C. Stough, and J. Schmitt, "Does coffee enriched with chlorogenic acids improve mood and cognition after acute administration in healthy elderly? A pilot study," *Psychopharmacology (Berl)*, vol. 219, no. 3, pp. 737–749, 2012.
- [20] A. E. Van Dijk, M. R. Olthof, J. C. Meeuse, E. Seebus, R. J. Heine, and R. M. Van Dam, "Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenic acid and trigonelline on glucose tolerance," *Diabetes Care*, vol. 32, no. 6, pp. 1023–1025, 2009.
- [21] A. E. Terrile, G. G. Marcheafave, G. S. Oliveira, M. Rakocevic, R. E. Brunsd, and I. S. Scarminio, "Chemometric analysis of UV Characteristic profile and infrared fingerprint variations of coffea arabica green beans under different space management treatments," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 27, no. 7, pp. 1254–1263, 2016.
- [22] W. Rivera, X. Velasco, and C. A. Rincón, "Evaluación por TGA y FTIR de los cambios de composición producidos por la tostión en granos de café," *Rev. Colomb. Fis.*, vol. 45, no. 3, pp. 205–208, 2013.
- [23] A. Belay and a. V. Gholap, "Characterization and determination of chlorogenic acids ( CGA ) in coffee beans by UV-Vis spectroscopy," *African J. Pure Appl. Chem.*, vol. 3, no. 11, pp. 234–240, 2009.
- [24] W. Hobart, L. Merritt, J. Dean, and Settle Frank, *Métodos Instrumentales de Análisis*, Compañía E. Mexico, 1990.
- [25] CCIQS, "Espectroscopía de Infrarrojo/ATR," *Centro Conjunto de Investigación en Química sustentable*, 2008. [Online]. Available: [http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=113](http://www.cciqs.uaemex.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=113). [Accessed: 28-Jan-2017].

- [26] J. L. S. Martínez, "Instrumentacion y métodos de análisis químico. Espectroscopia infrarroja." p. 35, 2009.
- [27] T. Owen, *Principios y aplicaciones de espectroscopía Uv-visible*. Alemania: Agilent Technologies, 2000.
- [28] FCC, "Federación Campesina del Cauca." [Online]. Available: <http://www.fcccauca.org/>. [Accessed: 22-Feb-2017].
- [29] SCAA, "SCAA Protocols Cupping Specialty Coffee," 2015.
- [30] Shimadzu, "FTIR Spectrophotometers - IRAffinity-1S FTIR Spectrophotometer: Shimadzu Scientific Instruments." [Online]. Available: [https://www.ssi.shimadzu.com/products/product.cfm?product=IRAffinity\\_1](https://www.ssi.shimadzu.com/products/product.cfm?product=IRAffinity_1).
- [31] Bruker, "Bruker Española S.A." [Online]. Available: <http://www.bruker.es/productos/irtf/ir.htm#ALPHA>. [Accessed: 07-Feb-2017].
- [32] M. Del, "Espectrofotómetros." Spectronic Instruments, p. 92, 1996.
- [33] PITEBA, "Prensa de aceite PITEBA." [Online]. Available: <https://www.piteba.com/es/dimensions-es.html>. [Accessed: 26-Feb-2017].
- [34] NIST, "Standard Reference Data Program," National Institute of Standards and Technology, 2011.
- [35] AIST, "Spectral Database for Organic Compounds SDBS," *National Institute of Advanced Industrial Science and Thechnology*. .
- [36] M. M. Paradkar and J. Irudayaraj, "A Rapid FTIR Spectroscopic Method for Estimation of Caffeine in Soft Drinks and Total Methylxanthines in Tea and Coffee A Rapid FTIR Spectroscopic Method for Estimation of Caffeine in Soft Drinks and Total Methylxanthines in Tea and Coffee," *J. Food Chem. Toxicol.*, no. July 2006, 2014.
- [37] H.-J. Chen, B. S. Inbaraj, and B.-H. Chen, "Determination of Phenolic Acids and Flavonoids in *Taraxacum formosanum* Kitam by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Coupled with a Post-Column Derivatization Technique," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 13, pp. 260–285, 2012.
- [38] A. Belay, "Spectrophotometric Method for the Determination of Caffeic Acid Complexation and Thermodynamic Properties," *Int. J. Biophys.*, vol. 2, no. 2, pp. 12–17, Aug. 2012.
- [39] A. Belay, K. Ture, M. Redi, and A. Asfaw, "Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer," *Food Chem.*, vol. 108, no. 1, pp. 310–315, 2008.
- [40] C. E. Mills, M. J. Oruna-Concha, D. S. Mottram, G. R. Gibson, and J. P. E. Spencer, "The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee," *Food Chem.*, vol. 141, no. 4, pp. 3335–3340, 2013.