Efecto de la preparación fría de café (*Coffea arabica* L. var. *Castillo*) sobre la capacidad antioxidante y la calidad sensorial

Angela M. Ormaza-Zapata^{1*}, Félix O. Díaz-Arango¹ y Benjamín A. Rojano²

(1) Facultad de Ingeniería, Dpto. de Ingeniería, Universidad de Caldas, Casilla 275, Manizales, Colombia (correo-e: angela.ormaza@ucaldas.edu.co; felix.diaz@ucaldas.edu.co)

(2) Facultad de Ciencias, Laboratorio Ciencias de los Alimentos, Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, Casilla 050034, Medellín, Colombia (correo-e: brojano@unal.edu.co)

* Autor a quien debe ser dirigida la correspondencia

Recibido Abr. 28, 2021; Aceptado Jun. 26, 2021; Versión final Ago. 22, 2021, Publicado Feb. 2022

Resumen

El principal objetivo del presente estudio es determinar la retención de metabolitos antioxidantes, la actividad antioxidante y el perfil de taza de bebidas frías de café preparadas mediante cinco métodos: Toddy, Torre fría, Mizudashi, Cold Brew y Fretta. Se utilizan la espectrofotometría UV-Visible y la cromatografía líquida de alta eficiencia para cuantificar antioxidantes y actividad antioxidante. Los resultados muestran que el método que registró mayor retención de antioxidantes fue Torre fría, seguido de la preparación Toddy y Cold Brew. La actividad antioxidante fue proporcional a la retención de compuestos antioxidantes. Los métodos con mayor impresión global fueron Toddy y Mizudashi. El ácido hidroxycinámico más predominante fue el ácido clorogénico. El mayor contenido de ácidos hidroxycinámicos se obtuvo con Mizudashi, Cold Brew y Toddy. Se recomienda el consumo de café con los métodos Torre fría, Toddy y Cold Brew por su buena aceptación, retención y expresión de antioxidantes para encontrar buen balance en una bebida refrescante, con calidad sensorial y funcionalidad.

Palabras clave: bebida; café; preparaciones frías; taninos; actividad antioxidante; perfil; taza

The effect of cold brew coffee (*Coffea arabica* L. var. *Castillo*) preparation on antioxidant capacity and sensorial quality

Abstract

The primary objective of this research study is to assess retention of antioxidant metabolites, antioxidant activity, and cup profile of cold coffee drinks prepared using five different methods: Toddy, Cold Tower, Mizudashi, Cold Brew, and Fretta. UV-Visible spectrophotometry and high efficiency liquid chromatography are applied to quantify antioxidants and antioxidant activity. The results show that the preparation method that registered the highest antioxidant retention is Cold Tower, followed by the Toddy and Cold Brew preparations. The highest content of hydroxycinnamic acids is obtained with Mizudashi, Cold Brew, and Toddy. Antioxidant capacity is proportional to antioxidant compound retention. The preparation methods with the highest global impression are Toddy and Mizudashi. The most predominant hydroxycinnamic acid is chlorogenic acid. In conclusion, the Cold Tower, Toddy, and Cold Brew coffee preparation methods are recommended for their positive acceptance, retention, and antioxidant expression, resulting in a well-balanced refreshing drink with sensory quality and functionality.

Keywords: coffee drink; cold brew; tannins; antioxidant activity; cup profile

INTRODUCCIÓN

El café se encuentra entre los productos más consumidos en todo el mundo, donde múltiples variables, como la composición genética, las condiciones óptimas de tostado y molido, así como el origen y manejo agrícola (Montilla-Pérez et al., 2008), hacen del café una bebida químicamente compleja con amplia aceptación y tradición (Naranjo et al., 2011; Zapata et al., 2019). En el café, la actividad antioxidante es producto de compuestos fenólicos, de la reacción de Maillard, y muchos otros generados durante el proceso de tuestión (Atavillos-Dominguez et al., 2020; Fonseca-García et al., 2014). El potencial funcional del café ha sido estudiado por varios autores en los últimos años (Muñoz et al., 2020; Naranjo et al., 2011). La funcionalidad del café ha sido ampliamente estudiada y su consumo ha sido recomendado por expertos en salud (Caetano et al., 2017). El estrés oxidativo causado por una alta producción de radicales libres, es causado por el bajo consumo de antioxidantes en la dieta, que genera enfermedades crónicas de alta gravedad (Rojano et al., 2008). En este sentido, el café posee propiedades medicinales como antibacterial, antiinflamatorio y antioxidante (Puertas-Mejía et al., 2013; Ormaza-Zapata et al., 2018); además, contribuye a la prevención de caries dental debido a su efecto anti adhesivo de la placa dentobacteriana (Laplace et al., 2013; Mesa et al., 2017).

Los métodos en frío para la preparación de bebidas a base de café se basan en el contacto directo entre el café y el agua fría o, en algunas aplicaciones, el hielo. Las cafeteras empleadas para tal fin utilizan uno de dos sistemas principales: el de goteo lento o prolongado, que puede durar hasta 24 h continuas (Torre fría y Cold brew), o de inmersión, donde la bebida se crea mediante difusión de café, en agua fría o hielo empacado en un depósito, dentro de un recipiente (Toddy, Fretta y Mizudashi). La cultura barista también ha brindado una oportunidad para el café frío en los últimos años. Actualmente ofrece una variedad de perfiles sensoriales (Angeloni et al., 2019), así como una serie de cafeteras o dispositivos para la preparación de café frío. Estos agregan valor a las bebidas a base de café, a través de la innovación, el ingenio y, principalmente, la experimentación empírica, con fines comerciales. Algunos baristas coinciden en que las bebidas frías a base de café se caracterizan por su baja acidez y amargor (Baumann et al., 2012).

Existe escasa información disponible sobre la relación entre los métodos de preparación del café Cold brew, la composición antioxidante y su expresión y perfiles sensoriales, para la provisión de un producto comercial alternativo a base de café, con variados perfiles sensoriales y el aporte funcional de esta compleja bebida estimulante. El objetivo del presente estudio es determinar la retención de metabolitos antioxidantes, la actividad antioxidante y el perfil de taza en los cinco métodos comerciales para la preparación de bebidas frías a base de café.

METODOLOGÍA

La metodología se presenta en doce subsecciones, en las que se describe la metodología empleada en el presente estudio, empezando por las materias primas y el análisis físico-químico.

Materias primas

El café pergamino utilizado (*Coffea arabica* L. var. Castillo) se obtuvo del municipio de Anserma, en el departamento de Caldas, Colombia, de la finca San Rafael, ubicada a 1750 m.s.n.m. Las condiciones ambientales incluyeron una temperatura promedio de 20 °C (± 0.2) y una humedad relativa promedio del 72 %. El café fue procesado mediante beneficio húmedo. Se procesaron exactamente 1200 g de cada muestra, por triplicado, para cada determinación (Díaz-Arango et al., 2018).

Análisis fisicoquímicos

El pergamino se separó del grano verde mediante un proceso de trilla (Quantik, CR-2000, Armenia, Colombia) y se tamizaron las muestras. Sólo se empleó el café que quedó sobre la malla de 14/64 pulgadas, correspondiente al café tipo excelso U.G.Q. (Usual Good Quality). La pasilla y otros granos defectuosos se eliminaron del Grupo I y del Grupo II. El contenido de humedad del grano verde se determinó mediante un horno de convección forzada (Dies, TH115FM, Antioquia, Colombia) según la norma ISO 6673 (2003). El proceso de tostado se realizó a 180 °C (± 0.2) y 100 % de potencia, en un tostador a escala de laboratorio (Quantik, TC-150 A/R, Armenia, Colombia), hasta lograr un tostado medio (8 min). Después del tostado, las muestras fueron molidas (Grindmaster 810, México), de acuerdo con el tipo de preparación de la bebida (Díaz-Arango et al., 2018).

El tamaño de partícula del grano molido se verificó con la serie de Taylor. El pH de cada bebida fría de café preparada, se midió directamente (20 °C ± 0.2) con un pH-metro digital (Hanna precision, pH 212, Alemania). (Lab-850; Schott Instruments®, Alemania), los sólidos solubles se determinaron con un refractómetro digital (PAL-1, Atago®, Japón) y se expresaron en grados Brix (°Brix). El peso tanto del café molido como de la bebida se determinó con una balanza de precisión (Fénix-Plus, Bogotá, Colombia) para cada método de

preparación. Se calculó el rendimiento en la extracción (RE) de cada bebida (Ecuación 1). Las bebidas se sellaron herméticamente en frascos plásticos de polipropileno, y se almacenaron a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (± 0.2) para su posterior preparación y análisis (Díaz-Arango et al., 2018).

$$RE = \frac{m_2}{m_1} \times ^{\circ}\text{Brix} \quad (1)$$

Donde m_1 es el peso en g, del café tostado molido, m_2 es el peso en g, de la bebida total obtenida, y $^{\circ}\text{Brix}$ es el porcentaje en sólidos solubles de la bebida.

Preparación de bebidas de café en frío

Se evaluaron cinco métodos de preparación de bebidas de café, utilizando el principio de contacto directo del café tostado molido con agua, a una temperatura determinada, de acuerdo con el método de preparación aplicado. Se utilizó agua destilada (LabTech, Italia). El procedimiento seguido para cada método se describe a continuación.

Toddy: Se mezclaron exactamente 100 g de café con molienda media ($501\text{--}700\text{ }\mu\text{m}$) con 500 mL de agua fría y 500 g de hielo. Los tres elementos se mezclaron en el recipiente de plástico (parte superior de la jarra Toddy, figura 1). Este contenido pasó, por gravedad, a través de un filtro poroso (Tipo tela exclusivo para el sistema Toddy) a una jarra de vidrio fijada al recipiente de plástico. El tiempo de contacto fue de 24 h, en almacenamiento refrigerado ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2$).

Torre fría: Se utilizó café tostado con molienda gruesa ($701\text{--}900\text{ }\mu\text{m}$). El tiempo de contacto con el agua, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (± 0.2), fue de 12 h. Se mezclaron exactamente 24 g de café con 240 mL de agua. Este método usa el sistema de goteo lento, hasta que el recipiente de vidrio está lleno. La parte inferior de la torre consta de una serie vertical de tres tramos (dos embudos, el segundo con bobina y recipiente, los tres de vidrio). También se la conoce como torre de café de preparación en frío.

Mizudashi: Se utilizó café tostado con molienda media ($501\text{--}700\text{ }\mu\text{m}$). Este método tiene un sistema de filtración debajo y un recipiente de vidrio con un filtro tipo malla elaborado con polipropileno (Exclusivo para el sistema Mizudashi). El café se filtró en frío, durante 24 h, mientras se almacenaba en refrigeración ($4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2$). Se mezclaron exactamente 500 mL de agua fría con 500 g de hielo y 100 g de café. El hielo se colocó en la red de plástico. El café y el agua estaban en contacto directo con el hielo.

Cold brew: Este método tiene un sistema de goteo lento, en el que el agua, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (± 0.2), está en contacto con el café durante 4 h en refrigeración. Se mezclaron exactamente 21 g de café con molienda media ($701\text{--}900\text{ }\mu\text{m}$) con 210 mL de agua fría. El filtro utilizado consta de una almohadilla de fieltro (Exclusivo para el sistema Cold Brew).

Fretta: Este método tiene un depósito donde se coloca hielo. El café entra en contacto con agua fría y cae gota a gota sobre el hielo a través de un filtro de papel Melitta #4 (Melitta, Alemania). Se mezclaron exactamente 14 g de café con molienda media ($701\text{--}900\text{ }\mu\text{m}$) y 150 mL de agua, a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (± 0.2). El tiempo total de contacto entre el agua y el café fue de 4 h en condiciones de refrigeración. Este método también se conoce como cafetera de hielo. La Figura 1 muestra los métodos de preparación de café frío evaluados en el presente estudio.

Fig. 1: Métodos de preparación de café en frío: a) Toddy, b) Torre fría, c) Mizudashi, d) Cold brew y e) Fretta. Fuente: Los autores.

Análisis del perfil de taza de las bebidas de café en frío

En la realización de la prueba de taza, las bebidas a base de café frías fueron evaluadas directamente con el método Q.D.A. (Quantitative Descriptive Analysis) de perfil de sabor o Análisis sensorial descriptivo cuantitativo, y se proporcionó con una puntuación por catador (tres catadores expertos) con las calificaciones de un patrón de café excelso (U.G.Q.). Los atributos evaluados para cada muestra fueron los siguientes: fragancia, aroma, acidez, amargor, cuerpo e impresión general. Los resultados de Q.D.A. en las pruebas de taza se representaron mediante gráficos radiales.

Preparación de la muestra

Las bebidas preparadas con los cinco métodos estudiados se diluyeron a concentraciones fijas con agua destilada entre 1 y 10 % dependiendo de la técnica usada, con el fin de realizar las mediciones de compuestos y capacidad antioxidante (Rojano et al., 2015).

Determinación de fenoles totales

La determinación de compuestos fenólicos se realizó mediante el método colorimétrico de Follin-Ciocalteu. Se creó una curva utilizando ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron en mg de ácido gálico / 100 g de muestra. Las lecturas se realizaron a 760 nm, por triplicado. Se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS (Jenway, 6405, Essex, Inglaterra). El reactivo de Follin-Ciocalteu y el ácido gálico se obtuvieron de la casa comercial Merck (Alemania) con una pureza mínima del 97.5% y P.M. de 170.12 g/mol (Zapata et al., 2019).

Taninos condensados

Se tomaron exactamente 230 µL de extracto de muestra de cada bebida de café y se agregaron a 670 µL de una solución de vainillina recién preparada (1 g/100 mL) en ácido sulfúrico al 70 %. La mezcla se incubó durante 15 min, a 20 °C (± 0.2), y la lectura espectrofotométrica se tomó a 500 nm. Esto se comparó con el patrón de curva usando (+)-catequina como estándar. La vainillina se obtuvo por medio de la casa comercial Merck ReagentPlus® (Alemania) con 99 % de pureza y P.M. de 152.15 g/mol. Se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS (Jenway, 6405, Essex, Inglaterra). Los resultados se expresaron en mg de catequina equivalente/ 100 g de muestra (Zapata et al., 2019).

Contenido de ácidos fenólicos hidroxycinámicos

Los extractos de café se filtraron (Tamaño de poro de 0.45 µm) con diluciones en agua suprapura (Easypure RoDi Barnstead, Thermo Scientific, EE.UU.). Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes: fase móvil acetonitrilo/agua acidificada (ácido fosfórico pH = 2.5 (± 0.1)), (400:600 v/v). Los componentes fenólicos se eluyeron en las siguientes condiciones: flujo de 1 mL/min, 25 °C (± 0.2), en condiciones isocráticas. Los análisis se realizaron en un cromatógrafo líquido HPLC serie Prominence (Shimadzu, LC-20AD, Japón), equipado con un auto inyector SIL-20A /HT, un módulo de comunicación CBM-20A y un detector con arreglo de fotodiodos (PDA) SPD-M20A, calibrado a 280 nm. Para separar los compuestos bioactivos, se empleó una columna acuosa C18 (4,6 x 250 mm DI, 5 µm) Restek® Ultra. El espectro UV-visible se evaluó de 200 a 600 nm para todos los picos. La identificación y cuantificación de ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico se realizó mediante el método de estándar externo en las bebidas estudiadas. Estas pruebas se realizaron por triplicado (Díaz-Arango et al., 2018).

Determinación de la actividad antioxidante ABTS

Las medidas se tomaron a una longitud de onda de 734 nm. Se utilizaron exactamente 100 µL de extracto de las muestras de bebidas de café mediante diferentes métodos, y 900 µL de solución de radicales ABTS (Radical catiónico 2,2-Azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). El reactivo radical libre ABTS fue adquirido con la casa comercial (Sigma-Aldrich®, EE. UU.), pureza de ≥ 98 %, P.M. 548,7 g/mol. Tras 60 min de reacción a temperatura ambiente y en oscuridad, se leyó el cambio de absorbancia, con respecto al reactivo de referencia (solución de radicales ABTS con el disolvente de la muestra). El valor de absorbancia (A) se comparó con la curva de referencia, creada con Trolox (Merk, Alemania) pureza 97 %, como patrón. Los análisis se realizaron en un lector de Placas Multiskan Spectrum UV-Vis (Thermo Scientific, Finlandia). Para ambos compuestos, se determinó que la concentración inhibitoria era del 50 % (CI50), como se muestra en la Ecuación 2, y los resultados se expresaron como valores de TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) en µmol Trolox/100 g de muestra (Zapata et al., 2019).

$$\text{Porcentaje de inhibición} = 1 - \left[\frac{A_{\text{muestra}} - A_{\text{muestra blanco}}}{A_{\text{referencia}} - A_{\text{referencia blanco}}} \right] \times 100 \quad (2)$$

Evaluación de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

En las determinaciones de ORAC se utilizó como estándar el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico o Trolox (Merk, Alemania), las condiciones de temperatura se controlaron a 37 °C (± 0.2) a un pH de 7.4 (± 0.1). Las lecturas se realizaron a una longitud de onda de excitación (I) de 493 nm y una apertura de excitación de cinco, una emisión de excitación de 515 nm, una apertura de emisión de 13, un atenuador del 1 % y sin placa de atenuación. Se utilizaron soluciones de fluoresceína, a 1×10^{-2} M, en una solución tampón fosfato (PBS) (75 mM), 2,2'-azinobis (2-amidinopropano) diclorhidrato (AAPH) 0.6 M en PBS (75 mM). Se prepararon muestras de bebidas con 21 μ L de fluoresceína, 2.899 μ L de PBS, 30 μ L de extracto analizado y 50 μ L de AAPH. El Trolox se utilizó como referencia. El efecto protector del antioxidante se calculó usando las diferencias de área por debajo de la curva de desintegración de la fluoresceína, entre el objetivo y la muestra. Esta se comparó con la curva de Trolox y se expresó en μ mol Trolox/100 g de muestra o TEAC, de acuerdo con la Ecuación 3 (Díaz-Arango et al., 2018). Estas pruebas se realizaron por triplicado. La disminución de la intensidad de la fluorescencia se realizó en un espectrofluorímetro (Perkin-Elmer LS-55, Beaconstield, Reino Unido). La fluoresceína, PBS, ácido fosfato de sodio y AAPH se adquirieron de la casa comercial Aldrich Chem Co. (Milwaukee, WI).

$$ORAC = \left[\frac{AUC_{Muestra} - AUC_{Control}}{AUC_{Trolox} - AUC_{Control}} \right] \times f \times [Trolox] \quad (3)$$

Donde $AUC_{muestra}$ es el área debajo de la curva de muestra, $AUC_{control}$ está debajo de la curva de control, AUC_{Trolox} es el área debajo de la curva Trolox, f es el factor de dilución del extracto y $[Trolox]$ es la concentración del Trolox.

Análisis estadístico

Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los valores se expresaron como promedios y desviaciones estándar ($\pm$). Las diferencias estadísticas se determinaron mediante análisis de varianza (ANDEVA) y la prueba de diferencia mínima significativa (LSD), con un valor de $p < 0.05$ para comparar las medidas de cada una de las variables analizadas: compuestos antioxidantes, contenido de ácidos fenólicos hidroxycinámicos y actividad antioxidante en bebidas de café preparadas mediante métodos en frío. Las regresiones lineales se calcularon con un nivel de significancia del 95 % ($p < 0.05$), mediante el paquete estadístico STATGRAPHICS Centurion XV (Zapata et al., 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se describen los resultados obtenidos en el presente estudio con la correspondiente discusión y análisis con base en la literatura científica relacionada.

Análisis fisicoquímicos

El café verde trillado presentó una humedad inicial uniforme del 12 % (± 0.4), para garantizar la comparabilidad de los resultados obtenidos. En el proceso de tostado, se utilizaron las mismas condiciones para todas las muestras analizadas, con el fin de garantizar una degradación térmica uniforme de las muestras (Díaz-Arango et al., 2018). Se evaluaron varios parámetros fisicoquímicos relacionados con la calidad de la bebida de café, como se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1: Parámetros fisicoquímicos de bebidas de café preparadas con métodos en frío. Letras distintas en las columnas indican diferencias significativas según la prueba de ANDEVA ($p < 0.05$).

<i>Método de preparación en frío</i>	<i>Rendimiento de la bebida (%)</i>	<i>° Brix</i>	<i>pH</i>
Toddy	13.52 $\pm$ 0.38 a	1.98 $\pm$ 0.02 a	5.20 $\pm$ 0.01 a
Torre fría	14.80 $\pm$ 0.27 a	2.50 $\pm$ 0.02 b	5.10 $\pm$ 0.01 b
Mizudashi	9.20 $\pm$ 0.52 b	1.10 $\pm$ 0.01 c	4.83 $\pm$ 0.01 c
Cold brew	10.44 $\pm$ 0.43 c	1.40 $\pm$ 0.05 d	5.04 $\pm$ 0.02 d
Fretta	9.17 $\pm$ 0.17 b	0.50 $\pm$ 0.03 e	4.77 $\pm$ 0.03 e

El rendimiento de las bebidas fue más alto para el método de torre fría, seguido por los métodos Toddy y Cold brew. La torre fría puede haber tenido un mejor rendimiento debido al tiempo de goteo lento y continuo, característico en su preparación. Los métodos con la bebida más diluida fueron Mizudashi y Fretta, que funcionan de manera similar, utilizando un mecanismo de difusión por inmersión. Los métodos restantes utilizan extracción líquido-sólido mediante goteo lento, lo que aumentó el contacto entre ambas fases y generó

un mayor rendimiento de la bebida. Los métodos con mayor rendimiento presentaron mayor oscurecimiento, producto de sus concentraciones en sólidos. Mizudashi tuvo mayor fluidez y claridad en la bebida obtenida. El ANDEVA indicó diferencia significativa ($p < 0.05$) en el rendimiento de la bebida obtenida, por efecto del método de preparación. En el estudio realizado por Portela et al. (2021), emplearon una relación café: agua para preparaciones frías a base de café de 1:10 (15 g:150 mL), que únicamente coincide ligeramente con el método Fretta del presente estudio.

Los sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) presentaron los valores más altos con las preparaciones Toddy, Torre fría y Cold brew, seguidos por Mizudashi y, por último, Fretta. En estos resultados se observó una relación directamente proporcional con el rendimiento de las bebidas obtenidas. El ANDEVA indicó diferencia significativa ($p < 0.05$) en los $^{\circ}$ Brix de cada bebida, por efecto de los métodos de preparación de café frío evaluados. El pH de la bebida preparada con Toddy fue el más alto, seguido de los métodos Torre fría, Cold brew, Mizudashi y Fretta. Con el método Toddy, hubo homogeneización de la muestra con agua y hielo, a diferencias de los demás métodos de preparación evaluados. Los métodos de goteo, como Torre fría y Cold brew, registraron un pH intermedio y los métodos de difusión por inmersión presentaron valores de pH más bajos, debido a su alta solubilización de ácidos orgánicos como los ácidos hidroxycinámicos (De Luca et al., 2016). El análisis de varianza indicó una diferencia significativa ($p < 0.05$) del pH de las bebidas frías a base de café, por efecto del método de preparación aplicado. De acuerdo a Portela et al. (2021), el pH registrado en las bebidas frías a base de café a las condiciones evaluadas en este estudio, fue ligeramente superior para *Coffea Arábica* (5.15 a 5.20) y coincidió únicamente, con el pH registrado en la preparación con Toddy del presente estudio.

Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles fue mayor con el método de la Torre fría, seguido por los métodos Toddy y Cold brew, con valores de 2146.1, 1968.8 y 1512.7 mg de ácido gálico/100 g de muestra, respectivamente (Figura 2). El menor contenido de fenoles se obtuvo con los métodos Mizudashi y Fretta, en orden descendente. La temperatura de preparación fue baja en todos los métodos preparados ($4^{\circ}\text{C} \pm 0.2$). Sólo los métodos Toddy, Mizudashi y Fretta emplearon hielo para la obtención de la bebida. Los métodos de preparación de café en frío tuvieron un efecto significativo ($p > 0.05$) sobre la retención fenoles totales en las bebidas frías a base de café evaluadas. Los métodos de preparación con menor rendimiento fueron Mizudashi y Fretta, que registraron el contenido de fenoles totales más bajo, posiblemente debido al efecto de la dilución en la preparación de estos métodos.

Fig. 2: Contenido total de fenol con métodos de preparación de café frío. Las letras diferentes en las barras indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0.05$). Las barras verticales corresponden al error estándar. $n=3$.

La concentración de compuestos fenólicos, reportada en el presente estudio con la aplicación de métodos para la preparación de café fríos, fue superior en el método Fretta en 154.7, 283.7, 720.2 y 905.5 mg de ácido gálico/100 g de muestra, a lo indicado con los métodos de filtración por gravedad por goteo, al utilizar agua caliente, como Clever, RS-16, Vietnamita y Kinto, respectivamente (Zapata et al., 2019). De acuerdo con Atavillos-Domínguez et al. (2020), el contenido de fenoles totales en las muestras de café tostado peruano estuvo entre 19.76 y 26.76 mg de ácido gálico/ g de muestra, valores que están por debajo del contenido de fenoles totales indicado en cinco de las bebidas frías a base de café estudiadas. Fonseca-García et al. (2014), reportaron valores similares a los indicados en la figura 2, en cafés colombianos del Norte de Santander con un contenido de fenoles totales del orden de 1129 a 2582 mg/ 100 g café. Según Portela et al. (2021), el contenido de fenoles totales promedio en muestras de bebidas de café fríos con *Coffea Arábica* a las

condiciones evaluadas, fue de 243.42 mg de ácido gálico / 100 mL de café, valor 8 veces más bajo que la preparación comercial de Torre fría (Figura 2); mientras que el método Fretta presentó casi el doble del valor de fenoles de totales, con la misma relación café: agua usada por Portela et al. (2021).

El proceso de tostión juega un papel importante, debido a la participación de los fenoles en las reacciones de Maillard, que se encargan de la generación de compuestos secundarios con propiedades antioxidantes y, que simultáneamente aportan sabor y color a las bebidas a base de café (Cheng et al., 2016). El papel biofuncional de los fenoles ha sido descrito por Zapata et al. (2019), ya que contribuyen a la prevención de múltiples enfermedades crónicas.

Determinación de taninos condensados

En cuanto a la retención de taninos en las bebidas preparadas con diferentes métodos de café frío (Figura 3), su concentración fue mayor con el método Torre fría, seguido por los métodos Toddy, Cold brew y Mizudashi, con 126.3, 123.5, 109.4 y 107.3 mg; respectivamente, expresado como mg de catequina eq. /100 g de muestra. El café preparado con el método Fretta registró el menor contenido de taninos reportado en los métodos en frío evaluados. El análisis estadístico indicó una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la concentración de taninos condensados, con respecto al método de preparación empleado.

Fig.3: Contenido de taninos condensados en métodos de preparación en frío. Las letras diferentes en las barras indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0.05$). Las barras verticales corresponden al error estándar. $n=3$.

El contenido de taninos se elevó con el método Ibrik (160 mg/100 g muestra), en comparación con los cinco métodos de preparación de café frío evaluados, mientras que el método de prensa francesa registró un contenido inferior de taninos (95 mg/100 g muestra), en comparación con los métodos Toddy y Torre fría (120 mg/100 g muestra) (Zapata et al., 2020). Asimismo, los taninos poseen características biofuncionales (Caetano et al., 2017), al igual que los polifenoles, que también forman parte del componente antioxidante de las bebidas preparadas de café. Estos resultados coinciden con la concentración de taninos indicadas por Zapata et al. (2013), en clones de cacao fermentado con una concentración en taninos condensados del orden de 28,12 a 104,52 mg/100 g de muestra. Komes et al. (2011), indicaron que el extracto etanólico mezclado con licor de cacao y macerado entre 1 a 6 meses, presentó una concentración de taninos condensados de 13.94 a 40.99 mg de taninos condensados / L de muestra.

Determinación del contenido de ácido fenólico hidroxicinámico

La Figura 4 representa el contenido de ácidos hidroxicinámicos en las bebidas preparadas con los cinco métodos de preparación de café en frío. El contenido de ácido clorogénico fue más alto con el método de preparación en frío, seguido por los métodos Toddy y Mizudashi. El contenido de ácido cafeico se retuvo solamente con el método Mizudashi. Con el resto de los métodos de preparación, no se detectó dicho compuesto. La bebida preparada con la Torre fría no registró ninguno de los cuatro ácidos hidroxicinámicos analizados. La concentración de ácidos *p*-cumárico y ferúlico indicó concentraciones similares en los métodos Toddy, Cold brew, Mizudashi y Fretta. El ácido ferúlico presentó el mismo comportamiento que el ácido *p*-cumárico. Sólo el método Mizudashi retuvo los cuatro ácidos evaluados. El ANDEVA indicó un efecto ($p < 0.05$) entre el método de preparación y la concentración de ácidos hidroxicinámicos en la bebida.

Fig. 4: Contenido de ácido fenólico hidroxycinnámico en bebidas preparadas con métodos en frío. Las letras diferentes en las barras indican diferencias significativas entre las muestras ($P < 0.05$). Las barras verticales corresponden al error estándar. $n=3$.

A diferencia del presente estudio (Figura 4), Muñoz et al. (2020) indicaron que el ácido hidroxycinnámico predominante fue el ácido ferúlico, seguido del ácido cafeico y *p*-cumárico, en muestras de café tostado (*Coffea arabica*) provenientes de Colombia y España. Los ácidos hidroxycinnámicos pueden afectar la percepción sensorial de las bebidas a base de café, especialmente el ácido clorogénico, que favorecen la acidez, la astringencia, el aroma y las notas amargas de la bebida (Cheng et al., 2016). El ácido clorogénico no sólo tiene propiedades antioxidantes, sino que también presenta cualidades antimicrobianas, especialmente en bacterias grampositivas (Chaves-Ulate y Esquivel-Rodríguez, 2019). De acuerdo con Schouten et al. (2021), las muestras de café arábica con tostión clara a oscura registraron concentraciones de ácido clorogénico entre 27.50 y 4.9 mg/g, respectivamente, mientras que, para muestras de café robustas, estas estuvieron entre 28.7 y 5.5 mg/g, en las mismas condiciones. Dichos valores fueron bajos, en comparación con las concentraciones de ácido clorogénico observadas en la Figura 4 para las cinco bebidas frías a base de café estudiadas.

Determinación de la capacidad antioxidante

Los valores de capacidad antioxidante obtenidos con las técnicas ABTS y ORAC fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) al evaluar las cinco bebidas a base de café frío obtenidas (Figura 5). Los valores de actividad ABTS fueron más altos con los métodos Torre fría, Toddy, Cold brew, Mizudashi y Fretta, en orden descendente. Por medio de la metodología ORAC, las capacidades antioxidantes fueron más altas, en orden descendente, para los métodos Toddy, Torre fría, Cold brew, Mizudashi y Fretta. Estos resultados indican una correlación positiva y coherente en la expresión de compuestos antioxidantes y su concentración en bebidas frías a base de café listas para el consumo. Las bebidas obtenidas con los métodos Mizudashi y Fretta tuvieron menor capacidad antioxidante registrada entre las dos técnicas evaluadas: ABTS y ORAC. Hubo un efecto significativo ($p < 0.05$) de los métodos de preparación de bebidas y la actividad antioxidante sobre los compuestos evaluados.

Al analizar el comportamiento de la actividad antioxidante ABTS, se reveló que este tuvo una relación directamente proporcional con el contenido de fenoles totales y taninos condensados obtenidos (Figura 2 y Figura 3, respectivamente), mientras que la actividad antioxidante ORAC no presentó relación con estas dos especies antioxidantes. Schouten et al. (2021) indicó que la actividad ABTS en muestras de café tostadas en diferentes grados se encontraba en un rango de 5500 a 7010 mg de Trolox/100 g en muestras de café Arábica, mientras que las de café Robusta estaban entre 8000 y 9080 mg de Trolox/100 g. Dichos valores están por debajo de los reportados en la Figura 5 del presente estudio, donde las muestras evaluadas se correlacionaron con un mismo grado de tostado. También se ha indicado una disminución en la actividad antioxidante, debido al efecto del proceso de tostado aplicado (Budryn et al., 2015). Valores similares de ORAC (aproximadamente de 60000 $\mu\text{mol Trolox}/100\text{ g extracto seco}$) fueron reportados por Peñaloza y Rojano (2014) mediante interacción sinérgica de frutas nativas.

Fig. 5: Capacidad antioxidante de los métodos ABTS y ORAC en bebidas de café preparadas con métodos fríos. Las letras diferentes en las barras indican diferencias significativas entre las muestras ($p < 0.05$). Las barras verticales corresponden al error estándar. $n=3$.

Las capacidades antioxidantes de ABTS y ORAC fueron similares a los valores reportados en este estudio, en comparación con los métodos de filtración por gravedad por goteo (vietnamita, Clever, Kinto, Yama, RS-16, V60 Kalita y V60), dentro de un rango entre 10000 y 60000 mg de Trolox/100 g (Zapata et al., 2019). Esto descarta la hipótesis de que los cafés preparados en frío tengan mayores capacidades antioxidantes, debido a la baja temperatura de preparación.

Análisis sensorial de bebidas frías a base de café

En la figura 6 se muestran los resultados del análisis Q.D.A en las bebidas frías preparadas a base de café. Los métodos Toddy y Mizudashi presentaron atributos como el cuerpo e impresiones globales mayores que la muestra patrón, mientras que los atributos restantes fueron iguales a los de un café U.G.Q. Ningún método para la preparación de café frío presentó un perfil sensorial igual al patrón U.G.Q. La bebida elaborada con Torre fría presentó menor acidez y mayor cuerpo y notas amargas que un café U.G.Q. El método Cold brew generó bebidas con menor acidez y notas más amargas que las de la muestra patrón, mientras que los atributos restantes coincidieron con los del café excelso (U.G.Q.). En relación al método Fretta, todos los atributos coincidieron con los del patrón, excepto el cuerpo, que fue ligeramente inferior. El ANDEVA determinó diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el método de preparación del café y el perfil sensorial obtenido en taza.

Las notas amargas eran similares a las del patrón U.G.Q. para las preparaciones Toddy, Mizudashi y Fretta, mientras que los métodos Torre fría y Cold brew presentaron un sabor amargo más fuerte que el de un café excelso tradicional (U.G.Q.). Las bebidas frías con la mayor impresión general se prepararon con los métodos Toddy y Mizudashi. Los puntajes obtenidos por las bebidas preparadas con diferentes métodos de café frío presentaron diferentes perfiles, en comparación con un patrón U.G.Q. Esto indica que el método de preparación aplicado determina el perfil de taza para un café excelso (U.G.Q.). Algunos baristas recomiendan el consumo de café frío, ya que la sensación grasosa, el amargor y la acidez es baja con estos métodos, los cuales se preparan a temperaturas entre 8 - 10 °C (Baumann et al., 2012). Sin embargo, esta afirmación no concuerda del todo con los resultados del presente estudio, dado que los métodos que presentaron baja acidez fueron Torre fría y Cold brew.

Con respecto a las concentraciones de taninos, como se indica en la Figura 3, dichas concentraciones resultaron bajas y mínimamente significativas en el perfil de taza de cada bebida estudiada; dado que ningún catador indicó la existencia de notas astringentes indeseables en las preparaciones de café frío evaluadas; contrario a lo indicado por Angeloni et al. (2019). Otros estudios reportan que algunos cafés fríos presentaron notas agrias que el mismo café preparado mediante el método de prensa francesa en agua caliente (Angeloni et al., 2019). De igual manera Lopane (2018), obtuvieron café frío con notas más dulces y menos amargas. Dichas investigaciones no presentaron resultados comparables a nivel sensorial con el presente estudio.

Fig. 6: El perfil sensorial de las bebidas de café obtenidas mediante métodos de preparación en frío, en comparación con un U.G.Q. patrón. Valores medios ($n=3$).

CONCLUSIONES

Las bebidas obtenidas con los métodos de preparación de café en frío, como la Torre fría, seguido de Toddy y Cold brew, presentaron el mayor contenido de compuestos antioxidantes, entre los que también se destacan el contenido de fenoles totales y taninos condensados, además su actividad antioxidante fue significativa (ABTS y ORAC). Las bebidas preparadas con mayor concentración de ácidos hidroxycinámicos en orden descendente, fueron Mizudashi, Cold Brew y Toddy. Los cafés fríos con la menor acidez se prepararon con los métodos Torre fría y Cold brew. La mejor impresión global se otorgó a las preparaciones con Toddy y Mizudashi. Esta última, no presentó las mayores concentraciones ni actividad antioxidante, pero fue la única bebida fría que conservó los cuatro ácidos hidroxycinámicos evaluados. La preparación de café frío con menor concentración y actividad antioxidante corresponde al café Fretta. Finalmente, se recomienda preparar bebidas frías a base de café con los métodos Torre fría, Toddy y Cold brew, para garantizar el consumo del mayor contenido de compuestos antioxidantes y su expresión, así como atributos sensoriales definidos y atractivos para el consumidor, similares o superiores a los de un café de calidad excelso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo brindado por el Laboratorio de Ciencias de los Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia sede Medellín, y el Laboratorio de Análisis Sensorial e industrialización del café de la Universidad de Caldas durante la estructuración y desarrollo del presente estudio.

NOTACIÓN

Símbolos

h = horas

m.s.n.m. = metros sobre el nivel del mar

°C = grados Celsius

g = gramos

°Brix = grados Brix

µm = micrómetros

mL = mililitros

nm = nanómetro

µg = microgramo

± = más o menos

µL = microlitro

min = minutos

(+) = catión

mm = milímetro

v/v = volumen a volumen

µmol = micromoles

I= onda de excitación

mM = milimoles

p<0.05= significancia del 95 %

mg = miligramos

n = número de muestras

Eq. = equivalente

Abreviaciones

ABTS= Radical catiónico 2,2-Azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico

ORAC= Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno

U.G.Q. = Usual Good Quality

RE= Rendimiento de Extracción

Q.D.A.= Quantitative Descriptive Analysis

UV-VIS = Ultra Violeta Visible

CI= Concentración Inhibitoria

P.M.= Peso molecular

Trolox= Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico

TEAC= Trolox equivalent antioxidant capacity

PBS= Solución Tampón Fosfato

AAPH= 2,2'-azinobis (2-amidinopropano) diclorhidrato

ANDEVA= Análisis de Varianza

LSD= Diferencia Mínima Significativa

REFERENCIAS

Angeloni, G., Guerrini, L., y otros cuatro autores, Characterization and comparison of cold brew and cold drip coffee extraction methods, <https://doi.org/10.1002/jsfa.9200>, J. Sci. Food Agric., 99, 391-399 (2019)

Atavillos-Dominguez, C., Reátegui, D., y Ordoñez, E., Fenoles totales, actividad antioxidante y evaluación sensorial del café tostado, <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2020.03.04>, Agroind. Sci., 10, 241-248 (2020)

- Baumann, S., Wheeler, B., y Alfreds, K.L., Cold Brew System and Method for Making Cold Brew Coffee or Tea Extract, U.S., Patent No. US20120021108A1, 26 de Septiembre (2012)
- Budryn, G., Nebesny, E., y Oracz, J., Correlation between the stability of chlorogenic acids, antioxidant activity and acrylamide content in coffee beans roasted in different conditions, <https://doi.org/10.1080/10942912.2013.805769>, Int. J. Food Prop., 18, 290–302 (2015)
- Caetano, N.S., Caldeira, D., y otros dos autores, Valorization of spent coffee grounds: production of biodiesel via enzymatic catalysis with ethanol and a co-solvent, <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9790-z>, Waste Biomass Valorization, 8, 1981–1994 (2017)
- Caprioli, G., Cortese, M., y otros cinco autores, Quantification of caffeine, trigonelline and nicotinic acid in espresso coffee: The influence of espresso machines and coffee cultivars, <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.873890>, Int J Food Sci Nutr., 65, 465–469 (2014)
- Chaves-Ulate, E.C., y Esquivel-Rodríguez, P., Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante, <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>, Agron Mesoam., 30, 299–311 (2019)
- Chen, A.Y., y Chen, Y.C., A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.139>, Food Chem., 138, 2099–2107 (2013)
- Cheng, B., Furtado, A., y otros dos autores, Influence of genotype and environment on coffee quality, <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.09.003>, Trends Food Sci Technol., 57, 20–30 (2016)
- De Luca, S., De Filippis, M., y otros cuatro autores, Characterization of the effects of different roasting conditions on coffee samples of different geographical origins by HPLC-DAD, NIR and chemometrics, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2016.07.021>, Microchem. J., 129, 348–361 (2016)
- Díaz-Arango, F.O., Ormaza-Zapata, A.M., y Rojano, B.A., Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza, Contenido de Compuestos Antioxidantes y la Actividad Antioxidante, <https://doi.org/10.4067/S0718-07642018000400031>, Inf. Tecnol., 29, 31–42 (2018)
- Fonseca-García, L., Calderón-Jaimes, L.S., y Rivera, M.E., Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en Norte de Santander (Colombia), Vitae, ISSN 0121-4004, 21(3), 228–236, (2014)
- ISO, International Organization for Standardization, ISO 6673. Green coffee, determination of loss in mass at 105 °C, 4–5 (2003)
- Komes, D., Belščak-Cvitanović, A., y otros cuatro autores, Bioactive and Sensory Properties of Herbal Spirit Enriched with Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Polyphenolics, <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0630-7>, Food Bioproc Tech., 1–13 (2011)
- Laplace, B.N., Legrá, S.M., y otros cuatro autores, Enfermedades bucales en el adulto mayor, CCM, ISSN 1560-4381, 17(4), 477–488 (2013)
- Lopane, S.N., An Investigation of the Shelf Life of Cold Brew Coffee and the Influence of Extraction Temperature Using Chemical Microbial and Sensory Analysis, https://tigerprints.clemson.edu/all_theses, Clemson University (2018).
- Mesa, N.Y.R., Medrano, J.M., y otros tres autores, Efecto anticariogénico del café, CCM, ISSN 1560-4381, 3, 888–898 (2017)
- Montilla-Pérez, J., Arcila, J.P., y otros cinco autores, Propiedades físicas y factores de conversión del café en el proceso de beneficio, Rev. Avance Téc. Cenicafe, ISSN 0120-0178, 370, 1–8 (2008)
- Muñoz, A.E., Hernández, S.S., y otros tres autores, Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109457>, LWT - Food Sci. Technol., 128, 391–399 (2020)
- Naranjo, M., Vélez, L.T., y Rojano, B.A., Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades, Rev. Cubana Plant. Med., ISSN 1028-4796, 16(2), 164–173 (2011)
- Ormaza-Zapata, A.M., Díaz-Arango, F.O., y Rojano, B.A., Efecto del Añejamiento del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre la Composición de Fenoles Totales, Flavonoides, Ácido Clorogénico y la Actividad Antioxidante, <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000300187>, Inf Tecnol., 29(3), 187–196 (2018)
- Peñaloza, J.K., y Rojano, B.A., Potenciación de la capacidad antioxidante mediante interacción sinérgica entre bioactivos de frutas nativas colombianas, Rev. Alimentos Hoy, ISSN 2027-291X, 23(33), 1–25 (2014)
- Portela, C.S., de Almeida, I.F., y otros tres autores, Brewing conditions impact on the composition and characteristics of cold brew Arabica and Robusta coffee beverages, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111090>, LWT - Food Sci. Technol., 143, 111090 (2021)
- Puertas-Mejía, A., Villegas, P., y Rojano, B.A., Borra de café colombiano (*Coffea arabica*) como fuente potencial de sustancias con capacidad antirradicales libres *in vitro*, Rev. Cubana Plant. Med., ISSN 1028-4796, 18(3), 469–478 (2013)
- Rojano, B., Zapata, I., y Sepúlveda, J., Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las propiedades fisicoquímicas, probióticas y antioxidantes de yogurt saborizado con mortiño (*Vaccinium meridionale* Sw.), <https://doi.org/10.4067/S0718-07642015000200004>, Inf Tecnol., 26, 17–28 (2015)

- Rojano, B.A., Gaviria, C.A., y otros cuatro autores, Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios, *Vitae*, ISSN 0121-4004, 15(1), 173-181 (2008)
- Schouten, M.A., Tappi, S., y otros cinco autores, Acrylamide formation and antioxidant activity in coffee during roasting – A systematic study, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128514>, *Food Chem.*, 343, 1-9 (2021)
- Zapata, A.M.O., Arango, F.O.D., y Rojano, B.A., The effect of gravity-drip filtration methods on the chemical and sensorial properties of coffee (*Coffea arabica* L. var. Castillo), *Coffee Sci.*, ISSN 1984-3909, 14, 415-426 (2019)
- Zapata, A.M.O., Arango, F.O.D., y Rojano, B.A., Sensorial profile, content, and antioxidant activity in coffee beverages prepared by direct contact methods, *Coffee Sci.*, ISSN 1984-3909, e15175814, 1-12 (2020)
- Zapata, S., Tamayo, A., y Rojano, B.A., Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano, *Rev. Cubana Plant. Med.*, ISSN 1028-4796, 18(3), 391-404 (2013)

Página en blanco