



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**Determinación de cafeína por espectroscopía ultravioleta
en café de grano, tostado y verde, obtenidas de cuatro
estados de la república**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

ADRIANA SALVADOR PATIÑO



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: PEDRO VILLANUEVA GONZÁLEZ

VOCAL: MARÍA ISABEL AGUILAR LAURENTS

SECRETARIO: MARÍA DEL ROSARIO COVARRUBIAS HERRERA

1er. SUPLENTE: MABEL CLARA FRAGOSO SERRANO

2° SUPLENTE: CAROLINA FLORES ÁVILA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**ANEXO DEL LABORATORIO 3-D, EDIFICIO A, DEPTO. QUÍMICA ANALÍTICA,
FACULTAD DE QUÍMICA. UNAM.**

ASESOR DEL TEMA

Q. PEDRO VILLANUEVA GONZÁLEZ

SUSTENTANTE:

ADRIANA SALVADOR PATIÑO

ÍNDICE

	PÁGINA
1. INTRODUCCIÓN	1
2. JUSTIFICACIÓN	4
3. HIPÓTESIS	5
4. OBJETIVOS	6
5. GENERALIDADES	7
5.1 Historia	7
5.2 Café	8
5.2.1 Cultivo y recolección	8
5.2.2 Preparación de los granos de café	9
5.2.3 El método por vía húmeda	9
5.2.4 El método por vía seca	9
5.2.5 Torrefacción	10
5.3 Composición de la semilla de café	11
5.3.1 Cafeína	12
5.4 Efectos de la cafeína en el organismo	13
5.4.1 Propiedades antioxidantes de la cafeína	14
5.4.2 La cafeína en el sistema respiratorio	14
5.4.3 Importancia de la cafeína en el sistema digestivo	14
5.4.4 Relación de la cafeína en el sistema muscular	15
5.4.5 Mecanismos de acción de la cafeína sobre el sistema nervioso	15
5.4.6 Importancia de la cafeína en el sistema cardiovascular	16
5.4.7 Importancia de la dosis de cafeína sobre el sistema urinario	16
5.4.8 sistema endócrino	17
5.4.9 Efectos indeseables por consumo crónico de cafeína	18
5.4.10 Tolerancia y dependencia	19

5.5 Farmacocinética	19
5.5.1 Absorción y distribución	19
5.5.2 Citocromo vía del metabolismo de la cafeína	20
5.5.3 Toxicidad	22
5.6 Efectos benéficos en enfermedades degenerativas	22
5.6.1 Enfermedad de Alzheimer	22
5.7 Espectrofotometría ultravioleta	23
5.7.1 ley de Lambert-Beer	25
5.7.2 Gráfico de calibración	26
5.7.3 Factores que afectan a la ley de Lambert- Beer	27
6 METODOLOGIA	28
6.1 Equipos y Materiales	28
6.2 Reactivos y disoluciones	29
6.3 Preparación de disoluciones	29
6.4 Muestras de café de grano	29
6.5 Procesos de extracción	31
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
7.1 Determinación del espectro de absorción del cafeína estándar en fase clorofórmica	32
7.2 Determinación del espectro de absorción de cafeína estándar en agua	33
7.3 Elaboración de la gráfica de calibración	33
7.4 Reproducibilidad intralaboratorio del método de detección	35
7.5 Resultados de las muestras de café de grano tostado y grano verde	36
7.6 Porcentaje de cafeína en las regiones cafetaleras de estudio	43
8. CONCLUSIONES	54
9.BIBLIOGRAFÍA	56
ANEXOS	
Anexo I	59
Anexo II	64



1. INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo, contiene una gran variedad de compuestos químicos que le confieren cualidades sensoriales y efectos específicos sobre el organismo ⁽¹⁾. Ocupa el segundo lugar después del petróleo en consumo a nivel mundial ⁽²⁾.

A nivel mundial el café se cultiva en más de 70 países, ubicados en el límite geográfico comprendido por el Trópico de cáncer y Trópico de capricornio, esta zona es conocida como el cinturón del café. De los 70 países productores destacan: Brasil, Colombia, Indonesia, India y Vietnam ⁽³⁾.

La cafeína está presente en más de 60 especies vegetales, lo que la hace ser parte de la dieta habitual, dando lugar a considerarla como la sustancia estimulante más aceptada ⁽³⁾.

Actualmente, México ocupa el octavo lugar como exportador a nivel mundial de café de grano y el quinto lugar como exportador en América latina. Las dos especies de café más importantes son: Arábica y Robusta o Canephora. El café producido en México corresponde a la especie Arábica en un 96 % y a la especie Robusta en un 4 %.

Las diferencias que existen entre ambas especies de cafeto son: la bebida obtenida de la especie Arábica es más dulce y aromático; y el contenido de cafeína es mayor en la especie Robusta, por consiguiente la bebida obtenida del grano Robusta se le considera fuerte y amarga asemejando a un sabor a madera.

El grano entre las dos especies es diferente. El grano Arábica es más aplanado y largo, su color verde es intenso, el grano Robusta es más convexo y abombado, y su color es verde pálido con matices marrones.



Las regiones cafetaleras nacionales se encuentran latitudinalmente entre los 250 y 1500 msnm, hay regiones fuera de este rango; y además el mayor porcentaje se encuentra por arriba de 700 msnm, lo que aunado a factores de baja luminosidad, temperatura fresca, precipitación y efecto de latitud, favorece la fructificación, crecimiento y calidad del café. La temperatura promedio bajo la que se produce el café en México va del rango de 18 a 22 °C, que son los ideales para el *Coffea arábica L.*

Las regiones cafetaleras en la República Mexicana se ubican en 4 zonas: la Vertiente del Golfo de México, Vertiente del Océano Pacífico, región del soconusco y región centro norte de Chiapas; cuya producción comprende 398 municipios en los 12 estados productores ⁽⁴⁾.

1. Vertiente del Golfo de México; Esta región está conformada por los estados de San Luis Potosí, Hidalgo, Querétaro, Veracruz y Tabasco. Una característica que la hace ser muy especial a ésta región es que no carece de agua, los periodos de lluvia se inician en Junio interrumpiéndose en el mes de Agosto, para reiniciar en Septiembre y finalizar en Octubre o Noviembre, en invierno solo hay falta de humedad.
2. Vertiente del Océano Pacífico; Esta región la comprenden los estados de Nayarit, Jalisco, Colima, Guerrero y Oaxaca. La característica común de esta región es tener de seis a siete meses de sequía que comienza en Noviembre y termina en Abril o Mayo.
3. Región del Soconusco; Comprende parte del estado de Chiapas, y aunque geográficamente está localizada en la vertiente del Pacífico, ésta difiere en clima a la de los demás estados, debido a que sus precipitaciones son de 2500 hasta 5000 mm anuales.



4. Región centro norte de Chiapas; Comprende parte del estado de Chiapas y se caracteriza por tener periodos de sequía prolongada de Noviembre a Abril, además de que los suelos son profundos con valores de pH entre 4.5 y 6, y mediano contenido de materia orgánica.

De los estados productores, Oaxaca, Veracruz y Chiapas tienen la mayor producción de café, esto se debe al clima, y al tipo de suelo, lo cual proporciona un lugar ideal para el desarrollo del cafeto, ya que a éste se le considera de cultivo exigente ⁽⁴⁾.

Durante el ciclo cafetalero 2009/2010 las exportaciones mexicanas de café totalizaron 2.57 millones de sacos de 60 kg, con un valor total de 505 millones de dólares.

A pesar de que México exporta café a más de 65 países, destaca el hecho de que más del 62 % del volumen exportado se dirige al mercado de Estados Unidos ⁽⁵⁾.

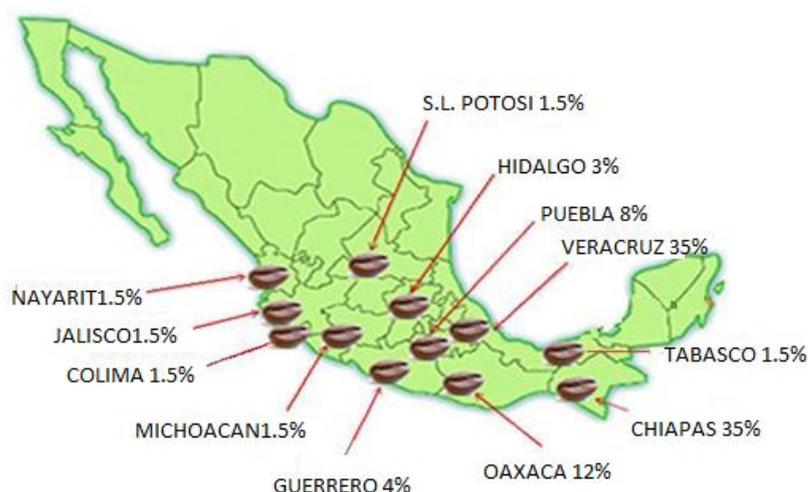


Figura.1. Estados productores de café en México ⁽⁶⁾



2. JUSTIFICACIÓN

La determinación en granos de café se utiliza como una herramienta adicional para la evaluación de la calidad del café. Por lo que es importante la determinación de cafeína en los granos de café obtenidos en diferentes estados de la República Mexicana, estudiadas en este trabajo.



3. HIPÓTESIS

Debido a las diferencias en las condiciones ambientales, componentes nutricionales del suelo, la altura y estrés en el que se encuentran las plantas de café en las diferentes regiones del país, deberá existir diferencia en las concentraciones de cafeína obtenidas de los granos de café verdes y tostados procedentes de Veracruz, Chiapas, Oaxaca y Puebla.



4. OBJETIVOS

Objetivos generales.

- Llevar a cabo la determinación de cafeína en café de grano verde y café de grano tostado procedentes de los estados de Veracruz, Chiapas, Oaxaca y Puebla.
- Desarrollar una metodología analítica que permita la determinación y cuantificación de cafeína empleando la técnica denominada espectroscopía ultravioleta, para el análisis de cafeína en café de grano verde y café de grano tostado.

Objetivos específicos.

- Establecer una comparación entre la cantidad de cafeína, presente en muestras de granos de café verdes y tostados para cada uno de los estados a analizar.
- Realizar una comparación de la cantidad de cafeína presente en los estados de Veracruz, Chiapas, Oaxaca y Puebla.
- Obtener el espectro de absorción para determinar cuantitativamente la cafeína presente en grano de café, utilizando espectroscopía ultravioleta.
- Determinar la cantidad de cafeína como parámetro de calidad del café tostado, en el cumplimiento de la Norma Mexicana NMX-F-013-SCFI-2000.



5. GENERALIDADES

5.1 Historia

Según una leyenda árabe, el descubrimiento del café se ubica alrededor del año 800 a.c., en las colinas del Yemen cuando un pastor observó a una de sus cabras que correteaba toda la noche después de haber ingerido las frutas rojas de un arbusto desconocido ⁽⁷⁾.

Fuerza y vigor es el significado de la palabra árabe “Kaweh” de la cual proviene la palabra café. De igual manera, Kaffa es el nombre de una provincia de Etiopía considerada como la patria del café.

De Arabia se introdujo a Siria, Egipto y Nigeria, en donde se consideraba como un producto afrodisíaco, posteriormente, gracias a los turcos, que olvidaron varios costales de café en una batalla frente a los muros de Viena, fue como el café entró a Europa para su posterior introducción a América durante la conquista del llamado nuevo mundo ^(7, 8).

Para el año de 1727, el café es introducido en Brasil, a Cuba en 1748, a Colombia en 1750, a Puerto Rico en 1779, a Venezuela en 1784 y a México en 1790. En el año de 1828 se tiene registro de la primera plantación en la hacienda de Parota, Michoacán.

A mediados del año 1860, la producción estaba localizada principalmente en el estado de Veracruz, considerado como el estado más avanzado en la plantación y proceso de café.



5.2 Café

Los cafetos son árboles o arbustos de hojas perennes opuestas, enteras con flores blancas, olorosas, frutos rojos en su interior tiene dos semillas, a partir de estas semillas tostadas se prepara una bebida conocida como café ⁽⁹⁾.



Figura 2. Planta de café o cafetos (Coffea spp.)⁽¹⁰⁾

5.2.1 Cultivo y recolección

Las regiones donde se cultiva el cafeto tienen un clima tropical húmedo, la temperatura es importante para su crecimiento y desarrollo.

La temperatura favorable es en el rango de 22 a 26 °C; esto es para el café Arábica ^(9, 11).

La cosecha del café dura de 6 a 8 meses, esto varía dependiendo de la especie de cafeto que se cultive.

La recolección del grano de café Arábica se realiza de forma manual, ya que con máquina no da buenos resultados, debido a que no todos los frutos están en su punto de maduración, el fruto tiene que estar de una coloración rojo púrpura ^(9, 12, 13).



5.2.2 Preparación de los granos de café.

La preparación de la semilla de café, se realiza por dos métodos: por vía húmeda y por vía seca.

5.2.3 El método por vía húmeda

Es aplicable a los frutos maduros y tiene varias etapas ^(9, 13).

- Eliminación de la pulpa
- Eliminación del mucílago
- Fermentación
- Desecación
- Desparchado

La semilla de café se somete por varios días al sol para desecar, posterior a la exposición, se procede a la semilla a la eliminación de la corteza.

Las semillas son seleccionadas y retiradas de las semillas de mala calidad.

5.2.4 El método por vía seca

Los frutos recién recolectados se llevan a terrazas de desecación, en las que se extienden y se dejan secar al sol hasta que la cáscara se desprende del grano.

Con la máquina descascarilladora se retira tanto la pulpa como el endocarpio y el tegumento. El café descascarillado limpio se coloca en sacos.



5.2.5 Torrefacción.

Un café crudo o verde no tiene aroma y proporciona una bebida amarga casi incolora.

Para poder obtener una bebida con sabor y aroma característico, es necesario someterlo a un proceso de torrefacción para tener las características organolépticas y morfológicas, las dos son importantes desde el punto de vista comercial.

El método más utilizado consiste en introducir las semillas en un cilindro que realice movimientos de rotación, que gire debajo de un foco calorífico.

Este proceso dura aproximadamente 20 minutos, debe alcanzar una temperatura de 200 °C. La semilla empieza a tomar una coloración oscura y brillante, a una temperatura superior a los 250 °C se carboniza tornándose negra y sin brillo ⁽⁹⁾.

La torrefacción mediante aire caliente, es un procedimiento que se realiza en los países productores, para uso local de la semilla.

Después de realizar la torrefacción es imprescindible que la semilla tostada sea colocada en empaques especiales para evitar la pérdida de sabor y aroma.

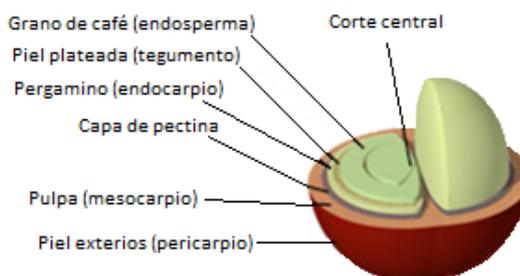


Figura.3 Estructura interna del grano de café



5.3 Composición de la semilla de café

La composición de la semilla de café es variada, ya que contiene más de 1000 sustancias diferentes y entre las más destacadas tenemos: aminoácidos, compuestos nitrogenados, polisacáridos, azúcares, triglicéridos, ácido linoleico, diterpenos (cafestol), ácidos volátiles (fórmico y acético) y no volátiles (láctico, tartárico, pirúvico, cítrico), compuestos fenólicos (ácido clorogénico), cafeína, también contienen vitaminas y minerales, sustancias volátiles de las cuales 800 sustancias han sido identificadas y de éstas, entre 60 - 80 se considera que contribuyen a las cualidades del aroma del café ^(1, 3, 9, 14).

El café verde contiene: de 10 a 13 % de agua, minerales, más de 50 % de glúcidos, en su mayoría polisacáridos, de 10 al 15 % lípidos, 10 % de compuestos insaponificables, esteroides y diterpenos, siendo de gran importancia la presencia de ácidos fenólicos 5 - 10 %, representados por los ácidos químicos cafeíco y clorogénico. Es importante destacar que el ácido clorogénico es el más abundante y se encuentra en cierta cantidad, unido a la cafeína formando un complejo de clorogenato de cafeína. Este compuesto presenta propiedades antioxidantes, gran parte de éste se pierde durante el tostado. ^(13,14, 9).

	Variedad			
	Arábica Café tostado	Arábica Café verde	Robusta Café tostado	Robusta Café verde
Cafeína	0.8 - 1.5	0.6 – 1.00	2.12 – 3.16	1.16 – 2.27

Tabla 1. Porcentaje de cafeína presente en café, en base seca y verde ⁽¹²⁾



5.3.1 Cafeína.

La semilla o grano de café es una de las principales fuentes de cafeína. El primero en aislar la cafeína fue Friedlieb Ferdinand Runge (1794-1867) ⁽¹⁵⁾.

Debido a su origen biosintético, el cual implica aminoácidos posee un carácter básico así como sus características de solubilidad en agua caliente y disolventes clorados, la cafeína no es considerada perteneciente al grupo de los alcaloides ⁽¹⁵⁾, por esta razón es catalogada en el grupo de las metilxantinas, sustancias derivadas de las purinas, su fórmula molecular de la cafeína es $C_8H_{10}N_4O_2$ y estructura molecular es la siguiente:

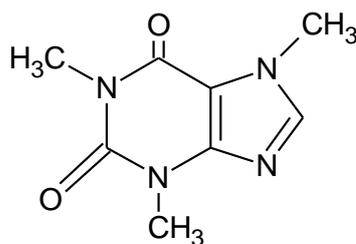


Figura 4. Estructura molecular de la cafeína ⁽¹³⁾

Las metilxantinas más importantes son: cafeína, teofilina y teobromina. ^(9, 11, 12, 16,17).

En estado sólido es un polvo cristalino blanco en forma de agujas, de sabor amargo, tiene una densidad 1.23 g L^{-1} , con un punto de fusión de 237 °C y su constante de acides (pKa) 10.4 a 40°C . Es soluble en agua, a 25 °C se disuelven 22 mg de cafeína en 1 mL de agua, a 80 °C , se disuelven 180 mg y a 100 °C se disuelven 670 mg ⁽¹⁸⁾.

Tiene mayor afinidad por algunos disolventes orgánicos, como son el cloroformo y el diclorometano ⁽¹⁶⁾.



5.4 Efectos de la cafeína en el organismo.

Las bebidas preparadas a base de cafeína representan probablemente, la droga más usada, debido a que estas bebidas tienen efectos estimulantes como elevar el estado de ánimo y aumentar la capacidad de trabajo ^(7,18)

Los efectos estimulantes de la cafeína provienen de su interacción con receptores de la adenosina, moléculas activas de la membrana celular y componente esencial del combustible principal de la célula, el adenosin-trifosfato (ATP). ^(11,18)

La cafeína es un antagonista de los receptores de adenosina, de tal forma que la inhibición de la adenosina sumada a la liberación de la noradrenalina en el sistema nervioso simpático, provocan un estado de estimulación en el que las reservas corporales se movilizan, ocurre un aumento en la tasa de activación de las neuronas noradrenérgicas, produciendo efectos de estimulación cardíaca, aumento de la presión arterial, reducción de la movilidad intestinal, todas estas reacciones preparan al cuerpo para estar en un estado de alerta ante un peligro, emprender la huida y alejarse o afrontar una pelea. ^(7,12,18)

Teniendo en cuenta el amplio uso de la cafeína en todos los rangos de edades, es importante revisar sus efectos y cómo influye en diferentes sistemas del organismo ⁽¹⁹⁾

La cafeína se absorbe de forma rápida y completa en el tubo digestivo, distribuyéndose hacia todos los tejidos del organismo. La concentración plasmática máxima de cafeína, luego de una ingesta habitual de café, es de 50 $\mu\text{M/L}$, y la vida media en el cuerpo está en el rango de 2.5 a 10 horas. El metabolismo de la cafeína ocurre principalmente en el hígado, mediante el citocromo P-450 en un 95 %, la cual genera más de 25 metabolitos, sólo el 5 % restante se excreta por la orina como cafeína ^(7, 15, 17,20).



5.4.1 Propiedades antioxidantes de la cafeína.

La cafeína tiene la capacidad de inhibir la lipoperoxidación inducida por radicales hidroxilos ($\text{OH}\cdot$), peróxidos ($\text{ROO}\cdot$) y oxígeno singulete, convirtiéndola en un potente antioxidante con capacidad similar a glutatión y superior al ácido ascórbico.

5.4.2 La cafeína en el sistema respiratorio.

La cafeína mejora la función de ventilación en la broncoconstricción inducida por ejercicio, por esta razón se recomienda el consumo habitual de café en pacientes asmáticos, ya que mediante estudios se ha comprobado que ayuda en ataques moderados de asma con el consumo de tres tazas de café al día ^(9, 11, 12, 13,20)

5.4.3 Importancia de la cafeína en el sistema digestivo.

Estudios realizados sobre la cafeína en el sistema digestivo, han mostrado un incremento de ácido gástrico después de haber ingerido dos tazas de café, regular o descafeinado, lo cual sugiere que el aumento del ácido gástrico no es solamente debido a la cafeína, sino a los componentes del café y sobre todo a la sensibilidad interindividual de cada persona ^(7,15)

En algunas patologías, como puede ser gastritis, la cafeína causaría ulceración péptica provocando hemorragias. ⁽⁷⁾

Por otro lado, la cafeína estimula las contracciones de la vesícula biliar, relaja el musculo liso de las vías biliares y disminuye los niveles de colesterol en la bilis ⁽¹⁹⁾.



5.4.4 Relación de la cafeína en el sistema muscular.

Se sostiene que la cafeína se relaciona positivamente con el incremento del ejercicio debido a que relaja el músculo liso aumentando el umbral contráctil de los músculos e incrementando la movilización de ácidos grasos de la sangre ⁽²⁰⁾

También la cafeína moviliza grasas que el cuerpo tiene de reserva, aumenta la resistencia a la fatiga en las fibras musculares, en ejercicio de larga o corta duración ⁽⁷⁾

5.4.5 Mecanismos de acción de la cafeína sobre el sistema nervioso.

Sus mecanismos son muy parecidos a la anfetamina, cocaína y heroína pero sobre todo, sus efectos son más leves.

Los principales metabolitos de la cafeína farmacológicamente activos son: teobromina, teofilina y paraxantina ⁽²⁾.

Estudios realizados, concluyen que la cafeína mejora la capacidad mental en la realización de cálculos, aumento en la memorización, se cree que estos cambios están relacionados con alteraciones morfológicas de las neuronas, pues la liberación de calcio inducida por la cafeína, provoca una rápida y significativa multiplicación de las espinas dendríticas del hipocampo, región del cerebro clave para el aprendizaje y la memoria. No solo la cafeína provoca un incremento de hasta el 33 % en el tamaño de las espinas dendríticas, sino que conlleva a la creación de nuevas espinas, aumentando la densidad de las ya existentes y también el grosor de las dendritas. No se puede asegurar en un 100 % que los efectos de la cafeína en el aprendizaje, estén directamente ligados a los cambios morfológicos de las espinas dendríticas, si se observa que la cafeína incrementa la atención, lo que favorece a su vez, la memoria y el aprendizaje. ^(20,21)



5.4.6 Importancia de la cafeína en el sistema cardiovascular.

Aproximadamente 65 mg de cafeína (2 cucharadas de café), para personas que no consumen con frecuencia café, ocasiona un aumento de la frecuencia cardíaca. En algunos casos se puede llegar a tener la sensación de palpitaciones ⁽¹¹⁾.

El uso regular de café no altera al sistema cardiovascular esto, debido a la tolerancia desarrollada a los efectos de la cafeína ⁽¹⁹⁾.

5.4.7 Importancia de la dosis de cafeína sobre el sistema urinario.

Una elevada dosis de cafeína produce un ligero aumento de volumen de orina y una excreción de sodio en orina, con este efecto se crea una disminución en la absorción de sodio y de agua. Debido a este ligero efecto de diuresis se tiene que tener cuidado, en que la pérdida se compense para evitar deshidratación, ya que la pérdida de agua y sodio puede causar consecuencias negativas en el organismo ^(12, 15,21).



5.4.8 Sistema endócrino.

La cafeína es capaz de movilizar ácidos grasos hacia la sangre ocasionando un nivel elevado de éstos en sangre, estudios realizados indican que esto solo ocurre en personas que tienen una ingesta de cafeína esporádica.

En las personas con ingesta esporádica de cafeína, la relación con el sistema endócrino puede elevar los niveles de algunas hormonas como: la renina, catecolaminas e insulina ^(7, 13,19).

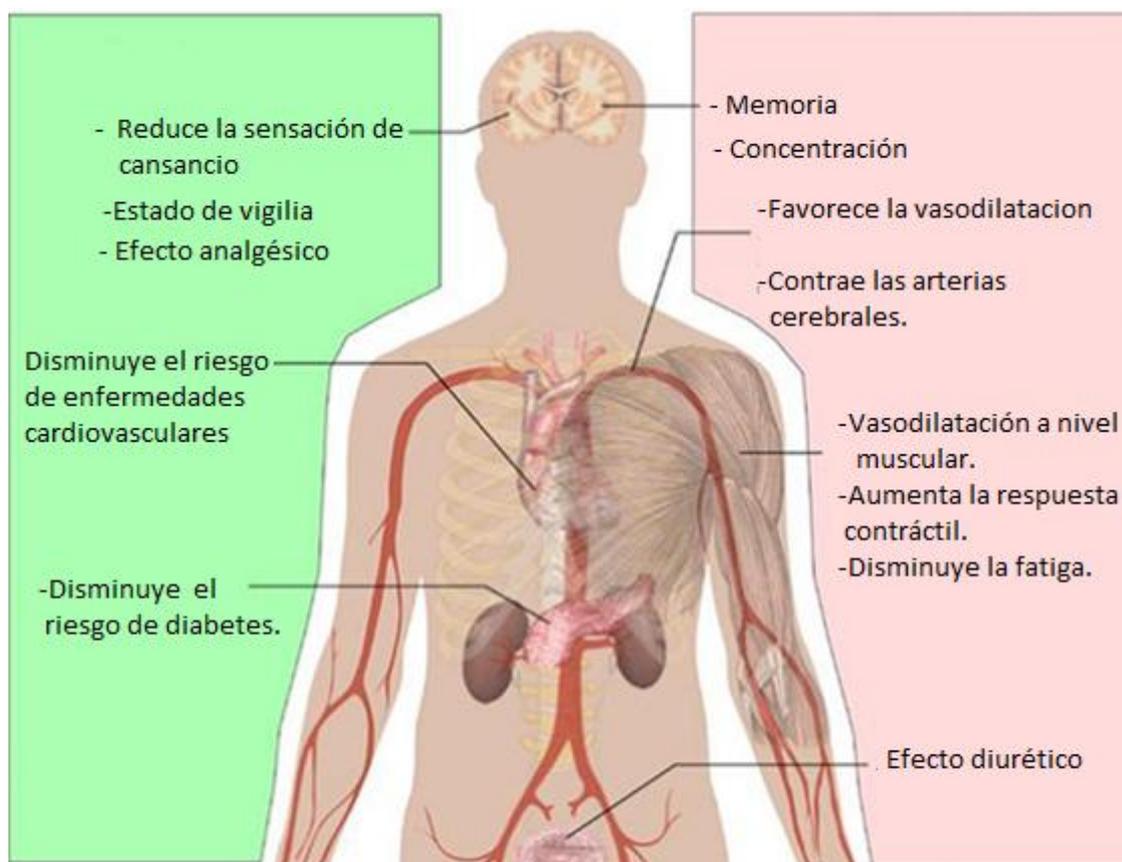


Figura 5. Efectos benéficos de la cafeína en la salud ⁽²⁰⁾.



5.4.9 Efectos indeseables por consumo crónico de cafeína.

La cafeína en algunos individuos causa sueño patológico, también ha sido descrito con el consumo de anfetaminas.

Las evidencias de consumo de cafeína en grandes cantidades, provoca dependencia física y psicológica (síndrome de ansiedad, depresión y ataques de sicosis) (7, 15, 19,20).

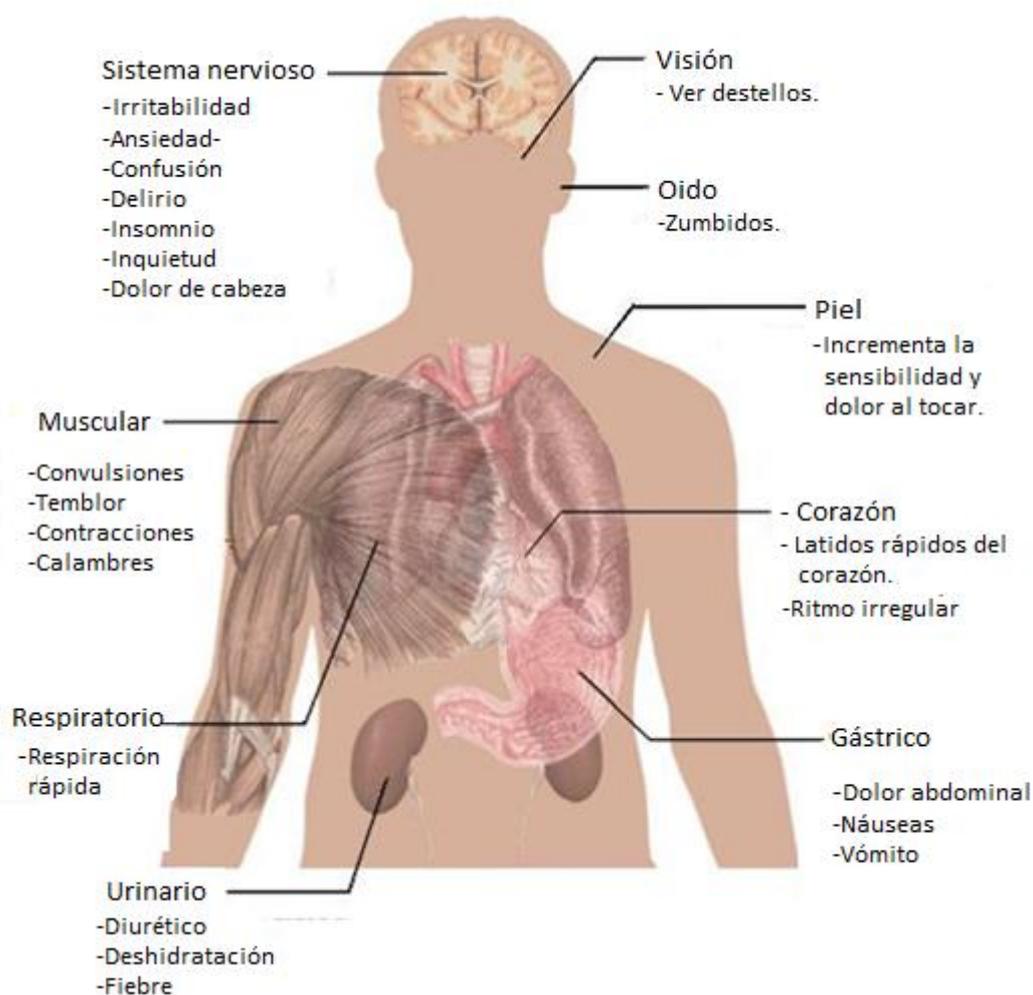


Figura 6. Síntomas adversos de la cafeína (20)



5.4.10 Tolerancia y dependencia.

De acuerdo con la organización mundial de la salud (OMS), no existe evidencia que el consumo de cafeína se compare a las consecuencias físicas que causan las drogas de abuso.

La sensibilidad individual y la frecuencia, así como la dosis a la cual se está ingiriendo la cafeína pueden provocar tolerancia y dependencia.

La dependencia ocurre con el consumo de 350 mg diarios de cafeína durante un mes, generando el síndrome de abstinencia. Este síndrome se manifiesta con dolores de cabeza, irritabilidad, dificultades para concentrarse, náuseas, ansiedad, cansancio, depresión y somnolencia, pero no es grave, estos efectos desaparecen en pocos días.

5.5 Farmacocinética.

5.5.1 Absorción y distribución.

La cafeína se absorbe por el tracto intestinal de forma rápida y completa distribuyéndose con rapidez por todos los tejidos corporales atravesando con facilidad la placenta y la barrera hematoencefálica. Cerca de un 17 % de la cafeína se encuentra unida a proteínas plasmáticas.

La vida media plasmática de la cafeína es de 3 a 4 horas en adultos y puede llegar a más de 100 horas en neonatos a pre-término. La vida media más prolongada en neonatos se debe a un metabolismo mucho más lento de la droga por la inmadurez del sistema enzimático citocromo P450. Por lo tanto, si la cafeína se utiliza con fines terapéuticos en neonatos (p. ej., en el tratamiento de la apnea prologada en nacidos prematuros) es necesario corregir la frecuencia de las dosis en forma apropiada y monitorear con cuidado la concentración plasmática.



5.5.2 Citocromo vía del metabolismo de la cafeína.

El citocromo CYP, son una superfamilia de enzimas que contienen una molécula de hemo unida en forma no covalente a la cadena de polipéptidos.

Estas son las enzimas metabolizadoras de productos xenobióticos más estudiadas, puesto que son las encargadas de metabolizar la mayor parte de los medicamentos, sobre todo las proteínas del citocromo P450 monooxigenasas.

Estas enzimas se localizan en la mayor parte de los tejidos del organismo, principalmente en el aparato digestivo y en el hígado.

El citocromo CYP1A2, es responsable de metabolizar a la cafeína en aproximadamente un 95 %, por desmetilación, transformándola en paraxantina en un 85 %, teobromina 10% y teofilina 5%, solo de 2-5 % se excretará sin cambios en la orina.

Posteriormente se metabolizará también por el citocromo CYPA2 en monoxantinas, que será sustrato de la xantinoxidasa. La N-acetiltransferasa-2 metaboliza a la paraxantina a 5-acetilamino-6-formilamino-3-metiluracilo. Intervienen en una forma menor, otras enzimas de citocromo CYP2E1 y CYP3A3.

En el metabolismo de la cafeína existe una amplia variabilidad en la actividad de la enzima citocromo CYP480 entre los individuos.

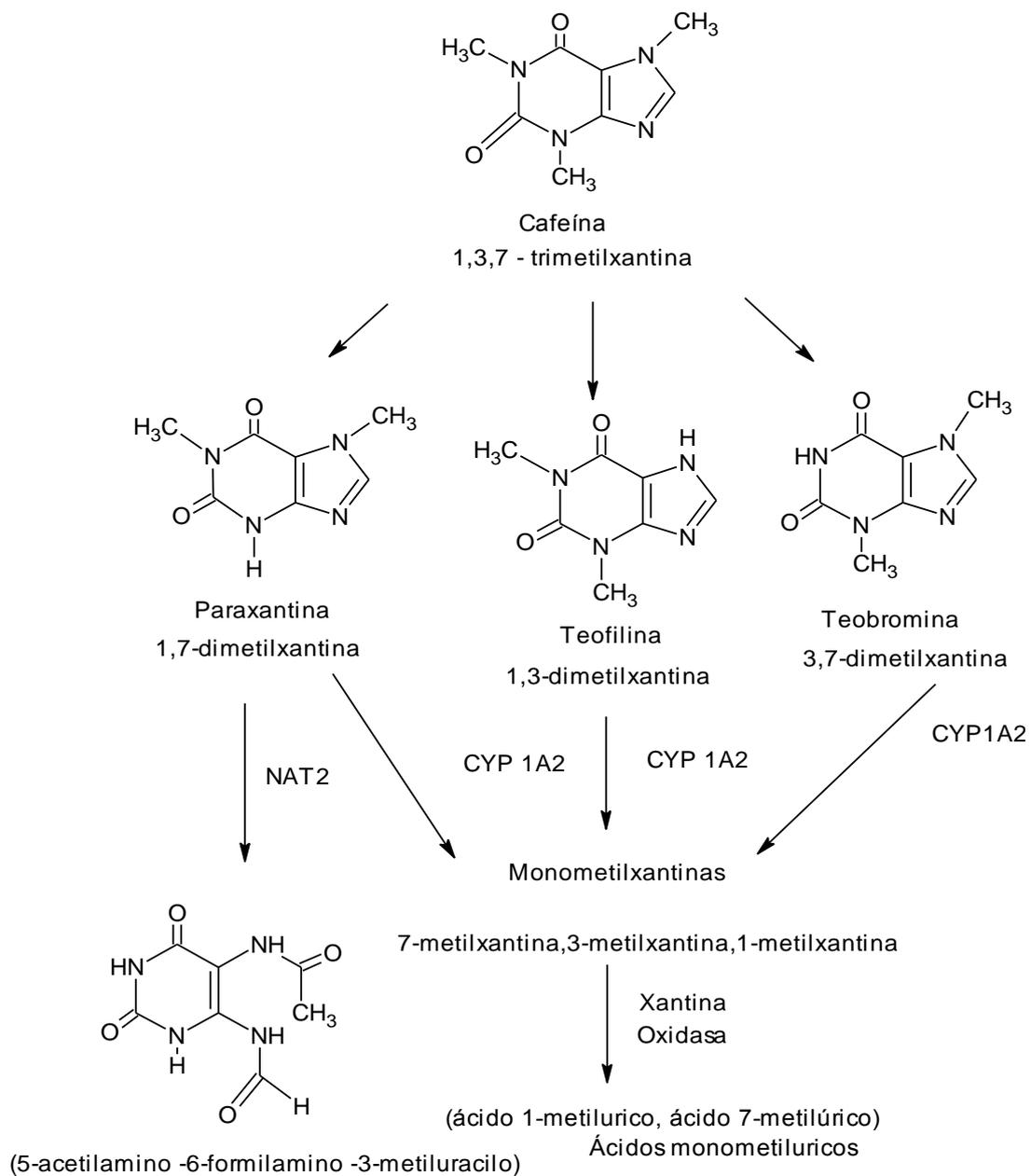


Figura 7. Metabolismo de la cafeína en el humano ⁽¹⁹⁾.



5.5.3 Toxicidad.

Dosis elevadas de cafeína, provocan dolor abdominal, fasciculaciones musculares, rubor facial, mareos, disnea, delirios leves, diuresis, deshidratación, náuseas, vómitos y fiebre. Algunas manifestaciones más graves son arritmias cardíacas y convulsiones. La dosis letal aguda de cafeína en los adultos es de unos 5 a 10 g. La cafeína puede agravar la diarrea en pacientes con intestino irritable o puede exacerbar las úlceras duodenales.

5.6 Efectos benéficos en enfermedades degenerativas.

5.6.1 Enfermedad de Alzheimer.

La cafeína y los antagonistas de los receptores de adenosina afectan la capacidad memorística en humanos y en modelos animales, y en especial las observaciones que de manera uniforme demuestran que la cafeína y los antagonistas de los receptores de adenosina (de receptores A_{2A} en estímulos crónicos y de receptores A₁ en estímulos agudos) son particularmente efectivos para prevenir la deficiencia de memoria, cabe pensar que ambos deben considerarse herramientas prometedoras para la enfermedad de Alzheimer.



5.7 Espectrofotometría ultravioleta.

La espectrofotometría ultravioleta, es una técnica analítica instrumental, que permite determinar la concentración de un compuesto en disolución. El fundamento está basado en la absorción de la energía electromagnética por una sustancia en disolución, dependiendo en forma lineal de la concentración.

Para realizar este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el cual se puede seleccionar la longitud de onda de la luz monocromática que pasa por una disolución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma.

Cuando la luz es absorbida por una molécula se origina un salto electrónico, desde un estado energético basal o fundamental, E_1 a un estado de mayor energía, E_2 y solo se absorberá la energía que permita el salto al estado de mayor energía. Cada molécula tiene una serie de estados de excitación que la distinguen del resto de las moléculas. La absorción que a distintas longitudes de onda presenta una molécula se le conoce como espectro de absorción y constituye una señal de identidad de la misma.⁽²⁴⁾

h = Es la constante de Planck: $6.63 \cdot 10^{-34}$ J/s

ν = Frecuencia de radiación

$$E_2 - E_1 = h\nu$$

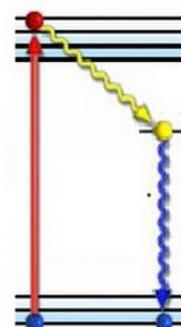


Figura 8. Diagrama de los niveles de energía en una molécula.



La espectrofotometría en el término luz, no solo se aplica a la forma ultravioleta de radiación electromagnética, sino también a la forma visible e infrarrojo. La zona de la espectrofotometría de absorción de nuestro interés, es la región del ultravioleta cercano, que va de 195-400 nm.

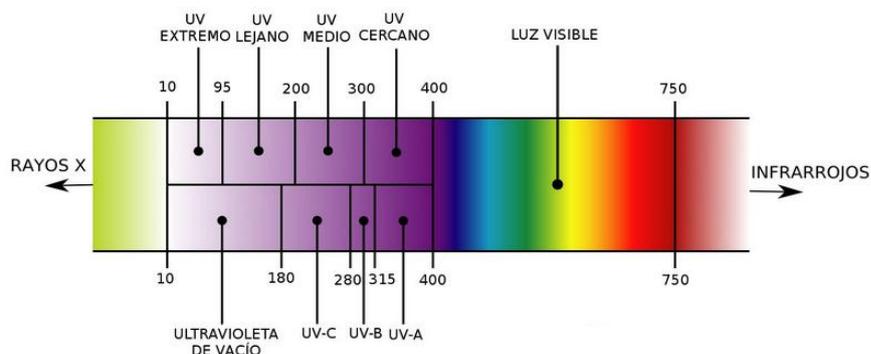


Figura 9. Espectro electromagnético

- La región ultravioleta. La energía es muy alta debido a esto causa daño en el ojo humano. Los compuestos con dobles enlaces aislados, triples enlaces, enlace peptídico, sistemas aromáticos, grupos carboxílicos y otros heteroátomos tienen su máximo de absorción en la región del ultravioleta, por lo que ésta es muy importante para la determinación cuantitativa y cualitativa de compuestos orgánicos. Diversos factores como pH, concentración de analito y el tipo de disolvente, provocan desplazamientos, batocrómico, hipsocrómico, hipercrómico e hipocrómico de los espectros de absorción en la zona del ultravioleta. La fuente de radiación ultravioleta es una lámpara de deuterio⁽²⁵⁾.

La transmitancia, T , se define como la fracción de la luz incidente que pasa a través de la muestra, en la ecuación I es la cantidad de luz transmitida por la muestra e I_0 es la cantidad total de la luz incidente.

$$T = \frac{I_0}{I}$$

Por lo tanto el concepto de absorbancia está más relacionado con la muestra, puesto que indica la cantidad de luz absorbida por la muestra.



5.7.1 Ley de Lambert-Beer.

Esta ley expresa la relación entre absorbencia de luz monocromática y la concenetración de un cromóforo en disolución.

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

La absorbencia de una disolución es directamente proporcional a su concentración esto quiere decir que a mayor número de moléculas mayor absorbencia; ϵ es una constante denominada absortividad molar y es específica para cada cromóforo. La magnitud de absortividad molar dependerá de las unidades empleadas para la concentración (C) y la longitud de la celda o paso de la radiación a través de la disolución (l).

A menudo (C) se expresa en moles por litro y la longitud de la celda (l) en centímetros, la absortividad molar, se designa como ϵ y tiene unidades de $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ (24).



5.7.2 Gráfico de calibración.

Para obtener el gráfico de calibración de un compuesto se preparan disoluciones de diferentes concentraciones, determinando para cada una de ellas un valor de absorbencia a la longitud de onda de máxima absorción. Los valores de absorbencia se presentan en el eje de las ordenadas y la concentración en el eje de las abscisas.

Al realizar el gráfico de calibración se observa que un aumento en la concentración corresponde a un incremento lineal en la absorbencia (zona de cumplimiento de la ley de Lambert- Beer). Tanto a altas concentraciones como a bajas concentraciones la linealidad se pierde, por lo que las medidas son poco fiables y existe una zona del no cumplimiento de la ley de Lambert-Beer. (25)

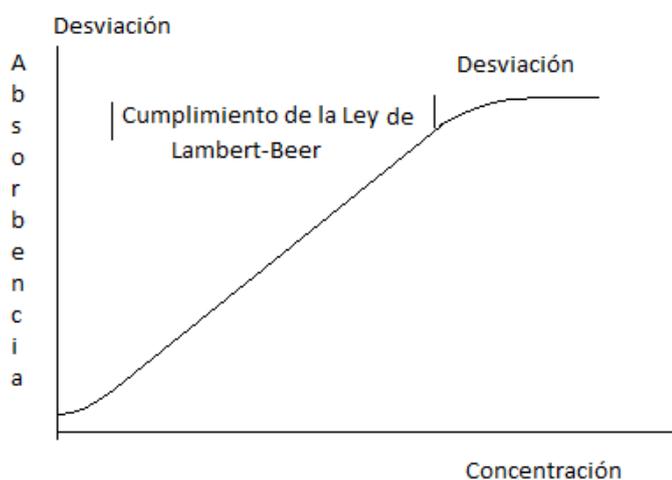


Figura 10. Gráfica de calibración.



5.7.3 Factores que afectan a la ley de Lambert-Beer.

La ley de Lambert-Beer y sus desviaciones se cumple para describir el comportamiento de absorción de disoluciones de concentración definida a concentraciones altas por ejemplo mayores a 0.01 M, la distancia promedio entre las especies responsables de la absorción está disminuida hasta el punto que cada una afecta la distribución de cargas de sus vecinas. Esta interacción, a su vez, puede alterar la habilidad de las especies para absorber en una longitud de onda de radiación. Debido a que la extensión de la interacción depende de la concentración, la ocurrencia de este fenómeno provoca desviaciones de la relación lineal entre absorbencia y concentración.

Un efecto similar se encuentra a veces en disoluciones que contienen altas concentraciones de otras especies, particularmente electrolitos. La proximidad de iones a la especie absorbente altera la absorptividad molar de la última por atracciones electrostáticas, este efecto se disminuye por dilución.

Se encuentran algunas excepciones entre ciertos iones o moléculas orgánicas grandes, que presentan interacciones significativas a concentraciones debajo de 0.01 M.

También se observan desviaciones de la ley de Lambert-Beer debido a que ϵ es dependiente del índice de refracción de la disoluciones; entonces, si cambios de concentración provocan alteraciones en el índice de refracción de la disoluciones, se observan desviaciones a esta ley.⁽²⁵⁾



6 METODOLOGIA

6.1 Equipos y Materiales.

- Espectrofotómetro UV- Visible: HITACHI modelo 200
- Celda de cuarzo de 1cm de paso óptico
- Balanza analítica: SARTORIUS BASIC ^{LITE} BP2105
Capacidad máx. 250 g., d=0.1 mg.
- Parrilla eléctrica: THERMOLYNE modelo HP- A1915B
- Molino de café marca Krups
- Matraces Erlenmeyer 25 mL
- Embudos de separación de 150 mL
- Viales de vidrio de 40 mL
- Naves de pesado
- Espátula
- Probeta de 50 mL
- Probeta de 10 mL
- Embudos de plástico
- Matraces aforados de 25 mL
- Matraces aforados de 5 mL
- Micropipeta de 100-1000 μ L (Transferpette)
- Algodón



6.2 Reactivos y disoluciones

- Cloroformo (J.T. Baker)
- Sulfato de sodio (J.T. Baker)
- Hidróxido de sodio lentejas (J.T. Baker)
- Estándar de cafeína con una pureza del 99% (J. T. Baker)
- Agua destilada
- Muestras de semillas de café tostado y semillas de café verde obtenidas en las zonas de estudio de los estados de Oaxaca, Veracruz, Chiapas y Puebla.

6.3 Preparación de disoluciones

Disolución de hidróxido de sodio 6 M en un vaso de precipitados apropiado, se colocan aproximadamente 150 mL de agua destilada y lentamente y con agitación se agregan 60 g de lentejas de hidróxido de sodio, se agita hasta disolver completa, posteriormente es transferido a un matraz volumétrico de 250 mL y se aforó a la marca con agua destilada. Se almacenó en un recipiente de plástico previamente etiquetado.

6.4 Muestras de café de grano

Se analizaron muestras de café de grano tostado y café de grano verde de la variedad arábica provenientes de las regiones de Veracruz, Oaxaca, Puebla y Chiapas. Se obtuvieron todas las muestras en forma de granos, para todos los experimentos, los granos de café se molieron en un molino de café marca Krups. El grano molido se tamizó a un tamaño de partícula de 0.5 mm se homogenizó para empezar el proceso de extracción.



El muestreo se realizó comprando el café en diferentes establecimientos en el centro Histórico de la ciudad de México, dedicadas a comercializar café de grano tostado y café de grano verde, también se obtuvieron directamente de productores cafetaleros de la República.

Muestra	Tipo de café	Estado y región cafetalera
1	Grano de Café verde	Chiapas (Sierra madre de Chiapas)
2	Grano de Café verde	Chiapas
3	Grano de Café verde	Chiapas (Sierra madre de Chiapas)
4	Grano de café verde	Oaxaca (la Mixteca)
5	Grano de café verde	Oaxaca (Sierra Juárez)
6	Grano de café verde	Oaxaca (San Miguel del puerto)
7	Grano de café verde	Veracruz (Santa Martha)
8	Grano de café verde	Veracruz (Coatepec)
9	Grano de café verde	Veracruz (Coatepec)
10	Grano de café verde	Puebla (Sierra norte del estado de Puebla)
11	Grano de café verde	Puebla (Tlacuilotepec)
12	Grano de café verde	Puebla (Xicotepec)
13	Grano de café tostado	Chiapas
14	Grano de café tostado	Chiapas (Sierra madre de Chiapas)
15	Grano de café tostado	Chiapas
16	Grano de café tostado	Chiapas
17	Grano de café tostado	Chiapas (Sierra madre de Chiapas)
18	Grano de café tostado	Oaxaca (San Miguel del puerto)
19	Grano de café tostado	Oaxaca (San Miguel del puerto)
20	Grano de café tostado	Oaxaca (Sierra de Juárez)
21	Grano de café tostado	Oaxaca (la Mixteca)
22	Grano de café tostado	Oaxaca (la Mixteca)
23	Grano de café tostado	Veracruz (Coatepec)
24	Grano de café tostado	Veracruz (Coatepec)
25	Grano de café tostado	Veracruz (Santa Martha)
26	Grano de café tostado	Veracruz (Huatusco)
27	Grano de café tostado	Veracruz (maya Coatepec)
28	Grano de café tostado	Puebla (Sierra norte del estado de Puebla)
29	Grano de café tostado	Puebla (Sierran norte del estado de Puebla)
30	Grano de café tostado	Puebla
31	Grano de café tostado	Puebla (Xicotepec)
32	Grano de café tostado	Puebla

Tabla 2. Muestras de café analizadas.



6.5 Procesos de extracción.

Se pesaron 30 mg de las muestras a analizar, se colocaron en viales de vidrio para realizar la extracción sólido-líquido de cafeína, utilizando 35 mL de agua en ebullición. Se deja enfriar a temperatura ambiente, se filtró y se coloca en embudos de separación de 150 mL.

Durante el proceso de calentamiento para la extracción de café de grano tostado la solución se vuelve turbia y toma un color marrón.

Al realizar el procedimiento de calentamiento de café de grano verde la solución tiene turbidez y la coloración es verde pálido.

Posteriormente se extrajo el filtrado con cloroformo (4x5 mL). La fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio 6M (2x6 mL) y por ultimo con agua destilada (5mL).

El hidróxido de sodio se adiciona para eliminar interferencias que nos pueden afectar en la determinación, así como también quitar la coloración marrón y verde de las soluciones.

La fase clorofórmica en cada caso se secó adicionando sulfato de sodio anhidro, utilizando embudos de plástico y algodón para realizar el filtrado, los filtrados se colocaron en matraces aforados de 25 mL y por último se aforó a la marca. La determinación de la cafeína en el extracto clorofórmico, se realizó por espectroscopía ultravioleta, en disolución clorofórmica, en un equipo Perkin-Elmer Hitachi 200 y celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico.

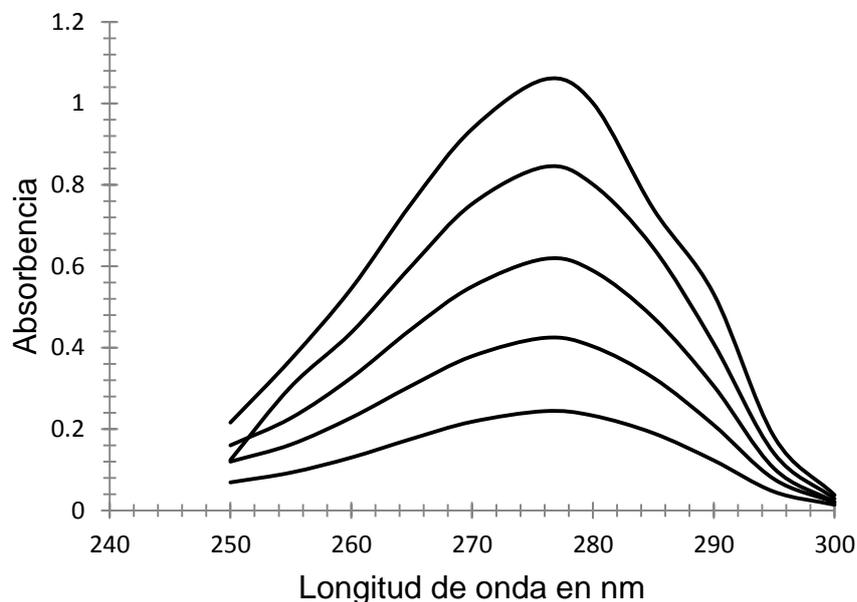


7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

7.1 Determinación del espectro de absorción de cafeína estándar en fase clorofórmica.

Para determinar la longitud de onda a la que se deben hacer las mediciones de absorbencia, se obtuvo el espectro de absorción en la zona del ultravioleta. El barrido se realizó desde 250 a 300 nm obteniéndose el máximo de absorción de la disolución clorofórmica de cafeína, a la longitud de onda de 276 nm.

La gráfica de absorción de las disoluciones estándar clorofórmicas de cafeína se presenta en la gráfica 1.



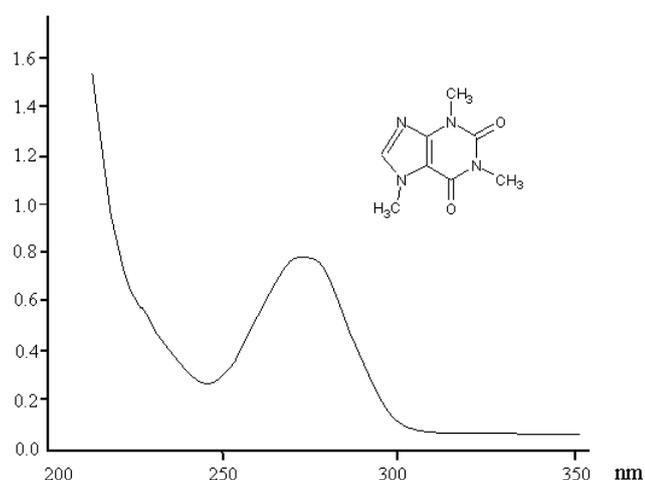
Gráfica 1. Espectro de absorción de cafeína estándar en medio clorofórmico a diferentes concentraciones.



7.2 Determinación del espectro de absorción de cafeína estándar en agua.

Se tomó el volumen necesario de la disolución estándar de cafeína para llenar una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico. Colocar la celda en el espectro y realizar un barrido de 200 a 350 nm para poder obtener el espectro de absorción de la cafeína.

Se observó que la longitud de onda de máxima absorción que presentó la cafeína estándar en agua fue a 274nm ver gráfica 2.



Gráfica 2. Espectro de absorción de la cafeína estándar en agua.

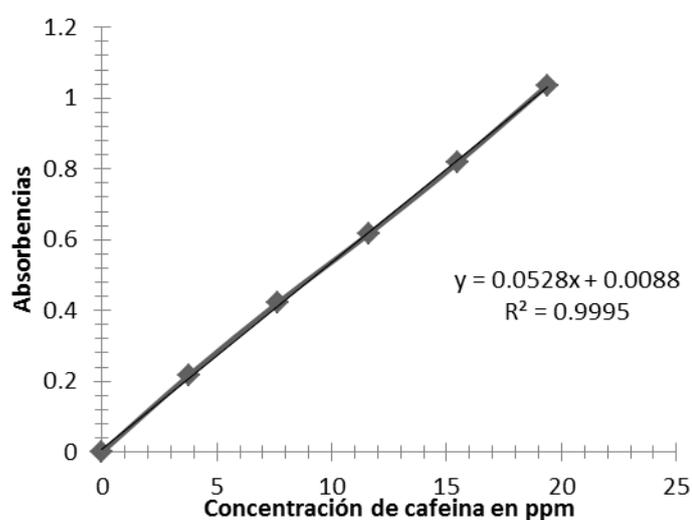
7.3 Elaboración de la gráfica de calibración.

Una vez determinada la longitud de onda máxima para la cafeína se trazó la gráfica de calibración, para la obtención de la gráfica de calibración, se prepararon cinco diluciones de cafeína en cloroformo de una concentración de 3.8, 7.65, 11.62, 15.50 y 19.37 ppm, leídas las absorbencias a la longitud de onda de 276 nm utilizando un espectrofotómetro Perkin-Elmer Hitachi 200 y celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. (Ver anexo 1).



Concentración de cafeína $\mu\text{g mL}^{-1}$	0.00	3,80	7,65	11,62	15,5	19,37
Absorbancia λ de 276nm	0.00	0,218	0,422	0,617	0,819	1,036

Tabla 3. Absorbancias y concentraciones para cada disolución estándar de cafeína en cloroformo.



Gráfica 3. Gráfica de calibración de cafeína en disolución clorofórmica, leídas a la onda de absorción máxima de 276 nm.

Estándar	pendiente	Ordenada al origen	r^2	Intervalo lineal
cafeína	0.0528	0.0088	0.9995	3.8-19.3 $\mu\text{g mL}^{-1}$

Tabla 4. Parámetros estadísticos de la gráfica de calibración de las disoluciones clorofórmicas de cafeína.



7.4 Reproducibilidad intralaboratorio del método de detección.

Para evaluar la reproducibilidad del método de detección, se utilizó una disolución clorofórmica de cafeína grado analítico y se realizó un estudio estadístico unifactorial empleando el modelo de efectos fijos con medidas repetidas las mismas medias tratadas con las mismas condiciones en diferentes días.

Los datos utilizados para el estudio estadístico se realizó un estudio de ANOVA de un solo factor. Es un modelo lineal en el que la variable analizada la hacemos depender de un solo factor de tal manera que las causas de su variabilidad son englobadas en una componente aleatoria que se denomina error experimental.

Este diseño se utiliza cuando el objetivo es comparar más de dos tratamientos, el interés del experimentador está centrado en comparar los tratamientos en cuanto a sus medias poblacionales. Es una herramienta que nos ayuda a decidir si los tratamientos son iguales estadísticamente en cuanto a sus medias.

Los datos reportados se encuentra en la tabla 5, para cada una de las réplicas corresponden al promedio de las 3 mediciones y para cada una se realizaron 5 mediciones por día.

	Día 1	Día 2	Día 3
Concentración de cafeína $\mu\text{g mL}^{-1}$	Absorbencia λ de 276 nm	Absorbencia λ de 276 nm	Absorbencia λ de 276 nm
3.80	0.191	0.236	0.230
7.65	0.334	0.347	0.373
11.62	0.523	0.521	0.556
15.50	0.737	0.715	0.753
19.37	0.961	0.905	0.945

Tabla 5. Reproducibilidad intralaboratorio para las mediciones de absorbencia de estándares de cafeína.



Fuente de variabilidad	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	$F_{0.05,4,14}$	F_0
Absorbencia	4	0.0019	0.00475	3.11	0.0047
Error	10	1.0027	0.1002		
Total corregido	14	1.0046			

Tabla 6. Análisis de varianza de un efecto fijo para la medición de disoluciones clorofórmicas de cafeína.

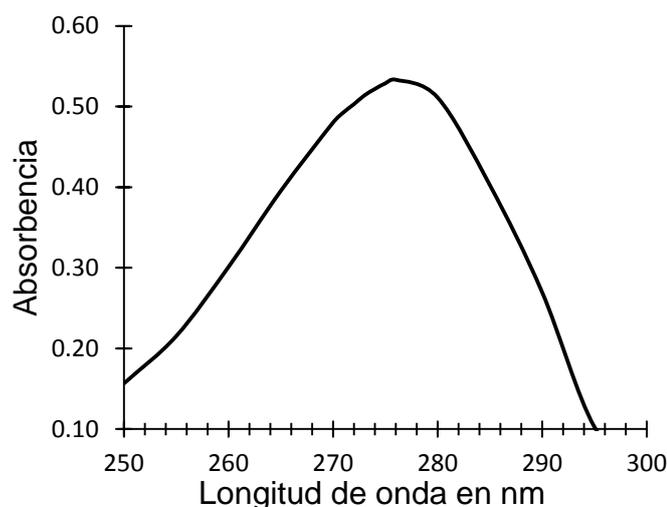
La hipótesis nula H_0 es: no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos entre días.

Como el valor de F_0 calculado, 0.0047, no es mayor al valor de $F_{4,14,0.05}$ de tablas, entonces se concluye que no hay una evidencia estadística de diferencia significativa entre los resultados obtenidos para las mediciones entre días, por lo que se acepta la hipótesis nula, H_0 .

7.5 Resultados de las muestras de café de grano tostado y grano verde.

En el método que se desarrolló para la determinación de la cafeína, se tomaron las lecturas de cada muestra por separado, se corrió un espectro para cada una de las muestras analizadas, realizando 10 réplicas para cada muestra de café de las regiones cafetaleras de estudio.

Se realizó un promedio que se obtuvo a partir de los espectros de absorción obtenidos de las 10 réplicas de las muestras clorofórmicas de café verde de Veracruz, para comparar la extracción de la muestra con el estándar, se observa que no se tienen sustancias que interfieran en la determinación de cafeína en las muestras de estudio, se reportan en la gráfica 4.



Gráfica 4. Espectro de absorción de los extractos clorofórmicos de las 10 réplicas promedio de la cafeína de café tostado de Veracruz, de la región de Coatepec.

Una vez obtenidas la absorbencias de cada una de las disoluciones clorofórmicas analizadas, se determina la concentración de la cafeína por medio de la ecuación de la gráfica de calibración, para obtener la concentración de cafeína que posee cada una de las muestras, las concentraciones obtenidas a partir de la gráfica de calibración se multiplicaron por el volumen de aforo de la solución, se presenta los cálculos de una muestra de café tostado de la región de Veracruz Coatepec. (Ver anexo II).

En las siguientes tablas se muestran los datos de las determinaciones de cafeína en las muestras de granos tostados y verdes obtenidos a partir de los extractos clorofórmicos. Los cuales fueron calculados tomando todos los valores de absorbencia de las 10 réplicas, de cada una de las muestras a la longitud de onda de 276 nm y realizando para cada muestra una gráfica de calibración; se obtuvo su linealidad, la ecuación de la recta, coeficiente de correlación y su coeficiente de variación de cada muestra para la determinación de cafeína en el café de grano verde y tostado.



Origen de la muestra	Masas en mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína (p/p)	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 µg mL ⁻¹	Coefficiente de correlación r ²	cv%
Chiapas Sierra Madre de Chiapas[1]	30.18	0.3750	1.2427	$y = 0.0509x - 0.0144$	$r^2 = 0.9995$	2.2517
Chiapas Sierra Madre de Chiapas[2]	30.20	0.3460	1.1459	$y = 0.0481x + 0.072$	$r^2 = 0.9974$	2.7690
Chiapas[1]	30.20	0.2639	0.8735	$y = 0.0536x + 0.0932$	$r^2 = 0.9980$	2.8199
Chiapas[2]	30.20	0.4078	1.3503	$y = 0.0433x + 0.0339$	$r^2 = 0.9984$	4.2354
Chiapas[3]	30.23	0.3933	1.3023	$y = 0.0514x + 0.0467$	$r^2 = 0.9994$	1.7876

Tabla 7. Datos de la determinación de cafeína en muestras de café de grano tostado de la región de Chiapas.

Origen de la muestra	Masa en mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína p/p	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 µg mL ⁻¹	Coefficiente de correlación r ²	cv%
Oaxaca San Miguel del puerto[1]	30.20	0.3909	1.2943	$y = 0.0481x + 0.072$	$r^2 = 0.9974$	4.4148
Oaxaca San Miguel del Puerto[2]	30.23	0.3706	1.2272	$y = 0.0526x + 0.0481$	$r^2 = 0.9973$	2.6539
Oaxaca la Mixteca[1]	30.30	0.3095	1.0249	$y = 0.0451x + 0.0154$	$r^2 = 0.9998$	4.0225
Oaxaca la Mixteca[2]	30.81	0.3211	1.0427	$y = 0.0454x + 0.0388$	$r^2 = 0.9996$	2.1900
Oaxaca Sierra de Juárez	30.04	0.3784	1.2597	$y = 0.0441x + 0.0901$	$r^2 = 0.999$	3.3466

Tabla 8. Datos de la determinación de cafeína en grano tostado de la región de Oaxaca.



Origen de la muestra	Masa mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína p/p	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 µg mL ⁻¹	Coefficiente de correlación r ²	cv%
Veracruz Coatepec[1]	30.20	0.4843	1.6035	$y = 0.0369x + 0.079$	$r^2 = 0.9985$	2.5382
Veracruz Coatepec[2]	30.21	0.3159	1.0461	$y = 0.0443x + 0.0632$	$r^2 = 0.9982$	1.1940
Veracruz Santa Martha	30.14	0.3621	1.1949	$y = 0.0458x + 0.0414$	$r^2 = 0.9997$	1.1949
Veracruz Coatepec[3]	30.14	0.3296	1.0914	$y = 0.0457x + 0.0311$	$r^2 = 0.9996$	2.1540
Veracruz Coatepec[4]	30.19	0.3659	1.2037	$y = 0.0419x + 0.0426$	$r^2 = 0.9992$	2.6087

Tabla 9. Datos de la determinación de cafeína en grano tostado de la región de Veracruz.

Origen de la muestra	Masa mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína p/p	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 µg mL ⁻¹	Coefficiente de correlación r ²	cv%
Puebla Sierra norte del estado de Puebla[1]	30.20	0.3157	1.0452	$y = 0.0398x + 0.0567$	$r^2 = 0.9973$	2.0148
Puebla Sierra norte del estado de Puebla[2]	30.21	0.2668	0.8832	$y = 0.0458x + 0.0771$	$r^2 = 0.9973$	4.1771
Puebla[1]	30.21	0.3887	1.2866	$y = 0.0358x + 0.0917$	$r^2 = 0.9966$	2.3518
Puebla[2]	30.20	0.4390	1.4533	$y = 0.034x + 0.1421$	$r^2 = 0.9966$	1.4533
Puebla (Xicotepec)	30.19	0.3487	1.1549	$y = 0.0397x + 0.0545$	$r^2 = 0.9992$	1.1549

Tabla 10. Datos de la determinación de cafeína en muestras de grano tostado, de la región de Puebla.



Origen de la muestra	Masa en mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína p/p	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 $\mu\text{g mL}^{-1}$	Coefficiente de correlación r^2	cv%
Chiapas Sierra Madre de Chiapas[1]	30.17	0.3328	1.1033	$y = 0.0498x - 0.0239$	$r^2 = 0.9994$	3.0235
Chiapas Sierra Madre de Chiapas[2]	30.20	0.1971	0.6527	$y = 0.0509x + 0.0349$	$r^2 = 0.9948$	3.4496
Chiapas	30.28	0.2430	0.8023	$y = 0.0503x - 0.0066$	$r^2 = 0.999$	2.6046

Tabla 11. Datos de la determinación de cafeína en grano verde, de la región de Chiapas.

Origen de la muestra	Masa en mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína p/p	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 $\mu\text{g mL}^{-1}$	Coefficiente de correlación r^2	cv%
Oaxaca (la Mixteca)	30.30	0.3021	0.9969	$y = 0.0521x + 0.0182$	$r^2 = 0.9995$	2.2773
Oaxaca (Sierra Juárez)	30.30	0.3690	1.2178	$y = 0.0495x - 0.0305$	$r^2 = 0.9978$	1.6362
Oaxaca (San Miguel del Puerto)	30.30	0.3449	1.1382	$y = 0.0478x - 0.0049$	$r^2 = 0.9987$	2.0447

Tabla 12. Datos de la determinación de cafeína de grano verde, de café de la región de Oaxaca.



Origen de la muestra	Masa en mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína p/p	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 µg mL ⁻¹	Coefficiente de correlación r ²	cv%
Veracruz (Santa Martha)	30.25	0.2668	0.8820	$y = 0.0544x + 0.0179$	$r^2 = 0.9997$	4.3078
Veracruz (Huatusco)	30.27	0.2917	0.9638	$y = 0.0502x - 0.0207$	$r^2 = 0.9986$	2.2315
Veracruz (Coatepec)	30.30	0.2459	0.8116	$y = 0.0509x + 0.0415$	$r^2 = 0.9979$	2.1697

Tabla13. Datos de la determinación de cafeína en grano verde, de la región de Veracruz.

Origen de la muestra	Masa en mg	Contenido de cafeína en mg	% de cafeína	Ecuación de la recta rango de concentración 3.8 a 19.37 µg mL ⁻¹	Coefficiente de correlación r ²	cv%
Puebla Sierra norte del estado de Puebla	30.24	0.2568	0.8491	$y = 0.0535x + 0.0273$	$r^2 = .9987$	4.4426
Puebla Tlacuilotepec	30.21	0.3480	1.1528	$y = 0.0498x - 0.0078$	$r^2 = 0.9991$	2.1205
Puebla Xilotepec	30.19	0.2972	0.9844	$y = 0.0498x - 0.0282$	$r^2 = 0.9934$	0.9844

Tabla14. Datos de la determinación de cafeína en grano verde, de la región de Puebla.



El coeficiente de correlación r^2 fue de 0.9984 promedio obtenido por lo cual los datos son adecuados para realizar la determinación de cafeína en las muestras y los cv son variables en cada tipo de café tostado o verde.

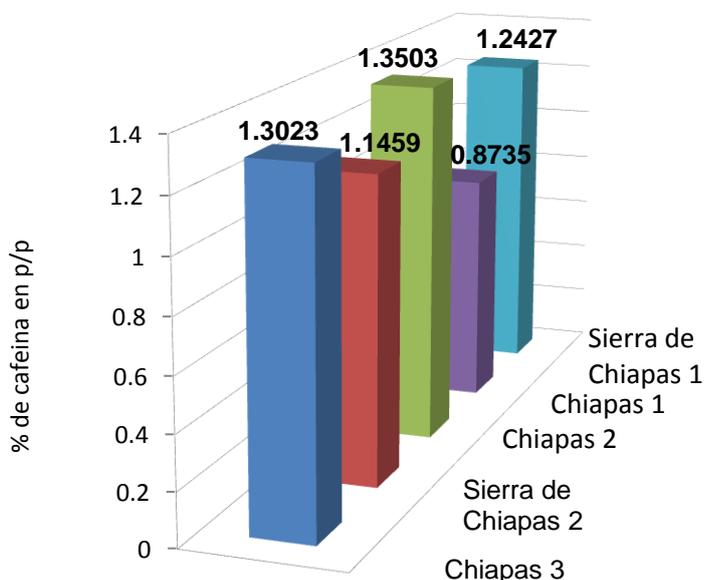
La cantidad pesada de la muestra de café de aproximadamente 30 mg en grano tostado y grano verde es adecuada, nos da unos valores intermedios, permitiendo determinar en la recta la cantidad de cafeína y disminuir los errores.

En el anexo II se pueden ver las absorbencias obtenidas a la longitud de onda de trabajo, de las réplicas obtenidas del estado de Veracruz que corresponde a la región de Coatepec.



7.6 Porcentaje de cafeína en las regiones cafetaleras de estudio.

A continuación se presentan los porcentajes de cafeína obtenidos en las diversas muestras de café en las gráficas de barras, de cada una de las 32 muestras de café de grano verde y grano tostado de las regiones cafetaleras, de donde se obtuvieron las muestras de trabajo.



Gráfica 5. Porcentaje de cafeína en café de grano tostado de la región del estado de Chiapas.

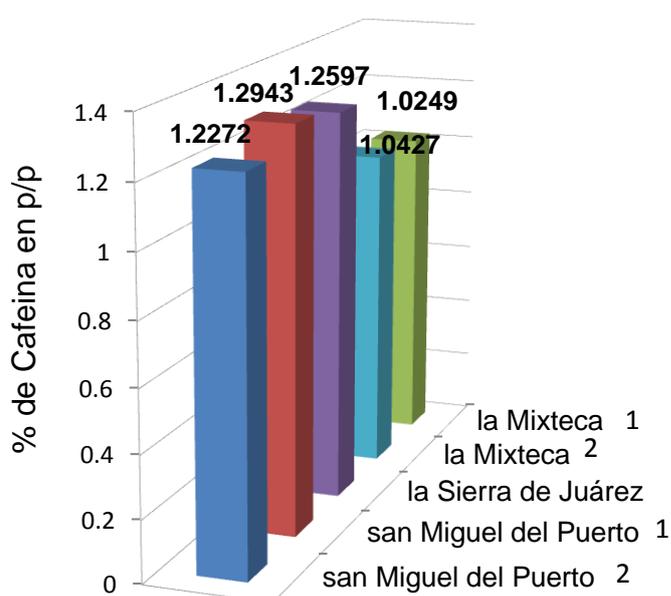
En la gráfica 5 se presenta el contenido de cafeína en grano de café tostado recolectado de 5 regiones del estado de Chiapas, el contenido porcentual promedio para el estado de Chiapas es de 1.1829 % p/p.

Como se puede observar las muestras de Chiapas 2 tienen el porcentaje de cafeína más alto con 1.3503 % p/p seguido de la muestra de Chiapas 3 que contiene 1.3023, las dos muestras pertenecen a la misma región.



También se observa que la muestra de Chiapas 1, presenta el valor más bajo con 0.8735 % p/p, aunque es de la misma región que las muestras con el contenido de cafeína más alto.

Las muestras de la Sierra de Chiapas su contenido porcentual es muy similar entre ellas con un rango de 1.1459 % p/p a 1.2427 % p/p de cafeína.



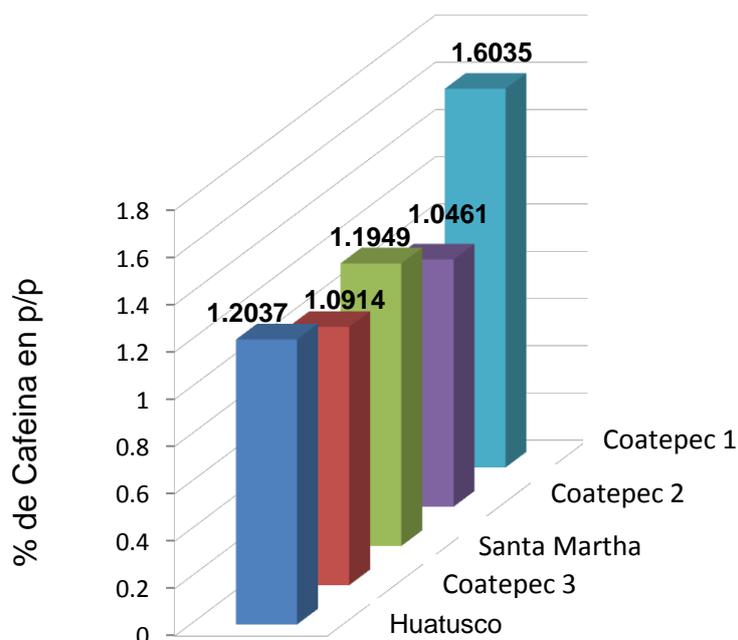
Gráfica 6. Porcentaje de cafeína en café de grano tostado de la región del estado de Oaxaca.

En las muestras de café obtenidas en el estado de Oaxaca, el contenido de cafeína observada en las 5 regiones oscila entre 1.02 – 1.29 % p/p.

Para la muestra de san Miguel del Puerto 1, presenta el porcentaje de cafeína mayor con 1.2943 % p/p, después La Sierra de Juárez con 1.2597 % p/p, y la muestra de la Mixteca 1 presentó un porcentaje menor de cafeína con 1.0249 % p/p.



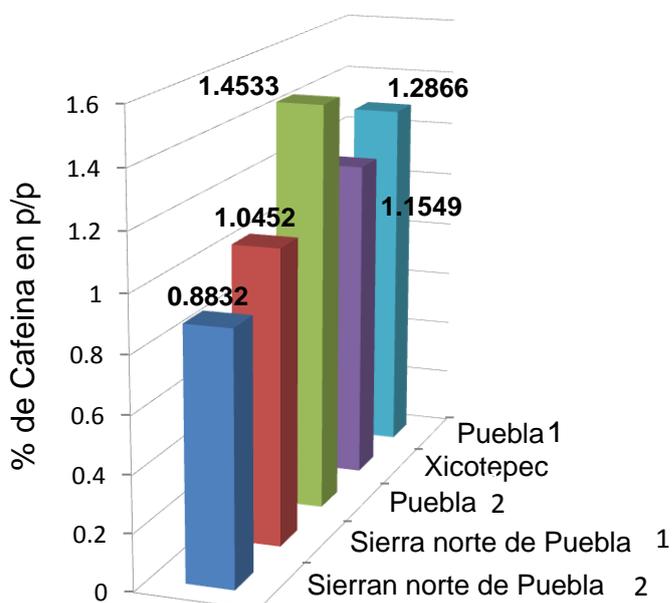
En general el contenido de cafeína es homogéneo en las regiones de estado de Oaxaca a la que pertenece, no hay una diferencia grande en el contenido de cafeína en las muestras procedentes de la misma región.



Gráfica 7. Porcentaje de cafeína en café de grano tostado de las regiones del estado de Veracruz.

El café tostado de Coatepec 1 que tuvo la mayor cantidad de cafeína con 1.6035 % p/p seguido de Huatusco con 1.2037 % p/p, la muestra de Coatepec2 tiene el menor contenido de cafeína con un 1.0461 % p/p.

La menor y la mayor cantidad de cafeína se obtuvieron en la misma región, lo que indica que las muestras no tienen la misma calidad.



Gráfica 8. Porcentaje de cafeína en café de grano tostado de las regiones del estado de Puebla.

Los valores observados en las muestras de café tostado, de las regiones del estado de Puebla, van en un rango de valores de 0.8 hasta 1.4 % (p/p).

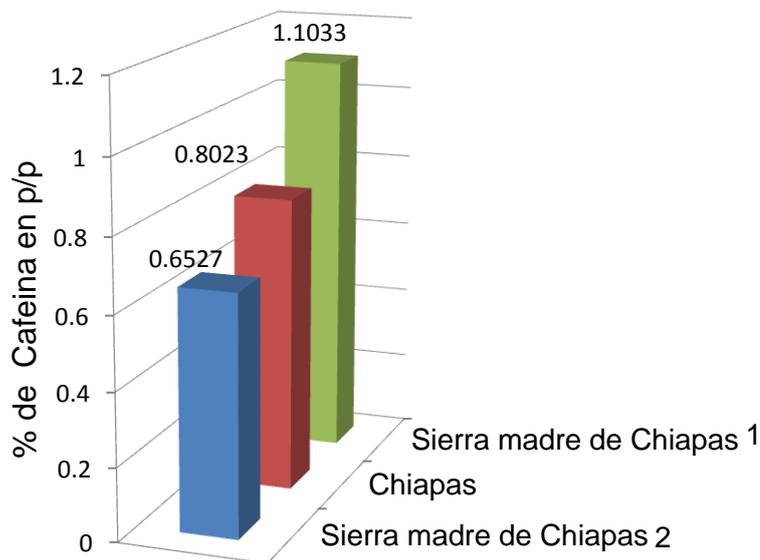
La cantidad de cafeína observada es variada en las muestras de las regiones de Puebla, los mayores porcentajes de cafeína están presentes en las muestras de Puebla 2 con 1.4533 % p/p y Puebla 1 con 1.2866 % p/p, el contenido de cafeína es muy parecido en estas dos, mientras que para la región de la Sierra de Puebla 2 se obtuvieron los datos de menor cantidad de cafeína con 0.8832 % p/p, en general el contenido de cafeína en cada región de origen son parecidas en porcentaje.



Observando los valores obtenidos de los cafés de grano tostado se puede hacer una comparación del contenido de cafeína a cada uno de ellos, obteniendo el valor más alto en la región de Veracruz y las más bajas en las regiones de Puebla y Chiapas; presentan resultados variables entre las muestras procedentes de la misma región. Esto en gran medida se pensaría que no afecta el clima pero si la altitud a la cual es cosechado el café así tomando las buenas prácticas de cultivo, la edad del cafeto es importante tomarla en cuenta ya que este factor contribuye a las propiedades químicas presentes en el grano de café y el tipo de procesamiento del café en las distintas cafetaleras.



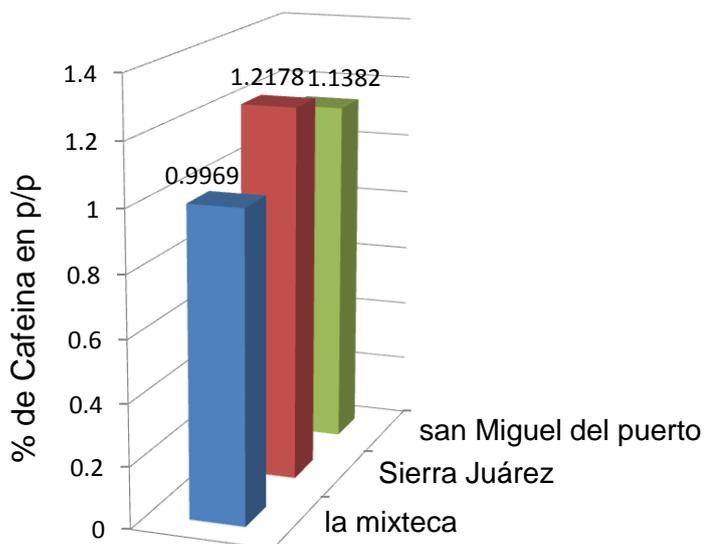
En las gráficas que a continuación se presentan corresponden a los resultados obtenidos de las muestras de café de grano verde, obtenidas de las distintas regiones de estudio.



Gráfica 9. Porcentajes de cafeína en café de grano verde de las regiones del estado de Chiapas.

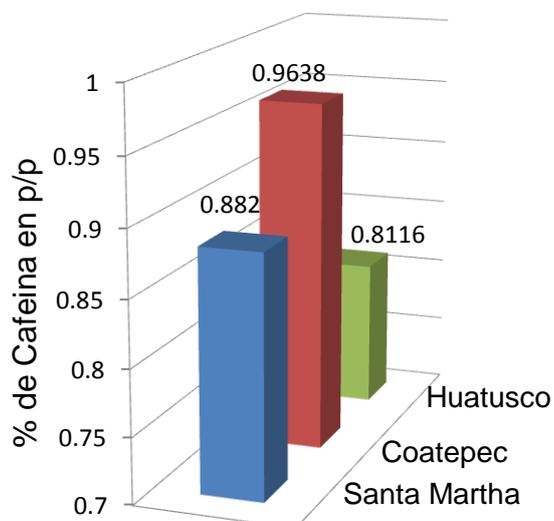
Las cantidades de cafeína en el estado de Chiapas presentan una variación en el contenido de cafeína de 1.1033 – 0.6527 % (p/p).

En las regiones de Chiapas la mayor cantidad de cafeína obtenida fue en la región de la Sierra de Chiapas 1 con 1.1033 % p/p seguida de Chiapas 1 con 0.8023 % p/p. Entre estas dos muestras la diferencia es significativa tomando en cuenta que pertenecen a diferente región, la muestra de la Sierra de Chiapas 2 con 0.6527 %p/p, es la que contiene menor porcentaje de cafeína, aunque si la comparamos con la muestra de la misma región la diferencia que se observa es mayor con la muestra de Chiapas 1.



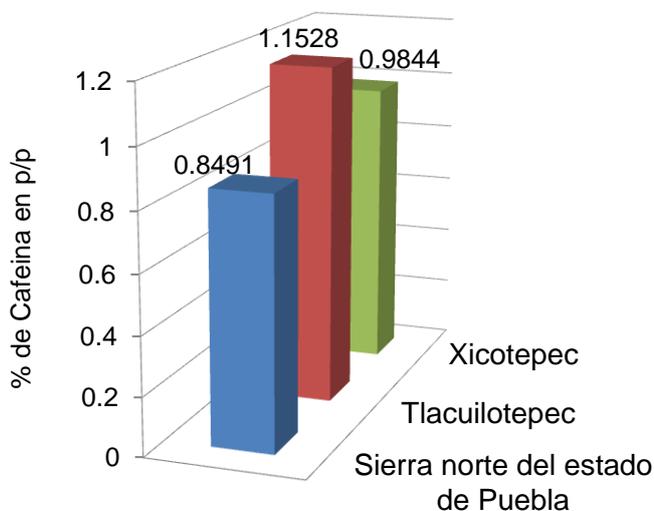
Gráfica 10. Porcentajes de cafeína en café de grano verde de las regiones del estado de Oaxaca.

En las regiones del estado de Oaxaca se obtuvieron valores del contenido de cafeína, homogéneos al igual que en el café tostado, aunque en las muestras de café verde el contenido de cafeína oscilando entre 1.2178 – 0.9969 % (p/p), la diferencia entre las muestras de Sierra de Juárez y San Miguel del puerto, presentan una menor diferencia en el contenido porcentual de cafeína, el contenido porcentual de la muestra de la región de la Mixteca, es la muestra con menor contenido de cafeína la cual es de 0.9969 % p/p.



Gráfica 11. Porcentajes de cafeína en café de grano verde de las regiones del estado de Veracruz.

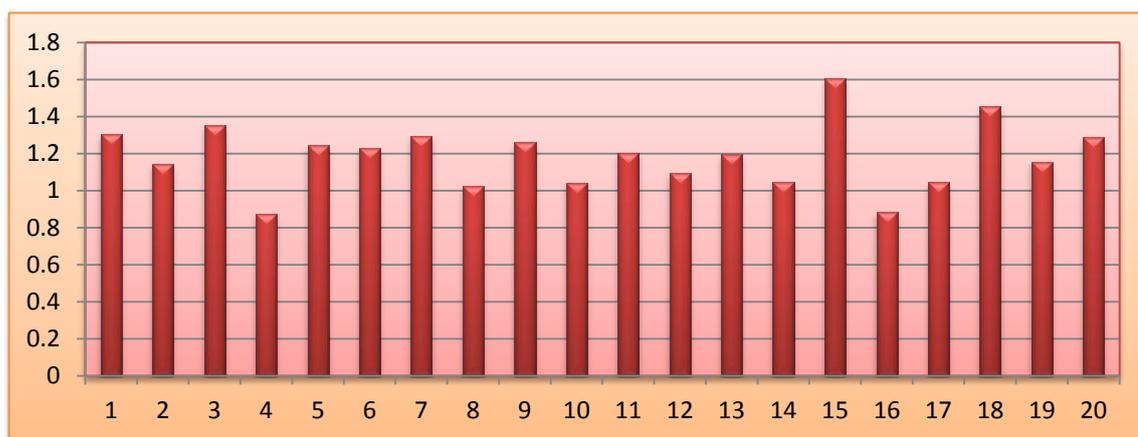
En las regiones de Veracruz los valores de cafeína porcentual oscilan entre 0.8116 - 0.9636 % p/p en cuanto al contenido de cafeína porcentual, en este caso tenemos muestras de diferentes regiones procedentes del mismo estado, en la muestra de Coatepec presenta un contenido porcentual mayor si comparamos la muestra de Huatusco con 0.8116 %p/p y Santa Martha con 0.8820% p/p las cuales presentan un contenido de cafeína muy parecido.



Gráfica 12. Porcentajes de cafeína en café de grano verde de las regiones del estado de Puebla.

En las regiones de Puebla, el contenido de cafeína presente en la región de Tlacuilotepec fue de 1.1528 % (p/p) presentando una cantidad de cafeína porcentual muy parecida con la región de Xicotepec con 0.9844 % p/p. La Sierra norte del estado de Puebla es la región que presenta menor cantidad de cafeína del orden de 0.8491 % p/p.

La diferencia en el contenido de cafeína en grano verde y tostado varía, esto se le puede atribuir a las características de humedad, de que el ácido clorogénico es el más abundante y se encuentra en parte combinado a la cafeína formando un complejo de clorogenato de cafeína, presente en el grano verde⁽⁹⁾⁽¹³⁾ y sobre todo a la gran variabilidad de componentes en el café verde, tomando en cuenta que varios componentes se pierden durante la torrefacción del café que pudieran interferir en la determinación de la cafeína presente en café de grano verde.



Grafica 13. Porcentaje de cafeína en café de grano tostado de las regiones cafetaleras de Chiapas (1-5), Oaxaca (6-10), Veracruz (11-15) y Puebla (16-20).

En el gráfico se puede ver que todas las muestras de café tostado cumplen con la legislación de tener como mínimo 0.8 % de cafeína en base seca.

La calidad del café está relacionada con su composición química; como parámetros de calidad del café en cuanto a sus constituyentes químicos se toma en cuenta la presencia de la cafeína, ácido clorogénico y trigonelina.

La cafeína es muy estable en grano de café verde o tostado en caso contrario la trigonelina y el ácido clorogénico son parcialmente descompuestos en relación directa con el grado de tueste, en casi 50 % se pierde.

El café es uno de los productos agrícolas susceptible a las condiciones del clima influyen directamente en el grano, debido a que el café verde se considera la materia prima para producir el café tostado, la importancia de trabajar con muestras de café verde es determinar el contenido de cafeína y observar la diferencia que existe partiendo de granos verdes tomando en cuenta que tiene una composición diferente al grano tostado.



La información que nos da al comparar el café verde y café tostado en cuanto al contenido de cafeína, en la determinación en café tostado se obtuvo mayor contenido de cafeína esto se debe a que durante el tostado el café pierde materia orgánica, por lo que el grano pierde peso y el porcentaje de cafeína se incrementa.



8. CONCLUSIONES

Las muestras de estudio en el presente trabajo, se eligieron de cuatro estados de la república y de cada uno de ellos, se muestrearon de cinco regiones, para café de grano tostado y tres muestras de cada región, para el café de grano verde, obteniendo un total de 32 muestras.

Para cada una de las muestras se realizaron diez réplicas teniendo un total de 320 determinaciones.

El contenido de cafeína presente en el grano de café tostado, analizado en el presente trabajo, está dentro del intervalo reportado en la literatura, el cual es de 0.8 – 1.5 % p/p.

De las muestras de café analizadas de las regiones de Veracruz, Chiapas y Puebla, se obtuvo un mayor contenido de cafeína las cuales están en el intervalo de 1.2- 1.6% p/p.

Estas tres regiones tienen un clima y una altura ideales para la plantación de café, destacándose también por ser las regiones de mayor producción de café.

La norma mexicana **NMX-F-013-SCFI-2000**, especifica que el contenido de cafeína en muestra seca de café tostado debe contener como mínimo 0.8 %. Se compararon los resultados obtenidos de las muestras de las regiones analizadas mostrando en todas, el cumplimiento de esta norma, por lo tanto, se puede concluir que todas las muestras analizadas en este trabajo, de las regiones cafetaleras estudiadas, se encuentran en el intervalo de 0.8 – 1.6 % p/p.

Para el grano de café verde, la norma mexicana, no especifica nada sobre el contenido de cafeína pero los datos obtenidos de cafeína corresponden con los reportados en la literatura, y estos son de 0.6-1.00 % p/p.



En la extracción de cafeína efectuada en café de grano tostado y verde, la mayor cantidad de cafeína se encontró en las muestras de café de grano tostado, esto debido probablemente, a la pérdida de humedad durante el proceso de tostado, así como también la pérdida del complejo de cafeína con el ácido clorogénico presente en los muestras de granos de café verde.

El método utilizado para la determinación de cafeína en grano de café verde y tostado, se puede decir, que es fácil de realizar, rápido, económico, sensible, y confiable, dando resultados reproducibles y homogéneos.

A partir del espectro de absorción de una muestra estándar de cafeína, para determinar cualitativamente la presencia de cafeína en grano de café, utilizando espectroscopia ultravioleta, se observó que presenta el mismo comportamiento espectroscópico comprobando que la cafeína extraída no presenta interferencias durante la determinación en muestras de café de grano verde y grano tostado.



9 BIBLIOGRAFÍA.

1. Benjamín Ramírez F., El café en el consumo humano <http://www.elportaldelasalud.com>. Revista Colombiana de Cardiología 11/02/2012.
2. Ángel M. Villar del Fresno., Farmacognosia General. Editorial síntesis. México (2004), p 331.
3. Centro de Estudios de las Finanzas Públicas. El Mercado del Café en México. Palacio Legislativo de San Lázaro D.F., Diciembre (2002). p 2-35.
4. Revista del Consejo Mexicano del Café. Café de México hacia los mercados de calidad, Agosto (2005), **45**, p 3-7.
5. Asociación Mexicana de la Cadena Productiva del Café <http://www.anacafemexico.com/concrete.>, (12/10/2012).
6. Ana Isabel Sousa Montenegro Solares, Bruno M. Reis Fonseca. Toxicología y análisis de la cafeína 2004/2005 Facultad de farmacia de la Universidad de Farmacia del Porto. p 4-36.
7. NationalCoffeeAssociationUSA <http://www.ncausa.org/i4a/pages/index.cfm?pageid=30> 15/11/2012 (12:08).
8. Luis Bravo Díaz, Farmacognosia., editorial Requena. , México (2006), p 69-73.
9. Medicinal Plants of the World, vol. 3: Chemical Constituents, and Modern Medicinal Uses, Coffe Arabica L. (2002), p 155-163.
10. Botanical Online <http://www.botanical-online.com/cafe.htm>., 12/10/2012 (19.30).
11. Martín Gotteland, Saturnino de Pablo V, Algunas Verdades Sobre el Café, A., (2007), **3** p 105-115.



12. Manuel Alberto Coronel. Estudio del Café Especial Ecuatorial. Tesis de Maestría. Fundación Universitaria de Iberoamérica., (2010), p 39-56.
13. Camargo, M.C.R., Toledo, M.C.R, Teor de cafeína em cafés Brasileiros Faculdade de Engenharia de alimetos, Departamento de Ciencia de Alimentos; Universidade Eatadual de Campinas. p 4-7.
14. Gabriel Gerardo Zenteno Bravo., Mala o buena la cafeína. 7 mayo 2006 InFarma. Universidad de Puebla, Facultad de Ciencias Farmacéuticas. p 34-57.
15. Arango Acosta Gabriel Jaime, Alcaloides y Compuestos Nitrogenados. Universidad de Antioquia, Medellín Colombia. p 78-81.
16. Paul M. Derwick., Medicinal Natura Products., Edit: John Wiley and Sons. LTD 2008 USA p 393-395.
17. Yesenia del Rosario Díaz Carrea, Cuantificación de cafeína en café nacional tostado y molido comercializado en la ciudad de Guatemala. Tesis de licenciatura p 8-10 (2007).
18. Luis Bravo Díaz. Farmacognosia., Edit. Sevier 2003 España., p 69-73.
19. Ricardo Pardo Lozano, Yolanda Álvarez G, Diego Barral T, Magí Farré A., Cafeína: Un Nutriente, Un Fármaco, o una droga de Abuso., Revista de farmacología de Barcelona. 5 p 225-230.
20. America's most popular drug, which is both legal and addictive
<http://www.weedist.com/2012/07/round-1-marijuana-safer-than-peanuts-round-2-caffeine/> 12/10/2012
21. Copyright:image by Mikael Haggstrom(Jan2012). Re-used with appreciation. We understand this diagram to be in public domain as per release info <http://www.ivy-rose.co.uk/HumanBiology/Nutrition/effects-of-caffeine-on-the-body.php>
22. Maria del Pilar Santa Cruz. Andrés Alvarado, Diana López, Yolima Rincón. Cafeina (150 mg/Kg) Aprendizaje Especial (Retención y Adquisición) en Ratones. Psicología desde el Caribe Universidad del norte., p 122-151, 2003.



-
23. Rodrigo A. Cunha, Cafeína, receptores de adenosina, memoria y enfermedad de Alzheimer. Centro de Neurociencias de Coimbra. Instituto de Bioquímica. Facultad de Medicina. Universidad de Coimbra. Coimbra. Portugal (2008). Artículo 269.558. p 790-792.
 24. Douglas R. Skoog and Donald M. West. Análisis Instrumental, cuarta edición, McGrawHill/Interamericana de España, S.A. 1993. P173-183.
 25. Harris Daniel C, Análisis Químico Cuantitativo, segunda edición, Editorial Reverte, S.A. 2001 España. p505-520.



ANEXO I

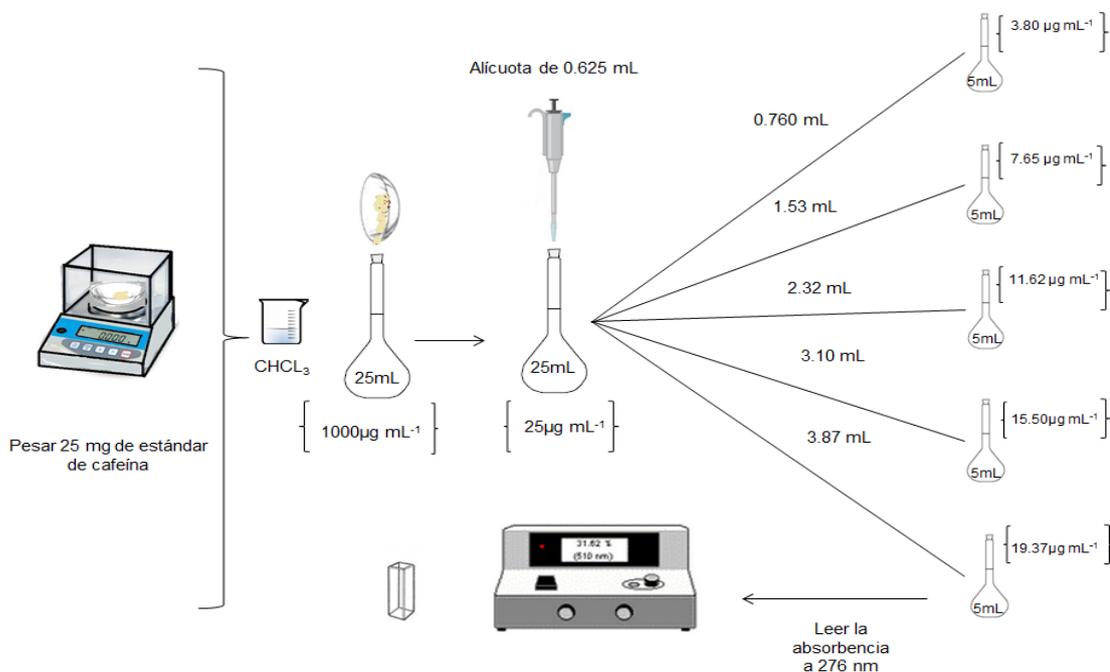


Realización de la gráfica de calibración.

Se pesaron 25 mg de estándar de cafeína, se disolvieron en cloroformo, se trasvasaron a un matraz aforado de 25 mL y se aforó a la marca con cloroformo con una concentración de 1 mg mL^{-1} , de esta disolución se tomó una alícuota de 0.625 mL colocándolos en un matraz aforado de 25 mL y se aforó a la marca con cloroformo.

A partir de la segunda disolución se prepararon las disoluciones estándar de cafeína en matraces aforados de 5 ml con las siguientes concentraciones: 3.80, 7.65, 11.62, 15.5 y $19.37\ \mu\text{g mL}^{-1}$.

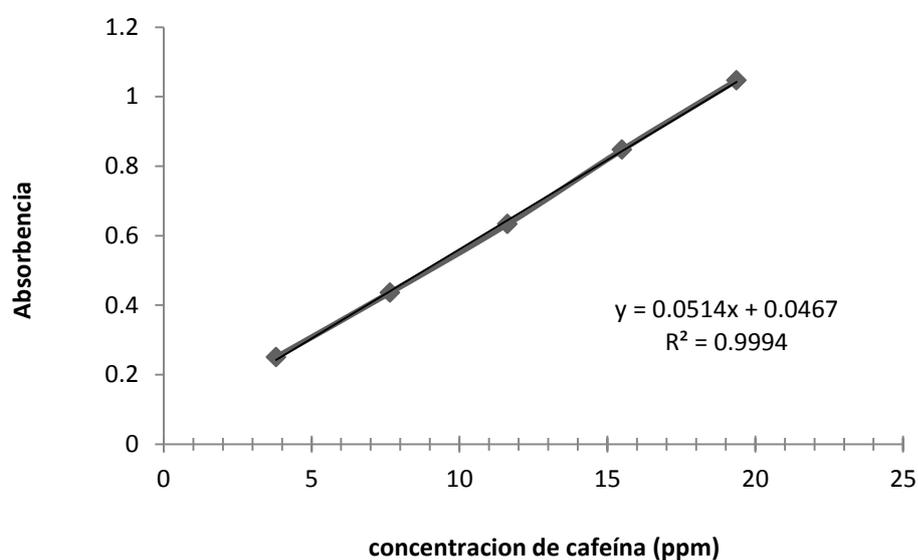
A cada una de estas disoluciones se les determinó la absorbencia utilizando un espectrofotómetro Hitachi modelo 200, utilizando celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico. En el diagrama siguiente se presenta como se prepararon las disoluciones utilizadas para tazar el grafico de calibración.





Con los datos obtenidos de absorbencia de cada dilución a diferentes concentraciones de cafeína se trazó la gráfica de calibración del mismo. Los resultados se presentan en la tabla siguiente.

Concentración de cafeína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	3.80	7.65	11.62	15.5	19.37
Absorbencia (λ 276nm)	0.185	0.380	0.557	0.759	0.967





Cálculos realizados.

Para realizar los cálculos y cuantificar la cantidad de cafeína en cada muestra de café de grano tostado y de grano verde de las regiones cafetaleras, se utilizaron todos los datos obtenidos a la longitud de onda de 276 nm, valores de absorbencias resultantes de los extractos de cada muestra.

A partir de la ecuación de la recta obtenida experimentalmente se obtiene la fórmula para obtener la concentración de cafeína.

$y = 0.0521x + 0.0182$ se despejó x para obtener la concentración de cafeína.

$$x = \frac{y - 0.0182}{0.0521}$$

Al extracto obtenido es recuperado a un volumen de 25 mL con cloroformo, el resultado se multiplica por el volumen al cual se aforó para obtener los mg de cafeína en el extracto.

$$14.6372 \mu\text{g mL}^{-1} \times 25 \text{ mL} = 365.93 \mu\text{g}$$

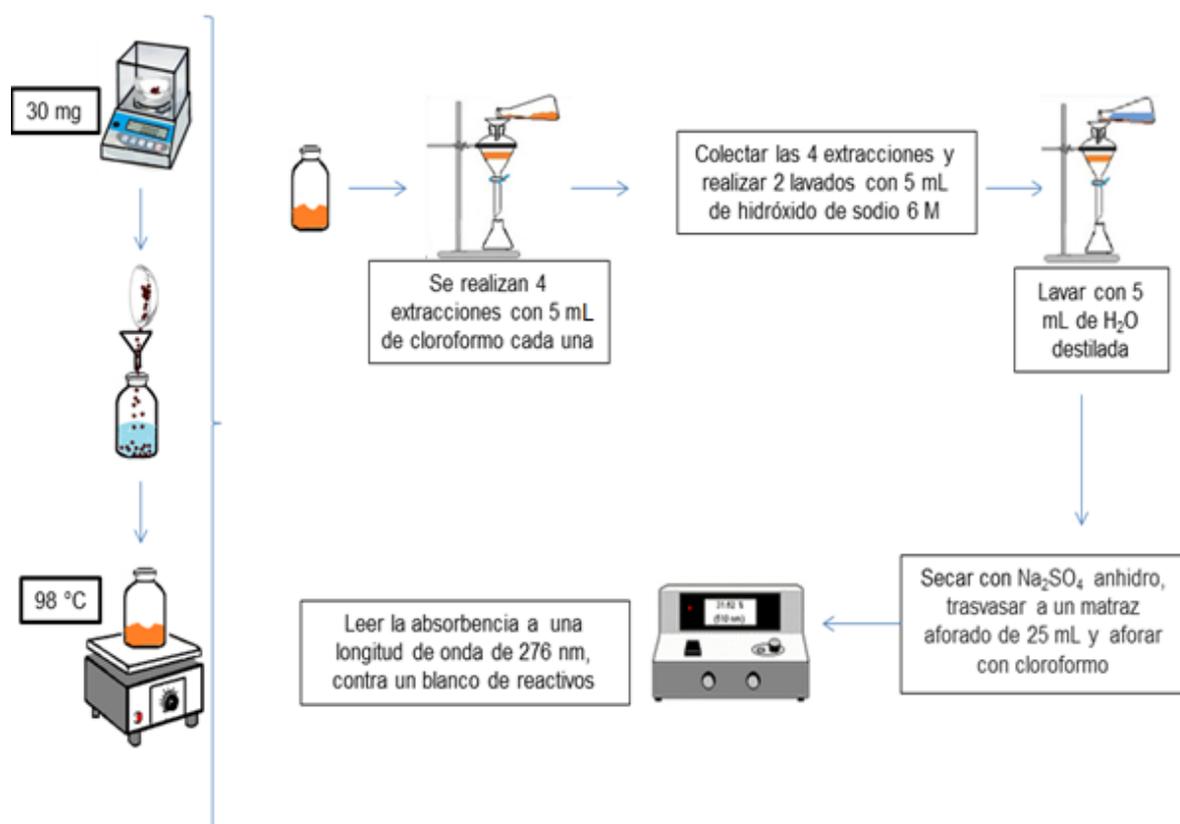
Estos 0.3659 mg de cafeína son los que se encuentran originalmente en el extracto.

Para obtener el contenido de cafeína en porcentaje peso/peso y tomando en cuenta el peso de la muestra que es 30.190 se hizo lo siguiente:

$$\text{Porcentaje de cafeína} = \frac{0.3659 \text{ mg} \times 100}{30.190 \text{ mg}} = 1.2037 \%$$



Diagrama de trabajo



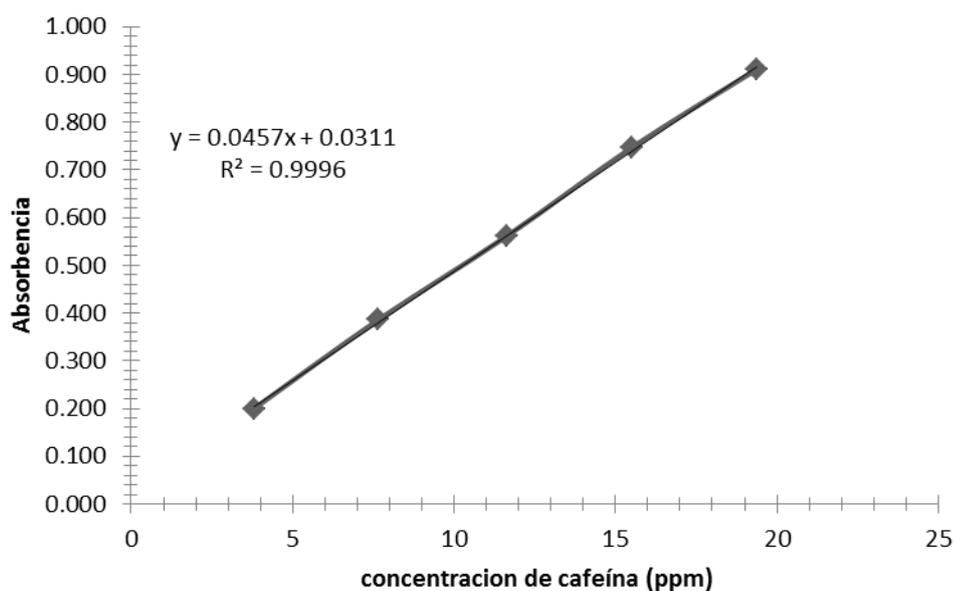


ANEXO II



Gráfico de calibración se realiza partir de la cafeína estándar, esta grafica se ocupa para la determinación del contenido de cafeína en la muestra de café de grano tostado de la región de Coatepec Veracruz.

Concentración de cafeína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	3.80	7.65	11.62	15.5	19.37
Absorbencia (λ 276nm)	0.18	0.362	0.561	0.747	0.911





Obtención de los gráficos de absorción a partir de la muestra de café tostado de la región de Coatepec, Veracruz. Este gráfico se realizó tomando un intervalo de longitud de onda de 250 a 300 nm, de 5 en 5 nm, tomando los datos de las 10 réplicas realizadas mediante el procedimiento de la metodología en la parte experimental.

Pesada(g)	0.0302	0.0303	0.0302	0.0300	0.0300	0.0301	0.0300	0.0303	0.0301	0.0302
Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λ nm	Absorbancias									
250	0.218	0.227	0.221	0.216	0.211	0.224	0.222	0.209	0.249	0.224
255	0.288	0.295	0.290	0.285	0.273	0.293	0.284	0.273	0.310	0.289
260	0.383	0.391	0.388	0.388	0.373	0.380	0.377	0.366	0.397	0.387
265	0.497	0.504	0.497	0.490	0.480	0.480	0.479	0.465	0.500	0.489
270	0.589	0.595	0.589	0.594	0.570	0.570	0.570	0.553	0.585	0.570
271	0.603	0.610	0.603	0.607	0.584	0.587	0.583	0.567	0.599	0.589
272	0.615	0.620	0.615	0.615	0.599	0.597	0.596	0.579	0.612	0.595
273	0.626	0.633	0.626	0.624	0.611	0.609	0.606	0.589	0.620	0.607
274	0.635	0.640	0.636	0.632	0.618	0.616	0.613	0.598	0.626	0.614
275	0.642	0.646	0.641	0.641	0.624	0.623	0.620	0.604	0.632	0.622
276	0.646	0.651	0.646	0.646	0.627	0.627	0.625	0.607	0.634	0.627
280	0.616	0.626	0.620	0.620	0.595	0.600	0.595	0.581	0.610	0.597
285	0.515	0.520	0.518	0.518	0.500	0.500	0.497	0.486	0.514	0.504
290	0.352	0.358	0.354	0.354	0.345	0.348	0.342	0.331	0.356	0.344
295	0.159	0.166	0.160	0.160	0.156	0.160	0.157	0.151	0.174	0.197
300	0.072	0.076	0.074	0.074	0.070	0.080	0.076	0.069	0.093	0.086

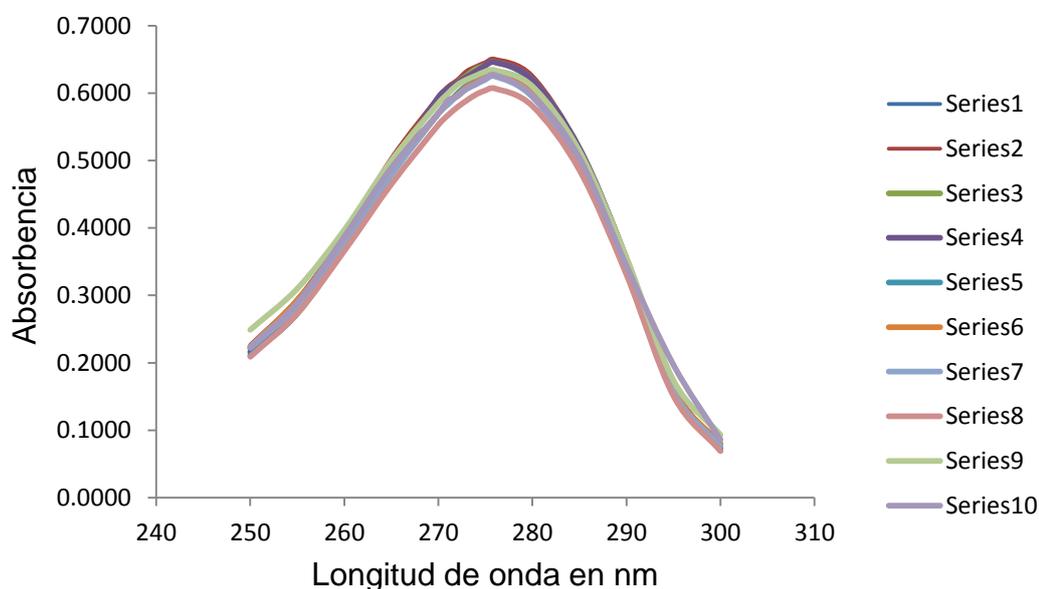
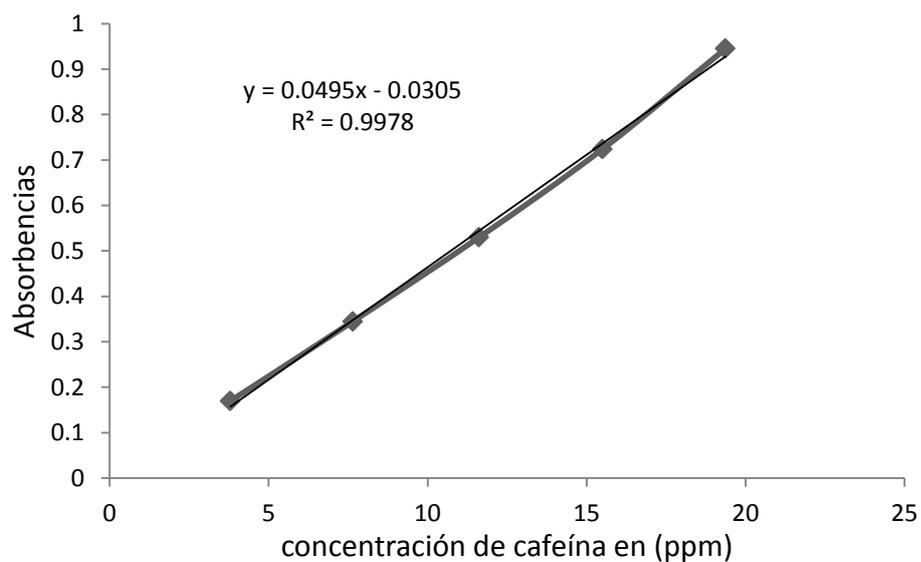


Gráfico Espectro de absorción de los extractos clorofórmicos de las 10 réplicas café tostado de Veracruz, de la región de Coatepec.



Gráfico de calibración se realiza partir de la cafeína estándar, esta grafica se ocupa para la determinación del contenido de cafeína en la muestra de café de grano verde de la región de la Sierra de Juárez Oaxaca.

Concentración de cafeína ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	3.80	7.65	11.62	15.5	19.37
Absorbencia (λ 276nm)	0.170	0.345	0.530	0.724	0.945





Obtención de los gráficos de absorción a partir de las muestras de café verde de la región de la Sierra de Juárez Oaxaca. El procedimiento fue el mismo que para el café de grano tostado, se realizó tomando un intervalo de longitud de onda de 250 a 300 nm, de 5 en 5 nm, tomando los datos de las 10 réplicas realizadas mediante el procedimiento de la metodología en la parte experimental.

Pesada(g)	0.0299	0.0301	0.0305	0.0300	0.0303	0.0302	0.0305	0.0303	0.0305	0.0304
Muestra	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
λ nm	Absorbancias									
250	0.22	0.226	0.205	0.219	0.286	0.209	0.213	0.183	0.201	0.218
255	0.283	0.289	0.278	0.291	0.285	0.278	0.282	0.243	0.27	0.285
260	0.386	0.390	0.386	0.396	0.395	0.383	0.387	0.382	0.369	0.384
265	0.510	0.518	0.512	0.527	0.518	0.509	0.512	0.514	0.49	0.508
270	0.622	0.638	0.630	0.643	0.64	0.625	0.622	0.623	0.600	0.621
271	0.638	0.654	0.647	0.66	0.658	0.642	0.640	0.646	0.617	0.639
272	0.653	0.673	0.665	0.677	0.664	0.659	0.656	0.659	0.643	0.654
273	0.667	0.687	0.678	0.692	0.692	0.672	0.670	0.667	0.657	0.667
274	0.679	0.699	0.692	0.704	0.704	0.686	0.686	0.674	0.676	0.679
275	0.688	0.709	0.699	0.712	0.715	0.693	0.693	0.682	0.686	0.688
276	0.691	0.712	0.704	0.717	0.716	0.697	0.697	0.686	0.690	0.691
280	0.657	0.676	0.665	0.680	0.686	0.662	0.660	0.662	0.634	0.656
285	0.530	0.543	0.535	0.542	0.540	0.530	0.527	0.452	0.511	0.53
290	0.339	0.346	0.341	0.351	0.369	0.339	0.340	0.291	0.324	0.34
295	0.132	0.133	0.125	0.136	0.144	0.132	0.134	0.116	0.123	0.13
300	0.043	0.043	0.038	0.046	0.053	0.044	0.044	0.039	0.044	0.044

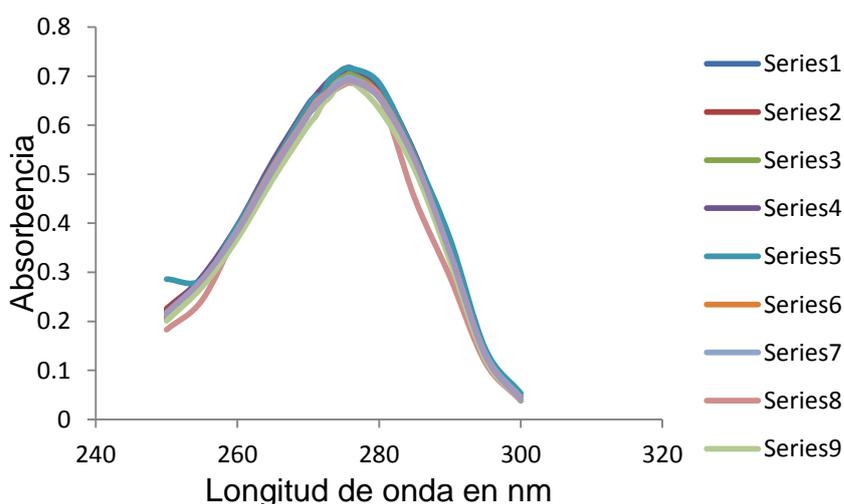


Gráfico Espectro de absorción de los extractos clorofórmicos de las 10 réplicas promedio de la cafeína de café verde de la región de la Sierra de Juárez Oaxaca.