

## DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS ACUOSOS DE TRES MARCAS DE CAFÉ (*Coffea arabica*) VENEZOLANOS

### DETERMINATION OF TOTAL PHENOLS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACTS OF THREE VENEZUELAN COFFEE (*Coffea arabica*) BRANDS

FRANKLIN PACHECO-COELLO<sup>1,2,3,4,\*</sup>, CORYMAR OROSCO-VARGAS<sup>1,3</sup>, MARÍA PERAZA-MARRERO<sup>1,3</sup>,  
 DORALYS RAMÍREZ-AZUAJE<sup>1,3</sup>, IBIS PINTO CATARI<sup>1,2,3</sup>

Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Sede Aragua, <sup>1</sup>Escuela de Bioanálisis, <sup>2</sup>Departamento de Ciencias Básicas, <sup>3</sup>Laboratorio de Metales Pesados y Solventes Orgánicos, <sup>4</sup>Instituto de Investigaciones Biomédicas "Dr. Francisco J. Triana Alonso" (BIOMED), Maracay, Venezuela

\*Correspondencia: Franklin Pacheco-Coello , E mail: pachecofranklin74@gmail.com

#### RESUMEN

A nivel mundial, el grano de café ha sido empleado en la elaboración de bebidas con alto contenido de compuestos químicos con actividad biológica. El estudio tuvo como objetivo comparar el contenido de fenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante en extractos acuosos, de tres marcas comerciales de café arábico. Se emplearon tres empaques de cada marca pertenecientes al mismo lote y fecha de expedición. Se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, método colorimétrico propuesto por Marinova y el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) para medir la actividad antioxidante. Las tres marcas comerciales presentaron concentraciones de fenoles totales y flavonoides semejantes a las reportadas a nivel mundial. La actividad antioxidante en cada extracto estuvo por encima del 50%. El café representa una importante vía de consumo de compuestos con actividad antioxidante. Sin embargo, su consumo debe ser el adecuado para lograr beneficios en el organismo.

**PALABRAS CLAVE:** Sustancia bioactiva, compuestos fenólicos, anti-radical.

#### ABSTRACT

Worldwide, the coffee bean has been used in the production of beverages with a high content of biologically active chemical compounds. The aim of the study was to compare the content of total phenols, flavonoids and antioxidant activity in aqueous extracts of three commercial brands of arabica coffee. The Folin-Ciocalteu method, the colorimetric method proposed by Marinova and the free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) method were used to measure the antioxidant activity. The three commercial brands presented concentrations of total phenols and flavonoids similar to those reported worldwide. The antioxidant activity in each extract was above 50%. Coffee represents an important way of consuming compounds with antioxidant activity. However, its consumption must be adequate to achieve benefits in the organism.

**KEY WORDS:** Bioactive substance, phenolic compounds, anti-radical.

Del grano de café (*Coffea arabica*), se obtiene una de las bebidas más populares en el mundo y su consumo aumenta cada día (Esquivel y Jiménez 2012, Nam 2015). Entre los países latinoamericanos productores de café arábica destacan: Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Jamaica, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, Salvador y Venezuela, siendo reconocida por producir uno de los cafés arábigos de mejor calidad (Miranda *et al.* 2007, Martínez 2012). El grano de café contiene diferentes sustancias bioactivas, y las cantidades de estas sustancias en el extracto de café, variarán dependiendo de la técnica de extracción utilizada (Kocadağlı y Gökmen 2016, Shang *et al.* 2017). Si se desea conocer el contenido real de las sustancias bioactivas contenidas en una taza de café, estas sustancias se deben extraer por el método tradicional de preparación con agua

caliente (Ludwing *et al.* 2014).

Los granos de café contienen antioxidantes como cafeína, ácidos fenólicos (cafeico y clorogénico), polifenoles y alcaloides; el contenido de estos componentes varía entre especies y lugar de origen y le dan al café la calidad de alimento funcional y nutracéutico (Naranjo *et al.* 2011). En los últimos años, se han llevado a cabo estudios exhaustivos sobre el contenido de sustancias bioactivas y propiedades nutracéuticas del café (Farah 2012), y por sus beneficios en prevenir enfermedades, se le clasifica como una bebida funcional. Estudios epidemiológicos han demostrado que reduce de manera significativa el riesgo de diabetes tipo 2, cirrosis hepática, cáncer de hígado y colorrectal, enfermedades cardiovasculares e inflamatorias (Fukushima *et al.* 2009) y enfermedades

neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson (Niseteo *et al.* 2012, Perrone *et al.* 2012). Se ha sugerido que existe un efecto positivo entre el consumo del café y la velocidad de raciocinio y una relación inversa con el riesgo de suicidio (Morais *et al.* 2008). Además, ha demostrado tener actividad anticariogénica *in vitro* e *in vivo* (Ferrazzano *et al.* 2009). Este efecto beneficioso se debe a la presencia de compuestos con propiedades antioxidantes (Perrone *et al.* 2012).

Lo planteado anteriormente llevó a establecer como objetivos, determinar la concentración de compuestos fenólicos totales y evaluar la actividad antioxidante de extractos acuosos de tres marcas de café, comercializadas en Venezuela, y así tener una referencia actual de la presencia de estos compuestos en una de las bebidas más consumidas por el venezolano.

Los empaques (tres por cada marca) de las tres marcas de café, se obtuvieron de un supermercado de la ciudad de Maracay, estado Aragua y uno de la ciudad de Caracas, Distrito Capital. Fueron evaluadas solamente marcas venezolanas, las cuales cuentan con registro sanitario.

Para la obtención del extracto acuoso, se utilizó la metodología propuesta por Jeszka-Skowron *et al.* (2015). Se mezclaron 5 g de la muestra de café con 100 mL de agua destilada y se colocaron en una plancha para calentarla hasta alcanzar la temperatura de 90°C y mantenerla 5 minutos a esta temperatura. Luego se procedió a filtrar la muestra a través de papel filtro Whatman #1 y se aforó a 100 mL con agua. Este extracto fue utilizado para la determinación de contenido de polifenoles totales, contenido de flavonoides y actividad antioxidante.

Para la determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante, se utilizó la metodología propuesta por Ayala-Zavala *et al.* (2012). El extracto de café (50 µL), fue mezclado con 3 mL de agua y 250 µL del reactivo Folin Ciocalteu 1N. Se dejó reposar por 8 min. Se adicionó 750 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20% y 950 µL de agua. Se dejó incubar por 30 min a temperatura ambiente y se procedió a leer las absorbancias en un espectrofotómetro UV/VIS Génesis 20 (Thermo Scientific). Se preparó una curva de calibración de Ácido Gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico de Sigma-Aldrich, Co.), con concentraciones de 50, 100, 200, 300, 400, 500 y 1000 ppm, disueltos en agua. Los resultados fueron expresados en mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de café (mg GAE/g C).

La determinación de flavonoides se realizó siguiendo un método colorimétrico, 100 µL de muestra fueron mezclados con 30 µL de NaNO<sub>2</sub> al 5% (p/v), 30 µL de AlCl<sub>3</sub> 10% (p/v), 200 µL de NaOH a 1M y ajustados con agua destilada hasta un volumen final de 1 mL, se realizó la lectura espectrofotométrica a 510 nm empleando el equipo de absorción molecular Génesis 20 (Thermo Scientific) y se comparó con la curva patrón usando como estándar (+)-catequina. Los resultados fueron expresados como mg de Catequina Equivalente/g de café (mg CE/ g C) (Marinova *et al.* 2005).

Para evaluar la actividad antioxidante se usó el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich Co®) con una solución 100 µM de DPPH en metanol al 80%. En una cubeta de cuarzo se colocaron 100 mL de extracto y 2,9 mL de DPPH. La absorbancia se valoró cada 5 min por 30 min a una longitud de onda de 515 nm. La absorbancia de referencia (A<sub>0</sub>) fue obtenida al sustituir el volumen de extracto por metanol al 80%. El porcentaje de reducción de DPPH se obtuvo de la expresión: DPPH (%) = (A<sub>0</sub>-A<sub>n</sub>) 100 / A<sub>0</sub>, donde A<sub>0</sub> y A<sub>n</sub> fueron las absorbancias de referencia y de la muestra, respectivamente (Soler-Rivas *et al.* 2000).

Todas las determinaciones se realizaron por triplicados y se expresaron los valores como los promedios ± la desviación estándar (DE). Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias (Tukey; *p* ≤ 0,05) usando el programa Statistix 9.0 para Windows.

### Fenoles totales y flavonoides en los extractos

El contenido de fenoles totales y flavonoides resultó ser mayor en los extractos precedentes de la marca 3 y menor los de la marca 2 (*p* = 0,039) y (*p* = 0,040). Entre la marca 1 y 2 no hubo diferencia significativa (*p* ≥ 0,05), tanto para fenoles totales como para flavonoides. Las media y desviación estándar de los extractos se expresan en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentración de fenoles totales (mg GAE/g C) y flavonoides (mg CE/g C).

| Compuesto       | Marca 1      | Marca 2      | Marca 3      |
|-----------------|--------------|--------------|--------------|
| Fenoles totales | 34,36 ± 0,98 | 27,65 ± 1,22 | 41,10 ± 1,14 |
| Flavonoides     | 22,12 ± 1,09 | 18,43 ± 1,32 | 32,20 ± 0,95 |

### Evaluación de la actividad antioxidante

De los tres extractos, la marca 3 fue la que presentó mayor porcentaje de actividad con 91% (Fig. 1). Con los datos obtenidos se calculó el IC<sub>50</sub> (concentración del extracto que reduce 50%

del radical libre) para ello se ajustó la concentración de cada marca a 200 µg.mL<sup>-1</sup>. Se observó diferencia significativa entre los extractos ( $p = 0,039$ ). La actividad de los extractos marca 1 y 2 fue similar ( $p \geq 0,05$ ) (Fig. 2).

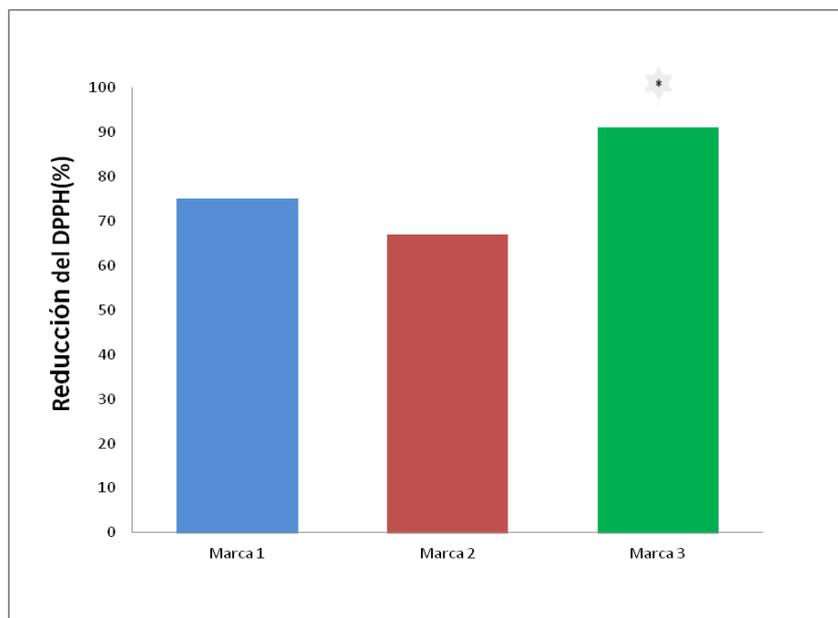


Figura 1. Actividad antioxidante de los extractos acuosos de café arábica de diferente procedencia.

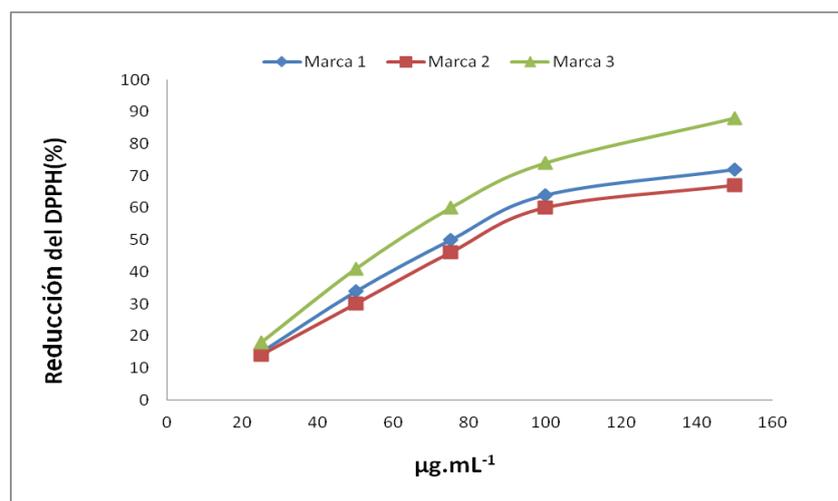


Figura 2. Actividad antioxidante (IC<sub>50</sub>) de los extractos acuosos.

El café es una de las bebidas más consumidas en todo el mundo por sus propiedades organolépticas, teniendo muchos cambios complejos que ocurren durante el tostado, incluyendo el cambio de color de verde a café (Del Castillo 2002). Las marcas evaluadas en esta investigación no especifican el grado de tostado del café.

Las tres marcas evaluadas presentaron niveles diferentes de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante, lo que puede estar asociado a lo encontrado por López-Galilea (2004) y Díaz *et al.* (2018), los cuales reportaron que con el tratamiento térmico del tostado existe una pérdida de compuestos fenólicos y por tanto afecta la actividad antioxidante.

La concentración de fenoles totales y flavonoides halladas en el estudio, están dentro del rango, encontrado en los diferentes tipos de cafés variedad arábica colombianos con tres tipos de tostados y reportados por Pérez-Hernández *et al.* (2012), y superior en el contenido de flavonoides encontrado por Hečimović *et al.* (2011) para cafés variedad arábica de Croacia.

En este sentido Lazcano-Sánchez *et al.* (2015), determinaron el contenido de fenoles, cafeína y actividad antioxidante en granos de café verde y con diferentes grados de tostado procedente de diferentes regiones de México, concluyendo que los granos de café verde mostraron una clara influencia del lugar de origen en el contenido de fenoles y cafeína, mientras que se encontró que el tostado afectó la composición química de los granos de café, aumentando el contenido de fenoles, pero disminuyendo la actividad antioxidante.

Vega *et al.* (2017), evaluaron el contenido de polifenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá, encontrando una correlación entre actividad antioxidante y polifenoles totales para cafés puros de especie arábica. Estos autores concluyen que los de polifenoles totales son componentes que aportan un porcentaje importante de la capacidad antioxidante del café.

Por último es importante destacar que dentro de la comunidad no científica, existe un desconocimiento de la presencia de otros compuestos químicos como los fenólicos determinados en este estudio, siendo la cafeína la relacionada directamente con el café. Así mismo como bebida funcional con capacidad antioxidante demostrada a nivel mundial el uso del café representar una alternativa real que podría aportar beneficios a la salud.

### AGRADAMIENTOS

Los autores agradecemos al Centro de Estudio en Salud de los Trabajadores de la Universidad de Carabobo (CEST-UC) y al Hotel Bermúdez C.A.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AYALA-ZAVALA JF, SILVA-ESPINOZA AB, CRUZ-VALENZUELA RM, VILLEGAS-OCHOA MA, ESQUEDA M, GONZÁLEZ-ÁGUILA GA, CALDERÓN-LÓPEZ Y. 2012. Antioxidant and antifungal potential of methanol extracts of *Phenillus* spp. from Sonora, México. *Rev. Iberoam. Micol.* 29(3):132-138.

DEL CASTILLO MA. 2002. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *Agric. Food Chemistry.* 50(1):3696-3708.

DÍAZ F, ORMAZA A, ROJANO B. 2018. Efecto de la tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el perfil de taza, contenido de compuestos antioxidantes y la actividad antioxidante. *Inf. Tecnol.* 29(4):31-42.

ESQUIVEL P, JIMÉNEZ V. 2012. Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Res. Int.* 46(1):488-495.

FARAH A. 2012. Coffee constituents. *In: Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention* by Ch. Yi- Fang. Editorial John Wiley & Sons, New York, USA, pp. 21-58.

FERRAZZANO GF, AMATO I, INGENITO A, NATALE A, POLLIO A. 2009. Anticariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia.* 80(5):255-262.

FUKUSHIMA Y, OHIE T, YONEKAWA Y, YONEMOTO K, AIZAWA H, MORI Y. 2009. Coffee and green tea as a large source of antioxidant polyphenols in the Japanese population. *J. Agric. Food Chem.* 57(4):1253-1259.

HEČIMOVIĆ I, BELŠČAK-CVITANOVIĆ A, HORŽIĆ D, KOMES D. 2011. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chem.* 129(1):991-1000.

JESZKA-SKOWRON M, ZGOLA-GRZESKOWIAK A, GRZESKOWIAK T. 2015. Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *Eur. Food Res. Technol.* 24(1):19-31.

KOCADAĞLI T, GÖKMEN V. 2016. Effect of roasting and brewing on the antioxidant capacity of espresso brews determined by the QUENCHER procedure. *Food Res. Int.* 12(1):243-255.

LAZCANO-SÁNCHEZ E, TREJO-MÁRQUEZ M, VARGAS-MARTÍNEZ M, PASCUAL-BUSTAMANTE S. 2015. Contenido de fenoles, cafeína y capacidad antioxidante de granos de café verdes y tostados de diferentes estados de México. *Rev. Iber. Tecnología Postcosecha.* 16(2):293-298.

LÓPEZ-GALILEA I. 2006. Influence of torrefactor roast on antioxidant and pro-oxidant activity

- of coffee. *Food Chem.* 94(1):75-80.
- LUDWING I, MENA P, CALANI L, CID C, DEL RÍO D, LEAN M, CROZIER C. 2014. Variations in caffeine and chlorogenic acid contents of coffees: what are we drinking? *Food Funct.* 5(1):1718-1726.
- MARINOVA D, RIBAROVA F, ATANASSOVA M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. *J. Univ. Chem. Technol. Metal.* 40(3):255-260.
- MARTÍNEZ L. 2012. El café venezolano, un cultivo en riesgo de desaparecer. Informe del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, pp. 13.
- MIRANDA G, VENTURA J, SUAREZ S, FUERTES C. 2007. Actividad citotóxica y antioxidante de los productos de la reacción de Maillard de los sistemas modelo de glucosa, glicina y de glucosa L-lisina. *Rev. Soc. Quím. Perú.* 73(4):215-225.
- MORAIS SAL, AQUINO FJT, NASCIMENTO EA, OLIVEIRA GS, CHANG R, SANTOS NC. 2008. Análise de compostos bioativos, grupos ácidos e da atividade antioxidante do café arábica (*Coffea arabica*) do cerrado e de seus grãos defeituosos (PVA) submetidos a diferentes torras. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 28(1):198-207.
- NAM V. 2015. Demanda se mantiene dinámica a pesar de otra caída del mercado de café. Informe de la Organización Internacional del Café, Inglaterra, pp. 5.
- NARANJO M, VÉLEZ LT, ROJANO BA. 2011. Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Rev. Cubana Plant. Med.* 16(2):164-173.
- NISETEO T, KOMES D, BELŠČAK-CVITANOVIĆ A, HORŽIĆ D, BUDEČ M. 2012. Bioactive composition and antioxidant potential of different commonly consumed coffee brews affected by their preparation technique and milk addition. *Food Chem.* 134(4):1870-1877.
- PÉREZ-HERNÁNDEZ LM, CHÁVEZ-QUIROZ K, MEDINA-JUÁREZ LA, GÁMEZ-MEZA L. 2012. Phenolic characterization, melanoidins, and antioxidant activity of some commercial coffees from *Coffea arabica* and *Coffea canephora*. *J. Mex. Chem. Soc.* 56(4):430-435.
- PERRONE D, FARAH A, DONANGELO CM. 2012. Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *J. Agric. Food Chem.* 60(17):4265-4275.
- SHANG Y-F, XU J-L, LEE W-Y, UM B-H. 2017. Antioxidative polyphenolics obtained from spent coffee grounds by pressurized liquid extraction. *S. Afr. J. Bot.* 109(1):75-80.
- SOLER-RIVAS C, ESPÍN J, WICHERS H. 2000. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytoche Anales.* 11(1):330-338.
- VEGA A, DE LEÓN J, REYES S. 2017. Determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá. *Inf. Tecnol.* 28(4):29-38.