



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**ESTUDIO DE LA CALIDAD DEL CAFÉ EN BASE A SUS PROPIEDADES
QUÍMICO-ANALÍTICAS**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**PRESENTA
JUAN ANTONIO GARCÍA MEDINA**



Ciudad Universitaria, Cd. Mx, 2019



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: Eugenio Octavio Reyes Salas
Vocal: Bertha Julieta Sandoval Guillen
Secretario: Arturo de Jesús García Mendoza
1er suplente: Vicente Esquivel Peña
2° suplente: Jonathan Trapala Reyna

**Sitio donde se desarrolló el tema: Depto. De Química Analítica. Laboratorio 114
DEPq. Facultad de Química. Ciudad Universitaria. México. CDMX.**

Firma

Asesor del tema: Eugenio Octavio Reyes Salas

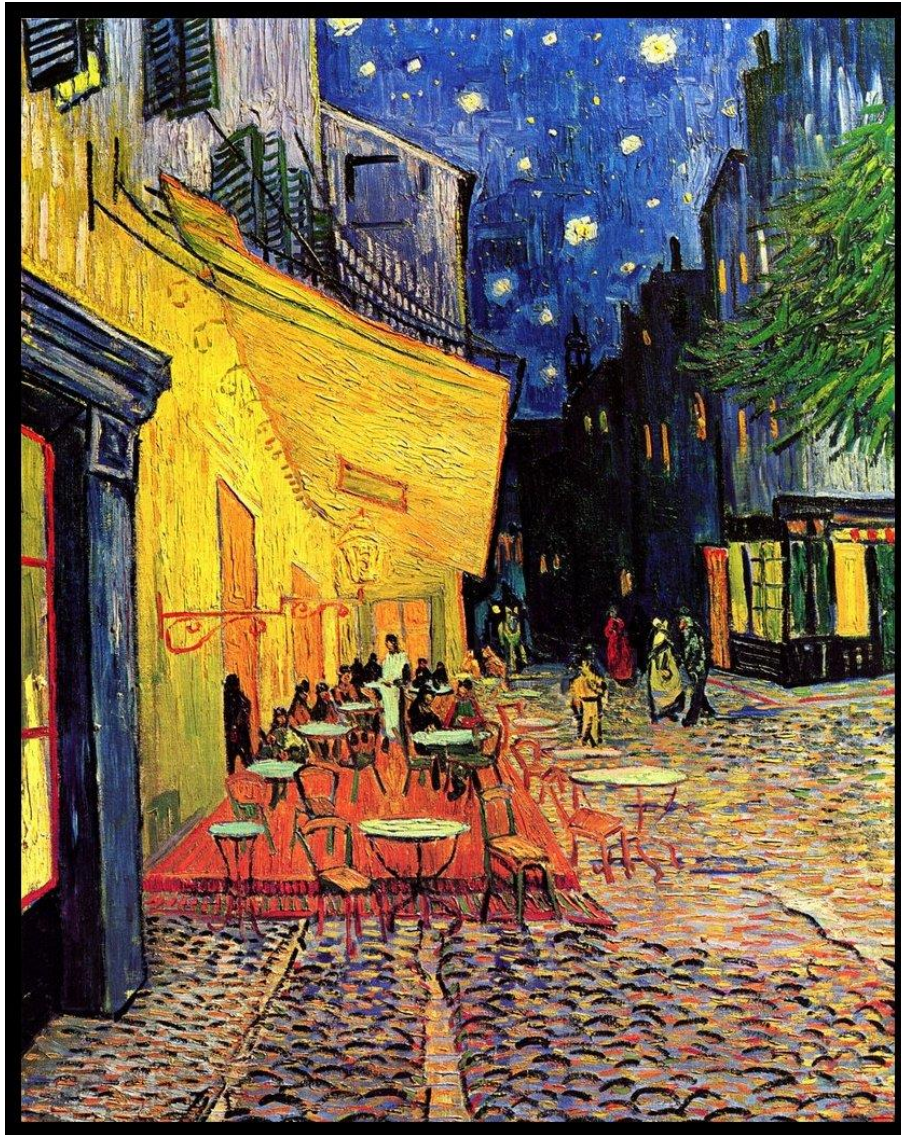
Supervisor técnico: Edgar Islas Ortiz

Sustentante: Juan Antonio García Medina

Índice

Introducción	2
Marco teórico	5
Historia del café.....	5
Aspectos botánicos del café.....	5
Diferencias entre las dos principales especies comerciales	7
Proceso húmedo.....	8
Proceso seco.....	9
Procesos finales	9
Composición del café.....	10
Importancia económica	12
Calidad del café	13
Acidez.....	14
La importancia de los ácidos en las infusiones	16
Composición del café.....	18
Carbohidratos	18
Azúcares reductores.....	19
Polisacáridos.....	20
Compuestos nitrogenados.....	21
Cafeína.....	21
Ácido clorogénico	22
Efectos fisiológicos del café.	23
Análisis fisicoquímico.....	26
Cafeína.....	26
Ácido clorogénico	28

Acidez.....	29
Azúcares reductores	31
Polarografía	31
Objetivos	37
Objetivo general:.....	37
Objetivos particulares:	37
Metodología.....	39
Reactivos y equipo	40
Tratamiento y preparación de la muestra.....	42
Humedad de la muestra.....	42
Ácido clorogénico y cafeína	43
Azúcares reductores	45
Acidez.....	46
Resultados.....	48
Determinación de ácido clorogénico	48
Determinación de cafeína	59
Determinación de azúcares reductores	68
Determinación de acidez.....	74
Conclusiones	81
Perspectivas.....	82
Bibliografía.	83



Terraza de café por la noche – Vincent Van Gogh 1888

Introducción

El café es una de las bebidas más populares y consumidas alrededor del mundo. Su composición depende de la variedad, origen, proceso y clima [1].

Los granos de café verdes pasan por un proceso conocido como tostado durante el cual sufren cambios físicos y químicos como pérdida de humedad, oscurecimiento debido a pirólisis de compuestos orgánicos, caramelización, formación y liberación de compuestos volátiles. Después es molido y la bebida preparada a partir de ellos se le conoce también como café [2].

En México existe una norma mexicana (NMX-F-013-SCFI-2010) [3] para café puro tostado en grano o molido, que incluye los siguientes parámetros fisicoquímicos:

- Humedad por gravimetría en horno o estufa
- Cenizas por gravimetría a partir de calcinación de la muestra.
- Grasa por el método de Soxhlet
- Almidones (prueba de lugol)
- Azúcares reductores totales por el método de Lane Eynon
- Cafeína por medición espectrofotométrica o HPLC

También se incluye el grado de tueste (colorímetro) y grado de molienda (tamaño de partícula por tamizado) en su clasificación. Otros parámetros fisicoquímicos utilizados y que no se incluyen en la norma son:

- Acidez
- Sólidos solubles
- Contenido de ácidos clorogénicos.
- Apariencia visual.
- Análisis organoléptico.

La NOM-051-SCFI/SSA-2010 [4] de especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados exceptúa de incluir la información nutrimental a los extractos de café, granos de café enteros o molidos descafeinados o no; en caso de agregar algún ingrediente, se deberá declarar la información nutrimental.

Debido a esto consumidores no tienen una manera de saber la calidad nutrimental del café que consumen, por lo que la calidad para ellos queda establecida por el precio, marca, origen y sabor del café. Asignar la calidad con base a estos parámetros es subjetivo ya que después del tueste existen otros factores que pueden afectar el sabor de la bebida final como el tiempo que pase el café en el anaquel, si se encuentra previamente molido o se muele al instante, e incluso si durante la preparación ocurre una sobre extracción, sobrecalentamiento, extracción incompleta de los granos, o el tipo de agua utilizada [5]; de ahí la importancia de encontrar una relación entre la calidad del café y su composición química.

Existen diversos métodos para determinar la composición química del café; sin embargo, algunos requieren muchos pasos, tiempo, el uso de disolventes y que el extracto sea purificado antes de su medición [6,7]. Por esto, es de interés el empleo de métodos que permitan una determinación más rápida y sencilla de sus componentes para así poder evaluar su calidad con base en sus propiedades fisicoquímicas. Los métodos electroquímicos cumplen con estas características ya que han sido usados ampliamente para la determinación de compuestos electroactivos debido a su simplicidad, sensibilidad, estabilidad y bajo costo [8].



Planta de café. Los Andes de Venezuela

Marco teórico

Historia del café.

Existe una leyenda mencionada en muchos libros y sitios de internet especializados en café sobre el descubrimiento de éste por parte de un pastor; es difícil saber qué partes son verdaderas y cuáles ficciones, algunos autores mencionan acerca de esa leyenda que los efectos del consumo de café fueron reportados por primera vez en Yemen alrededor del año 800 D.C. por un cabrero, Kaldi, cuyos animales, después de comer bayas de ciertos arbustos salvajes, brincaron con energía. Kaldi probó las bayas él mismo y dentro de poco fueron puestas en uso en el monasterio local para prevenir que los hermanos se durmieran durante los rezos [9]. Después se extendió por Arabia, Constantinopla, Venecia y finalmente por toda Europa a mediados del siglo XVII [2].

Aspectos botánicos del café

El café pertenece a la familia Rubiaceae, de la cual el género *Coffea* se subdivide en cuatro grupos, de los que el género *Eucoffea* es el de mayor interés, tiene a su vez 5 subdivisiones, la primera (*Erythrocoffea*) contiene a las especies *arabica* y *canephora* [9,10].

El arbusto es una dicotiledónea de hojas perenes que puede alcanzar una altura de 10 m en estado salvaje, pero en general es podado hasta un máximo de 3 metros para facilitar la cosecha. Las ramas principales son opuestas, horizontales o caídas, y las hojas crecen en pares o pequeños tallos. Son de alrededor de 15 cm de longitud en *C. arabica* y más largas en *C. canephora*, ovales o lanceoladas, y verde oscuro brillante en apariencia [2,9].

Las primeras flores se producen a los 3 o 4 años. La corola es de alrededor de 20 mm en longitud, la parte de arriba se divide usualmente en 5 pétalos. Para fertilización, *C. canephora* depende de polinización cruzada; la auto polinización ocurre usualmente en *C. arabica*.

Las semillas son los granos de café, se encuentran 2 en cada fruta y cada grano se encuentra cubierto con un tegumento delgado y ajustado conocido como piel plateada,

la siguiente, una piel por fuera amarilla llamada pergamino, y todo esto envuelto en una pulpa mucilaginosa que forma la carne de la cereza [2,9].

Las dos especies de mayor importancia económica son *Coffea arabica* Linn. y *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. Conocidas en el comercio como arabica y robusta [9,10].

Coffea arabica representa el 80% de la producción mundial, y se originó en las altas montañas del sur de Etiopía donde aún puede encontrarse creciendo salvajemente. Existe en un gran número de formas, muchas de las cuales han sido producidas a propósito o se originaron de mutaciones en campos de cultivo. Las dos variedades originales generalmente reconocidas son *C. arabica* var. *arabica* (syn. var. *typica*) y *C. arabica* var. *bourbon*, quien toma su nombre de la isla de Bourbon o Réunion donde fue cultivado por los franceses. Es probable que sea una mutación de la variedad *typica* y se dice que da mejores rendimientos, y mejor calidad de bebida.

Otras variedades de *C. arabica* son:

- *Caturra*, una variedad *bourbon*, anteriormente popular en Brasil por su alto rendimiento.
- *Mundo Novo*, un híbrido entre las variedades *bourbon* y *sumatra*, con buen rendimiento y resistencia a las enfermedades.
- *Catuai*, encontrada frecuentemente en América del Sur y Centroamérica, conocida por su rápido y alto rendimiento.
- *Kent*, la cual se dice que se originó en el Sur de India y ampliamente plantada en África del Este por su rendimiento y resistencia a la roya del café.

En cuanto a la especie *Coffea Canephora*, se incluyen varias formas conocidas en el mercado como café Robusta. El nombre Robusta proviene del antiguo nombre específico *C. robusta*, pero hoy en día se utiliza como sinónimo con la variedad original de *C. canephora*.

Las otras variedades de robusta no tienen valor comercial [9].

Diferencias entre las dos principales especies comerciales

El café robusta:

- Crece a altitudes relativamente bajas
- Tolerancia a temperaturas más altas y lluvias más intensas
- Demanda un contenido de humus (Conjunto de productos orgánicos estables y finales del proceso de transformación de los compuestos vegetales y animales que llegan al suelo, en resumen: abono que emerge naturalmente en la tierra [11]) en suelo, mayor que arábica
- Más resistente a la enfermedad. Su color tiende a ser de un color café más que verde y su forma es más redonda

El café arábica:

- El grano es verde a verde pálido en color y de forma ovalada
- Produce bebidas más apreciadas por el bebedor perspicaz de café
- Subdividido en el comercio ya sea si fue procesado en el origen por el método húmedo o seco.

Los cafés que suelen considerarse de mejor calidad, y usualmente los más caros, suelen ser los arábicas preparados por el proceso húmedo del cual se habla más adelante y conocidos como suaves. El mejor tendrá un carácter ácido, un sabor fino y aromático, y un buen cuerpo. Casi todos los cafés robusta son preparados por el método seco. En cafeterías especializadas suelen prepararse bebidas a base de varios tipos de granos, aunque los granos de café robusta pueden contribuir en una mezcla como una base de cuerpo completo, no contribuyen de manera significativa en el sabor de la bebida [9].

Proceso húmedo

- Lleva una cosecha más cuidadosa, utiliza recolecciones repetidas para recoger la mayor cantidad de vainas rojas maduras y evitar recoger vainas sobre maduras o poco maduras.
- Se realiza un lavado preliminar para eliminar la fruta de menor calidad por flotación y piedras por hundimiento
- Después las cerezas pasan por la máquina despulpadora cuya acción es apretar las cerezas entre una superficie fija y una móvil, separando la piel y carne del grano cerrado y su pergamino.
- Después pasa por un separador rotatorio o tamiz para remover cerezas sin despulpar las cuales vuelven a pasar por un segundo despulpador.
- La pulpa es dispuesta como composta o puede ser secada al sol para uso como combustible.
- En la etapa de la fermentación, se rompe el mucílago que se encuentra adherido al pergamino que rodea el grano, esto puede realizarse por fermentación natural, producida por enzimas presentes en el mucílago y la ayuda de bacterias y levaduras que se desarrollan frecuentemente; este proceso puede durar hasta 72h, y puede acelerarse por la adición de enzimas pécticas. El proceso de fermentación se considera completo cuando los granos dejan de tener una sensación babosa. Después son lavados con agua limpia.
- El paso anterior puede saltarse usando un despulpador que utiliza agua a presión para remover la pulpa y el mucílago por proceso de desgaste. Requiere una cantidad abundante de agua, demanda más poder y las cerezas deben encontrarse pre graduadas por tamaño.
- Después el café es secado mediante el sol o secadores mecánicos. De una humedad inicial de alrededor de 50% pasa a una humedad final no mayor a 12%
- Después de esta etapa el café es conocido como pergamino seco o pergamino, y como su calidad es relativamente estable se acostumbra a almacenar los granos en este estado hasta poco antes de la exportación, donde se someten a las etapas finales de limpieza, descascarado y clasificación [9].

Proceso seco

El proceso seco es relativamente más sencillo y usualmente más económico.

- La cereza del café se deja en el árbol durante más tiempo, y es despojado de las ramas en lugar de ser seleccionado individualmente.
- Hojas y otro tipo de materia no deseada se remueve en el campo y el café es transportado al suelo de secado.
- La profundidad del café expuesto al sol usualmente no excede más de 5 cm y se acostumbra a voltear varias veces al día para conseguir un secado eficiente. Llegar a una humedad óptima de 12% suele tomar hasta 3 semanas [9].

Procesos finales

Los procesos de descascarado, clasificación y separación suelen realizarse en plantaciones grandes o unidades de procesamiento centrales, conocidas como molinos por el alto costo debido al equipo utilizado.

El objetivo del descascarillado es remover la cubierta exterior del grano, ya sea la cáscara completa en el caso de la cereza proveniente del proceso seco, o del pergamino del café sometido a proceso húmedo. En este último esta operación es conocida como pelado. El tipo de máquina usado para el café pergamino lo fuerza por medio de alimentación a un tornillo de paso reducible en un espacio confinado en el que el pergamino se separa por fricción y es removido por corriente de aire. Los descascarilladores usados para el café de proceso seco pueden usar el mismo principio, pero las partes móviles se encuentran equipadas con proyecciones que ayudan a desgarrar la cáscara.

Después de emerger del descascarillador, los granos de café verde requieren tratamiento adicional antes de la exportación para remover impurezas e imperfecciones y lograr un tamaño más o menos uniforme. Esto implica pasarlas por varias máquinas adicionales. El tamaño es controlado mediante el uso de pantallas con perforaciones de distinto tamaño, tanto el tambor rotatorio como del tipo de cama plana vibratoria. Después para remover los granos de color incorrecto, se puede hacer a mano o mediante el uso de clasificadores electrónicos de color. En estas máquinas los granos de café caen en una corriente delgada que pasa a través de un sensor óptico que mide con una fotocelda la

luz reflejada de cada grano y la compara con un estándar. Cualquier grano con un color fuera del intervalo requerido es desviado de la corriente por una pequeña ráfaga de aire y se colecta por separado.

Finalmente puede haber una mezcla de café verde en la que diferentes proporciones de varios grados acumulados en el molino se mezclen para satisfacer el precio y la calidad que demanda cada mercado en particular. Los granos son puestos en sacos, usualmente de 60 Kg, y después se preparan para su envío [9].

Composición del café

La composición química del café verde depende de la especie y variedad en cuestión, y en menor grado, de otros factores como las prácticas agrícolas, grado de maduración y condiciones de almacenamiento. Durante el proceso de tostado, el grano sufre cambios físicos y reacciones químicas que cambian, generan y degradan sustancias responsables del sabor y el aroma del café [12].

Debido a la variación en la composición, es extremadamente difícil citar valores promedio de cualquier tipo particular de café [9].

En la tabla 1.0, se indica un resumen de la composición general del café; el amplio intervalo en algunos parámetros habla sobre la variación en la composición química debido a los factores mencionados anteriormente. [2,9]

Tabla 1.0 Un resumen de composición general en base seca de granos de café verde y tostado, arábica y robusta [2,9].

Componente	Arábica (% m/m)		Robusta (% m/m)	
	Verde	Tostado	Verde	Tostado
Minerales	3.0-4.2 ^a 3.0-5.4 ^b	3.5-4.5 ^a	4.0-4.5 ^a 3.0-5.4 ^b	4.6-5.0 ^a
Cafeína	0.9-1.2 ^a 0.8-1.4 ^b	Aprox. 1.0 ^a	1.6-2.4 ^a 1.7-4.0 ^b	Aprox. 2.0 ^a
Trigonelina	1.0-1.2 ^a 0.6-1.2 ^b	0.5-1.0 ^a	0.6-0.75 ^a 0.3-0.9 ^b	0.3-0.6 ^a
Lípidos	12.0-18.0 ^a 15.0-18.0 ^b	14.5-20.0 ^a	9.0-13.0 ^a 8.0-12.0 ^b	11.0-16.0 ^a
Ácidos clorogénicos totales	5.5-8.0 ^a 6.7-9.2 ^b	1.2-2.3 ^a	7.0-10.0 ^a 7.1-12.1 ^b	3.9-4.6 ^a
Ácidos alifáticos	1.5-2.0 ^a 2.0-2.9 ^b	1.0-1.5 ^a	1.5-2.0 ^a 1.3-2.2 ^b	1.0-1.5 ^a
Oligosacáridos	6.0-8.0 ^a 6.0-9.0 ^b	0-3.5 ^a	5.0-7.0 ^a 3.0-7.0 ^b	0-3.5 ^a
Polisacáridos totales	50.0-55.0 ^{*a} 49.0-57.0 ^b	24.0-39.0 ^a	37.0-47.0 ^{*a} 37.0-48.0 ^b	---
Aminoácidos	2.0 ^a 0.2-0.8 ^b	0 ^a	2.0 ^a 0.2-0.8 ^b	0 ^a
Proteínas	11.0-13.0 ^a 8.5-12.0 ^b	13.0-15.0 ^a	11.0-13.0 ^a 8.5-12.0 ^b	13.0-15.0 ^a
Ácidos húmicos	---	16.0-17.0 ^a	---	16.0-17.0 ^a

*Polisacárido crudo

^a [9]

^b [2]

Importancia económica

Los lugares del mundo en el que el café puede cultivarse son limitados debido a diversos factores; la temperatura es uno de los más importantes ya que la planta es dañada fácilmente por congelación y tampoco tolera temperaturas que se acercan a 30 °C, especialmente en condiciones de baja humedad. Dentro de los trópicos la altitud se convierte en otro factor, ya que, entre más cercano al Ecuador, puede crecer sin riesgo de congelación; así la planta puede encontrarse creciendo a 2500 m en el Ecuador, pero no mayor a 100 m en las latitudes de 25° N y 25° S. La lluvia y el tipo de suelo también deben tomarse en cuenta. Idealmente para el café la lluvia no debe ser menor de 150 cm³ y en algunas áreas de producción de café de excelencia puede exceder los 250 cm³ [9].

El café cereza en México presenta una tendencia decreciente desde el 2012 en gran medida por los efectos de la roya del cafeto [13], enfermedad de las hojas causada por el hongo *Hemileia vastatrix*, parásito obligado que causa defoliación seria en los árboles de café, teniendo como resultado pérdidas en el rendimiento de los cultivos [14]. Aun así, durante el año 2017 el volumen de la producción nacional fue de 835,000 toneladas, con los Estados de Chiapas, Veracruz y Puebla como principales productores, convirtiendo a México en el undécimo productor mundial de café. Las exportaciones alcanzaron 110,968 toneladas y un valor comercial de 383 millones de dólares, ventas que se dieron a 42 naciones, destacando Estados Unidos y Bélgica como principales destinos. Los cafetos mexicanos tienen un ciclo de producción interanual, con un periodo de cosecha que inicia en octubre y se extiende hasta mayo.

Brasil, Vietnam y Colombia se colocaron como los principales exportadores mundiales de café en el 2016, con 1,823,900, 1,556,300 y 734,700 toneladas exportadas respectivamente, mientras que Estados Unidos, Alemania e Italia fueron los principales importadores mundiales de café con 1.518,200, 1,119,800 y 680,300 toneladas importadas respectivamente [15].

Calidad del café

La composición de los granos de café verde depende de factores como variedad, origen, condiciones del campo, clima y suelo; sin embargo, la composición química del café tostado juega un papel más importante en definir la calidad de la bebida final. Durante el proceso de tostado, los granos sufren cambios físicos y pasan por varias reacciones químicas que cambian, generan y degradan sustancias responsables del sabor y aroma del café [12].

El café es uno de los productos que más sufren una alteración durante su proceso desde el punto de vista de la cantidad de componentes formados, y esto se ve reflejado en sus características sensoriales [9].

Algunos parámetros usados como control de calidad en los molinos incluyen separación de materia extraña, fragmentos de bayas y bayas descoloradas. El control del contenido de humedad suele realizarse en este punto [9].

Otros parámetros como los aspectos sensoriales suelen llevarse a cabo en las instalaciones de tostadores y procesadores más importantes. Aquí se evalúan parámetros como:

- Contenido de humedad, si es muy alto puede indicar un secado incompleto y puede generar sabores desagradables de naturaleza mohosa si alcanza 14-15 %. Si es muy bajo, puede generar granos frágiles que tienden a romperse durante su manejo y que se queman rápidamente al tostarse teniendo efectos negativos en el sabor.
- El tamaño del café también puede afectar la calidad debido a que un tostado de granos de café de tamaños diferentes puede dar como resultado un color de tostado desigual.
- Defectos, que pueden afectar la calidad de la bebida extraída como granos defectuosos o sus partes en el café verde.
- Evaluación sensorial hecha por catadores, que en el caso de la variedad Robusta buscan defectos en el sabor debido a granos aislados, como sabores terrosos, mohosos, fermentados o fenólicos, y un sabor de fondo como dureza, suavidad o

pesadez. En el caso del café arábica que proporcionan una mezcla con “carácter”, se concentran en los atributos positivos de acidez, que debe ser una acidez limpia no asociada con aspereza que surge de la sobre fermentación, cuerpo que tiene que ver con la sensación en la boca y la viscosidad y sabor que debe ser dulce y aromático [9].

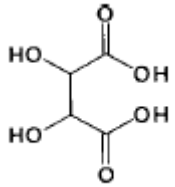
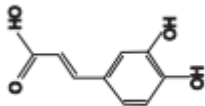
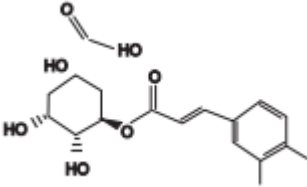
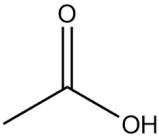
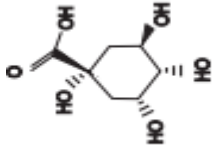
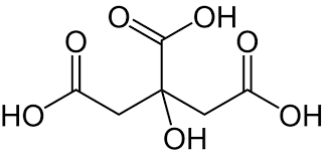
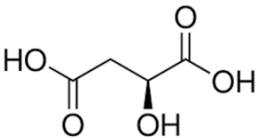
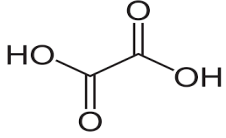
En el caso de los compuestos aromáticos encontrados en el café la concentración de una sustancia en específico no está directamente relacionado con su aroma o sabor, esto se debe a que algunos químicos tienen un umbral de detección muy pequeño. Los aldehídos son los compuestos que generan aromas frutales, suelen sufrir una rápida oxidación, lo que explica el por qué el café presenta dichos aromas por un poco tiempo y después al reaccionar aparece el sabor a rancio y olores pesados como a piridina o tabaco [5].

Acidez

La acidez en la mayoría de los alimentos y bebidas es un factor clave para sus propiedades y apariencia. El café Robusta suele tener la menor acidez. Los ácidos orgánicos son relativamente estables, los aldehídos se oxidan a ácidos, el ácido clorogénico se convierte en ácido cafeico y ácido quínico al sufrir calentamiento. Esto incrementa la acidez y provoca cambios en el sabor de la bebida de café [5].

Los principales ácidos que se encuentran en el café son en primer lugar, el ácido clorogénico como ácido no volátil, después el ácido acético como ácido volátil, y en mucho menor cantidad como ácidos no volátiles el ácido cafeico, ácido quínico, ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido oxálico y ácido pirúvico (tabla 2 [5]).

Tabla 2. Principales ácidos que se encuentran en el café y sus pka [2,7].

Nombre	Estructura	Pka
Ácido tartárico		<p>Pka1= 2.98 Pka2= 4.34</p>
Ácido cafeico		<p>Pka= 4.62</p>
Ácido clorogénico		<p>Pka1=4.50 Pka2= 8.42</p>
Ácido acético		<p>Pka1= 4.8</p>
Ácido quínico		<p>Pka1= 3.46</p>
Ácido cítrico		<p>Pka1= 3.09 Pka2= 4.74 Pka3= 5.41</p>
Ácido málico		<p>Pka1=3.40 Pka2= 5.05</p>
Ácido oxálico		<p>Pka1= 1.25 Pka2= 4.27</p>

Aunque el café verde tenga ciertos componentes en ciertas concentraciones, puede que la fase más importante sea la del tostado [16], durante esta fase los componentes sufren cambios físicos y químicos, el contenido de cafeína suele aumentar o permanecer casi sin alteración. El ácido clorogénico juega un papel importante en la calidad de la taza de café debido a su influencia en la acidez, por lo que debe ser degradado a cantidades que no generen problemas de acidez, ya que si se encuentra en un exceso puede generar sabores amargos y astringentes [17]: se sugiere que el contenido de ácido clorogénico debe estar entre 50-60 $\mu\text{g/mL}$ en bebidas de café para esperar actividad medicinal y evitar problemas con la acidez [16].

La importancia de los ácidos en las infusiones

La acidez percibida en las infusiones de café siempre ha sido reconocida como un importante atributo de su calidad. Las evaluaciones sensoriales indican que las infusiones de café tostado ligeramente deberán tener una acidez bien desarrollada y fina, que es limpia y se elimina rápido del paladar, mientras que cafés con un tostado más oscuro, se espera que tengan poca o casi nula acidez para que la amargura deseable sea percibida de manera más pura. El tipo de ácidos que se encuentran en el café y sus infusiones son los ácidos carboxílicos alifáticos, algunos ácidos alicíclicos, heterocíclicos y el ácido fosfórico junto con los ácidos clorogénicos.

La acidez, en sentido estricto, se determina por el grado de disociación o ionización de un ácido presente en una solución acuosa del ácido o mezcla de ácidos en alguna concentración. Las moléculas sin disociar pueden tener un efecto en el sabor a través del aroma por su volatilidad, e incluso los aniones pueden tener un sabor separado. Cambios en el pH pueden llevar a un cambio en el carácter del sabor, así como en la acidez. Un ácido dará un sabor en la lengua debido a los iones hidrógeno, y posiblemente de aroma si el ácido sin disociar es lo suficientemente volátil. El ácido quínico parece incrementar la percepción de acidez en productos alimenticios cuando se encuentra en concentraciones de hasta 1 % del total de los ácidos.

Algunos ácidos no volátiles que se encuentran en el café verde son ácido cítrico, ácido málico, ácido oxálico y ácido tartárico en cantidades menores al 1 %.

Los ácidos cítrico, málico, acético, láctico, pirúvico han sido reportados como los que se encuentran presentes en cantidades significativas.

El café robusta presenta una mayor cantidad de ácidos clorogénicos, especialmente del tipo dicafeoil (y por lo tanto ácido quínico), los pKa de los ácidos mono-carboxílicos y de los ácidos clorogénicos se encuentran relativamente cerca.

La determinación de acidez titulable, de los extractos de café completos, producirá información resultante de todos los compuestos ácidos presentes. Esto incluye no solo los ácidos orgánicos simples, sino también los ácidos fenólicos y aminoácidos, libres y unidos a proteínas. De manera inversa, la contribución de estos componentes será contrarrestada por la presencia de bases orgánicas e inorgánicas. A valores de pH altos, (mayores a 8.2), se valorarán los compuestos fenólicos los cuales tienen pKas que van de 8 a 10, mientras que a un pH menor (menores a 7) se valorarán los grupos carboxílicos de los ácidos orgánicos, cuyos pKas se encuentran entre 3 y 6. Otro factor que introduce un error considerable en la determinación es la acción buffer de otros componentes como proteínas. Se excluye el uso de indicadores de pH, debido al color natural de los extractos de café. La acidez en el café se genera durante el tostado, indicada por un cambio en el pH del extracto de 5.7 a 6.0 a 4.9 -5.5 [18].

Se considera que las bebidas de café preparadas a partir de cafés verdes con mayor contenido de ácido clorogénico presentan la peor calidad, mientras que aquellos con el menor contenido, presentan la mejor calidad; durante el tueste los niveles de ácido 5-CQA (ácido 5 cafeoil quínico, por sus siglas en inglés caffeoyl quinic acid) y los ácidos mono-cafeoil-quínicos disminuyen gradualmente, mientras que los ácidos dicafeoil-quínicos, principalmente el 3,4-diCQA presentan una correlación positiva con una mejor calidad de bebida [19].

Composición del café

La composición química del café verde depende de las especies y la variedad en cuestión, y en menor extensión, de otros factores como las prácticas de agricultura, grado de maduración, y condiciones de almacenamiento. Durante el tostado hay cambios considerables ya que los compuestos más lábiles se degradan y los más reactivos interactúan para formar productos complejos. Incluso durante la extracción para la elaboración de café hay cambios en la composición ya que los compuestos más solubles en agua son los que preferentemente se extraen [9].

Carbohidratos

El café verde contiene un gran número de carbohidratos diferentes, subdivisibles en polisacáridos y azúcares de bajo peso molecular que a su vez pueden ser divididos en azúcares reductores y no reductores. La sacarosa es el azúcar libre que se encuentra en mayor proporción en el café verde. El café Arábica verde suele contener más sacarosa que el robusta [9].

La sacarosa se pierde rápidamente durante el tostado e incluso para un café tostado ligeramente solamente el 3-4 % de su contenido original permanece. Para un tueste medio, puede quedar alrededor de 1 % de su contenido original y para un tostado oscuro se pierde completamente (tabla 3.0).

Tabla 3.0 Contenido de sacarosa en granos de café antes y después del tueste (resultados en %m/m, base seca).

Especie de café	Café verde	Tipo de tueste			
		Suave	Medio	Oscuro	Muy Oscuro
Arábica	8.46	0.25	0.07	---	---
Robusta	7.13	0.24	0.07	---	---

La sacarosa sufre reacciones de Maillard y caramelización al calentarse más allá de su punto de fusión de 130 °C, asistido por la presencia de sustancias amoniacales o proteínicas. Estas reacciones de oscurecimiento no enzimático ocurren con el 3-8 % de peso en base seca de sacarosa en el café verde, durante el tueste, acompañadas por la generación de dióxido de carbono y agua [9].

Azúcares reductores

Los extractos de café verde también han revelado la presencia de otros azúcares simples, incluyendo azúcares reductores. Se reportan un total de azúcares reductores de 0.1 % en Arábica y 0.5 % en robusta, valores expresados en base seca. La naturaleza y contenido de estos azúcares es importante para el desarrollo del sabor y la formación de pigmentos y otros productos de alto peso molecular y de caramelización formados en café tostado [9].

Los carbohidratos sufren cambios mayores durante el tostado, dependiendo del grado de tueste.

El contenido de azúcares reductores en café verde de manera general es de 0.1 % en café arábica y de 0.5 % en café robusta. [9,20]. Se han reportado contenidos de azúcares reductores en café verde Arábica dependiendo si se cultivaron a la sombra o en el sol, dando resultados de 0.31 a 0.47 % en sombra y 0.19 a 0.33 % en sol usando un método propuesto similar al de Fehling [21,22]. Otros autores reportan contenidos desde 0.15 hasta 0.71 %, pero sin mencionar el método [23].

Existe una relación positiva entre la calidad de la bebida y el contenido de azúcares reductores y no reductores en granos verdes de café [24]. Un valor más alto de azúcares reductores totales es indicativo de tazas de café de mejor calidad, estos azúcares son específicos del sabor y el aroma del café tostado [23].

Se han reportado contenidos de fructosa y glucosa de 0.18 y 0.28 % en café verde, también valores de azúcares reductores de 0.1 % para arábicas y 0.45 % para robustas y se menciona que la hidrólisis enzimática durante un año produce un incremento en

azúcares reductores, principalmente glucosa, de hasta 0.5 %, la glucosa podría usarse como un marcador para la calidad del café verde [25].

La sacarosa que contienen los granos de café verdes se hidroliza durante el tueste en una etapa temprana a glucosa y fructosa, pero estos reaccionan más rápido que la sacarosa misma, por lo que su contenido en el café tostado es mínimo [26].

Polisacáridos

Los polisacáridos son constituyentes importantes del café, presentes en cantidades del 40-50 % en base seca.

Durante el tostado ocurre una pérdida de peso en polisacáridos; la pérdida es mayor al incrementar el nivel de tostado, hay un incremento considerable en otras fracciones, indicando cambios en la solubilidad de los polisacáridos y su estructura. Alrededor de un 75 % de polisacáridos permanece [9].

La conversión de polisacáridos es compleja, se forman anhidros (por ejemplo, de glicosanos o glucanos), y hay formación de polímeros, así como de productos de condensación o complejos que forman pigmentos. La unión de dichos compuestos con proteínas o compuestos como ácidos clorogénicos se conocen como ácidos húmicos, melanoidinas o productos de Maillard.

Los carbohidratos tienen la capacidad de unir compuestos volátiles en sitios de absorción. Por lo que pueden unir compuestos relacionados con el aroma del café [9].

Compuestos nitrogenados

Cafeína

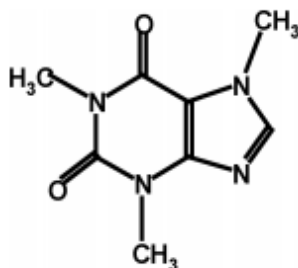


Fig. 1. Molécula de cafeína. [26]

La cafeína (1,3,7 trimetil-2-6-dioxipurina o 1,3,7-trimetilxantina, figura 1) es un polvo blanco, los cristales sublimados son prismas hexagonales, mientras que los cristales de soluciones acuosas cristalizadas son agujas blancas. Es un compuesto que se derrite a 236 °C [9]. Sublima sin descomponerse a 176 °C a presión atmosférica. Una cantidad considerable se recupera como producto sublimado de las chimeneas de tostadores de café. Es inodora, pero con un sabor amargo [5]. Es la Xantina alcaloide más importante presente en el café, aunque se han encontrado trazas de teofilina y teobromina. Es moderadamente soluble en agua (aprox. 4.6 % (m/m) a 40 °C). Tiene una solubilidad de 12.9 g / 100 g de disolvente en cloroformo a 17 °C y de 9 g /100 g de diclorometano a 33 °C [5].

A pesar de que durante el tostado del café se alcanzan temperaturas mayores a 200 °C (temperatura mayor al punto de sublimación) la pérdida de cafeína es modesta y a menos que se utilicen condiciones de tueste severas, las pérdidas son bajas. Incluso debido a que el grano del café se reduce durante el tueste, el porcentaje de cafeína puede incrementar hasta un 10 % en base seca. Algunas razones por las que ocurre esta pérdida modesta de cafeína pueden ser debido a un incremento en el punto de sublimación debido a la presión del grano y a una pobre difusión del vapor a través de las capas externas del grano [5].

Se ha reportado que a mayores contenidos de cafeína se obtienen bebidas de mejor calidad [19,27].

El contenido de cafeína es muy variable, se han reportado contenidos que van desde 0.06- 3.85 % en café verde arábica [19,28,29].

Ácido clorogénico

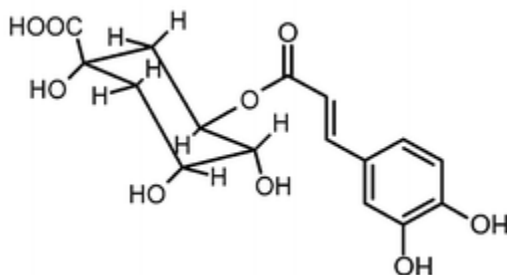


Fig. 2. Estructura del ácido 5-cafeoil-quinico [29]

Los ácidos clorogénicos (CGA por su nombre en inglés Chlorogenic Acid, figura 2), comprenden varios ácidos hidroxicinámicos esterificados con el ácido quinico. Se encuentran en las paredes celulares, esterificados a los polisacáridos; se biosintetizan a partir de la fenilalanina y son precursores de la lignina, influyen en la textura y la plasticidad de las plantas, y las protegen contra microorganismos, luz ultravioleta, el daño por herbívoros y los daños físicos. Su nombre general es debido al pigmento verde formado por la reacción entre el ácido cafeico con el cloruro férrico. En general se les atribuye efectos antioxidantes y anticancerígenos, 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 quinico. De todos estos isómeros el Ácido 5-cafeoil-quinico es el ácido fenólico más abundante en el café, aunque también se encuentra en arándanos, manzana y sidra [7].

Como se ha mencionado, es difícil citar valores específicos de los componentes del café debido a la variación que se da debido a la región, suelo, cuidados que recibe el grano: además el tipo de tueste y tipo de extracción dará diferentes tipos de café con sabores muy diferentes. Se reportan contenidos de ácido clorogénico en café verde de 5 a 8 % [30], 5.5 a 8.8 % [9], 3.5 – 7.5 % [29], 2.18-2.48 % [27], 3.44 a 4.16 % de ácidos

clorogénicos totales, ácido clorogénico 5-CQA de 2.40 a 3.00 % en cafés Colombianos, Etiopios, Guatemaltecos, Mexicanos, Nicaragüenses, y de Sumatra [16], valores promedio de 0.37% de ácido clorogénico en café verde arabica y robusta vietnamita (0.43 y 0.32 % respectivamente) y filipino libérica y robusta (0.37 y 0.35 % respectivamente) [31]. Promedios de ácido clorogénico que van desde el 1.4% al 14.4 % en las especies silvestres de África, mientras que para las variedades comerciales de Arábica del 5 al 8 % y para Robusta del 6.6 al 12.3 %. También se menciona que durante el tueste disminuye la cantidad de 5-CQA mientras que incrementan los isómeros 4-CQA y 3-CQA, otra parte de los ácidos clorogénicos se une a las melanoidinas en la reacción de Maillard. La mayor cantidad de ácido clorogénico se hidroliza, dejando apenas 0.5 % de ácido clorogénico en café tostado en promedio, mientras que para cafés más oscuros pueden ser totalmente transformados en otros compuestos como el catecol, guayacol y pirogalol [7].

La alta temperatura del proceso de tueste causa una ruptura en los enlaces de carbono del ácido clorogénico, lo que resulta en una isomerización y degradación, otras transformaciones ocurren como deshidratación de la mitad del ácido quínico y formación de un anillo de lactona, así como la incorporación parcial de los ácidos clorogénicos en la estructura de las melanoidinas [32].

Algunos autores han mencionado la degradación de polifenoles, entre ellos el ácido clorogénico, algunos autores hablan de auto oxidación o mediante un proceso enzimático por acción de la enzima polifenol oxidasa en los granos de café almacenados [33,34,35,36]. Existe confusión sobre su comportamiento en el tiempo, se reporta una disminución y aumento en el tiempo, por lo que sería de interés investigar más sobre esto en posteriores trabajos. [36]

Efectos fisiológicos del café.

Además de su aroma y sabor, el café también es consumido por sus efectos estimulantes. Sin embargo, la industria del café y la opinión popular son que la bebida de café es saludable [5].

El efecto estimulante del café se conoce desde antes del aislamiento de la cafeína de los granos de café por Ferdinand Runge en 1820 [9].

Desde su aislamiento original, la cafeína se ha usado terapéuticamente en el tratamiento de la apnea infantil, como un estimulante bronquial y cardíaco, en el tratamiento del acné y otros desórdenes de la piel, y en el tratamiento de las migrañas y dolores de cabeza. También se encuentra en una variedad de productos como analgésicos, diuréticos, controladores de peso, preparaciones para aliviar alergias y compuestos para mantenerse alerta [9].

Después de su consumo, la cafeína se absorbe por el tracto gastrointestinal y es distribuida por el cuerpo durante 1 hora, pasando enseguida por la barrera cerebro/sangre. Continúa circulando en sangre hasta que se metaboliza, inicialmente en paraxantina, teofilina y teobromina, después en derivados de ácido úrico y diamino uracilo, que puede ser removido de la circulación efectivamente. La vida media en plasma de la cafeína en un hombre, como resultado de su biotransformación y excreción, es de 5 a 6 h [9].

Los efectos del consumo de la cafeína varían dependiendo entre otros, de la dosis y nivel de cafeína en tejidos. A pequeñas dosis de cafeína (concentración en plasma de $5\text{-}10\mu\text{molL}^{-1}$) el efecto está generalmente restringido a un incremento en la latencia del sueño y un incremento de alerta durante la fatiga o aburrimiento. A niveles de $15\text{-}30\mu\text{molL}^{-1}$ los efectos pueden incluir ansiedad leve, estimulación respiratoria, efectos cardiovasculares, diuresis y secreción gástrica incrementada. Los síntomas de toxicidad aguda pueden aparecer cuando los niveles se encuentran entre $150\text{-}200\mu\text{molL}^{-1}$, Estos incluyen inquietud severa y excitación que lleva a delirio suave, tensión muscular, espasmos y disturbios cardiovasculares como taquicardia. La concentración letal de cafeína en plasma se alcanza en el intervalo de $0.5\text{ a }1.0\text{ mmolL}^{-1}$, pero esto requeriría alrededor de 75 tazas de café fuerte consumidas en 30 minutos, por lo que una muerte humana por el consumo de bebidas que contienen cafeína es poco probable [9].

El consumo de cafeína y café incrementan en gran medida la presión sanguínea lo que representa un peligro a la salud para las personas con riesgo de enfermedades cardiovasculares; este efecto negativo es debido a la cafeína y no ocurre en café

descafeinado. Se ha demostrado que el consumo de café con o sin cafeína conlleva a una pérdida de peso a largo plazo, aunque esta pérdida es mayor al consumir café con cafeína ya que ésta ha demostrado causar una mayor termogénesis, lipólisis y oxidación de grasas y secreción de insulina. Para personas no obesas estos efectos han sido mayores que para personas obesas. Existe evidencia de que el consumo de cafeína incrementa el desempeño al realizar ejercicio, que puede llevar a un incremento del nivel de actividad física mediante un efecto ergogénico, es decir mediante un incremento en la velocidad, resistencia y potencia en ejercicios que duran de 1 a 2 horas. Esto ocurre al consumir cafeína sola, en el café este efecto no ocurre debido a que existen componentes en el café como el ácido clorogénico que contrarrestan los efectos ergogénicos de la cafeína.

El consumo de cafeína también contribuye al desarrollo de osteoporosis, porque incrementa la concentración de calcio en orina, y los efectos negativos del metabolismo de calcio y crecimiento óseo los cuales son mayores a edades más altas.

El ácido clorogénico, así como algunas otras sustancias en el café antagonizan el efecto de la cafeína de estimular el consumo de glucosa en el intestino delgado, así como el de potenciar los efectos antioxidantes del café.

Parece ser que mientras el cuerpo parece generar tolerancia a los efectos de la cafeína, no sucede así con el consumo de ácido clorogénico y otros compuestos, lo que explica el por qué las personas que consumen café de manera aguda presentan un incremento en el metabolismo de la glucosa mientras que a largo plazo esto disminuye.

Un consumo de café a largo plazo puede incrementar la sensibilidad a la insulina y disminuir el riesgo de diabetes; sin embargo, para las personas con diabetes puede incrementar los riesgos de complicaciones; este efecto es causado principalmente por la cafeína, y la razón de que puede incrementar los riesgos de complicaciones en personas con diabetes es debido a que no han generado tolerancia a los efectos de la cafeína a comparación de las personas que lo consumen a largo plazo. [37]

Otros efectos que se han reportado para el ácido clorogénico incluyen reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular, Alzheimer, y actividad antiinflamatoria y antibacteriana.

Un gran número de componentes del café han sido identificados como potenciales quimioprotectores. La actividad antioxidante puede ser un factor clave involucrado en los efectos quimioprotectores del café, entre estas sustancias con actividad antioxidante se encuentran la cafeína, los polifenoles incluyendo los derivados y productos de degradación del ácido clorogénico como el ácido cafeico y los fenilindanos, así como las melanoidinas [18].

Análisis fisicoquímico.

A continuación, se muestra el resumen de algunas técnicas analíticas utilizadas para la determinación de cafeína y ácido clorogénico principalmente, ya que para la determinación general de estos compuestos existen múltiples técnicas basadas en la matriz en la que se encuentran, mientras que, para la determinación de acidez o azúcares reductores, suele utilizarse una sola técnica o variaciones. Es importante dar a conocer los distintos métodos de determinación ya que algunos ofrecen ventajas y desventajas en cuanto al tratamiento de la muestra, uso de reactivos, costo e impacto ambiental.

Cafeína

La determinación de cafeína en muestras de café suele realizarse mediante cromatografía de líquidos de alta resolución o por espectrofotometría. Por la técnica espectrofotométrica después de la primera extracción con agua caliente se realiza una segunda extracción con disolventes orgánicos, principalmente cloroformo y una base para eliminar interferencias, después se realiza un secado de la fase orgánica con sulfato de sodio anhidro y se filtra antes de la medición [38].

La cafeína también ha sido determinada mediante titulación. Los métodos de titulación requieren de procesos de extracción largos previos a la determinación [39].

Se ha realizado la determinación de cafeína mediante titulación redox inversa o indirecta oxidando la cafeína con Sodio N-cloro -p – tolueno- sulfonamida (Cloramina- T, CAT), ácido clorhídrico y ácido sulfúrico, después se utilizó yoduro de potasio al 10 % y se tituló el Yodo liberado con una solución de tiosulfato; reportan una oxidación que involucra una transferencia de 4 electrones. Sin embargo, la determinación en bebidas involucra una mezcla de la solución de la muestra con amoníaco y una extracción con porciones de cloroformo; la determinación en té instantáneos involucra la remoción de polifenoles y pigmentos con acetato de plomo, y lavados con ácido sulfúrico y una neutralización posterior con hidróxido de sodio. Para café instantáneo se realiza una extracción de la muestra con petróleo y un tratamiento y extracción con solución de amoníaco y cloroformo respectivamente. Posteriormente una filtración a través de una columna cromatográfica que contiene óxido de aluminio y de magnesio. Finalmente, el filtrado se seca y se disuelve en un volumen conocido de agua destilada [40].

Se ha realizado la determinación de cafeína mediante titulación complejométrica indirecta y por nefelometría (método basado en la cantidad de turbidez en una solución que transmite o dispersa la luz; en el caso de la nefelometría se mide la intensidad de la luz dispersada, a diferencia de la turbidimetría, en donde se mide la intensidad transmitida a través de la muestra [41]); sin embargo. no se encontró más información sobre el cómo se efectuaron las determinaciones [40,42].

Se ha reportado la medición de cafeína en formulaciones de medicamentos en un potencial de 1.425 V mediante voltamperometría utilizando un electrodo de carbono vítreo (GCE por sus siglas en inglés) contra un electrodo de Calomel saturado y una mezcla ácido perclórico 0.1 molL^{-1} – metanol (1 a 1) como electrolito soporte. Los parámetros óptimos de amplitud modular, tiempo de repetición de pulso y velocidad de barrido fueron 50 mV, 0.5 s y 5 mV/s respectivamente. Sin embargo, reportan que debido a que el electrodo se contamina con los productos de oxidación después del barrido, debe limpiarse entre barridos puliendo la superficie con una tela para pulir y líquido abrasivo compuesto de 0.5g de alúmina en agua desionizada o destilada. Además, el uso de metanol, el cual se evapora rápidamente, hace difícil una determinación cuantitativa [39].

El electrodo de carbono vítreo es uno de los materiales basados en carbono más utilizados en el laboratorio analítico debido a su estabilidad química y sobrepotencial de evolución del oxígeno e hidrógeno, sin embargo, la fuerte adsorción de cafeína requiere pretratamiento electroquímico y mecánico de la superficie y el uso de sustancias tensoactivas.

Se han realizado modificaciones a los electrodos basados en carbono para solucionar los problemas presentados; Estas modificaciones ofrecen corrientes residuales bajas, mejor reproducibilidad, sensibilidad y estabilidad; sin embargo, requieren que la superficie sea renovada constantemente lo que incluye pasos previos a la determinación [43].

Ácido clorogénico

La determinación de ácido clorogénico por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés) utiliza un buffer de fosfato de potasio monobásico 20 mmolL⁻¹ con ácido fosfórico al 0.1%, involucra la clarificación y precipitación de proteínas y otros compuestos que pudieran interferir, así como eliminar la turbidez y romper emulsiones de la muestra usando soluciones de ferrocianuro de potasio y acetato de zinc, ésto se realiza en tubos de centrifuga en donde se añade una cantidad del café extraído y las soluciones en cantidades iguales, después se mezcla usando un Vortex y se lleva a 50 mL con metanol al 10 % para finalmente centrifugar a 3500 rpm por 10 minutos y filtrar usando una jeringa de 0.2 µm. Este método permite determinar los isómeros de ácido clorogénico individualmente y la cafeína al mismo tiempo, lo que involucra el uso de estándares de cada isómero si se requiere determinar el contenido total de ácido clorogénico [44].

Se ha realizado la medición de ácido clorogénico (el isómero 5-O-ácido cafeoilquínico en específico) usando cromatografía de líquidos acoplado a masas. Las muestras (1g) se mojaron con 2 mL de agua desionizada y extrajeron con metanol (18 mL) via sonicación y centrifugadas a 4000 rpm por 5 minutos, 30 µL del extracto se tomaron y diluyeron con 1.5 mL de agua mili-Q y después se filtró a través de una jeringa de 0.2 µm. Se utilizaron como solventes ácido trifluoroacético al 0.1 % y metanol [31].

El ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido gálico y ácido gentísico fueron determinados en cultivos de algodón usando un electrodo de carbono vítreo contra un electrodo de referencia Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ molL}^{-1}$) todos en aproximadamente 0.4 V en buffer de fosfatos pH 3 0.2 molL^{-1} como electrolito soporte, 50 mV de amplitud de pulso, 50 mV/s de velocidad de barrido. Usando como estándar ácido cafeico $10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ y con concentraciones en celda de 6.8×10^{-8} a $1.0 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1}$. Sin embargo, también se requirió la limpieza del electrodo debido a la deposición de compuestos de oxidación con una suspensión de alúmina en tela para pulir, después, el electrodo fue sumergido en solución de acetona y puesto en un baño de ultrasonido por 4 minutos, posteriormente sumergido en la solución usada como electrolito soporte y sometido a un potencial cíclico continuo de 0 – 1.8 V a 50 mV/s por 3 minutos [45].

Se encontró mediante polarografía clásica y diferencial de impulsos (utilizando un electrodo de gota de mercurio, una hoja de platino como electrodo auxiliar y como electrodo de referencia el electrodo saturado de calomel) a concentraciones de 5×10^{-6} a $1.3 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ dos ondas anódicas en los polarogramas clásicos y picos de polarografía diferencial de impulsos correspondientes a -0.02 V y -0.18 V con la segunda onda solamente apareciendo a concentraciones mayores de $2 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ utilizando como medio TRIS buffer pH 7.5 0.05 molL^{-1} conteniendo KNO_3 0.1 molL^{-1} , velocidad de escaneo de 5 mV/s, 25 mV de amplitud de pulso y tiempo programado de goteo de 1 segundo. La primera señal corresponde a una oxidación mientras que la segunda corresponde a la formación de un complejo Hg(I)-CGA (ácido clorogénico por sus siglas en inglés) en la superficie del electrodo y su desproporción en Hg(II) [46].

Acidez

Para la medición de acidez se encuentra la metodología AOAC 920.92 [47] en donde se utilizan 10 g de muestra en un matraz Erlenmeyer con 75 ml de etanol al 80 %, se deja 16 horas en agitación, se filtra y se toma alícuota de 25 mL para café verde o 10 mL para café tostado, se traspasa a un vaso, se lleva a aproximadamente 100 mL con agua y se titula con una base 0.1 molL^{-1} usando fenolftaleína; los resultados se expresan como mL de base 0.1 molL^{-1} requeridos para neutralizar la acidez de 100g de muestra.

La Norma Técnica Colombiana 5247 se basa en la titulación potenciométrica mediante solución estándar de NaOH, y es aplicable a café tostado. Utiliza 5 g de muestra en 100 mL de agua a 90 °C y agitado durante 3 minutos. Posteriormente se filtra y se lleva al aforo a 100 mL, se toma una alícuota de 50 mL y se titula potenciométricamente con adiciones de 0.1 mL de NaOH 0.1 molL⁻¹ hasta llegar a pH de 6.5. La acidez se expresa como mg de ácido clorogénico en 1g de café [48].

La determinación de acidez de manera potenciométrica se realiza utilizando NaOH 0.1 molL⁻¹ como base y 50 mL de bebida de café hasta un pH de 8.3 y expresa los valores como mg de CaCO₃/L de bebida [49].

Se reporta la detección de dos puntos de equivalencia del ácido clorogénico al realizar una valoración potenciométrica de éste con NaOH 0.1 eqL⁻¹ (figura 3), aunque no se mencionan los puntos de equivalencia; se observan en la gráfica el primero cercano a un pH de 6-7 correspondiente a la valoración del grupo carboxílico; el pH en este punto está dado por el carboxilato y el fenol. El segundo punto de equivalencia, cercano a un pH de 9.5 correspondiente a los hidroxilos del grupo fenólico. Esto coincide con lo mencionado anteriormente en la introducción; sin embargo, estos autores reportan el contenido de acidez hasta llegar a un pH de 8.3 y lo reportan como mL de NaOH 0.1 eqL⁻¹ en lugar de un pH de 6.5 [18,50].

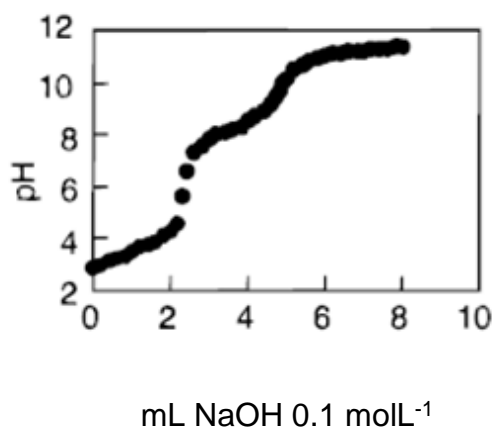


Fig. 3. Titulación de 50.0 mL de ácido clorogénico 4.6 mmolL⁻¹ con 0.100 molL⁻¹ NaOH [50].

Azúcares reductores

Los azúcares reductores totales son generalmente medidos por titulación colorimétrica de la solución de Fehling. Todas las especies químicas en la muestra que reducen iones cúpricos Cu (II) a iones cuprosos Cu (I) son consideradas como azúcar reductor. El volumen de la muestra en solución requerido para llegar al punto final de la titulación se usa para calcular los azúcares reductores totales en la muestra. Todos los azúcares reductores son cuantificados como glucosa equivalente o azúcar reductor total equivalente.

El azul de metileno es usado como indicador del punto final. El punto final se logra cuando el cobre es completamente reducido. El azul de metileno se reduce a un compuesto incoloro dejando un precipitado rojo ladrillo de óxido cuproso; este es el color que la solución tenía, mientras se acercaba al final de la titulación antes de la adición del indicador.

La Norma Mexicana NMX-F-013-SCFI-2010 la cual no aplica para café verde, si no para café tostado, incluye una digestión de la muestra utilizando acetato de zinc y ferrocianuro de potasio para precipitar proteínas y una hidrólisis con ácido clorhídrico para determinar los azúcares reductores totales mediante el método de Lane-Eynon. Esta metodología involucra que el gasto de la solución de azúcar deba estar entre 15 y 50 mL y requiere un extracto de muestra más concentrado (30 g de muestra en 200 mL de agua) [3].

Polarografía

Los métodos voltamperométricos son las técnicas electro analíticas que dependen de la medida de corrientes en función del potencial aplicado; se basan en la medida de la corriente en una celda electroquímica en condiciones de polarización por concentración, de forma que la velocidad de oxidación o reducción del analito está limitada por la velocidad de transferencia de masa del analito a la superficie del electrodo. La polarografía es una rama de la voltamperometría en la que se usa como electrodo de trabajo un electrodo de gota de mercurio (EGM).

En voltamperometría, el voltaje del electrodo de trabajo se varía de manera sistemática mientras se mide la respuesta de la corriente; se pueden aplicar al electrodo varias funciones distintas de voltaje-tiempo llamadas señales de excitación. La señal clásica es el barrido lineal, en donde el voltaje de corriente continua aplicado a la celda se incrementa linealmente en función del tiempo. Otro tipo de señal es la del tipo impulso, en estas la corriente se mide en diversos momentos durante la vida de estos impulsos.

Un aparato para la medición de medidas voltamperométricas consta de tres electrodos sumergidos en una disolución que contiene el analito y un exceso de un electrolito no reactivo, llamado electrolito soporte, el cual es una sal añadida en exceso que no reaccione con el electrodo de trabajo a los potenciales empleados, reduce los efectos de la migración y la resistencia de la disolución. Los tres electrodos son:

Electrodo de trabajo: Electrodo cuyo potencial frente a un electrodo de referencia se varía linealmente con el tiempo. En este electrodo ocurre la reacción de interés.

Electrodo de Referencia: Electrodo del que se conoce su potencial respecto del electrodo patrón de hidrógeno, y frente al cual se pueden medir los potenciales de electrodo no conocidos. Su potencial es independiente de la concentración del analito.

Contra-electrodo o electrodo Auxiliar. Electrodo que, junto con el electrodo de trabajo, forma el circuito de electrólisis en una celda de 3 elementos [51].

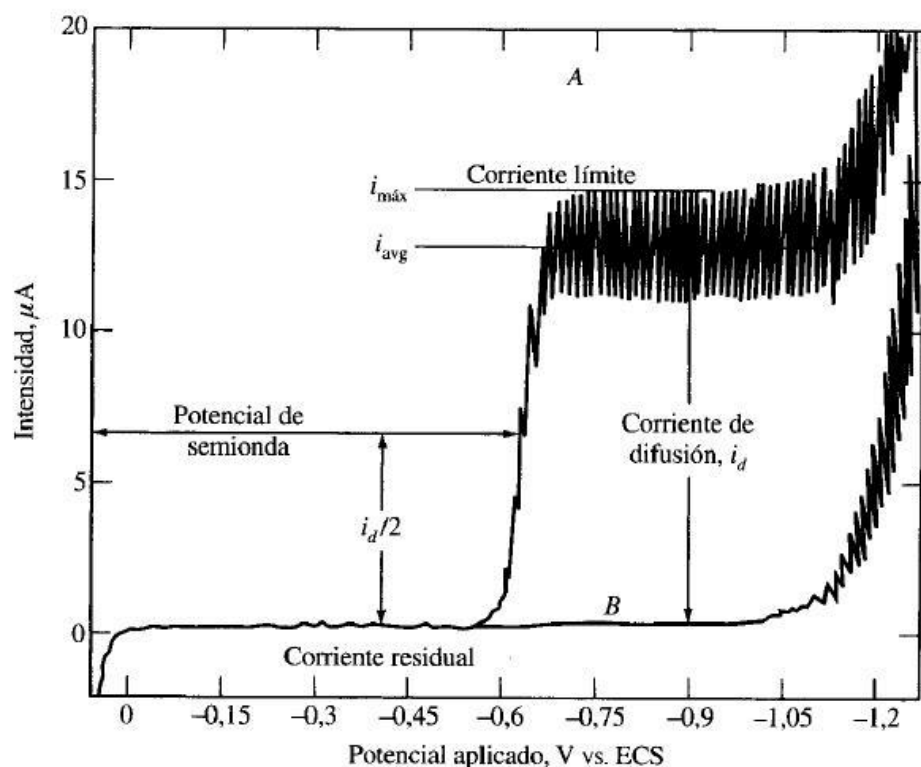


Fig. 4. Ejemplo de polarograma de barrido lineal. [51].

En la figura 4 se muestra un ejemplo de polarograma de barrido lineal. Se observa la corriente residual, que es la pequeña corriente que se observa en ausencia de la especie electroactiva. El potencial de semionda o de media onda, el cual ocurre cuando la corriente es igual a la mitad del valor límite (a veces son útiles para identificar los componentes de una disolución). La corriente de difusión, proporcional a la concentración del analito, y limitada únicamente por la velocidad de difusión del analito a la superficie de la gota de mercurio. La corriente límite, meseta de corriente que se observa en la parte superior de la onda voltamperométrica, y que es proporcional a la concentración del analito en la disolución, se debe a que la concentración del analito en la superficie disminuye hasta cero, porque se electroliza y su aporte es constante.

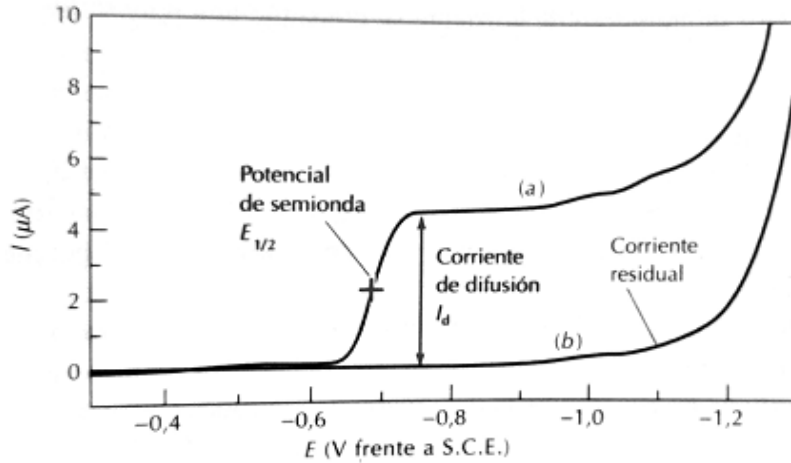


Fig. 5. Polarograma de muestreo de corriente.

En la figura 5 se observa un polarograma de muestreo de corriente, esta técnica permite obtener una mayor relación señal-ruido, porque se reduce la corriente de fondo debida a la carga de la gota de mercurio.

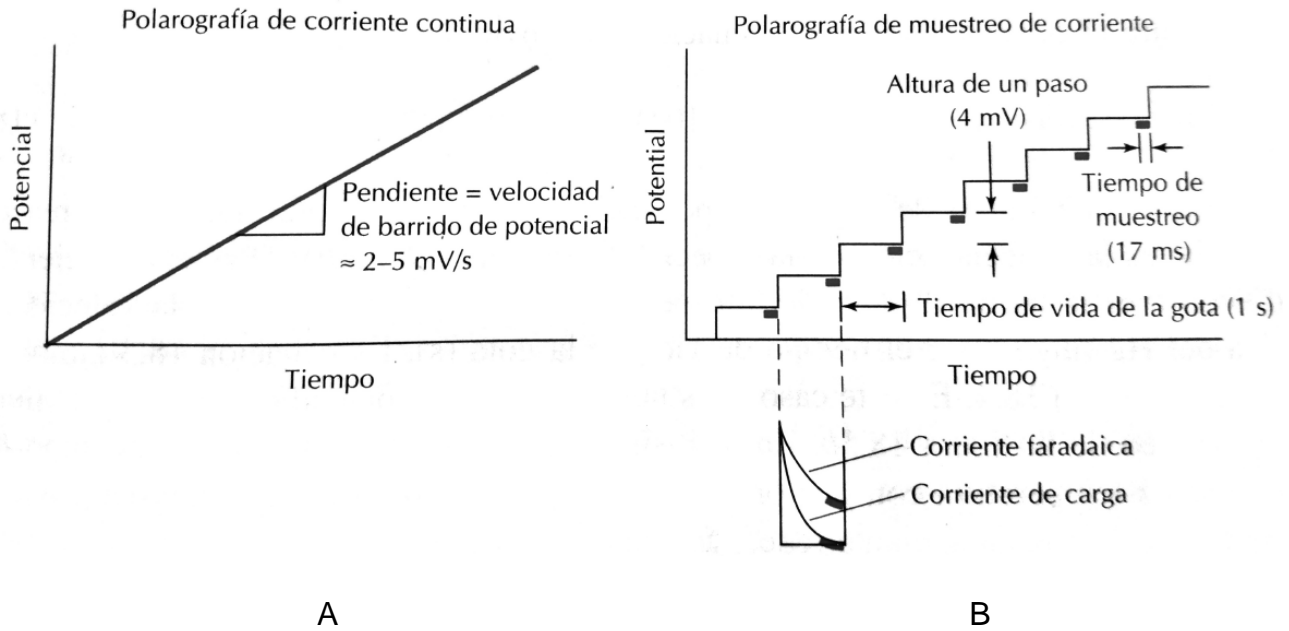


Fig. 6. A: Rampa lineal de voltaje usada en polarografía de corriente continua. B: Perfil de voltaje de tipo escalera usado en polarografía de muestreo de corriente.

En la figura 6 se observa una rampa lineal de voltaje usada en polarografía de corriente continua y el perfil de voltaje de tipo escalera usado en polarografía de muestreo de

corriente, en el primer caso, se barre el voltaje a velocidad constante desde valores positivos a negativos; se mide la corriente continuamente, originándose el polarograma con oscilaciones como el de la figura 4. En el segundo caso la corriente se mide durante intervalos, lo que permite obtener un polarograma como el de la figura 5. [51]

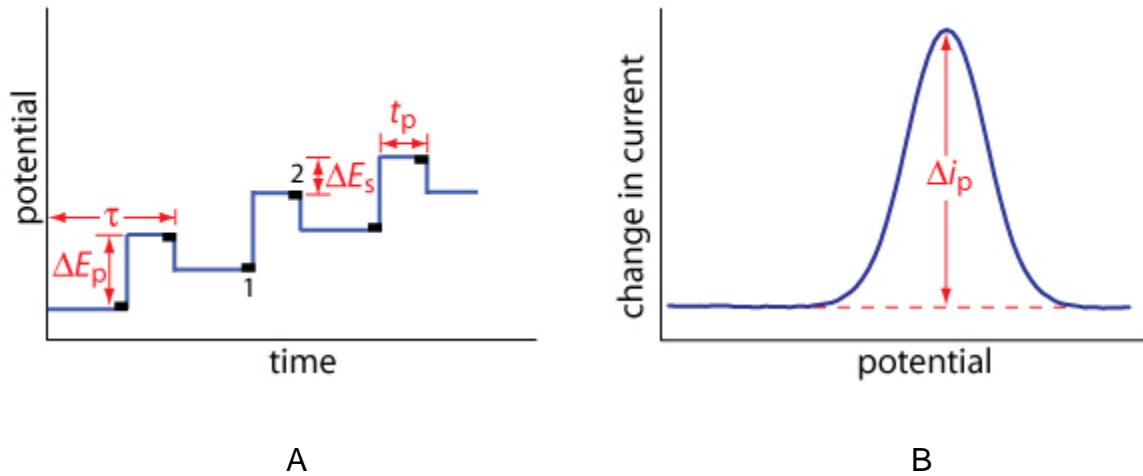


Fig. 7. Ejemplo de polarograma diferencial de impulsos (DP por sus siglas en inglés “differential pulse”) (A) gráfico potencial-tiempo (B) gráfico potencial-cambio en la corriente. [51]

En la figura 5 se muestra un ejemplo de polarograma diferencial de impulsos; el gráfico A muestra las señales de excitación usadas por instrumentos digitales, que consiste en la combinación de un impulso y una señal escalonada, la sincronización del impulso con la gota requiere que esta se desprenda en el momento apropiado mediante un sistema electromecánico, la diferencia de corriente por pulso, se registra como función del voltaje de incremento lineal, dando como resultado una curva diferencial con un pico como se muestra en el gráfico B. [51]



Timbre postal de Costa Rica 1950

Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar la composición química de diferentes muestras de café utilizando métodos electroquímicos y analíticos para conocer la calidad de las muestras con base en su contenido de cafeína, ácido clorogénico, azúcares reductores totales y acidez.

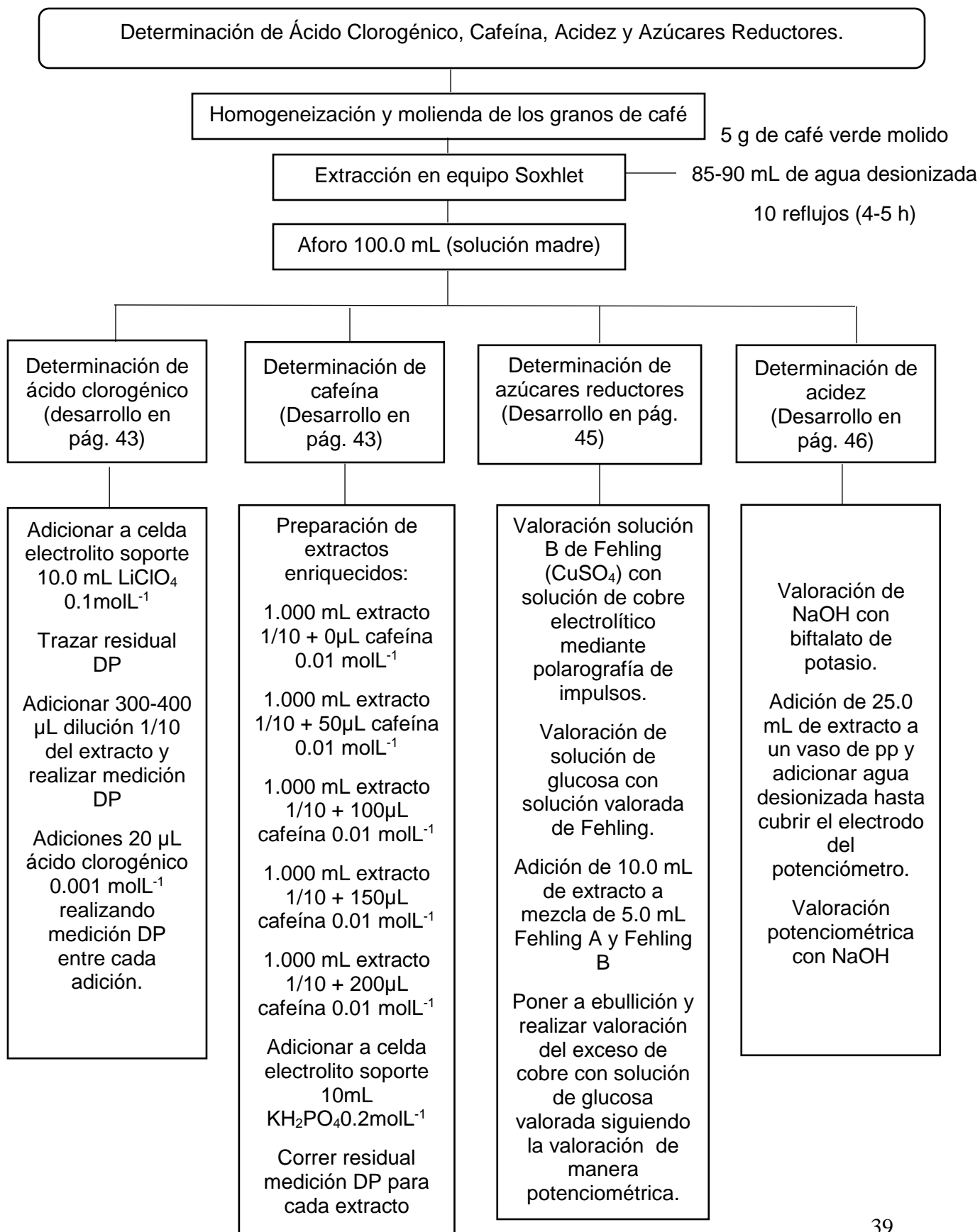
Objetivos particulares:

- Encontrar un electrodo de trabajo que permita la determinación voltamperométrica de cafeína y ácido clorogénico.
- Evaluar la acidez total del café mediante potenciometría.
- Evaluar el contenido de azúcares reductores totales mediante el método de Fehling siguiendo la valoración mediante potenciometría.
- Establecer una clasificación en base al contenido de cafeína, ácido clorogénico, azúcares reductores totales y acidez.
- Establecer y comparar la calidad de varias muestras de café verde relacionando su contenido de cafeína, ácido clorogénico, azúcares reductores totales y acidez.



La bebedora de café. Ivana Kobilca, 1888.

Metodología



Reactivos y equipo

Los reactivos empleados en la investigación del presente trabajo se muestran en la tabla 4.0.

Tabla 4.0 Reactivos empleados en las determinaciones

Reactivo	Grado de Pureza	Marca
Ácido bórico	R.A.	Analytika
Ácido clorogénico	99.50%	Sigma Aldrich
Ácido nítrico	65%	Merck
Biftalato de potasio	99.99%	J. T. Baker
Borato de sodio	R.A.	J. T. Baker
Cafeína	78.33%	Sigma Aldrich
Cobre electrolítico	99.99%	Sin marca
Fosfato de potasio monobásico	R.A.	J. T. Baker
Hidróxido de sodio	R.A.	MACRON Fine Chemicals
Solución buffer pH 4	R.A.	HYCEL
Solución buffer pH 7	R.A.	J. T. Baker
Solución buffer pH 10	R.A.	J. T. Baker
Sulfato de cobre pentahidratado	R.A.	J. T. Baker
Tartrato de potasio	R.A.	J. T. Baker

Equipo empleado en las determinaciones

- Alambre de cobre ordinario
- Equipo Potenciostático Methrom 797 VA Computrace
- Electrodo auxiliar: Electrodo de platino
- Electrodo de referencia: Electrodo Ag/AgCl (construcción de doble unión: Sistema Ag/AgCl de referencia con un diafragma de cerámica tipo D, diámetro de 1 mm; y celda electrolítica con diafragma de cerámica tipo D, diámetro de 3 mm.)
- Electrodo de trabajo:
 - Alambre de cobre ordinario
 - Electrodo de mercurio
- Parrilla de agitación magnética
- Potenciómetro Methrom 827 pH lab
- Voltímetro Steren MUL-010

Tratamiento y preparación de la muestra

La muestra se molió en un molino eléctrico para café hasta la obtención de un polvo fino de sensación harinosa. Se pesaron aproximadamente 5 gramos de muestra y se colocaron en un cartucho de algodón que posteriormente se introdujo en el equipo de extracción Soxhlet. Se adicionaron 85 mL de agua desionizada y se realizaron 10 reflujos durante un tiempo aproximado de 5 horas. El extracto se centrifugó a 3000 rpm durante 20 minutos para eliminar las partículas suspendidas y posteriormente se llevó al aforo a 100.0 mL con agua desionizada.

Humedad de la muestra

En la tabla 5.0, se indica el contenido de humedad de las muestras determinado por pérdida de peso en horno eléctrico ya que para poder hacer una comparación de los componentes es necesario presentar los resultados en base seca.

Tabla 5.0 Contenido de Humedad de los granos de café verdes.

Muestra	Humedad (% m/m)
Café Huasteca	14.86
Café Coatepec Veracruz	11.56
Café Tradicional Maya Vinic	12.02
Café Orgánico Maya Vinic	11.76
Café Robusta Coatepec Veracruz	15.27

Ácido clorogénico y cafeína

Para medir ácido clorogénico y cafeína se utilizaron distintas soluciones como electrolito soporte y electrodos con el fin de encontrar como respuesta una señal que permitiera medir dichos compuestos; el escenario óptimo era poder medir ambos compuestos usando el mismo electrodo y el mismo medio de manera conjunta. Los electrodos usados fueron:

- Electrodo de gota de mercurio
- Electrodo de disco rotatorio de oro de 4 mm de diámetro
- Electrodo de disco rotatorio de carbono vítreo de 4 mm de diámetro

Se decidió realizar las mediciones con el electrodo de gota de mercurio, aunque se detectaron señales de los analitos en los electrodos de oro y de carbono vítreo; el ácido clorogénico presentó problemas en la medición debido probablemente a la obstrucción del electrodo por los componentes del extracto de la muestra o por problemas de absorción del mismo analito. Como se mencionó en el marco teórico, diversos autores que han medido ácido clorogénico o ácido cafeico usando electrodos de oro o de carbono vítreo [45,52,53], han reportado dificultades al medir por cuestiones de absorción o de contaminación debido a la generación de productos de oxidación sobre la superficie del electrodo, lo que genera problemas al momento de la medición; esto se comprobó durante la experimentación con dichos electrodos. Otros autores solucionan esto modificando los electrodos, por ejemplo, usando electrodos de carbono vítreo modificados a través de electro-polimerización con ácido aminosulfónico, [54] o usando electrodos de carbono vítreo y oro electro-polimerizados con EDOT (3,4-etilendioxitiofeno) obteniendo mejores resultados que con los electrodos sin modificar [53]. Sin embargo, realizar estas modificaciones toma tiempo, además de que requieren estandarización, y el uso de otros reactivos. En cuanto a la medición de cafeína mediante el uso de electrodos sólidos como el electrodo de carbono vítreo o el de oro, el principal problema es el bajo contenido de cafeína que contiene el café y el gran número de otros compuestos complejos, los cuales al adicionar la muestra obstruyen el electrodo e impiden la medición, mientras que la extracción con cloroformo para aislar y concentrar

la cafeína requiere de tiempo y uso de disolventes que dañan la salud y el medio ambiente.

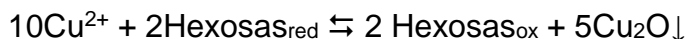
Por estas razones se decidió utilizar el electrodo de gota de mercurio.

Para la determinación de ácido clorogénico se utilizó el equipo 797 VA Computrace con el electrodo de gota de mercurio como electrodo de trabajo, un electrodo de platino como electrodo Auxiliar, y como electrodo de referencia el electrodo de plata cloruro de plata (Ag/AgCl); Se utilizaron 10.0 mL de solución LiClO_4 0.1 molL^{-1} y se utilizó la técnica de polarografía clásica para determinar si la reacción que se efectuaba se trataba de una oxidación o una reducción. Para la medición cuantitativa se utilizó la técnica de polarografía diferencial de impulsos. Se adicionaron de 300 a 400 μL de una dilución 1/10 de la solución madre hasta la obtención de una señal definida, posteriormente se realizaron adiciones de un patrón de ácido clorogénico 0.001 molL^{-1} . La determinación se realizó por duplicado y la variación en los resultados se expresó con ayuda de las barras de error en las gráficas de barras.

Para la medición de cafeína se utilizó el mismo equipo y electrodos utilizados en la determinación de ácido clorogénico, se utilizaron 10.0 mL de KH_2PO_4 0.2 molL^{-1} y tres gotas de tensoactivo tritón al 0.2%, cuando se realizaron adiciones de la solución madre diluida 1/10 se observó que la señal dejaba de incrementar por obstrucción del electrodo lo que dificultaba la medición por adiciones patrón, se probó también con la solución madre directa y con una solución más concentrada y el resultado fue el mismo. Para solucionar esto, se decidió preparar 5 tubos de ensayo y en cada uno se adicionó 1.000 mL de la solución diluída 1/10 de la solución madre, y se les adicionó 50, 100, 150 y 200 μL de cafeína 0.01 molL^{-1} , a uno no se le adicionó nada. Se determinó la señal que proporcionaba la adición de 50 μL de la solución 1/10 sin enriquecer y después se limpió la celda y esta vez se adicionaron 50 μL de la solución 1/10 enriquecida con 50 μL , se midió la señal detectada y se continuó de esta manera con las demás soluciones enriquecidas.

Azúcares reductores

Para la medición de azúcares reductores se utilizó el método de Fehling seguido de manera potenciométrica. Se sabe que la reacción entre el Cu^{2+} y los azúcares reductores, en este caso, refiriendo a la glucosa, una hexosa como azúcar reductor, tiene una relación de 10 a 2 o lo que es lo mismo 5 a 1, y que el punto de equivalencia se encuentra a 5/6 del salto de potencial [55].



Debido a que el café cuenta con una cantidad muy baja de azúcares reductores la determinación se realizó de la siguiente manera:

Se determinó el Cu^{2+} de la solución de Fehling B (CuSO_4) utilizando una solución de cobre electrolítico que se preparó pesando 0.0078 g de una lámina de cobre electrolítico cuya superficie externa se limpió previamente con 3 gotas de agua y una gota de ácido nítrico al 65%, dicha lámina de cobre se disolvió en ácido nítrico al 65% y se llevó al aforo a 10.0 mL. La solución de Fehling B se valoró empleando la técnica de polarografía de impulsos en 10.0 mL de buffer de nitratos 0.5 molL^{-1} .

Se montó una bureta de 10.0 mL con una solución de glucosa con una concentración de 0.0180 gmL^{-1} . Se adicionaron 5.0 mL de Fehling A, 5.0 mL de Fehling B y 2 gotas de azul de metileno al 1% como indicador en un vaso de precipitados de 50 mL. El vaso de vidrio se colocó sobre una parrilla de agitación magnética y se le colocó una barra de agitación magnética. Se utilizó un voltímetro, un alambre de cobre como electrodo de trabajo y un electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia para seguir la valoración de manera potenciométrica; los electrodos se introdujeron en el vaso de precipitados y se adicionó agua desionizada hasta cubrirlos. Se llevó a ebullición y agitación constante durante todo el experimento. Se realizaron adiciones de 0.1 mL de la solución de glucosa mediante una bureta de 10.0 mL y se registró el potencial después de cada adición. El punto de equivalencia se determinó a 5/6 del salto de potencial y con éste la cantidad de glucosa (mL) requerida para consumir el cobre de la solución de Fehling B (Cu^{2+} total). Conociendo la concentración de la solución de Fehling B se calculó la concentración de la solución de glucosa.

Se repitió el experimento adicionando los mismos reactivos y se llevó a ebullición y agitación constante. Una vez que comenzó a la ebullición se adicionaron 10.0 mL de extracto de café, después de que la solución entró en ebullición de nuevo comenzó la valoración con la solución de glucosa. Se registró el potencial después de cada adición y se obtuvo el punto de equivalencia a 5/6 del salto de potencial. Una vez conocido el punto de equivalencia y la estequiometría de la reacción se calculó el porcentaje de azúcares reductores refiriendo a la glucosa como azúcar reductor.

Acidez

La determinación de acidez se realizó siguiendo la valoración de manera potenciométrica; se llenó una bureta de 25.0 mL con NaOH 0.0475 molL^{-1} (previamente estandarizado con biftalato de potasio). Se colocaron 25.0 mL del extracto de café en un vaso de precipitados de 100 mL con una barra magnética y sobre una parrilla de agitación magnética, se adicionaron 3 gotas de fenolftaleína al 1% y agua desionizada hasta aproximadamente 40 mL, se introdujo el electrodo de vidrio y se realizó la titulación con adiciones de 0.1 mL de la solución de NaOH 0.0475 molL^{-1} hasta llegar a un pH de 12, se trazó la curva y se determinaron los puntos de equivalencia por el método de la primera derivada. Se determinó la acidez al primer y segundo punto de equivalencia y la acidez total expresada como miliequivalentes de H^+ .



Vaso de agua con cafetera. Jean Simeón Chardin, 1761

Resultados

Determinación de ácido clorogénico

Para la determinación de ácido clorogénico se utilizaron varios medios como electrolito soporte en la búsqueda de una señal de reducción u oxidación de dicha molécula.

En la tabla 6.0 se observan los resultados obtenidos para los distintos electrolitos soportes con los que se trabajó, se indica el valor de potencial al que aparece la barrera anódica impuesta por la oxidación del mercurio en el electrolito soporte y la barrera catódica impuesta por la reducción del agua para dar hidrógeno; también se muestra la señal pico del ácido clorogénico (V) y el tipo de reacción observada; no se encontró información sobre la reacción de oxidación o reducción que ocurre.

Tabla 6.0 Potenciales de las barreras anódicas y catódicas de los electrolitos soportes utilizados, así como el potencial de pico de la señal de ácido clorogénico, y el tipo de reacción observada por polarografía clásica.

Electrolito soporte	E barrera catódica (V)	E barrera anódica (V)	Señal de ácido clorogénico (V)	Reacción (polarografía clásica)
Buffer Fosfatos pH: 3 a 0.15 molL ⁻¹	-1.4300	0.3500	No se detectó	---
Buffer Boratos pH: 9.24 a 0.1 molL ⁻¹	-1.8000	0.1600	-0.0217	Oxidación
LiClO ₄ 0.1 molL ⁻¹	-2.2000	0.2200	-0.0269 -0.7310 -1.7200	Oxidación Reducción Reducción

En la tabla 7.0 se indica la ecuación de la recta, el límite de detección y el límite de cuantificación obtenidos de la curva de calibración creada de la medición de adiciones de solución patrón de ácido clorogénico 0.001 molL^{-1} en los electrolitos soportes utilizados. La ecuación de la recta y el coeficiente de correlación de estos y los demás resultados se obtuvieron directamente del programa Excel; mientras que para la evaluación del límite de detección y el límite de cuantificación se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$S_{i/c} = \left\{ \left[\sum (i_{\text{exp}} - i_{\text{cal}})^2 \right] / (n-2) \right\}^{1/2}$$

$$i_{\text{cal}} = (C_{\text{exp}} * m) + b$$

$$\text{LDD} = 3S_{i/c} / m$$

$$\text{LDC} = 10S_{i/c} / m$$

Tabla 7.0 Ecuación de la recta, límite de detección (LDD) y límite de cuantificación (LDC) para la determinación de ácido clorogénico en los distintos electrolitos soportes utilizados.

Electrolito soporte	Ecuación de la recta	Coefficiente de correlación R²	LDD (ppm)	LDC (ppm)
Buffer Boratos (señal en -0.0217 V)	Y= 0.8613x + 0.5313	0.9978	0.66	2.20
LiClO ₄ (señal en -0.0269 V)	Y= 0.3514x -59.1	0.9913	1.60	5.34

Aunque usando el medio de Boratos se obtuvo una mayor pendiente y un límite de detección menor, de acuerdo con la literatura el ácido clorogénico es inestable en pH alcalino, por ello se prefirió usar el medio LiClO₄. La primera señal de reducción que se obtuvo con el medio perclorato de litio (-0.7310 V) cambiaba de potencial y de pendiente, la señal que creció con buena linealidad en el medio perclorato de litio fue la señal de

reducción en -1.72 V, pero ésta corresponde a la reducción de iones H^+ [56] por lo que no es específica para medir ácido clorogénico en la muestra de café ya que el extracto contiene otras sustancias que liberan protones. La señal en -0.0816 V también presentó buena linealidad en un intervalo y aunque el límite de detección fue menor, también fue posible la medición de ácido clorogénico.

En la Fig. 8 se observa por medio de polarografía clásica que la señal corresponde a una reacción de oxidación.

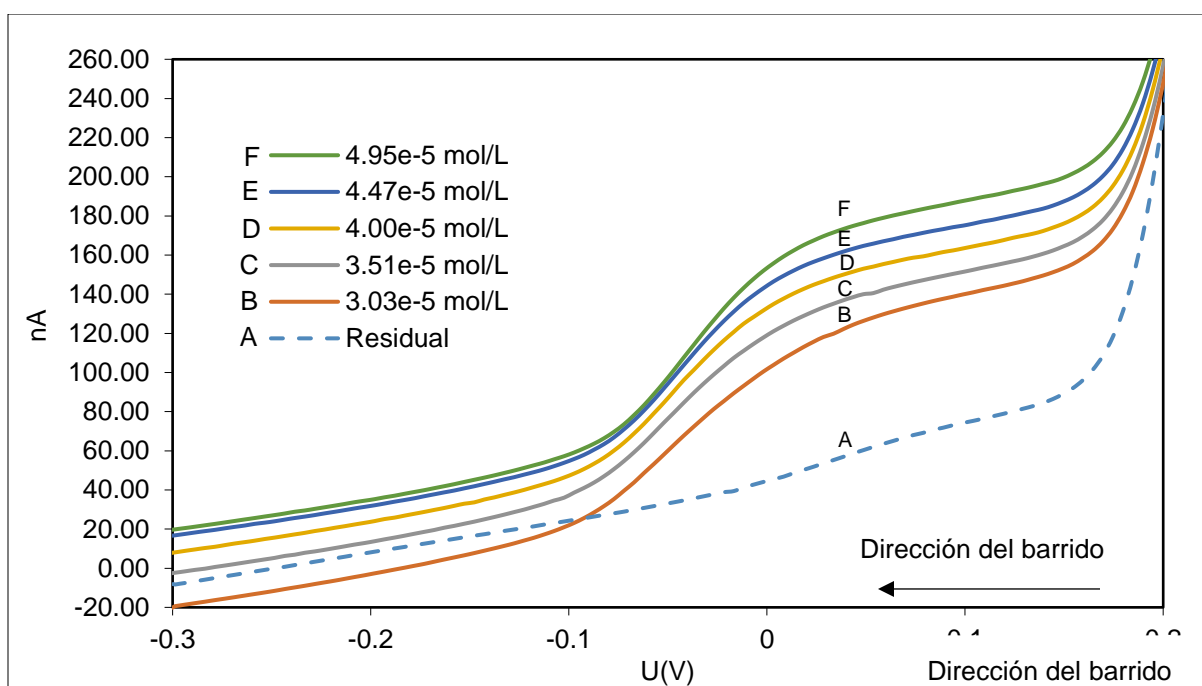


Fig. 8. Polarograma de muestreo de corriente obtenido para ácido clorogénico en 10.0 mL de $LiClO_4$ 0.1 molL^{-1} . La línea A (azul) corresponde a la corriente residual, mientras que las demás corresponden a las adiciones de solución patrón de ácido clorogénico 0.001 molL^{-1} , la concentración en celda se indica por una letra y color correspondiente de cada curva. Potencial inicial = -0.3 V, potencial final= 0.22 V, amplitud de pulso= 50 mV, velocidad de barrido= 5 mV/s.

En la Fig. 9 se observa el gráfico para la obtención del potencial de media onda a partir de una señal de polarografía clásica.

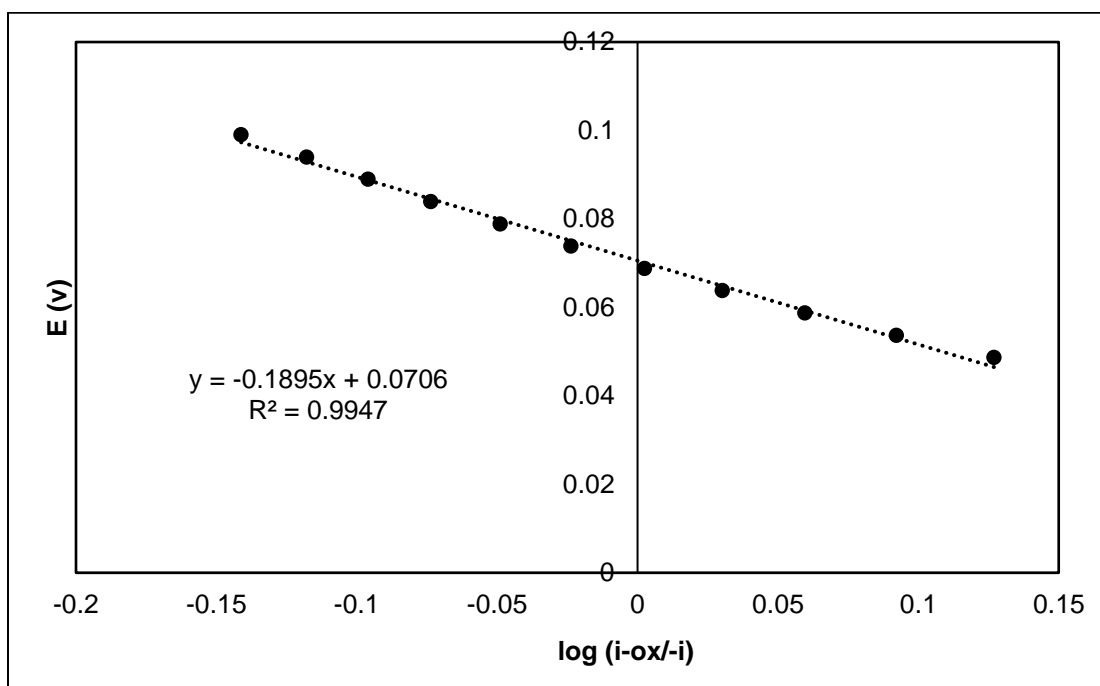


Fig. 9 Gráfica para la obtención del potencial de media onda para el ácido clorogénico en medio LiClO_4 0.1 molL^{-1} a partir de una señal de polarografía clásica.

En la Fig. 10 Se indica la señal residual correspondiente al electrolito soporte y las señales obtenidas por polarografía diferencial de impulsos para el estándar de ácido clorogénico 0.001 mol/L ; se observa un incremento en la intensidad de la corriente proporcional a la concentración de solución patrón adicionada.

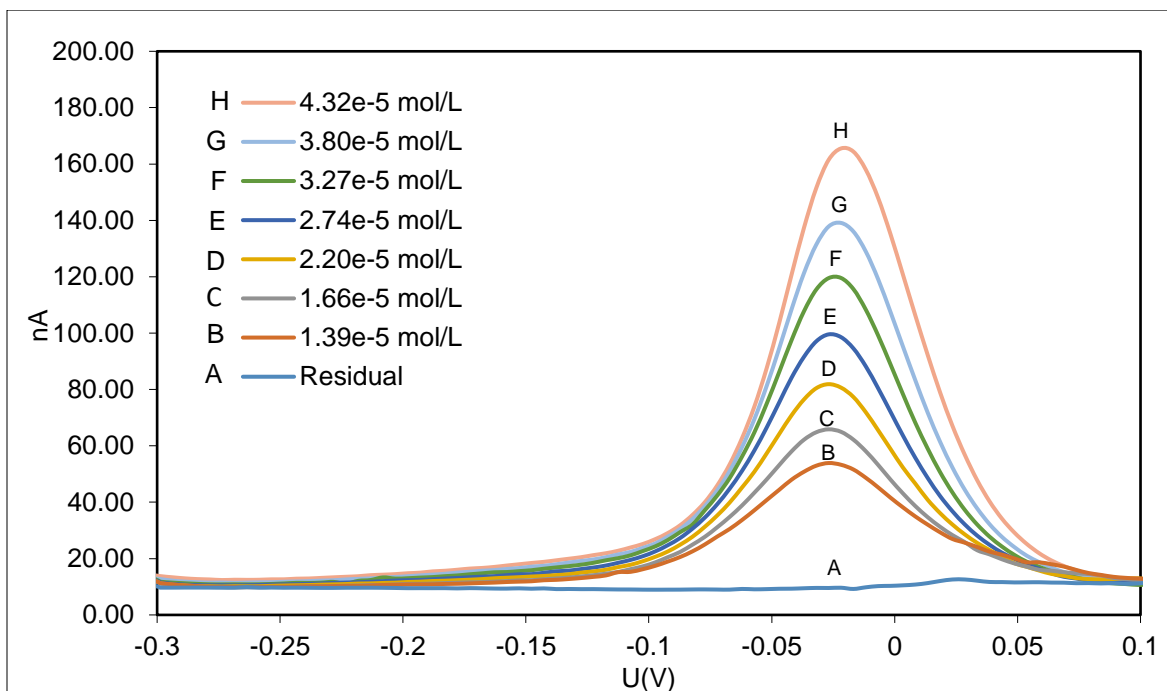


Fig. 10. Polarograma diferencial de impulsos obtenido para ácido clorogénico en 10.0 mL de solución LiClO_4 0.1 mol/L . Se realizaron adiciones de $25 \mu\text{L}$ de ácido clorogénico 0.001 mol/L , la señal comenzó a definirse a partir de $125 \mu\text{L}$ adicionados; se adicionaron $25 \mu\text{L}$ más y después las adiciones fueron de $50 \mu\text{L}$. La primera señal corresponde a una concentración en celda de $1.39 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ y la última a una concentración en celda de $4.32 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$. Potencial inicial = 0.22 V , Potencial final = -0.3 V , Amplitud de pulso = 50 mV , Velocidad de barrido = 5 mV/s

Al graficar los nmol de patrón de ácido clorogénico 0.001 molL^{-1} adicionados contra la Intensidad de corriente en nA se obtuvo una recta con ecuación $y=0.331x - 0.1666$ y un coeficiente de correlación R^2 de 0.9913 (figura 11).

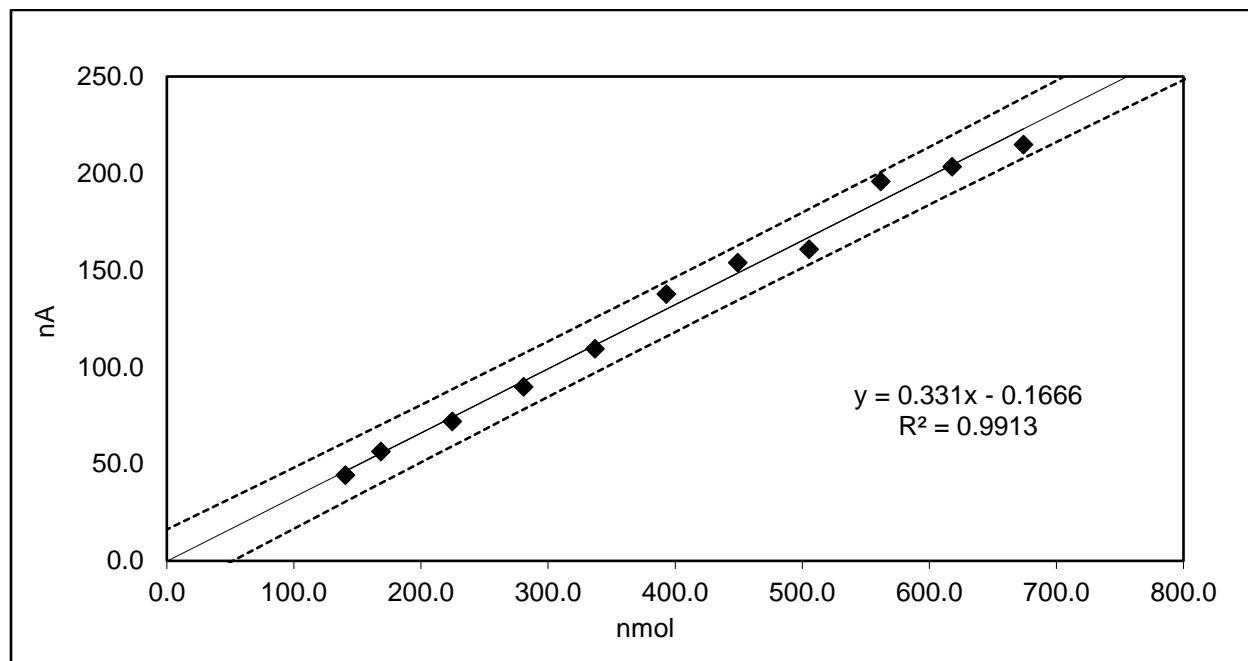


Fig. 11. Curva de calibración de ácido clorogénico en 10.0 mL de LiClO_4 0.1 molL^{-1} .

Se adicionaron de 300 a 400 μL de muestra con el fin de que la intensidad de corriente entrara en el intervalo lineal para una correcta medición.

En la figura 12 se indica la señal obtenida después de adicionar 300 μL de extracto 1/10 y la posterior adición de solución patrón de ácido clorogénico. Se aprecia una relación positiva y proporcional entre la adición de solución patrón y la intensidad de corriente registrada.

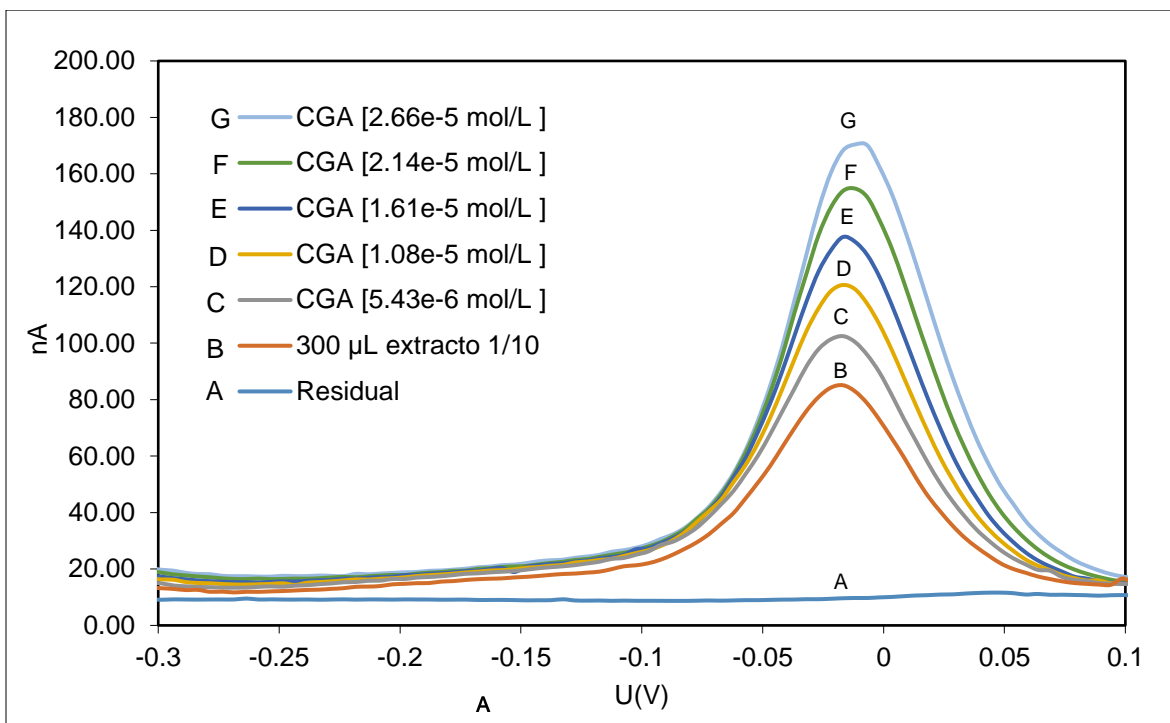


Fig. 12 Polarograma diferencial de impulsos obtenido para la muestra de café verde granos secos Huasteca, Huejutla (5 g extraídos con agua desionizada, llevado al aforo a 100.0 mL y diluido 1/10) en 10.0 mL de LiClO_4 0.1molL^{-1} . Se realizó una adición de 300 μL de muestra y después 5 adiciones de 50 μL de ácido clorogénico 0.001molL^{-1} , concentración en celda desde $5.43 \times 10^{-6}\text{molL}^{-1}$ hasta $2.66 \times 10^{-5}\text{molL}^{-1}$. Potencial inicial = 0.22 V, potencial final = -0.3 V, amplitud de impulso = 50 mV, velocidad de barrido = 5 mV/s.

Con la intensidad de corriente obtenida correspondiente a la oxidación del ácido clorogénico (figura 13), se trazó un gráfico de adiciones patrón graficando los nmol en celda contra la intensidad de corriente en nA, se realizó el cálculo mediante el método clásico realizando una extrapolación a la abscisa al origen para encontrar los nmol en la muestra cuando $y=0$ y también interpolando como indica la quimiometría, duplicando la intensidad inicial de la muestra para encontrar la cantidad de nmol iniciales adicionados en la muestra, obteniéndose el mismo valor con ambos métodos, se calculó el porcentaje de ácido clorogénico en la muestra expresado en base húmeda y seca.

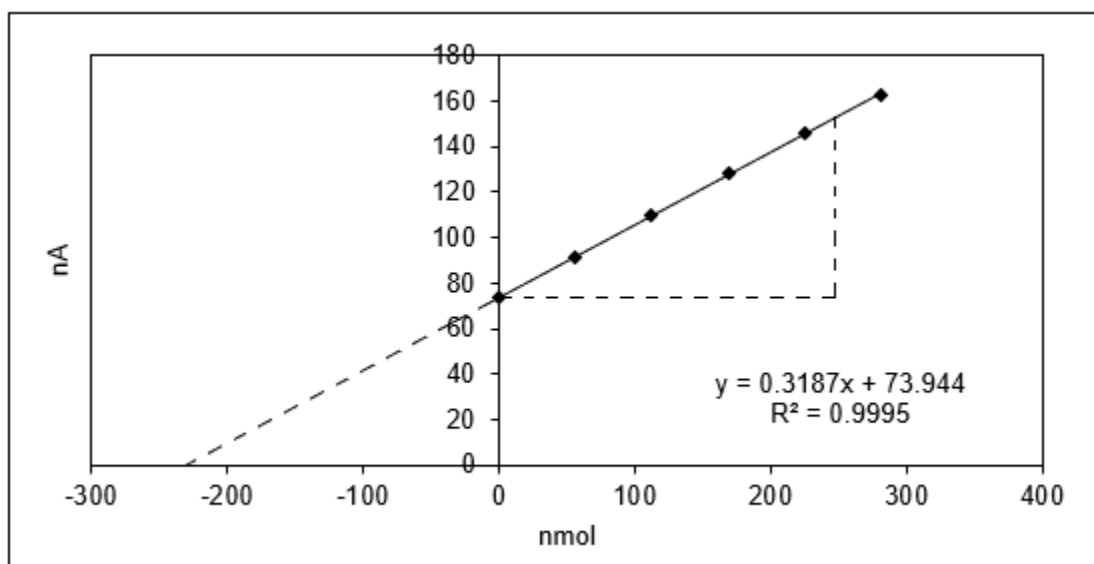


Fig. 13. Medición por adiciones patrón de ácido clorogénico 0.001molL^{-1} después de adicionar $300\ \mu\text{L}$ de muestra de café verde Huasteca, $10.0\ \text{mL}$ de electrolito soporte $\text{LiClO}_4\ 0.1\text{molL}^{-1}$, electrodo de gota de mercurio.

Ejemplo de cálculo

De la ecuación de la recta de la Fig. $Y = 0.3187x + 73.944$

Cuando $y = 0$

$$\frac{73.944\ \text{nA}}{0.3187\ \text{nA/nmol}} = 232.12\ \text{nmol}$$

232.02 nmol se encuentran en los 300 μL de extracto 1/10 adicionados, si esa cantidad de mol se encuentra en 300 μL , en 10 mL habrá:

232.02 nmol ----- 300 μL

x nmol ----- 10000 μL (10 mL)

x= 7733.92 nmol (=7.73 μmol)

A su vez, esos 7.73 μmol provienen de 1 mL del extracto llevado al aforo a 100 mL, por lo que en los 100 mL de extracto habrá 773.39 μmol de Ácido Clorogénico.

Si se convierten los μmol de ácido clorogénico a g de ácido clorogénico y se dividen entre la cantidad de muestra pesada y se multiplican por 100 se obtiene el porcentaje de ácido clorogénico por cada 100 gramos de muestra de café.

$$773.39 \mu\text{mol} \frac{1 \text{ mol}}{10^6 \mu\text{mol}} \frac{354.31 \text{ g de ácido clorogénico}}{\text{mol de ácido clorogénico}} \frac{100}{4.9709 \text{ g de café verde}} = 5.51\%$$

Se realizó una réplica del experimento dando como resultado un promedio de 5.56%

Para convertir el resultado en base seca se hace lo siguiente:

Para el caso de Café Huasteca que tiene un contenido de humedad del 14.86%

Si por cada 100 g de muestra húmeda hay 14.86 g de humedad, al restar 100 de los 14.86 g se obtiene la cantidad de muestra seca o de sólidos que hay por cada 100 g de muestra húmeda quedando:

100g de muestra – 14.86 g de humedad = 85.14 g de muestra seca.

Al multiplicar el contenido de ácido clorogénico en muestra húmeda por la cantidad de muestra seca y por cien para obtener porcentaje se obtiene lo siguiente:

$$\frac{5.56 \text{ g de ácido clorogénico}}{100 \text{ g de muestra húmeda}} \frac{100 \text{ g de muestra húmeda}}{85.14 \text{ g de muestra seca}} (100) = 6.52\%$$

De esta manera se obtuvieron los siguientes contenidos de ácido clorogénico en las muestras expresado en base seca (Tabla 8.0).

Tabla 8.0 Resultados del contenido promedio de ácido clorogénico en las muestras de café verde n= 2.

Muestra	Porcentaje de ácido clorogénico en la muestra (base húmeda) (%m/m)	Contenido de ácido clorogénico en la muestra (base seca) (%m/m)
Café Huasteca, Huejutla	5.56 ± 0.05	6.52 ± 0.06
Café Coatepec Veracruz	4.24 ± 0.25	4.79 ± 0.29
Café Tradicional Maya Vinic	5.35 ± 0.04	6.08 ± 0.05
Café Orgánico Maya Vinic	5.04 ± 0.09	5.71 ± 0.10
Café Robusta Coatepec Veracruz	5.70 ± 0.28	6.77 ± 0.33

Se observa en la tabla 8.0 que el café Robusta presenta la mayor cantidad de ácido clorogénico, le sigue el café Huasteca, el café tradicional Maya Vinic, el café Orgánico Maya Vinic, y finalmente el de Coatepec. De acuerdo con la literatura el ácido clorogénico tiene diversos beneficios a la salud [18,37], por lo que desde el punto de vista nutricional se podría asumir que los cafés con mayor contenido de ácido clorogénico son cafés de mejor calidad tomando como punto los beneficios que conlleva el ácido clorogénico; sin embargo, también hay que tener en cuenta que un exceso de ácido clorogénico puede generar acidez astringente y no deseada en el café preparado, y que generalmente los cafés con un mayor contenido de ácido clorogénico generan bebidas de menor calidad, así entonces, desde el punto de vista de que la calidad está representada por un café con un sabor más suave y agradable, el café Robusta sería de peor calidad, seguido del café Huasteca y el café Maya Vinic, y los de mejor calidad serían el café de Coatepec Veracruz y el Orgánico Maya Vinic. Es importante mencionar que durante el tostado se pierde más del 90% de ácido clorogénico, por lo que sería recomendable producir cafés

con distintos tuestes y evaluar el contenido final de ácido clorogénico y su impacto en el sabor de la bebida. Es importante mencionar que el café también se comercializa como suplemento dietético (como extracto en forma de cápsulas), por lo que un alto contenido de ácido clorogénico sería de interés para el tipo de industria que lo comercialice de esta manera [31]. En cuanto al contenido de ácido clorogénico, solamente el café de Coatepec Veracruz tiene un contenido ligeramente menor al intervalo reportado en la tabla 1.0 en el marco teórico; sin embargo, otros autores en años más recientes han reportado valores menores y con un intervalo más amplio. [16,27,29]

Determinación de cafeína

Para la cuantificación de Cafeína se utilizaron varios medios como electrolito soporte en la búsqueda de una señal de reducción u oxidación de dicha molécula. En la tabla 9.0 se indican los potenciales de las barreras anódica y catódica, así como el de la señal pico de cafeína y la reacción observada en los distintos medios usados como electrolito soporte. No se encontró información en la literatura sobre el proceso de la reacción en el electrodo.

Tabla 9.0 Potenciales de las barreras anódicas y catódicas de los electrolitos soportes utilizados, así como el potencial de pico de la señal de cafeína, y el tipo de reacción observada por polarografía clásica.

Electrolito soporte	E barrera catódica (V)	E barrera anódica (V)	Señal de cafeína (V)	Reacción
Buffer fosfatos pH 3 0.15 molL ⁻¹	-1.4300	0.3500	-0.0630	Oxidación
CH ₃ COONa 0.2 molL ⁻¹	-1.7000	0.2090	-0.0177	Oxidación
KH ₂ PO ₄ 0.2 molL ⁻¹	-1.5000	0.2700	-0.0424	Oxidación
Buffer acetatos pH 4.0 0.2 molL ⁻¹	-1.4500	-0.4790	-0.466 (señal única que decayó)	No determinada
Buffer amonio amoníaco 0.1 molL ⁻¹	-1.7500	0.0580	No se observó	---
HClO ₄ 0.1 molL ⁻¹	-1.0900	0.3000	-0.0630	Oxidación

En la tabla 9.0 se indica el límite de detección, límite de cuantificación, ecuación de la recta y coeficiente de correlación obtenidos a partir de las curvas de calibración elaboradas con la adición de una solución patrón de cafeína 0.00078 molL⁻¹ en los distintos electrolitos soportes mencionados.

Tabla 9.0 Ecuación de la recta, límite de detección y límite de cuantificación para la determinación de cafeína en los distintos electrolitos soportes utilizados.

Electrolito soporte	Ecuación de la recta	Coefficiente de correlación R²	LDD (ppm)	LDC (ppm)
Buffer Fosfatos pH 3 0.15 molL ⁻¹	Y= 0.8613x + 0.5313	0.9978	41.23	137.42
CH ₃ COONa 0.2 molL ⁻¹	Y= 0.067x +15.934	0.9783	37.56	124.88
KH ₂ PO ₄ 0.2 molL ⁻¹	Y= 0.2058x + 0.122	0.9914	0.18	0.58
Buffer Acetatos pH 4.0 0.2 molL ⁻¹	Y= 0.0802x + 4.5509	0.9965	0.20	0.67
HClO ₄ 0.1 molL ⁻¹	Y= 0.0915x + 2.3623	0.9899	49.15	163.84

Se decidió utilizar el medio KH₂PO₄ 0.2 molL⁻¹ ya que presentó un menor límite de detección y cuantificación, además de que la señal presentó mejor definición. En la figura 12 se observa mediante polarografía clásica que la reacción que ocurre corresponde a una oxidación. No se puede realizar la determinación simultánea de ambos analitos debido a la cercanía del potencial de ambos, por eso se decidió utilizar dos medios en donde las señales no se interfirieran.

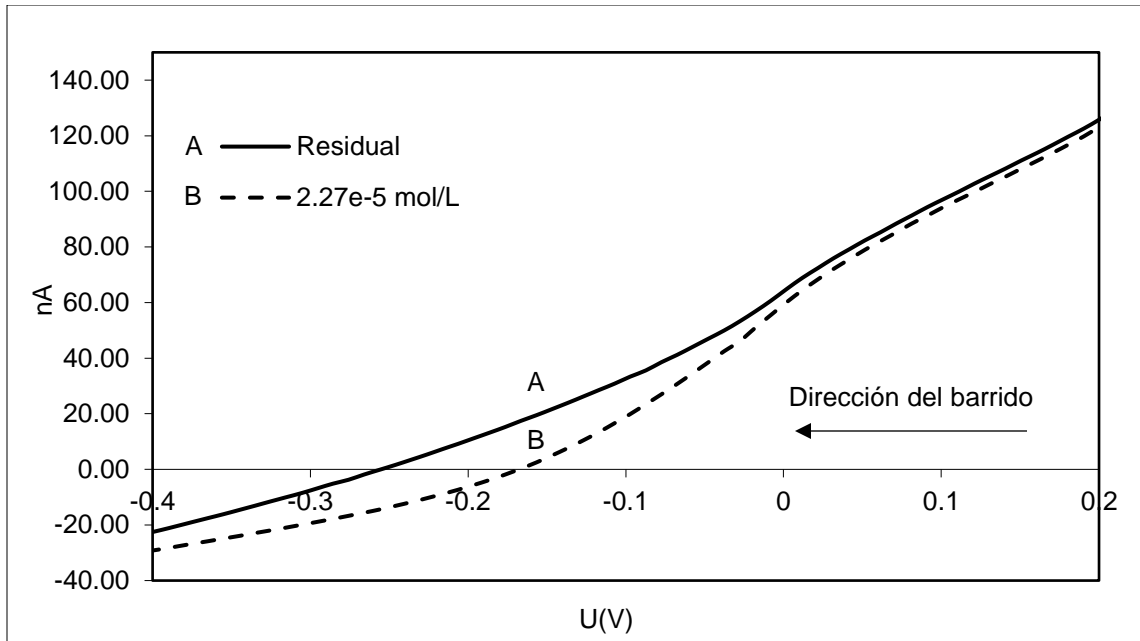


Fig. 14. Polarograma clásico obtenido para cafeína en 10.0 mL de KH_2PO_4 0.2 molL^{-1} . La línea A corresponde a la corriente residual, mientras que la B corresponde a la adición de $300 \mu\text{L}$ de cafeína $0.00078 \text{ molL}^{-1}$, concentración en celda de $2.27 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Potencial inicial = 0.27 V , Potencial final = -0.5 V , Amplitud de impulso = 50 mV , Velocidad de barrido = 5 mV/s

Con la señal obtenida mediante polarografía clásica se calculó el potencial de media onda (Fig. 14).

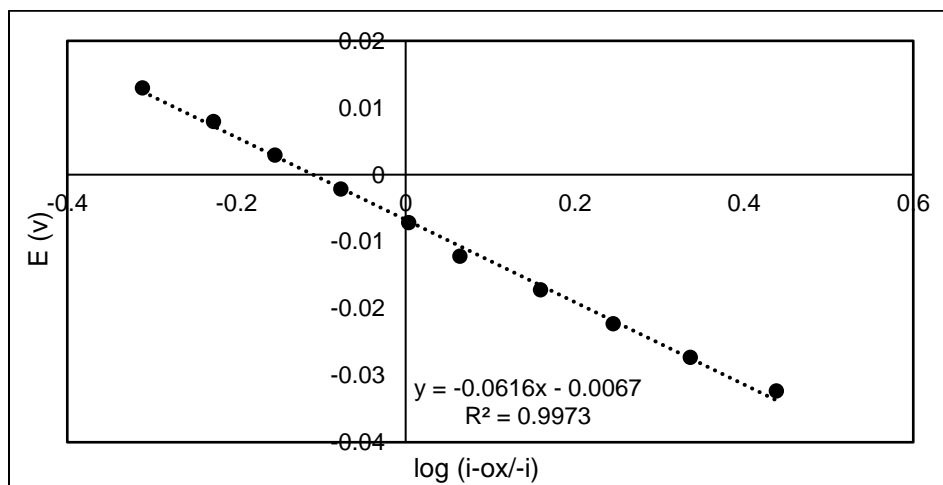


Fig. 15. Gráfica para la obtención del potencial de media onda para cafeína en medio KH_2PO_4 0.2 molL^{-1}

En la Fig. 15 se observa el crecimiento de la señal al realizar adiciones del patrón de cafeína $0.00078 \text{ molL}^{-1}$ y en la Fig. 23 se observa la curva de calibración de dichas adiciones, dando una ecuación $y=0.2058x + 0.1220$ y $R^2=0.9965$.

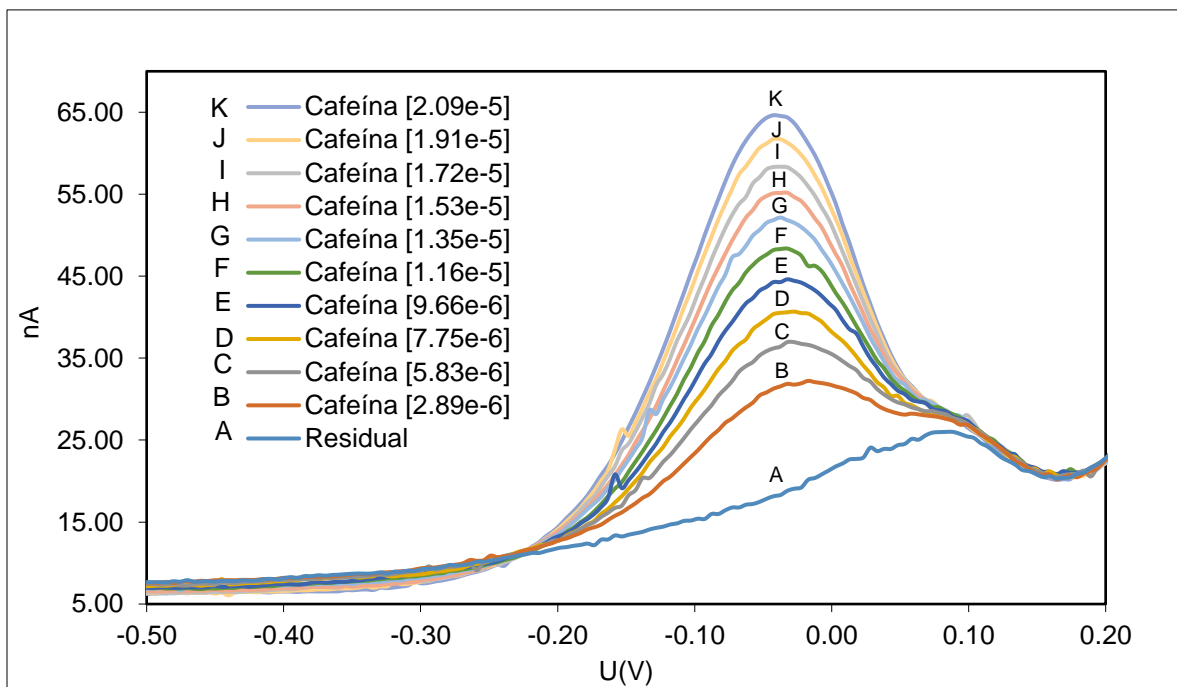


Fig. 16 Polarograma diferencial de impulsos obtenido para cafeína en 10.0 mL de solución KH_2PO_4 0.2 molL^{-1} pH 4. Se realizó una primera adición de $50 \mu\text{L}$ de solución de cafeína $0.00078 \text{ molL}^{-1}$, después se realizaron 9 adiciones de $25 \mu\text{L}$, con una concentración en celda inicial de $2.89 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ a una concentración final de $2.09 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$. Potencial inicial = 0.27 V . Potencial final = -0.5 V , amplitud de impulso = 50 mV , velocidad de barrido = 5 mV/s

En la figura 17 se muestra la curva de calibración elaborada con la intensidad de las señales obtenidas de la figura 22 graficadas contra los nmol de cafeína adicionados a la celda.

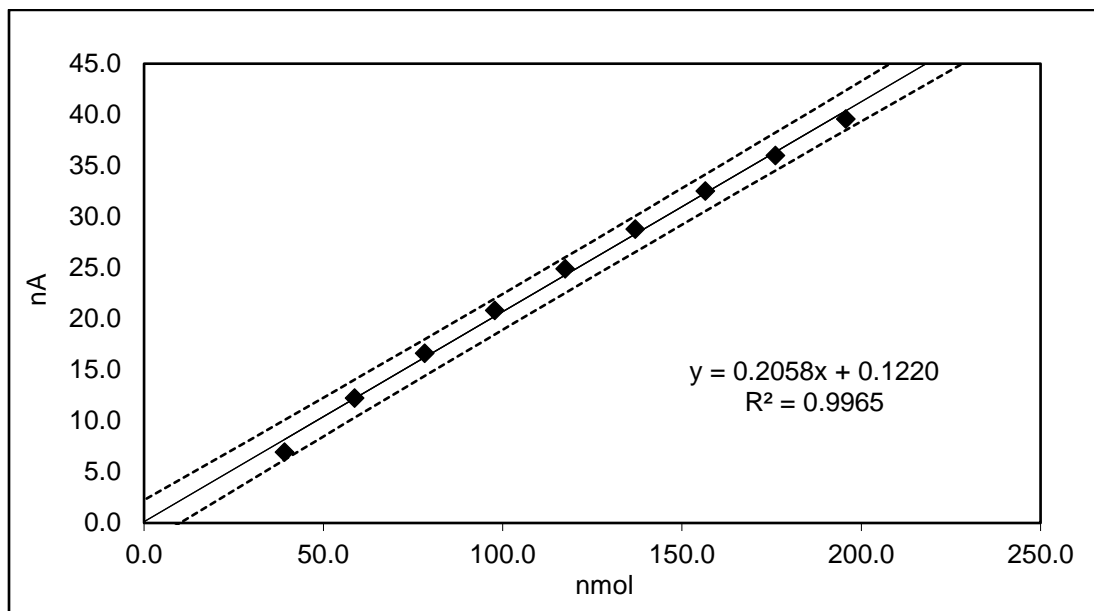


Fig. 17. Curva de calibración de cafeína en medio KH_2PO_4 0.2 molL^{-1}

Cuando se trató de medir la muestra se observó que la señal crecía en un momento y después dejaba de hacerlo, lo que hizo imposible la medición por adiciones patrón en la misma celda como se realizó al medir ácido clorogénico. Este fenómeno también se presentó en los otros medios, de manera que se utilizaron extractos enriquecidos con cafeína 0.01 molL^{-1} , los cuales fueron medidos limpiando la celda y colocando de nuevo la solución de electrolito soporte después de cada medición de extracto enriquecido. Para hacerlo más visual se obtuvieron los datos en Excel de las gráficas medidas por el equipo y se les restó a cada una su residual correspondiente para observar el incremento de las señales, en la Fig. 18 se observan las señales resultantes. Al graficar la señal obtenida para la muestra sola y enriquecida con distintas cantidades de cafeína contra los n mol adicionados contra la intensidad de corriente en nA se obtiene una gráfica lineal con ecuación $y=0.176x + 5.5371$ y una $R^2= 0.9904$ (fig. 19).

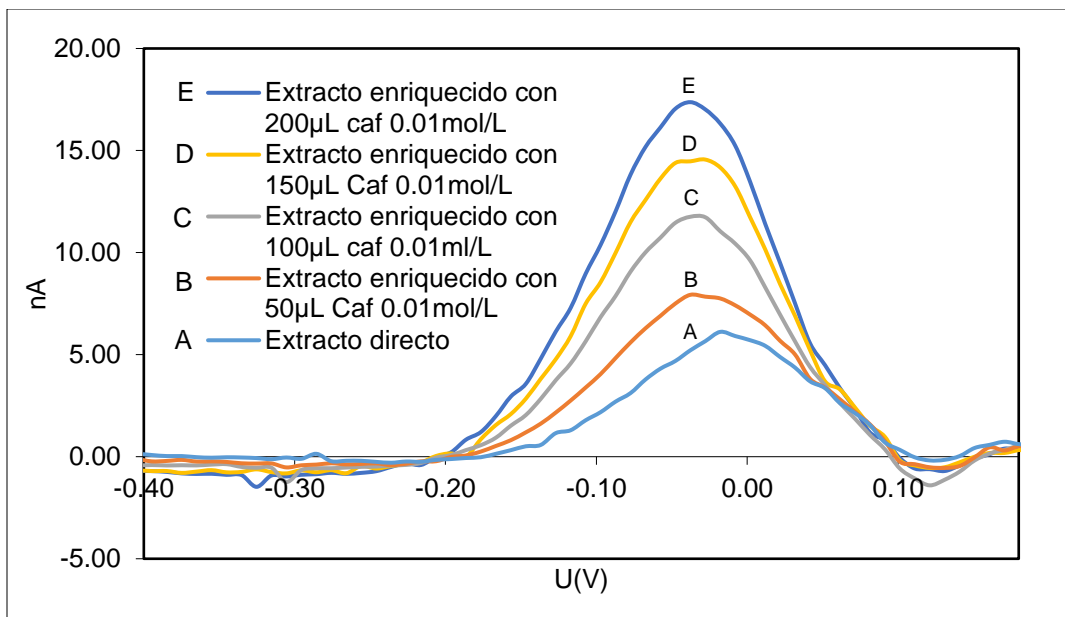


Fig. 18. Polarograma diferencial de impulsos obtenido para la muestra de café verde Robusta en 10.0 mL de solución KH_2PO_4 0.2 molL^{-1} . Se realizó la medición de 50 μL de muestra, 50 μL de muestra enriquecida con 50 μL de cafeína 0.01 molL^{-1} , 50 μL de muestra enriquecidos con 100 μL de cafeína 0.01 molL^{-1} y así sucesivamente. Potencial inicial = 0.27 V, Potencial final= -0.5 V, Amplitud de impulso= 50 mV, Velocidad de barrido= 5 mV/s

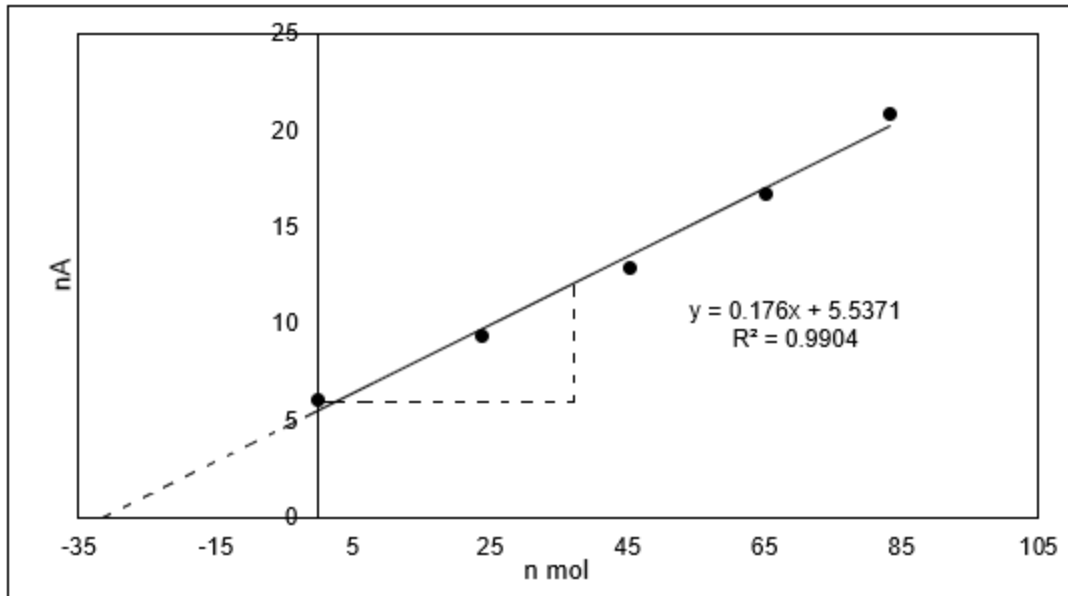


Fig. 19 Medición por adiciones patrón de muestra café verde robusta y extractos enriquecidos con cafeína 0.01molL^{-1} , 10.0 mL de electrolito soporte KH_2PO_4 0.2molL^{-1} , Electrodo de gota de mercurio.

Ejemplo de Cálculo

De la ecuación de la recta de la Fig. $Y = 0.176x + 5.5371$

Cuando $y = 0$

$$\frac{5.5371 \text{ nA}}{0.176 \text{ nA/nmol}} = 31.4608 \text{ nmol}$$

31.4608 nmol se encuentran en los $50 \mu\text{L}$ de extracto $1/10$ adicionados, si esa cantidad de mol se encuentra en $50 \mu\text{L}$, en 10 mL habrá:

$$31.4608 \text{ nmol} \text{ ----- } 50 \mu\text{L}$$

$$x \text{ nmol} \text{ ----- } 10000 \mu\text{L} (10 \text{ mL})$$

$$x = 6292.16 \text{ nmol} = 6.29 \mu\text{mol}$$

A su vez, esos $6.29 \mu\text{mol}$ provienen de 1 mL del extracto que se llevó al aforo a 100 mL , por lo que en los 100 mL de extracto habrá $629.21 \mu\text{mol}$ de Cafeína.

Si se convierten los nmol de Cafeína a g de Cafeína y se dividen entre la cantidad de muestra pesada y se multiplican por 100 se obtiene el porcentaje de cafeína por cada 100 gramos de muestra de café.

$$629.21 \text{ nmol} \frac{1 \text{ mol}}{10^6 \text{ nmol}} \frac{194.19 \text{ g de Cafeína}}{\text{mol de Cafeína}} \frac{100}{5.0059 \text{ g de café verde}} = 2.44\%$$

Se realizó el mismo cálculo para obtener el contenido de cafeína expresado en base seca.

Ejemplo:

$$\frac{2.44 \text{ g de Cafeína}}{100 \text{ g de muestra húmeda}} \frac{100 \text{ g de muestra húmeda}}{88.44 \text{ g de muestra seca}} (100) = 2.88\%$$

Tabla 10. Resultados del contenido de cafeína de las muestras (%m/m), n=1.

Muestra	Porcentaje de cafeína en la muestra (base húmeda)	Porcentaje de cafeína en la muestra (base seca)	Relación cafeína/ácido clorogénico (base seca)
Café Huasteca, Huejutla	1.42	1.67	0.26
Café Coatepec Veracruz	1.76	1.99	0.42
Café Tradicional Maya Vinic	1.24	1.40	0.23
Café Orgánico Maya Vinic	1.67	1.90	0.33
Café Verde Robusta Coatepec Veracruz	2.44	2.88	0.43

En la tabla 10.0 se observan los resultados del contenido de cafeína en las muestras; se aprecia que el café Robusta, el café orgánico Maya Vinic y el Café de Coatepec Veracruz contienen la mayor cantidad de Cafeína. Es interesante mencionar que los cafés arábicas que presentaron la menor cantidad de Ácido Clorogénico son los que presentan la mayor cantidad de Cafeína, como se puede observar con el Café Orgánico y el Café Coatepec Veracruz los cuales presentan mayor contenido de cafeína y menor contenido de ácido clorogénico en comparación con el Café Huasteca y el Café Tradicional Maya Vinic. Se han reportado contenidos de cafeína inversamente correlacionados con el contenido total de ácido clorogénico en las muestras de café analizadas [57]. El contenido de las muestras corresponde con resultados encontrados en la literatura [19, 28, 29]. Si se toma en cuenta que valores mayores de cafeína dan cafés de mejor calidad, se consideraría al café de Coatepec Veracruz y al orgánico Maya Vinic como cafés de mejor calidad, en el caso del café Verde Robusta se sabe que esta variedad contiene la mayor cantidad de cafeína, y los estudios sobre calidad del café con base a su contenido de cafeína se han realizado con cafés arábicas, por lo que no se puede asegurar necesariamente que también será de mejor calidad [19,27].

Como se sabe que la cafeína tiene un efecto positivo en la calidad de la bebida y el ácido clorogénico un efecto negativo; se ha propuesto realizar un cociente entre cafeína y ácido clorogénico de manera que aquellos cafés con un valor mayor serán aquellos de los cuales se pueda obtener una mejor bebida, coincidiendo nuevamente el café de Coatepec Veracruz y el orgánico Maya Vinic como los mejores cafés. Este cociente ya ha sido utilizado como indicativo de la calidad del café [58]. Esta comparación excluye al café robusta debido a que los estudios sobre el café se han realizado en cafés arábicas (misma especie) y no en cafés robusta.

Determinación de azúcares reductores

Una vez preparada la solución de cobre electrolítico a partir de una lámina de cobre, se utilizó para valorar la solución de Fehling B usando el método de adiciones patrón para determinar su concentración; se añadieron 20 μL de Fehling B y se hicieron adiciones de solución patrón de cobre electrolítico de 20 μL , después se trazó el gráfico de adiciones patrón (figura 20). Se extrapolo el valor a la abscisa al origen y se calculó la concentración de Cu^{2+} en la solución de Fehling B.

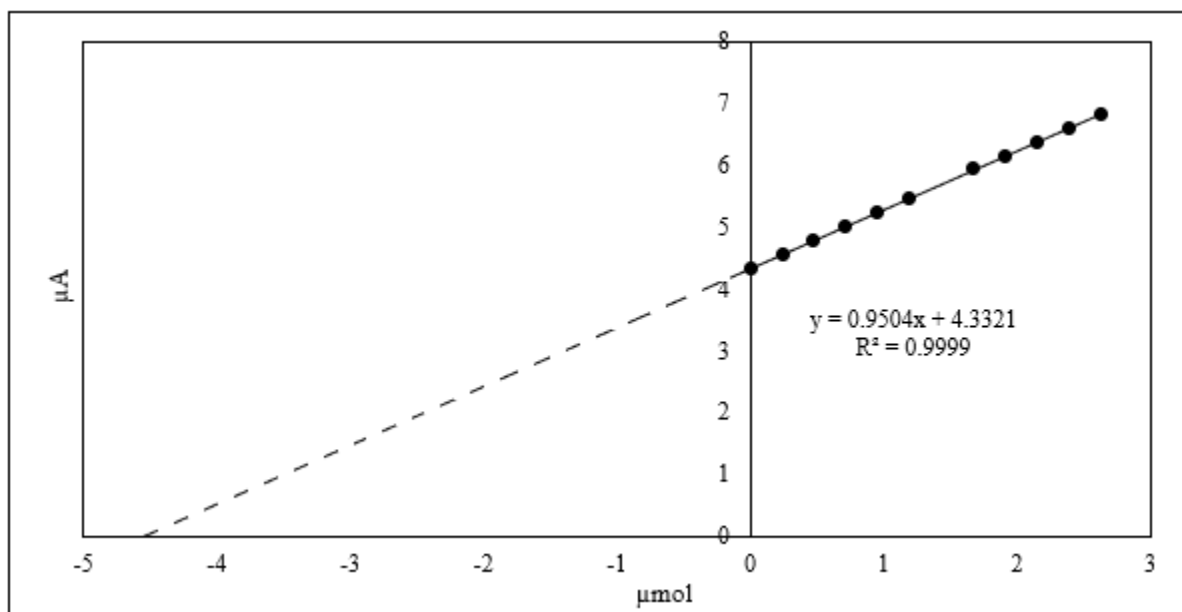


Fig. 20. Gráfico de adiciones patrón para la determinación de Cu^{2+} en la solución de Fehling B utilizando una solución de cobre electrolítico 0.0120 molL^{-1} medido por polarografía de impulsos en 10.0 mL de Buffer de Nitratos 0.5 molL^{-1} . Potencial inicial = 0.30V, Potencial final= -0.60V, Amplitud de impulso= 50 mV, Velocidad de barrido= 5 mV/s

Ejemplo de cálculo:

Al dividir la ordenada al origen entre la pendiente se obtuvieron los mol en celda adicionados de la solución de Fehling B.

$$\frac{4.3321 \mu\text{A}}{0.9504 \mu\text{A}/\mu\text{mol}} = 4.5582 \mu\text{mol} = 4.5582 \times 10^{-6} \text{ mol}$$

Al dividir la cantidad de mol en celda adicionados por el volumen de solución adicionada se obtiene la concentración molar de la solución de Fehling B:

$$\frac{4.5582 \times 10^{-6} \text{ mol}}{0.000020 \text{ L}} = 0.2279 \text{ mol L}^{-1}$$

Se preparó una solución de glucosa 0.0180 g/mL y se determinó la cantidad (mL) necesaria para consumir la cantidad de Cobre (Cu^{2+}) en 5.0 mL de Solución de Fehling B (Fig 21), el punto de equivalencia se observó después de adicionar 2.95 mL de glucosa a 5/6 del salto de potencial, valor que coincide con el vire del indicador azul de metileno, como se mencionó en la parte teórica.

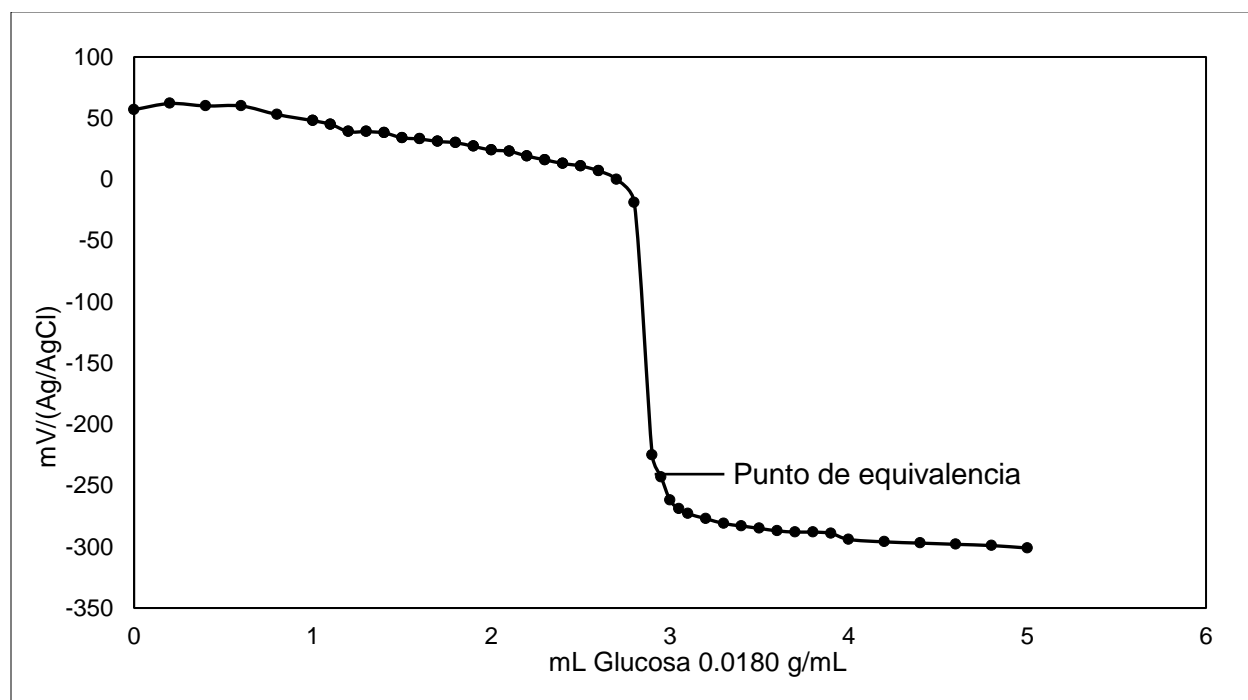


Fig. 21. Gráfico del seguimiento de la reacción de 5.0 mL de Fehling A y 5.0 mL de Fehling B con glucosa 0.0180g/mL, el punto de equivalencia se midió a 5/6 del salto de potencial.

Con estos valores se calculó la concentración real de la solución de glucosa y se calcula su pureza.

Ejemplo de cálculo:

Concentración teórica de la solución de glucosa:

$$1.8029 \text{ g Glucosa} \frac{\text{mol glucosa}}{180.16 \text{ g}} \frac{1}{0.1 \text{ L}} = 0.1001 \text{ mol L}^{-1}$$

Concentración real:

$$5 \text{ mL Cu}^{2+} \frac{0.2279 \text{ mol Cu}^{2+}}{1000 \text{ mL Cu}^{2+}} \frac{1 \text{ mol Glucosa}}{5 \text{ mol Cu}^{2+}} \frac{1000 \text{ mL/L}}{2.95 \text{ mL glucosa}} = 0.0773 \text{ mol L}^{-1}$$

Por regla de 3:

$$0.1001 \text{ mol L}^{-1} \text{ ----- } 100\%$$

$$0.0772 \text{ mol L}^{-1} \text{ ----- Pureza glucosa}$$

Pureza glucosa: 77.20%. Con este valor se obtuvo la concentración molar de la solución de glucosa preparada siendo esta de 0.0772 mol L⁻¹.

Después de adicionar la muestra, los azúcares reductores reaccionaron con el Cu²⁺ adicionado hasta quedar cierta cantidad de cobre en la solución en exceso; este exceso fue valorado con la solución de glucosa 0.0772 mol L⁻¹. En el caso de la muestra de café Coatepec Veracruz se utilizaron 2.70 mL de glucosa 0.0772 mol L⁻¹ al llegar al punto de equivalencia. Para obtener la cantidad de cobre con la que reaccionó la muestra se restó el volumen de glucosa que se utilizó al valorar el Fehling B (2.95 mL) con el volumen utilizado después de adicionar la muestra (2.70 mL) (figura 22).

Ejemplo:

$$2.95 - 2.70 \text{ mL Glucosa} = 0.25 \text{ mL Glucosa } 0.0772 \text{ mol L}^{-1}$$

$$0.25 \text{ mL Glucosa} \frac{0.0772 \text{ mol}}{1000 \text{ mL}} \frac{5 \text{ mol Cu}^{2+}}{1 \text{ mol Glucosa}} = 9.65 \times 10^{-5} \text{ mol Cu}^{2+} \text{ en muestra.}$$

Con la cantidad de Cobre que reaccionó con la muestra se puede obtener la cantidad de azúcares reductores en la muestra, refiriendo a la glucosa como azúcar reductor:

$$9.65 \times 10^{-5} \text{ mol Cu}^{2+} \frac{1 \text{ mol glucosa}}{5 \text{ mol Cu}^{2+}} \frac{180.16 \text{ g}}{1 \text{ mol Glucosa}} = 3.4771 \times 10^{-3} \text{ g de azúcar reductor.}$$

En el caso del café Coatepec Veracruz se pesaron 5.0059 g y el extracto se llevó al aforo a 100 mL, de ese extracto se tomaron 10 mL para la determinación, por lo que en los 10 mL había 0.50059 g de muestra. Para calcular el porcentaje de azúcares reductores en la muestra se realizó lo siguiente:

$$\frac{3.4771 \times 10^{-3} \text{ g de azúcar reductor}}{0.50059 \text{ g de café en alícuota}} \times 100 = 0.70\% \text{ de azúcares reductores.}$$

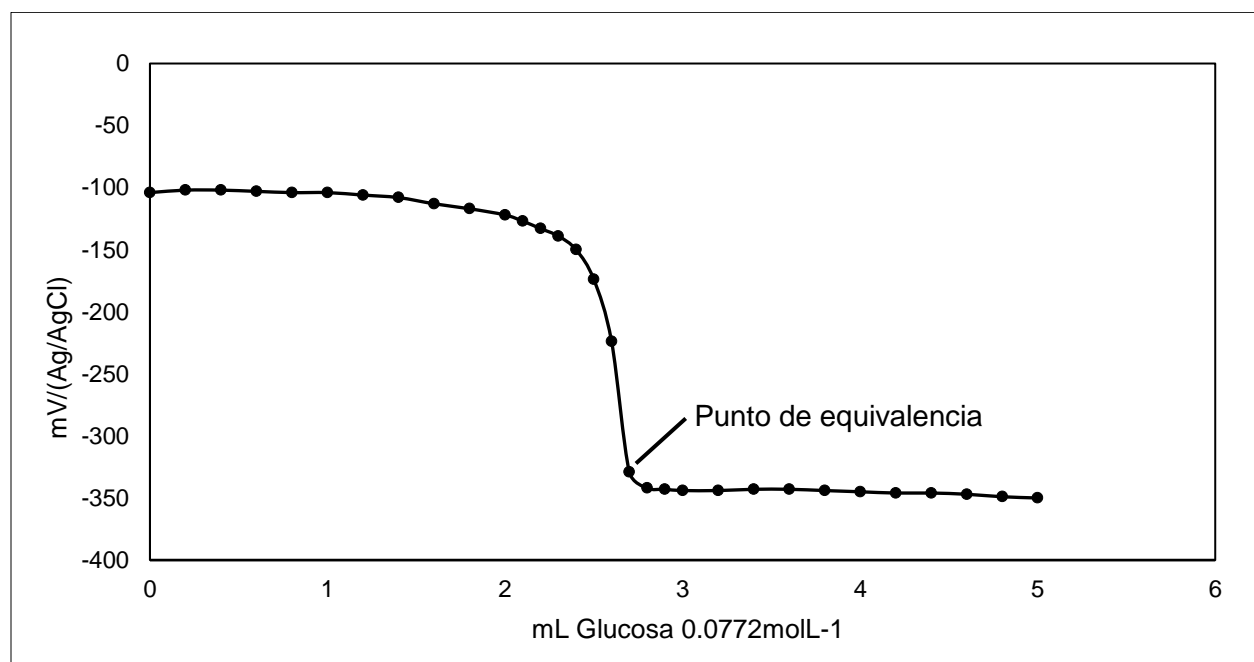


Fig. 22. Gráfico de la determinación de azúcares reductores de 10.0 mL de muestra de café Arábica Coatepec Veracruz con glucosa $0.0772 \text{ mol L}^{-1}$ en 5.0 mL de Fehling A y 5.0 mL de Fehling B, el punto de equivalencia se midió a $5/6$ del salto de potencial.

Tabla 11.0 Resultados del contenido promedio de azúcares reductores totales en las muestras de café analizadas (%m/m). Se presenta el factor (cafeína/ácido clorogénico) multiplicado por azúcares reductores (abreviado como Az. red.) n=2.

Muestra	ART (Base húmeda) (%m/m)	ART (Base seca) (%m/m)	$\left(\frac{\text{cafeína}}{\text{ácido clorogénico}}\right) \times \text{Az. red.}$
Café Huasteca	0.56 ± 0.00	0.65 ± 0.00	0.17
Café Coatepec Veracruz	0.70 ± 0.00	0.79 ± 0.00	0.33
Café Tradicional Maya Vinic	0.98 ± 0.20	1.27 ± 0.22	0.29
Café Orgánico Maya Vinic	1.32 ± 0.10	1.42 ± 0.11	0.47
Café Robusta Coatepec Veracruz	0.56 ± 0.00	0.66 ± 0.00	0.28

De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 11.0 se observa que el Café Orgánico y el Tradicional Maya Vinic son los cafés que presenta un mayor contenido de azúcares reductores totales, le sigue el café Coatepec y finalmente el café Robusta y el Huasteca con valores similares. Un valor más alto de azúcares reductores es indicativo de una bebida de mejor calidad debido a que estos azúcares son específicos del aroma y el sabor [23,24], por lo que el café orgánico Maya Vinic sería el de mejor calidad. Después seguiría el café Maya Vinic tradicional, el café Coatepec Veracruz y finalmente el café Huasteca. Se observan valores de azúcares reductores totales más altos al de los reportados en la literatura [9,19,21,22]. El valor más alto de azúcares reductores encontrado en la literatura fue de 0.71% [23]; si bien el café Robusta y el Huasteca se encuentran ligeramente por debajo de este valor, el café Maya Vinic Tradicional y Orgánico contienen casi el doble, podría ser que una parte de la glucosa se haya hidrolizado a fructosa y glucosa durante la extracción con Soxhlet, o que haya ocurrido

una hidrólisis enzimática, o durante la reacción de Fehling (debido a que se tomó el potencial a distintos volúmenes para trazar la gráfica el experimento tomó más tiempo, lo cual pudo ocasionar una hidrólisis debido al calentamiento y el pH básico del medio) [9,25,26]

Debido a la relación positiva entre el contenido de azúcares reductores y la calidad de taza de café, se propone multiplicar el cociente cafeína/ácido clorogénico utilizado anteriormente por el contenido de azúcares reductores con el fin de tener una visión más clara de la calidad (tabla 11.0); no se encontró información en la literatura para soportar esta propuesta, por lo que sería necesario encontrar una relación entre la calidad indicada por este factor y un estudio sensorial, por ejemplo. Se observa que considerando solamente el primer cociente el café Coatepec Veracruz era el de mejor calidad y el de peor el café tradicional Maya Vinic, y considerando multiplicar el cociente por el contenido de azúcares reductores, el café de Coatepec pasa a segundo lugar y queda el café orgánico como café de mejor calidad; así mismo, el café tradicional Maya Vinic pasa de ser el de peor calidad a la tercera posición y el Huasteca queda como el café de peor calidad.

Determinación de acidez

Se preparó una solución de NaOH 0.05 molL^{-1} y se estandarizó con biftalato de potasio por triplicado. El punto de equivalencia se determinó por viraje del indicador (fenolftaleína al 1%).

En la fig. 21 se observa la curva de valoración para el extracto de café Coatepec, Veracruz. Como se mencionó en el marco teórico, la curva no se encuentra definida debido a que el café contiene componentes que ejercen un efecto amortiguador en el pH [18] y aunque se utilizó fenolftaleína para ayudar a determinar visualmente el punto de equivalencia, fue difícil determinar en qué momento fue el vire ya que el café cambia de un color amarillo a verde al aumentar el pH, sin embargo, gracias al método de la primera derivada se encontraron dos puntos de equivalencia, el primero en un pH cercano a 7 y el segundo en un pH cercano a 10.5-11.

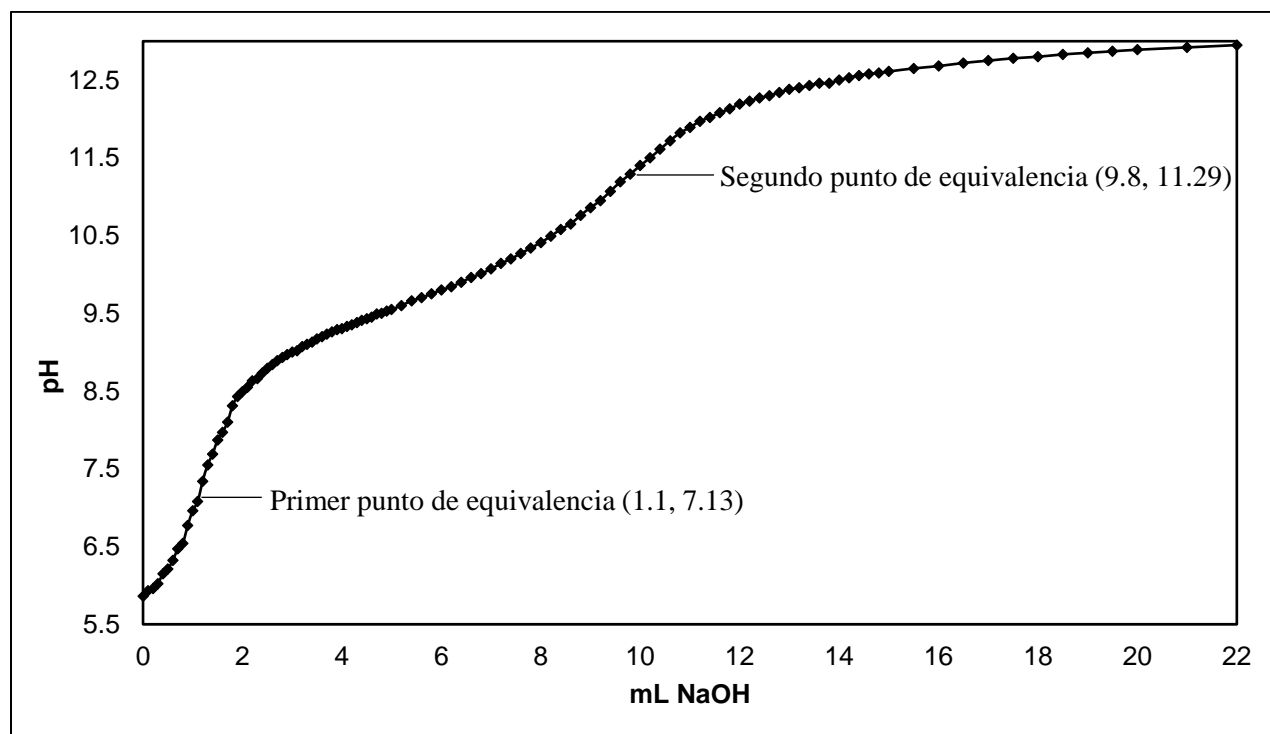


Fig. 21. Valoración ácido-base seguida de manera potenciométrica de 25.0 mL de extracto de café orgánico (5 g extraídos y llevados al aforo a 100.0 mL) con la disolución estandarizada de NaOH 0.0475 molL^{-1} .

Tabla 12 Resultados de acidez en base húmeda

Muestra	pH	Acidez 1er P. eq. (meq. H+/kg café)	Acidez 2do P. eq. (meq. H+/kg café)	Acidez total (meq. H+/kg café)
Café Verde Huasteca, Huejutla	5.9	38 ± 0	367 ± 0	405 ± 0
Café Verde Coatepec Veracruz	5.8	29 ± 3	238 ± 3	266 ± 0
Café Verde Tradicional	5.7	51 ± 2	369 ± 22	420 ± 24
Café Verde Orgánico	5.8	42 ± 0	307 ± 11	439 ± 11
Café Verde Robusta	5.6	34 ± 0	395 ± 16	429 ± 16

Tabla 13 Resultados de acidez en base seca

Muestra	Acidez 1er P. eq. (meq. H+/Kg café)	Acidez 2do P. eq. (meq. H+/Kg café)	Acidez total (meq. H+/Kg café)
Café Verde Huasteca, Huejutla	45 ± 0	431 ± 0	476 ± 0
Café Verde Coatepec Veracruz	32 ± 3	269 ± 3	301 ± 0
Café Verde Tradicional	58 ± 2	419 ± 25	477 ± 27
Café Verde Orgánico	47 ± 0	438 ± 12	396 ± 12
Café Verde Robusta Coatepec Veracruz	40 ± 0	466 ± 19	506 ± 19

En la tabla 12 y 13 se encuentran los resultados de acidez calculados en los puntos de equivalencia, así como la acidez total expresados como meq. H⁺/kg de café, en base húmeda y base seca respectivamente.

Los valores de acidez para las muestras de café en el primer punto de equivalencia son bajos, ya que si se expresan como porcentaje de ácido clorogénico (ácido más abundante en el café [5]) se obtienen valores cercanos al 1%, mientras que como se menciona en la determinación de ácido clorogénico, los valores se encuentran entre 4.79 y 6.77%. El valor bajo se debe a que al pH en el que se encuentran los extractos [5.6 a 5.9, tabla 12), una gran proporción de ácido clorogénico se encuentra como carboxilato, (el pka del ácido clorogénico es de 3.5 [50]) por lo que no es valorado completamente, lo mismo sucede con los otros ácidos que comparten un pka similar [18], por esta razón no es ideal utilizar el primer punto de equivalencia para determinar la acidez.

En el segundo punto de equivalencia se da más énfasis a los compuestos fenólicos [18]. Se observa que el café robusta presenta una mayor acidez, seguido del café Huasteca y el café verde tradicional. Si bien los compuestos fenólicos son responsables del aroma en el café tostado debido a su participación en la formación de melanoidinas y otros compuestos productos de la reacción de Maillard, también pueden ocasionar la inhibición de la formación de compuestos aromáticos y de sabor clave en el café tostado [59,60]. El café Coatepec, Veracruz y el café orgánico vuelven a presentar valores indicativos de una mejor calidad. Debido a la gran diferencia en miliequivalentes de H⁺ entre el primer y segundo punto de equivalencia, la acidez total presenta el mismo comportamiento que la acidez al segundo punto de equivalencia. Teniendo en cuenta que una mayor acidez está relacionada con un mayor contenido de ácido clorogénico y por lo tanto una menor calidad de la bebida [5,17,17], los cafés con mejor calidad serían el café Coatepec y el Café Orgánico, en este caso el café Coatepec presenta la menor acidez. La acidez no podría utilizarse por sí sola para determinar la calidad del café ya que existen otros ácidos que pueden influir en el resultado, además de que dependiendo del pH algunos ácidos carboxílicos podrían encontrarse como sales teniendo un impacto diferente en la calidad del café [18]. Será necesario tostar el café y ver el cambio en la acidez producida por este proceso y su impacto en el sabor de la bebida.

En la tabla 14 se resumen los resultados experimentales obtenidos de cafeína, ácido clorogénico, acidez en el primer y segundo punto de equivalencia, así como la acidez total y los azúcares reductores totales, valores expresados en base seca.

Tabla 14 Composición total (base seca) (% m/m para el contenido de ácido clorogénico, cafeína y azúcares reductores y meq H⁺/kg de café para acidez en los puntos de equivalencia y acidez total)

Muestra/Determinación	Cafeína	Ácido clorogénico	Acidez			Azúcares reductores
			1er p. eq.	2do p. eq.	Acidez total	
Café Huasteca, Huejutla	1.67	6.52	45	431	476	0.65
Café Coatepec, Veracruz	1.99	4.79	32	269	301	0.79
Café tradicional	1.40	6.08	58	419	477	1.27
Café orgánico	1.90	5.71	47	438	396	1.42
Café robusta	2.88	6.77	40	466	506	0.66

En la tabla 15 se agruparon las 4 muestras de café arabica (se excluyó el café robusta por ser de diferente variedad) y en base a su contenido de cafeína, ácido clorogénico, acidez y azúcares reductores se estableció una clasificación de menor a mayor calidad, considerando cada parámetro individualmente, se observa que, tomando estos criterios individualmente, es difícil ordenarlo, ya que dependiendo del parámetro podrían ser de mayor o menor calidad.

Tabla 15 Clasificación de la calidad de las muestras de café verde arábica en base a su contenido de ácido clorogénico, cafeína, azúcares reductores y acidez en base a la calidad de bebida que se puede obtener de ellos.

Determinación	Menor← Calidad →Mayor			
Ácido clorogénico	Café Huejutla	Café Tradicional	Café Orgánico	Café Coatepec
Cafeína	Café Tradicional	Café Huejutla	Café Orgánico	Café Coatepec
Azúcares Reductores	Café Huejutla	Café Coatepec	Café Tradicional	Café Orgánico
Acidez 1er p. eq.	Café Huejutla	Café Tradicional	Café Orgánico	Café Coatepec
Acidez 2do p. eq.	Café Tradicional	Café Orgánico	Café Huejutla	Café Coatepec
Acidez total	Café Huejutla	Café Tradicional	Café Orgánico	Café Coatepec

Por eso se propone establecer como nuevos criterios de calidad la relación entre el contenido de cafeína y ácido clorogénico multiplicada por los azúcares reductores y todo esto dividido entre la acidez total (tabla 16). Si bien ya se ha mencionado la relación entre el cociente cafeína/ácido clorogénico y la calidad [58], no se han incluido la acidez y el contenido de azúcares reductores totales. Al considerar como criterio de calidad las 4 determinaciones hay una diferenciación mayor entre la calidad de los cafés analizados, quedando finalmente como el café de mejor calidad el café orgánico Maya Vinic, seguido del café de Coatepec, le sigue el café tradicional Maya Vinic y finalmente el café Huasteca como el café de peor calidad entre estas 4 muestras. Relacionar la calidad del café con base en estos factores aún es especulativo, es necesario realizar una evaluación sensorial y ver si los resultados se corresponden con lo establecido.

Tabla 16. Criterios de calidad, se utilizaron los contenidos de cafeína, azúcares reductores y ácido clorogénico en base seca (% m/m) y el valor de acidez total en eqH⁺/kg café para no manejar cifras tan pequeñas.

Café/Criterio	$\left(\frac{\text{cafeína}}{\text{ácido clorogénico}}\right)$	$\left(\frac{\text{cafeína}}{\text{ácido clorogénico}}\right) \times \text{Az. red}$	$\frac{\left(\frac{\text{cafeína}}{\text{ácido clorogénico}}\right) \times \text{Az. red}}{\text{Acidez}}$
Café Huasteca	0.26	0.17	0.36
Café Coatepec	0.42	0.33	1.10
Café tradicional	0.23	0.29	0.61
Café orgánico	0.33	0.47	1.19

Con la aplicación de estos criterios de calidad, el orden de calidad de las muestras de café estudiadas es:

Orgánico Maya Vinic > Coatepec Veracruz > Tradicional Maya Vinic > Huasteca



Antigua postal de Estambul que ilustraba los cafés de la capital otomana.

Conclusiones

- Se evaluó la cantidad de cafeína y ácido clorogénico mediante métodos electroquímicos sencillos, y que no requieren un tratamiento de la muestra más allá de su extracción y filtrado en varias muestras de café verde, el contenido de ambos compuestos se encuentra dentro del intervalo reportado en la literatura.
- Se presentaron dos puntos de equivalencia al realizar una valoración ácido base seguida de manera potenciométrica de los extractos de café con NaOH 0.0475 molL⁻¹. Se ha utilizado el valor de acidez total como criterio de calidad. El primer punto de equivalencia no corresponde con el contenido de ácido clorogénico debido a que al pH de las muestras 5.6 -5.9 una parte se encuentra como carboxilato. El contenido de azúcares reductores se encuentra ligeramente por arriba de lo reportado en la literatura, aunque no hay mucha información respecto al contenido en café verde, algunas razones ajenas a la naturaleza del café podrían ser debido a una hidrólisis enzimática o a una hidrólisis causada durante la reacción de Fehling.
- El contenido individual de cafeína, ácido clorogénico, azúcares reductores y acidez podría dar información sobre la calidad del café, se propuso una clasificación de las muestras de café con base en estos parámetros y su impacto en la calidad de acuerdo con la literatura, la cual no es muy clara, por lo que también se propone otra clasificación usando un factor que incluya los 4 parámetros en conjunto, el cual podría dar una visión más clara sobre su calidad.
- El método utilizado tiene la ventaja de que a partir de 100 mL de extracto de café se pueden realizar las 4 determinaciones.

Perspectivas

Establecer la calidad de distintos tipos de café de la variedad robusta.

Analizar una mayor cantidad de muestras para encontrar las condiciones y parámetros óptimos de medición.

Medir el contenido de sacarosa además del de azúcares reductores ya que durante el tueste la sacarosa es convertida en glucosa y fructosa, azúcares reductores que también participan en el sabor y aroma de la bebida obtenida.

Evaluar la calidad de los cafés analizados de manera sensorial para observar si un grupo de personas puede detectar diferencias de sabor en las muestras.

Hacer una comparación entre la calidad obtenida mediante los criterios de composición establecidos y la calidad obtenida mediante un análisis sensorial.

Conocer los efectos que tienen distintos tipos de tostado en el contenido de ácido clorogénico, cafeína, azúcares reductores y la acidez.

Bibliografía.

- [1] Wong, J., Guyot, S., Rodríguez, R., Gutiérrez, G., Contreras, J., Saucedo, G., & Aguilar, C. (2013). Alternativas Actuales para el Manejo Sustentable de los Residuos de Café en México. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. Vol. 5. No 10. P. 1. Junio 26 del 2019. Researchgate.
- [2] Belitz H., Grosch W. & Schieberle P. (2009). *Food Chemistry*. Berlin. Springer
- [3] Norma Mexicana NMX-F-013-SCF1-2010. Café puro tostado, en grano o molido, sin descafeinar o descafeinado-especificaciones y métodos de prueba
- [4] Norma Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados-Información comercial y sanitaria.
- [5] Sivetz M. & Desrosier N. (1979). *Coffee Technology*. Westport. AVI Publishing Company, INC.
- [6] Peña, J., Murúa, B., Santos, M., Reynoso, R., Romero, S., Vázquez, M. & Amaya, S. (2017). Extracción y Purificación de Cafeína y Ácido Clorogénico de Pulpa de Beneficio Húmedo de Café. Recuperado el 26 de Junio del 2019. Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León. <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume2/3/10/92.pdf>
- [7] Marín, C. & Puerta, G. (2008). Contenido de ácidos clorogénicos en granos de *Coffea arabica* L. y *C. canephora*, según el desarrollo del fruto. *Cenicafé* 59 (1). Pp. 7-28.
- [8] Tadesse Y., Tadese A., Saini R. & Pal R. (2013). Cyclic Voltammetric Investigation of Caffeine at Anthraquinone Modified Carbon Paste Electrode. *International Journal of Electrochemistry*. Vol. 2013. 7 Pages. Junio 26, 2019. Hindawi.
- [9] Clarke R. & Macrae R. (1989). *COFFEE Volume 1*. Chemistry. New York. Elsevier Science Publishers LTD.

- [10] Clifford M. (1975). The Composition of green and Roasted Coffee Beans. *Process Biochemistry*. Vol. 10(2). 20-23, 29. Consultado el 26 de Junio del 2019. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- [11] Reines M., Rodríguez C., Sierra A. & Magdalena M. (1998). *Lombrices de Tierra con Valor Comercial. Biología y Técnicas de Cultivo*. La Habana. Universidad de Quintana Roo.
- [12] Cuong T., Ling L., Quan G., Tiep T., Nan X., Qing C & Linh T. (2014). Effect Of Roasting Conditions On Several Chemical Constituents Of Vietnam Robusta Coffee. *Fascile VI – Food Technology*. Vol. 38. Pp 43-56. Febrero 22, 2019. The Annals of The University Dunarea de Jos of Galati.
- [13] SAGARPA. (2018). *Atlas Agroalimentario 2012-2018*. CDMX. SIAP.
- [14] Arroyo J., Sánchez F. & Barboza L. (2019). Infection model for analyzing biological control of coffee rust using bacterial anti-fungal compounds. *Mathematical Biosciences*. Vol. 307. pp. 13-14. Enero 12, 2019. ScienceDirect.
- [15] SAGARPA. (2017). *Planeación Agrícola Nacional 2017-2030*. CDMX. SAGARPA.
- [16] Moon J., Yoo H., & Shibamoto T. (2009). Role of Roasting Conditions in the Level of Chlorogenic Acid Content in Coffee Beans: Correlation with Coffee Acidity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 57. Pp. 5365-5369. 12 de Marzo de 2019. ACS Publications.
- [17] Puerta G. (2011). *Composición Química de una Taza de Café*. 12 de Marzo de 2019. CENICAFÉ.
https://www.cenicafe.org/es/index.php/nuestras_publicaciones/avances_tecnicos/avance_tecnico_0414
- [18] Clarke R. & Vitzhum O. (2001) *COFFEE Recent Developments*. Osney. Blackwell Science Ltd.
- [19] Farah A., Monteiro M., Calado V., Franca A. & Trugo L. (2006). Correlation between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. *Food Chemistry*. Vol 98, Issue 2. Pp. 373-380. 13 DE Marzo de 2019. ScienceDirect.

- [20] Varnam A. & Sutherland J. (1998). *Beverages, Technology, Chemistry and Microbiology*. Springer-Science+Business Media, B.V. UK.
- [21] Geromel C., Ferreira L., Davrieux F., Guyot B., Ribeyre F., Scholz M., Protasio L., Vaast P., Pot D., Leroy T., Filho A., Esteves I., Mazzafera P. & Marraccini P. (2008). Effects of shade on the development and sugar metabolism of coffee (*Coffea arabica* L.) fruits. *Plant Physiology and Biochemistry*. Vol. 46. Pp. 569-579. 26 de Junio, 2019. Researchgate.
- [22] Somogyi M. (1951). Notes On Sugar Determination. *Journal of Biological Chemistry*. Vol. 195. Pp. 19-23. Junio 26, 2019. *Journal of Biological Chemistry*.
- [23] Messias J., Melo E., Lacerda A., Braga J. & Cecon P. (2012). Determination of the influence of the variation of reducing and non-reducing sugars on coffee quality with use of artificial neural network. *Engenharia Agrícola*. Vol. 32(2). Pp. 354-360. Junio 26, 2019. Scielo.
- [24] Steiman S. (2003). *Method Development For Green Coffee Analysis and its Possible Application for Group Discrimination and Correlation of Green Coffee Chemistry with Cupping Quality (Tesis de Maestria)*. University of Hawaii. Hawaii.
- [25] Flament I. & Bessi re Y. (2001). *Coffee Flavor Chemistry*. John Wiley % Sons LTD. West Sussex. England.
- [26] Arya M. & Mohan L. (2007). An Impression of Coffee Carbohydrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol. 47(1). Pp. 51-57. Junio 26, 2019. Taylor & Francis Online.
- [27] Franca A., Mendonca J. & Oliveira S. (2005). Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *Swiss Society of Food Science and Technology*. Vol. 38. Pp. 709-715. Junio 26, 2019. Elsevier.
- [28] Hecimovic I., Belscak A., Horzic D & Komes D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*. Vol. 129, Issue 3. Pp. 991-1000. Junio 26, 2019. National Center for Biotechnology Information.

- [29] Jezka M., Sentowska A., Pyrzyrska K. & Paz de Peña M. (2016). Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology*. 242. 1403-1409. 26 de Junio, 2019. Springer Link.
- [30] Moores R., McDermoth D. & Wood T. (1948). Determination of Chlorogenic Acid in Coffee. Vol. 20. Pp. 620-624. Junio 26, 2019. *American Journal of Research Communication*.
- [31] Cromer M., Mai H., Richards K., Smith R. & Tran K. (2014). Determination of Chlorogenic Acid in Green Coffee Beans and Dietary Supplements Labeled Green Coffee Bean Extract Using LC-MS/MS. Marzo 14, 2019. U.S. Food And Drug Administration. https://www.researchgate.net/publication/268516392_Determination_of_Chlorogenic_Acid_in_Green_Coffee_Beans_and_Dietary_Supplements_Labeled_Green_Coffee_Bean_Extract_Using_LC-MSMS
- [32] Ayelign A. & Sabally K. (2013). Determination of Chlorogenic Acids (CGA) in Coffee Beans Using HPLC. *American Journal of Research Communication*. Vol 1(2). Pp. 78-91. 26 de Junio, 2019. *American Journal of Research Communication*.
- [33] Selmar D., Bytof G. & Knopp S. (2008). The Storage of Green Coffee (*Coffea arabica*): Decrease of Viability and Changes of Potential Aroma Precursors. *Annals of Botany*. Vo. 101. Pp. 31-38. Junio 26, 2019. National Center for Biotechnology Information.
- [34] Raseetha S. & Abdullah N. (2016). Implications of Inappropriate Storage Temperatures in Harvested Green Coffee (Robusta Sp.) Beans to Antioxidant Properties and Polyphenol Oxidase Activity. *Transactions on Science and Technology*. Vol. 3(1-2). Pp. 193-202. Junio 26, 2019. *Transactions on Science and Technology*.
- [35] Cilliers J. & Singleton V. (1991). Characterization of the Products of Nonenzymic Autoxidative Phenolic Reactions in a Caffeic Acid Model System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 39. Pp. 1298-1303. Junio 26, 2019. ACS Publications.

- [36] Ismail I., Anuar M., & Shamsudin R. (2012). Effect On the physico-chemical properties of liberica green coffee beans under ambient storage. *International Food Research Journal*. Vol. 20(1). Pp. 255-264. Junio 26, 2019. *International Food Research Journal*.
- [37] Greenberg J., Boozer C. & Geliebter A. (2006). Coffee, Diabetes and Weight Control. *American Journal of Clinical Nutrition*. Vol. 84. Pp 682-693. National Center for Biotechnology Information.
- [38] Salvador A. & Villanueva P. (2014). Determinación de cafeína por espectroscopia ultravioleta en café de grano, tostado y verde, obtenidas de cuatro estados de la república. (Tesis de Licenciatura). UNAM. Ciudad de México.
- [39] Oi-Wah L., Shiu-Fai L. & Yiu-Ming C. (1989). Simultaneous Determination of Ascorbic Acid, Caffeine and Paracetamol in Drug Formulations by Differential-pulse Voltammetry Using a Glassy Carbon Electrode. *Analyst*. Vol. 114. Pp 1047-1051. Junio 26, 2019. National Center for Biotechnology Information.
- [40] Mayanna S. & Jayaram B. (1981). Determination of Caffeine Using Sodium N-Chloro-p-toluenesulphonamide. *Analyst*. Vol. 106. Pp. 729-732. Marzo 8, 2019. Royal Society of Chemistry.
- [41] Denton R. (2016). Chemical Analysis. 8 de Marzo del 2019. *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/science/chemical-analysis/Classical-methods>
- [42] Spiller A. (1998). *Caffeine*. Boca Raton, Florida. CRC Press.
- [43] Švorc L. (2013). Determination of Caffeine: A Comprehensive Review on Electrochemical Methods. *International Journal of Electrochemical Science*. Vol. 8. Pp. 5755 – 5773. Junio 26, 2019. *International Journal of Electrochemical Science*.
- [44] Jeon J., Kim H., Jeon I., Hong S., Oh M., Park K., Shim J. & El-Aty A. (2017). Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. *Journal of Chromatography B*. Vol 1064. Pp. 115-123. Marzo 8, 2019. ScienceDirect.

- [45] Magarelli G., Gomes J., Alves I., Séphora I., Rodriguez J., Viera L. & Silva C. (2013). Development and validation of a voltammetric method for determination of total phenolic acids in cotton cultivars. *Microchemical Journal*. Vol 109. Pp 23-28. Junio 26, 2019. ScienceDirect.
- [46] Milic S., Potkonjak N., Gorjanovic S., Veljovic-Jovanovic S., Pastor F & Suznjevic D. (2011). A Polarographic Study of Chlorogenic Acid and its Interaction with some Heavy Metal Ions. *Electroanalysis*. Vol 23. Pp. 2935-2940. Junio 26, 2019. Wiley Online Library.
- [47] A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis*. Association of Official Analytical Chemist. EUA.
- [48] Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (2004). Norma Técnica Colombiana 5247. Café Tostado, en Grano o Molido. Determinación de la Acidez Titulable. Bogotá.
- [49] Puerta G. (2000). Calidad en taza de algunas mezclas de variedades de café de la especie *Coffea arabica* L. *CENICAFÉ*. 51(1). Pp. 5-19.
- [50] Fuse T., Kusu F. & Takamura K. (1997). Determination of Acidity of Coffee by Flow Injection Analysis with Electrochemical Detection. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. Vol 45. Pp. 2124-2127. Junio 26, 2019. ACS Publications.
- [51] Skoog D., West D., Holler F. & Crouch S. (2005). *Fundamentos de Química Analítica*. THOMSON. México.
- [52] Reyes E., Rangel R., Manzanilla J., Barceló M & Dosal M. (2002). Voltammetric Determination of Caffeic Acid in Arnica Montana. *Analytical Letters*. Vol. 35 – Issue 6. PP. 971-984. Enero 31, 2019.. Taylor & Francis Online.
- [53] Karaosmanoglu H. (2014). PEDOT Electrodes as Redox Mediators for Determination of Antioxidants in Beverages (Tesis Doctoral). The University Of Auckland. Auckland.
- [54] Chao M. & Ma X. (2014). Voltammetric determination of chlorogenic acid in pharmaceutical products using poly(aminosulfonic acid) modified glassy carbon electrode. *Journal of Food and Drug Analysis*. Vol. 22, Issue 4. Pp. 512-519. 31 de Enero del 2019. De ScienceDirect.

- [55] Preza de la Vega. (2007). Estudio electroquímico aplicado a la cuantificación de azúcares en mieles. (Tesis de Licenciatura). UNAM. Ciudad de México
- [56] Gmelin L. (1987). Gmelin Handbook of Inorganic Chemistry, Sulfur Nitrogen Compounds Part 3. Berlin. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- [57] Mullen W., Nemzer B., Ou. B., Stalmach A., Hunter J., Clifford M. & Combet E. (2011). The Antioxidant and Chlorogenic Acid Profiles of Whole Coffee Fruits Are Influenced by the Extraction Procedures. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 59. Pp. 3754-3762. Junio 26, 2019. National Center for Biotechnology Information.
- [58] Jeon J., Kim H., Jeong I., Hong S., Oh M., Yoon M., Shim J., Jeong J. & El-Aty A. (2019). Contents of chlorogenic acids and caffeine in various coffee related products. Journal of Advanced Research. Vol. 17. Pp. 85-94. Agosto 2, 2019. ScienceDirect.
- [59] Laukaleja I. & Kruma Z. (2018). Quality of Specialty Coffee: Balance Between Aroma, Flavour and Biologically Active Compound Composition: Review. Food Science. Research for Rural Development. Vol. 1. Pp. 240-247. Junio 26, 2019. Latvia University of Life Sciences and Technologies.
- [60] Ho C., Mussinan C., Shahidi F. & Tratras E. (20013). Nutrition, Functional and Sensory Properties of Foods. UK. RSC Publishing.