



**ACADEMIA DE FARMACIA DE GALICIA**

Discurso de ingreso como Académica Correspondiente

**EL CAFÉ COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES  
Y COMPUESTOS BIOACTIVOS**

**ILMA. SRA. DÑA. MARÍA CONCEPCIÓN CID GARDA**

Discurso de presentación,  
EXCMO. SR. DR. D. ÁNGEL CORCHEIRO NIRE



Santiago de Compostela

30 de Octubre de 2013

© María Concepción Cid Canda  
Imprime y edita: NINO-Centro de Impresión Digital  
Rosalia de Castro, 58  
Santiago de Compostela  
Maquetación: Miguel A. Suárez  
ISBN: 978-84-941537-5-4  
Depósito Legal: C 1969-2013

# Índice

---

<b>PRÓLOGO</b> .....	<b>5</b>
<b>1. Introducción</b> .....	<b>7</b>
<b>2. Café verde</b> .....	<b>13</b>
2.1. Botánica y cultivo.....	13
2.2. Procesado: recolección y beneficiado .....	15
2.3. Composición del café verde .....	17
<b>3. Café tostado</b> .....	<b>29</b>
3.1. Proceso de tueste .....	29
3.2. Influencia del tueste en la composición química del café .....	31
<b>4. Bebida de café</b> .....	<b>43</b>
4.1. Metodologías de extracción.....	43
4.2. Composición y capacidad antioxidante de la bebida de café.....	46
4.3. Biodisponibilidad de compuestos de interés .....	50
<b>5. Más allá del café</b> .....	<b>55</b>
<b>6. Conclusión</b> .....	<b>57</b>
<b>7. Bibliografía</b> .....	<b>59</b>



## ***PRÓLOGO***

Excmo. Sr. Presidente de la Academia de Farmacia de Galicia

Excmos. Señores Académicos

Señoras y Señores

Sean mis primeras palabras de agradecimiento a los Excelentísimos Señores Miembros de la Academia de Farmacia de Galicia por su decisión de elegirme para formar parte de ella como Académico Correspondiente. Sé que la elección no responde tanto a méritos propios, cuanto a la gran benevolencia de todos los que constituyen la Academia. Por ello me siento muy agradecida y expreso públicamente mi reconocimiento.

Este hecho entraña para mí una enorme satisfacción, y al mismo tiempo una gran responsabilidad que trataré de asumir con el deseo de poder contribuir al prestigio de esta Academia, colaborando, en la medida de mis posibilidades, a su desarrollo y avance científico.

Este acto tiene también para mí un significado especial, ya que en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago estudié y me doctoré iniciando así mi andadura académica.

Un agradecimiento muy especial al Dr. D. Angel Concheiro por la presentación que, llena de cariño, ha realizado de mí en este acto, y a la memoria del Dr. Vila-Jato, ilustre Académico ya fallecido, bajo cuya dirección me introduje en el apasionante mundo de la

investigación y del que guardo recuerdos muy entrañables. Y como no, a la Dra. Fernández-Otero que a lo largo de estos años ha impulsado y seguido mi desarrollo académico.

Mi agradecimiento a la Universidad del País Vasco en la que transcurrieron unos pocos años de mi desarrollo profesional, y de modo muy especial a la Universidad de Navarra, en la que actualmente desarrollo mi actividad académica.

Gracias al Prof. Dr. D. José Bello, que con su discreto saber hacer y sus sabios consejos me introdujo en el apasionante mundo de la Ciencia de los Alimentos.

Gracias a todos mis compañeros de claustro académico en la Universidad de Navarra, algunos de los cuales me acompañáis en este acto y a todo el Departamento de Ciencias de la Alimentación y Fisiología.

Gracias a mi grupo de investigación y de modo especial a la Dra. De Peña y a todos los doctorandos, alumnos de Máster, becarios, técnico de laboratorio, que con su trabajo alegre, tenaz, riguroso y generoso han contribuido a este momento.

Por último, un reconocimiento muy especial a mi familia, de modo particular a mi padre, fallecido hace años, y al que debo el inmenso cariño por la profesión farmacéutica y la mente científica que supo inculcarme. ¡Cuánto hubiese disfrutado en este acto!

A mi madre, hermanas, cuñado y sobrinos, que con su gran generosidad, y sin escatimar esfuerzo en momentos decisivos, han permitido que yo esté hoy aquí entre ustedes.

He escogido para mi discurso de entrada en esta Academia un tema que lleva por título: **El café como fuente de antioxidantes y compuestos bioactivos.**

## ***1. INTRODUCCIÓN***

Cuenta la leyenda que un joven pastor notó que sus cabras se volvían más inquietas después de morder las hojas y los frutos del cafeto; y que cuando el pastor saboreó el grano no pudo conciliar el sueño esa noche. Parece ser que fue Etiopía la zona en la que se degustó el café por primera vez. De aquí, fue llevado al Yemen en el año 575 y posteriormente a Arabia. Durante mucho tiempo la explotación del café estuvo limitada a esta zona y estaba prohibida la exportación de sus semillas hacia otros países. A partir del siglo XIII se comenzó a tostar el café, primero en Siria y después en el siglo XIV por todo el mundo árabe, lo que mejoró notablemente la calidad de la bebida. Esta se preparaba inicialmente a lo “turco” mediante maceración de los granos de café, reducidos finamente a polvo, durante un tiempo mínimo que facilitase el depósito del mismo en el fondo del recipiente y permitiese separar la infusión resultante. En el siglo XV los musulmanes introdujeron el café en Persia, Egipto, África septentrional y Turquía, extendiéndose después por toda Europa desde mediados del siglo XVII a pesar de las prohibiciones legales y prejuicios médicos. El consumo de café se populariza y se producen varios intentos, sin éxito, de aclimatar el cafeto al continente europeo. La llegada a América, donde más y mejor se ha desarrollado el cafeto, no se produjo hasta el siglo XVIII. Actualmente, el café es la materia prima con mayores cifras de negocio asociadas, únicamente superadas por el petróleo, y su comercio implica a millones de personas entre productores, recolectores, intermediarios, tostadores, distribuidores y consumidores.

En el último siglo, su cultivo ha experimentado un crecimiento constante. En 2011, la producción mundial de café alcanzó 8,1 millones de toneladas (ICO, 2011), de los cuales 6,2 millones se exportaron a otros países. Aunque son 70 países los que se consideran productores de café, dominan la producción mundial Brasil (40%) y Colombia (10%) con el cultivo de Arábica principalmente, y Vietnam (8%) e Indonesia (7,3%) con la especie Robusta (ICO, 2011). Así, estos cuatro países producen más del 60% del café mundial. El mercado mundial del café supuso un volumen de 71 millones de dólares en el 2011 y los países productores ingresaron 23,6 millones de dólares de su exportación. Esta producción representa más de 500 billones de tazas de café, siendo los mayores consumidores Estados Unidos, Brasil, Alemania, Japón e Italia. Sin embargo, el consumo *per cápita* en los países del Norte de Europa tales como Finlandia, Noruega, Dinamarca y Suecia puede alcanzar 8 Kg/año, dos veces más que en Estados Unidos o Brasil.

La selección de variedades y producciones de café, así como mejoras en la práctica de la agricultura permiten obtener cafés con unas excelentes cualidades sensoriales de sabor, flavor y aroma. En Europa, se consume preferentemente café de la variedad Arábica de gusto más ácido y suave a la vez, con un aroma equilibrado y con menos contenido en cafeína que la variedad Robusta. Desde que en el siglo XV el consumo de café se popularizara en Arabia las formas de preparación de esta bebida se han diversificado, dependiendo tanto de la zona geográfica como del gusto del consumidor. Actualmente, se utilizan diferentes métodos de extracción, cada uno de los cuales permite obtener bebidas de café con características físico-químicas, de composición y organolépticas diferentes. Además, la creación y proliferación de tiendas especializadas, junto con un cambio en la imagen del café a través de la difusión de la información de los beneficios para la salud de



su consumo a largo plazo, está contribuyendo notablemente al aumento de la popularidad y consumo de esta bebida.

En la actualidad, el café es una bebida popular en todo el mundo y la tercera más consumida después del agua y del té (Wang y Ho, 2009). Esta bebida es bien conocida por sus propiedades estimulantes atribuidas principalmente a la cafeína, pero también por contener niveles relativamente elevados de hidroxycinamatos particularmente ácidos clorogénicos que tienen efectos beneficiosos para la salud.

Aunque su utilización como alimento tiene una larga historia de más de mil años, los estudios realizados hasta épocas recientes se han centrado en sus potenciales efectos adversos y tóxicos para la salud. A pesar de las numerosas investigaciones realizadas en este sentido, la evidencia que soporta una asociación directa del café y algunas enfermedades es limitada e inconsistente. Por el contrario, estudios recientes han resaltado los potenciales efectos beneficiosos para la salud asociados al consumo del café (Dorea y Costa, 2005; Higdon y Frei, 2006; George y col., 2008; Nkondjock, 2009; Esquivel y col., 2012; Bøhn y col., 2012; Crozier y col., 2012; Williamson y Stalmach, 2012), aunque su efecto fisiológico varía de una persona a otra y también depende de la calidad y cantidad de café consumido. Estos autores sugieren que el consumo de café está inversamente asociado con el riesgo de padecer distintos tipos de cáncer: hígado, riñón, útero, oral, y en menor medida cáncer de mama y colorectal (Shimazu y col., 2005; Larsson y Wolk, 2007; Nkondjock, 2012); así como con el desarrollo del Parkinson (Ross y col., 2000; Ascherio y col., 2001) y Alzheimer (Lindsay y col., 2002; Barranco Quintana y col., 2007). Por su parte, Beghi y col. (2011) indican también la existencia de una relación inversa entre el consumo de café y té y el riesgo de Esclerosis Lateral Amiotrófica, y entre el consumo de café y el desarrollo de cirrosis hepática

(Gallus y col., 2002; Tverdal y Skurtveit, 2003), así como con la aparición de pancreatitis alcohólica (Morton y col., 2004).

Además, amplios estudios de cohortes en Holanda, Estados Unidos, Finlandia y Suecia señalan que el consumo de café está asociado con reducciones significativas dosis-dependiente en el riesgo de desarrollo de Diabetes tipo 2 (Van Dam y Hu, 2005; Rosengren y col., 2004; Van Dijk y col., 2009), aunque los mecanismos son desconocidos. Esta relación es una de las asociaciones más fuertes y consistentes entre el riesgo de diabetes y un factor de la dieta (Matusheski y col., 2012).

Por lo que respecta a las enfermedades cardiovasculares, existe controversia entre los resultados de diferentes estudios. La mayor parte de los estudios prospectivos en cohortes no concluyen que el consumo de café esté asociado con un aumento significativo del riesgo de enfermedades cardiovasculares o embolia (Tavani y col., 2004). Sin embargo, ensayos caso-control a 12 semanas señalan que el consumo de café está asociado con el aumento de alguno de los factores de riesgo de estas enfermedades (Grubben y col., 2000; Urget y col., 2000 y James y col., 2004) tales como el incremento de la tensión arterial. Por el contrario, estudios más recientes sugieren que los ácidos clorogénicos del café pueden ser beneficiosos a nivel cardiovascular (Bonita y col., 2007; Buscemi y col., 2009), y que la ingesta de 400 mg de ácidos clorogénicos puede reducir la presión sanguínea a nivel sistólica y diastólica en personas sanas (Mubarak y col., 2012).

El aporte de antioxidantes en la dieta diaria ha demostrado tener un efecto protector frente a un gran número de enfermedades en las que está implicado el estrés oxidativo y el daño por radicales libres (Beal, 1995; Aruoma, 1999; Dorea y da Costa, 2005). En este sentido, los efectos beneficiosos del café para la salud se atribuyen en gran medida a la capacidad antioxidante de la bebida de café

(Richelle y col, 2001; Parras y col., 2007), que ha sido propuesta como la bebida que más antioxidantes aporta a la dieta española (Pulido y col., 2003). Resultados similares se encontraron también en otros países como Italia y Noruega, en los que el café constituye la principal fuente de antioxidantes de la dieta (Pellegrini y col., 2003; Svilaas y col., 2004).

El café es un producto de origen vegetal que, como tal, presenta una serie de compuestos químicos de diferente naturaleza, con variaciones importantes en cuanto a su concentración, según la especie de café, cultivo, sistema de procesado y grado de tueste. En las últimas décadas han sido numerosos los trabajos enfocados a conocer cuáles son realmente los compuestos del café potencialmente responsables de su capacidad antioxidante, así como la influencia de algunos factores tecnológicos en dicha capacidad. Actualmente esta capacidad se atribuye tanto a los compuestos fenólicos presentes de forma natural en el café, como a los compuestos antioxidantes inducidos durante el proceso de tueste como las melanoidinas y los productos de la reacción de Maillard (Del Castillo y col., 2002; Borrelli y col., 2002; Crozier y col., 2009). Así, factores tales como la variedad y el origen del café (Richelle y col, 2001; Parras y col., 2007), el grado de tueste (Nicoli y col., 1997), el tipo de tueste (natural o torrefacto) (Ludwig y col. 2013a), la naturaleza de la mezcla (López-Galilea y col., 2006a), 2008a) y el modo de preparar la bebida de café (López-Galilea y col., 2007; Pérez-Martínez y col., 2010; Ludwig y col. 2012; Bravo y col., 2013a), son determinantes de la capacidad antioxidante de una taza de café. Además, en el café están presentes otros compuestos bioactivos tales como la cafeína, cuya actividad en el organismo ha sido también muy estudiada.



## ***2. CAFÉ VERDE***

### **2.1. Botánica y cultivo**

El cafeto es un arbusto relativamente pequeño, que puede llegar a tener las dimensiones de un árbol de 10 metros, aunque para facilitar la recolección del fruto se poda a 3 ó 3,5 metros. Tiene una vida de unos 40 ó 50 años, pero se sustituye cada 8-12 años de plantado. Se trata de un cultivo permanente, es decir, presenta flores y frutos al mismo tiempo y en un mismo tallo. Sus flores son blancas y aromáticas, frágiles y efímeras. Aunque comienza a producir flores a los 3 años, su producción no es rentable hasta los 5 ó 6 años.

El fruto es una baya, al principio verde, enseguida pasa a amarilla y algo más tarde a rojo, denominado cereza por su forma redondeada y su color. Sus dimensiones difieren sensiblemente según las variedades, condiciones del medio y cultivo. Por término medio su longitud es de 10 mm, con una forma más o menos alargada y pesa entre 0,15 y 0,20 gramos. Aunque nativo de África, se cultiva en áreas tropicales o semitropicales, principalmente entre los Trópicos de Cáncer y de Capricornio.

La Norma de calidad para el café (RD 1676/2012 de 14 de septiembre) define el Café como: *“Las semillas sanas y limpias procedentes de las diversas especies del género botánico Coffea”*.

Existen más de sesenta especies de plantas agrupadas bajo el nombre genérico de *Coffea*. De todas ellas solamente se cultivan 10

y solo dos han sido descritas como importantes por representar más del 90% de la producción mundial: el *Coffea arabica*, también conocido como café Arábica, que supone las tres cuartas partes de la producción mundial de café y el *Coffea canephora* o café Robusta que supone la cuarta parte de la producción mundial. El café Arábica se cultiva en América central, Sudamérica (donde Brasil es el mayor productor mundial), y en países africanos como Etiopía, Tanzania y Kenia. El resto de países africanos y del sureste asiático cultivan casi exclusivamente café Robusta siendo Indonesia el mayor productor de esta especie de café.

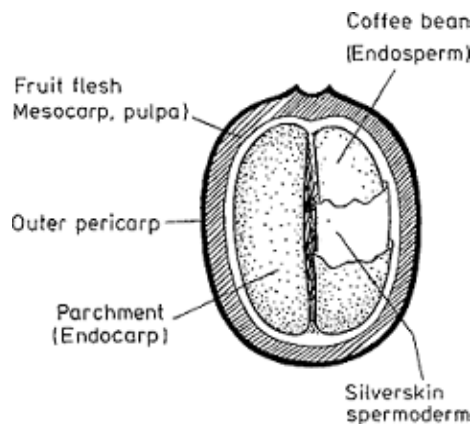
La denominación de Robusta hace referencia a que esta especie requiere condiciones de cultivo (altitud, temperatura, etc.) menos exigentes que el café Arábica (Illy y Viani, 1995), y precisamente el nombre le viene de que esta especie fue “descubierta” al observar que era inmune a la plaga de hongos *Hemileia vastratix*, que diezma los cultivos de café Arábica.

Las especies de café Arábica y Robusta difieren considerablemente en su composición y en las cualidades sensoriales de sus respectivas tazas de café. La bebida de café preparada con café Arábica es mucho más aromática con notas florales y frescas y sensiblemente menos amarga y astringente que la preparada con café Robusta que tiene un color más oscuro, notas amargas y astringentes en su sabor y un aroma dulce caracterizado por notas achocolatadas, avellana y caramelo. En general, la bebida de café Arábica es apreciada por su aroma y una calidad superior en taza, mientras que la de café Robusta contiene cantidades más elevadas de cafeína, antioxidantes y sólidos solubles que le proporcionan más cuerpo (Farah, 2012).

## 2.2. Procesado: recolección y beneficiado

El grano de café corresponde a cada una de las dos semillas que se obtienen del fruto del cafeto. Está protegido por 4 capas, que de dentro a fuera se denominan:

- Película plateada o tegumento seminal: fina membrana que recubre el grano
- Pergamino o endocarpio: envoltura celulósica de color amarillento
- Mucílago o mesocarpio: pulpa azucarada de aspecto viscoso
- Cereza o exocarpio: piel externa y dura.



**Figura 1.** Corte transversal del fruto del cafeto (tomado de Belitz y col., 2009)

El proceso de **recolección** del café se ve dificultado por tratarse de un cultivo permanente, ya que al recoger los granos maduros se podrían dañar los que estuvieran a medio madurar, los verdes y también las flores. De aquí que la recolección convenga realizarla manualmente varias veces al año y en varias pasadas ya que no todos los granos maduran al mismo tiempo. Esta forma de recolección y selección manual de los granos uno a uno recibe el nombre de *picking*. Así se obtienen cafés de mayor calidad. Existe

otro tipo de sistema de recolección propia de Brasil y de cultivos de café Robusta en África, que consiste en hacer una única recolección al año coincidente con la presencia de un mayor número de granos maduros; en este procedimiento se recogen al mismo tiempo los granos maduros y no maduros. Este procedimiento puede realizarse de forma mecánica y recibe el nombre de *stripping*. Este método requiere una etapa de limpieza posterior para separar las cerezas de hojas, trozos de rama, etc. Los cafés obtenidos por este procedimiento son de inferior calidad debido a la presencia de granos fermentados e inmaduros.

El café es internacionalmente comercializado como café verde, obtenido tras el **procesado o beneficiado** a que son sometidas las bayas maduras del cafeto o cerezas, después de su recolección. Su finalidad es conseguir el aislamiento de la semilla mediante la eliminación de las diversas capas que rodean la baya, y su posterior secado hasta que el contenido en humedad de la semilla verde sea inferior al 12%.

Este procesado se puede realizar por vía húmeda o por vía seca. En el procesado por vía húmeda las cerezas se introducen directamente en tanques de agua, posteriormente se someten a un despulpado y proceso de fermentación, tras el cual se elimina el mucílago que rodea el grano utilizando abundante agua, y posteriormente los granos se secan al sol. Se aplica por lo general a todos los cafés Arábica, a excepción del de Brasil. Es un proceso costoso pero proporciona cafés selectos y cotizados, muy aromáticos, de calidad superior y muy bien aceptados por los consumidores (Bytof y col., 2005; Knopp y col. 2006). Estos cafés tienen un contenido más elevado de ácidos clorogénicos y trigonelina, y un contenido en azúcar inferior si se comparan con los procesados por vía seca (Duarte y col., 2010). Se les denomina cafés lavados. En el procesado por vía seca las bayas de café se dejan secar al sol durante dos o tres semanas y, una vez secas, se



trillan liberando a los granos de sus envolturas. Este método es más económico, pero los cafés obtenidos son de peor calidad, ya que el mucílago y las coberturas se pueden descomponer aportando sabores extraños. Este procesado se aplica prácticamente a todo el café Arábica de Brasil y a la mayoría de los cafés Robusta. Se considera que con este procesado se obtiene un café de peor calidad que con el procesado por vía húmeda.

Según el tipo de procesado, el grano tiene un color que le caracteriza. Los granos de café más azulados son característicos de los cafés que han sido sometidos al beneficiado por vía húmeda, signo de alta calidad y frescura. Los colores más amarillos y pajizos corresponden casi siempre a cafés Arábicas procesados por vía seca. Los granos de café Robusta presentan un color más pardo, fácilmente distinguibles como granos de peor calidad (Illy y Viani, 2005).

### **2.3. Composición del café verde**

La composición del café verde depende de su origen, condiciones climáticas y sistema de procesado, entre otros factores. Su fracción no volátil está compuesta principalmente por agua, hidratos de carbono y fibra, compuestos nitrogenados, lípidos, minerales, ácidos orgánicos y ácidos clorogénicos (Tabla 1). Entre ellos, los ácidos clorogénicos, cafeína, trigonelina, fibra soluble y los diterpenos de la fracción lipídica son los que están más asociados a la “bioactividad” del café.

El contenido en agua de las semillas de café verde varía generalmente entre 8,5% y 12%. En ningún caso debe sobrepasar el 13% (Norma de calidad para el café, RD 1676/2012 de 14 de septiembre).

**Tabla 1.** Composición química de granos de café verde Arábica y Robusta

Compuestos	Concentración <sup>a</sup> (g/100g)	
	Café Arábica	Café Robusta
<b>Agua</b>	8,8-12	8,8-12
<b>Hidratos de carbono/fibra</b>		
Sacarosa	6,0-9,0	0,9-4,0
Azúcares reductores	0,1	0,4
Polisacáridos	34-44	48-55
Lignina	3,0	3,0
Pectina	2,0	2,0
<b>Compuestos nitrogenados</b>		
Proteína/péptidos	10,0-11,0	11,0-15,0
Aminoácidos libres	0,5	0,8-1,0
Cafeína	0,9-1,3	1,5-2,5
Trigonelina	0,6-2,0	0,6-0,7
<b>Lípidos</b>		
Triglicéridos/esteroles/tocoferoles	15-17,0	7,0-10,0
Diterpenos libres y esterificados	0,5-1,2	0,2-0,8
<b>Minerales</b>	3-4,2	4,4-4,5
<b>Acidos y ésteres</b>		
Acidos clorogénicos	4,1-7,9	6,1-11,3
Acidos alifáticos	1,0	1,0
Acido quínico	0,4	0,4

<sup>a</sup> El contenido varía de acuerdo con el cultivo, clima, sol, método de análisis, grado de tueste.

Fuente: Trugo y Macrae, 1984; Clarke y Macrae, 1985; Holscher y col., 1990; Clifford, 2000; Fischer y col., 2001; Trugo, 2003; Clarke, 2003; Kölling Speer y Speer, 2005; Speer y Kölling-Speer, 2006; Farah y col., 2006; Farah y Donangelo, 2006

Los hidratos de carbono son los constituyentes mayoritarios del café y pueden suponer más del 50%. Los polisacáridos solubles e insolubles representan aproximadamente el 40% en el café Arábica y 50% en el café Robusta. La sacarosa, importante en la calidad y flavor del café representa un 7% en el caso del café Arábica y aproximadamente la mitad en el café Robusta. También se han encontrado pequeñas cantidades de azúcares sencillos tales como la glucosa, galactosa, arabinosa, fructosa, manosa, manitol, xilosa y ribosa (Flament y col., 1968; Kölling-Speer y Speer, 2005). De los principales polisacáridos del café conviene destacar, por su potencial papel como sustancias prebióticas, los galactomananos y arabinogalactanos que constituyen la fibra soluble del café. Estos compuestos no pueden ser digeridos por el hombre, permanecen en el colon (Gutechwitz y col., 2007), y son degradados por la microbiota presente a ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato). Este proceso disminuye el pH del colon impidiendo el crecimiento de ciertas especies patógenas y favoreciendo el crecimiento de especies de *Bifidobacterium* y otras bacterias ácido lácticas beneficiosas (Gutechwitz y col., 2007), lo que lleva a pensar que su consumo puede tener algunos efectos prebióticos (Jaquet y col., 2009).

En el café verde el total de compuestos nitrogenados (excluyendo la cafeína y trigonelina) representa entre el 10 y el 15% de su composición química, con un contenido ligeramente superior en el café Robusta respecto al Arábica. Las proteínas, péptidos y aminoácidos libres son esenciales en el flavor del café y participan junto con los hidratos de carbono en la reacción de Maillard, siendo precursores en la formación de compuestos volátiles tales como furanos, piridinas, pirazinas, pirroles y aldehídos, además de melanoidinas.

La cafeína y la trigonelina son alcaloides de naturaleza nitrogenada presentes en el café verde que contribuyen al amargor de la bebida de café. La cafeína es termoestable y representa hasta un 1,3% en el café Arábica y hasta un 2,5% en la variedad Robusta. Se trata de un compuesto que presenta actividad como estimulante tanto a nivel del sistema nervioso central como del músculo estriado, y en consecuencia ayuda a mantenerse en estado de alerta y presenta efectos beneficiosos sobre la cognición en personas sometidas a estrés, fatiga o falta de sueño. Además, parece que ayuda a disminuir los síntomas asociados con la enfermedad y temblores del Parkinson (HeckmanWell y González de Mejía, 2010). No obstante dosis elevadas de cafeína también puede generar ansiedad, tensión, nerviosismo y agitación psicomotriz (Daly y Fredholm, 1998); por eso, el uso continuado de este alcaloide puede aumentar el riesgo de enfermedades cardiovasculares, con diferencias individuales en la respuesta a la cafeína, relacionados probablemente con factores genéticos (Yang y col., 2010).

Se ha comprobado que la cafeína puede contribuir a la capacidad antioxidante global del café, por su eficacia como agente secuestrador de radicales hidroxilo (Shi y Dalal, 1991). Estos resultados fueron también respaldados por Devasagayam y col. (1996), que indicaron que la capacidad antioxidante de la cafeína era similar a la del glutatión y significativamente más elevada que la del ácido ascórbico. Se ha comprobado también que tanto la cafeína como sus metabolitos son altamente eficaces en la prevención de la oxidación de las LDL *in vitro* (Lee, 2000), así como frente a la rotura oxidativa del DNA por radicales hidroxilo (Azam y col., 2003). Faustmann y col. (2009), concluyeron acerca de la capacidad de la cafeína para proteger frente al daño oxidativo del DNA en células de timo y frente a la liberación inducida de

radicales en linfocitos humanos.. Recientemente Vignoli y col. (2011) han señalado que la cafeína contribuye también a las propiedades antioxidantes de la bebida de café, sin embargo, su potencial actividad antioxidante puede verse eclipsada por la de los compuestos fenólicos y productos de la reacción de Maillard.

Por otro lado, las propiedades negativas asociadas a la cafeína como la dificultad para dormir e incluso una leve adicción, han facilitado el desarrollo de la industria de café descafeinado, cuyo consumo se estima alrededor del 10-15% del total de café ingerido en el mundo (DuFrene y Rubinstein, 2010).

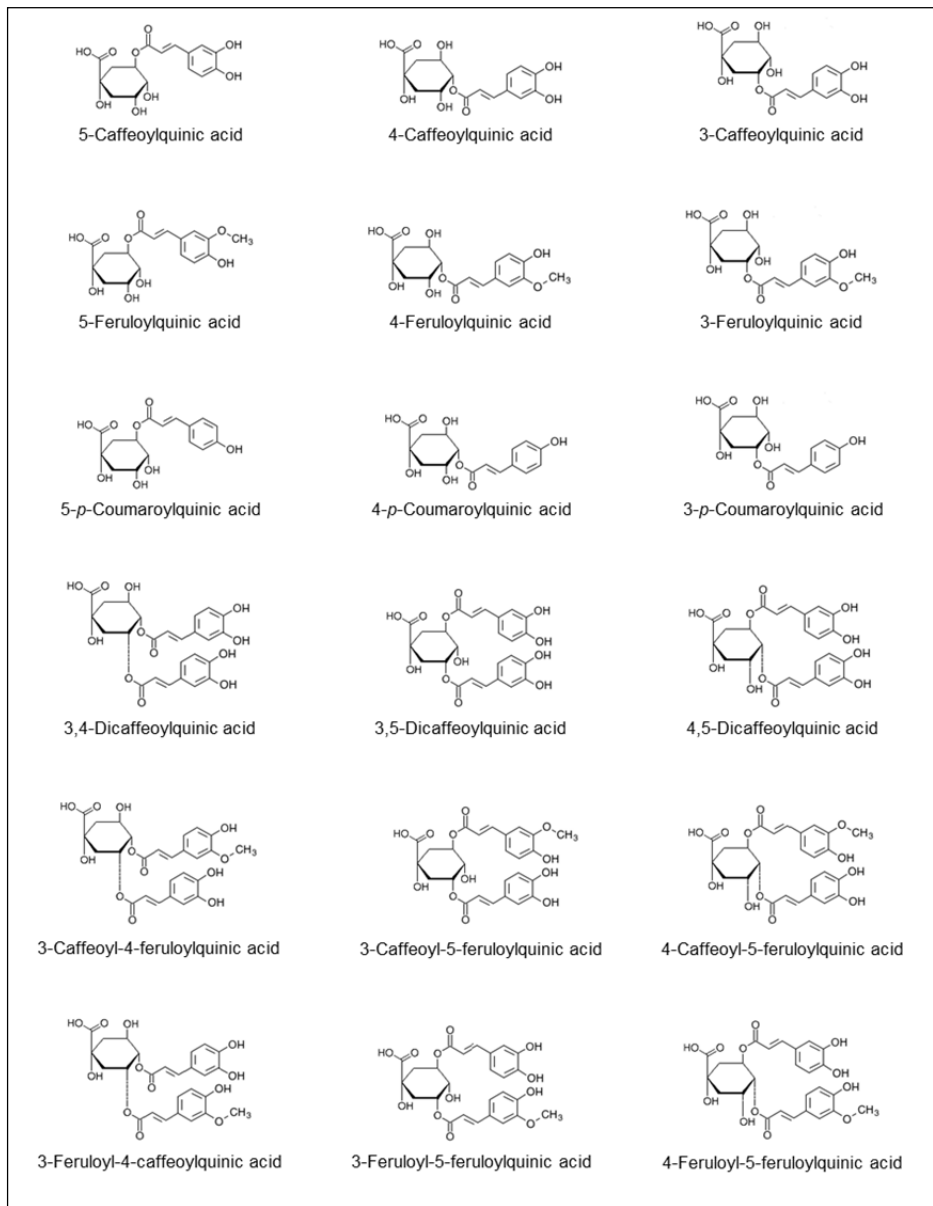
La fracción lipídica del café verde está compuesta principalmente por triglicéridos (aproximadamente 75%), ácidos grasos libres (1%), esteroides (2,2% no esterificados y 3,2% esterificados con ácidos grasos), y tocoferoles (0,05%). También contiene diterpenos en proporciones que representan el 20% de la fracción lipídica (Trugo y Macrae, 1984; Folstar, 1985; Kölling-Speer y Speer, 2005). El contenido lipídico en las semillas de café Arábica (15%) es aproximadamente el doble que en las de café Robusta (Stephanucci y col., 1979).

La mayor parte de los ácidos grasos del café verde son insaturados: ácido linoleico, ácido oleico y ácido linolénico que representan aproximadamente 43-54%, 7-14%, y 1-2,6% de la fracción de los triglicéridos respectivamente, y aproximadamente el 46%, 11% y 1% de la fracción de ácidos grasos libres, respectivamente (Nikolova-Damyanova y col., 1998; Folstar, 1985; Lercker y col., 1996; Kölling-Speer y Speer, 2005). Respecto a los esteroides, los más abundantes son el sitosterol y el estigmasterol.

Los principales diterpenos del café verde son el cafestol, 16-O-metilcafestol y el kahweol y se encuentran en su mayoría esterificados con los ácidos grasos. El cafestol es el principal constituyente de la fracción insaponificable de la grasa del café, representando aproximadamente entre el 0,2 y 0,6% en peso del café. El kahweol es más sensible al calor, oxígeno, luz y ácidos y es siempre menos abundante (Flament y col., 1968). La concentración de kahweol y de 16-O-metilcafestol se utilizan para distinguir entre cafés Arábica y Robusta, pues si bien el café Arábica tiene niveles mucho más elevados de kahweol, el 16-O-metilcafestol solo se ha encontrado en el café Robusta (Rubayiza y Meurens, 2005; Speer y Hölling-Speer, 2006). Los diterpenos del café presentan propiedades anticarcinogénicas y hepatoprotectoras *in vitro* (Watenberg, 1983; Cavin y col, 2002; Lee y col., 2007). Por otro lado, un consumo elevado de estos compuestos se ha asociado con niveles elevados de homocisteína y lipoproteínas de baja densidad en plasma humano, lo cual puede indirectamente aumentar el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Toci y col., 2006). Por su parte, el cafestol y el kahweol se han relacionado con un aumento de los niveles del colesterol en sangre (Speer y Kölling-Speer, 2006; Thom, 2007; Farah y col., 2008).

El café verde contiene también una amplia variedad de polifenoles. Los principales son los ácidos clorogénicos en los que se incluyen diferentes grupos de compuestos e isómeros (ver Figura 2). Se forman por esterificación de una molécula de ácido quínico y de una a tres moléculas de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico y p-cumárico). Los principales grupos de ácidos clorogénicos presentes en el café verde son los ácidos cafeoilquínicos (80% del total de ácidos clorogénicos) dicafeoilquínicos y feruloilquínicos. Menos abundantes son los p-cumaroilquínicos y las mezclas de

diésteres de ácidos cafeoil-feruloil-quínicos (Clifford, 1999; Clifford y col. 2003). El más abundante de los ácidos clorogénicos del café es el 5-cafeoilquínico, que representa más del 60%, siendo por ello el más estudiado. Más recientemente se han encontrado también cantidades minoritarias de isómeros de ácidos dimetoxi-cinamoilquínico, dimetoxi-hidroxicinamoilquínico, dihidroximetoxicinamoilquínico, di-feruloilquínicos, di-p-cumaroilquínico, y diésteres mezclas de los anteriormente señalados ácidos hidroxicinámicos y ácidos metoxicinámicos (Stalmach y col. 2011). Además, se han identificado al menos tres ácidos cinámicos en estado libre: ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido 3,4 dimetoxicinámico, y en cantidades minoritarias otros compuestos fenólicos como los cinamoil-aminoácidos (Clifford y Knight, 2004; Alonso-Salces y col., 2009) formadas por conjugación de ácidos hidroxicinámicos con aminoácidos, o los cinamoil-glicósidos por conjugación con glicósidos (Clifford, 1985; Alonso-Salces y col., 2009; Belitz y col., 2009). Generalmente, los cafés verdes Robusta contienen cantidades más elevadas de ácidos clorogénicos que los cafés Arábica (Stalmach y col., 2011).



**Figura 2.** Estructura química de los principales ácidos clorogénicos del café (tomado de Ludwig (2013b))



Estudios *in vitro* y en animales atribuyen las propiedades beneficiosas del café a estos compuestos polifenólicos y otros mecanismos en los que están implicados los ácidos clorogénicos (Arion y col., 1997; Gerin y col., 2002; Natella y col., 2002; Johnston y col., 2003; Pellegrini y col., 2003; Shearer y col., 2007).

Diferentes autores han estudiado la actividad antioxidante de estos compuestos polifenólicos mediante el empleo de patrones. Sin embargo, son escasos los trabajos en los que se estudian las propiedades biológicas de los ácidos feruloilquínicos y cumaroilquínicos debido a que solamente se comercializan o pueden sintetizarse algunos ácidos clorogénicos. En estudios *in vitro* han observado que los ácidos cafeoilquínicos capturan radicales (Rice-Evans y col., 1996; Foley y col., 1999), aumentan la resistencia de las LDL a la peroxidación lipídica (Nardini y col., 1995; Abu Amsha y col. 1996) e inhiben el daño oxidativo (Shibata y col., 1999; Kasai y col., 2000; Bravo y col., 2013b). Por otro lado, en estudios *in vivo* se han observado que tienen efectos anticarcinogénicos en modelos animales (Huang y col., 1988; Tanaka y col., 1993). También se ha demostrado *in vitro* (Nardini y col., 1995; Daglia y col., 2000) e *in vivo* (Nardini y col., 1997) la capacidad antioxidante de los ácidos cafeico y ferúlico, productos de hidrólisis de los ácidos clorogénicos formados durante el proceso de tueste del café.

Por su parte, Daglia y col. (2004) ensayaron *in vitro* y *ex vivo* la actividad antiradical específica sobre los radicales libres y encontraron que el 5-cafeoilquínico era el más activo y presenta una gran capacidad de captura de radicales libres y actividad protectora frente al daño oxidativo en células neuronales PC12 (Pavlica y Gebhardt, 2005). En estas mismas células, Cho y col. (2009) encontraron que el café descafeinado instantáneo inhibe la muerte por apoptosis celular inducida por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bloqueando la acumulación de ROS intracelular y que el 5-cafeoilquínico era en

gran parte responsable de estos efectos. En un estudio en humanos, Hoelzl y col. (2010) indican que el consumo de café instantáneo con un nivel superior de ácidos clorogénicos causa protección frente al daño oxidativo del DNA.

En el café verde se han encontrado también pequeñas cantidades de otros compuestos fenólicos tales como taninos, lignanos y antocianinas (Milder y col., 2005 y Farah & Donangelo, 2006).

Por lo que respecta a la fracción volátil del café verde, se han identificado aproximadamente 100 compuestos diferentes (Flament y col., 1968) que le proporcionan un débil pero característico aroma. Los más abundantes son alcoholes, ésteres, hidrocarburos y aldehídos. También se han identificado cetonas, pirazinas, furanos y compuestos azufrados. La etapa de maduración de los frutos de café influye decisivamente en la composición volátil del café verde (Ortiz y col. 2004).

Además de lo ya señalado, el café verde puede contener también otros componentes minoritarios con efectos indeseables a nivel de la bioactividad de la bebida. Muchos de estos compuestos son bioproductos de origen microbiano que pueden estar presentes por una recolección y/o procesado inadecuados o incluso por un almacenamiento en condiciones impropias. Entre estos compuestos indeseables cabe mencionar la Ocratoxina A (OTA) y aminas biógenas. La Ocratoxina A es una micotoxina producida por algunas especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, potente nefrotóxico y hepatotóxico que ejerce efectos teratogénicos, mutagénicos, carcinogénicos e inmunosupresores incluso a niveles traza (Taniwaki y col., 2003; Perrone y Farah, 2009; Ferraz y col., 2010). Este compuesto es generalmente estable a las temperaturas normales de cocción, pero no resiste las elevadas temperaturas de tueste del café. Por lo tanto, cafés de tueste medio e intenso no deben contener OTA, aunque la concentración inicial en las

semillas de café fuese elevada. Sin embargo, su presencia se ha detectado en algunos cafés, y el 100% del contenido en café tostado pasa a la bebida utilizando los métodos habituales de preparación del café. Por otro lado, las amins biógenas del café se originan por la acción de descarboxilasas microbianas sobre los aminoácidos durante el proceso de fermentación, lo que sugiere un almacenamiento inapropiado o granos de baja calidad (Oliveira y col. 2005); o por descarboxilación de los aminoácidos o hidrólisis de amins conjugadas durante el tueste. Las más abundantes son: putrescina, espermidina y espermina.



### ***3. CAFÉ TOSTADO***

#### **3.1. Proceso de tueste**

En el proceso de tueste los granos de café verde se someten a temperaturas entre 180 y 250°C durante un tiempo que depende de la técnica empleada, de la naturaleza del café y del grado de tueste deseado (ligero, medio u oscuro), y que puede oscilar entre 2 y 25 minutos (Parliment, 2000; Belitz y col. 2009).

En este proceso se distinguen tres fases: secado, pirólisis y enfriamiento. La primera fase de secado tiene lugar cuando se alcanzan los 100°C, temperatura a la cual se produce la evaporación de la mayor parte del agua libre y como consecuencia un aumento en la fragilidad del grano (Pittia y col., 1996). Cuando están suficientemente secos, la temperatura aumenta y las reacciones pasan de endotérmicas a exotérmicas. El proceso comienza a ser completamente exotérmico a los 140-180°C. Entre 170 y 200°C tienen lugar reacciones de pirólisis que producen una modificación drástica de la composición química de los granos con formación de cientos de sustancias que le proporcionan su sabor y aroma característicos. Al mismo tiempo se va produciendo la liberación de compuestos volátiles (CO, CO<sub>2</sub>) que conducen a un aumento del volumen (50-80%) y de la presión interna de los granos del café. Al final del proceso de tueste los granos explotan, lo que indica el fin de esta etapa. En este momento se procede al enfriamiento de los granos con agua o preferiblemente con aire (Sitvetz y Desrosier, 1979; Rodríguez y col., 2003), para evitar el aumento de riesgo de crecimiento microbiano. Después del tueste los granos son envasados de forma adecuada o previo molido, o utilizados para la producción de café instantáneo.

El proceso de tueste conduce a una pérdida de peso del 11-20%, dependiendo del grado de tueste (Trugo y Macrae, 1984; Farah, 2004), un descenso de la gravedad específica de 1,2 a 0,6 debido al aumento de volumen de los granos, y el color de los granos se vuelve más o menos pardo. El grado de tueste del café tiene gran influencia en sus características físico-químicas e incluso en su potencial actividad biológica, y se refleja en el color externo que presentan los granos (de ligero a marrón oscuro) debido a la pirólisis de compuestos orgánicos) (Belitz y col., 2009). De forma habitual se habla de tres grados de tueste del café: ligero, medio y oscuro. En Estados Unidos y Europa Central se aplica un tueste ligero (200-220°C, 3-10 minutos, con pérdidas de peso del 14-17%), mientras que en Francia e Italia el café se tuesta hasta un color oscuro (de forma rápida a 230°C y pérdida de peso de 20%) (Belitz y col. 2009).

La Norma de calidad del café (R.D. 1676/2012 de 14 de diciembre) señala que el café de tueste natural deberá presentar un contenido máximo de humedad del 5%, un contenido mínimo de cafeína de 0,7% (s.s.), un valor máximo de cenizas totales de 6% (s.s.) y un contenido de sólidos solubles del extracto acuoso entre el 20 y 35%.

Además del proceso de tueste natural, en algunos países del Sur de Europa como España o Portugal, e Hispanoamérica, en los que la población prefiere cafés más oscuros, de aroma intenso y sabor fuerte con notas amargas (Bell, 2000), se aplica un proceso de torrefacción al café. Este procedimiento se aplica a café Robusta que normalmente tiene una calidad organoléptica inferior a la del café Arábica. La Norma de calidad del café (R.D. 1676/2012 de 14 de diciembre) define el café de tueste torrefacto como un café tostado en grano, con adición de sacarosa o jarabe de glucosa, antes de finalizar el proceso de tueste, en una proporción máxima de 15 Kg de dichos azúcares (expresados en sustancia seca) por cada 100 Kg de café verde. Debe presentar una humedad máxima de 5%, un contenido mínimo de cafeína de 0,6% (s.s.), un valor máximo de cenizas totales de 5,5% (s.s.) y un contenido de sólidos solubles del

extracto acuoso entre el 25 y 40%. En la actualidad este tipo de tueste se utiliza para la elaboración de diferentes mezclas de café.

### **3.2. Influencia del tueste en la composición química del café**

Además de los cambios físicos ya señalados (color, densidad, volumen, etc.), a nivel químico, tienen lugar una serie de reacciones que conducen a la destrucción total o parcial de los compuestos presentes en el café verde, así como a la formación de otros.

La composición media del café tostado, referido a extracto seco es: hidratos de carbono (38-42%), melanoidinas (23%), lípidos (11-17%), proteína (10%), minerales (4,5-4,7%), ácidos clorogénicos (2,7-3,1%), ácidos alifáticos (2,4-2,5%), cafeína (1,3-2,4%). En la Tabla 2 se recogen los datos de composición de granos de café tostado Arábica y Robusta expresado como g/100g.

Entre los compuestos no volátiles presentes en el café, la cafeína es un alcaloide termoestable y por lo tanto apenas se ve afectado por el proceso de tueste. Sin embargo, la trigonelina se degrada durante el tueste del orden del 50-80%, y da lugar a la liberación de ácido nicotínico (niacina) y a la N-metilnicotinamida, así como a algunos compuestos volátiles como alquilpiridinas y pirroles (Holscher y col. 1994; Illy y col., 2005). Por esta razón, Martín y col. (1997) y Casal y col. (2000) propusieron como parámetro de control relacionado con el tueste del café la concentración de trigonelina, mientras que otros autores (Taguchi y col., 1985; Stennert y Maier, 1996) han propuesto con esta misma finalidad, el control de la relación trigonelina/ácido nicotínico a lo largo del proceso. Por otro lado, el ion metilpiridina, formado por descarboxilación de la trigonelina durante el proceso de tueste, aun siendo un compuesto minoritario del café, puede actuar como un potente antioxidante en cultivos celulares (Stadler y col., 2002; Somoza y col., 2003). Niveles elevados de serotonina, junto con bajos niveles de sus precursores (L-triptófano y 5-hidroxitriptófano), en el café tostado, sugiere que la serotonina

podría formarse por degradación térmica de sus precursores (Martins y Gloria, 2010).

**Tabla 2.** Composición química de granos de café tostado Arábica y Robusta

Concentración <sup>a</sup> (g/100g)		
Compuestos	Café Arábica	Café Robusta
<b>Hidratos de carbono/fibra</b>		
Sacarosa	Tr-4,2	Tr-1,6
Azúcares reductores	0,3	0,3
Polisacáridos	31-33	37
Lignina	3,0	3,0
Pectina	2,0	2,0
<b>Compuestos nitrogenados</b>		
Proteína	7,5-10	7,5-10
Aminoácidos libres	ND	ND
Cafeína	1,1-1,3	2,4-2,5
Trigonelina	1,2-0,2	0,7-0,3
Acido nicotínico	0,016-0,026	0,014-0,025
<b>Lípidos</b>		
Triglicéridos	17,0	11,0
Esteres diterpenos	0,9	0,2
<b>Minerales</b>	4,5	4,7
<b>Acidos y ésteres</b>		
Acidos clorogénicos	1,9-2,5	3,3-3,8
Acidos alifáticos	1,6	1,6
Acido quínico	0,8	1
<b>Melanoidinas</b>	25	25

<sup>a</sup> El contenido varía de acuerdo con el cultivo, clima, sol, método de análisis, grado de tueste.

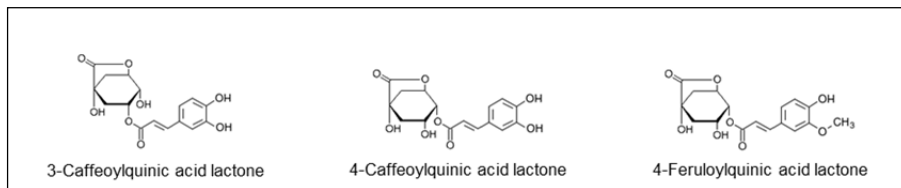
Fuente: Trugo y Macrae, 1984; Clarke y Macrae, 1985; Holscher y col., 1990; Clifford, 2000; Fischer y col., 2001; Trugo, 2003; Clarke, 2003; Kölling Speer y Speer, 2005; Speer y Kölling-Speer, 2006; Farah y col., 2006; Farah y Donangelo, 2006

ND, no detectado                      Tr, trazas



Los compuestos lipídicos del café permanecen bastante estables durante el proceso de tueste. Sufren una ligera hidrólisis con descomposición y liberación de ácidos grasos que darán lugar posteriormente a compuestos volátiles como enales y dienales a través de procesos de oxidación. Los ácidos grasos retenidos en la estructura celular del grano migran a la superficie del mismo donde existe un mayor riesgo de que sufran reacciones de oxidación (Parliment, 2000 y Vila y col., 2005). Por su parte, tanto el cafestol como el kahweol se degradan, mientras que, debido a su estabilidad térmica el 16-O-metilcafestol se ha utilizado para detectar la presencia de café Robusta en mezclas de cafés Arábicas (Speer y col., 1991a).

Debido a su inestabilidad a temperaturas elevadas (Dawidowicz y Typek, 2010, 2011), los ácidos clorogénicos sufren muchos cambios durante el proceso de tueste (Trugo y Macrae, 1984, Farah y col., 2005; Perrone y col., 2008). Durante la fase de secado, cuando todavía existe suficiente humedad, tiene lugar la isomerización de los ácidos clorogénicos, que conduce entre otros a un marcado aumento de los niveles de 4 y 3-cafeoilquínico en el café tostado (Stalmach y col., 2006). Además, algunos de los ácidos clorogénicos se hidrolizan hasta ácidos cinámicos y ácido quínico. Estos ácidos cinámicos pueden ser descarboxilados y transformados en compuestos de bajo peso molecular (Trugo y Macrae, 1984; Clifford, 2000; Farah y col. 2005). En la última fase del tueste los ácidos clorogénicos pueden sufrir procesos de lactonización que conducen a un aumento del contenido de lactonas de los distintos isómeros de los ácidos cafeoilquínico, feruloilquínico y dicafeoilquínico (Farah y col., 2005) (ver Figura 3).



**Figura 3.** Lactonas de los ácidos clorogénicos del café tostado (tomado de Ludwig (2013b))

Las lactonas de los ácidos clorogénicos, principalmente las 1,5-gamma lactonas, contribuyen notablemente al amargor de la bebida de café. Se ha podido observar que estas lactonas presentan actividad opiácea cuando se unen al receptor, con características similares a las de los antagonistas opiáceos (de Paulis y Martín, 2003) y pueden revertir la analgesia inducida por la morfina en ratones (de Paulis y col., 2004). Además, su relativamente débil afinidad *in vitro* por los receptores opioides, sugiere que los efectos farmacológicos agudos son improbables con un consumo normal de café. La biodisponibilidad de estos compuestos es desconocida. Es probable que una amplia proporción de las lactonas consumidas en la bebida de café se transformen en sus respectivos ácidos clorogénicos durante el proceso de digestión, aumentando indirectamente la ingesta de ácidos clorogénicos. De hecho se ha demostrado en estudios en ratas que las lactonas de los ácidos clorogénicos ejercen efectos normalizantes de la glucosa en sangre (Shearer y col., 2003), y estos efectos se observan más tarde para los ácidos clorogénicos (Shearer y col., 2007).

Dependiendo del grado de tueste, la pérdida de ácidos clorogénicos en el proceso de tueste del café puede estar entre 95 y 99%. El contenido en ácidos clorogénicos de cafés tostados comerciales puede variar, por tanto, entre 0,5 y 6 % (s.s.) dependiendo del tipo de procesado, mezcla, grado de tueste y condiciones analíticas (Farah y Donangelo, 2006; Duarte y Farah, 2009; Mills y col.,

2013). Cabe señalar que un tueste rápido a temperatura elevada (230°C) reduce las pérdidas de estos compuestos (Farah y col., 2005; Farah y Donangelo, 2006; Toci y col., 2009). Aunque los ácidos clorogénicos pueden contribuir considerablemente a las propiedades antioxidantes del café tostado, sin embargo, como ya se ha señalado, las elevadas temperaturas durante el tueste originan una reducción significativa del contenido total de ácidos clorogénicos de acuerdo con la intensidad y las condiciones de tueste. Esta pérdida de capacidad antioxidante debida a la degradación de los compuestos fenólicos puede ser minimizada por la formación durante el tueste de otros compuestos tales como los productos de la reacción de Maillard que tienen capacidad antioxidante, de manera que el tueste del café puede incluso incrementar su capacidad antioxidante (Nicoli, y col., 1997; Daglia y col., 2000; del Castillo y col., 2002; Anese y Nicoli, 2003).

La reacción de Maillard se produce principalmente por condensación de grupos carbonilo de azúcares reductores con grupos amino libre de aminoácidos y péptidos resultantes de la desnaturalización proteica durante el tueste. Incluye una serie de reacciones químicas en cadena durante las cuales se forman y destruyen compuestos para acabar formando polímeros, que posteriormente dan lugar a compuestos de alto peso molecular de color pardo y estructura no bien definida llamados melanoidinas (Oosterveld y col. 2003), que representan al menos el 25% del extracto seco del café tostado (Belitz y col., 2009). Los compuestos fenólicos también participan en la reacción de Maillard y son, al menos en parte, incorporados a las melanoidinas del café a través de enlaces no covalentes o covalentes. Asimismo, pueden incorporar en sus estructuras otros compuestos tales como galactomananos y proteínas-arabinogalactanos (Bekedam y col. 2008b).

Además de su contribución al flavor y color, las melanoidinas del café presentan actividad antioxidante (Delgado-Andrade y Morales, 2005b); Caemmerer y Kroh, 2006; López-Galilea y col., 2006a); Rufián-Henares y Morales, 2007), que puede ser realizada por la incorporación al menos parcial de ácidos clorogénicos a su estructura (Bekedam y col., 2008a,c); Nunes y Coimbra, 2010, Perrone y col., 2012). Algunos de estos productos caracterizados como melanoidinas presentan actividad antiradical y son conocidos como agentes quelantes de metales siendo su formación proporcional a la intensidad del tueste (Borrelli y col., 2002; Delgado-Andrade y col., 2005a); Delgado-Andrade y Morales, 2005b); Morales y col., 2005).

En consonancia con su actividad antioxidante, se han establecido algunos efectos fisiológicos de las melanoidinas tales como la inducción de los sistemas enzimáticos de quimiopreención (Faist y Erbersdobler, 2001) y su efecto protector frente a la peroxidación lipídica en hepatocitos aislados de rata (Valls-Bellés y col., 2004). Goya y col. (2007) demuestran que el tratamiento de células HepG2 de hepatoma humano con digeridos de melanoidinas de café dentro de un determinado rango fisiológico induce protección de las células frente al daño oxidativo por modulación de la concentración de glutatión reducido, producción de malonaldehído y actividad de enzimas antioxidantes. Además, en un estudio reciente se ha encontrado que los productos de la reacción de Maillard intermedios y finales del café instantáneo contribuyen a su capacidad antioxidante al disminuir el daño del DNA en células HT-29 (Del Pino-García y col. 2012).

La reacción de Maillard tiene un papel clave no solo en el desarrollo del color del café tostado, sino también en la generación de su aroma. En este sentido, las pirazinas, resultantes de la degradación de los productos de la reacción de Maillard inestables son potentes odorantes en el café tostado. Otras familias de

compuestos aromáticos importantes formados durante estas reacciones son los aldehídos, cetonas, piridinas, oxazoles, tiazoles y tiofenos (Sanz y col., 2001, 2002; López Galilea y col., 2008b). Además de por la reacción de Maillard, se forman por caramelización y degradación de hidratos de carbono (principalmente aldehídos y ácidos volátiles), y por desnaturalización proteica (tiofenos, tioles) (Flament, 2001; Illy y Viani, 2005). Aminoácidos como la cisteína, homocisteína, hidroxiaminoácidos o la prolina son degradados a través de estas reacciones para dar mercaptanos, tiofenos, alquilpirazinas y piridinas respectivamente. La degradación de las proteínas es proporcional al grado de tueste, oscilando entre el 20-40% para los cafés sometidos a tueste intermedio y hasta el 50% para los tuestes intensos (Illy y col., 2005). Por su parte, los azúcares también pueden sufrir reacciones de enolización, deshidratación y fragmentación cuando se calientan a temperaturas por encima de las de fusión dando lugar a la formación de derivados furánicos que, por despolimerización, forman pigmentos color pardo. Estos derivados furánicos como el furfural y el 5-hidroximetilfurfural pueden a su vez reaccionar con compuestos amínicos en las reacciones de Maillard. Por su parte, los polisacáridos pueden degradarse hasta fragmentos solubles.

Como consecuencia de las reacciones señaladas, durante el proceso de tueste se desarrolla el aroma específico del café tostado, Se han identificado más de 900 compuestos volátiles, dependiendo de su origen, grado de tueste, así como del método de análisis utilizado (Yeretzian y col., 2003), de los cuales solo 40 contribuyen a su aroma (Grosch 2000), y no siempre son los compuestos que se encuentran en mayor proporción. Así, diferentes estudios en café molido (Czerny y col., 1999; Mayer y col., 2001; Sanz y col., 2001) y en bebida de café (Mayer y col. 2000) han demostrado que los compuestos volátiles cuantitativamente más importantes no tienen

una contribución significativa al aroma final del café; mientras que algunos compuestos que no pueden ser fácilmente detectados por cromatografía de gases al no presentar un pico definido, pueden contribuir sustancialmente al aroma del café. Diferentes trabajos (Holscher y col. 1994; Semmelroch y col, 1995 y Deibler y col. 1998), han intentado establecer qué compuestos son los que contribuyen realmente.

Grosch (1998), Maeztu y col. (2001) y Sanz y col. (2002) estudiaron las diferencias de aroma asociadas a la especie botánica encontrando mayor proporción de aldehídos, cetonas y furanos en los cafés *Arábica* frente a los *Robusta* o mezclas *Arábica/Robusta*. El grado de tueste aplicado al café verde también condiciona el desarrollo del perfil aromático del café (Mayer y col. 1999) aumentando las notas aromáticas a tostado, sulfuroso, tierra y humo (Grosch, 1998). Son numerosos los estudios orientados a conocer los precursores y rutas de síntesis química que generan los compuestos aromáticos liberados durante el tueste (Tressl, 1989; Ho y col. 1993; Holscher y col., 1994; Reineccius, 1995, Grosch, 1999; Czerny y col., 2000). Se ha podido comprobar que existe un alto grado de interacción entre las diferentes rutas implicadas, de las cuales las más importantes son las reacciones de Maillard como se ha señalado anteriormente. Los productos formados en estas reacciones son inestables y se degradan con facilidad, dando lugar a otros muchos compuestos aromáticos de naturaleza química diferente que fueron clasificados por Ho y col. (1993) en tres grupos: productos de deshidratación o fragmentación de azúcares (furanos, piranos, compuestos carbonilos, ácidos), productos de degradación de aminoácidos mediante degradación de Strecker (aldehídos y compuestos azufrados) y productos obtenidos mediante posteriores interacciones (pirazinas, pirroles, piridinas, oxazoles, tiazoles y tiofenos).

Los compuestos de mayor impacto aromático en muestras de café molido son el 2-furfuriltiol, el 4-vinilguaiacol, las alquilpirazinas y algunas furanonas, además del acetaldehído, el propanal, el metilpropanal y el 2 y 3 metilbutanal (Czerny y col. 1999). Blank y col. (1992a,b), Semmelroch y col. (1995, 1996), Grosch (1998) y Deibler y col. (1998), señalaron que las diferencias existentes entre el aroma percibido en el café molido y su respectiva bebida no se deben a la generación de nuevos compuestos, sino a un cambio en la concentración de los mismos, consecuencia del proceso de extracción que favorece el paso a la bebida de los compuestos más polares.

Además, se ha sugerido que algunos compuestos volátiles heterocíclicos formados durante la reacción de Maillard (Shibamoto, 1983; Flament, 2001) y presentes en el café, tales como pirroles, furanos, tiofenos, tiazoles e imidazoles, tienen capacidad antioxidante. Fuster y col. (2000), Yanagimoto y col. (2002) analizaron el efecto inhibitorio respecto a la oxidación del hexanal de compuestos volátiles individuales y señalaron una considerable capacidad antioxidante de algunos pirroles, furanos y tiofenos. Más tarde, Yanagimoto y col. (2004) analizaron la capacidad antioxidante de fracciones cromatográficas obtenidas de un extracto en diclorometano de bebidas de café. Este estudio sugiere que los compuestos volátiles son los responsables de la capacidad antioxidante que presentan las fracciones de diclorometano. Sin embargo, López-Galilea y col. (2008a) encuentran una correlación negativa de estos compuestos con la capacidad antioxidante de café tostado sugiriendo incluso una capacidad prooxidante. No obstante estos resultados pueden no ser tan contradictorios, si se considera que algunos compuestos antioxidantes pueden actuar como prooxidantes a diferentes concentraciones (Andueza y col., 2009). Además muchos de los trabajos que estudian la capacidad antioxidante de los compuestos

volátiles se han realizado con patrones a concentraciones significativamente más elevadas que a las que estos compuestos se encuentran en el café, por lo que estos resultados no pueden ser directamente extrapolados a la capacidad antioxidante del café. En un estudio reciente, Ludwig y col. (en revisión), evalúa la capacidad antioxidante de estos compuestos volátiles en sistemas modelo a concentraciones similares a las encontradas en el café y concluyen que los compuestos volátiles resultantes de la reacción de Maillard presentes en el café contribuyen mínimamente (<3,3 %) a la capacidad antioxidante global del café en comparación con otros compuestos antioxidantes, como los fenólicos y las melanoidinas.

En el caso del café torrefacto, la adición de azúcar durante el proceso de tueste puede contribuir a intensificar el desarrollo de la reacción de Maillard, y como consecuencia la formación de compuestos derivados de la misma, llegando incluso, a aumentar la capacidad antioxidante del café (López Galilea y col., 2006a), 2008a). Recientemente, sin embargo, Ludwig y col. (2013a) han observado que el tueste torrefacto influye en menor proporción que el grado de tueste, y la variedad y origen del café en el contenido de compuestos antioxidantes y, por consiguiente, en su capacidad antioxidante. Este tipo de tueste tiene influencia sobre las características físico-químicas, sensoriales y perfil aromático tanto del café molido como de sus correspondientes bebidas (Maeztu y col., 2001, 2002; Sanz y col., 2001, 2002). Sanz y col. (2002) observaron que cafés sometidos a este tipo de tueste presentan un incremento en el contenido de pirazinas, furanos y piridinas, correlacionadas sensorialmente con notas a quemado tostado y caramelo características del tueste torrefacto (Andueza y col. 2003a,b).

Además, como consecuencia de un tueste intenso del café se pueden formar compuestos indeseables tales como la acrilamida, compuestos aromáticos policíclicos y furano. La acrilamida es



considerada tanto carcinogénica como genotóxica en estudios con animales, y se considera como probable carcinógeno en humanos (EFSA, 2012). Diferentes estudios han puesto de manifiesto que el café contribuye en gran medida a la ingesta de acrilamida en países del Norte de Europa en los que el consumo de café por persona es el más elevado del mundo (Tareke y col., 2002; Perrone y Farah, 2009). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos son también compuestos potencialmente carcinogénicos que se forman cuando los alimentos se someten a temperaturas muy elevadas. La concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el café tostado depende en gran parte del grado de tueste, siendo su contenido mayor en cafés de tueste muy oscuro (Lintas y col., 1979; Maier, 1994; de Paulis y Martin, 2004). En los últimos años se está prestando también atención a la formación del furano, compuesto volátil potencialmente cancerígeno, durante el proceso de tueste del café (EFSA, 2012).



## ***4. BEBIDA DE CAFÉ***

### **4.1. Metodologías de extracción**

El proceso tecnológico de preparación de la bebida de café es esencial en el desarrollo de las cualidades sensoriales de la taza de café, así como en su composición final y propiedades saludables. Partiendo de un mismo tipo de café tostado como materia prima, pero empleando diferentes sistemas de extracción se pueden obtener bebidas con concentraciones de compuestos, y por tanto cuerpo, sabor y características aromáticas muy diferentes.

Petracco (2001) estableció una clasificación cualitativa de los métodos de extracción teniendo en cuenta el modo y el tiempo de contacto café/agua. Así, diferenció entre los métodos de decocción (café hervido o de puchero, turco, percolado y al vacío), métodos de infusión (filtro y napolitano) y métodos de presión (moka (italiana), émbolo y expreso). Los diferentes parámetros tecnológicos de cada uno de estos métodos determinan las características finales de la bebida obtenida.

En los métodos de filtración por goteo, el agua a 92-96°C fluye a través de un lecho de café molido apenas comprimido y el extracto gotea a través de un filtro hasta el recipiente de recogida de la bebida. Las turbulencias en la cámara donde se está liberando la bebida evitan que el agua se sature y facilita la extracción de los compuestos solubles en agua (Lingle, 1996; Ludwig y col., 2012).



**Figura 4.** Diferentes tipos de cafetera: expreso, filtro, émbolo y moka

En la cafetera expreso, el agua a 9 bares de presión y temperaturas entre 88 y 92°C es forzada a pasar a través del café molido con un tamaño de partícula fino, compactado formando una pastilla de café, en un tiempo corto de unos pocos segundos (Lingle, 1996). Un buen café expreso debe tener una crema abundante, persistente y consistente, de color avellana, con efecto de piel de tigre, un sabor ácido/amargo balanceado y mucho cuerpo (Cipolla 1999; Illy y Viani, 2005). La estructura físico-química de la crema, formada por una emulsión de gotas microscópicas de aceite en una solución acuosa de azúcares, ácidos, péptidos y cafeína con burbujas de aire y sólidos coloidales (Petracco, 2005; Andueza y col. 2007) facilita la concentración y la liberación progresiva de los compuestos aromáticos del café. En este sistema la presión del agua caliente facilita la extracción de una mayor proporción de la grasa del café, sus azúcares, proteínas y otros compuestos poliméricos como las melanoidinas, dando lugar a una taza con todo su sabor, crema y aroma (Barberá, 2000; Maeztu y col., 2001; Andueza y col., 2002).

En la cafetera moka o italiana, la presión del agua es provocada por la ebullición del agua en un recipiente cerrado, lo que fuerza al agua a pasar a través del café molido situado en un recipiente adecuado provisto de un filtro metálico, para recogerse finalmente la bebida

en la parte superior de la cafetera. La presión que se alcanza en estas cafeteras no supera las 0,5 atmósferas relativas. Este sistema permite la extracción de sustancias normalmente insolubles que confieren a la taza notas de flavor amargas y astringentes, a quemado.

La cafetera de émbolo, también denominada cafetera francesa, consta de un recipiente cilíndrico equipado con un émbolo o pistón que se puede mover libremente y que en su base tiene una malla metálica muy fina que actúa de filtro. Tras retirar el émbolo del recipiente, se añade el café molido medio-grueso y sobre éste el agua caliente, casi a temperatura de ebullición. Transcurrido el tiempo adecuado se presiona el émbolo hacia abajo, de forma que actúa de filtro, permitiendo obtener una bebida libre de sedimentos. La presión máxima ejercida se encuentra en el rango de 0,01 a 0,5 atmósferas relativas, pero depende mucho del grado de molido. La bebida obtenida tiene mucho cuerpo y turbidez debido a la enorme cantidad de partículas finas en suspensión y a las gotitas de aceite formadas.

El proceso de molido del café tiene gran importancia en la elaboración de un café, y está determinado por el sistema de extracción a utilizar en la preparación de la bebida de café, siendo éste aspecto objeto de numerosos estudios (Spiro y Selwood, 1984; Lingle, 1996; Barberá, 2000; Andueza y col., 2003a); Illy y Viani, 2005). Por lo general, moliendas excesivamente finas disminuyen la extracción debido a la aglomeración y efectos de flotación asociados a un mojado insuficiente de las partículas, mientras que en las moliendas excesivamente gruesas el porcentaje de extracción disminuye debido al pequeño volumen de superficie específico que influye en el transporte de difusión. En el caso de café de filtro se requiere un grado de molido intermedio, sin embargo en el caso del café expreso se requiere un grado de molido fino con una distribución de tamaño de partícula multimodal, ya que como ha

señalado Illy y Viani (2005) las partículas finas aumentan la superficie de contacto facilitando la extracción de gran cantidad de material soluble y emulsificable; mientras que las partículas gruesas facilitan la conformación de la pastilla de café y permiten un flujo adecuado del agua de extracción.

#### **4.2. Composición y capacidad antioxidante de la bebida de café**

Se ha podido comprobar que muchos de los compuestos químicos identificados en el café tostado, entre los que cabe mencionar los compuestos antioxidantes, presentan diferente velocidad de extracción, la cual puede verse influida por la elección de las condiciones y técnica de preparación de la bebida (Peters, 1991; Petracco, 2001; Petracco 2005). Se ha señalado también, que la extracción de los sólidos totales y de compuestos como ácidos clorogénicos, cafeína y trigonelina en la bebida de café depende no solo del sistema de extracción (Bell, 2000), sino también de otros factores como el grado de molido (Andueza y col. 2003a), la dosis de café empleada (Andueza y col., 2007), la presión de agua (Andueza y col., 2002) y la temperatura del agua (Andueza y col., 2003b). Estos hechos se deben a que el contacto del agua con el café molido es una etapa crucial en la extracción de estos compuestos y su paso a la bebida; y en consecuencia podría influir también en las propiedades beneficiosas del café.

De manera habitual, la extracción de los compuestos hidrosolubles, entre los que se incluyen los ácidos clorogénicos, cafeína, ácido nicotínico, melanoidinas solubles y compuestos volátiles hidrofílicos es mayor a temperaturas y presión elevadas (Trugo y Macrae, 1984; Andueza y col. 2002, 2003b). Se ha comprobado que en el proceso de extracción del café se extraen aproximadamente entre el 80 y 100% de los ácidos clorogénicos (Clifford, 2000), lo que

supone de 35 a 100 mg de ácidos clorogénicos por 100 mL de bebida de café Arabica y entre 35 y 175 mg/100mL de bebida de café Robusta (Clifford, 1997). Andueza y col. (2007) observaron un aumento en la extracción de cafeína y ácido 5-cafeoilquínico en bebidas de café expreso preparadas con proporciones elevadas de café/agua. La extracción de estos dos compuestos también aumenta con la temperatura y la presión pero solo hasta 92°C y 9 bares de presión, mientras que un aumento de estos parámetros proporciona menores cantidades de cafeína y ácido 5-cafeoilquínico (Andueza y col., 2002; Andueza y col., 2003b).

La acidez de una bebida de café se debe tanto a la presencia de ácidos orgánicos tales como el acético, fórmico, málico, cítrico y láctico, como a los ácidos clorogénicos y sus productos de hidrólisis (ácidos quínico e hidroxicinámicos), y es un atributo de calidad. El pH varía aproximadamente de 5,2 en una bebida elaborada con café de tueste ligero hasta 5,8 (Kurt y Speer, 1990). Pérez-Martínez y col. (2008) en un estudio de evolución de bebida de café durante el almacenamiento en refrigeración comprobó que a pH inferiores a 4,8 los cafés presentan sabores excesivamente ácidos, mientras que a pH superiores a 5,2 el café resulta plano y amargo, y señalan el pH de 4,8 como límite de aceptación de bebidas de café. Cafés de diferentes orígenes proporcionan extractos con diferente pH. Generalmente, el pH de las variedades Robusta es más elevado que el de los Arábica.

Nunes y col. (1997, 1998); Petracco y col. (2001), señalan que en el caso del café expreso, la formación de la crema depende linealmente del grado de tueste del café, siendo las proteínas los compuestos que más intervienen en su formación, mientras que la posterior estabilidad de la misma depende del contenido en polisacáridos. Parece que un 10% de los sólidos totales del café expreso corresponde a sustancias lipófilas que se encuentran presentes esencialmente en la crema de la bebida (Ratnayake y col., 1993).

Respecto a la fracción lipídica, no soluble en agua, la mayor parte permanece en el grano después del tueste, y está presente en la bebida en forma de emulsión siempre que la presión y temperatura del agua permita su extracción. En este sentido, Speer y Kölling-Speer (2006), señalan que el método empleado en la preparación de la bebida de café influye directamente en la cantidad de diterpenos que pasan a la bebida, lo cual está directamente relacionado con el contenido lipídico total de la bebida. Así, mientras que el café hervido tiene una elevada concentración de aceites de café debido al largo tiempo de contacto entre el café molido y el agua a elevada temperatura, los diterpenos están mínimamente presentes en el café de filtro, lo cual se debe al hecho de que la fracción lipídica no es miscible con el extracto, tiende a flotar sobre la superficie del extracto acuoso y queda retenida en el filtro (Bonita y col. 2007). En el café expreso, la elevada presión del agua y la ausencia de filtro de papel u otro material lipofílico, facilita la extracción de los lípidos y su paso a la bebida. Sin embargo, no se puede considerar que la bebida de café tenga una elevada cantidad de compuestos de naturaleza lipófila, incluyendo diterpenos bioactivos y esteroides.

Con relación a la capacidad antioxidante de las bebidas de café, Pérez-Martínez y col. (2010) y Bravo y col. (2012), demuestran que los cafés procedentes de cafetera moka son los que tienen mayor capacidad antioxidante por gramo de café molido inicial, pero los cafés expresos son los más ricos en términos de ingesta (por mL de bebida de café) seguidos por los de cafetera moka, émbolo y filtro. Bravo y col. (2012) señalan también que la mayor parte de los ácidos clorogénicos presentes en las bebidas de café corresponden a los ácidos cafeoilquínicos y una proporción mucho más baja a los dicafeoilquínicos. Por otro lado, Ludwig y col. (2012) observaron que el tiempo de elución es clave en la extracción, y que una presión de agua elevada propia de la cafetera expreso, aumenta la velocidad de extracción tanto de compuestos fenólicos como no fenólicos. Así, en



el caso del café expreso el 70% de sus ácidos clorogénicos se extrae en los primeros 8 segundos, siendo más lenta la extracción de los dicafeoilquínicos y cafeoilferuloilquínicos por tener mayor peso molecular que los cafeoilquínicos. Otros factores tecnológicos como las turbulencias y un mayor tiempo de contacto entre el agua y el café, típicos de una cafetera filtro, favorecen la eficacia de extracción de los compuestos antioxidantes de menor polaridad como los dicafeoilquínicos. La identificación y cuantificación en bebidas de café de 22 ácidos clorogénicos por HPLC-PDA-MS<sup>n</sup> permitió concluir que el contenido total de ácidos clorogénicos no es muy diferente entre las dos especies de café, aunque el café Arábica presentó mayores niveles de ácidos cafeoilquínicos, mientras que la variedad Robusta tenía un contenido en ácidos feruloilquínicos y sus correspondientes lactonas de entre 2 y 3 veces superior (Ludwig y col. 2013b).

La capacidad antioxidante de los ácidos clorogénicos presentes en bebidas de café se debe mayoritariamente a los ácidos cafeoilquínicos (75-84%), seguidos por las lactonas de los ácidos clorogénicos (11-14%), los ácidos dicafeoilquínicos (4-8%), los cafeoilferuloilquínicos (0-5%), y los p-cumaroilquínicos (0-1%). Ninguno de los ácidos feruloilquínicos del café y sus correspondientes lactonas presentan capacidad reductora del radical ABTS<sup>+</sup> (Ludwig y col., 2013, on line) Estos mismos autores han confirmado que un aumento en los grupos hidroxilo favorece la captura de radicales libres por parte de los ácidos clorogénicos, mientras que la metilación del grupo hidroxilo en la posición 3 del ácido hidroxicinámico y la lactonización del ácido quínico produce un descenso de esta actividad. Estos mismos autores señalan que la capacidad reductora del radical ABTS<sup>+</sup> de los ácidos clorogénicos supone solo un 7-16 % de la capacidad antioxidante de las bebidas de café, siendo estos valores más bajos en el café expreso (7-11%) que en el café de filtro (12-16%). Además, en condiciones de

extracción similares, los cafés Robusta tienen mayor capacidad antioxidante que los Arábica. Estos hechos sugieren que los compuestos de alto peso molecular resultantes de la reacción de Maillard, así como los compuestos fenólicos unidos a melanoidinas podrían contribuir en una proporción elevada a la capacidad antioxidante de las bebidas de café. De hecho estos compuestos se extraen en cantidades más elevadas con la cafetera expreso y se encuentran en mayor proporción en bebidas preparadas con cafés Robusta.

En relación a la fracción volátil de la bebida de café se ha sugerido la presencia de alrededor de 630 compuestos que contribuyen en alguna medida a su aroma (Holscher y col., 1990; Blank y col., 1992b); Holscher y Steinhart, 1992; Semmelroch y Grosch, 1995; Czerny y col., 1996; Pollien y col., 1997; Grosch, 1999; Czerny y Gross 2000; Mayer y col., 2000; López-Galilea y col., 2006b). Según Mayer y col. (2000), los principales compuestos aromáticos responsables del flavor de la bebida de café son el 3-metilbutanal, metilpropanal, 4-hidroxi-2,5 dimetil-3(2H)-furanona y el 2-etil-4-hidroxi-5-metil-3(2H)-furanona, característicos por su aroma a caramelo; y el 3-mercapto-3-metilbutilformato, 2-furfuriltiol, y 2-metil-2buten-1-tiol responsables de las notas a sulfuroso/tostado.

### **4.3. Biodisponibilidad de compuestos de interés**

Es necesario considerar que los efectos beneficiosos para la salud de los antioxidantes del café no son necesariamente una consecuencia directa de su capacidad antioxidante, ya que para que ejerzan esta actividad *in vivo* es necesario que se encuentren biodisponibles y puedan alcanzar el órgano diana.

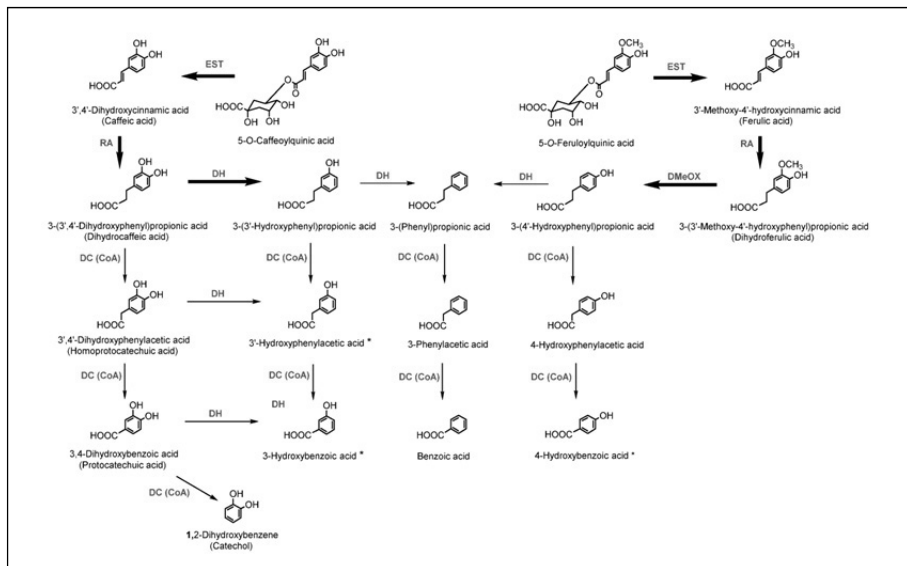
En relación a las Melanoidinas, aunque todavía existe discusión acerca de su biodisponibilidad, está claro que al menos pueden actuar

como prebióticos o incluso como agentes antimicrobianos dependiendo de su naturaleza y concentración (Borrelli y Fogliano, 2005; Rufián-Henares y de la Cueva, 2009). Por lo que respecta a los ácidos clorogénicos, conviene señalar que los ácidos cafeoilquínicos son metabolizados a su paso por el tracto gastrointestinal, siendo sus metabolitos los que predominan en el torrente circulatorio, aunque en concentraciones sub- $\mu$ moles, después de la ingestión del café (Stalmach y col., 2009, 2010).

Spencer y col. (1999), en un estudio en el que utilizó un modelo de intestino delgado de ratas, observó una pequeña absorción de ácido 5-cafeoilquínico, apuntando al intestino grueso como el lugar más adecuado para la absorción y/o metabolismo de ácidos cafeoilquínicos. También en estudios en humanos con ileostomía se ha podido comprobar que solo un tercio de los ácidos clorogénicos ingeridos se absorbían antes de llegar al intestino grueso (Olthof y col., 2001; Stalmach y col., 2010). En sujetos con buen funcionamiento del colon se pudo observar que los dos tercios restantes llegarán al intestino grueso, donde la microbiota intestinal mediará su ruptura hasta una amplia variedad de catabolitos de bajo peso molecular. Considerando que el destino de los polifenoles depende en gran medida de los cambios estructurales que ocurren durante su paso a través del tracto gastrointestinal (Selma y col., 2009; Williamson y Clifford, 2010), la identificación y cuantificación de los catabolitos producidos por la flora microbiana en el intestino grueso es de gran importancia para conocer la biodisponibilidad global y los potenciales efectos beneficiosos para la salud de los polifenoles de la dieta.

Por esta razón, Ludwig y col. (2013b) estudiaron la influencia de la microbiota intestinal humana sobre los compuestos fenólicos presentes en café expreso y observaron que la microflora del colon metaboliza rápida y ampliamente los ácidos clorogénicos presentes en el café dando lugar a una serie de catabolitos de los que se han

identificado 11. La aparición de los primeros productos de degradación como los ácidos cafeico y ferúlico fue transitoria alcanzándose cantidades máximas al cabo de 1 hora. Las principales rutas de degradación de los ácidos clorogénicos, propuestas por estos autores (ver Figura 5) muestran una acumulación de los ácidos dihidrocafeico y dihidroferúlico, que junto con el 3-(3'-hidroxifenil) propiónico constituyen el 75-83% del total de catabolitos finales. Los dos primeros son mejor absorbidos que sus correspondientes ácidos cafeoilquínicos y feruloilquínicos, y estudios *in vivo* han confirmado a los ácidos dihidrocafeico y dihidroferúlico libres y sulfatados como los principales metabolitos encontrados en plasma y orina después de la ingestión del café (Stalmach y col., 2009).



**Figura 5.** Propuesta de rutas catabólicas para la degradación de los ácidos clorogénicos por la microbiota del colon después de la ingestión de café expreso. Asterístico pegado al nombre del compuesto indica cantidades traza. Las flechas en negrita indican las principales rutas. EST: esterasa; RA: reductasa; DH: deshidrogenasa; DMeOX: demetoxiesterasa; DC (CoA): descarboxilación mediante Coenzima A (Ludwig y col., 2013b)

En este mismo estudio también se observaron diferencias interindividuales principalmente en el catabolismo intestinal de los ácidos feruloilquínicos y sus lactonas que se degradaron de forma incompleta (40% después de 6 h), mostrando que las poblaciones microbianas presentes pueden tener gran influencia en la velocidad y extensión de la degradación de los ácidos clorogénicos como se había apuntado en otros estudios (Selma y col., 2009; Jaganath y col., 2009; Gross y col., 2010; González-Barrío y col., 2011). Por tanto, la biodisponibilidad de los ácidos clorogénicos depende en gran medida del metabolismo de la microbiota del colon en cada individuo.

Los ácidos dihidrocafeico y dihidroferúlico, otros catabolitos minoritarios y los ácidos clorogénicos no catabolizados que están presentes en las regiones superiores del intestino grueso podrían actuar como antioxidantes y prebióticos explicando, al menos en parte, algunos de los efectos beneficiosos para la salud a nivel del colon atribuidos al consumo de café. En este sentido, cabe señalar que es importante que las investigaciones de los potenciales efectos protectores a nivel del colon con sistemas celulares *ex vivo*, se realicen con mezclas de los ácidos clorogénicos y sus catabolitos a las dosis a las que llegan al tracto gastrointestinal proximal.



## ***5. MÁS ALLÁ DEL CAFÉ***

Por último, no se puede olvidar que el procesado tecnológico del café y la elaboración de las bebidas a nivel doméstico y en cafeterías, así como en la industria del café soluble, origina una serie de subproductos con un importante impacto medioambiental. Algunos de estos subproductos se han propuesto también como fuentes de antioxidantes y compuestos bioactivos.



**Figura 6.** Subproductos del café: pulpa de café, piel exterior del fruto, lámina plateada, residuos (posos) (tomado de Bravo, 2013)

Tanto la pulpa del café como su piel se han propuesto como sustratos para la producción de champiñones (Murthy y Manonmani, 2008) y para bioprocesos como la producción de enzimas (Murthy y col., 2009, Murthy y Madhava Naidu, 2011). La lámina plateada se ha propuesto como un ingrediente funcional por su potencial actividad prebiótica (Borrelli y col., 2004), por su alto contenido en fibra soluble (Napolitano y col., 2007) y su actividad antioxidante (Narita y Inouye, 2012). Por último, en un estudio reciente realizado en nuestro laboratorio Bravo y col. (2012 y

2013a) señalan que los residuos de café (posos) procedentes de cafetera filtro, expreso y de émbolo presentan una importante capacidad antioxidante debido a la presencia de compuestos antioxidantes hidrofílicos, tanto fenólicos (ácidos mono y dicafeoilquínicos) como no fenólicos (cafeína y melanoidinas). De hecho, los posos procedentes de cafetera émbolo son de 4 a 7 veces más ricos en ácidos dicafeoilquínicos que sus respectivas bebidas de café, ya que estos ácidos clorogénicos requieren condiciones de extracción más severas. Entre los extractos de posos analizados los que presentaron mayor capacidad antioxidante son los de café Arábica procedentes de cafetera de filtro y los de café Robusta procedentes de cafetera expreso. Estos mismos posos mostraron también actividad antioxidante y genoprotectora en células HeLa (derivadas de cáncer cervical humano) (Bravo y col., 2013b). Otros estudios han señalado también la presencia de compuestos fenólicos en posos de café expreso (Cruz y col., 2012, Zuorro y Lavecchia, 2012, Panusa y col., 2013), así como en los residuos de la industria del café soluble (Yen y col., 2005, Ramalakshmi y col., 2009).

Por consiguiente, los extractos de posos de café podrían considerarse como una potencial fuente de compuestos hidrofílicos antioxidantes aplicables en la industria alimentaria y farmacéutica. Sin embargo, sería necesario continuar con estos ensayos y realizar estudios adicionales en humanos sobre los compuestos responsables y los mecanismos subyacentes para corroborar la importancia de estos resultados.



## ***6. CONCLUSIÓN***

En conclusión, la bebida de café puede considerarse una buena de compuestos antioxidantes y bioactivos con propiedades beneficiosas para la salud. Aunque existen ligeras evidencias de los riesgos asociados al consumo de café en personas sensibles a los estimulantes, la ingesta de 3-5 tazas por día (concentración media de cafeína de 60-85 mg por taza) tiene efectos beneficiosos. En sectores de población con hipertensión y ancianos u otras personas sensibles a la cafeína, conviene seleccionar aquellos cafés con un menor contenido en cafeína (cafés Arábica) o cafés descafeinados que presentan una capacidad antioxidante similar. También se recomienda prudencia en la ingesta de café a mujeres embarazadas o lactantes, limitando su consumo a tres tazas al día y en ningún caso una ingesta de cafeína superior a 300 mg/día.

Finalmente, se puede señalar que el mundo de la investigación del café sigue siendo tan apasionante como extenso ya que en él se entremezclan aspectos tan variados como los tecnológicos, los químicos, sensoriales, fisiológicos, nutricionales, toxicológicos, farmacológicos y en el que últimamente se integran otros como los microbiológicos (microbiota intestinal) y las tecnologías de bioprocesos, por lo que sigue siendo un campo abierto para la investigación interdisciplinar.



## **7. BIBLIOGRAFÍA**

- Abu Amsha, R., Croft, K. D., Puddey, I. B., Proudfoot, J. M., Beilin, L. J. (1996). Phenolic content of various beverages determines the extent of inhibition of human serum and low-density lipoprotein oxidation in vitro: identification and mechanism of action of some cinnamic acid derivatives from red wine. *Clinical Science*, 91(4), 449-458.
- Alonso-Salces, R. M., Guillou, C., Berrueta, L. A. (2009). Liquid chromatography coupled with ultraviolet absorbance detection, electrospray ionization, collision-induced dissociation and tandem mass spectrometry on a triple quadrupole for the on-line characterization of polyphenols and methylxanthines in green coffee beans. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23(3), 363-383.
- Andueza, S., Maeztu, L., Dean, B., De Peña, M., Bello, J., Cid, C. (2002). Influence of water pressure on the final quality of arabica espresso coffee. Application of multivariate analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7426-7431.
- Andueza, S., De Peña, M. P., Cid, C. (2003a). Chemical and sensorial characteristics of espresso coffee as affected by grinding and torrefacto roast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(24), 7034-7039.
- Andueza, S., Maeztu, L., Pascual, L., Ibañez, C., De Peña, M. P., Cid, C. (2003b). Influence of extraction temperature on the final quality of espresso coffee. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(3), 240-248.
- Andueza, S., De Peña, M. P., Vila, M., Cid, C. (2007). Influence of coffee/water ratio on the final quality of espresso coffee. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(4), 586-592.
- Andueza, S., Manzocco, L., De Peña, M.P., Cid, C., Nicoli, C. (2009). Caffeic acid decomposition products: antioxidants or pro-oxidants?. *Food Research International* 42 (1), 51-55.

- Anese, M., Nicoli, M. C. (2003). Antioxidant properties of ready-to-drink coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(4), 942-946.
- Arion, W. J., Canfield, W. K., Ramos, F. C., Schindler, P. W., Burger, H. J., Hemmerle, H., Schubert, G., Below, P., Herling, A. W. (1997). Chlorogenic acid and hydroxynitrobenzaldehyde: new inhibitors of hepatic glucose 6-phosphatase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 339, 315-322.
- Aruoma, O. (1999). Antioxidant actions of plant foods: Use of oxidative DNA damage as a tool for studying antioxidant efficacy. *Free Radical Research*, 30(6), 419-427.
- Ascherio, A., Zhang, S. M., Hernán, M. A., Kawachi, I., Colditz, G. A., Speizer, F. E., Willett, W. C. (2001). Prospective study of caffeine consumption and risk of Parkinson's disease in men and women. *Annals of Neurology*, 50(1), 56-63.
- Azam, S., Hadi, N., Khan, N., Hadi, S. (2003). Antioxidant and prooxidant properties of caffeine, theobromine and xanthine. *Medical Science Monitor*, 9(9), BR325-330.
- Barbera, P. (2000). El café expreso. *Forum café*, 3, 6-16.
- Barranco-Quintana, J. L., Allam, M.F., Serrano del Castillo, A., Fernández-Crehuet, R. (2007). Alzheimer's disease and coffee: A quantitative review. *Neurological Research*, 29(1), 91-95.
- Beal, M. (1995). Aging, energy, and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Annals of Neurology*, 38(3), 357-366.
- Beghi, E., Pupillo, E., Messina, P., Giussani, G., Chiò, A., Zoccolella, S., Moglia, C., Corbo, M., Logroscino, G. (2011). Coffee and Amyotrophic Lateral Sclerosis: A possible preventive role. *American Journal of Epidemiology*, 174(9), 1002-1008.
- Bekedam, E. K., Schols, H. A., Van Boekel, M. A., Smit, G. (2008a). Incorporation of chlorogenic acids in coffee brew melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), 2055-2063.
- Bekedam, E. K., Loots, M., Schols, H. A., Van Boekel, M. A., Smit, G. (2008b). Roasting effects on formation mechanisms of coffee brew melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16), 7138-7145.

- Bekedam, E. K., Schols, H. A., Cämmerer, B., Kroh, L. W., van Boekel, M. A. J. S., Smit, G. (2008c). Electron Spin Resonance (ESR) Studies on the Formation of Roasting-Induced Antioxidative Structures in Coffee Brews at Different Degrees of Roast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12), 4597-4604.
- Belitz, H., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). Coffee, tea, cocoa. In *Food Chemistry*, 4th ed; H. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle (Eds.); Heidelberg: Springer-Verlag Berlin, pp. 938-969.
- Bell, J. (2000). Spain's great fertile ground for new ideas in coffee. *Tea and Coffee Trade Journal*, December, 31-35.
- Blank, I., Sen, A., Grosch, W. (1992a). Aroma impact compounds of Arabica and Robusta coffee. Qualitative and quantitative investigations. En: *Proceedings of the 14th International Colloquium on the Chemistry of Coffee, ASIC 1991, San Francisco, 117-129, ASIC, Paris, France.*
- Blank, I., Sen, A., Grosch, W. (1992b). Potent odorants of the roasted powder and brew of Arabica coffee. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 195, 239-245.
- Bøhn, S. K., Ward, N. C., Hodgson, J. M., Croft, K. D. (2012). Effects of tea and coffee on cardiovascular disease risk. *Food Function*, 3(6), 575-591.
- Bonita, J. S., Mandarano, M., Shuta, D., Vinson, J. (2007). Coffee and cardiovascular disease: In vitro, cellular, animal, and human studies. *Pharmacological Research*, 55(3), 187-198.
- Borrelli, R. C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., Fogliano, V. (2002). Chemical characterization and antioxidant properties of coffee melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6527-6533.
- Borrelli, R. C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., Fogliano, V. (2004). Characterization of a new potential functional ingredient: Coffee silverskin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1338-1343.
- Borrelli, R. C., Fogliano, V. (2005). Bread crust melanoidins as potential prebiotic ingredients. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(7), 673-678.
- Bravo, J., Juárez, I., Monente, C., Caemmerer, B., Kroh, L.W., De Peña, M.P., Cid, C. (2012). Evaluation of spent coffee obtained from the most

- common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12565-12573.
- Bravo, J. Potential antioxidant, genoprotective and neuroprotective effect of spent Coffee. Tesis Doctoral, 2013.
- Bravo, J., Monente, C., Juániz, I., de Peña, M. Paz, Cid, C. (2013a). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 50(2), 610-616.
- Bravo, J., Arbillaga, L., De Peña, M.P., Cid, C. (2013b). Antioxidant and genoprotective effects of spent coffee extracts in human cells. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 397-403.
- Buscemi, S., Verga, S., Batsis, J. A., Tranchina, M.R., Belmonte, S., Mattina, A. y col. (2009). Dose-dependent effects of decaffeinated coffee on endothelial function in healthy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63(10), 1200-1205.
- Bytof, G., Knopp, S.E., Schieberle, P., Teutsch, I., Selmar, D. (2005). Influence on processing on the generation of  $\gamma$ aminobutyric acid in green coffee beans. *European Food Research and Technology*, 2, 245-250.
- Caemmerer, B., Kroh, L. W. (2006). Antioxidant activity of coffee brews. *European Food Research and Technology*, 223(4), 469-474.
- Casal, S., Oliveira, M. B. P. P., Alves, M. R., Ferreira, M. A. (2000). Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid, and caffeine content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3420-3424.
- Cavin, C., Holzhaeuser, D., Scharf, G., Constable, A., Huber, W. W., Schilter, B. (2002). Cafestol and kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. *Food and Chemical Toxicology*, 40, 1155-1163.
- Cho, E. S., Jang, Y. J., Hwang, M. K., Kang, N. J., Lee, K. W., Lee, H. J. (2009). Attenuation of oxidative neuronal cell death by coffee phenolic phytochemicals. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 661(1-2), 18-24.
- Cipolla, M. (1999). Today's Espresso Bar: Common Problems and Relative Solutions. *Tea and Coffee Trade Journal*, 32-39.

- Clifford, M. N. (1985). Chlorogenic acids. In *Coffee Vol. 1. Chemistry*; R. J. Clarke, R. Macrae (Eds.); Barking, Essex, UK; Elsevier Applied Science Publishers, pp. 153-202.
- Clifford, M. N. (1997). The nature of chlorogenic acids: Are they advantageous compounds in coffee? In: *Proceedings, 17th International Scientific Colloquium on Coffee*; Nairobi, Kenya, pp. 79-91.
- Clifford, M. N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79(3), 362-372.
- Clifford, M. N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7), 1033-1043.
- Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900-2911.
- Clifford, M. N., Knight, S. (2004). The cinnamoyl-amino acid conjugates of green robusta coffee beans. *Food Chemistry*, 87(3), 457-463.
- Crozier, A., Jaganath, I., Clifford, M. (2009). Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26(8), 1001-1043.
- Crozier, T. W. M., Stalmach, A., Crozier, A. (2012). Espresso coffees, caffeine and chlorogenic acid intake: potential health implications. *Food Function*, 3(1), 30-33.
- Cruz, R., Cardoso, M. M., Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E., Baptista, P., y col. (2012). Espresso coffee residues: A valuable source of unextracted compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(32), 7777-7784.
- Czerny, M., Wagner, R., Grosch, W. (1996). Detection of odor-active ethenalkylpirazines in roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 3268-3272.
- Czerny, M., Mayer, F., Grosch, W. (1999). Sensory study on the character impact odorants of roasted arabica coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 695-699.

- Czerny, M., Grosch, W. (2000). Potent odorants of raw Arabica coffee. Their changes during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 868-872.
- Daglia, M., Papetti, A., Gregotti, C., Bertè, F., Gazzani, G. (2000). In vitro antioxidant and ex vivo protective activities of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1449-1454.
- Daglia, M., Racchi, M., Papetti, A., Lanni, C., Govoni, S., Gazzani, G. (2004). In vitro and ex vivo antihydroxyl radical activity of green and roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1700-1704.
- Daly, J. W., Fredholm, B.B. (1998). Caffeine-an atypical drug of dependence. *Drug and alcohol dependence* 51, 199-206.
- Dawidowicz, A. L., Typek, R. (2010). Thermal Stability of 5-o-Caffeoylquinic Acid in Aqueous Solutions at Different Heating Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12578-12584.
- De Paulis, T., Martin, P. R. (2003). *Coffee Tea, Chocolate and Brain*, Nehligh, A. ed. London: Taylor and Francis Book.
- De Paulis, T., Commers, P., Farah, A., Zhao, J., McDonald, M. P., Galici, R., Martin, P. R. (2004). 4-Caffeoyl-1,5-quinide in roasted coffee inhibits [3H] naloxone binding and reverses antinociceptive effects of morphine in mice. *Journal of Psychopharmacology*, 176, 146-153.
- Deibler, K. D., Acree, T. E., Lavin, E. H. (1998). Aroma analysis of coffee brew by ga chromatography-olfactometry. En: *Food Flavors: Formation, Analysis and Packaging Influences*, (eds. Contis, E. T., Ho, C. T., Mussinan, C. J., Parliament, T. H., Shaidi, F., Spanier, A. M.), pp. 69-78. Elsevier Science, Amsterdam.
- Del Castillo, M. D., Ames, J. M., Gordon, M. H. (2002). Effect of Roasting on the Antioxidant Activity of Coffee Brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3698-3703.
- Delgado-Andrade, C., Rufian-Henares, J., Morales, F. (2005a). Assessing the antioxidant activity of melanoidins from coffee brews by different antioxidant methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20), 7832-7836.
- Delgado-Andrade, C., Morales, F. J. (2005b). Unraveling the Contribution of Melanoidins to the Antioxidant Activity of Coffee Brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1403-1407.



- Del-Pino-García, R., González-Sanjosé, M. L., Rivero-Pérez, M. D., Muñiz, P. (2012). Influence of the degree of roasting on the antioxidant capacity and genoprotective effect of instant coffee: Contribution of the melanoidin fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42), 10530-10539.
- Devasagayam, T., Kamat, J., Mohan, H., Kesavan, P. (1996). Caffeine as an antioxidant: Inhibition of lipid peroxidation induced by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica acta. Biomembranes*, 1282(1), 63-70.
- Dórea, J. G., M. da Costa, T. H. (2005). Is coffee a functional food? Review article. *British Journal of Nutrition*, 93, 773-782.
- Duarte, G., Farah, A. Chlorogenic acids and lactones in Brazilian commercial coffee. *Proc. 22nd Int. Conf. Coffee Sci. ASIC/Prospero*, 224-227. 2009. Trieste, Italy.
- Duarte, G.S., Pereira, A.A., Farah, A. (2010). Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. *Food Chemistry*, 118, 81-855.
- DuFrene, B. y Rubinstein, A. (2010). Market update 2010 delving into decaf. *Tea coffee trade online* 182(7).
- EFSA. <http://www.efsa.europa.eu/>
- Esquivel, P., Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46, 488-495.
- Faist, V., Erbersdobler, H. (2001). Metabolic transit and in vivo effects of melanoidins and precursor compounds deriving from the maillard reaction. *Annals of Nutrition Metabolism*, 45(1), 1-12.
- Farah, A. (2004). Distribuição nos grãos, influencia sobre a qualidade da bebida e biodisponibilidade dos ácidos clorogênicos do café. Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil, Doctorate Thesis.
- Farah, A., De Paulis, T., Trugo, L. C., Martin, P. R. (2005). Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1505-1513.
- Farah, A., Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 23-36.

- Farah, A., Montero, M., Donangelo, C. M., Lafay, S. (2008). Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *Journal of Nutrition*, 138, 2309-2315.
- Farah, A. (2012). Coffee Constituents. In Y. Chu, *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention* (pp. 21-58). Oxford, UK: Wiley-Blackwell.
- Faustmann, G., Cavin, C., Nersesyan, A., Knasmüller, S. (2009). Chemopreventive properties of coffee and its constituents. In *Chemoprevention of cancer and DNA damage by dietary factors*; S. Knasmüller, D. M. DeMarini, I. Johnson and C. Gerhäuser (Eds.); Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, pp. 579-594.
- Ferraz, M. B. M., Farah, A., Iamanaka, B. T., Perrone, D., Copetti, M. V., Marques, V. X., Vitali, A. A., Taniwaki, M. H. (2010). Kinetics of ochratoxin A destruction during coffee roasting. *Food Control*, 21, 872-877.
- Flament, I., Gautschi, F., Winter, M., Willhalm, B., Stoll, M. (1968). Les composants furanniques de l'arôme café: quelques aspects chimiques et spectroscopiques. *Proc. 3rd Coll. Int. Coffee Sci. ASIC*, 197-215. Paris.
- Flament, I. (2001). *Coffee flavor chemistry*. Chichester, UK: John Wiley & Sons Ltd.
- Foley, S., Navaratnam, S., McGarvey, D. J., Land, E. J., Truscott, T. G., Rice-Evans, C. A. (1999). Singlet oxygen quenching and the redox properties of hydroxycinnamic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1202-1208.
- Folstar, P. (1985). *Lipids in Coffee*, Clarke, R. J., Macrae, R., eds. London: Elsevier Applied Science. Vol. 1: Chemistry, pp. 203-222.
- Fuster, M. D., Mitchell, A. E., Ochi, H., Shibamoto, T. (2000). Antioxidative Activities of Heterocyclic Compounds Formed in Brewed Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(11), 5600-5603.
- Gallus, S., Tavani, A., Negri, E., La Vecchia, C. (2002). Does Coffee protect against liver cirrosis?. *Annals of Epidemiology*, 12, 202-205.
- Gatechwitz, D., Reichardt, N., Blaut, M., Steinhart, H., Bunzel, M. (2007). Dietary fiber from coffee beverage: degradation by human fecal microbiota. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 6989-6996.

- George, S. E., Ramalakshmi, K., Mohan Rao, L. J. (2008). A perception on health benefits of coffee. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(5), 464-486.
- Gerin, I., Van Schaftingen, E. (2002). Evidence for glucose-6-phosphate transport in rat liver microsomes. *FEBS Letters*, 517, 257-260.
- González-Barrio, R., Edwards, C. A., Crozier, A. (2011). Colonic catabolism of ellagitannins, ellagic acid, and raspberry anthocyanins: In vivo and in vitro studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 39(9), 1680-1688.
- Goya, L., Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A., Bravo, L., Morales, F. J. (2007). Effect of coffee melanoidin on human hepatoma HepG2 cells protection against oxidative stress induced by tert-butylhydroperoxide. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(5), 536-545.
- Grosch, W. (1998). Flavour of coffee. A review. *Nahrung*, 42, 344-350.
- Grosch, W. (2000). Specificity of the human nose in perceiving food odorants. En: *Frontiers of Flavour Science. Proceedings of the Ninth Weurman flavour Research Symposium*. (eds. Schieberle, P., Engel, K. H.), pp. 213-219. Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, Garching, Alemania.
- Growch, W. (1999). Key odorants of Roasted coffee: evaluation, release, formation. In *Proceedings 18th ASIC Colloquium*, Helsinki, Finland, ASIC: Paris, France, 17-26.
- Gruben, M.J., Boers, G.H., Blom, H.J. y col. (2000). Unfiltered Coffee increase plasma homocysteine concentrations in healthy volunteers: a randomized trial. *American Journal Clinical Nutrition*, 71, 480-484.
- Heckman, M. A., Well, J., González de Mejía, E. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: A comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of Food Science*, 75, R77-R87.
- Higdon, J., Frei, B. (2006). Coffee and health: a review of recent human research. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2), 101-123.
- Ho, C. T., Hwang, H. I., Yu, T. H., Zhang, J. (1993). An overview of the Maillard reactions related to aroma generation in coffee. En: *Proceedings of the 15th International Colloquium on the Chemistry of Coffee*, ASIC 1993, Montpellier, 519-527, ASIC, Paris, France.

- Hoelzl, C., Knasmüller, S., Wagner, K., Elbling, L., Huber, W., Kager, N., Ferk, F., Ehrlich, V., Nersesyan, A., Neubauer, O., Desmarchelier, A., Marin-Kuan, M., Delatour, T., Verquet, C., Bezençon, C., Besson, A., Grathwohl, D., Simic, T., Kundi, M., Schilter, B., Cavin, C. (2010). Instant coffee with high chlorogenic acid levels protects humans against oxidative damage of macromolecules. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(12), 1722-1733.
- Holscher, W., Vitzthum, O. G., Steinhart, H. (1990). Identification and sensorial evaluation of aroma-impact-compounds in roasted Colombian coffee. *Café, Cacao, The*, 34, 205-212.
- Holscher, W., Steinhart, H. (1992). Investigation of roasted coffee freshness with an improved headspace technique. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 195, 33-38.
- Holscher, W., Steinhart, H. (1994). In *Thermally Generated Flavors: Maillard, Microwave, and Extrusion Processes*; Parliment, T. H., Morello, M. J., McGorin, R. J. (Eds.) ACS Symposium Series 543; American Chemical Society: Washington, D.C., 206-217.
- Huang, M., Smart, R. C., Wong, C., Conney, A. H. (1988). Inhibitory effect of curcumin, chlorogenic acid, caffeic acid, and ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Cancer research*, 48(21), 5941-5946.
- International Coffee Organisation (ICO). Statistics. Breakdown of exports of Green Arabica and Green Robusta of countries exporting significant volumes of both types of coffee June 2009, January 2011.
- Illy, A., Viani, R. (2005). *Espresso coffee: The science of Quality*. London, UK: Elsevier Academic Press, 3<sup>o</sup> ed.
- Jaganath, I. B., Mullen, W., Lean, M. E. J., Edwards, C. A., Crozier, A. (2009). In vitro catabolism of rutin by human fecal bacteria and the antioxidant capacity of its catabolites. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(8), 1180-1189.
- James, J. E. (2004). Critical review of dietary caffeine and blood pressure: a relationship that should be taken more seriously. *Psychosomatic Medicine*, 66, 63-71.

- Jaquet, M. Rochat, Il, Moulin, J., Cavin, C., Bibiloni, R. (2009). Impact of coffee consumption on the gut microbiota: A human volunteer study. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 117-121.
- Johnston, K. L., Clifford, M., Morgan, L. M. (2003). Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 78, 728-733.
- Kasai, H., Fukada, S., Yamaizumi, Z., Sugie, S., Mori, H. (2000). Action of chlorogenic acid in vegetables and fruits as an inhibitor of 8-hydroxydeoxyguanosine formation in vitro and in a rat carcinogenesis model. *Food and Chemical Toxicology*, 38(5), 467-471.
- Knopp, S., Bytof, G., Selnar, D. (2006). Influence of processing on the content of sugars in green Arabica coffee beans. *European Food Research and Technology*, 223, 195-201.
- Kölling-Speer, L., Speer, K. The Raw Seed composition. In: *Espresso Coffee, the Science of Quality*. Illy, A., Viani, R., eds. Italy: Elsevier Academic Press; 2005, pp. 14/-178.
- Kurt, A., Speer, K. A. (1999). A new component in the lipid fraction of coffee. *Proceedings Euro Food Chem*, 3, 882-336.
- Larsson, S. C., Wolk, A. (2007). Coffee consumption and risk of liver cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology*, 132, 1740-1745.
- Lee, C. (2000). Antioxidant ability of caffeine and its metabolites based on the study of oxygen radical absorbing capacity and inhibition of LDL peroxidation. *Clinica Chimica Acta*, 295(1-2), 141-154.
- Lee, K. J., Choi, J. H., Jeong, H. G. (2007). Hepatoprotective and antioxidant effects of the coffee diterpenes kahweol and Cafestol on carbon tetrachloride induced liver damage in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 45, 2118-2125.
- Lercker, G., Caboni, M. F., Bertacco, G., Turchetto, E., Lucci, A., Bortolomeazzi, R., Frega, N., Bocci, F. (1996). Coffee lipid fraction I. Influence of roasting and decaffeination. *Industrie Alimentari* 35, 1057-1065.
- Lindsay, J., Laurin, D., Verreault, R., Hebert, R., Helliwell, B., Hill, G., McDowell, I. (2002). Risk factors for Alzheimer's disease: A prospective

- analysis from the canadian study of health and aging. *American Journal of Epidemiology*, 156(5), 445-453.
- Lingle, T. R. (1996). *The Coffee Brewing Handbook*. Long Beach, California: Specialty Coffee Association.
- Lintas, C., De Matthaëis, M. C., Merli, F. (1979). Smoked, cooked and toasted food products. *Food and Cosmetics Toxicology*, 17, 324-328.
- Lopachin, R. M., Lehning, E. J. (1994). Acrylamide-induced distal axón degeneration: a proposed mechanism of action. *Neurotoxicology*, 15, 247-259.
- López-Galilea, I., Andueza, S., Leonardo, I. d., De Peña, M. P., Cid, C. (2006a). Influence of torrefacto roast on antioxidant and pro-oxidant activity of coffee. *Food Chemistry*, 94(1), 75-80.
- López-Galilea, I., Fournier, N., Cid, C., Guichard, E. (2006b). Changes in headspace volatile concentrations of coffee brews caused by the roasting process and the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8560-6.
- López-Galilea, I., de Peña, M. P., Cid, C. (2007). Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: influence of the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6110-6117.
- López-Galilea, I., De Peña, M. P., Cid, C. (2008a). Application of multivariate analysis to investigate potential antioxidants in conventional and torrefacto roasted coffee. *European Food Research and Technology*, 227(1), 141-149.
- López-Galilea, I., Andriot, I., De Peña, M. P., Cid, C., Guichard, E. (2008b). How does roasting process influence the retention of coffee aroma compounds by lyophilized coffee extract?. *Journal of Food Science*, 73(3), S165-S171.
- Ludwig, I. A., Sanchez, L., Caemmerer, B., Kroh, L. W., De Peña, M. P., Cid, C. (2012). Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. *Food Research International*, 48(1), 57-64.
- Ludwig, I.A., Bravo, J., De Peña, M.P. y Cid, C. (2013a). Effect of sugar addition (torrefacto) during roasting process on antioxidant capacity and phenolics of Coffee. *LWT- Food Science and Technology* 51, 553-559.

- Ludwig, I.A. (2013b). Contribution of phenolics and Maillard reaction products to the antioxidant capacity of Coffee brews. Tesis Doctoral. Pamplona.
- Ludwig, I.A., De Peña, M.P., Cid, C. and Crozier, A. (2013) (on line). Catabolism of coffee chlorogenic acids by human colonic microbiota. BioFactors. Young Investigation Award. DOI: 10.1002/biof.il24
- Ludwig, I.A., Sánchez, L., De Peña, M.P., and Cid, C. (en revisión). Modelling the contribution of volatile compounds to the antioxidant capacity of Coffee. Food Research International.
- Maeztu, L., Sanz, C., Andueza, S., de Peña, M. P., Bello, J., Cid, C. (2001). Characterization of espresso coffee aroma by static headspace GC-MS and sensory flavor profile. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49(11), 5437-44.
- Maier, H. G. (1994). Status of research in the field of non-volatile coffee components. Proc. 15th Coll. Sci. Int. Café, ASIC, 567-576. Montpellier, París.
- Martín, M. J., Pablos, F., Bello, M. A., González, A. G. (1997). Determination of trigonelline in green and roasted coffee from single column ionic chromatography. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 357(3), 357-358.
- Martins, A. C. C. L., Gloria, M. B. A. (2010). Changes on the levels of serotonin precursors-tryptophan and 5-hydroxytryptophan-during roasting of Arabica and Robusta coffee. Food Chemistry, 118, 529-533.
- Matusheski, N. V., Bidel, S., Tuomilehto, J. (2012). Coffee and type 2 diabetes risk. In Coffee: Emerging health effects and disease prevention; Y. Chu (Ed.); Oxford, U. K.: Wiley-Blackwell, pp. 141-179.
- Mayer, F., Czerny, M., Grosch, W. (1999). Influence of provenance and roast degree on the composition of potent odorants in Arabica coffee. European Food Research and Technology, 209, 242-250.
- Mayer, F., Czerny, M., Grosch, W. (2000). Sensory study of the character impact aroma compounds of a coffee beverage. European Food Research and Technology, 211, 272-276.
- Mayer, F., Grosch, W. (2001). Aroma simulation on the basis of the odorant composition of roasted coffee headspace. Flavour and Fragrance Journal, 16, 180-190.

- Milder, I. E. J., Feskens, E. J. M., Arts, I. C. W., Bueno de Mesquita, H. B., Hollman, P. C. H., Kromhout, D. (2005). Intake of the plant lignans secoisolariciresinol, matairesinol, lariciresinol and pinoresinol in Dutch men and women. 135, 1201-1207.
- Mills, C. E., Oruna-Concha, M. J., Mottram, D. S., Gibson, G. R., Spencer, J. P. E. (2013). The effect of processing on chlorogenic acid content of commercially available coffee. *Food Chemistry*, 141, 3335-3340.
- Morales, F. J., Fernández-Fraguas, C., Jiménez-Pérez, S. (2005). Iron-binding ability of melanoidins from food and model systems. *Food Chemistry*, 90(4), 821-827.
- Morton, C., Klatsky A L., Udaltsona, N. (2004). Smoking, Coffee and pancreatitis. *American Journal Gastroenterology*, 9, 731-738.
- Mubarak, A., Bondonno, C. P., Liu, A. H., Considini, M. J., Rich, L., Mas y col., (2012). Acute effects of chlorogenic acid on nitric oxide status, endothelial function, and blood pressure in healthy volunteers: A randomized trial. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9130-9136.
- Murthy, P., Manonmani, H. K. (2008). Bioconversion of coffee industry wastes with White-ro fungi *Pleurotus florida*. *Research Journal of Environmental Sciences*, 2, 145-150.
- Murthy, P., Madhava Naidu, M., Srinivas, P. (2009). Production of alfa-amylase under solid-state fermentation utilizing coffee waste. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 84(8), 1246-1249.
- Murthy, P., Madhava Naidu, M. (2011). Improvement of robusta coffee fermentation with microbial enzymes. *European Journal of Applied Sciences*, 3(4), 130-139.
- Napolitano, A., Fogliano, V., Tafuri, A., Ritieni, A. (2007). Natural occurrence of ochratoxin A and antioxidant activities of green and roasted coffees and corresponding byproducts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10499-10504.
- Nardini, M., D'Aquino, M., Tomassi, G., Gentili, V., Di Felipe, M., Scaccini, C. (1995). Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation by caffeic acid and other hydroxycinnamic acid derivatives. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(5), 541-552.



- Nardini, M., Natella, F., Gentili, V., Felice, M. D., Scaccini, C. (1997). Effect of caffeic acid dietary supplementation on the antioxidant defense system in rat: An in vivo Study. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 342(1), 157-160.
- Narita, Y., Inouye, K. (2012). High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water. *Food Chemistry*, 135(3), 943-949.
- Natella, F., Nardini, M., Giannetti, I., Dattilo, C., Scaccini, C. (2002). Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6211-6216.
- Nicoli, M. C., Anese, M., Manzocco, L., Leric, C. R. (1997). Antioxidant Properties of Coffee Brews in Relation to the Roasting Degree. *LWT-Food Science and Technology*, 30(3), 292-297.
- Nikolova-Damyanova, B., Velikova, R., Jham, G. N. (1998). Lipid classes, fatty acid composition and tri-acylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil. *Food Research International*, 31, 479-486
- Nkondjock, A. (2009). Coffee consumption and the risk of cancer: An overview. *Cancer letters*, 277(2), 121-125.
- Nkondjock, A. (2012). Coffee and cancers. In *Coffee: Emerging health effects and disease prevention*; Y. Chu (Ed.); Oxford, U. K.: Wiley-Blackwell, pp. 197-209.
- Norma de calidad para el café. RD. 1676/2012 de 14 de Septiembre (BOE nº 312; 28-XII-2012).
- Nunes, F. M., Coimbra, M. A., Duarte, A. C., Delgadillo, I. (1997). Foamability, Foam stability, and chemical composition of espresso coffee as affected by the degree of roast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3238-3243.
- Nunes, F. M., Coimbra, M. A. (1998). Influence of polysaccharide composition in foam stability of espresso coffee. *Carbohydrate Polymers*, 37, 283-285.
- Nunes, F. M., Coimbra, M. A. (2010). Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. *Phytochemistry reviews*, 9(1, Sp. Iss. SI), 171-185.
- Oliveira, S. D., Franca, A. S., Glória, M. B. A., Borges, M. L. A. (2005). The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities *Food Chemistry*, 90, 287-291.

- Olthof, M. R., Hollman, P. C. H., Katan, M. B. (2001). Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *The Journal of nutrition*, 131(1), 66-71.
- Oosterveld, A., Voragen, A. G. J., Schols, H. A. (2003). Effect of roasting on the carbohydrate composition of coffee arabica beans. *Carbohydrate Polymers*, 54(2), 183-192.
- Ortiz, A., Veja, F. E., Posada, F. (2004). Volatile composition of coffee berries at different stages of ripeness and their possible attraction to the coffee Berry borer *Hypothenemus hampei* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5914-5918.
- Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, DOI: 10.1021/jf4005719.
- Parliment, T. H. (2000). An overview of coffee roasting. In T. H. Parliment, C. T. Ho, P. Schieberle, *Caffeinated beverages: Health benefits, physiological effects and chemistry* (pp. 188-201). Washington, DC, US: American Chemical Society.
- Parras, P., Martínez-Tomé, M., Jiménez, A. M., Murcia, M. A. (2007). Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chemistry*, 102(3), 582-592.
- Pavlica, S., Gebhardt, R. (2005). Protective effects of ellagic and chlorogenic acids against oxidative stress in PC12 cells. *Free Radical Research*, 39(12), 1377-1390.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Río, D., Salvatore, S., Bianchi, M., Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of Nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Pérez-Martínez, M., Sopelana, P., De Peña, M.P., Cid, C. (2008). Effects of refrigeration and oxygen on the coffee brew composition. *European Food Research and Technology* 227 (6), 1633-1640.
- Pérez-Martínez, M., Caemmerer, B., De Peña, M. P., Cid, C., Kroh, L. W. (2010). Influence of brewing method and acidity regulators on the antioxidant capacity of coffee brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 2958-2965.

- Perrone, D., Farah, A., Donangelo, C. M., de Paulis, T., Martin, P. R. (2008). Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in economically relevant Brazilian coffee cultivars. *Food Chemistry*, 106(2), 859-867.
- Perrone, D., Farah, A. (2009). Application of mass spectrometry on the analysis of coffee components. In: *Handbook on Mass Spectrometry: Instrumentation, Data and Analysis, and Applications*. J. K. Lang, ed. New York: Nova Science Publishers; 2009, pp. 465-498.
- Perrone, D., Farah, A., Donangelo, C. M. (2012). Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(17), 4265-4275.
- Peters, A. (1991). Brewing makes the difference. *Proceedings of the 14th Colloquium on the chemistry of coffee*. San Francisco, ASIC, 97-106.
- Petracco, M. (2001). Technology IV: Beverage Preparation. *Brewing Trends for the New Millenium*. En *Coffee: Recent Developments*. Clarke, R. J. y Vitzthum, O. (Eds.). Blackwell Science Ltd.
- Petracco, M. (2005). Percolation. In A. Illy & R. Viani, *Espresso Coffee: The Chemistry of Quality*, (2 nd ed.) London: Elsevier Academic Press.
- Pittia, P., Dalla Rosa, M., Pinnavaia, G., Massini, R. (1996). Evoluzione di Alcune carateristiche Fische del Caffè durante la torrefazione. *Industrie Alimentari*, 35, settembre, 945-950.
- Pollien, P., Krebs, Y., Chaintreau, A. (1997). Comparison of a brew and an instant coffee using a new GC-Olfactometric method. In *Proceedings 17th ASIC Colloquim*, Nairobi, Kenia, ASIC: Paris, France, 945-950.
- Pulido, R., Hernandez Garcia, M., Saura Calixto, F. (2003). Contribution of beverages to the intake of lipophilic and hydrophilic antioxidants in the Spanish diet. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(10), 1275-1282.
- Ramalakshmi, K., Rao, L. J. M., Takano-Ishikawa, Y., Goto, M. (2009). Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. *Food Chemistry*, 115(1), 79-85.
- Ratnayake, W. M. N., Holliwod, R., O'Grady, E., Stavric, B. (1993). Lipid content and composition of coffee-brews prepared by different methods. *Food and Chemical Toxicology*, 31, 263.

- Reineccius, G. A. The maillard reacion and coffee flavour. En Proceedings of the 16th Colloquium on the Chemistry of Coffee, Kyoto, ASIC, 1995, 866-868. ASIC, París, France.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933-956.
- Richelle, M., Tavazzi, I., Offord, E., (2001). Comparison on the antioxidant activity of commonly consumed polyphenolic beverages (coffee, cocoa and tea) prepared per cup serving. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3438-3442.
- Rodriguez, M. A. A., Borges, M. L. A., Franca, A. S., Oliveira, L. S., Correa, P. C. (2003). Evaluation of physical properties of coffee during roasting. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 5, 1-12.
- Rosengren, A., Dotevall, A., Wilhelmsen, L. Thelle, D. Johansson, S. (2004). Coffe and incidence of diabetes in Swedish women: a prospective 18-years follow-up study. *Journal International Medical*, 255, 89-95.
- Ross, G. W., Abbott, R. D., Petrovitch, H., Morens, D. M., Grandinetti, A., Tung, K. H., Tanner, C. M., Masaki, K. H., Blanchette, P. L., Curb, J. D., Popper, J. S., White, L. R. (2000). Association of coffee and caffeine intake with the risk of Parkinson disease. *Jama-Journal of the American Medical Association*, 283(20), 2674-2679.
- Rubayiza, A. B., Meurens, M. (2005). Chemical discrimination of Arabica and Robusta coffees by Fourier transform Raman spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4654), 5659.
- Rufián-Henares, J. A., Morales, F. J. (2007). Effect of in vitro enzymatic digestion on antioxidant activity of coffee melanoidins and fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(24), 10016-10021.
- Rufián-Henares, J. A., De la Cueva, S. P. (2009). Antimicrobial activity of coffee melanoidins - A study of their metal-chelating properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(2), 432-438.
- Sanz, C., Ansorena, D., Bello, J., Cid, C. (2001). Optimizing heaspce temeperature and tme sampling for identificaction of volatile compounds in ground roasted arabica coffee *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49 (3), 1364-1369.

- Sanz, C., Maeztu, L., Zapelena, M. J., Bello, J., Cid, C. (2002). Profiles of volatile compounds and sensory analysis of three blends of coffee: influence of different proportions of Arabica and Robusta and influence of roasting coffee with sugar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 840-847.
- Selma, M. V., Espin, J. C., Tomas-Barberan, F. A. (2009). Interaction between Phenolics and Gut Microbiota: Role in Human Health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(15), 6485-6501.
- Semmelroch, P., Grosch, W. (1995). Analysis of roasted coffee powders and brews by gas chromatography-olfactometry of headspace samples. *LW-Food Science and Technology*, 28(3), 310-313.
- Semmelroch, P., Grosch, W. (1996). Studies on character impact odorants of coffee brews. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 537-543.
- Shearer, J., Farah, A., de Paulis, T., Bracy, D. P., Pencek, R. R., Graham, T. E., Wasserman, D. H. (2003). Quinides of roasted coffee enhance insulin action in conscious rats. *Journal of Nutrition*, 133, 3529-3532.
- Shearer, J., Sellars, E., Farah, A., Graham, T. E., Wasserman, D. H. (2007). Effects of chronic coffee consumption on glucose kinetics in the conscious rat. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 85, 823-830.
- Shi, X., Dalal, N. S., Jain, A. C. (1991). Antioxidant behaviour of caffeine: Efficient scavenging of hydroxyl radicals. *Food and Chemical Toxicology*, 29(1), 1-6.
- Shibamoto, T. (1983). Heterocyclic Compounds in Browning and Browning/Nitrite Model Systems: Occurrence, Formation Mechanisms, Flavor Characteristics and Mutagenic Activity. In I. G. Charalambous, Inglett, & G., *Instrumental Analysis of food* (pp. 229-278). New York, US: Academic Press.
- Shibata, H., Sakamoto, Y., Oka, M., Kono, Y. (1999). Natural antioxidant, chlorogenic acid, protects against DNA breakage caused by monochloramine. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63(7), 1295-1297.
- Shimazu, T., Tsubono Y., Kuriyama, S.; Ohmori K., Koizumi, Y. Nishino, Y. col. (2005). Coffee consumption and the risk of primary liver cancer:

- pooled analysis of two Prospective studies in Japan. *International Journal Cáncer*, 116, 150-154.
- Sivetz, M., Desrosier, N. W. (1979). *Coffee technology*. Westport, US: The Avi Publishing Company.
- Somoza, V., Lindenmeier, M., Wenzel, E., Frank, O., Erbersdobler, H., Hofmann, T. (2003). Activity-guided identification of a chemopreventive compound in coffee beverage using in vitro and in vivo techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6861-6869.
- Speer, K., Tewis, R., Montag, A. (1991). 16-O-Methylcafestol –a quality indicator for coffee. In: *Proceedings of the 14th ASIC Colloquium* (San Francisco), pp. 237-244. ASIC, París. Francia.
- Speer, K., Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 201-216.
- Spencer, J. P. E., Chowrimootoo, G., Choudhury, R., Debnam, E. S., Srini, S. K., Rice-Evans, C. (1999). The small intestine can both absorb and glucuronidate luminal flavonoids. *FEBS letters*, 458(2), 224-230.
- Spiro, M., Selwood, R. M. (1984). The kinetics and mechanism of caffeine infusion from coffee: The effect of particle size. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35, 915-924.
- Stadler, R., Varga, N., Hau, J., Vera, F., Welti, D. (2002). Alkylpyridiniums. 1. Formation in model systems via thermal degradation of trigonelline. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5), 1192-9.
- Stalmach, A., Mullen, W., Nagai, C., Crozier, A. (2006). On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 253-262.
- Stalmach, A., Mullen, W., Barron, D., Uchida, K., Yokota, T., Cavin, C., Steiling, H., Williamson, G., Crozier, A. (2009). Metabolite profiling of hydroxycinnamate derivatives in plasma and urine after the ingestion of coffee by humans: Identification of biomarkers of coffee consumption. *Drug Metabolism and Disposition*, 37(8), 1749-1758.
- Stalmach, A., Steiling, H., Williamson, G., Crozier, A. (2010). Bioavailability of chlorogenic acids following acute ingestion of coffee by humans with an ileostomy. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 501(1), 98-105.

- Stalmach, A., Clifford, M. N., Williamson, G., Crozier, A. (2011). Phytochemicals in Coffee and the Bioavailability of Chlorogenic Acids. In Anonymous Teas, Cocoa and Coffee (pp. 143-168). Wiley-Blackwell.
- Stennert, A., Maier, H. G. (1996). Trigonelline in coffee .3. Calculation of the degree of roast by the trigonelline/nicotinic acid ratio. New gas chromatographic method for nicotinic acid. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 202(1), 45-47.
- Stephanucci, A., Clinton, W. P., Hamel, M. (1979). *Kirk-Othmer Encyclo. Chem. Technol.* New York: John Wiley & Sons; 6, 511-512.
- Svilaas, A., Sakhi, A., Andersen, L., Svilaas, T., Strom, E., Jacobs, D. (2004). Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 562-567.
- Tanaka, T., Kojima, T., Kawamori, T., Wang, A., Suzui, M., Okamoto, K., Mori, H. (1993). Inhibition of 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis by the naturally occurring plant phenolics caffeic, ellagic, chlorogenic and ferulic acids. *Carcinogenesis*, 14(7), 1321-1325.
- Taniwaki, M. H., Pitt, J. I., Teixeira, A. A., Iamanaka, B. T. (2003). The source of ochratoxin A in Brazilian coffee and its formation in relation to processing methods. *International Journal of Food Microbiology*, 82, 173-179.
- Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., Tornqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 4998-5006.
- Tavani, A., La Vecchia, C. (2004). Coffee, decaffeinated Coffee, tea and cancer of the colon and rectum: a review of epidemiological studies, 1990-2003. *Cancer, causes control*, 15, 743-757.
- Toci, A. T., Farah, A., Trugo, L. C. (2006). Efeito do processo de descafeinação com diclorometano sobre a composição química dos cafés Arábica e Robusta antes e após a torração. *Química Nova*, 29, 965-971.
- Toci, A. T., Silva, C. M., Fernandes, F., Farah, A. (2009). Effect of the fluid speed changes on the chemical composition of coffee samples roasted in an industrial semi-fluidized bed roaster. *Proc. 23rd International Conference Coffee Science. ASIC*, 500-503. Trieste, Italy.

- Tressl, R. (1989). Formation of flavor components in roasted coffee. En: Thermal Generation of Aromas (eds. Parliament, T. H., McGorrin, R. J., Ho, C. T.), pp. 285-301. ACS Symposium Series 409, American Chemical Society, Washington, DC.
- Trugo, L. C., Macrae, R. (1984). A study of the effect of roasting on the chlorogenic acid composition of coffee using HPLC. *Food Chemistry*, 15(3), 219-227.
- Tverdal, A., Skurtveit, S. (2003). Coffee intake and mortality from liver cirrhosis. *Annals of Epidemiology*, 13, 419-423.
- Urget, R. van Vliet, T., Zock, P.L., Katan, M. B. (2000). Heavy Coffee consumption and plasma homocysteine: A randomized controlled trial in healthy volunteers. *American Journal Clinical Nutrition*, 72, 1107-1110.
- Valls-Bellés, V., Torres, M., Múñiz, P., Boix, L., González-Sanjosé, M., Codoñer-Franch, P. (2004). The protective effects of melanoidins in adriamycin-induced oxidative stress in isolated rat hepatocytes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(13), 1701-1707.
- Van Dam, R., Hu, F. (2005). Coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *JAMA: the Journal of the American Medical Association*, 294(1), 97-104.
- Van Dijk, A. E., Olthof, M.R., Meeuse, J. C., Seebus, E., Helne, R. J., Van Dam, R. M. (2009). Acute effects of decaffeinated coffee and the major coffee components chlorogenics acid and trigonelline on glucose tolerance. *Diabetes Care* 32(6), 1023-1025.
- Vignoli, J. A., Bassoli, D. G., Benassi, M. T. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863-868.
- Vila, M. A., Andueza, S., De Peña, M. P., Cid, C. (2005). Fatty acid evolution during the storage of ground, roasted coffees. *Journal of the American Oils Chemists' Society*, 82(9), 639-646.
- Wang, Y., Ho C.-T. (2009). Polyphenolic chemistry of tea and coffee: A century of progress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 809-8114.



- Wang, H., Qian, H., Yao, W. (2011). Melanoidins produced by the mail lard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry*, 128(3), 573-584.
- Wattenberg, L. W. (1983). Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Research*, 43, 2448s-2453s.
- Williamson, G., Clifford, M. N. (2010). Colonic metabolites of berry polyphenols: the missing link to biological activity?. *British Journal of Nutrition*, 104(S3), S48-S66.
- Williamson, G., Stalmach, A. (2012). Absorption and Metabolism of Dietary Chlorogenic Acids and Procyanidins. In V. Cheynier, P. Sarni-Manchado, & S. Quideau, *Recent Advances in Polyphenol Research* (pp. 209-222). Oxford, UK.: Wiley-Blackwell.
- Yanagimoto, K., Lee, K., Ochi, H., Shibamoto, T. (2002). Antioxidative activity of heterocyclic compounds found in coffee volatiles produced by Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(19), 5480-5484.
- Yanagimoto, K., Ochi, H., Lee, K., Shibamoto, T. (2004). Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(3), 592-596.
- Yang, A., Palmer, A. A., De Wit, H. (2010). Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. *Psychopharmacology*, 211, 245-257.
- Yen, W. J., Wang, B., Chang, L., & Duh, P. (2005). Antioxidant properties of roasted coffee residues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(7), 2658-2663.
- Yeretzian, C., Jordan, A., Lindinger, W. (2003). Analysing the headspace of coffee by proton-transfer-reaction mass-spectrometry. *International Journal of Mass Spectrometry*, 223-224, 115-139.
- Zuorro, A., Lavecchia, R. (2012). Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, 34, 49-56.