



Posgrado en Biotecnología

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
POSGRADO EN BIOTECNOLOGÍA
TESIS

Caracterización química-biológica de granos y propagación *in vitro* de *Coffea arabica*

Para obtener el grado de
DOCTOR EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

M. en C. Javier Gallardo Ignacio

Matricula: 2193801635
ORCID: 0000-0001-7463-0054

Director:

Dr. Francisco Cruz Sosa

Co-Directora:

Dra. María del Pilar Nicasio Torres

Asesor:

Dr. Manasés González Cortazar

Jurado:

Presidenta: **Dra. Angélica Román Guerrero**

Secretario: **Dr. Fernando Rivera Cabrera**

Vocal: **Dra. Guadalupe Anislada Santibáñez García**

Vocal: **Dr. Ricardo Salazar López**

Iztapalapa, Ciudad de México a 29 abril de 2024

“El Doctorado en Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana está incluido en el Sistema Nacional de Posgrado (SNP, antes Programa Nacional de Posgrados de Calidad o PNPC) del CONACYT, con la referencia 001466”

Iztapalapa, Ciudad de México a 29 de abril del 2024.

El jurado designado por la

División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad Iztapalapa aprobó la

tesis

**"Caracterización química-biológica de granos y propagación *in vitro* de
Coffea arabica"**

que presentó

M. en C. Javier Gallardo Ignacio

Comité Tutorial:

Director: Dr. Francisco Cruz Sosa

Co-Directora: Dra. María del Pilar Nicasio Torres

Asesor: Dr. Manasés González Cortazar

Jurado:

Presidenta: Dra. Angélica Román Guerrero

Secretario: Dr. Fernando Rivera Cabrera

Vocal: Dra. Guadalupe Anislada Santibáñez García

Vocal: Dr. Ricardo Salazar López

Dedicatoria

A mi familia

Por ser el pilar y mi fortaleza en cada paso de este camino. Su amor, apoyo y comprensión han sido fundamentales para alcanzar esta meta.

Agradecimientos

Por la beca otorgada para la realización de mis estudios



Por otorgarme el grado de doctor



Por permite realizar mi trabajo experimental en sus instalaciones



Centro de Investigación Biomédica del Sur- IMSS

Contenido

Contenido.....	i
Índice de Figuras	iii
Índice de Tablas.....	v
Resumen.....	1
Abstract.....	3
1. Introducción	5
2. Antecedentes.....	7
2.1. Historia del café.....	7
2.2. Taxonomía del café.....	8
2.3. Descripción botánica de las especies más importantes del género <i>Coffea</i>	10
2.4. Distribución geográfica y cultivo del café en el mundo.....	11
2.5. Producción, comercialización y consumo del café.....	12
2.6. Producción de café en México	14
2.7. Características de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca	17
2.8. Preparación y consumo del café	18
2.9. Composición bioquímica del café.....	21
2.10. Compuestos generados por el tostado de los granos.....	24
2.11. Actividades biológicas del café.....	25
2.12. El ácido clorogénico y la cafeína como principales componentes del café.....	26
2.13. Generación de variedades híbridas de <i>C. arabica</i>	28
2.14. Propagación del género <i>Coffea</i>	29
2.14.1. Propagación vegetativa	29
2.14.2. Propagación <i>in vitro</i>	30
3. Planteamiento del problema	33
4. Justificación	34
5. Hipótesis	35
6. Objetivo general.....	35

6.1.	Objetivos particulares	35
7.	Materiales y métodos.....	36
7.1.	Material biológico.....	36
7.2.	Análisis bromatológico.....	37
7.3.	Análisis químico.....	37
7.3.1.	Obtención de infusiones.....	37
7.3.2.	Cuantificación de ácido clorogénico y cafeína	38
7.3.3.	Fraccionamiento químico y análisis por RMN	39
7.4.	Melanoidinas	41
7.5.	Evaluación sensorial.....	42
7.6.	Actividades biológicas	43
7.6.1.	Actividad antioxidante	43
7.6.1.1.	Ensayo de la actividad de captación de radicales 2,2-difenil-1-pirilhidracilo (DPPH)	43
7.6.1.2.	Ensayo de actividad del radical 2,2'-Azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico] (ABTS).....	43
7.6.1.3.	Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP)	44
7.6.2.	Evaluación citotóxica	45
7.7.	Propagación <i>in vitro</i>	46
8.	Resultados y discusión	49
8.1.	Composición nutrimental	49
8.2.	Análisis químico.....	51
8.2.1.	Identificación del ácido clorogénico por RMN	56
8.3.	Melanoidinas	59
8.4.	Evaluación sensorial.....	60
8.5.	Actividad biológica.....	64
8.5.1.	Efecto antioxidante.....	64
8.5.2.	Actividad citotóxica.....	67
9.	Conclusiones	75
10.	Perspectivas	77
11.	Referencias.....	78
12.	Publicaciones.....	86

Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama de la clasificación taxonómica de las plantas del café	9
Figura 2. Fotografías de <i>Coffea arabica</i> tomada en la finca el Encino en Tierra Colorada-Malinaltepec, Guerrero entre los 1,100 msnm.	10
Figura 3. Fotografías de <i>Coffea canephora</i> tomada en el Rancho el Molino en Potrero-Zentla, Veracruz entre los 780 msnm.	11
Figura 4. Países productores de las principales especies de café <i>C. arabica</i> y <i>C. canephora</i> ubicados entre el Trópico de Cáncer y el Trópico de Capricornio.	12
Figura 5. Principales países productores de café en el mundo.	13
Figura 6. Estados productores de café en las diferentes vertientes de México	15
Figura 7. Preparaciones de bebidas de café más comunes en el mundo	19
Figura 8. Estructura química de los principales compuestos químicos identificados en las especies de <i>Coffea arabica</i> y <i>Coffea canephora</i> , a) ácido 3-O-cafeoilquínico, b) ácido 4-O-cafeoilquínico, c) ácido 5-O-cafeoilquínico, d) cafeína, e) trigonelina, f) catequina y g) epicatequina.	23
Figura 9. Frutos y granos de <i>Coffea arabica</i> procesados a) cerezas maduras colectadas; b) camas de secado de las cerezas de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca; c) granos verdes de la mezcla de variedades; d) granos con tostado medio; e) granos con tostado oscuro.....	36
Figura 10. Cromatografía en columna abierta del fraccionamiento del extracto del CTM.	40
Figura 11. Infusiones de los extractos MCV, CTM y CTO, a) soluciones sin clarificar de los diferentes extractos; b) soluciones clarificadas empleando el reactivo de Carrez.	41
Figura 12. Establecimiento del cultivo <i>in vitro</i> de <i>Coffea arabica</i> variedad Oro Azteca a) Material biológico inicial, b) proceso de desinfección de los explantes, C) yema apical en cultivo <i>in vitro</i>	46
Figura 13. Cromatogramas de CLAR a $\lambda = 330$ nm para el (a) estándar de ACG (25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y las infusiones (b) MCV (125 $\mu\text{g}/\text{mL}$), (c) CTM y (d) CTO (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$). ...	52

Figura 14. Cromatogramas de CLAR a $\lambda = 280$ nm para el (a) estándar de (CAF) cafeína (10 $\mu\text{g/mL}$) y las infusiones de (b) MCV (125 $\mu\text{g/mL}$), (c) CTM y (d) CTO (500 $\mu\text{g/mL}$).....	53
Figura 15. Estructura química del ácido clorogénico aislado del extracto CTM de <i>Coffea arabica</i>	57
Figura 16. Espectros de RMN del ácido clorogénico: (a) ^{13}C (150 MHz, DMSO) y (b) ^1H (600 MHz, DMSO).....	58
Figura 17. Comparación del perfil sensorial de los atributos de los cafés comerciales CTM y CTO.....	63
Figura 18. Elongación de las yemas apicales de <i>Coffea arabica</i> variedad Oro Azteca en diferentes meses de cultivo sin formación de brotes.	69
Figura 19. Respuesta de la brotación múltiple de los diferentes tratamientos en los segmentos nodales de <i>Coffea arabica</i> variedad Oro Azteca a los 90 días de cultivo, a) 4.0 mg/L de BAP y 0.5 de AIA; b) 6.0 mg/L de BAP y 0.5 de AIA; c) 8.0 mg/L de BAP y 0.5 de AIA; d) brotes individualizados de diferentes tamaños que fueron puestos a tratamiento de enraizamiento.....	70
Figura 20. Brotes con raíz cultivados en MS y 0.5 mg de AIA; a) a los 30 días de emergencia de la raíz y b) elongación a los 90 días de cultivo.	72
Figura 21. Plantas de <i>Coffea arabica</i> variedad Oro Azteca, a) plantas aclimatizadas de un mes en invernadero, b) plantas con formación y aumento en el número raíces, c) planta a los dos meses en invernadero.	73

Índice de Tablas

Tabla 1. Principales características y atributos del café de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca.....	17
Tabla 2. Métodos de preparación de bebidas de café más comunes en el mundo.	19
Tabla 3. Componentes químicos de los granos verdes de café Arábica y Robusta (Poisson et al., 2017).	22
Tabla 4. Actividad biológica de los principales compuestos del café.	25
Tabla 5. Brotación múltiple en diferentes variedades de <i>C. arabica</i> y <i>C. canephora</i>	31
Tabla 6. Método de separación de extractos de granos de café verde y tostado por CLAR	39
Tabla 7. Fraccionamiento en columna abierta del extracto CTM.	40
Tabla 8. Clasificación de las bebidas de café de acuerdo con la puntuación obtenida en las pruebas sensoriales.	42
Tabla 9. Componentes nutrimentales en café comercial de mezclas y variedades <i>Coffea arabica</i>	50
Tabla 10. Contenido de ACG y cafeína en granos verdes y tostados de variedades de <i>Coffea arabica</i>	54
Tabla 11. Datos espectroscópicos de RMN ¹ H y ¹³ C (600 y 150 MHz) del ácido clorogénico (MeOH-d4, δ, ppm, J/Hz).	57
Tabla 12. Contenido de melonoidinas en los cafés comerciales de variedades de <i>Coffea arabica</i>	59
Tabla 13. Perfil sensorial de la mezcla comercial de café de variedades de <i>Coffea arabica</i>	61
Tabla 14. Actividad antioxidante de los cafés comerciales con mezcla de variedades de <i>Coffea arabica</i>	65
Tabla 15. Concentración inhibitoria (CI ₅₀) de los cafés comerciales de mezcla de variedades de <i>Coffea arabica</i>	65
Tabla 16. Concentración inhibitoria media de los cafés comerciales de las variedades de <i>Coffea arabica</i> en la línea celular de fibroblastos 3T3-L1.	68

Tabla 17. Efecto de las concentraciones de bencilaminopurina (BAP) y ácido indolacético (AIA) en la inducción de brotes de *Coffea arabica* variedad Oro azteca a los 90 días de cultivo. 71

Tabla 18. Crecimiento y formación de hojas de plantas de la variedad Oro Azteca en condiciones de invernadero. 74

Resumen

El uso y consumo del café comenzó en Etiopía como alimento para esclavos y viajeros. En la Península Arábiga comenzó a consumirse en forma de licor e infusiones a base de granos tostados, llegando a ser una bebida popular debido a sus efectos estimulantes. Su distribución en Europa favoreció aún más el consumo y comercialización del café. La planta del café pertenece a la familia Rubiaceae y al género *Coffea*, con 103 especies conocidas. La producción comercial se basa principalmente en *C. arabica* y *C. canephora*, las cuales se cultivan en países ubicados entre el Trópico de Cáncer y el Trópico de Capricornio. Brasil, Vietnam y Colombia son los principales productores, mientras que México se ubica como el décimo productor. México es conocido por su calidad y café orgánico, con condiciones favorables de altitud, suelo y clima en los estados de Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca y Guerrero.

El café en México se procesa principalmente por vía húmeda en algunas áreas emplean métodos de procesamiento en seco como en el estado de Guerrero, donde los productores artesanales comercializan café dentro de su región y a nivel nacional. Las normas mexicanas que regulan la comercialización de café tostado y molido son NMX-F-013-SCFI-2010 y PROY-NOM-255-SE-2021. La composición física y química de los granos tostados confiere a las infusiones varias características de aroma y sabor, así como otros atributos por sus efectos estimulantes, antioxidantes, antiinflamatorios entre otros. En este proyecto de tesis se determinó la composición nutricional-química y la evaluación biológica de dos cafés comerciales de la Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña, asimismo, se llevó a cabo un proceso de propagación *in vitro* de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca.

La composición nutricional del café de tueste medio (CTM) y café de tueste oscuro (CTO) cumple con las indicaciones de humedad y cenizas según NMX-F-013-SCFI-2010, mientras que el contenido de grasa no cumple con la norma. Se identificó y cuantificó el ácido clorogénico (ACG) en los granos verdes de las 3 variedades: Típica, Borbón y Oro Azteca, siendo estas 2 últimas las que mostraron el mayor

contenido. Después del proceso de tostado, el contenido de ACG se redujo en el CTO. El contenido de cafeína mostró una tendencia similar entre las variedades de granos verdes, observándose un aumento después del tostado.

Con base en la norma PROY-NOM-255-SE-2021 y las pruebas sensoriales, los granos de CTM se clasificaron como café de especialidad natural, mientras que el CTO se consideró café natural premium. Los extractos de CTM y CTO mostraron efectos antioxidantes en las pruebas DPPH, ABTS y FRAP. Las pruebas de citotoxicidad en la línea celular de fibroblastos 3T3-L1 no mostraron ningún efecto tóxico, lo que indica la ausencia o bajo contenido de compuestos tóxicos en los granos tostados.

Los segmentos nodales de *C. arabica* variedad Oro Azteca formaron brotes después de 3 meses de cultivo utilizando tratamientos con bencilaminopurina (BAP) o en combinación con ácido indolacético (AIA) como reguladores del crecimiento. Brotes individualizados se enraizaron con AIA y las plántulas lograron una tasa de supervivencia del 85% después del trasplante al invernadero. Los resultados muestran la calidad actual de los productos comerciales de esta cooperativa y las áreas de oportunidades de mejora para poder cumplir con los requerimientos establecidos, con la obtención de plantulas de la variedad Oro Azteca mediante el cultivo *in vitro* se puede iniciar un proceso de renovación constante de los cultivos.

Abstract

The use and consumption of coffee began in Ethiopia as food for slaves and travelers. In the Arabian Peninsula, it started to be consumed in the form of liqueur and infusions based on roasted beans, eventually becoming a popular drink due to its stimulating effects. Its distribution in Europe further favored the consumption and commercialization of coffee. The coffee plant belongs to the Rubiaceae family and the *Coffea* genus, with 103 known species. Commercial production is primarily based on *C. arabica* and *C. canephora*, both of which are grown in countries located between the Tropic of Cancer and the Tropic of Capricorn. Brazil, Vietnam, and Colombia are the main producers, while Mexico ranks as the 10th largest producer. Mexico is known for its quality and organic coffee, with favorable altitude, soil, and climate conditions in the states of Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca, and Guerrero.

Coffee in Mexico is mainly processed by wet means, with some areas employing dry processing methods, such as in the state of Guerrero where artisanal producers market coffee within their region and nationally. Mexican standards that regulate the commercialization of roasted and ground coffee are NMX-F-013-SCFI-2010 and PROY-NOM-255-SE-2021. The physical and chemical composition of the roasted beans gives the infusions several characteristics of aroma and flavor, as well as other attributes for stimulating, antioxidant, anti-inflammatory effects among others. In this thesis project, the nutritional-chemical composition and biological evaluation of two commercial coffees from the Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña was determined. As well, it was carried out an *in vitro* propagation process of *Coffea arabica* variety Oro Azteca.

The nutritional composition of medium roast coffee (CTM) and dark roast coffee (CTO) complies with the indications for moisture and ash according to NMX-F-013-SCFI-2010, while the fat content does not meet the standard. Chlorogenic acid (CGA) was identified and quantified in the green beans of the 3 varieties: Typica, Bourbon, and Oro Azteca, with the latter 2 showing the highest content. After the roasting process, the CGA content was reduced in the CTO. Caffeine content

showed a similar trend between green beans varieties, with an increase observed after roasting.

Based on the PROY-NOM-255-SE-2021 standard and sensory tests, CTM beans were classified as natural specialty coffee, while CTO was considered premium natural coffee. CTM and CTO extracts showed antioxidant effects in DPPH, ABTS, and FRAP tests. Cytotoxicity tests on the 3T3-L1 fibroblast cell line showed no toxic effect, indicating the absence or low content of toxic compounds in the roasted beans.

Nodal segments of *C. arabica* variety Oro Azteca formed shoots after 3 months of cultivation supplied with benzylaminopurine (BAP) treatments or in combination with indoleacetic acid (IAA) as growth regulators. Individualized shoots were rooted using IAA, with seedlings achieving an 85% survival rate after transplantation to the greenhouse. The results show the current quality of the commercial products of this cooperative and the areas of opportunities for improvement to meet the established requirements, with the obtaining of seedlings of the Oro Azteca variety through *in vitro* culture, a process of constant renewal of the crops can be initiated.

1. Introducción

El café es un alimento de gran importancia a nivel mundial al ser un producto altamente comercializado. El origen del café se remonta a las montañas altas de Etiopía cuyo principal consumo era como alimento, a su llegada a la península arábiga se consumía en forma de licor hasta convertirse en una bebida popular debido a su efecto estimulante. Al descubrir los atributos de las infusiones obtenidas con los granos tostados se hicieron concurrentes como bebidas calientes (Organización Internacional del Café [OIC], s.f.-b; Reich, 2010). La palabra café tiene diversos orígenes pero comparten un mismo significado “excitante”. Su introducción a los países de Europa potenció su consumo y distribución por el mundo (Clifford y Willson, 1985).

El café pertenece a la familia Rubiaceae y género *Coffea* identificando hasta el momento 103 especies entre las cuales destacan *C. arabica*, *C. canephora*, *C. liberica* y *C. racemosa* por ser las más conocidas en el mundo. Estas especies se cultivan países con climas cálidos y húmedos de Asia, África y América ubicados entre el trópico de Cáncer y de Capricornio (Davis et al., 2007).

La producción comercial se basa principalmente en *C. arabica* debido a sus propiedades sobre salientes bajo contenido de cafeína y fino aroma, mientras que *C. canephora* se produce en 30% pero destaca por su alto contenido de cafeína y fuerte sabor lo que la hace atractiva para los cafés solubles (Philippe et al., 2009). Los principales países productores son Brasil, Vietnam y Colombia, México se encuentra como 10° productor destacando por su café orgánico y de calidad. Las variedades de la especie Arábica se cultivan principalmente en los estados de Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca y Guerrero con condiciones de altura, suelo y clima óptimas para el cultivo de cafetos (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria [CEDRSSA], 2019).

Guerrero destaca por la producción de café vía seca y proceso artesanal por personas indígenas. Los frutos o granos son comercializados a granel sin darle un valor agregado, por lo cual, los productores se han organizado para buscar alternativas de comercialización en el país de granos de café tostado y molido

(Tablas et al., 2021). Existen normas que establecen criterios para la composición química, física y sensorial que permiten obtener un café de calidad. Las principales variedades cultivadas poseen diferentes atributos dependiendo del cultivo, factores ambientales y físicos, por ello, es de importancia caracterizar con base en las Normas Mexicanas a los cafés comerciales del país.

Las bebidas del café son ampliamente consumidas por su efecto estimulante debido a la acción del alcaloide cafeína presente en los granos. Además ofrece efectos benéficos como antioxidante, antiinflamatorio, anticancerígeno, entre otros, por acción de compuestos fenólicos entre los que destacan, ACG, ácidos cafeico, ferúlico, cinámico y aquellos compuestos que se logran formar durante el tostado como las melanoidinas (Farah & de Paula Lima, 2019; Farah & Donangelo, 2006).

El contenido de los compuestos químicos en los granos de café depende de la especie, las condiciones de cultivo, el procesamiento de frutos y granos, así como del tostado y la forma de la obtención de las infusiones, dando como resultado colores, sabores, olores y efectos biológicos diferentes (Górecki & Hallmann, 2020).

Las afectaciones por roya anaranjada causada por el hongo *Hemileia vastatrix* a las variedades principales cultivadas como Típica, Caturra, Borbón, entre otras, ha provocado la inclusión de variedades resistentes este patógeno y atributos que no comprometan la calidad del café, como las variedades Oro Azteca, Costa Rica 95, Colombia y más. La forma común de obtener plantas es a través de semillas o esquejes, los cuales no garantizan cultivos homogéneos que preserven sus características sobresalientes (Escamilla & Díaz, 2018).

El empleo de técnicas biotecnológicas permite propagar cultivos que conserven sus atributos como la embriogénesis somática, un proceso que parte de células somáticas hasta embriones listos para ser germinados. Otra técnica utilizada es la organogénesis, la cual comienza de un órgano preexistente para la formación completa de una planta utilizando reguladores de crecimiento para dirigir la repuesta. Diversos estudios reportan resultados favorables en muchas variedades de importancia en *C. arabica* (Kumar, et al., 2006), no obstante, es necesario buscar el método más eficiente de propagación para cada especie o variedad de café.

2. Antecedentes

2.1. Historia del café

En la antigüedad, los granos de café se molían mezclados con algunas plantas y grasa animal para alimentar a los viajeros, esclavos y comerciantes que se trasladaban de África a la península arábiga. También, los frutos o los granos se fermentaban para obtener un vino o licor popular una bebida popular en los países árabes (Reich, 2010). Además, existen evidencias de que en la provincia de Kaffa, hoy Etiopía, se usaban las hojas y la pulpa del fruto del café para preparar infusiones. Los atributos como estimulante identificado en los granos tostado del café propiciaron la domesticación del cultivo del café provenientes de las montañas altas de Etiopía (ICO, s.f.-b); el café se cultivó primera vez en Yemen donde se atribuye el origen de la bebida de café y se prohibía que los viajeros visitaran los cultivos y se llevaran los granos, al menos que fueran tostados o hervidos, con el paso del tiempo el cultivo se distribuyó hacia países musulmanes y asiáticos (Anthony et al., 2011; Reich, 2010).

En la localidad de Yemen a la bebida del café se le dio el nombre de “*Moka*” haciendo referencia a la ciudad donde se cultivaba (Mocha-Yemen). La bebida “*Moka*” se hizo popular debido a la difusión de su consumo por las autoridades de la localidad, reduciendo con ello el consumo del arbusto “*Kat*”, cuyas hojas y brotes se masticaban para obtener efectos estimulantes (OIC, s.f.-b). La introducción de la palabra café tiene un origen árabe “*Qahwah*” que significa excitante; los turcos lo nombraron “*Kahve*” haciendo referencia al fruto de la planta del café, y finalmente este término se extendió por Europa hasta conocerlo como café hasta el día de hoy (Clifford & Willson, 1985; Smith, 1985).

De acuerdo con el “*Libro del café*”, durante el siglo XVI en el trayecto de los viajeros de la península arábiga a Europa, específicamente en Estambul (Turquía), se encontraron los primeros establecimientos de ventas de la bebida del café. Para el siglo XVII, en El Cairo, ya se consumía y mercadeaba esta bebida, y se establecieron las cafeterías en los países europeos. Con la aparición de la imprenta y de la bombilla las cafeterías tuvieron más realce al ser centros de reuniones

sociales y políticas (Reich, 2010). Actualmente es común encontrar gran variedad de bebidas frías o calientes en todo el mundo a partir de infusiones de granos o mezclas de *C. arabica* y *C. canephora*.

Existen otras especies poco conocidas utilizadas para la preparación de infusiones que se consumen y se producen de manera local en países de África, Indonesia y Filipinas, entre ellas se encuentran las especies *C. liberica*, *C. racemosa*, *C. stenophylla* y *C. humblotiana*. La especie *C. liberica* es originaria de Liberia y es cultivada en África Occidental y en Malasia, a pesar de ser muy aromática en el mercado es poco aceptada por los consumidores (Davis et al., 2020, 2021).

En Sarawak y Borneo se mezclan granos de esta especie con granos de *C. canephora* y en ocasiones los granos son tostados con margarina y azúcar, otras veces a la infusión se le adiciona leche condensada o azúcar. La especie *C. excelsa* presenta muchas similitudes con *C. liberica* y fue identificada a inicio del año 1900 en África, es poco frecuente encontrarla en el mercado a pesar de que sus granos son muy aromáticos (Clifford & Willson, 1985; Herrera & Lambot, 2017). *C. racemosa* es una especie menos conocida, se cultiva en Mozambique y en el norte de Sudáfrica, el contenido de cafeína es menor al que presenta *C. arabica* y se caracteriza por presentar un sabor amargo destacando los sabores a menta y madera (Davis et al., 2021).

La especie *C. stenophylla* es una planta que se encuentra en África Occidental, endémica del Archipiélago de las Comoras, se caracteriza por tener un sabor suave parecido al café Arábica; no obstante, es una especie no rentable debido a que su crecimiento en cultivo es lento por lo que se considera una especie amenazada (Davis et al., 2020). *C. humblotiana* endémica del Archipiélago de las Comoras es una especie diferente a las descritas dentro del género *Coffea*, ya que no produce cafeína, motivo por el cual se le considera un café naturalmente descafeinado (Raharimalala et al., 2021).

2.2. Taxonomía del café

El café pertenece a la familia Rubiaceae, la cual se divide en tres subfamilias: Cinchonoideae, Rubioideae e Ixoroideae; esta última comprende una quinta parte

de los géneros de la familia. La subfamilia Ixoroideae está conformada por 15 tribus, entre ellas la tribu Coffeae DC que se integra por 11 géneros el cual incluye a los géneros *Coffea* y *Psilanthus*, estos presentan similitudes en los granos con características morfológicas similares y solo difieren por la morfología de la flor (Figura 1).

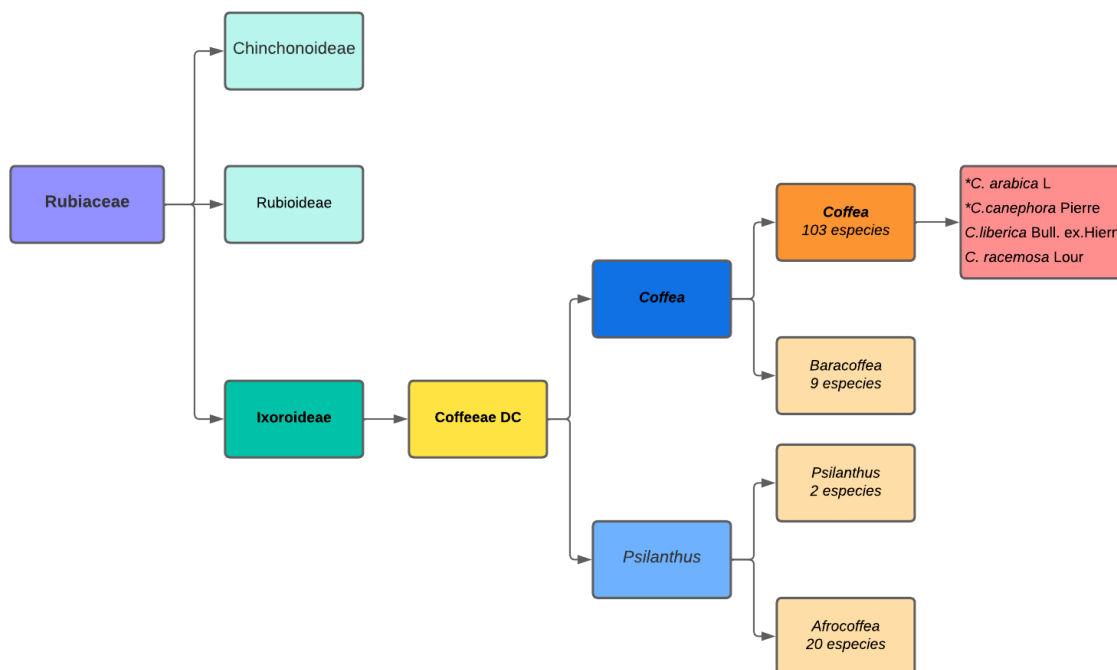


Figura 1. Diagrama de la clasificación taxonómica de las plantas del café
* Especies de *Coffea* más cultivadas en el mundo

Ambos géneros están subdivididos en subgéneros, *Psilanthus* comprende los subgéneros *Psilanthus* con 2 especies y *Afrocoffea* con 20 especies; en tanto que el género *Coffea* comprende los subgéneros *Coffea* del cual se tiene un reporte de 103 especies y *Baracoffea* con 9 especies. En el subgénero *Coffea* destacan las especies de *Coffea arabica* L., *Coffea canephora* Pierre, *C. liberica* Bull. ex. Hiern y *C. racemosa* Lour (Anthony et al., 2011; Davis et al., 2007). La primera especie de café identificada taxonómicamente por Carlos Linneo en 1750 en la República de Yemen fue *C. arabica* L.

2.3. Descripción botánica de las especies más importantes del género *Coffea*

El género *Coffea* se integra por arbustos y árboles de más de 10 metros de altura que presentan un tallo vertical (ortotrópico) con ramas primarias, secundarias y terciarias en forma horizontal (plagiotrópico), con flores blancas y frutos de color rojo o amarillo (Bobadilla Landey, 2013; OIC, s.f.-a).

Coffea arabica (Arábica) es un arbusto que puede alcanzar hasta una altura de 5 m con ramificaciones abiertas (Figura 2). Presenta hojas grandes y ovaladas de color verde oscuro. Esta especie se auto-poliniza, su fruto es ovalado y su maduración se presenta entre los 7 a 9 meses después de su formación, contiene dos semillas aplanadas y en ocasiones puede presentar una sola semilla conocida como caracol (Clifford & Willson, 1985; Lim, 2013a).



Figura 2. Fotografías de *Coffea arabica* tomada en la finca el Encino en Tierra Colorada-Malinaltepec, Guerrero entre los 1,100 msnm.

Coffea canephora (Robusta) es un cafeto de mayor altura que la arábica, puede llegar a medir hasta 10 m y por el tipo de ramificación que presenta le da un aspecto robusto (Figura 3). Sus hojas son grandes y anchas de color verde; el fruto es redondo y toma hasta 11 meses en madurar, por ello, el tiempo de cosecha es tardado, por lo general contiene dos semillas ovoides de tamaño variable pero más pequeño que la Arábica (Clifford & Willson, 1985; Lim, 2013b).



Figura 3. Fotografías de *Coffea canephora* tomada en el Rancho el Molino en Potrero-Zentla, Veracruz entre los 780 msnm.

2.4. Distribución geográfica y cultivo del café en el mundo

El café se cultiva en países ubicados entre el trópico de Cáncer y de Capricornio, con climas cálidos y húmedos de Asia, África y América, formando el conocido cinturón del café (Figura 4) con una amplitud de 4,000 km (Bobadilla, 2013).

La especie Arábica crece entre los 1,200 a 2,000 msnm con climas frescos y ligeramente húmedos entre los 15 y 25 °C. Requiere de suelos ricos en materia orgánica con ligera acidez o alcalinidad y se cultiva principalmente bajo la sombra de los árboles. Existen diversas variedades de esta especie identificadas en las diversas regiones cafetaleras, Típica y Borbón fueron las primeras y de las más

cultivadas hasta la actualidad por las características que éstas presentan (Lim, 2013a; OIC, s.f.).

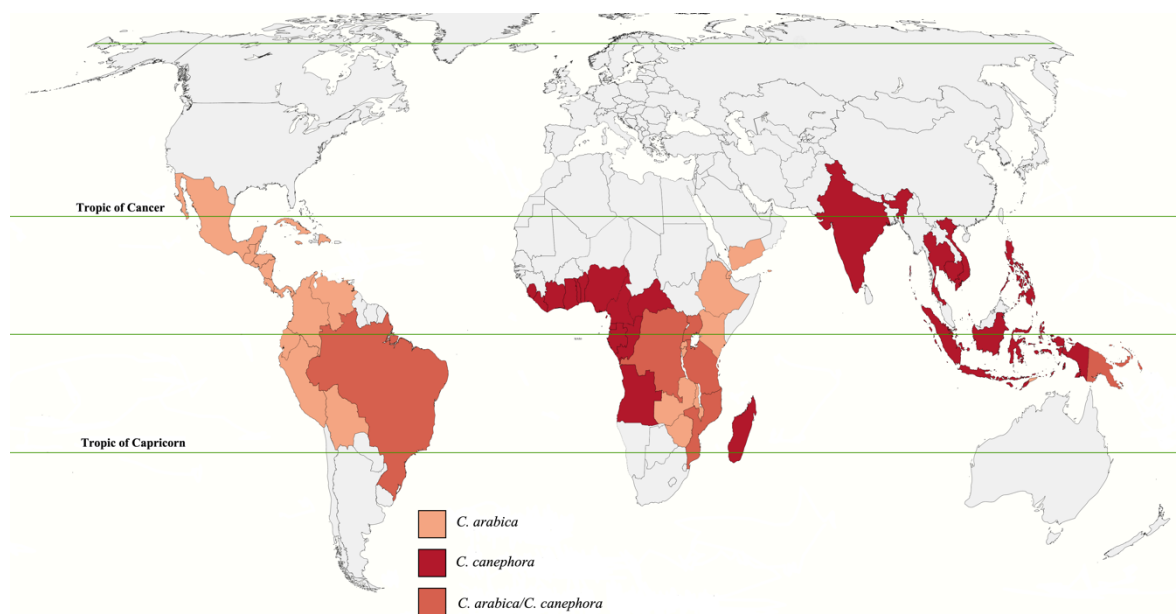


Figura 4. Países productores de las principales especies de café *C. arabica* y *C. canephora* ubicados entre el Trópico de Cáncer y el Trópico de Capricornio.

La especie Robusta, es una planta más resistente al clima y condiciones del suelo, se puede cultivar a partir de los 800 msnm en temperatura entre los 18 y 36 °C, principalmente en campo abierto y se adapta fácilmente a diferentes tipos de suelos, con mayor acidez o alcalinidad (Lim, 2013b; OIC, s.f.). Mientras que *C. liberica*, *C. racemosa*, *C. stenophylla* y *C. humblotia* se pueden encontrar en algunos países de África y de Asia en altitudes menores a los 1,000 msnm para el consumo de manera local (Davis et al., 2020).

2.5. Producción, comercialización y consumo del café

La producción comercial de café se basa principalmente en dos especies *C. arabica* (Arábica) y *C. canephora* (Robusta). La especie Arábica tiene un mayor predominio

en cultivo con un 70% de la producción mundial, debido a su calidad en taza, su bajo contenido de cafeína y fino aroma. El cultivo de la especie Robusta es menor debido a su fuerte sabor y alto contenido de cafeína con respecto a *C. arabica* y se utiliza esencialmente como base para el café instantáneo (Philippe et al., 2009).

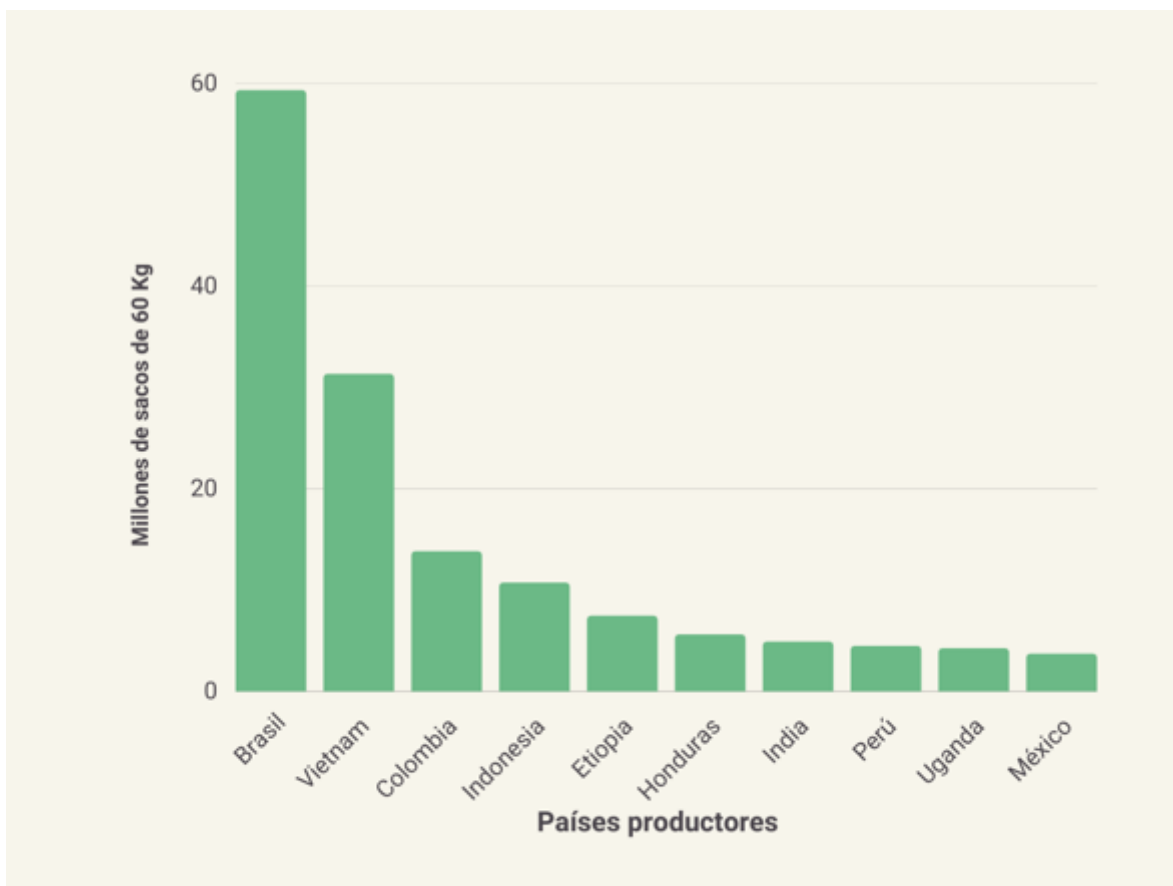


Figura 5. Principales países productores de café en el mundo.

La producción total de café en el 2020 fue de 175.3 millones de sacos de 60 kg (Figura 5), siendo Brasil el principal productor con 59.3, seguido por Vietnam con 31.3, Colombia 13.8, Indonesia 10.7, Etiopía 7.45, Honduras 5.6, India 4.89, Perú 4.45, Uganda 4.25 y México con 3.7 millones de sacos *C. canephora* se cultiva ampliamente en Vietnam, Brasil e Indonesia (OIC, 2021).

El cultivo de *C. arabica* en países latinoamericanos se da principalmente en Colombia, Honduras, Perú y México, estos últimos son reconocidos por su producción de café orgánico y de altura. En México, el 3.33% de la producción total de café es orgánico con una producción de 28,000 toneladas (t) se exportan principalmente a los Estados Unidos, Unión Europea y Japón (CEDRSSA., 2018).

Para el ciclo 2022-2023, con base a los reportes del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, siglas en inglés), los países importaron granos de café verdes principalmente, seguido del tostado y soluble (en una pequeña proporción) fueron los que conforman la Unión Europea con un 30% de la producción total, seguido de Estados Unidos con el 19% y Japón con un 5%, mientras que los principales consumidores de la bebida del café son la Unión Europea, Estados Unidos y Brasil.

2.6. Producción de café en México

En México, el café se cultiva en 4 regiones principales (Figura 6): 1) La vertiente del Golfo de México que comprende los Estados de San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Veracruz, parte del Estado de Oaxaca y de Tabasco; 2) la vertiente del Océano Pacífico integrada por Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit y parte de Oaxaca; 3) la Región Soconusco que alberga parte del Estado de Chiapas y 4) la Región Centro Norte de Chiapas (Flores Vichi, 2015).

Para la producción de café se ha reportado la participación de 500 mil productores que se distribuyen en 15 entidades federativas y 480 municipios con la participación de familias completas desde hombres, mujeres y niños. En su mayoría, estas familias pertenecen a comunidades indígenas (85%) dedicados a la producción de café de especialidad cuyo cultivo no excede las 3 hectáreas (ha) (Contreras-Medina et al., 2020; Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural [SADER], 2018).

Los estados de Chiapas, Veracruz, Puebla, Oaxaca y Guerrero producen más del 80% de la producción nacional, Chiapas contribuye con el 41% de la producción total. Estos estados comparten características similares de altura, suelo y clima óptimas para el cultivo de cafetos que permite obtener café de calidad (SIAP, 2021).



Figura 6. Estados productores de café en las diferentes vertientes de México

De acuerdo con la Alianza Estratégica para el Desarrollo de la Región Pacífico Sur (ADESUR) y con base al censo agropecuario en tierras donde se cultiva el café a nivel nacional, el 33% se encuentra en bosque de conífera, el 21% en bosque mesófilo de montaña, el 14% en selva perennifolia, el 9% en bosque de encino, el 7% en selva baja caducifolia y el 6% en selva mediana caducifolia. Una de las principales características que tiene el cultivo del café en México, es que se pueden encontrar inmersos en selvas altas, medianas y bajas, en bosques mesófilos y en bosques de pino-encino a lo que se denomina o conoce como cultivo bajo sombra.

El Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) reporta que la producción nacional se basa en café Arábica en un 85% y del café Robusta en menor proporción. El 35% de los cultivos se encuentran en altitudes mayores a los 900 msnm, el cual es considerado como un café de altura, el resto de los cultivos se distribuyen entre 600-900 msnm (Otero & Elms, 2021). En el 2020 se registró una producción total de 953,682.90 t de café, siendo el Estado de Chiapas el

principal productor con 378,000 t, seguido de Veracruz (235,000 t), Puebla (160,000 t), Oaxaca (86,000 t) y Guerrero (38,000 t) (SIAP, s.f.).

La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER) reporta una producción de 28 mil t de café orgánico (3% de la producción total) con una participación del 8% de los productores del padrón nacional en su mayoría por personas indígenas, donde Chiapas, Oaxaca y Guerrero son los principales productores de este café, el cual busca preservar la flora y la fauna de las zonas de cultivo (Flores-Anaya et al., 2022). En México, los productores de café se han organizado en cooperativas para buscar certificaciones como USDA Organic, Fair Trade, Shade Grown, Rainforest Alliance, Small Producer, que les permite ingresar a nuevos mercados y ofertar sus productos. Se tiene un registro de 600 cooperativas, 400 de ellas en el estado de Chiapas, que obtienen financiamientos de bancos gubernamentales, bancos privados y apoyo técnico de instituciones gubernamentales (Otero & Elms, 2021).

De la producción total de café mexicano más del 70% es para exportación y el resto para venta nacional. El café mexicano se exporta como café verde (85%), café soluble (12%) y café tostado (3%), el 53.9% se destina a Estados Unidos y el resto a la Unión Europea, Japón, Cuba y Canadá (CEDRSSA, 2019).

En el estado de Guerrero la producción de café se distribuye en cuatro zonas, donde las zonas de Costa Grande en los municipios de Atoyac de Álvarez, Coyuca de Benítez y Técpan de Galeana, seguido de la zona de la Montaña en los municipios de Malinaltepec e Iliatenco, y Costa Chica en San Luis Acatlán y Ayutla de los Libres; en estas tres zonas se produce el 80% de la producción estatal con un registró de 45,000 ha de plantación y una producción anual promedio de 39 mil t con un valor de 280 millones de pesos aproximadamente (SIAP, s.f.).

En la Región de la Montaña el café se cultiva bajo sombra por personas de los grupos étnicos Mixtecos y Tlapaneco, la producción se da en forma de policultivo incorporado cultivos de frijol, calabaza, chile, maíz y árboles frutales de guanábana, aguacate, árboles maderables y plátano (Tablas et al., 2021).

Las variedades Típica, Borbón, Mundo Novo, Caturra y Gárnica de *C. arabica* son aún cultivadas pero están siendo sustituidas por variedades híbridas como

Colombia, Costa Rica, Oro Azteca y Sarchimor, plantas que son resistentes a la roya anaranjada, con mayor producción y densidad de cultivo esto por las nuevas demandas o requerimientos de los productores, es importante tener que las variedades comúnmente cultivadas pueden llevar a estar en peligro extinción (Hidalgo-Espinosa, 2020).

2.7. Características de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca

Las variedades Típica y Borbón han sido las de elección en el mercado debido a las propiedades organolépticas y de calidad en taza de su café, a pesar del bajo rendimiento y ser susceptibles a plagas. Por ello, se han buscado variedades con características sobresalientes como la variedad Oro Azteca como alternativa ante las demandas del café (Tabla 1).

Tabla 1. Principales características y atributos del café de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca.

Características	Típica	Borbón	Oro Azteca
Porte	Alto	Alto	Bajo
Tamaño de los granos	Grande	Medio	Medio
Rendimiento	Bajo	Medio	Alta
Calidad en taza	Muy bueno	Muy bueno	Bueno
Altura de cultivo	Alta: >1600m	Alta: >1600m	Medio: < 1600m
Resistencia a la roya	Susceptible	Susceptible	Resistente

Típica es una de las variedades por excelencia cultivada principalmente en América central, su grano es más grande y alargado suele presentar acidez limpia y nota dulces, con tuestes claros resalta la calidad en taza y sabores. La variedad Borbón también cultivada principalmente en América Latina, suele presentar un buen dulzor encontrando aromas/sabores afrutados y acaramelados, en los diferentes tostados puede conservar sus sabores dulces y complejos. La variedad Oro Azteca proviene del cruce del híbrido de Timor 832/1 y Caturra generada por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) destaca por su alta producción y resistencia ante la roya anaranjada, se caracteriza por presentar notas

a caramelo y chocolate y en los granos tostados puede presentar una baja acidez en ocasiones amargos (World Coffee Research, s.f.).

En México, el procesamiento de los frutos del café se realiza principalmente por la vía húmeda (90%, también conocido como cafés lavados). Particularmente Guerrero, el café natural se obtiene por la vía seca que destaca por ser un método más simple y sin uso de maquinarias, las cerezas maduras son recolectadas y se secan bajo sol durante 15 a 20 días hasta obtener el café capulín o cereza (café con cáscara) (Hidalgo-Espinosa, 2020).

De la producción registrada por las Cooperativas, el 60% del café capulín o granos son vendidos a granel a intermediarios como la ARIC (Asociación Rural de Interés Colectivo R.L. y C.V.), CAFECO Agroindustrial del Pacífico S.A. de C.V. y a la Unión de Ejidos y Comunidades Luz de La Montaña, A. C., que son comercializados a la empresa de Nescafé-Nestlé. Tan sólo una pequeña parte del café es exportado a Europa por la Red de Agricultores Sustentables Autogestionado S.C (RASA). El resto del café, aproximadamente el 30% es destinado a la venta para cafeterías destacando a Starbucks como principal comprador, tiendas de autoservicios y de conveniencias (Oxxo, 7 Eleven, entre otros), y para el autoconsumo o venta en la localidad con un procesamiento conocido como café artesanal (ADESUR, 2018; Delgado-Alvarado, 2018).

2.8. Preparación y consumo del café

El consumo del café es principalmente mediante infusiones que se realizan a partir de los granos tostados y en las bebidas se perciben una serie de aromas y sabores característicos de cada especie. La ingesta de la bebida del café se da principalmente en Estados Unidos y Europa, donde los países nórdicos son los principales consumidores. En México, prevalece el consumo de café soluble debido a la practicidad que éste representa (USDA, 2021).

Existen diversas formas de preparación y dependiendo del país algunas son más comunes. En la preparación del café intervienen varios factores, como el agua, proporción de café y tamaño de la partícula del café, el tiempo, la temperatura de interacción agua-café y el empleo de presión (Tabla 2).

Tabla 2. Métodos de preparación de bebidas de café más comunes en el mundo.

Método de extracción	Sistema	Tipo de grano	Tiempo (min)
Decocción	Turco	Fino	5 – 10
Decocción	De Olla	Grueso	5 -10
Infusión	De goteo	Medio	5
Inmersión	Prensa Francesa	Grueso	2 - 5
Presión	Italiano	Fino	5 – 10
Presión	Express	Fino	25 – 30 seg

Dentro de las formas más comunes en la preparación de las bebidas del café se encuentran el café Turco (Figura 7), una de las preparaciones más antiguas que emplea un jarra de cobre o latón con mango, al recipiente con agua en ebullición se le añade café finamente molido y se mantiene a fuego por un cierto tiempo; la bebida produce una capa espumosa y los granos se sedimentan, principalmente se emplea en casa (Mestdagh et al., 2017).

En México, existe una bebida típica común de encontrarse en cocinas económicas o fondas al cual se denominado café de olla. Este café se prepara utilizando un recipiente de barro o de peltre, se agrega al agua el café de grano grueso, piloncillo y canela, en ocasiones se le puede añadir condimentos o cáscaras de naranjas, y los ingredientes se hierven durante 10 minutos (Valencia, 2021).

El método de filtración por goteo o percolación se realiza en cafetera tipo eléctrico o manual, para ello, se utiliza un grano medio puesto en filtro de papel dentro del recipiente ubicado en el segmento superior a través del cual pasa agua caliente y la bebida filtrada se colecta en una jarra de vidrio. La bebida más común es el café americano que se puede encontrar en restaurantes y comercios de autoservicios (Caprioli et al., 2015).

En las preparaciones por inmersión total o Prensa Francesa se emplea un tipo de grano grueso colocado el fondo del recipiente el grano se mezcla con agua en ebullición y se deja reposar de 2 a 5 minutos para infundir; después de ese tiempo, se procede a ejercer presión sobre el émbolo en el extremo superior del recipiente

el cual está unido a un filtro metálico y se procede a servir. Este tipo de café principalmente es consumido en casa (Stanek et al., 2021).



Figura 7. Preparaciones de bebidas de café más comunes en el mundo a) café Turco, b) café de olla, c) café por percolación eléctrica, d) café por percolación de forma manual, e) café por prensa Francesa, f) café expreso, g) café por prensa Italiana y h) café soluble. Nota. Retomado de https://www.freepik.es/foto-gratis/aparatos-elaboracion-cafe-camarero-masculino-que-prepara-cafe-pouron-barra_8225449.htm <https://www.nescafe.com/cam/cuantas-formas-de-preparar-el-cafe-existen>; <https://eldiariony.com/2022/10/15/cortadito-cafe-de-olla-cafe-bombon-seis-maneras-de-preparar-cafe/>; <https://www.nescafe.com/mx/nescafe-clasico>

Preparaciones por presión, para obtener el café expreso se emplea un tipo de grano molido fino compacto en forma de pastilla y se le aplica agua caliente (150 mL) a presión por 25 a 30 segundos. Es una bebida muy fuerte y es una de las más consumidas después del café americano. (Mestdagh et al., 2017). Otro método que emplea una técnica presurizada es el café italiano o moka expreso. En este proceso se utiliza una cafetera con un sistema cerrado dividido en 3 secciones, el café es colocado en el segmento de en medio sobre un filtro metálico del recipiente, el agua es colocada en la primera sección y la cafetera es expuesta al fuego; cuando el agua alcanza la ebullición pasa por el filtro, la bebida se condensa y se acumula en el compartimento superior de la cafetera (Caprioli et al., 2015).

El café soluble se obtiene por el proceso de infusión y la bebida obtenida se seca y pulveriza por diferentes métodos. Un proceso es la aspersion de la bebida aplicando aire caliente para evaporar el agua y obtener un polvo fino de café; otro método es el liofilizado de la infusión congelada a -40 °C, someterse al vacío para evaporar el agua y obtener cristales secos de café. El café soluble es uno de las más consumidos debido a su practicidad, ya que solo se necesita agua caliente para hidratar nuevamente el café y obtener la bebida (Caprioli et al., 2015; Mestdagh et al., 2017).

2.9. Composición bioquímica del café

Coffea arabica es la principal especie de café cuya composición química ha sido estudiada ampliamente seguida de *C. canephora*. Los componentes químicos principales de los granos verdes son carbohidratos, lípidos proteínas, minerales, agua, compuestos fenólicos, alcaloides y melanoidinas, cuyo contenido varía dependiendo de la especie (Tabla 3).

Los carbohidratos son los compuestos más abundantes en los granos verdes de ambas especies, encontrando azúcares solubles (40 – 65%) como la sacarosa, glucosa, fructosa, galactosa, arabinosa y azúcares no solubles como la hemicelulosa y la celulosa. Las proteínas se encuentran principalmente en frutos maduros (11 – 15%) o con tostado prolongado, y aminoácidos libres (1%). Los lípidos se encuentran en forma de ceras y triglicéridos (12 – 18 %). En las cenizas

se pueden encontrar minerales y aquellos elementos que se obtienen por el proceso de calcinación (3 - 5.4%). En tanto que, el contenido de agua debe ser entre 8 – 12% con el fin de conservar las propiedades sensoriales, organolépticas y evitar el crecimiento de microorganismos (Poisson et al., 2017).

Tabla 3. Componentes químicos de los granos verdes de café Arábica y Robusta

Composición química	Arábica (%)	Robusta (%)
Carbohidratos	45 – 55	40 – 65
Proteína	8.5 – 15	8.5 – 15
Lípidos	15 – 18	12 - 18
Humedad	8 - 12	8 - 12
Cenizas (minerales)	3 – 5.4	3 – 5.4
Ácidos clorogénicos	6.7 – 9.2	7.1 – 12.1
Cafeína	0.8 – 1.4	1.7 – 4
Trigonelina	0.6 – 1.2	0.3 – 0.9
*Melanoidinas	17 – 25	17 – 25

Adaptado de Poisson et al., 2017.

*Presentes en café tostado

Entre los compuestos fenólicos se encuentran los isómeros del ácido clorogénico (ACGs), ácidos cafeico, ferúlico y cinámico, epicatequina y catequina, procianidinas, antocianinas, mangiferina, taninos y lignanos en cantidades muy pequeñas (Figura 8). Los alcaloides predominantes son la cafeína y la trigonelina (Hutachok et al., 2020; Khochapong et al., 2021; Ontawong et al., 2019).

El ACG y la cafeína destacan como principales componentes químicos dentro del género *Coffea*. Los ácidos clorogénicos se forman por esterificación de los ácidos *trans*-cinámicos (ácido cafeico o ácido ferúlico) con el ácido quínico, del cual se forman las subclases de ácidos cafeoilquínicos (ACQ), feruloilquínicos (AFQ) y dicafeoilquínicos (diACQ) (Babova et al., 2016).

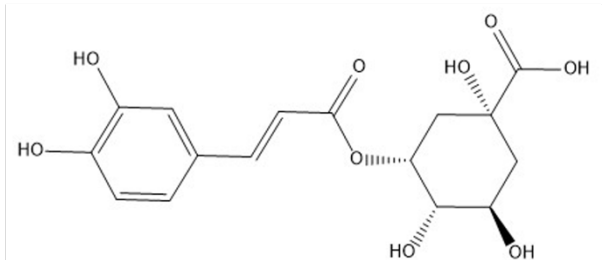
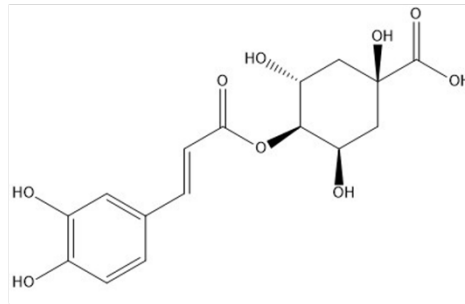
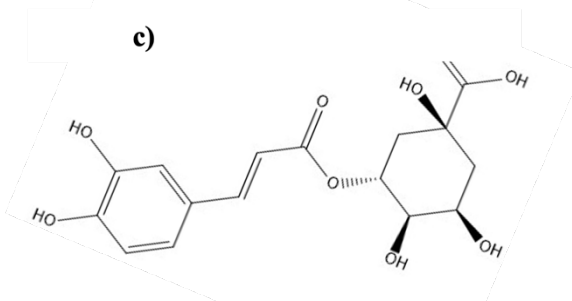
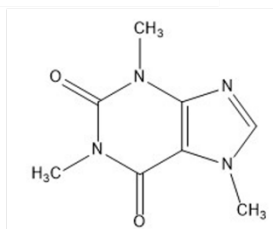
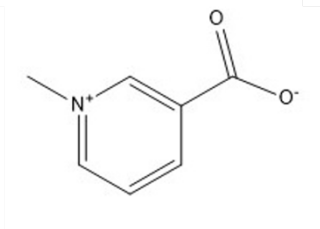
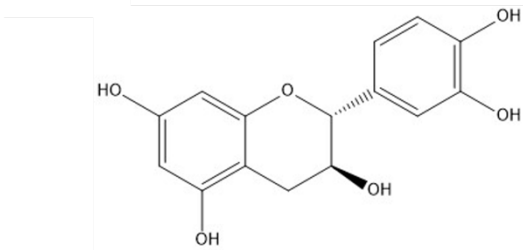
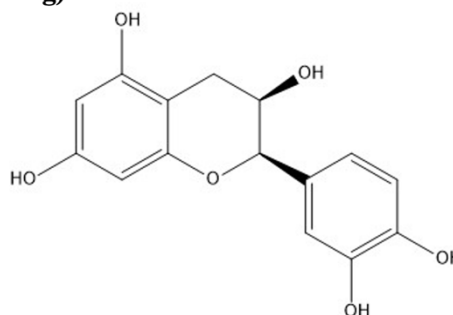
a)**b)****c)****d)****e)****f)****g)**

Figura 8. Estructura química de los principales compuestos químicos identificados en las especies de *Coffea arabica* y *Coffea canephora*, a) ácido 3-O-cafeoilquínico, b) ácido 4-O-cafeoilquínico, c) ácido 5-O-cafeoilquínico, d) cafeína, e) trigonelina, f) catequina y g) epicatequina.

Se han identificado 3 ácidos clorogénicos como constituyentes principales de los granos de café; el ácido 3-O-cafeoilquínico (3-O-ACQ), 4-O-cafeoilquínico (4-O-ACQ) y el 5-O-cafeoilquínico (5-O-ACQ). El CGA que predomina es el 5-O-ACQ con

un 77% del contenido total, el 4-O-ACQ en un 13% y el 3-ACQ en un 10% (Jeszka-Skowron et al., 2016).

El contenido de ACG varía entre el 6 – 12 % del peso seco del grano verde, este compuesto le atribuye astringencia y acidez a la bebida (Farah & Donangelo, 2006; Górnas et al., 2016; Mengistu et al., 2020). Los alcaloides contribuyen al amargor y el aroma en taza, la trigonelina puede encontrarse entre el 0.39 – 1.77 %, mientras que la cafeína entre el 0.8 – 4 %, el mayor contenido de cafeína se ha reportado en los granos de *C. canephora* (Hutachok et al., 2020; Mengistu et al., 2020).

2.10. Compuestos generados por el tostado de los granos

Para el tostado de los granos se suele emplear temperaturas entre los 200 a 250 °C durante 5 a 20 minutos, temperaturas que estimulan la reacción de Maillard, degradación de Strecker, pirolisis y caramelización. El cambio del color de los granos durante el tostado es un indicador del grado del tostado pasando de un color azul-verdoso, amarillo, naranja, marrón y negro.

Muchos ácidos son degradados en esta etapa pero también se forman compuestos de alto peso molecular. La reacción de Maillard es una reacción no enzimática entre el grupo amino de los aminoácidos libres como la asparagina, ácido glutámico y aspártico con el grupo carbonilo de los azúcares reductores como la glucosa y la fructosa, dando origen a compuestos como las melanoidinas y las acrilamidas (Endeshaw & Belay, 2020; Várady et al., 2021).

Las melanoidinas dan el pigmento marrón a los granos, y otorgan el sabor y el color a la bebida; además, a estos compuestos se le atribuye actividad antioxidante que se potencia por la unión a su estructura de compuestos fenólicos simples como el ácido cafeico, el ferúlico o el ácido clorogénico. Las acrilamidas son pequeños compuesto considerados contaminantes tóxicos catalogados como cancerígeno o genotóxico. De acuerdo con la Unión Europa el contenido máximo de acrilamida para el café tostado es de 400 µg/kg y para el café soluble de 800 µg/kg (Castaldo et al., 2020; Várady et al., 2021).

El procesamiento de los granos está relacionado con la temperatura y el tiempo de tostado. Durante el tostado la trigonelina se puede degradar en un 90% formando principalmente niacina, piridinas y pirroles; y el ACG puede isomerizarse, hidrolizarse o degradarse en compuestos de bajo peso molecular (Farah & Donangelo, 2006).

2.11. Actividades biológicas del café

De forma natural, los compuestos fenólicos en las hojas de *Coffea* participan durante las etapas fenológicas y el crecimiento de las plantas, actúan en el mecanismo de defensa contra factores externos como la resistencia a la infección por patógenos o plagas (Segheto et al., 2018).

Las principales actividades biológicas reportadas para las infusiones de café son antioxidantes, antiinflamatoria, antidiabética, antibacteriana, anticancerígena (Tabla 4), entre otras (Jeszka-Skowron et al., 2016; Khochapong et al., 2021).

Tabla 4. Actividad biológica de los principales compuestos del café.

Compuesto	Actividad biológica	Referencia
Ácido clorogénico	Actividad antioxidante, regulador del metabolismo, efecto antiinflamatorio y anticancerígeno	(Bhandarkar et al., 2019; Stefanello et al., 2019; Vázquez-Sánchez et al., 2018)
Cafeína	Estimulante del SNC, ayuda en el metabolismo de los lípidos y la glucosa, actividad antioxidante	(Ludwig et al., 2014; Nuhu, 2014)
Melanoidinas	Actividad antioxidante, también es empleado como fibra dietética	(Rufián-Henares & Pastoriza, 2015)
Trigonelina	Anticancerígeno y antihiper glucemiante	(Nuhu, 2014)
Catequina y epicatequina	Actividad antioxidante, actividad antimicrobiana	(Li et al., 2022)

El estrés oxidante es un desencadenante de enfermedades crónico-degenerativas como diabetes, cáncer, envejecimiento, enfermedades inflamatorias y enfermedades cardiovasculares (Nemzer et al., 2021). La actividad antioxidante del café se ha reportado empleando técnicas *in vitro* como DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo), ABTS (Acido2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) y FRAP (ensayo de poder antioxidante reductor de iones férricos), efecto atribuido principalmente a los compuestos fenólicos como el CGA, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido cinámico en otros (Hutachok et al., 2020; Nemzer et al., 2021).

El café también ha mostrado efecto sobre el metabolismo de los carbohidratos como anti-hiperglucemiante, determinado a través de la actividad inhibitoria de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa (Nemzer et al., 2021; Vázquez-Sánchez et al., 2018). Asimismo, la regulación de la glucosa mediada por el ACG a través de la inhibición de la actividad de la enzima glucosa-6-fosfatasa para reducir la producción de glucosa en el hígado; otra vía de regulación es la disminución de la expresión de los transportadores de glucosa dependientes de sodio para reducir su absorción en el intestino delgado (Bhandarkar et al., 2019).

El café presenta efecto apoptótico al disminuir los marcadores pro-apoptóticos Bax y caspasa-3, así como la sobre expresión de la proteína anti-apoptótica determinado en modelos de ratas. Por otro lado, se ha reportado mejora en la función y sobrevivencia neuronal asociada a la reducción del estrés oxidante, midiendo niveles de NO como un marcador de neuropatía y de malondialdehído marcador de lipoperoxidación; mostrando un incremento en los niveles de las enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa (SOD) y un efecto antiinflamatorio al reducir los niveles de las citocinas pro-inflamatorias como el factor nuclear kappa B (NF- κ B) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (Rizk et al., 2021).

2.12. El ácido clorogénico y la cafeína como principales componentes del café

En el consumo de una taza de café de 200 mL se pueden ingerir entre 70 – 350 mg de ACG, relacionado con la especie, la forma de extracción y el nivel de tostado. En

la ingesta de este compuesto, un 30% se absorbe en el intestino delgado, el restante llega al colon donde puede ser hidrolizado por la microflora intestinal para obtener ácido cafeico y ácido quínico (Godos et al., 2014).

Los ACGs son considerados fuertes secuestradores de $\cdot\text{OH}$ y $\text{O}_2\cdot^-$. En pruebas *in vivo* se ha determinado la actividad antioxidante a través de las enzimas de regulación contra el daño oxidativo como el superóxido dismutasa (SOD) y la GSH reductasa (Al-Megrin et al., 2020; Choi et al., 2018; Kwak et al., 2018; Nemzer et al., 2021).

En padecimientos de síndrome metabólico el ACG ha mostrado efectos benéficos sobre el metabolismo de la glucosa y de lípidos. En el caso de los lípidos, redujo los niveles séricos y hepáticos de colesterol y triglicéridos, inhibió la actividad de la enzima lipasa pancreática, y con ello la absorción de grasas y activó el metabolismo de las grasas en el hígado (Sarriá et al., 2018).

El efecto de la inhibición de las enzimas α -glucosidasa y α -amilasas, y de la glucosa-6-fostato por el ACG ha reducido la absorción de glucosa en el intestino delgado y la regulación de la glucosa en sangre, así como la degradación del glucógeno, siendo un agente potencial para el tratamiento de la diabetes (Boonphang et al., 2021). En el músculo esquelético es un importante activador de la vía de proteína cinasa activada por AMP (AMPK) al aumentar la expresión génica de los transportadores de glucosa (GLUT-4) y por ende reducción de los niveles de glucosa en sangre (Bhandarkar et al., 2019; Hu et al., 2019; Naveed et al., 2018).

La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) es un alcaloide heterocíclico que tiene una base de purina conocido como xantina. La cafeína ejerce varios efectos fisiológicos en el humano, la mayoría de ellos asociados con las funciones del sistema nervioso central (Jung et al., 2021). La cafeína actúa como un antagonista de los receptores de adenosina en el cerebro, relacionado con su función más conocida como neuromodulador que potencia el gasto energético (Hu et al., 2019).

La cafeína también tiene propiedades antioxidantes al favorecer el aumento de los niveles de glutatión reducido (GSH); a su capacidad para eliminar las especies reactivas de oxígeno (ROS), particularmente el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), siendo su

principal blanco los receptores de adenosina involucrados en la regulación de la producción de los ROS (Stefanello et al., 2019).

En granos verdes de *C. arabica* el contenido de cafeína puede encontrarse en 1.45% y en la especie *C. canephora* se ha reportado hasta en un 2.38 % de su contenido (Babova et al., 2016). De las bebidas más consumidas se encuentra la infusión por goteo donde en una taza de café Arábica (150 mL) se puede encontrar entre 80 -120 mg de cafeína, en café expreso el contenido puede oscilar entre 50-100 mg (Pietsch, 2017). Estudios han evidenciado que el consumo de 400 mg de cafeína al día es benéfico para la salud al reducir el riesgo de padecer Parkinson, Alzheimer y Diabetes mellitus tipo 2 (Awwad et al., 2021).

2.13. Generación de variedades híbridas de *C. arabica*

De las especies *C. canephora* y *C. liberica* se han buscado caracteres relevantes e identificación de los genes portadores utilizados en procesos de hibridación inter-específica. Con este procedimiento se cruzan dos individuos del mismo género para otorgarle beneficios a los cultivos, ejemplo de ello son los híbridos de *C. arabica* con resistencia a *Hemileia vastatrix*, la broca del café (*Hypothenemus hampei*) y al minador de la hoja (*Leucoptera coffeella*), principales plagas que afectan a los cultivos de café (Anthony et al., 2011; Davis et al., 2007).

El híbrido más conocido es el Timor que surgió de manera natural entre la cruce de *C. arabica* y *C. canephora*, esta variedad presenta resistencia ante la roya. Las variedades Típicas y Borbón son mutantes naturales identificadas en Etiopía y la Isla Reunión, han servido de base genética para la generación de otras variedades como Mundo Novo (Brasil), Tico (América Central), San Ramón enano (Costa Rica), Jamaica Blue Mountain (Jamaica) y Caturra (ICO, s.f.-a).

Las variedades Arabusta e Icatu se han obtenido de las cruces de *C. arabica*, quien le aporta los atributos de calidad y *C. canephora* la resistencia a plagas. Se han reportado cruces de *C. racemosa* con variedades arábicas generando individuos como el híbrido *Aramosa*, con resistencia a *L. coffeella*, resistencia a sequías y bajo contenido de cafeína. Así mismo, se han obtenido híbridos como el Congusta

cultivado en Indonesia originado entre la cruce de *C. canephora* y *C. congensis* con tolerancia a sequías (Barrera, 2017; Davis et al., 2021).

Las especies *C. liberica* y *C. excelsa* expresan mayor resistencia ante *H. hampei* (broca del café) debido a que sus frutos presentan un pericarpio más grueso y obstaculiza el ingreso del microorganismo. Aunque no se han reportado especies híbridas en el mercado con resistencia a este insecto, estas especies de café pueden ser una alternativa para la demanda de los agricultores (Barrera, 2017).

2.14. Propagación del género *Coffea*

2.14.1. Propagación vegetativa

Las variedades tradicionales de *C. arabica* en América Latina se propagan principalmente por semilla o por esquejes con un alto costo debido a la mano de obra requerida y otras dificultades como baja tasa de enraizamiento o rápida pérdida de la viabilidad. Estas variedades suelen tener una base genética muy estrecha, ya que se derivan de selecciones genealógicas basadas en muy pocos individuos (Bertrand *et al.* 2005).

Los Híbridos F1 se desarrollaron en América Central por cruces de otras especies presenta resistencia a la roya de café, requiere la propagación o multiplicación empleando las técnicas de cultivo *in vitro* o de tejidos vegetales, un método que a pesar de tener varios años de aplicación aún los pequeños productores desconocen de sus ventajas (Escamilla & Díaz, 2018). Existen diversos métodos de propagación *in vitro* para el cultivo de plantas de interés comercial, se ha reportado el uso de diferentes tipos de tejido en diversas especies de café, tales como el uso de células somáticas para la generación de embriones, los cultivos de meristemas y de yemas apicales o axilares, y la inducción de brotes adventicios (Kumar et al., 2006).

Se considera que el cultivo de nuevas variedades mejoradas de café en las regiones y estados es un indicador de la adopción tecnológica que ha tenido una representación importante en campo, el proceso de expansión de estas no sigue un patrón uniforme, hay preferencias y alta dominancia de algunas variedades por otras (Asociación Mexicana de la Cadena Productiva del Café [AMECAFE], 2011).

Con la aparición de la roya del café se comprobó que todas las variedades comerciales cultivadas en América son susceptibles a este patógeno. La resistencia genética es la principal forma de control de dicha enfermedad. Esta resistencia ha sido transferida a variedades comerciales a través del cruce natural de las variedades comerciales susceptibles con el Híbrido de Timor que posee los genes de resistencia genética a la roya. De estas cruces se generaron variedades resistentes a roya de gran interés como la Costa Rica 95, los Sarchimores, la variedad Colombia y la Oro Azteca que pueden ser cultivadas en el campo mexicano (Ovando Cruz et al., 2017).

2.14.2. Propagación *in vitro*

El cultivo *in vitro* tiene relevancia en la propagación de cultivos de importancia agroeconómica, en peligro de extinción y en la producción de plantas transgénicas. Sin embargo, es necesario buscar métodos más eficientes de propagación para cada genotipo de café (Etienne et al., 2006).

La embriogénesis somática es un proceso ampliamente conocido en la micropropagación del café, en el que se parte de células somáticas (generalmente de hojas) para la generación de cientos de embriones somáticos hasta convertirse en plantas completas. Existen diversos reportes de propagación por esta vía para café Robusta y diversas variedades de Árabica como Típica, Caturra Rojo, Colombia, entre otros, mostrando buenos resultados en la obtención de plántulas. Con el aumento de la demanda en la producción se han implementado los Sistemas de Inmersión Temporal, con medios de cultivos líquidos para la generación masiva de embriones de manera automatizada hasta llegar a la etapa de enraizamiento en tiempos relativamente cortos (Aguilar et al., 2018).

Empleando la embriogénesis somática se puede lograr obtener grandes cantidades de plantas ventaja que presenta con otras técnicas, pero en ocasiones los clones pueden presentar variaciones en su genotipo y fenotipo con respecto a la planta madre a este fenómeno se le conoce como variación somaclonal, esto puede deberse a la prolongada división celular, condiciones de estrés y exposición a reguladores de crecimiento, con diversos estudios se ha mostrado que se relaciona directamente con el tipo de genotipo, tipo de explante, edad del cultivo, tipo y

concentración de los reguladores de crecimiento (Bobadilla, 2013; Campos et al., 2017).

Otra técnica empleada es la brotación múltiple a partir de meristemas apicales, yemas apicales o axilares así como de nodos; los explante son cultivados *in vitro* cuando los brotes alcanza una cierta longitud son individualizados para su enraizamiento y posterior aclimatización. Esta técnica es conocida como organogénesis directa y se ha empleado en diversas variedades de *C. arabica* como una opción de la propagación del café.

En trabajos realizados mediante en esta técnica, se ha probado el uso de citocininas para la etapa de multiplicación de brotes como la 6-benciladenina, benciladenina (6-BA) en concentraciones altas que pueden oscilar entre 2.0 a 10 mg/L, en ocasiones se suele combinar con bajas concentraciones de alguna auxinas (Tabla 5); en tanto que en la etapa de enraizamiento se suele emplear ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB) o ácido naftalacético (ANA) de 1.0 a 3.0 mg/L, en las variedades de Oudayni, Hammady, Dawaeiry entre otras (AL-Azab et al., 2015; Shatnawi et al., 2007).

Tabla 5. Brotación múltiple en diferentes variedades de *C. arabica* y *C. canephora*.

Especie/Variedad	Explante	Tratamientos	Referencia
<i>C. arabica</i> /Mundo Novo	Nodos	10 mg/L de 6-BA*	(Da Silva et al., 2005)
<i>C. arabica</i> / Oudayni, Hammady y Dawaeiry	Nodos	8.0 mg/L BAP	(Shatnawi et al., 2007)
<i>C. canephora</i>	Nodos	2.0 mg/L BAP/ 0.5 mg/L AIA	(Sridevi et al., 2010)
<i>C. arabica</i> /Benan, Burai, Odayni y Odayni-Bayat	Yemas axilares	8.0 mg/L BAP	(AL-Azab et al., 2015)
Variedades de <i>C. arabica</i>	Nodos	2.0 mg/L TDZ/ 0.5 mg/L ANA	(Ortega Ortega, 2019)

*6-BA = benciladenina; ANA = ácido naftalacético; AIA = ácido indolacético; BAP = bencilaminopurina; TDZ = thidiazuron.

Los cultivos que se obtienen por la vía de la organogénesis son menos propensos a presentar variación somaclonal, por lo que esta técnica puede ser una alternativa para la producción de plantas que permitan preservar sus características, además es una técnica menos compleja comparada a la embriogénesis (Da Silva Ramos & Silva De Almeida, 2005).

3. Planteamiento del problema

El café es la principal bebida comercializada y de alto consumo a nivel mundial debido a su efecto estimulante conferido por la presencia de cafeína. La producción comercial de café se basa principalmente en cosecha de la especie *C. arabica*, debido a sus propiedades como bajo contenido de cafeína y fino aroma.

Entre los países de América, México destaca como 10º productor de café con condiciones de altura, suelo y clima, óptimas para el cultivo de cafetos. El Estado de Guerrero, específicamente en la región de la Montaña, se destaca por la producción de café orgánico y de calidad por vía seca procesado de forma artesanal. Los productores se han organizado en Cooperativas con el propósito de darle un valor agregado a los granos de café comercializados. La Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña, con la cual se colabora, busca alternativas de mercadeo a nivel nacional de granos de café tostado y molido. Por lo tanto, es necesario garantizar la calidad de los productos de esta cooperativa incluyendo los parámetros estipulados en las normas mexicanas, NMX-F-013-SCFI-2010 y PROY-NOM-255-SE-2021, para su comercialización, así como el análisis químico-biológico de los granos relacionado con los efectos benéficos atribuidos a la bebida del café.

Por otra parte, las Cooperativas se enfrentan a dificultades como la renovación continua de los plantíos de café debido a la reducción en la producción de frutos y a la muerte de las plantas provocada por *H. vastatrix*. Aunque esta problemática se ha reducido con la introducción de variedades híbridas como Oro Azteca, resistente al hongo que ocasiona la roya anaranjada, su propagación vegetativa se encuentra limitada por sus bajas tasas de germinación, técnicas de cultivo laboriosas y tiempos de propagación prolongados. Por lo cual los procesos de micropropagación son una alternativa viable para la generación masiva de individuos con las mismas características de la especie vegetal de interés.

¿A través del análisis químico-biológico de los cafés comerciales de la Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña es posible determinar la calidad de sus productos?

Para la obtención masivas de plantas y el empleo de la técnica de organogénesis directa ¿es posible la propagación clonal de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca utilizando segmentos nodales y reguladores de crecimiento?

4. Justificación

La calidad en taza del café está asociada a la especie vegetal, condiciones de cultivo, procesamiento de los frutos y granos, al tostado y a la forma de la preparación de la bebida. La calidad del café se puede valorar a través de los análisis de la composición nutrimental y química que confieren las propiedades organolépticas características del café en taza, así como su relación con las actividades biológicas de interés farmacológico para el humano.

Actualmente la Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña realiza el proceso natural para la obtención de los granos de café, seguido de un análisis físico ya establecido para sus productos. Para garantizar la calidad en taza de los cafés comerciales de la cooperativa con tostados medios y oscuros, obtenidos de una mezcla de variedades arábicas Típica, Borbón y Oro Azteca es necesario determinar el cumplimiento de las especificaciones incluidas en las normas mexicanas mediante análisis químico-biológico, así como sus efectos benéficos como antioxidante.

Debido a la necesidad de oferta comercial en todo el país es importante la producción continua de plantas de café resistentes a plagas que garanticen la disponibilidad y renovación constante de los cultivos en el campo. Por lo que es importante establecer un protocolo de micropropagación para la multiplicación masiva de individuos genéticamente idénticos que conserven la resistencia a la roya como la variedad Oro Azteca.

5. Hipótesis

- El análisis químico-biológico de la mezcla de granos verdes y tostados de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca de *Coffea arabica*, determinará la calidad del café comercial de la Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña.
- *Coffea arabica* variedad Oro Azteca podrá ser propagada *in vitro* como las variedades de café Arábica mediante la técnica de organogénesis directa.

6. Objetivo general

- Analizar química y biológicamente una mezcla de granos de café verdes y tostados de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca de *Coffea arabica*.
- Establecer un proceso *in vitro* para la propagación clonal de la especie *Coffea arabica* variedad Oro Azteca.

6.1. Objetivos particulares

- Analizar el contenido nutrimental de dos cafés comerciales de mezclas de variedades de *Coffea arabica*.
- Conocer las propiedades sensoriales de dos cafés comerciales de mezclas de variedades de *Coffea arabica*.
- Caracterizar los componentes químicos de las infusiones del grano de café verde y tostado de mezclas de variedades de *Coffea arabica*.
- Evaluar la actividad antioxidante y citotóxica de infusiones de los granos de café tostado de *Coffea arabica*.
- Implementar las condiciones *in vitro* para obtener plántulas de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca mediante las vías de organogénesis directa empleando tejido meristemático.
- Generar un proceso para la aclimatización de plántulas de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca

7. Materiales y métodos

7.1. Material biológico

Se cosecharon cerezas de café maduras (ciclos 2020 – 2022) de plantas de *C. arabica* variedades Típica, Borbón y Oro Azteca, cultivadas en las localidades de La Soledad y Paraje Montero municipio de Malinaltepec (longitud: -98.704167 y latitud: 17.164167) en la Montaña del Estado de Guerrero, México (Figura 9).



Figura 9. Frutos y granos de *Coffea arabica* procesados a) cerezas maduras colectadas; b) camas de secado de las cerezas de las variedades Típica, Borbón y Oro Azteca; c) granos verdes de la mezcla de variedades; d) granos con tostado medio; e) granos con tostado oscuro.

Las cerezas de café se colocaron en camas de secado bajo sol a temperatura ambiente por 15 días; pasado este tiempo se les eliminó la cáscara a las cerezas mediante una trilladora para obtener los granos de café verdes (CV). Posteriormente, CV de las variedades Típica-Borbón-Oro Azteca se mezclaron en proporción 40-30-30 %. La mezcla de granos de verdes (MCV) se procesó en un tostador con tambor rotatorio industrial marca 100MEX®, con un nivel de tueste

Agtron Gourmet en Grano de 45 a una temperatura 180 °C por 15 min para obtener un tostado medio (CTM) y con un nivel de tueste Agtron Gourmet en Grano de 35 a una temperatura a 210 °C por 15 min para lograr un tostado oscuro (CTO).

7.2. Análisis bromatológico

El análisis de los componentes nutrimentales de los granos MCV, CTM y CTO se realizó con base a los métodos estándar de la Asociación Americana de Químicos de Cereales (AACC International, 2017). Para cada análisis se utilizaron muestras de cada café por triplicado. La humedad (%) se determinó por diferencia de peso del grano antes y después de ser secado en un horno de aire forzado (VWR®) por 5 minutos (44-15.02). El contenido de las cenizas (%) se obtuvo por la diferencia de peso de residuos generados por la incineración de las muestras en crisoles en una mufla a 550 °C por 4 horas (08-01.01). Las grasas de los granos se extrajeron mediante la técnica de Soxhlet con éter de petróleo, el disolvente se evaporó y el residuo extraído se secó en horno a 100 °C, se pesó y se expresó en % de extracto etéreo (grasa bruta) (30-25.01). El contenido de proteínas (%) se determinó por cuantificación del nitrógeno total en forma libre de nitratos por el método modificado de Kjeldahl (46-16.01). El contenido de carbohidratos (%) se calculó por diferencia de los otros componentes (proteínas – grasas – cenizas – humedad) de los granos.

Los valores de humedad, cenizas, proteínas, lípidos y carbohidratos obtenidos en MCV, CTM y CTO se expresaron como un promedio de tres réplicas y su desviación estándar (DE). Cada variable fue analizada con un ANOVA simple y una *post*-prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$) utilizando el software SAS System for Windows 9.0 (SAS, ver. 9.1; SAS Institute, Inc.).

7.3. Análisis químico

7.3.1. Obtención de infusiones

Los granos verdes de Típica (GC-Típica), Borbón (GC-Borbón), Oro Azteca (GC-Oro Azteca) y MCV, así como los granos procesados CTM y CTO se pulverizaron en un molino industrial MCT-750 100MEX® con un tamaño de partícula de 1.0 mm. De cada muestra se prepararon infusiones por separado y por triplicado con 13.2 g

del grano de café en 200 mL de agua a 98°C por 5 min en una prensa tipo francesa. Las infusiones se filtraron y el pH fue medido en un potenciómetro Oakton pH 510; posteriormente, el extracto acuoso se concentró en un rotaevaporador Heidolph Laborota 4000 y se liofilizó en un equipo Heto Drywinner modelo DW3. El polvo de las infusiones de café se almacenó en frascos ámbar a temperatura ambiente para su posterior análisis.

7.3.2. Cuantificación de ácido clorogénico y cafeína

Las infusiones de café se analizaron mediante CLAR en un equipo Waters integrado de un módulo de separación (Waters 2695) y un detector de fotodiodos (Waters 2696). Para la detección y cuantificación de ACG y cafeína se inyectaron 10 µL de cada infusión por triplicado en concentraciones de 0.25, 0.5 y 1.0 mg/mL. La elución se realizó a través de una columna RP-18 (250 x 4.6 mm, 5 µm, SUPELCO Discovery®, Merck), con un flujo de 0.9 mL/min de un sistema de elución por gradientes de 30 min a base de agua grado HPLC (VWR, Canadá) con ácido trifluoroacético (ATF, A) al 0.5% (Sigma-Aldrich, MO, USA) y acetonitrilo (B) grado HPLC (Merck, Germany): iniciando con A-100%, con cambios a 95% en 2 min; a 70% en 2 min; a 50 % en 17 min; a 20% en 3 min; 0% A y 100% B en 3 min; y retorno a las condiciones iniciales (100% de A) en 3 min (Tabla 6).

Los datos se procesaron con el software Empower Pro 3.0 (Waters, MA, USA) y los cromatogramas se examinaron a longitudes de onda (λ) de 330 nm para el análisis de ACG y a $\lambda = 280$ nm para cafeína, la identificación de ambos compuestos se hizo por comparación de sus tiempos de retención y espectros de absorción. Las concentraciones de ACG y cafeína en las muestras se calcularon con base al estándar externo de ácido clorogénico (3-(3,4-Dihydroxycinnamoyl) quinic acid, $\geq 95\%$ Sigma-Aldrich) y cafeína ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich).

Las curvas de calibración se construyeron con los estándares para ACG (5–200µg/mL) y cafeína (1.25 – 20µg/mL) generando los modelos de cuadrados lineales $y = mx + b$, empleando el Software Microsoft Office Excel 365 (Microsoft® Excel V.16.70). ACG ($y = 11702x + 19276$; $R^2 = 0.9982$) y cafeína ($y = 87483x + 38786$; $R^2 = 0.9993$),

Tabla 6. Método de separación de extractos de granos de café verde y tostado por CLAR

Tiempo (min)	% A (H ₂ O-ATF)	% B (CH ₃ CN)
0.00	100	0.00
1.00	100	0.00
2.00	95.00	5.00
3.00	95.00	5.00
4.00	70.00	30.00
20.00	70.00	30.00
21.00	50.00	50.00
23.00	50.00	50.00
24.00	20.00	80.00
25.00	20.00	80.00
26.00	0.00	100
27.00	0.00	100
28.00	100	0.00
30.00	100	0.00

% A = solución acuosa de ácido trifluoracético al 0.5%; % B = acetonitrilo

Los contenidos de ACG y cafeína se expresaron en mg/g de café como promedio de 9 repeticiones y su DE. Los resultados se compararon con un ANOVA simple y una *post* prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 % ($p < 0.05$).

7.3.3. Fraccionamiento químico y análisis por RMN

El extracto CTM (2g) se fraccionó por cromatografía en columna abierta (2.7 cm de diámetro y 44 cm de altura) empaquetada con 20 g de silica gel RP-18 (Supelco-Alemania) y eluída con un sistema de gradientes de H₂O:CH₃CN (Figura 7).

Se colectaron alícuotas de 10 mL con un sistema inicial de 100% de H₂O (1-10) y cambios de polaridad de CH₃CN al 5% (11-15) al 50% (16-17) y finalmente al 100% de CH₃OH (18) (Tabla 7).



Figura 10. Cromatografía en columna abierta del fraccionamiento del extracto del CTM.

Las fracciones se analizaron por cromatografía en capa fina en fase reversa en un sistema elución de 90:10 H₂O:CH₃CN y se visualizaron en una lámpara de UV (UVP UVGL-58) a una onda de $\lambda = 254$ y 365 nm. Las alícuotas (13 – 15) con un perfil cromatográfico similar de un solo compuesto, se agruparon y diluyeron en dimetilsulfóxido y se analizaron por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de ¹H y ¹³C a 100 MHz, espectroscopía correlacionada bidimensional (2-D) (COSY), coherencia cuántica simple heteronuclear (HSQC) y coherencia de enlace múltiple heteronuclear (HMBC) a 400 MHz en un equipo INOVA-400 de Varian.

Tabla 7. Fraccionamiento en columna abierta del extracto CTM.

Sistema de elución	Fracciones colectadas	Fracciones reunidas
H ₂ O 100%	1 – 10	
H ₂ O:CH ₃ CN 95:5%	11 – 15	13 – 15
H ₂ O:CH ₃ CN 50:50%	16 - 17	
CH ₃ OH 100%	18	

7.4. Melanoidinas

Se emplearon dos procedimientos para la determinación de melanoidinas en los extractos de MCV, CTM y CTO.

Con base a lo reportado por Pérez-Hernández et al., 2013., se prepararon soluciones de 5.0 mg/mL de agua para cada uno de los extractos sonicándolos durante 10 min (Figura 11). A partir de esta solución se realizaron diluciones seriadas de cada una de las muestras a partir de 2.0 a 0.0625 mg/mL; las absorbancias de cada solución se registraron a la longitud de onda de máxima absorción (λ) de 420 nm en un espectrofotómetro de UV-VIS (Genesys 20-Thermo Scientific). El contenido de las melanoidinas en el extracto de cada café se determinó por la fórmula de Lambert-Beer: $C=(A/cb)$, C concentración, A absorbancia, b longitud de la celda (1 cm) y c coeficiente de extinción (1.1289 L/g cm) (Tagliazucchi et al., 2010).

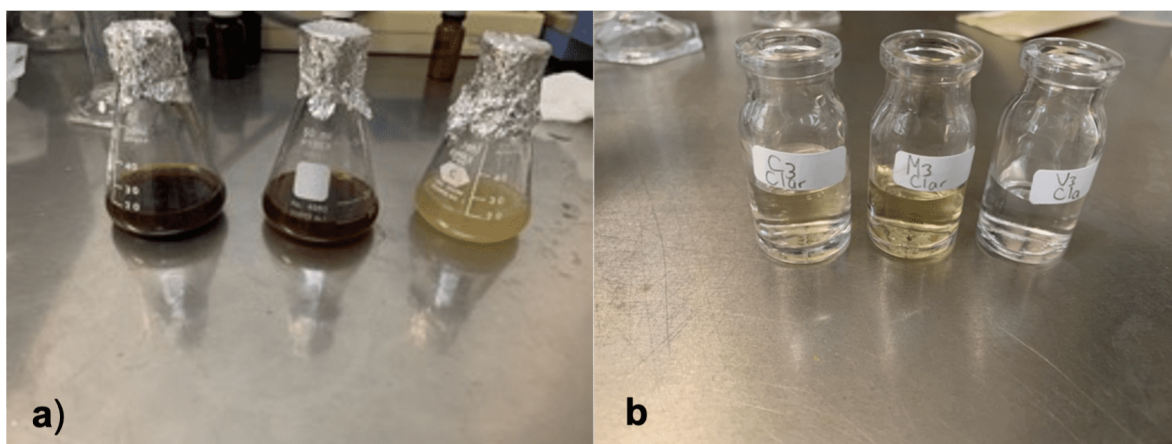


Figura 11. Infusiones de los extractos MCV, CTM y CTO, a) soluciones sin clarificar de los diferentes extractos; b) soluciones clarificadas empleando el reactivo de Carrez.

En la otra técnica se prepararon infusiones con 2 g de cada café en 20 mL en agua destilada, las muestras se sonicaron perfectamente durante 30 minutos, posteriormente se filtraron en acrodiscos (0.45 μ m) Pall®. A partir de esta solución se elaboraron curvas de calibración para cada café con diluciones y absorbancias entre los 1.0 – 0.01 UA. De las infusiones filtradas se tomó 1 mL, se diluyó en una proporción de 1/5 V/V y se le añadió 1 mL de las soluciones Carrez I y II (Sigma-

Aldrich); la mezcla se homogenizó perfectamente y se aforó a un volumen de 10 mL con agua destilada. Las muestras se centrifugaron a 4,000 rpm durante 5 min y las muestras clarificadas se filtraron con acrodiscos (0.20 μm) Pall®. El contenido de melanoidinas se determinó realizando las lecturas correspondientes ($\lambda = 420 \text{ nm}$) y se expresó en mg/g de café y el coeficiente de extinción específico (K_{mix}) se determinó por la ley de Lambert-Beer.

Los valores obtenidos del contenido de melanoidinas de cada muestra se expresaron como promedio de tres repeticiones y su DE; los contenidos se compararon con un ANOVA simple y un post prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95 % ($p < 0.05$).

7.5. Evaluación sensorial

Se emplearon 8.25 g de café molido CTM y CTO en 150 mL de agua a 90 °C para obtener las infusiones en repeticiones de 4 tazas. La evaluación sensorial del café en taza se realizó siguiendo el protocolo de catación de la Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA, 2015) por catadores certificados por la Asociación Mexicana de Cafés y Cafeterías de Especialidad, AC (AMCCE).

De acuerdo con los parámetros de la SCAA basado en una referencia de 100 puntos, se evaluaron las características organolépticas de aroma/fragancia, sabor, sabor residual, acidez, cuerpo, balance, uniformidad, limpieza de taza, dulzor, puntaje del catador. A cada variable se le asignó un valor 0 a 10, la suma total corresponde al resultado del análisis de las pruebas sensoriales. Puntuaciones ≥ 80 se consideran cafés muy buenos y se clasifican como de especialidad (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación de las bebidas de café de acuerdo con la puntuación obtenida en las pruebas sensoriales.

Puntuación	Calidad	Clasificación
100 – 90	Excepcional	
89.99 – 85	Excelente	Especialidad
84.99 – 80	Muy bueno	
< 80	Baja calidad	No especialidad

7.6. Actividades biológicas

7.6.1. Actividad antioxidante

7.6.1.1. Ensayo de la actividad de captación de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

El ensayo se realizó en microplacas de 96 pozos, en cada pozo se agregó por triplicado 25 μ L de las soluciones (100 – 3.0 μ g/mL) de ACG, (100 – 3.0 μ g/mL) de Trolox (Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcroman-2-carboxílico) y/o una de las diferentes concentraciones (5.0 – 0.1 mg/ml) de los extractos a evaluar (CTM y CTO) seguida de 175 μ L de la solución de DPPH (1 mg/mL de metanol). El ensayo se llevó a cabo en la oscuridad y las microplacas se cubrieron con papel aluminio para evitar la decoloración del DPPH por efecto de la luz. La absorbancia se midió al inicio (A_0) y 30 min posteriores a la reacción (A_1) en un lector de placas de ELISA (Perkin-Elmer Lambda 40 UV/Vis) a una $\lambda = 515$ nm. El porcentaje de inhibición de la reacción se determinó con base a la ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

La concentración inhibitoria media (CI_{50}) de ACG, Trolox, CTM y CTO del radical DPPH eliminado se determinó en función de las curvas generadas al registrar los porcentajes de inhibición de la reacción contra la concentración. Además, los valores de absorbancia de las muestras se compararon con las curvas graficadas del porcentaje de inhibición contra la concentración de los patrones y se reportaron en equivalentes ACG o Trolox (eq ACG y eq Trolox) (Endeshaw y Belay, 2020).

Los valores de CI_{50} y equivalentes en ACG y/o Trolox se expresaron como promedios de 3 repeticiones y su DE. Los valores de cada variable de los granos tostados (CTM y CTO) se compararon con una prueba de *t-Student* con un valor de $p < 0.05$.

7.6.1.2. Ensayo de actividad del radical 2,2'-Azinobis [3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico] (ABTS).

La solución del radical ABTS 7 mM se preparó con una solución acuosa de persulfato de potasio 140 μ M en la oscuridad bajo agitación en un periodo de 12 a 16 horas; posteriormente, la mezcla se diluyó con metanol hasta obtener una

absorbancia de aproximadamente de 0.7 a $\lambda = 734$ nm. El ensayo se realizó en microplacas de 96 pozos. A cada pozo se añadió por triplicado 230 μL de la solución de ABTS y 20 μL de la muestra a evaluar ACG (13 – 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Trolox (13 – 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y/o de las diferentes concentraciones (5.0 – 0.1 mg/ml) del extracto (CTM y CTO). Después de una agitación de 30 segundos se procedió a determinar la absorbancia en un lector de microplacas Perkin-Elmer Lambda 40 UV/Vis a $\lambda = 734$ nm. La actividad antioxidante de las muestras de café fue expresada en porcentaje de inhibición, CI_{50} y en equivalentes de ácido CGA y/o Trolox como se describió previamente.

Los valores de CI_{50} y equivalentes de ACG y/o Trolox se expresaron como promedios de 3 repeticiones y su DE. Los valores de cada variable de los granos tostados (CTM y CTO) se compararon con una prueba de *t-Student* con un valor de $p < 0.05$.

7.6.1.3. Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP)

La solución FRAP generó de la mezcla de 1 mL de la solución de 2,4,6,-Tris(2-piridil)-s-triasina (TPTZ) a 10 mM y 1 mL de una solución de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) a 20 mM en 10 mL del buffer de acetato de sodio (CH_3COONa) a 300 mM a pH de 3.6. La solución FRAP se preparó al momento del ensayo y se mantuvo a una temperatura no mayor de 37°C. La determinación de la actividad antioxidante se llevó a cabo en microplacas de 96 pozos, en cada pozo se agregó 175 μL de la solución de FRAP por triplicado y enseguida se añadieron 50 μL de ACG (13 – 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Trolox (13 – 0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y/o de las diferentes concentraciones (5.0 – 0.1 mg/ml) del extracto a evaluar (CTM y CTO). La lectura de las absorbancias se midió a $\lambda = 595$ nm en el espectrofotómetro después de los 30 segundos de la reacción.

Los valores de CI_{50} y equivalentes de CGA, Trolox y/o sulfato férrico se expresaron como promedios de 3 repeticiones y su DE. Los valores de cada variable de los granos tostados (CTM y CTO) se compararon con una prueba de *t-Student* con un valor de $p < 0.05$.

7.6.2. Evaluación citotóxica

Para el ensayo de citotoxicidad se utilizó una línea celular de fibroblastos de ratón 3T3-L1 (ATCC® CL-173, IN VITRO S.A.) comprometidos con la diferenciación a adipocitos. Las células se cultivaron en el medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10%, L-glutamina (1 ml x100), antibiótico 3X (1 mlx100), aminoácidos no esenciales (1 mlx100) y bicarbonato de sodio (3mLx100). El cultivo celular se incubó a 37 °C y se humidificó la atmósfera con 5% de CO₂.

Las células 3T3-L1 se cultivaron en placas de 96 pozos con una densidad celular de 3 X 10⁴ células por pozo. Después de 24 h de fijación a la placa, las células no adherentes fueron eliminadas y posteriormente tratadas con DMSO al 1% como control negativo, diferentes concentraciones de infusiones de CTM y CTO (1000 – 15.6 µg/mL) y paclitaxel como control positivo (20 – 0.6 µg/mL). Las placas se incubaron durante 24 y 48 h en las condiciones descritas anteriormente.

Después de cada tiempo de incubación, el medio se descartó y se añadieron 80 µL de medio DMEM y 20 µL de (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) (MTT, 5 mg/ml en PBS) e incubados durante 4 h a 37 °C para permitir la formación de cristales de formazan. Se eliminó el sobrenadante, se añadieron 100 µL de isopropanol y las placas se incubaron a temperatura ambiente en agitación durante 15 min hasta que se disolvieron los cristales de formazan. La densidad óptica de la solución se midió con un espectrofotómetro de microplacas a λ = 490 nm.

La viabilidad celular en porcentaje se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$viabilidad\ celular\ (\%) = \frac{control\ negativo\ OD - muestra\ OD}{control\ negativo\ OD} \times 100$$

La concentración inhibitoria media (CI₅₀) para cada infusión se calculó con un análisis de regresión de la curva dosis-respuesta.

7.7. Propagación *in vitro*

7.7.1. Material biológico

Se utilizaron yemas apicales como explantes de *Coffea arabica* de la variedad Oro Azteca de una planta sana de 5 años cultivada en el Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS) libre de contaminantes.

7.7.2. Establecimiento del cultivo aséptico y elongación de las yemas apicales

En campana de flujo laminar las yemas apicales se sumergieron en una solución de Extrán® (MA 02, Merck) al 1% durante 5 minutos con agitación manual constante; enseguida, en una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante 15 minutos: por último, se enjuagaron con abundante agua estéril (Figura 12).

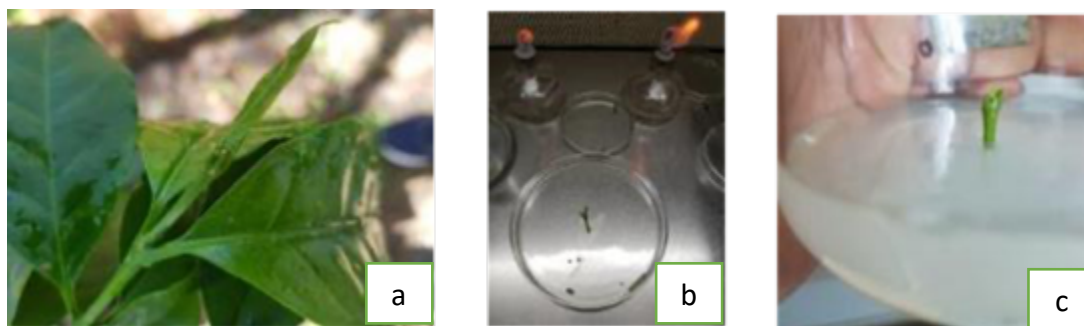


Figura 12. Establecimiento del cultivo *in vitro* de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca a) Material biológico inicial, b) proceso de desinfección de los explantes, C) yema apical en cultivo *in vitro*.

Realizada la desinfección las yemas apicales se cortaron en segmentos de 1 cm de longitud aproximadamente y se colocaron individualmente en frascos con 40 mL de medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) con 30 g/L de sacarosa, 4 mg/L de bencilaminopurina (BAP) como regulador de crecimiento para elongar al explante, ajustado a un pH de 5.7, 4 g/L de phytigel y 1 g/L de polivinilpolipirrolidona (PVPP) previamente esterilizados. Los frascos se colocaron en un cuarto de cultivo a 26 ± 2 °C, fotoperiodo de 16 h/8 h de luz/obscuridad con una intensidad lumínica de $50 \mu\text{M m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de luz blanca fluorescente y humedad relativa del 60%.

Los explantes fueron subcultivados a medios frescos cada 30 días e incubados en las mismas condiciones de cultivo para su elongación.

7.7.3. Inducción a la brotación múltiple

De las yemas elongadas se procedió a cortar en segmentos nodales de 0.5 cm de longitud aproximadamente. Los explantes se colocaron en frascos tipo tarro con 40 mL de medio de cultivo MS suplementado con 4, 6 y 8 mg/L de BAP y/o 4, 6 y 8 mg/L de BAP en combinación con 0.5 mg/L de ácido indolacético (AIA). Se incubaron a 26 ± 2 °C con un fotoperiodo de 16 /8 h (luz/obscuridad) en un cuarto de cultivo (Aga et al., 2017; AL-Azab et al., 2015; Da Silva Ramos & Silva De Almeida, 2005).

Se realizaron 12 repeticiones por cada tratamiento que fueron subcultivados cada cuatro semanas en las mismas condiciones de cultivo. Al tercer subcultivo se registraron el número de brotes por explante, longitud y número de hojas por brote. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente en un ANOVA simple.

7.7.4. Enraizamiento de los brotes

Los brotes obtenidos en la etapa anterior y con una longitud igual o mayor de 1 cm fueron individualizados y utilizados en los tratamientos para la inducción de raíz. Los brotes se transfirieron a frascos con medio de cultivo MS adicionado de 0.0 (control), 0.5 y 1.0 mg/L de AIA, 30 g de sacarosa, pH de 5.7, para los siguientes subcultivos a los 30 días se pasaron a frascos con las mismas condiciones reduciendo las sales de MS y la sacarosa al 50 % hasta observar la formación de la raíz.

7.7.5. Aclimatización

Las plántulas se removieron cuidadosamente de los frascos de cultivo y se lavaron con agua corriente para eliminar el agar residual alrededor de las raíces; enseguida se colocaron en un recipiente que contenía una mezcla húmeda de materia orgánica y piedra volcánica (2:1), los cuales se mantuvieron dentro de una cámara de

crecimiento de plantas y se regaron con una solución nutritiva a base del 25% de sales MS durante 4 semanas, se reguló el intercambio gaseoso del interior con el del medio ambiente removiendo parcialmente el domo de plástico que cubría a las plántulas para lograr su adaptación y ser llevadas a invernadero para completar el proceso.

Los resultados se expresaron como el promedio \pm DE. Para comparar las diferencias en los promedios entre tratamientos se utilizó un ANOVA simple seguido de la prueba Tukey con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$) utilizando el software SAS System for Windows 9.0 (SAS, ver. 9.1; SAS Institute, Inc.).

8. Resultados y discusión

La producción de café en Guerrero se caracteriza por su arraigada tradición, donde la recolección manual de los frutos y el procesamiento mediante el método de vía seca son prácticas comunes. Aunque el café guerrerense ha ganado reconocimiento en eventos nacionales de prestigio, como la Taza de Excelencia México, la producción y comercialización del café en el estado continúan siendo desafíos debido a la escasa atención científica y tecnológica.

Con el fin de abordar esta situación, el presente estudio se centra en investigar los parámetros asociados a la calidad de los granos e infusiones de mezclas de variedades Arábica, así como en desarrollar un protocolo de propagación *in vitro* para la variedad Oro Azteca. Este enfoque no solo busca comprender mejor la composición y características del café producido en Guerrero, sino también implementar prácticas innovadoras que puedan mejorar la producción y calidad del café en la región.

Al combinar la tradición cafetalera con la investigación científica, este estudio aspira a ofrecer soluciones concretas que impulsen el desarrollo sostenible de la Cooperativa Cafecultores ME PHAA de la Montaña. Se espera que los resultados obtenidos no solo beneficien a los productores locales al mejorar sus procesos de producción y comercialización, sino también fortalezcan la reputación del café guerrerense a nivel nacional.

8.1. Composición nutrimental

El análisis bromatológico del café en grano verde y procesado permite conocer la calidad y composición nutricional de los cafés comerciales dentro de los componentes que considera la Norma Oficial Mexicana para café tostado y molido NMX-F-013-SCFI-2010. El contenido de proteína y carbohidratos fue similar entre los granos tostados y MCV, mientras que el contenido de grasa fue mayor en el CTO. El mayor contenido de humedad se determinó en la MCV, la cual disminuye a medida que aumenta la temperatura de tostado; en tanto que las cenizas generadas son similares en las muestras de MCV y CTO (Tabla 9). Los contenidos de humedad (<6.0%) y cenizas (<6.5%) en el café CTM y CTO están dentro del

rango establecido por la Norma; en cambio, solo el contenido de grasa del CTO como extracto etéreo alcanza el parámetro estipulado por la norma. Las condiciones de humedad de los granos verdes deben ser del 12 al 10% para evitar el crecimiento de hongos y bacterias, preservar las propiedades físicas y el contenido nutricional.

Tabla 9. Componentes nutrimentales en café comercial de mezclas y variedades *Coffea arabica*.

Granos	Contenido en porcentaje (%)				
	Humedad	Cenizas	Grasas	Proteínas	Carbohidratos
MCV	8.48 ± 0.13**	4.54 ± 0.06**	5.09 ± 0.89	12.34 ± 0.29	69.56 ± 1.06
CTM	4.23 ± 0.14*	3.84 ± 0.11	6.48 ± 0.34*	13.04 ± 0.28	72.41 ± 1.26
CTO	3.59 ± 0.12	4.44 ± 0.08**	8.15 ± 0.63**	13.01 ± 0.38	70.81 ± 1.11
Valores de la Norma¹	Máximo 6.0%	Máximo 6.5%	8.0 – 18%	–	Almidones (Neg) ART – Máximo 5.5 %

Los valores son la media ± desviación estándar (n=3). De acuerdo con la prueba de ANOVA y Tukey las medias con * y ** son significativamente diferentes. Humedad F= 1251.75, Tukey_{0.05}= 0.33; Cenizas F= 62.89, Tukey_{0.05}= 0.20; Grasas F= 16.26, Tukey_{0.05}= 1.65; Proteínas F= 4.56, Tukey_{0.05}= 0.80; Carbohidratos F= 7.55, Tukey_{0.05}= 2.25.

¹Norma Mexicana NMX-F-013-SCFI-2010; Neg = Negativo; ART = Azúcares Reductores Totales

Al analizar la composición nutricional de los granos de café verde MCV, se observó que están compuestos principalmente de carbohidratos y proteínas, con un contenido de lípidos relativamente bajo. La variación en la composición nutricional entre los granos de café verde y tostado puede atribuirse principalmente al proceso de tostado, que influye en la liberación de aceites y otros compuestos volátiles que contribuyen al sabor y aroma característicos del café. Estudios previos han demostrado que el contenido de humedad disminuye y los contenidos de materia seca, proteínas y grasas aumentan con el aumento de la temperatura de tostado. En estudios de granos de *C. arabica* con tostado claro (176 °C), medio (204 °C) y oscuro (232 °C), el contenido de humedad se redujo con el aumento de la temperatura, mientras que los contenidos de proteína (16%) y grasa (16,2%)

aumentaron en el tueste oscuro. El contenido de cenizas y azúcar fue similar (2 °Brix) en los tres tostados (Duangjai et al., 2021) .

El proceso de tostado también puede influir en la formación de compuestos como las melanoidinas y ácidos orgánicos, que contribuyen a las características sensoriales del café, como su acidez y aroma. La variación en los perfiles químicos observados puede estar relacionada con las variedades de café estudiadas y las condiciones de cultivo. Por lo que es de importancia de comprender cómo el proceso de tostado afecta la composición química y nutricional del café, lo que puede tener implicaciones significativas para su calidad y características organolépticas (Alamri et al. 2022).

8.2. Análisis químico

El análisis por CLAR permitió identificar los compuestos de mayor predominio como el ACG y la cafeína, tanto en los granos verdes como en las infusiones de los granos tostado, estos compuestos presentaron tiempos de retención de 8.51 min, $\lambda_{\max} = 209.9, 242.7$ y 327.9 (ACG) y 8.88 min, $\lambda_{\max} = 212.2$ y 273.4 (cafeína) (Figuras 13 y 14).

Los granos CV-Típica presentaron los contenidos más bajos de ACG (36.81 mg/g) y cafeína (1.16 mg/g); debido a que la MCV está compuesto en una mayor proporción de los granos de la especie Típica (Típica-Borbón-Oro Azteca, 40-30-30%), el contenido de ambos compuestos en el MCV es cercano a los detectados en esta variedad. Se ha reportado que en el café verde Arábica el contenido de CGA oscila entre 52 – 76 mg/g y está relacionado con la variedad de café, las condiciones de crecimiento y el grado de madurez de los frutos (Jeszka-Skowron et al., 2016); el contenido de ACG en las variedades Bourbon y Oro Azteca está dentro de este rango.

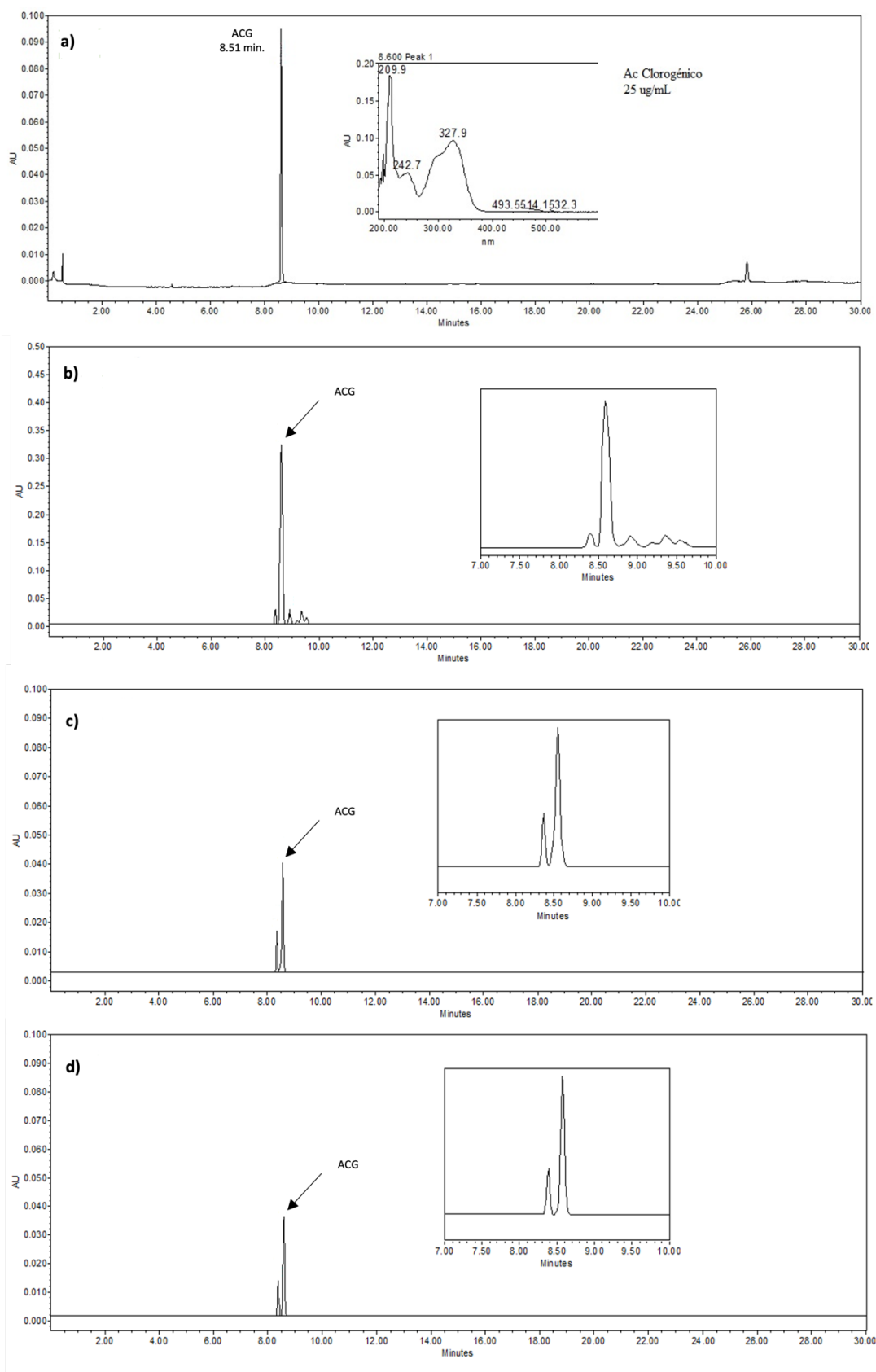


Figura 13. Cromatogramas de CLAR a $\lambda = 330$ nm para el (a) estándar de ACG (25 µg/mL) y las infusiones (b) MCV (125 µg/mL), (c) CTM y (d) CTO (500 µg/mL).

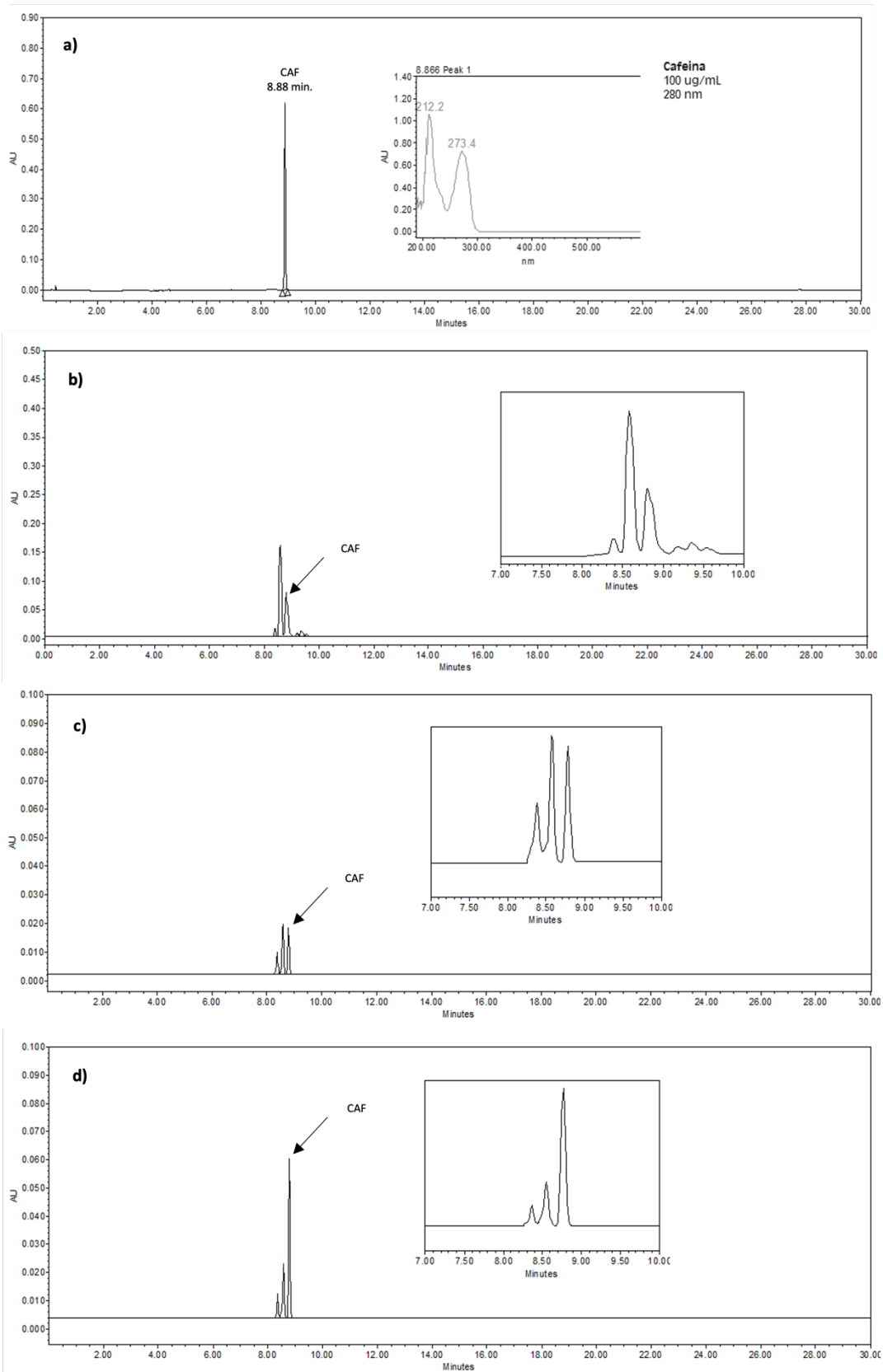


Figura 14. Cromatogramas de CLAR a $\lambda = 280$ nm para el (a) estándar de (CAF) cafeína (10 µg/mL) y las infusiones de (b) MCV (125 µg/mL), (c) CTM y (d) CTO (500 µg/mL).

Cuando los granos verdes se someten al proceso de tostado, el contenido de ACG se reduce al menos un 30% dependiendo del nivel de tostado por efecto de la temperatura y el tiempo de exposición; ACG se hidroliza en las moléculas de fenoles simples que lo componen, ácido cafeico, ácido ferúlico y ácido quínico (Farah & Donangelo, 2006). Los contenidos de ACG fueron similares en granos MCV y CTM; mientras que en los granos de CTO a 210 °C presentó una reducción del 53% en su contenido en comparación con los granos sin tostar (Tabla 10).

Tabla 10. Contenido de ACG y cafeína en granos verdes y tostados de variedades de *Coffea arabica*.

Granos	ACG	Cafeína
	mg/g café	
MCV	30.81 ± 2.22	0.87± 0.09
Borbón-CV	55.75 ± 2.31**	1.78± 0.12**
Oro Azteca-CV	54.63 ± 2.43**	1.77± 0.15**
Típica-CV	36.81 ± 0.10	1.16 ± 0.18
CTM	30.26 ± 0.45**	2.52±0.17
CTO	14.52 ± 0.65	3.88±0.23**

Los valores son la media ± desviación estándar (n = 9). De acuerdo a la prueba de ANOVA y Tukey las medias con ** son significativamente diferentes. ACG F= 328.13, Tukey_{0.05}= 2.66; cafeína F= 101.83, Tukey_{0.05}= 0.17 en mg/g de café verde; ACG F= 415.72, Tukey_{0.05}= 1.60; cafeína F= 678.07, Tukey_{0.05}= 0.20 en mg/g de café procesado.

Estudios realizados en diferentes niveles de tostado muestran que el contenido de ACG en los granos se correlaciona con la temperatura y el tiempo de tostado, encontrando el mayor contenido en los de tueste ligero (186.5 °C, 7:15 min) de 11.24 mg/g de café; cuando el tiempo de tostado se prolonga a un tueste oscuro (186.5 °C; 14:02 min) el contenido se redujo en un 70% (Górecki & Hallmann, 2020).

En los granos MCV, la variedad Típica que predomina tiene un bajo contenido de cafeína (1.16 mg/g) en comparación con las otras dos variedades, por lo que el contenido de cafeína en MCV presenta niveles bajos (0.87 mg/g) de cafeína (Tabla 2). Los valores determinados en este estudio para los cafés comerciales CTM y CTO son inferiores a los establecidos para su comercialización. De acuerdo con la Norma Mexicana (NMX-F-013-SCFI-2010) el rango de contenido de cafeína es entre 10 – 20 mg/g para café tostado. El contenido de cafeína determinado en los granos verdes incrementó con el proceso de tostado (Tabla 10); sin embargo, este contenido es menor a lo establecido en la norma. En un estudio realizado en cafés de diferentes estados de México como Veracruz, Nayarit, Oaxaca y Chiapas, se encontró que el nivel de cafeína oscila entre 2.9 – 7.0 mg/g de café tostado (Lazcano-Sánchez et al., 2015).

Las bebidas de tostados oscuros presentan mayor contenido de cafeína, cuando los granos se tuestan, pierden humedad, aumentan de tamaño y se vuelven porosos, lo que permite una mejor extracción (Tsai & Jioe, 2021). En granos de café de la variedad Típica de plantas cultivadas en dos lugares diferentes, el contenido de cafeína en tostado ligero fue de 4.19 mg/g y 5.01 mg/g, cuando el nivel de tostado se incrementó a un nivel oscuro el contenido presentó un aumento (5.18 mg/g y 6.12 mg/g), un efecto similar al reflejado en este trabajo. Otros estudios en *C. arabica* no han reportado variaciones en su contenido a diferentes niveles de tostado (11.9 – 13 mg/g), incluso utilizando temperaturas entre 194 – 217 °C que muestran un comportamiento termoestable de la cafeína (Cwиковá et al., 2022).

En cambio, en café Arábica de Brasil, el mayor contenido de cafeína se presentó en tostado ligero (6.42 mg/g) y medio (5.77 mg/g), en comparación con el tostado oscuro (2.63 mg/g). Un efecto similar se reportó en los granos de café de las variedades Típica y Borbón, el mayor contenido se presentó en tostado claro (14.59 mg/g), seguido de medio y oscuro (5.57 mg/g). En las variedades Sidama, Yirgacheffe y Harar, el contenido en granos verdes fue de 16.4, 15.72 y 15.03 mg/g; cuando los granos se sometieron a un proceso de tostado oscuro, el contenido de cafeína se redujo a 7.96, 8.87 y 4.52 mg/g, siendo la variedad Sidama con una

mayor reducción 60%, seguida de Harar con un 53% (Górecki & Hallmann, 2020; Król et al., 2020).

Las variaciones en el contenido de compuestos químicos están relacionadas con las condiciones de temperatura, el procesamiento de los granos y la preparación de bebidas (Caporaso et al., 2014; Górecki & Hallmann, 2020). En la preparación de la infusión, es esencial considerar la presión, temperatura y tiempo de contacto de los granos con el agua, dentro de las poblaciones la cantidad de café utilizada puede variar; por ejemplo, para cafés filtrados en Europa, Estados Unidos y Canadá generalmente se usan 7 g por 100 mL de agua, en Brasil se pueden usar 10 g mientras que en Italia se usan 20 g (Farah & de Paula Lima, 2019). En México, es común que en la preparación del café se use una o dos cucharadas por taza de café para la preparación de esta bebida.

En este estudio, las infusiones se prepararon con 6.1 g de café (equivalente a una cucharadita) por 100 mL de agua utilizando una prensa francesa debido a su practicidad. En una taza de café (\approx 150 mL) el contenido de cafeína varía entre 40 y 180 mg. El bebedor moderado de café consume por día entre 200 y 400 mg de cafeína y entre 200 y 500 mg de ACG por taza. Las infusiones de CTM utilizando 6.1 g de café en 150 mL de agua contendrían 15 mg de cafeína y 185 mg de ACG, mientras que en infusiones CTO el contenido sería de 24 mg de cafeína y 89 mg de ACG por taza (Pietsch, 2017).

8.2.1. Identificación del ácido clorgénico por RMN

El análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) ^1H y ^{13}C del compuesto aislado del extracto CTM correspondió a ACG; los datos desplazamientos químicos y las constantes de acoplamiento (Tabla 11 y Figura 15 y 16) corresponden a los reportados en la literatura para este compuesto (Xu et al., 2022).

Tabla 11. Datos espectroscópicos de RMN ^1H y ^{13}C (600 y 150 MHz) del ácido clorogénico (MeOH-d4, δ , ppm, J/Hz).

C Átomo	δ ^1H -ácido clorogénico	δ ^{13}C -ácido clorogénico	δ $^1\text{H}^*$	δ $^{13}\text{C}^*$
1		70.24		71.06
2a	2.09 (m)	39.44	2.21	37.65
b	1.92 (dd,12.1, 12.4 Hz)		(m)	
3	5.23 (ddd, 5.1,5.5, 10.2 Hz)	71.29	5.17	71.06
4	3.62 (d, br, 10.1 Hz)	72.97	4.89	68.48
5	4.12 (s, br)	71.91	4.77	73.90
6a	1.98 (m)	37.21	1.84	36.66
b	1.98 (m)			
1'		126.03		126.05
2'	7.10 (d,1.4 Hz)	115.06	7.00	114.99
3'		146.07		148.80
4'		148.80		145.71
5'	6.82 (d,8.1Hz)	116.25	6.98	116.20
6'	7.03 (dd,1.5, 8.1Hz)	121.68	7.00	114.99
7'	7.52 (d,15.8 Hz)	145.18	7.42	145.71
8'	6.30 (d,15.9 Hz)	115.20	6.15	114.99
9'		166.74		166.18
COOH		175.88		175.38

*Datos reportados por Xu et al., 2022.

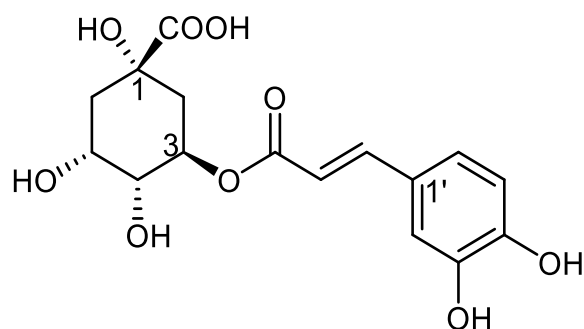


Figura 15. Estructura química del ácido clorogénico aislado del extracto CTM de *Coffea arabica*.

M3-F14-C2.2.3.fid

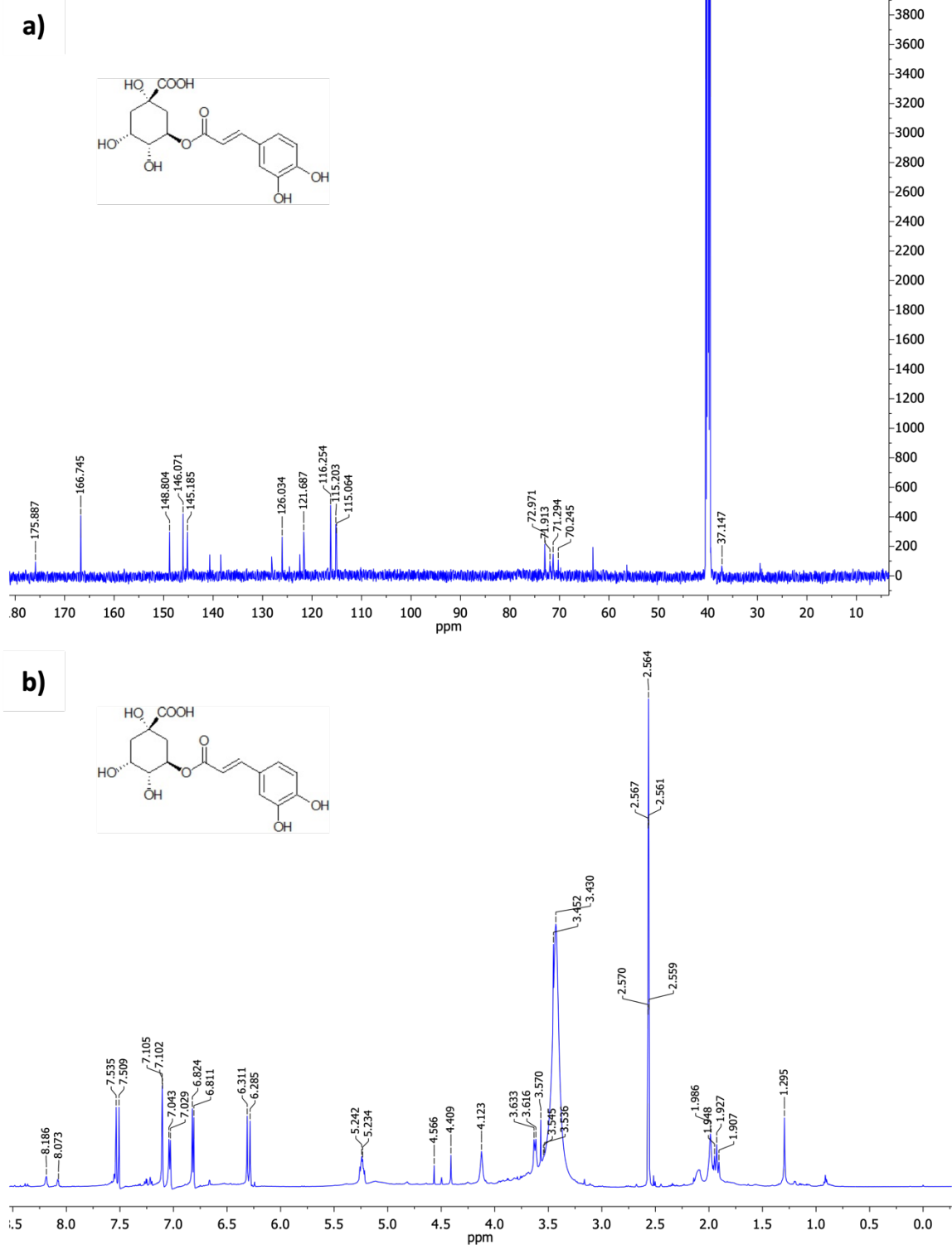


Figura 16. Espectros de RMN del ácido clorogénico: (a) ^{13}C (150 MHz, DMSO) y (b) ^1H (600 MHz, DMSO)

8.3. Melanoidinas

Durante el tostado de los granos pueden ocurrir varios procesos químicos como caramelización, degradación de los compuestos fenólicos y/o reacciones de Maillard y Strecker, dando como resultado la formación de nuevos compuestos como melanoidinas, acrilamidas e hidroximetilfurfural (Endeshaw & Belay, 2020; Várady et al., 2021). La estructura molecular de las melanoidinas no se conoce con precisión debido a la diversidad de acoplamientos de sus componentes (Rufián-Henares & Pastoriza, 2015). Las melanoidinas aportan a los granos un pigmento marrón, sabor y color a la bebida y están asociadas con la actividad antioxidante que está reforzada por compuestos fenólicos simples como los ácidos cafeico, ferúlico y clorogénico que se unen a su estructura (Farah & Donangelo, 2006; Moreira et al., 2012).

En este estudio, se realizaron dos procedimientos para determinar el contenido de melanoidinas en las diferentes infusiones. En soluciones no clarificadas, las melanoidinas están presentes en la MCV y el contenido se duplicó en los granos CTO después de que los granos se tostaron (~ 2.87 veces), efecto caracterizado por una coloración marrón oscuro (Tabla 12).

Tabla 12. Contenido de melanoidinas en los cafés comerciales de variedades de *Coffea arabica*.

Café	mg/g de café		
	No clarificada	Clarificada	$K_{mix} \text{ Lg}^{-1}\text{cm}^{-1}$
MCV	15.41±1.15	2.04 ±0.88	0.07
CTM	85.51±5.99*	18.95 ±1.9*	1.586
CTO	96.79±3.44**	29.06 ± 7.7**	1.614

Los valores son la media ± desviación estándar (n=3). De acuerdo a la prueba de ANOVA y Tukey las medias con * y ** son significativamente diferentes. Muestras no clarificadas $F=1423.09$, $Tukey_{0.05}=4.055$ en mg/g de café y muestras clarificadas $F=26.45$, $Tukey_{0.05}=11.516$ en mg/g de café.

Las soluciones Carrez I y II se utilizan para precipitar proteínas, eliminar turbidez y micelas reduciendo la interferencia en el momento de las lecturas ($\lambda = 420 \text{ nm}$). En las muestras clarificadas el contenido de melanoidinas fue menor en comparación con las no clarificadas, mostrando un comportamiento similar en su contenido y relación con el aumento en el nivel de tostado (Tabla 15). Las muestras sometidas al proceso de clarificación perdieron color y presentaron la formación de un precipitado que puede estar relacionada con la eliminación de compuestos de alto peso molecular. Los contenidos de melanoidinas determinados son inferiores a los reportados en la literatura 200 – 250 mg/g en café (Moreira et al., 2012; Pérez-Hernández et al., 2013)

Otros autores informan que el mayor contenido de melanoidinas se determinó en el café soluble obtenido de Robusta de 676 mg/g y el café caracolillo Arábica tostado con azúcar el contenido de 305 mg/g, en comparación con el de granos de café Arábica y Robusta sin complemento alguno (Pérez-Hernández et al., 2013). En los granos de café verde de Brasil de las especies Arábica y Robusta, la presencia de estos compuestos fue baja en comparación con los granos tostados, los granos oscuros de ambas especies presentaron los mayores contenidos, pero fueron predominantes en los granos de Robusta. Existe una falta de estudios adecuados que relacionen los niveles de tostado, color de los granos con el contenido de sus compuestos principalmente cafeína, ACG y melanoidinas, entre otros (Cwiková et al., 2022; Tsai 2021).

8.4. Evaluación sensorial

La calidad del café depende de las propiedades físicas, composición química de los granos y propiedades organolépticas de la bebida, como el sabor, el aroma, la acidez, el cuerpo y el equilibrio. El contenido de sus compuestos químicos principalmente ACG, cafeína, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido cinámico, trigonelina y compuestos volátiles como furanos, piridinas, pirazinas y pirroles juegan un papel importante al momento de la evaluación sensorial (Jeszka-Skowron et al., 2016).

Las infusiones de MCV presentaron un pH de 5.6, las infusiones de CTM un pH = 4.74 y las infusiones de CTO un pH = 6.15. Las infusiones de CTM tuvieron mayor acidez correlacionada con el contenido de ACG (Tabla 13) según se determinó. Además, la temperatura utilizada durante el proceso de tostado de los granos de café transforma los carbohidratos en ácidos orgánicos que influyen en la acidez de las bebidas. También se ha informado que las infusiones de café con mayor contenido de cafeína tienen sabores amargos, las infusiones CTO tienen el mayor contenido de cafeína, el sabor y el color se pueden identificar mediante pruebas sensoriales (Duangjai et al., 2021).

Tabla 13. Perfil sensorial de la mezcla comercial de café de variedades de *Coffea arabica*.

Café	CTM	CTO
Aroma	8.00 ± 0.16*	7.75 ± 0.20
Sabor	7.75 ± 0.29	7.75 ± 0.29
Sabor residual	8.00 ± 0.20	8.00 ± 0.20
Acidez	8.00 ± 0.61	8.00 ± 0.13
Cuerpo	8.25 ± 0.20*	8.00 ± 0.13
Balance	8.00 ± 0.29*	7.25 ± 0.29
Uniformidad	10 ± 0	10 ± 0
Limpieza de taza	10 ± 0	10 ± 0
Dulzor	10 ± 0	10 ± 0
Puntaje del catador	8.25 ± 0.29*	7.5 ± 0.41
Puntuación total	86.25	84.25

Los valores son la media ± la desviación estándar (n=4). De acuerdo con la prueba *t-Student* ($p \leq 0.05$) las medias con * son significativamente diferentes.

Los granos verdes carecen de sabor y olor agradable al paladar; cuando los granos son sometidos al proceso de tostado se producen una serie de cambios físicos como forma, contenido de agua, densidad y color. Entre los cambios químicos, se produce la degradación de azúcares, ACG, cafeína y trigonelina relacionada con el sabor y aroma de la bebida de café. La formación de compuestos volátiles también influye en la acidez y el aroma de las bebidas (Cortés-Macías et al., 2022; De Melo Pereira et al., 2019; Lazcano-Sánchez et al., 2015).

Las temperaturas de 200 – 250 °C se emplean de 5 a 20 min para el tostado de granos de café, durante este proceso los granos adquieren colores, sabores y aromas característicos. Los atributos sensoriales establecidos por la Norma Mexicana PROY-NOM-255-SE-2021 en fragancia/aroma, sabor, acidez, equilibrio y puntaje catador deben presentar una puntuación ≥ 8 , en sabor residual y cuerpo ≥ 7.5 , y en uniformidad, limpieza de taza y dulzura de 10. Los cafés naturales o cafés enmielados de especialidad son aquellos que presentan una calificación total de 85 - 87.75 puntos según la Norma Mexicana.

La calidad del café depende de las propiedades físicas y organolépticas de la bebida, como el sabor, el aroma, la acidez, el cuerpo y el equilibrio. En el análisis sensorial de las infusiones preparadas a partir del CTM, consideradas como café natural de especialidad, se obtuvo una puntuación de 86.25. Los puntos obtenidos en cada parámetro están dentro de los valores considerados por la Norma (Tabla 13). Café natural o de proceso seco, es común obtener aromas y sabores frutales característicos debido a la preservación de la cáscara y pulpa de la fruta (Dos Santos et al., 2020), como los determinados en este estudio que presenta aromas de frutas tropicales y sabores de vino blanco, uva y miel.

El puntaje del café CTO (84.25) fue menor que el requerido para ser considerado como café especial natural, pero está dentro de los denominados café natural Premium (80 a 84.75 puntos) según la Norma, atributos como aroma, sabor, cuerpo y equilibrio presentaron el puntaje más bajo (Figura 17). En esta bebida se detectó un aroma floral y afrutado con sabor a dátil, uva y manzana roja, con una acidez cítrica tartárica, un cuerpo jugoso-sedoso y dulzor medio-alto.

El análisis sensorial realizado en los granos CTM se encuentra dentro del rango considerado como cafés especiales, reportó un menor sabor (7.75), un mayor cuerpo (8.25); en el caso de los granos CTO mostraron un menor aroma (7.75), menor balance (7.25), así como un cuerpo más pequeño que en los granos CTM. En el café tostado es muy común encontrar mezclas de variedades de *C. arabica* identificando diferentes características organolépticas influenciadas por el método en el que se someten las cerezas para obtener los granos verdes, otros aspectos

que deben considerarse son la altitud a la que se ubican los cultivos y el grado de madurez.

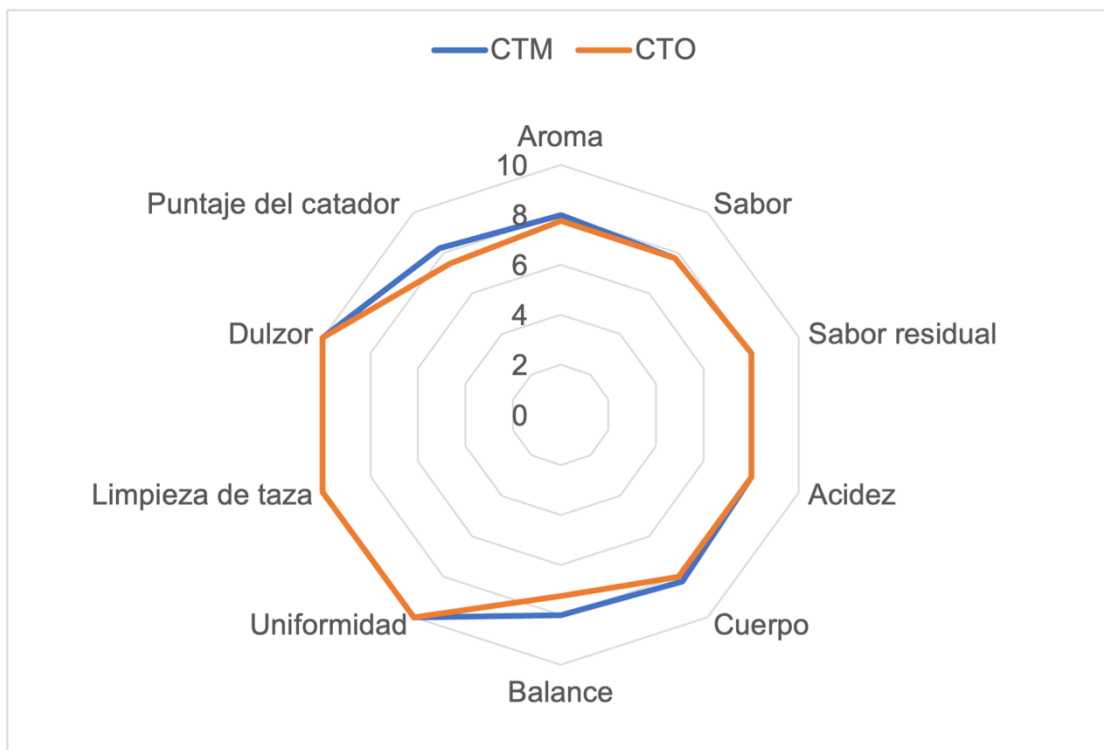


Figura 17. Comparación del perfil sensorial de los atributos de los cafés comerciales CTM y CTO.

Los atributos sensoriales están relacionados con las condiciones geográficas, el clima, la altitud y las prácticas de campo de cultivo (Cortés-Macías et al., 2022). Los cafés comerciales analizados en este estudio son cuidadosamente recolectados a mano considerando la uniformidad de los granos de cerezas maduras, eliminando frutos verdes y secos de variedades de las plantas *C. arabica* cultivadas a partir de 1900 m.s.n.m. bajo la sombra de otros árboles nativos del lugar; además, durante el secado, las cerezas se colocan en camas para evitar el contacto con el suelo y el crecimiento de microorganismos contaminantes. Además, los granos seleccionados y clasificados se almacenan en espacios con humedad controlada para preservar la calidad de los granos verdes.

Los granos de *C. arabica* L. de Brasil procesados como café natural (87.8 puntos) presentaron mejores atributos en aroma, sabor, acidez y cuerpo que el café

enmielado (83.8 puntos), posiblemente debido a la fermentación realizada por los microorganismos presentes en la fruta (Stanek et al., 2021). Asimismo, el café natural (seco, 80), húmedo (85) y semiseco (86) con fermentación de *C. arabica* variedad Colombia, presentó atributos similares como cuerpo afrutado medio, acidez fresca media y sabores a chocolate y caramelo.

8.5. Actividad biológica

8.5.1. Efecto antioxidante

El café es una fuente rica en antioxidantes debido a su composición química. Todos los componentes de la planta *C. arabica* han mostrado actividad biológica de interés siendo los granos lo más estudiados debido al consumo que éste tiene; los granos verdes presentan un mayor contenido de compuestos fenólicos lo cual se relaciona con muchos de los efectos benéficos reportados (Acidri et al., 2020).

El efecto de los compuestos antioxidantes puede ser determinada por diferentes métodos de inhibición de radicales libre, siendo los más comunes el DPPH, ABTS, FRAP y ORAC. En este trabajo se evaluó la actividad antioxidante de los extractos CTM y CTO determinada por los equivalentes de Trolox y ACG relacionados con el efecto inhibitorio de los radicales de las diferentes técnicas empleadas. El extracto de CTM presentó mayor actividad en equivalentes por lo que fue capaz de inhibir mejor los radicales de DPPH y ABTS, en el caso de la prueba de FRAP se pudo comprobar una mejor reducción del complejo férrico a ferroso, por lo que se puede decir que no sólo los compuestos identificados en este estudio tienen efecto antioxidante, es probable que existan otros compuestos que estén contribuyendo al efecto (Tabla 14).

La actividad biológica se vio relacionada con la cantidad de ACG contenido en los extractos. De acuerdo con el CI_{50} , inhibición del 50% de los radicales de DPPH y ABTS, se requiere una mayor cantidad del extracto de CTO para tener un efecto similar al del CTM, el cual presentó el mayor contenido de ACG (30.26 mg/g) en los granos procesados, lo que indica que la degradación de compuestos fenólicos influye en la respuesta obtenida (Tabla 15).

Tabla 14. Actividad antioxidante de los cafés comerciales con mezcla de variedades de *Coffea arabica*.

Muestra	DPPH		ABTS		FRAP		
	eq ACG	eq Trolox	eq ACG	eq Trolox	eq ACG	eq Trolox	eq FeSO4
CTM	1.60 ± 0.27*	52.74 ± 4.84*	16.09 ± 0.33*	14.39 ± 1.16	16.22 ± 1.04*	14.59 ± 2.35*	54.68 ± 1.46*
CTO	1.12 ± 0.37	42.52 ± 1.91	12.49 ± 0.46	12.15 ± 0.49	8.82 ± 0.94	6.38 ± 1.40	33.30 ± 0.63

Los valores son la media ± desviación estándar (n=3). De acuerdo con la prueba *t-Student* ($p \leq 0.05$) las medias con * fueron significativamente diferentes.

Tabla 15. Concentración inhibitoria (CI_{50}) de los cafés comerciales de mezcla de variedades de *Coffea arabica*.

Prueba	Concentración Inhibitoria 50					
	CTM	CTO	CTM	CTO	ACG	Trolox
	mg/mL extracto		μ g/mL contenido de ACG		μ g/mL estándar	
DPPH	2.22 ± 0.08*	2.59 ± 0.05	56.92 ± 1.90*	66.20 ± 1.46	28.18 ± 0.83*	91.88 ± 3.75
ABTS	0.38 ± 0.02*	0.49 ± 0.02	9.69 ± 0.35*	12.67 ± 0.44	6.51 ± 0.16	6.29 ± 0.03*

Los valores son la media ± desviación estándar (n=3). De acuerdo con la prueba *t-Student* ($p \leq 0.05$) las medias con * fueron significativamente diferentes-

En un estudio realizado en granos de *C. arabica* variedad Colombia se observó que los granos tostados mostraron un mejor efecto antioxidante que los granos verdes, esto puede estar relacionado a la desintegración de ácidos fenólicos a fenoles simples y la formación de compuestos de alto peso molecular generados durante el tostado (Cortés-Macías et al., 2022).

En estudios donde se emplearon granos con tostados de la variedad Colombia mostraron un mejor efecto antioxidante que los granos verdes, posiblemente esté relacionado con la liberación de pequeños compuestos durante la degradación como el ácido ferúlico, cafeico, vanílico y guayacol, y a la formación de las melanoidinas (Várady et al., 2021). Otras moléculas relacionadas con el efecto principal de las bebidas son la cafeína, la epicatequina, la catequina, las antocianinas y las melanoidinas que pueden desentrañar diversos mecanismos para la eliminación o inhibición de los radicales libres (Moreira et al., 2012; Pérez-Hernández et al., 2013; Rufián-Henares & Pastoriza, 2015).

En granos de mezcla de las variedades Típica-Borbón la mejor actividad antioxidante se registró en los tostados claros y medios en comparación a los oscuros guardando relación con el contenido de ACG, los granos con mayor tostado presentaron una reducción en su contenido del 60% (Górecki & Hallmann, 2020). Algo similar se registró en la variedad Catuai donde los granos con un tostado ligero en comparación con el tostado oscuro; los granos con tostado ligero presentaron un mayor contenido de fenoles totales (44.20 mg de ácido gálico/g) y mejor actividad antioxidante en los diferentes métodos empleados ABTS (22,933.62 $\mu\text{mol TE/g}$), FRAP (45.85 $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g}$) y DPPH (1150.5 $\mu\text{mol TE/g}$) (De Melo Pereira et al., 2019).

El efecto beneficioso del café está relacionado con su consumo, el metabolismo y sensibilidad de las personas a los compuestos presentes en las bebidas; en promedio, generalmente se ingieren de 2 a 4 tazas de café por día. Los principales países consumidores son Estados Unidos y Europa; el mayor consumo por persona se presenta en los países nórdicos (Cortés-Macías et al., 2022). Las propiedades antioxidantes de la bebida de café son atribuidas al ACG y otros fenoles, a la

epicatequina, catequina y antocianinas, y de forma indirecta a la cafeína (Murai & Matsuda, 2023).

Los diversos extractos del café han mostrado efectos benéficos en los organismos vivos como actividad antioxidante, incremento en la actividad de la síntesis de glutatión, modulación en la expresión de los oncogenes, así como actividad citotóxica induciendo a la apoptosis a las células cancerígenas, relacionado con muchos de los compuestos ya conocidos y estudiados del café (Dos Santos et al., 2020; Naveed et al., 2018; Xu et al., 2022). El estrés oxidante es un desencadenante de enfermedades degenerativas crónicas como la artritis, la diabetes mellitus y el cáncer. Se han reportado importantes efectos farmacológicos como antiinflamatorios, regulación de los metabolismos de glucosa y lípidos, y anticancerígenos en una dieta con consumo de café (Farah & de Paula Lima, 2019).

8.5.2. Actividad citotóxica

El café, al ser un producto alimenticio con alta demanda en todo el mundo, debe estar libre de compuestos químicos y agentes biológicos nocivos. Cuando los granos son expuestos a altas temperaturas se promueve la formación de compuestos tóxicos como la acrilamida y el hidroximetilfurfural, que se consideran cancerígenos o genotóxicos (Castaldo et al., 2020; Várady et al., 2021).

De acuerdo con lo realizado en la prueba de Cl_{50} de los extractos CTO y CTM sobre el crecimiento de la línea celular de fibroblastos 3T3-L1 a las 24 y 48h de exposición, se determinó que las infusiones no presentaron efectos citotóxicos (Tabla 16). Se ha determinado que un extracto vegetal es citotóxico cuando presenta valores de $Cl_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ (Cordell et al., 1994). Las muestras comerciales (CTM y CTO) analizadas no mostraron efectos tóxicos, probablemente debido al nulo o bajo contenido de compuestos nocivos en estos cafés.

Los estudios sobre extractos de café han reportado un efecto citotóxico en las líneas celulares de cáncer de próstata DU145 y PC3, sin mostrar efectos tóxicos en líneas celulares sanas de macrófagos (RAW 2647), hepatocitos (AML-12) o células normales de fibroblastos CCD-18Co (Dos Santos et al., 2020).

Tabla 16. Concentración inhibitoria media de los cafés comerciales de las variedades de *Coffea arabica* en la línea celular de fibroblastos 3T3-L1.

Café	CI ₅₀ (µg/mL)	
	24 h	48 h
CTO	>1000	216.26±27.7
CTM	647.41±188.4	234.63±29.6

Los valores son la media ± desviación estándar (n=3).

Uno de los compuestos tóxicos más mencionados del café es la acrilamida por la afectación que este puede generar en los organismos, la regulación de este compuesto depende de cada país o región en el caso de la Unión Europea donde se cuenta con una legislación, el límite permisible para el contenido de acrilamida es de 400 µg/kg para el café tostado, mientras que para el café soluble es de 800 µg/kg. Diversos estudios en diferentes cafés muestran cantidades variables de acrilamida, pero se ha demostrado que en cafés oscuros o con niveles prolongados de tostado, el contenido de acrilamida puede ser mayor que en cafés medios o claros (Endeshaw & Belay, 2020; Kocadağlı & Gökmen, 2022). La producción de estos compuestos puede estar relacionada con el tamaño y la humedad de los granos, los aminoácidos libres y el contenido de azúcar, y la acidez (Cwиковá et al., 2022).

8.6. Propagación *in vitro*

8.6.1. Elongación de las yemas apicales

A los 30 días de cultivo las yemas apicales sólo desarrollaron un par de hojas. En los siguientes subcultivos se hizo visible la elongación del tallo y nuevos pares de hojas sin la formación de brotes, el empleo de BAP para la elongación fue necesaria ya que la ausencia mostró un crecimiento lento o sin efecto en el explante. A los 120 días de cultivo, en promedio se desarrollaron 3 internodos y 8 hojas por cada yema sin la formación de raíz o de alguna otra estructura. La finalidad de este

proceso fue generar material biológico para la obtención de segmentos nodales que fueron empleados en el proceso de brotación múltiple (Figura 18).



Figura 18. Elongación de las yemas apicales de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca en diferentes meses de cultivo sin formación de brotes.

8.6.2. Inducción de brotación

A los 30 días en cultivo los nodos mostraron la formación de dos brotes laterales en los medios suplementados con BAP o en combinación con AIA. En el segundo subcultivo se observó la formación de brotes nuevos en los nodos; a este tiempo, los primeros brotes se elongaron y desarrollaron otros pares de hojas. A los 90 días de cultivo se registró el número de brotes obtenidos por nodo y se clasificaron con base a su longitud al momento de la individualización; aquellos con una medida mayor a 1.0 cm se emplearon para su enraizamiento. Brotes con menor tamaño se subcultivaron en el mismo tratamiento hormonal. En general, los brotes presentaban características similares de color y forma de las hojas, a excepción de los brotes generados en el tratamiento con 6 mg/L de BAP cuyas hojas eran de color más verdes y mejor desarrolladas, así como tallos de mayor grosor (Figura 19).

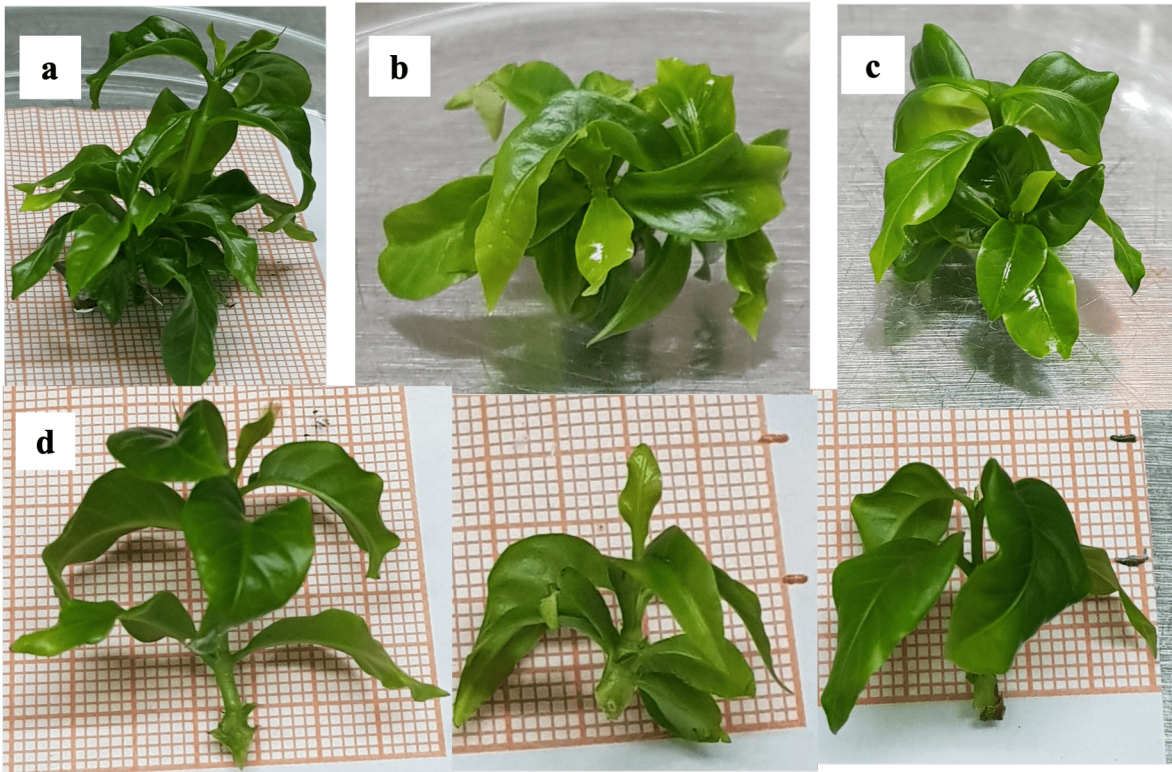


Figura 19. Respuesta de la brotación múltiple de los diferentes tratamientos en los segmentos nodales de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca a los 90 días de cultivo, a) 4.0 mg/L de BAP y 0.5 de AIA; b) 6.0 mg/L de BAP y 0.5 de AIA; c) 8.0 mg/L de BAP y 0.5 de AIA; d) brotes individualizados de diferentes tamaños que fueron puestos a tratamiento de enraizamiento.

A los 90 días de cultivo el número de brotes, la longitud de los brotes y el número de hojas generados en las diferentes concentraciones de BAP y en combinación con AIA fueron estadísticamente similares (Tabla 17). Se ha reportado que el empleo de altas concentraciones de citocinas y baja de auxina favorecen la formación de brotes en diversas plantas incluyendo a las especies del género *Coffea*. Las citocinas activan la proliferación de las células meristemáticas mientras las auxinas realizan la diferenciación de las células del primordio (Ortega Ortega, 2019). En este estudio la combinación de BAP con AIA no incrementó la formación de brotes.

Tabla 17. Efecto de las concentraciones de bencilaminopurina (BAP) y ácido indolacético (AIA) en la inducción de brotes de *Coffea arabica* variedad Oro azteca a los 90 días de cultivo.

Tratamientos en mg/L		No. de brotes	Longitud (cm)	No. de hojas
BAP	AIA			
4	–	4.6 ± 0.45	0.69 ± 0.21	4.2 ± 0.17
6	–	5.3 ± 0.36	0.70 ± 0.18	4.1 ± 0.15
8	–	5.3 ± 0.26	0.62 ± 0.19	4.1 ± 0.13
4	0.5	4.0 ± 0.29	0.70 ± 0.22	4.6 ± 0.18
6	0.5	5.3 ± 0.42	0.61 ± 0.26	4.3 ± 0.20
8	0.5	4.7 ± 0.30	0.62 ± 0.25	4.3 ± 0.13

Los valores son la media ± error estándar (n = 12). De acuerdo con la prueba de ANOVA ($p \leq 0.05$). Número de brotes $F = 1.2569$, $p = 0.2991$; longitud $F = 2.2678$, $p = 0.1077$; número de hojas $F = 0.1626$, $p = 0.8501$.

En un estudio de 16 variedades de *Coffea arabica* empleando diversas combinaciones de reguladores de crecimiento se registró el mayor porcentaje de regeneración de plantas del 73.33 % cuando se empleó 2.0 mg/L de thidiazuron (TDZ) y 0.5 mg/L de ácido naftalenacético (ANA), el segundo mejor tratamiento se presentó con el uso de 2.0 mg/L de BAP y 0.5 mg/L de AIA registrando el 53.33% de regeneración en las mismas variedades de café (Ortega Ortega, 2019).

El uso de 11 mg/L de 6-BAP mostró la formación de 6 a 8 brotes por nodo en las variedades Mundo Novo y Caturra Amarelo indicando que empleo de una alta concentración de este regulador de crecimiento favoreció la brotación en estas variedades, mientras otros autores consideran que el empleo de altas concentraciones de citocinas puede inhibir la formación de brotes como lo encontrado en la variedad Mundo Novo en tratamientos de 0 – 20 mg/L de 6-BAP, registrando 6.5 brotes por nodo al utilizar 5 mg/L mayores concentraciones de este regulador presentó un menor número de regeneración en esta variedad. (Da Silva Ramos & Silva De Almeida, 2005).

En otros estudios se comparó el uso de BA y TDZ (2.0 – 8.0 mg/L) de manera independiente en variedades de Oudayni, Hammady y Dawaeiry de *C. arabica*,

donde el mejor tratamiento registró un promedio de 15 a 18 brotes en las tres variedades por efecto de BA cuando se empleó 8.0 mg/L en comparación de TDZ que mostró menor formación de brotes (Shatnawi et al., 2007b). El uso de BAP para el proceso de elongación como de brotación es necesario ya que la ausencia de esta citocina mostró que el tiempo de respuesta como de formación es muy bajo y lento, con lo revisado y lo realizado es posible emplear 6.0 mg/L de BAP y 0.5 mg/L de AIA para el proceso de brotación múltiple, con los estudios revisados empleando concentraciones menores o iguales a 8 mg mostró el mayor número de regeneración. En esta etapa se requiere de probar diversas citocinas con un alto número de repeticiones para encontrar el mejor número de formación de brotes.

8.6.3. Enraizamiento

Los brotes de 1.0 cm de longitud individualizados y cultivados en medio MS sin hormonas y/o con 1.0 mg/L de AIA se tornaron a color amarillo y necrosis en la base de los tallos sin formar raíz hasta los tres meses de cultivos. La adición de 0.5 mg/L de AIA permitió la formación de una raíz principal a estos meses de cultivo. Para los siguientes subcultivos se utilizó el medio MS reducido al 50% de sales y de sacarosa, y libre de regulador de crecimiento, de acuerdo con lo observado esta condición promovió el crecimiento y fortalecimiento de la raíz primaria, así como la formación de raíces secundarias. El AIA es una hormona natural presentes en las plantas relacionada con la estimulación de la síntesis de otras hormonas que estimulan la formación y elongación de la raíz.

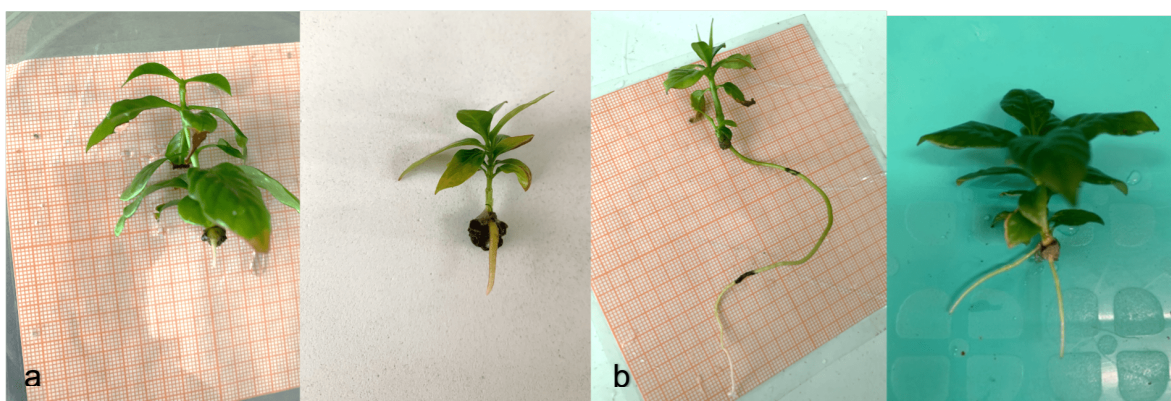


Figura 20. Brotes con raíz cultivados en MS y 0.5 mg de AIA; a) a los 30 días de emergencia de la raíz y b) elongación a los 90 días de cultivo.

8.6.4. Aclimatización

Las plántulas se sometieron al proceso de aclimatización, para ello fueron colocadas en el sustrato y se mantuvieron por un mes en el cuarto de cultivo realizando el riego con una solución de sales MS al 25% y control de humedad removiendo periódica y paulatinamente el domo de plástico protector para evitar la putrefacción y crecimiento de hongos en las plántulas. Pasado el mes las plantas presentaban una longitud de 2.0 a 3.0 cm en promedio las cuales fueron llevadas a invernadero para su adaptación completa presentando una elongación en el tallo, formación de hojas con mayor tamaño, así como crecimiento y aumento en el número de raíces (Figura 21).

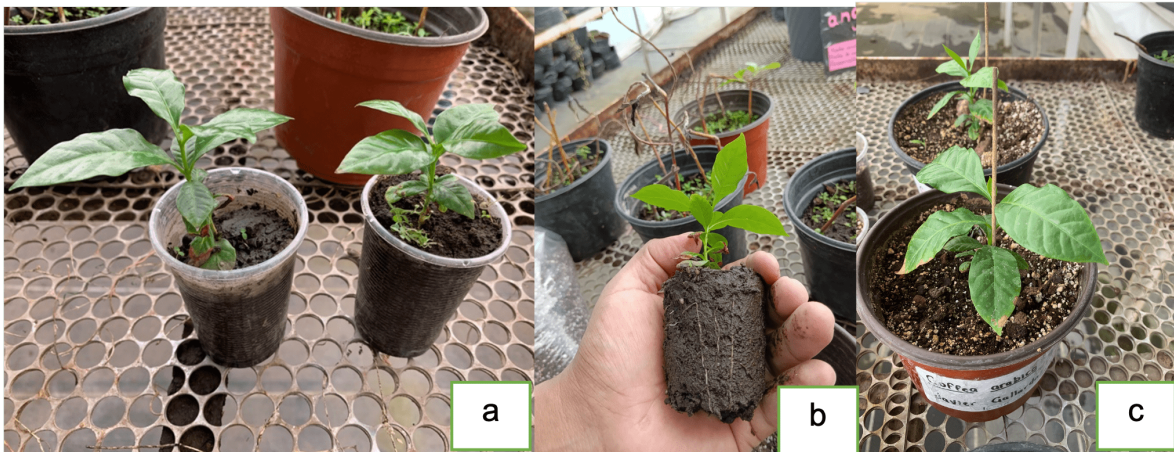


Figura 21. Plantas de *Coffea arabica* variedad Oro Azteca, a) plantas aclimatizadas de un mes en invernadero, b) plantas con formación y aumento en el número raíces, c) planta a los dos meses en invernadero.

En el invernadero las plantas se regaron periódicamente con agua y cada 15 días con la solución de MS al 25%, al mes 1 el aumento en la longitud del tallo fue notorio con formación de nuevos pares de hojas para los siguientes meses el crecimiento fue constante acompañadas de hojas, registrando un porcentaje de sobrevivencia del 85% en invernadero a los 3 meses (Tabla 18). Una tasa de adaptación mayor al 90% indica un protocolo exitoso ya que la etapa de aclimatización es un proceso importante en la micropropagación de las plantas así como evitar mostrar cambios en el fenotipo de las plantas obtenidas (AL-Azab et al., 2015).

Tabla 18. Crecimiento y formación de hojas de plantas de la variedad Oro Azteca en condiciones de invernadero.

Tiempo	Longitud (cm)	Hojas
Mes 1	4.4 ± 1.7	12 ± 1
Mes 2	8.2 ± 1.2	14 ± 1.9
Mes 3	11.1 ± 2.1	16 ± 1.6

Los valores son la media ± desviación estándar (n=10).

9. Conclusiones

- Con base a los parámetros nutrimentales establecidos por la norma NMX-F-013-SCFI-2010, se determinó que el procesamiento en seco de los frutos de café y condiciones de tostado medio (CTM) y tostado oscuro (CTO) permite obtener productos comerciales de calidad.
- Las variaciones en el contenido de ACG y cafeína están relacionadas con las condiciones de procesamiento de los granos y procedimiento de preparación de la bebida.
- El ACG y la cafeína son los compuestos farmacológicamente activos determinados como mayoritarios en las infusiones de café verde y tostado (CTM y CTO), cuyo contenido se modificó con la temperatura de tostado.
- El contenido de cafeína determinado en el CTM y CTO es similar al determinado en el café producido en diferentes estados de México, siendo menor al especificado para café tostado por la Norma Mexicana (NMX-F-013-SCFI-2010).
- En el proceso de tostado de los granos de café se generaron melanoidinas (CTM y CTO), cuyo contenido se incrementó con el nivel del tostado (CTO).
- La calidad del café depende de las propiedades físicas y organolépticas de la bebida asociada principalmente al contenido de compuestos químicos como ACG, cafeína y melanoidinas, entre otros.
- El puntaje del perfil sensorial establecido por la norma PROY-NOM-255-SE-2021 clasificó al CTM como café natural de especialidad (86.25 puntos) con aromas de frutas tropicales y sabores de vino blanco, uva y miel; y al CTO como café natural Premium (84.25 puntos) un aroma floral y afrutado con sabor a dátil, uva y manzana roja, con una acidez cítrica tartárica, un cuerpo jugoso-sedoso y dulzor medio-alto.
- Las infusiones del CTM (30.26 mg/g) y CTO (14.52 mg/g) presentaron actividad antioxidante correlacionada con el contenido de ACG; compuesto responsable de importantes efectos farmacológicos (hipolipemiente, hipoglucemiante y antiinflamatorio) atribuidos a la bebida del café.

- Con base a las pruebas de citotoxicidad de las infusiones de CTM y CTO en fibroblastos 3T3-L1s se determinó que las infusiones no presentaron efectos tóxicos, infiriendo que el contenido de compuestos nocivos como la acrilamida es bajo.
- Se estableció un proceso *in vitro* para la propagación clonal de la especie *Coffea arabica* variedad Oro Azteca: generación de brotes múltiples en nodos empleando 6 mg/L de BAP sin la adición de AIA en medio MS, el enraizamiento de los brotes con la adición de 0.5 mg/L de AIA y reducción del contenido de sacarosa y sales del medio MS.
- Las plántulas de café de la variedad Oro Azteca obtenidas *in vitro* fueron aclimatizadas con una tasa de supervivencia del 85% de plantas en condiciones de invernadero.
- Los resultados obtenidos servirán de base para la mejora de sus los productos actuales y una alternativa de búsqueda de nuevos mercados; así como para la búsqueda de apoyos económicos para la implementación de un sistema de renovación de los cultivos con plantas obtenidos mediante cultivo *in vitro*.

10.Perspectivas

- Divulgar los resultados obtenidos en este estudio con los productores de la Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña para conocer los atributos de sus cafés comerciales y las áreas de oportunidades a mejorar.
- Proponer nuevas mezclas de los granos de café verde de las variedades de *C. arabica* Típica, Borbón y Oro Azteca, y a través de los análisis químicos y sensoriales determinar la proporción de granos que cumplan con los requerimientos marcados en las normas mexicanas.
- Plantar en campos de cultivo de la Cooperativa Cafeticultores ME PHAA de la Montaña las plantas de *C. arabica* variedad Oro Azteca obtenidas mediante cultivo *in vitro* con el propósito de evaluar su adaptabilidad, rendimiento y producción tanto de frutos como de granos.
- Evaluar la resistencia al hongo *Hemileia vastatrix*, causante de la roya anaranjada en condiciones naturales de campo en plantas de *Coffea arabica* de la variedad Oro Azteca.

11. Referencias

- Acidri, R., Sawai, Y., Sugimoto, Y., Handa, T., Sasagawa, D., Masunaga, T., Yamamoto, S., & Nishihara, E. (2020). Phytochemical profile and antioxidant capacity of coffee plant organs compared to green and roasted coffee beans. *Antioxidants*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/antiox9020093>
- Aga, E., Khillare, Y., & Ambedkar, B. (2017). *In vitro* regeneration of shoots from apical and auxiliary bud explants of *Coffea arabica* L. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 9(1), 9–12.
- Aguilar, M. E., Ortiz, J. L., Mesén, F., Jiménez, L. D., & Altmann, F. (2018). *Cafe Arabica Coffea arabica* L. (pp. 39–62). https://doi.org/10.1007/978-3-319-79087-9_3
- Alamri, E., Rozan, M., & Bayomy, H. (2022). A study of chemical Composition, Antioxidants, and volatile compounds in roasted Arabic coffee. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(5), 3133–3139. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.03.025>
- AL-Azab, A., Habib, S. M., Hussein, A., & El-Sherif, F. (2015). Micropropagation of Four Coffee Cultivars (*Coffea arabica* L.) from Yemen through Shoot Tip Culture. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 4(4), 25–31.
- Alianza Estratégica para el Desarrollo de la Región Pacífico Sur. (2018). *Planeación espacial participativa y diálogo estratégico*. Planeación Espacial Participativa y Diálogo Estratégico. <http://adesur.centrogeo.org.mx/ms/guerrero/narrative/77>
- Al-Megrin, W. A., El-Khadragy, M. F., El-Khadragy, M. F., Hussein, M. H., Mahgoub, S., Abdel-Mohsen, D. M., Taha, H., Bakkar, A. A. A., Abdel Moneim, A. E., & Amin, H. K. (2020). Green *Coffea arabica* Extract Ameliorates Testicular Injury in High-Fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Journal of Diabetes Research*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6762709>
- Anthony, F., Bertrand, B., Etienne, H., & Lashermes, P. (2011). *Coffea* and *Psilanthus*. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (pp. 41–61). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21201-7_3
- Asociación Mexicana de la Cadena Productiva del Café. (2011). *Estrategia De Innovación Hacia La Competitividad En La Cafeticultura Mexicana*. <https://docplayer.es/12578740-Plan-de-innovacion-en-la-cafeticultura-de-mexico.html>
- Awwad, S., Issa, R., Alnsour, L., Albals, D., & Al-Momani, I. (2021). Quantification of Caffeine and Chlorogenic Acid in Green and Roasted Coffee Samples Using HPLC-DAD and Evaluation of the Effect of Degree of Roasting on Their Levels. *Molecules*, 26(24), 7502. <https://doi.org/10.3390/molecules26247502>
- Babova, O., Occhipinti, A., & Maffei, M. E. (2016). Chemical Partitioning and Antioxidant Capacity of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of Different Geographical Origin. *Phytochemistry*, 123, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.016>
- Barrera, J. F. (2017). Insect Pests of Coffee and their Management in Nature-friendly Production Systems. In V. Vacante & S. Kreiter (Eds.), *Handbook of Pest Management in Organic Farming* (pp. 477–501). CABI.
- Bhandarkar, N. S., Brown, L., & Panchal, S. K. (2019). Chlorogenic Acid Attenuates High-Carbohydrate, High-Fat Diet-Induced Cardiovascular, Liver, and Metabolic Changes in Rats. *Nutrition Research*, 62, 78–88. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.11.002>
- Bobadilla Landey, R. (2013). *Influence of Micropropagation Through Somatic Embryogenesis on Somaclonal Variation in Coffee (Coffea arabica): assessment of*

- variations at the phenotypical, cytological, genetic and epigenetic level* [Doctoral thesis, Université Montpellier II]. <https://theses.hal.science/tel-01016417/>
- Boonphang, O., Ontawong, A., Pasachan, T., Phatsara, M., Duangjai, A., Amornlerdpison, D., Jinakote, M., & Srimaroeng, C. (2021). Antidiabetic and Renoprotective Effects of *Coffea arabica* Pulp Aqueous Extract Through Preserving Organic Cation Transport System Mediated Oxidative Stress Pathway in Experimental Type 2 Diabetic Rats. *Molecules*, 26(7). <https://doi.org/10.3390/molecules26071907>
- Campos, N. A., Panis, B., & Carpentier, S. C. (2017). Somatic embryogenesis in coffee: The evolution of biotechnology and the integration of omics technologies offer great opportunities. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01460>
- Caprioli, G., Cortese, M., Sagratini, G., & Vittori, S. (2015). The Influence of Different Types of Preparation (Espresso and Brew) on Coffee Aroma and Main Bioactive Constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(5), 505–513. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1064871>
- Castaldo, L., Narváez, A., Izzo, L., Graziani, G., & Ritieni, A. (2020). *In vitro* Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Coffee Silverskin Polyphenolic Extract and Characterization of Bioactive Compounds using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Molecules*, 25(9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092132>
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2018). *El Café en México Diagnóstico y Perspectiva*. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/10/30EI%20caf%C3%A9%20en%20M%C3%A9xico:%20diagn%C3%B3stico%20y%20perspectiva.pdf>
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria. (2019, July). *Comercio Internacional del Café, el Caso de México*. CEDRSSA. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/b/13/94Caf%C3%A9%20-Producci%C3%B3n%20y%20Consumo.pdf>
- Cereals & Grains Association. (2017). *Approved Methods of Analysis*. <https://www.cerealsgrains.org/resources/methods/Pages/default.aspx>
- Choi, S., Jung, S., & Ko, K. S. (2018). Effects of Coffee Extracts With Different Roasting Degrees on Antioxidant and Anti-inflammatory Systems in Mice. *Nutrients*, 10(3). <https://doi.org/10.3390/nu10030363>
- Clifford, M. N., & Willson, K. C. (1985). *Coffee* (M. N. Clifford & K. C. Willson, Eds.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6657-1>
- Contreras-Medina, D. I., Contreras-Medina, L. M., Pardo-Nuñez, J., Olvera-Vargas, L. A., & Rodríguez-Peralta, C. M. (2020). Roadmapping as a Driver for Knowledge Creation: A Proposal for Improving Sustainable Practices in the Coffee Supply Chain from Chiapas, Mexico, Using Emerging Technologies. *Sustainability (Switzerland)*, 12(14), 1–26. <https://doi.org/10.3390/su12145817>
- Cordell, G. A., Farnsworth, N. R., Beecher, C. W. W., Soejarto, D. D., Kinghorn, A. D., Pezzuto, J. M., Wall, M. E., Wani, M. C., Cobb, R. R., O'Neill, M. J., Tait, R. M., & Harris, T. J. R. (1994). Novel Strategies for the Discovery of Plant-Derived Anticancer Agents. In *Anticancer Drug Discovery and Development: Natural Products and New Molecular Models* (pp. 63–83). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2610-0_4
- Cortés-Macías, E. T., López, C. F., Gentile, P., Girón-Hernández, J., & López, A. F. (2022). Impact of Post-harvest Treatments on Physicochemical and Sensory Characteristics of

- Coffee Beans in Huila, Colombia. *Postharvest Biology and Technology*, 187. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111852>
- Cwiková, O., Komprda, T., Šottníková, V., Svoboda, Z., Simonová, J., Slováček, J., & Jůzl, M. (2022). Effects of Different Processing Methods of Coffee Arabica on Colour, Acrylamide, Caffeine, Chlorogenic Acid, and Polyphenol Content. *Foods*, 11(20), 3295. <https://doi.org/10.3390/foods11203295>
- Da Silva Ramos, L. C., & Silva De Almeida, J. A. (2005). Effect of 6-BA on Nodal Explant Bud Sproutings of *Coffea arabica* CV. Mundo Novo. *Bragantia*, 64(2), 185–190. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90864203>
- Davis, A. P., Chester, M., Maurin, O., & Fay, M. F. (2007). Searching for the Relatives of *Coffea* (Rubiaceae, Ixoroideae): the Circumscription and Phylogeny of Coffeae Based on Plastid Sequence Data and Morphology. *American Journal of Botany*, 94(3), 313–329. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.313>
- Davis, A. P., Gargiulo, R., Almeida, I. N. das M., Caravela, M. I., Denison, C., & Moat, J. (2021). Hot Coffee: The Identity, Climate Profiles, Agronomy, and Beverage Characteristics of *Coffea racemosa* and *C. zanguebariae*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5, 383. <https://doi.org/10.3389/FSUFS.2021.740137/BIBTEX>
- Davis, A. P., Gargiulo, R., Fay, M. F., Sarmu, D., & Hagggar, J. (2020). Lost and Found: *Coffea stenophylla* and *C. affinis*, the Forgotten Coffee Crop Species of West Africa. *Frontiers in Plant Science*, 11, 616. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.00616/BIBTEX>
- De Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Magalhães Júnior, A. I., Vásquez, Z. S., Medeiros, A. B. P., Vandenberghe, L. P. S., & Soccol, C. R. (2019). Exploring the impacts of postharvest processing on the aroma formation of coffee beans – A review. *Food Chemistry*, 272, 441–452. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.061>
- Delgado-Alvarado, A. (2018). Sistema de Producción de Café (*Coffea arabica* L.) en la Comunidad del Cerro Cuate, Iliatenco, Guerrero. *Agro Productividad*, 11(10), 157–163. <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i10.1262>
- Dos Santos, de S. L., Carrero, H. I. P., De Souza Rosa, L. R., Barbosa, L. L. G., Santos, da R. J., Montenegro, J., Da Silva, S. L., Nana, de C. R. B., Freitas-Silva, O., & Teodoro, J. A. (2020). Effect of the Roasting Levels of *Coffea arabica* L. Extracts on their Potential Antioxidant Capacity and Antiproliferative Activity in Human Prostate Cancer Cells. *RSC Advances*, 10(50), 30115–30126. <https://doi.org/10.1039/D0RA01179G>
- Duangjai, A., Saokaew, S., Goh, B.-H., & Phisalprapa, P. (2021). Shifting of Physicochemical and Biological Characteristics of Coffee Roasting Under Ultrasound-Assisted Extraction. *Frontiers in Nutrition*, 8(August), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.724591>
- Endeshaw, H., & Belay, A. (2020). Optimization of the roasting conditions to lower acrylamide content and improve the nutrient composition and antioxidant properties of *Coffea arabica*. *PLoS ONE*, 15(8 August). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237265>
- Escamilla, E., & Díaz, S. (2018, May 19). *Las variedades de alta calidad: una alternativa para la cafecultura mexicana*. La Jornada Del Campo. <https://www.jornada.com.mx/2018/05/19/cam-variedades.html>
- Etienne, H., Dechamp, E., Barry-Etienne, D., & Bertrand, B. (2006). Bioreactors in coffee micropropagation. In *Braz. J. Plant Physiol* (Vol. 18, Issue 1).
- Farah, A., & dePaula Lima, J. (2019). Consumption of Chlorogenic Acids through Coffee and Health Implications. *Beverages*, 5(1), 11. <https://doi.org/10.3390/beverages5010011>

- Farah, A., & Donangelo, C. M. (2006). Phenolic Compounds in Coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 23–36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
- Flores Vichi, F. (2015). La Producción de Café en México: Ventana de Oportunidad para el Sector Agrícola de Chiapas. *Revista Espacio I+D Innovación Más Desarrollo*, 4(7), 174–194. <https://doi.org/10.31644/IMASD.7.2015.a07>
- Godos, J., Pluchinotta, F. R., Marventano, S., Buscemi, S., Li Volti, G., Galvano, F., & Grosso, G. (2014). Coffee Components and Cardiovascular Risk: Beneficial and Detrimental Effects. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(8), 925–936. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.940287>
- Górecki, M., & Hallmann, E. (2020). The Antioxidant Content of Coffee and Its *in Vitro* Activity as an Effect of Its Production Method and Roasting and Brewing Time. *Antioxidants*, 9(4), 308. <https://doi.org/10.3390/antiox9040308>
- Górnaś, P., Dwiecki, K., Siger, A., Tomaszewska-Gras, J., Michalak, M., & Polewski, K. (2016). Contribution of Phenolic Acids Isolated from Green and Roasted Boiled-Type Coffee Brews to Total Coffee Antioxidant Capacity. *European Food Research and Technology*, 242(5), 641–653. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2572-1>
- Herrera, J. C., & Lambot, C. (2017). The Coffee Tree—Genetic Diversity and Origin. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 1–16). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00001-3>
- Hidalgo-Espinosa, E. (2020, March 25). *Coffee Origins: A Guide to Mexico - Perfect Daily Grind*. Perfect Daily Grind. <https://perfectdailygrind.com/2020/03/coffee-origins-a-guide-to-mexico/>
- Hu, G. L., Wang, X., Zhang, L., & Qiu, M. H. (2019). The Sources and Mechanisms of Bioactive Ingredients in Coffee. *Food & Function*, 10(6), 3113–3126. <https://doi.org/10.1039/C9FO00288J>
- Hutachok, N., Angkasith, P., Chumpun, C., Fucharoen, S., Mackie, I. J., Porter, J. B., & Srichairatanakool, S. (2020). Anti-Platelet Aggregation and Anti-Cyclooxygenase Activities for a Range of Coffee Extracts (*Coffea arabica*). *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(1). <https://doi.org/10.3390/molecules26010010>
- Jeszka-Skowron, M., Sentkowska, A., Pyrzyńska, K., & De Peña, M. P. (2016). Chlorogenic Acids, Caffeine Content and Antioxidant Properties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Coffee Bean Preparation. *European Food Research and Technology*, 242(8), 1403–1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>
- Jung, S., Gu, S., Lee, S. H., & Jeong, Y. (2021). Effect of Roasting Degree on the Antioxidant Properties of Espresso and Drip Coffee Extracted from *Coffea arabica* cv. Java. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(15). <https://doi.org/10.3390/app11157025>
- Khochapong, W., Ketnawa, S., Ogawa, Y., & Punbusayakul, N. (2021). Effect of *in vitro* Digestion on Bioactive Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Coffee (*Coffea arabica* L.) Pulp Aqueous Extract. *Food Chemistry*, 348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129094>
- Kocadağlı, T., & Gökmen, V. (2022). Formation of Acrylamide in Coffee. *Current Opinion in Food Science*, 45, 100842. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100842>
- Król, K., Gantner, M., Tatarak, A., & Hallmann, E. (2020). The Content of Polyphenols in Coffee Beans as Roasting, Origin and Storage Effect. *European Food Research and Technology*, 246(1), 33–39. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03388-9>
- Kumar, V., Madhava Naidu, M., & Ravishankar, G. A. (2006). Developments in coffee biotechnology - *In vitro* plant propagation and crop improvement. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 87(1), 49–65. <https://doi.org/10.1007/S11240-006-9134-Y>

- Kwak, H. S., Jeong, Y., & Kim, M. (2018). Effect of Yeast Fermentation of Green Coffee Beans on Antioxidant Activity and Consumer Acceptability. *Journal of Food Quality*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5967130>
- Lazcano-Sánchez, E., Trejo-Márquez, Ma. A., Vargas-Martinez, Ma. G., & Pascual-Bustamante, S. (2015). Contenido de Fenoles, Cafeína y Capacidad Antioxidante de Granos de Café Verdes y Tostados de Diferentes Estados de México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 293–298. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81343176021>
- Li, X., Zhang, J., Lin, S., Xing, Y., Zhang, X., Ye, M., Chang, Y., Guo, H., & Sun, X. (2022). (+)-Catechin, Epicatechin and Epigallocatechin Gallate are Important Inducible Defensive Compounds Against *Ectropis Grisescens* in Tea Plants. *Plant Cell and Environment*, 45(2), 496–511. <https://doi.org/10.1111/pce.14216>
- Lim, T. K. (2013a). *Coffea arabica*. In *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants* (Vol. 42, Issue 4, pp. 614–679). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5653-3_32
- Lim, T. K. (2013b). *Coffea canephora*. In *Edible Medicinal And Non-Medicinal Plants* (pp. 680–709). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5653-3_33
- Ludwig, I. A., Mena, P., Calani, L., Cid, C., Del Rio, D., Lean, M. E. J., & Crozier, A. (2014). Variations in Caffeine and Chlorogenic Acid Contents of Coffees: What Are We Drinking? *Food and Function*, 5(8), 1718–1726. <https://doi.org/10.1039/c4fo00290c>
- Mengistu, M. W., Workie, M. A., & Mohammed, A. S. (2020). Biochemical compounds of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) varieties grown in northwestern highlands of Ethiopia. *Cogent Food and Agriculture*, 6(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1741319>
- Mestdagh, F., Glabasnja, A., & Giuliano, P. (2017). The Brew—Extracting for Excellence. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 355–380). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00015-3>
- Moreira, A. S. P., Nunes, F. M., Domingues, M. R., & Coimbra, M. A. (2012). Coffee Melanoidins: Structures, Mechanisms of Formation and Potential Health Impacts. *Food & Function*, 3(9), 903. <https://doi.org/10.1039/c2fo30048f>
- Murai, T., & Matsuda, S. (2023). The Chemopreventive Effects of Chlorogenic Acids, Phenolic Compounds in Coffee, against Inflammation, Cancer, and Neurological Diseases. *Molecules*, 28(5), 2381. <https://doi.org/10.3390/molecules28052381>
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., & XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic Acid (CGA): A Pharmacological Review and Call for Further Research. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 97, pp. 67–74). Elsevier Masson SAS. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>
- Nemzer, B., Kalita, D., & Abshiru, N. (2021). Quantification of Major Bioactive Constituents, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Effects of Whole Coffee Cherries (*Coffea arabica*) and Their Extracts. *Molecules*, 26(14). <https://doi.org/10.3390/molecules26144306>
- Nuhu, A. A. (2014). Bioactive Micronutrients in Coffee: Recent Analytical Approaches for Characterization and Quantification. *ISRN Nutrition*, 2014, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2014/384230>
- Ontawong, A., Duangjai, A., Muanprasat, C., Pasachan, T., Pongchaidecha, A., Amornlerdpison, D., & Srimaroeng, C. (2019). *Lipid-Lowering Effects of Coffea arabica*

- Pulp Aqueous Extract in Caco-2 Cells and Hypercholesterolemic Rats*. 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.06.021>
- Organización Internacional del café. (n.d.). *Aspectos botánicos*. Acerca Del Café. Retrieved March 12, 2022, from https://www.ico.org/es/botanical_c.asp
- Organización Internacional del Café. (n.d.). *Historia del café*. Acerca Del Café. Retrieved March 12, 2022, from https://www.ico.org/ES/coffee_storyc.asp
- Organización Internacional del Café. (2021). *Coffee Market Report*. <https://www.ico.org/documents/cy2021-22/cmr-1221-e.pdf>
- Ortega Ortega, J. A. (2019). *Generación De Variedades Mejoradas De Café Con Resistencia a Roya* [Tesis de Doctorado, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional]. <https://repositorio.cinvestav.mx/handle/cinvestav/1394>
- Otero, A., & Elms, R. (2021). *Coffee Anual Mexico*. https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Coffee%20Annual_Mexico%20City_Mexico_05-15-2021.pdf
- Ovando Cruz, M. E., Martínez Bolaños, M., López Morgado, R., & Méndez López, I. (2017). *Establecimiento de plantaciones de Café Coffea arabica L. Con genotipos tolerantes a roya anaranjada (Hemileia vastatrix Berk y Broome) en el Estado de Oaxaca*.
- Pérez-Hernández, M. L., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L. Á., & Gámez, M. N. (2013). Compuestos Fenólicos, Melanoidinas y Actividad Antioxidante de Café Verde y Procesados de las Especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. *Revista de Ciencias Biológicas y de La Salud*, XV(1), 51–56. www.biocetecnia.uson.mx
- Philippe, L., Benoît, B., & Hervé, E. (2009). Breeding Coffee (*Coffea arabica*) for Sustainable Production. In *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species* (pp. 525–543). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71201-7_14
- Pietsch, A. (2017). Decaffeination-Process and Quality. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 225–143). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00010-4>
- Poisson, L., Blank, I., Dunkel, A., & Hofmann, T. (2017). The Chemistry of Roasting—Decoding Flavor Formation. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 273–309). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00012-8>
- Raharimalala, N., Rombauts, S., McCarthy, A., Garavito, A., Orozco-Arias, S., Bellanger, L., Morales-Correa, A. Y., Froger, S., Michaux, S., Berry, V., Metairon, S., Fournier, C., Lepelley, M., Mueller, L., Couturon, E., Hamon, P., Rakotomalala, J.-J., Descombes, P., Guyot, R., & Cruzillat, D. (2021). The Absence of the Caffeine Synthase Gene is Involved in the Naturally Decaffeinated Status of *Coffea humblotiana*, a wild Species from Comoro archipelago. *Scientific Reports*, 11(1), 8119. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87419-0>
- Reich, A. (2010). Coffee & Tea History in a Cup. *The Herbarist*, 8–15. <https://edsp.uam.elogim.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=24d6d9b1-6dab-40dc-8fd4-3a1c2c002fd7%40redis>
- Rizk, S., Taha, H., Abdel Moneim, A. E., & Amin, H. K. (2021). Neuroprotective Effect of Green and Roasted Coffee Bean Extracts on Cerebral Ischemia-Induced Injury in Rats. *Metabolic Brain Disease*, 36(7), 1943–1956. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00769-6>
- Rufián-Henares, J. A., & Pastoriza, S. (2015). Melanoidins in Coffee. In *Coffee in Health and Disease Prevention* (pp. 183–188). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00020-6>

- Sarriá, B., Martínez-López, S., Sierra-Cinos, J. L., García-Diz, L., Mateos, R., & Bravo-Clemente, L. (2018). Regularly consuming a green/roasted coffee blend reduces the risk of metabolic syndrome. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 269–278. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1316-8>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2018, March 2). *México, onceavo productor mundial de café*. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-onceavo-productor-mundial-de-cafe?idiom=es>
- Segheto, L., Santos, B. C. S., Werneck, A. F. L., Vilela, F. M. P., Sousa, O. V. de, & Rodarte, M. P. (2018). Antioxidant Extracts of Coffee Leaves and its Active Ingredient 5-Caffeoylquinic Acid Reduce Chemically-Induced Inflammation in Mice. *Industrial Crops and Products*, 126(June), 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.027>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). *Cierre de la producción agrícola-Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. Acciones y Programas . <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Shatnawi, M., Ebrahim, N., Shibli, R., Makhadmeh, I., & Abu-Ein, A. (2007a). In vitro Propagation and In vivo Acclimatization of Three Coffee Cultivars (*Coffea arabica* L.) From Yemen. *World Applied Sciences Journal*, 2(2), 142–150.
- Shatnawi, M., Ebrahim, N., Shibli, R., Makhadmeh, I., & Abu-Ein, A. (2007b). In vitro Propagation and In vivo Acclimatization of Three Coffee Cultivars (*Coffea arabica* L.) From Yemen. *World Applied Sciences Journal*, 2(2), 142–150.
- Smith, R. F. (1985). A History of Coffee. In *Coffee* (pp. 1–12). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6657-1_1
- Specialty Coffee Association of America SCAA. (2015). *SCAA Protocols. Cupping Specialty Coffee* . <https://www.scaa.org/PDF/resources/cupping-protocols.pdf>
- Sridevi, V., Giridhar, P., Simmi, P. S., & Ravishankar, G. A. (2010). Direct shoot organogenesis on hypocotyl explants with collar region from in vitro seedlings of *Coffea canephora* Pierre ex. Frohner cv. C×R and *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(3), 339–347. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9694-8>
- Stanek, N., Zarębska, M., Biłos, Ł., Barabosz, K., Nowakowska-Bogdan, E., Semeniuk, I., Błaszkiwicz, J., Kulesza, R., Matejuk, R., & Szkutnik, K. (2021). Influence of coffee brewing methods on the chromatographic and spectroscopic profiles, antioxidant and sensory properties. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01001-2>
- Stefanello, N., Spanevello, R. M., Passamonti, S., Porciúncula, L., Bonan, C. D., Olabiyi, A. A., Teixeira da Rocha, J. B., Assmann, C. E., Morsch, V. M., & Schetinger, M. R. C. (2019). Coffee, Caffeine, Chlorogenic Acid, and the Purinergic System. *Food and Chemical Toxicology*, 123, 298–313. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.005>
- Tablas, G. I., Guerrero, R. J. de D., Aceves, R. E., Álvarez, C. N. M., Loyo, E. L., & Olvera, H. J. I. (2021). El Cultivo de Café en Ojo de Agua de Cuauhtémoc, Malinaltepec, Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(6), 1031–1042. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i6.2736>
- Tagliazucchi, D., Elena, V., & Angela, C. (2010). Effect of Dietary Melanoidins on Lipid Peroxidation during Simulated Gastric Digestion: Their Possible Role in the Prevention of Oxidative Damage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(4), 2513–2519. <https://doi.org/10.1021/JF903701H>
- Tsai, C.-F., & Jioe, I. P. J. (2021). The Analysis of Chlorogenic Acid and Caffeine Content and Its Correlation with Coffee Bean Color under Different Roasting Degree and

- Sources of Coffee (*Coffea arabica Typica*). *Processes*, 9(11), 2040. <https://doi.org/10.3390/pr9112040>
- United States Department Agriculture (USDA). (2021). *Coffee: World Markets and Trade*. <https://public.govdelivery.com/accounts/USDAFAS/subscriber/new>
- Valencia, A. (2021, January 23). *¿Qué es el café de olla?* Perfect Daily Grind Español. <https://perfectdailygrind.com/es/2021/01/23/que-es-el-cafe-de-olla/>
- Várady, M., Ślusarczyk, S., Boržikova, J., Hanková, K., Vieriková, M., Marcinčák, S., & Popelka, P. (2021). Heavy-metal Contents and the Impact of Roasting on Polyphenols, Caffeine, and Acrylamide in Specialty Coffee Beans. *Foods*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/foods10061310>
- Vázquez-Sánchez, K., Martínez-Saez, N., Rebollo-Hernanz, M., del Castillo, M. D., Gaytán-Martínez, M., & Campos-Vega, R. (2018). *In vitro* health promoting properties of antioxidant dietary fiber extracted from spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds. *Food Chemistry*, 261(March), 253–259. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.064>
- World Coffee Research. (n.d.). *Arabica. Variedades*. Retrieved January 25, 2022, from <https://varieties.worldcoffeeresearch.org/es/arabica/variedades>
- Xu, Y., Zhang, J., Pan, T., Ren, F., Luo, H., & Zhang, H. (2022). Synthesis, Characterization and Effect of Alkyl Chain Unsaturation on the Antioxidant Activities of Chlorogenic Acid Derivatives. *LWT*, 162, 113325. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113325>
- Zulith Flores-Anaya, Y., Milena Sorzano Rodriguez, D., Ravina-Ripoll, R., & Galvan-Vela, E. (2022). Organic coffee growing as a competitive strategy for Mexico in international trade. *Coffee Science*, 17, 1–14. <https://doi.org/10.25186/v17i.2005>

12. Publicaciones



Vol. 21, No. 3(2022) Bio2856
Revista Mexicana de Ingeniería Química

Ethnopharmacological study of the genus *Coffea* and compounds of biological importance

Estudio etnofarmacológico del género *Coffea* y compuestos de importancia biológica

J. Gallardo-Ignacio¹, P. Nicasio-Torres^{2*}, A. Santibáñez², S.L. Cabrera-Hilerio³, F. Cruz-Sosa¹

¹Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril de San Rafael Atlixco No. 186, Col. Leyes de Reforma 1ª Sección, Iztapalapa, CP 09310, CDMX, México.

²Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social (CIBIS-IMSS), Argentina # 1, Centro, 62790 Xochitpec, Morelos, México.

³Laboratorio de Bromatología, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio S/N Ciudad Universitaria, Puebla, México.

Received: June 21, 2022; Accepted: October 1, 2022

Abstract

The present review is focused to know the origin of the coffee drink, its agroindustrial position in Mexico and the world, and the importance of its biological effects on human health. Coffee is native of Ethiopia and it was used in Arab countries as food and as a fermented beverage due to its stimulating effect. Over the years the "Moka" infusion of green and/or roasted beans became popular in Europe. The genus *Coffea* (Rubiaceae) comprises more than 100 species of which the best known are *C. arabica* and *C. canephora* and their hybrids Colombia, Oro Azteca and Costa Rica 95, which are resistant to the rust fungus. The predominant commercial production (70%) and infusion drinking is of *C. arabica* due to its cup quality, low caffeine content and fine aroma, on its part *C. canephora* is mainly used as a base for instant coffee. The main consumers are the United States and countries of the European Union, while the main producers are Brazil and Vietnam. Mexico is the tenth largest producer, with Chiapas being the major producer and Guerrero standing out for its organic and specialty coffee by indigenous communities. Coffee beans are rich in phenolic compounds such as chlorogenic acids (CGAs) and alkaloids like caffeine and trigonelline, their contents are reduced after the beans are roasted. Trigonelline and CGAs confer aroma, bitterness and astringency to coffee. The main biological effects of CGAs are antioxidant, anti-inflammatory and antidiabetic, and caffeine is a neurostimulator.

Keywords: chlorogenic acid, anti-inflammatory, antidiabetic, coffee, caffeine, *Coffea*.

Resumen

La presente revisión fue enfocada en conocer el origen de la bebida de café, su importancia agroindustrial en México y en el mundo, y la importancia de sus efectos biológicos sobre la salud del humano. El café es originario de Etiopía y se empleó en países árabes como alimento y como bebida fermentada debido a su efecto estimulante. Con el tiempo la infusión "Moka" de granos verdes y/o tostados fue popular en Europa. El género *Coffea* (Rubiaceae) comprende más de 100 especies, las más conocidas son *C. arabica* y *C. canephora* y sus híbridos Colombia, Oro Azteca y Costa Rica 95 resistentes al hongo de la roya. La producción comercial predominante (70%) e infusión de consumo es de *C. arabica* por su calidad en taza, bajo contenido de cafeína y fino aroma, en cambio *C. canephora* se utiliza principalmente como base para el café instantáneo. Los principales consumidores son Estados Unidos y la Unión Europea, en tanto que los principales productores son Brasil y Vietnam. México está en décimo lugar como productor, siendo Chiapas el mayor productor y Guerrero se destaca por el café orgánico y de especialidad en comunidades indígenas. Los granos de café son ricos en compuestos fenólicos como los ácidos clorogénicos (CGAs) y alcaloides como cafeína y trigonelina, cuyo contenido se reduce posterior al tostado del grano. Los CGAs y la trigonelina le confieren el aroma, amargor y astringencia al café. Las principales actividades biológicas de CGAs son antioxidante, anti-inflamatoria y antidiabética, y la cafeína es un neuro-estimulante.

Palabras clave: ácido clorogénico, antiinflamatorio, antidiabético, café, cafeína, *Coffea*.

*Corresponding author. E-mail: pisaliva@yahoo.com.mx
<https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio2856>
ISSN: 1665-2738, issn-e: 2395-8472

1 Introduction

In ancient times, coffee beverage and plant were used by travelers and to feed slaves due to their stimulant effect (Clifford & Willson, 1985; ICO, n.d.). The attributes of infusion of roasted coffee beans were discovered in Ethiopia; coffee infusion was named *qahwah* in Arabia and *Khava* in Turkey, and later was known as coffee in Europe. Currently, there are different techniques for obtaining infusion from beans of *Coffea arabica* and *C. canephora* to prepare cold and hot coffee beverages throughout the world. Nevertheless, there are regional species of *Coffea* used for the preparation of infusions in countries of Africa and Asia (Clifford & Willson, 1985; Herrera & Lambot, 2017).

The coffee belongs to the Rubiaceae family, the Ixoroideae subfamily with 15 tribes, including the Coffeaceae and 11 genera together with the *Psilanthus* and *Coffea* genera, with more than 103 species (Anthony *et al.*, 2011; Davis *et al.*, 2007). Coffee plants grow in countries with hot and humid climates of Asia, Africa and America between the Tropics of Cancer and Capricorn, forming the well-known coffee belt (Bobadilla Landey, 2013).

The production and marketing of coffee are related to its cup quality, caffeine content and aroma (Philippe *et al.*, 2009); Mexico is known as a coffee producer.

Nowadays, there has been a growing interest in the research of *Coffea* species around the world to take advantage of their potential to prepare coffee drinks for the main consumer countries. The consumption of coffee beverages is based on their ethnopharmacological uses and biological properties attributed to their chemical components. In the *Coffea* species, the concentrations of chemical components vary among species and cultivation places; besides, some compounds are degraded during the roasting process, and some of them can be toxic pollutants (Farah & Donangelo, 2006; Ruiz-Palomino *et al.*, 2019; Castaldo *et al.*, 2020; Várady *et al.*, 2021).

2 Methodology

In this review, published articles addressing the *Coffea* genus were searched for in scientific search engines such as NCBI, ScienceDirect, Web of Science and Google Scholar based on their titles and abstracts

then analyzed and compiled. The systematic review of studies covering the species of the genus *Coffea* was subject to the following criteria: the study (1) was published in English; (2) addressed the traditional or popular practices of consuming coffee beverages; (3) considered the description and taxonomy of the genus *Coffea*; (4) and addressed the production and marketing of coffee. Furthermore, to meet the study criteria, the articles must have integrated into tables results of (5) the isolation of secondary metabolites and identification techniques used; (6) the biological activity evaluated and the models used for analyzing infusions/extracts, phenolic compounds and alkaloids including authorship. The chemical structures were drawn using ChemDraw Pro 8.0 software, and the PubChem database was used to verify the IUPAC names of the major compounds reported in species of the genus *Coffea*.

3 Species explored for the preparation of coffee

In ancient times, ground coffee beans mixed with other plants and animal fat were used as food by travelers. Similarly, the beans or the fruit were fermented to obtain a drink similar to wine, a liquor that became popular in Arab countries. There is also evidence of the leaves and pulp being used to prepare infusions. The consumption of coffee spread from Ethiopia to the Arabian Peninsula by merchants and slave traders due to its stimulating effects, for that the origin of the coffee drink is attributed to Arabia. In this region, it was forbidden for travelers to visit the crops, and they were not allowed to take the beans unless they were roasted or boiled; later, coffee was cultivated in other Muslim countries and in India. It has been established that the domestication of coffee began in the high mountains of Ethiopia in the 7th century (Anthony *et al.*, 2011; Reich, 2010). There is a record that in the province of Kaffa, now Ethiopia, the attributes of the roasted coffee bean were discovered. The cultivation of plants and distribution of beans from Kaffa spread to Sudan and later to Yemen, where the drink was named "Moka", referring to the city where it was grown (Mocha-Yemen). The "Moka" drink became popular due to the diffusion of its consumption by the local authorities, thus reducing the consumption of the "kat" shrub, whose leaves and buds were chewed to obtain stimulating effects (ICO, n.d.-b).

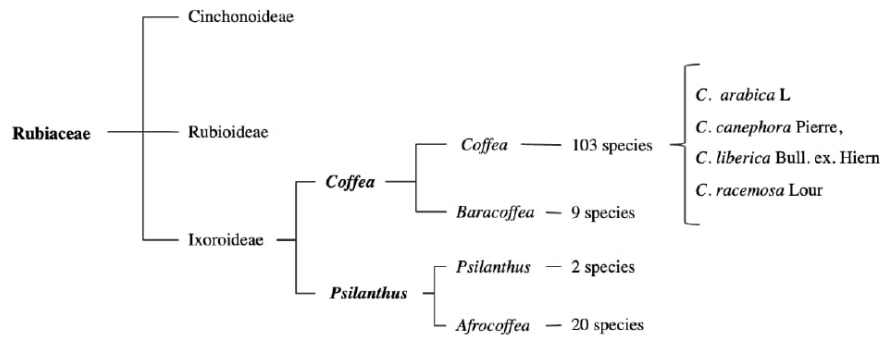


Figure 1. Diagram of taxonomic classification of coffee plants. Authors elaborated this diagram based on Anthony *et al.*, 2011 and Davis *et al.*, 2007.

The word coffee has an Arabic origin, “*qahwah*”, which means exciting; the Turks named it “*kahve*”, referring to the fruit of the coffee plant, and this term spread throughout Europe until it was known as “coffee” (Clifford & Willson, 1985; Smith, 1985).

According to the “*Book of coffee*”, in the sixteenth century, during the movement of travelers from Arabia to Europe (currently Istanbul), the first establishments for selling coffee drinks were introduced. By the seventeenth century, this drink was consumed and marketed in Cairo; since that time, coffee shops have been present in European countries. The development of the printing press and the light bulb caused cafeterias to gain prominence, as they were used as centers for social and political meetings (Reich, 2010). Currently, cold and hot coffee beverages made from beans of *C. arabica* and *C. canephora* are common in various forms throughout the world. However, there are other little-known species used for the preparation of infusions that are produced and consumed locally in countries of Africa, Indonesia and the Philippines, including *C. liberica*, *C. racemosa*, *C. stenophylla* and *C. humblotiana*. The species *C. liberica* is native to Liberia and is cultivated in West Africa and Malaysia. Despite being very aromatic in markets, it is rarely accepted by consumers. In Sarawak and Borneo, beans of this species are mixed with beans of *C. canephora* to create an infusion, to which condensed milk and sugar are added; sometimes, the beans are roasted with margarine and sugar. The species *C. excelsa* was identified at the beginning of 1900 in Africa. This species is very similar to *C. liberica*, and it is rarely found in markets, although

its beans are very aromatic (Clifford & Willson, 1985; Herrera & Lambot, 2017). *C. racemosa* is a lesser known species; it is cultivated in Mozambique and in northern South Africa; the caffeine content of *C. racemosa* is lower than that of *C. arabica*, and it is characterized by a bitter taste, highlighting the flavors of mint and wood (Davis *et al.*, 2021). The species *C. stenophylla* is found in West Africa, where it is endemic to the Comoros Archipelago, and is characterized by a mild flavor similar to that of Arabica coffee. However, it is an unprofitable species because its growth in culture is slow, so it is considered an endangered species. *C. humblotiana*, endemic to the Comoros Archipelago, is a different species from others described within the genus *Coffea* since it does not produce caffeine; therefore, this species produces a naturally decaffeinated coffee product, and its metabolic pathways are currently under study (Raharimalala *et al.*, 2021).

4 Coffee taxonomy

Coffee belongs to the Rubiaceae family, which is divided into three subfamilies: Cinchonoideae, Rubioideae and Ixoroideae (Figure 1); the latter comprises about a fifth of the family. The subfamily Ixoroideae is made up of 15 tribes, including the Coffeae DC tribe, made up of 11 genera including the *Psilanthus* and *Coffea* genera, which have beans with similar morphological characteristics and only differ in flower morphology. Both genera are subdivided

into subgenera, *Psilanthus* includes the subgenera *Psilanthus* with 2 species and *Afro Coffea* with 20 species, while the genus *Coffea* includes the subgenera *Coffea* of which there is a report of 103 species, and *Bara Coffea* with 9 species. In the subgenus *Coffea*, the species of *Coffea arabica* L., *Coffea canephora* Pierre, *C. liberica* Bull stand out. ex. Hiern and *C. racemosa* Lour (Anthony et al., 2011; Davis et al., 2007). The first species of coffee taxonomically identified by Carlos Linnaeus in 1750 in the Republic of Yemen was *Coffea arabica* L.

5 Botanical description of the most important species of the genus *Coffea*

The genus *Coffea* is composed of shrubs and trees over 10 m high, with a vertical stem (orthotropic) with horizontal primary, secondary and tertiary branches (plagiotropic), white flowers and red or yellow fruits (Bobadilla Landey, 2013; ICO, n.d.-a). *C. arabica* (Arabica) is a shrub that can reach a height of 5 m with open branches (Figure 2a). It has large, oval, dark green leaves. This species is self-pollinated, its fruit is oval, and fruit maturation occurs within 7 to 9 months of formation. The fruit contain two crushed seeds, and sometimes the fruit can have a single seed known as snail (Clifford & Willson, 1985; Lim, 2013b). *C. canephora* (Robusta) is a coffee tree taller than Arabica; it measures up to 10 m in height and gives it a robust appearance due to the type of branching that presents (Figure 2b). Its leaves are large, broad, and green. The fruit is round and takes up to 11 months to mature, so the harvest time is longer; usually, the fruit contains two ovoid seeds of variable size that are smaller than those of Arabica (Clifford & Willson, 1985; Lim, 2013a).

6 Geographical distribution and cultivation of coffee in the world

Coffee is grown in countries with hot and humid climates that are located in Asia, Africa and America between the Tropics of Cancer and Capricorn, forming the well-known coffee belt (Figure 3), which covers a range of altitudes of 4,000 km (Bobadilla Landey,



Figure 2. Photographs of the main species of coffee cultivated in the world were provided by the coffee producers L. Gonzalez and M. Fadanelli-Figueroa: (a) *Coffea arabica* in "El Encino farm" at Tierra Colorada-Malinhaltepec, Guerrero between 1,100 masl, and (b) *Coffea canephora* in "El Rancho el Molino" at Potrero-Zentla, Veracruz between 780 masl.

2013). The Arabica species grows between 1,200 and 2,000 m above sea level in areas with cool and slightly humid climates and temperatures that range between 15 and 25 °C. It requires soils rich in organic matter with slight acidity or alkalinity and is grown mainly under the shade of trees. Currently, several varieties are cultivated in coffee-growing regions; Typica and Bourbon were the first varieties cultivated and continue to be the most popular in many countries (ICO, n.d.-a; Lim, 2013b).

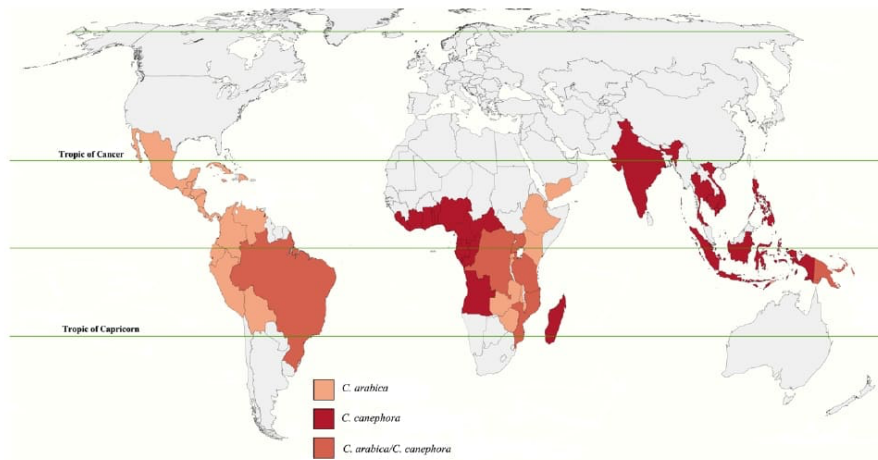


Figure 3. Producing countries of the main coffee species *Coffea arabica* and *Coffea canephora* are located between the Tropic of Cancer and the Tropic of Capricorn. Authors elaborated this map based on ICO, 2021.

The species that produces Robusta coffee is more tolerant of a range of climate and soil conditions; it can be grown as low as 800 m.a.s.l. and in areas with a temperature between 18 and 36 °C. It is mainly cultivated in open fields and adapts easily to different types of soils with greater acidity or alkalinity (ICO, n.d.-a; Lim, 2013a). The species *C. liberica*, *C. racemosa*, *C. stenophylla* and *C. humblotia* can be found in some countries of Africa and Asia at altitudes below 1,000 m.a.s.l. (Davis *et al.*, 2020).

7 Generation of hybrid varieties

Within the species *C. canephora* and *C. liberica*, relevant traits and the identification of the carrier genes that can be used in artificial interspecific hybridization processes have been sought. During hybridization procedures, two individuals of the same genus are crossed to create crops with beneficial qualities, for examples the hybrids of *C. arabica* with resistance to orange rust (*Hemileia vastatrix*), the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*) and the leafminer (*Leucoptera coffeella*), which are the main pests affecting coffee plants (Anthony *et al.*,

2011; Davis *et al.*, 2007). The Typica and Bourbon varieties have served as the genetic basis for the generation of other varieties, such as Mundo Novo (Brazil), Tico (Central America), San Ramon enano (Costa Rica), Jamaican Blue Mountain (Jamaica) and Caturra, a natural mutant of the Bourbon variety identified in Brazil (ICO, n.d.-a). The best-known is the Timor hybrid which arose naturally from a cross between *C. arabica* and *C. canephora*, which is resistant to rust. The Arabusta and Icatu varieties were obtained from crosses between *C. arabica*, which provides high-quality attributes, and *C. canephora*, which offers resistance to pests. Crosses of *C. racemosa* with Arabian varieties have been reported, generating hybrids such as *C. aramosa*, with resistance to *L. coffeella* and drought and low caffeine content. Similarly, hybrids have been obtained from a cross between *C. canephora* and *C. congensis* with drought tolerance (Barrera, 2017; Davis *et al.*, 2021). The species *C. liberica* and *C. excelsa* express greater resistance than other species to *H. hampei* because their fruits have a thicker pericarp that hinders the entry of microorganism; although no hybrid species have been reported in the market with resistance to this insect, these coffee species could be an alternative to meet the demands of farmers (Barrera, 2017).



Figure 4. Regions of Mexico from different sheds recognized as the main coffee beans producers. Authors elaborated this map based on Flores Vichi, 2015.

8 Production, marketing and consumption of coffee

Commercial coffee production is mainly based on two species, *C. arabica* (Arabica) and *C. canephora* (Robusta). The Arabica species is predominant in cultivation, accounting for 70% of global production due to its cup quality, low caffeine content and fine aroma. The cultivation of the Robusta species is lower due to its strong flavor and high caffeine content compared to those of *C. arabica*; it is widely cultivated in Vietnam, Brazil and Indonesia and is used essentially as a base for instant coffee (Philippe *et al.*, 2009). According to the International Coffee Organization (ICO), total coffee production in 2020 was 175.3 million 60 kg bags; Brazil was the main producer with 59.3 million bags, followed by Vietnam with 31.3, Colombia with 13.8, Indonesia with 10.7, Ethiopia with 7.45, Honduras 5.6 with, India with 4.89, Peru with 4.45, Uganda with 4.25 and Mexico

with 3.7 (ICO, 2021). For the 2020-2021 cycle, based on reports from the United States Department of Agriculture (USDA), the main countries that imported green coffee beans, roasted and soluble, were those that make up the European Union with 30% of the total production, followed by the United States with 19% and Japan with 5%, with the main coffee consumers being the European Union, the United States and Brazil (USDA, 2021).

9 Coffee production in Mexico

Mexico ranks 11th as coffee producer worldwide and represents 0.66% of agricultural GDP and 1.34% of the agro-industrial production. In Mexico (Figure 4), coffee is cultivated in 4 main regions: 1) the Gulf of Mexico slope, which includes the States of San Luis Potosí, Querétaro, Hidalgo, Puebla, Veracruz, part of Oaxaca and Tabasco; 2) the Pacific Ocean slope, including Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit

and part of Oaxaca; 3) the Soconusco Region, which includes part of the state of Chiapas; and 4) the north central region of Chiapas (Figure 4) (Flores Vichi, 2015). In 2020, a total production of 953,682.90 t of coffee was recorded, the State of Chiapas was the main producer, with 378,000 t, followed by Veracruz (235,000 t), Puebla (160,000 t), Oaxaca (86,000 t) and Guerrero (38,000 t) (SIAP, n.d.). Mexico stands out for its production of organic coffee, ranking second after Peru. Organic coffee is exported to countries in Europe and the United States. Data from the Ministry of Agriculture and Rural Development (SADER) indicate that 3.24% of the total cultivation area is allocated to organic coffee cultivation, with 8% of the producers included in the national census participating (Otero & Elms, 2021).

The participation of 500 thousand coffee producers has been reported, with production distributed in 15 states and 480 municipalities; entire families of men, women and children participate in the production process. The majority of these families belong to indigenous communities (85%) dedicated to the production of specialty coffee and whose cultivation area does not exceed 3 ha (Contreras-Medina *et al.*, 2020; SADER, 2018). One of the main characteristics of coffee cultivation in Mexico, compared to other countries, is that cultivation areas can be found in forests with high, medium and low altitudes and in mesophilic forests and in pine-oak forests, which is called shade cultivation. According to the ADESUR (Strategic Alliance for the Development of the South Pacific Region) and based on agricultural censuses in land where coffee is cultivated at the national level, 33% of cultivation areas are found in coniferous forest, 21% are found in cloud-covered mountain forest, 14% are found in evergreen forest, 9% are found in oak forest, 7% are found in low deciduous forest and 6% are found in mid-altitude deciduous forest (ADESUR, 2020). The Agricultural and Fisheries Information Service (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera - SIAP) reports that 85% of national production is based on Arabica coffee and, to a lesser extent, Robusta coffee. Thirty-five percent of coffee plant crops are found at altitudes greater than 900 m.a.s.l., which is considered high-altitude coffee, and the rest of the crops are distributed between 600 and 900 m.a.s.l (Otero & Elms, 2021).

Considering the problems presented by Mexican coffee due to pests, old plantations and low yields, government institutions have created programs for 10 years to strengthening the increase of national production and consumption by people,

granting certified genetic material, certified nurseries, technological packages, training and specialized advice support for payment of external inspection for organic certification, Rain Forest Alliance, 4C, UTZ, Fair Trade among others (CEDRSSA, 2018; SAGARPA, 2017). Coffee producers have organized themselves into cooperatives to seek certifications such as USDA Organic, Fair Trade, Shade Grown, Rainforest Alliance, and Small Producer, which allows them to enter new markets and offer their products. In Mexico, there is a record of 600 units, called cooperatives, 400 of them are located in the state of Chiapas. These cooperatives obtain financing from government banks and private banks, and technical support from government institutions (Otero & Elms, 2021). Although production in Mexico has been reduced by environmental factors such as droughts, plagues and floods, worldwide production has had a considerable increase.

Due to the Mexican population drinks mainly the soluble coffee imported from Brazil and the roasted coffee consumption is low (1.4 kg per person), the government has implemented diffusion strategies to encourage the population to consume roasted coffee. Since then there has been an increase in the production of specialty coffees and new coffee outlets have been created (CEDRSSA, 2018; SAGARPA, 2017). In the state of Guerrero, the 80% of the coffee production cover a plantation of 45,000 ha distributed into two areas (SIAP, n.d.): the area of Costa Grande in the municipalities of Atoyac de Alvarez, Coyuca de Benitez and Tecpan de Galeana, followed by the area of La Montaña in the municipalities of Malinaltepec, Iliatenco and San Luis Acatlan. In mountainous areas, coffee is produced by people from the Mixtec and Tlapaneco ethnic groups. Coffee production occurs in polyculture incorporated into plantations of beans, squash, chili, soursop fruit trees, avocado, banana, pineapple, and some timber trees (Tablas González *et al.*, 2021). These populations are mainly dedicated to the cultivation of the species *C. arabica* of the varieties Typica, Mundo Novo, Bourbon, Caturra and Garnica (Hidalgo-Espinosa, 2020).

In Mexico, the processing of coffee fruit is carried out mainly by the wet method, the 90% of the coffee that is marketed is washed. A small amount of honey coffee is also produced. Natural coffee is obtained by the dry method, which is simpler and requires little machinery (Hidalgo-Espinosa, 2020). In mountainous regions, coffee processing is mainly performed by a dry process, where ripe cherries are cut and dried in the sun for 15 to 20 days until

capulin coffee (coffee with husk) is obtained. This coffee is sold in bulk to intermediaries such as the ARIC (Rural Association of Collective Interest RL and CV), CAFECO Agroindustrial del Pacífico S.A. de C.V. and the Union of Ejidos and Communities Luz de La Montaña, A.C. (Delgado-Alvarado, 2018; Hidalgo-Espinosa, 2020; Tablas González *et al.*, 2021). Coffee that is not sold to marketing organizations is roasted at the producer's homes for self-consumption or sale locally. Producers have organized to obtain seedlings of coffee varieties that are resistant to pests; these varieties include Colombia, Oro Azteca, Marsellesa, Costa Rica 95, and Sarchimor, among others and have replaced varieties susceptible to damage from pests and varieties that ceased to be productive (Delgado-Alvarado, 2018; Hidalgo-Espinosa, 2020; Tablas González *et al.*, 2021).

10 Coffee-based beverages

The oldest form of preparation is the Turkish coffee; for this, coffee powder is added to a container with boiling water, and it is kept over a fire. The drink produces a foamy layer, and the beans settle. This technique is used mainly at home. In Mexico, the most common method for preparing the Turkish coffee involves using a clay container, with cinnamon and brown sugar added to the product (Mestdagh *et al.*, 2017). Another widely used preparation process is drip filtration or percolation. For this process, a coffee maker and medium-ground beans are placed in a paper filter inside a container located at the top of the coffee maker, through which hot water passes, and the filtered drink is collected in a glass jug. The most common drink made with this method is American coffee, which can be found in restaurants and self-service stores (Caprioli *et al.*, 2015). For the preparation of coffee by immersion or by the French press, a coarse grain mill is used, and a filter is attached to a plunger at the upper end of a glass container. The ground beans are mixed with boiling water and left to rest for 2 to 5 min. After that time, pressure is applied by pressing the plunger down, and the filter removes the coffee residues; the liquid that remains in the container is consumed. This type of coffee is mainly consumed at home due to its preparation method (Stanek *et al.*, 2021). For espresso coffee, a compact fine-ground grain in the form of a tablet is

used, and hot water (150 mL) is applied to the grain under pressure for 25 to 30 s. Espresso is a very strong drink and is one of the most widely consumed drinks after the American coffee. Another method that uses a pressurized technique is the Italian coffee or the espresso *Moka*. For this type of coffee, a coffee maker with a closed system divided into 3 sections is used: the coffee is placed in the middle section on a metal filter, water is added to the first section, and the coffee maker is heated, causing boiling water to pass through the coffee; the drink is then collected at the top of the coffee maker (Caprioli *et al.*, 2015; Mestdagh *et al.*, 2017). Another way of consuming coffee is in cold preparations. These preparations use some of the previously described techniques and can be performed with water or cold milk; flavoring, creams and other ingredients can be added to the drink for embellishment. Cold coffee preparations are one of the drinks of choice among young populations (Mestdagh *et al.*, 2017). Soluble coffee is made by the infusion process, with beverages obtained from dried and pulverized coffee by different methods. In one process, hot air is applied to evaporate remaining water in coffee beans, leaving a fine coffee powder. In another method, frozen infusions are lyophilized at -40 °C and subjected to vacuum pressure to evaporate remaining water to obtain dry coffee crystals. Soluble coffee is one of the most widely consumed types of coffee due to its practicality, since only hot water is needed to rehydrate the coffee powder and obtain a beverage (Caprioli *et al.*, 2015; Mestdagh *et al.*, 2017).

The quality of coffee depends on the physical and organoleptic properties of the beverage, such as flavor, aroma, acidity, body and balance. The storage of the beans is essential to preserve their physical and organoleptic characteristics since they are kept in jute sacks and in many cases there is no humidity control, which allows the development of microorganisms that can contaminate the beans, one option is to control of relative humidity and use of atmosphere packaging preserving the properties of green coffee beans for one year (Trujillo-Carretero *et al.*, 2022). The quality of the drink is also associated with the contents of its chemical compounds, mainly chlorogenic acids (CGAs); caffeine; trigonelline; volatile compounds such as furans, pyridines, pyrazines, and pyrroles; hydroxybenzoic acids such as vanillic; and hydroxycinnamic acids such as cinnamic (Farah & Donangelo, 2006).

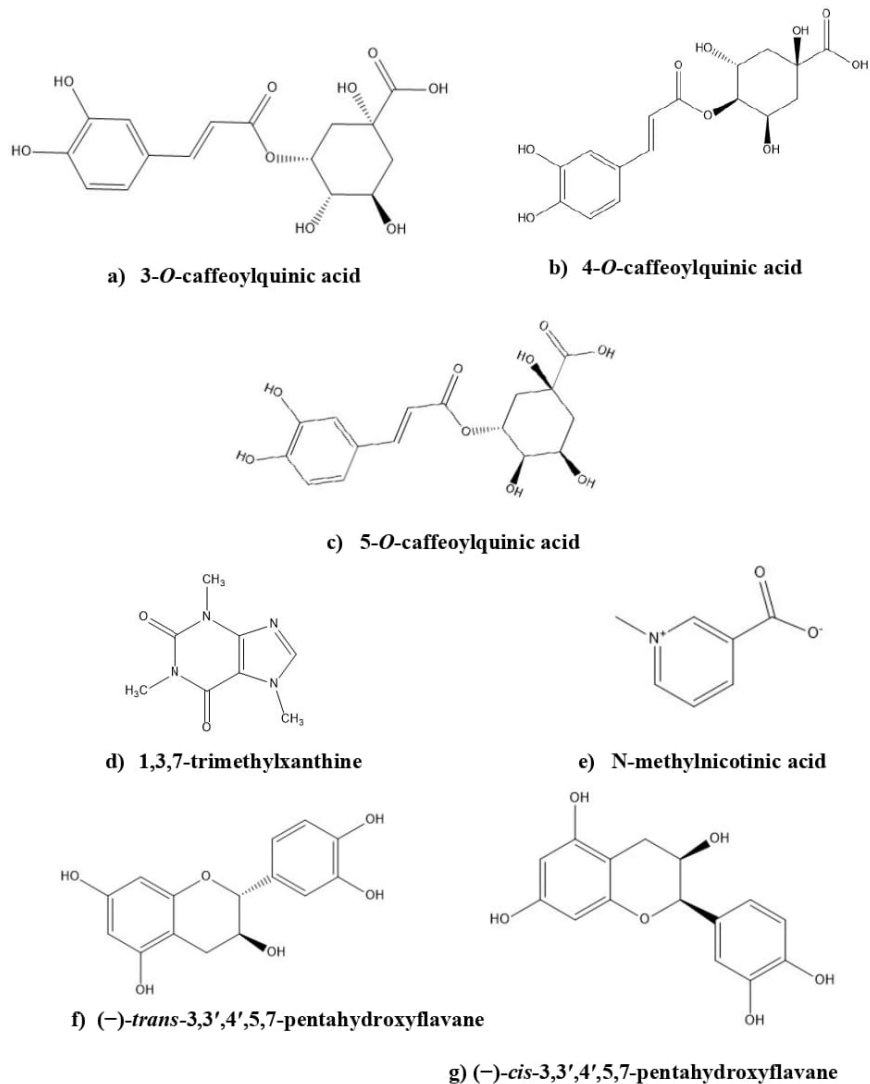


Figure 5. Chemical structures of main compounds identified in the beans of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* species.

Table 2. Chemical compounds and biological activity reported for infusions of green beans from *Coffea arabica* species.

Analysis method	Compounds	Biological activity	Reference
HPLC	Total polyphenols Flavonoids	Caffeine Antioxidant - DPPH, ABTS, FRAP, PFRAP and CUPRAC	Muzykiewicz-Szymańska <i>et al.</i> , 2021
	Caffeic acid Chlorogenic acid Ferulic acid Hydroxybenzoic acid Protocatechuic acid Vanillic acid	Caffeine Apoptotic expression of Bcl-2, Bax, caspase 3 and VEGF. Anti-inflammatory - Determination of inflammatory markers TNF- α , IL-1 β , NF- κ B and BDNF. Neuroprotective - Expression of biomarkers of oxidative stress, in a model of injury induced by cerebral ischemia in rats.	Rizk <i>et al.</i> , 2021
	Caffeic acid Chlorogenic acid	Caffeine Antioxidant - ABTS	Lazcano-Sánchez <i>et al.</i> , 2015
Colorimetric and spectrophotometry	Total polyphenols Total flavonoids Caffeine Tannins	Antioxidant - ABTS Antimicrobial in a simulated stomach model in the presence of <i>E. coli</i> F4 and <i>Streptococcus suis</i> . Anti-tyrosinase activity - Optimized inhibition of the enzyme tyrosinase	Prandi <i>et al.</i> , 2021
Colorimetric	Total phenolic flavonoids	Total Antioxidant - Enzymatic regulation of oxidative stress. Anti-inflammatory - Pro-inflammatory cytokines in a diabetic rat model	Al-Megrin <i>et al.</i> , 2020

11 Active compounds identified in the beans of *Coffea* species

The chemical composition of *C. arabica* is the most well-studied, followed by that of *C. canephora* and other coffee species. Spectroscopic analyses show that the main components in green and roasted beans are phenolic compounds, highlighting phenolic acids such as chlorogenic (CGAs) (Figure 5a, b, c), caffeic, ferulic, p-coumaric, vanillic and sinapic acids, as well as the flavonoids quercetin, isoquercitrin, rutin, epicatechin and catechin and tannins (Tables 1 and 2). These compounds have been quantified by determining the total phenolic compounds and total flavonoids using colorimetric techniques. Infusions of coffee beans, both green and roasted, have been

chemically analyzed because the infusion process is generally used in the preparation of beverages commonly known as coffee (Tables 1 and 2). The chemical analyses by spectrophotometry carried out in different studies have shown that the predominant compounds in the beans of both Arabica and Robusta are CGA and caffeine; in addition to these compounds, many important associated biological activities have been identified. The CGA content varies between 6% and 12% of the dry weight of green beans and gives astringency to the beverage (Farah & Donangelo, 2006; Górnaś *et al.*, 2016; Mengistu *et al.*, 2020). Another group of compounds identified in the coffee bean are the alkaloids caffeine and trigonelline (Tables 1 and 2, Figure 5 d, e); these compounds are responsible for bitterness and aroma in the final beverage. The concentration of trigonelline in seeds ranges between 0.39% and 1.77%, while that

of caffeine ranges between 0.5% and 4% (Mengistu et al., 2020). Higher concentrations of trigonelline are found in *C. arabica* than in *C. canephora*, and 90% of this compound is degraded during roasting, forming mainly niacin, pyridines and some pyrroles (Hutachok et al., 2020; Mengistu et al., 2020). In Arabica and Robusta coffee beans, procyanidins, anthocyanins, mangiferin, tannins, lignans, catechin and epicatechin have been reported as minor compounds (Hutachok et al., 2020; Khochapong et al., 2021; Ontawong et al., 2019). The content of phenolic compounds and caffeine is related to the species of coffee, the soil where plants are grown, the harvesting process and the processing of the beans. In the species *C. arabica*, a higher content of CGAs (6.0-11.5%) was found, while in *C. canephora*, it was between 4.0 and 8.0%. Caffeine is found in greater quantities in the species Robusta between 1.7 and 4.0%, while in Arabica, its content is lower, ranging between 0.8 and 1.4% (Babova et al. 2016). The CGA content and the quality of beans depend on the altitude where plants are grown, which determines the time needed for the fruit to form and mature (Babova et al., 2016; Mengistu et al., 2020). *C. arabica* plants of the Typica and Bourbon varieties fertilized with nitrogen have higher caffeine contents (57.9 mg) than plants grown organically (48.1 mg of caffeine). On the other hand, the contents of polyphenols and phenolic acids are higher in organic crops (Table 3) because they act as a natural protection for plants (Górecki & Hallmann, 2020; Król et al., 2020). The content of chemical compounds in coffee beans also depends

on the processing and storage of the beans, the time and level of roasting of the beans, and the type of preparation and extraction used to create beverages (Hutachok et al., 2020; Jeszka-Skowron et al., 2016; Várady et al., 2021). During the roasting of coffee beans, some of the chemical components in the beans are degraded; for example, the decrease in the content of phenolic compounds is correlated with the roasting temperature and time, and it has been reported that the CGA content is lower than 6%. The content of caffeine can vary between 1.2% and 2.4% (Hutachok et al., 2020; Mengistu et al., 2020). The compounds identified in the different varieties of *C. arabica*, such as Typica, Bourbon, Mundo Novo and Caturra, are the phenolic acids, flavonoids and caffeine, and their content depends on the crop area and type (Table 3). For chemical analyses, aqueous extractions of the beans have been performed, resulting in chlorogenic acids, caffeine, nicotinic acid, soluble melanoidins and hydrophilic volatile compounds. Chemical analyses of other components of coffee plants, such as peel, pulp and leaves have also been performed using organic solvents, such as methanol and ethanol, for the extraction of the compounds (Table 4). Compounds such as caffeine and ferulic, caffeic and CGA acids have also been found in the beans. Another species studied due to its importance and high demand in the market and widespread consumption is *C. canephora*; both green and roasted beans of this species as well as soluble coffee have been studied, highlighting the presence of CGAs and caffeine (Table 5).

Table 3. Chemical compounds and biological activity reported for infusions of beans from *Coffea arabica* varieties.

Variety	Extraction	Analysis method	Compounds	Biological activity	Reference
Typica-Bourbon	Infusion of roasted beans	HPLC	Total polyphenols Total phenolics Caffeic acid Chlorogenic acid Gallic acid Salicylic acid	Antioxidant - ABTS	Górecki & Hallmann, 2020
Catuaí/Vermelho-amarelo	Infusion of green and roasted beans	Colorimetric HPLC/PDA and	Total phenolic Caffeic acid Caffeine Chlorogenic acid	Antioxidant - DPPH, FRAP, ABTS and ORA Antiproliferative in prostate cancer cell lines (PC-3 and DU-145)	Souza et al., 2020
Typica, Mundo Novo and Caturra	Infusion of roasted and ground beans	Colorimetric	Total phenolic flavonoids	Antioxidant - DPPH and ABTS	Ozuna et al., 2020

Table 4. Chemical compounds and biological activity reported in cherry, peel and leaves from *Coffea arabica* species.

Extraction	Analysis method	Compounds	Biological activity	Reference
Beans roasted with methanol 80%	Ultra-high resolution mass spectrometry (UHRMS)	Total polyphenolics Acrylamide Caffeine Heavy metals	Not reported	Várady <i>et al.</i> , 2021
Hydroalcoholic (70%) of cherries	HPLC/UV	Caffeine Chlorogenic acid Trigonelline	Antioxidant - DPPH, FRAP, ORAC, HORAC; NORAC, SORAC and SOAC. Enzymatic inhibition of α -glucosidase, α -amylase and AChE activity	Nemzer <i>et al.</i> , 2021
Ultrasound-assisted extraction with water, ethanol or water/ethanol from hulls	HPLC-UV/VIS	Total phenolic Flavonoids Condensed tannins	Antioxidant activity - ABTS, DPPH and FRAP	Silva <i>et al.</i> , 2020
Silver film infusion of roasted beans	Ultra-High Performance Liquid Chromatography and Orbitrap High Resolution Mass Spectrometry Analysis (UHPLC-Q-Orbitrap)	Total phenolic Caffeine Chlorogenic acids Theobromine Theophylline Trigonelline Melanoidins	Antioxidant - ABTS, DPPH and FRAP	Castaldo <i>et al.</i> , 2020
Extraction with methanol 70% of fresh and dry leaves	Colorimetric and HPLC-mass spectrometry (HPLC/MS)	Total phenolic content Total procyanidins Caffeine Chlorogenic acids	Antioxidant - DPPH	Ngamsuk <i>et al.</i> , 2019
Leaves with methanol	HPLC/DAD and UV-spectrophotometry	Total phenolic content Total flavonoids Chlorogenic acid Mangiferin	Antioxidant-DPPH and FRAP and β -carotene/linoleic acid assays. Anti-inflammatory-Immediate-type hypersensitivity reaction in a histamine-induced ear edema model	Segheto <i>et al.</i> , 2018
Pulp fermentation	Colorimetric	Total phenolic	Enzymatic activity- Expression of cellulolytic and xylanolytic enzymes	Peña-Maravilla <i>et al.</i> , 2017

12 Compounds generated by roasting the beans

For the roasting of coffee beans, temperatures between 200 and 250 °C are applied for 5 to 20 min; these temperatures stimulate the Maillard reaction, Strecker

degradation, pyrolysis and caramelization. The change in the color of the beans during roasting from blue-green to yellow, orange, brown and black is an indicator of the degree of roasting. Many acids are degraded in this stage, but high molecular weight compounds are also formed. The Maillard reaction is a nonenzymatic reaction between the amino groups of free amino acids such as asparagine, glutamic acid

Table 5. Chemical compounds and biological activity reported for beans from *Coffea* species.

Species	Extraction	Analysis method	Compounds	Biological activity	Reference
<i>Coffea canephora</i>	Aqueous due to overpressure of roasted beans	HPLC/MS	Mono-chlorogenic acids Di-chlorogenic acids	Antioxidant - DPPH Regulation of oxidative stress in β TC3 cell lines. Accumulation of lipids in 3T3L1 adipocyte lines	Budryn <i>et al.</i> , 2017
<i>Coffea arabica</i> and <i>Coffea canephora</i>	Green beans infusion	HPLC-DAD	Total phenolic Caffeine Chlorogenic acid	Antioxidant - CUPRAC	Jeszka-Skowron <i>et al.</i> , 2016
<i>Coffea arabica</i> and <i>Coffea canephora</i>	Infusion of roasted beans	HPLC and Colorimetric	Total phenolic acids	Antioxidant - FCR, MCA, DPPH, FRAP and TRAP	Górnaś <i>et al.</i> , 2016
<i>Coffea arabica</i> and <i>Coffea canephora</i>	Green beans/ethanol-water	HPLC/MS	Caffeine Chlorogenic acids	Antioxidant - DPPH	Babova <i>et al.</i> , 2016

Table 6. Chemical compounds and biological activity reported in the pulp of fruits of *Coffea arabica*.

Extraction	Analysis method	Compounds	Biological activity	Reference
Aqueous pulp	Spectrophotometry UV/vis	Total phenolic Anthocyanins Caffeine Chlorogenic acid	Antioxidant activity - DPPH and FRAP. Antimicrobial - test by disk diffusion method in <i>Escherichia coli</i> TISTR 780 and <i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 1466.	Khochapong <i>et al.</i> , 2021
Pulp infusion	Colorimetric	Total phenolic content	Renoprotectors - Renal organic cation and anion transporter function in a rat model of DM2	Boonphang <i>et al.</i> , 2021
Pulp infusion	Colorimetric and liquid chromatographic-mass spectrometry (LC/MS)	Total phenolic content Caffeine Chlorogenic acid	Antioxidant - ABTS and DPPH Antibacterial - Determination of the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration in Gram-negative and Gram-positive bacteria	Duangjai <i>et al.</i> , 2016
Ethanol extraction by sonication of pulp and husk	Colorimetric and HPLC	Total phenolic Caffeic acid Chlorogenic acid Total flavonoids Total tannins	Antioxidant - DPPH, ABTS and FRAP. Antifungal - <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> antifungal assays	Alvarado-Ambriz <i>et al.</i> , 2020
Pulp in 80% methanol, 80% acetone and 80% ethanol	Colorimetric	Total phenolic content	Antioxidant - DPPH	Geremu <i>et al.</i> , 2016
Methanolic fraction of a dichloromethane extract (95%) of pulp	HPLC - quadrupole-time of flight mass spectrometry (QTOF)	Total phenolic content Caffeic acid Caffeine Epigallocatechin gallate <i>p</i> -coumaric acid Total flavonoids	Antioxidant - ABTS and DPPH Antifungal against <i>Alternaria brassicicola</i> , <i>Pestalotiopsis sp.</i> and <i>Paramyrtetium breviseta</i> .	Sangta <i>et al.</i> , 2021

and aspartic acid and the carbonyl groups of reducing sugars such as glucose and fructose, giving rise to compounds such as melanoidins and acrylamides (Endeshaw & Belay, 2020; Várady *et al.*, 2021). Melanoidins give the beans a brown pigment and flavor and color to the beverage. In addition, these compounds are associated with antioxidant activity that is enhanced by simple phenolic compounds such as caffeic, ferulic and chlorogenic acids binding to their structure. Acrylamides are considered toxic pollutants since they can be carcinogenic or genotoxic (Castaldo *et al.*, 2020; Várady *et al.*, 2021).

13 Agroindustrial residues or coffee by products

During the cultivation and processing of coffee fruits, products such as leaves, pulp, silver skin and peel are discarded and are considered agro-industrial waste. These byproducts have been used to generate compost or organic fertilizer used to fertilize crops; some of the compounds reported in beans, such as CGA and caffeine, as well as other compounds, such as epicatechin, catechin and anthocyanins, have been found in these residues (Table 6). (Boonphang *et al.*, 2021). These compounds, which have repellent and antifungal or allelopathic effects, can act as a defense against insects and pathogens in cultivated plants (Li *et al.*, 2022). In aqueous extracts of *C. arabica* pulp, the contents of epicatechin (0.18 mg) and catechin (0.26

mg) per gram of pulp were determined (Ontawong *et al.*, 2019); in leaves of *C. arabica* extracted with 70% methanol, the content of catechin and epicatechin was 2.24 mg/g of leaves (Ngamsuk *et al.*, 2019). The theobromine (0.3 mg/g) and theophylline (0.1 mg/g) contents in the silver skin of *C. arabica* were reported; these alkaloid compounds serve as ingredients in energy drinks (Castaldo *et al.*, 2020).

14 Biological activities of coffee

Naturally, the phenolic compounds in the leaves of *Coffea* (Table 7) are not only active during various phenological stages and plant growth but also act as a defense mechanism against external factors such as infection by pathogens or pests (Segheto *et al.*, 2018). The main biological properties reported for coffee infusions are associated with antioxidant, anti-inflammatory, antidiabetic, antibacterial, and anticancer activities, among others (Jeszka-Skowron *et al.*, 2016; Khochapong *et al.*, 2021). Oxidative stress is a trigger for chronic degenerative diseases such as diabetes, cancer, aging, inflammatory diseases and cardiovascular diseases (Nemzer *et al.*, 2021). The antioxidative properties of coffee infusions have been studied using classical and widely used *in vitro* techniques; these properties are mainly attributed to CGA and caffeine, although other compounds that influence antioxidative properties, such as epicatechin, catechin and anthocyanins, have also been reported (Hutachok *et al.*, 2020; Nemzer *et al.*, 2021).

Table 7. Biological activity of the main compounds of *Coffea* species.

Compounds	Biological activity	Reference
Chlorogenic acid	In plants, it acts as a defender against microorganisms and protects against UV rays Improves glucose and lipid metabolism Antioxidant Anti-inflammatory	Bhandarkar <i>et al.</i> , 2019; Stefanello <i>et al.</i> , 2019; Vázquez-Sánchez <i>et al.</i> , 2018
Caffeine	CNS stimulant Improves glucose and lipid metabolism	Ludwig <i>et al.</i> , 2014; Nuhu, 2014
Melanoidins	Antioxidant	de La Cruz <i>et al.</i> , 2019
Trigonelline	Anticancer Anti-hyperglucemic Analgesic	Nuhu, 2014
Catechin and epicatechin	Naturally, they act as a defense against insects and pathogens in crops, showing antifungal and repellent actions Antioxidant Antimicrobial properties	Li <i>et al.</i> , 2022

The anti-hyperglucemic effect of coffee cherry extract and roasted bean waste of *C. arabica* has been attributed to the inhibitory activity of the enzymes α -glucosidase and α -amylase (Nemzer et al., 2021; Vázquez-Sánchez et al., 2018). Likewise, glucose regulation by CGA is mediated by the inhibition of glucose-6-phosphatase activity to reduce glucose production in the liver. Another regulatory pathway is the decrease in the expression of sodium-dependent glucose transporters to reduce their absorption in the small intestine (Bhandarkar et al., 2019). The apoptotic, anti-inflammatory and neuroprotective potential of aqueous extracts of green and roasted coffee was demonstrated in a rat ischemia model; the administration of these extracts reduced serum glucose levels after ischemia/perfusion surgery. The pro-apoptotic markers Bax and caspase-3 decreased due to the intake of coffee extracts; simultaneously, the anti-apoptotic protein was overexpressed. Both extracts improved neuronal function and survival; improvements were associated with reductions in oxidative stress by measuring the levels of NO, a marker of neuropathy and the marker of lipoperoxidation, malondialdehyde. The extracts also increased the levels of the antioxidant enzymes catalase and superoxide dismutase (SOD) and reduced the levels of the pro-inflammatory cytokines nuclear factor kappa B (NF- κ B) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) (Rizk et al., 2021). The effect of green coffee of the species *C. arabica* on testicular damage was evaluated in a diabetic rat model. The levels of testosterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone were reduced in diabetic rats and increased after the administration of the green coffee infusion. The levels of the antioxidant markers glutathione, SOD, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase increased, while the levels of NO and malondialdehyde decreased. The levels of anti-inflammatory markers (IL-1 β and TNF- α) and apoptotic markers (Bax and caspase-3) also decreased, which reduced testicular damage (Al-Megrin et al., 2020). In studies conducted with the pulp of *C. arabica*, CGA, catechin, and polyphenols were the main compounds found. The aqueous extract of the pulp of this species was evaluated in a diabetic rat model; the extract reduced the levels of glucose and triglycerides in plasma and improved insulin resistance. Likewise, it reduced renal damage by offering a renoprotective effect by modulating the function of transport proteins that reduce the accumulation of triglycerides in the kidney and lipid peroxidation and oxidative stress in renal

epithelial cells through the modification of the mRNA expression of antioxidant enzyme genes, specifically catalase and Cu-Zn-dependent SOD (Boonphang et al., 2021). The extracts of different infusions of roasted *C. arabica* beans inhibited the platelet aggregation induced by adenosine diphosphate (ADP), collagen, epinephrine and arachidonic acid in a dose-dependent manner. Likewise, they showed a greater inhibition in the activity of the cyclooxygenase (COX) enzymes COX-1 and COX-2 than CGA and caffeine standards, indicating that the CGA and caffeine present in the extract can act synergistically in anti-inflammatory and antioxidant processes (Hutachok et al., 2020). In a study using the aqueous extract of the pulp of *C. arabica* fruits, the antimicrobial and antioxidant evaluation of the extract was carried out before and after being subjected to an *in vitro* digestion model. The extract inhibited the growth of *Escherichia coli* TISTR 780 and *Staphylococcus aureus* TISTR 1466 bacteria; the evaluation with the digested extract reduced the antimicrobial activity against *E. coli* and *S. aureus*, however, for *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 showed no effect before and after digestion. The antioxidant activity of the extract was reduced after the digestion process. The biological activity is related to the number of compounds present in the extract since their content decreased in the digested extract (Khochapong et al., 2021). Methanolic extracts of *C. arabica* pulp showed fungicidal activity against *Alternaria brassicicola* (IC₅₀=0.09 g/mL), *Pestalotiopsis sp* (IC₅₀=0.31 g/mL) and *Paramyrothecium breviseta* (IC₅₀=0.14 g/mL). Similarly, ethanolic extracts of pulp and peel (1.0-2.0 mg/mL) of *C. arabica* inhibited ~80% the growth of *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea* and *Rhizopus stolonifer*. In the *in vivo* assay using strawberries as substrate (0.4 and 2.0 mg/mL), the ethanolic extract inhibited the development of fungi in a similar way to carbendazim (methyl benzimidazole-2-yl carbamate), a systemic fungicide. Methanolic and ethanolic extracts from coffee residues are an alternative for fungal control in various crops, including coffee (Alvarado-Ambriz et al., 2020; Sangta et al., 2021). Trigonelline reduced the blood glucose levels in a rat model of diabetes mellitus and it also shown beneficial effects in rats displaying peripheral neuropathy. This compound induces apoptosis as an inhibitor of Nrf2 gene transcription in pancreatic cancer (Nuhu, 2014).

It has a proven antidiabetic effect; its administration to model rats suffering from diabetes mellitus has resulted in reduced blood glucose levels in

oral glucose tolerance test. It has also shown beneficial effects in rats displaying peripheral neuropathy, a condition for which there is no effective drug for its treatment. Its function as an inhibitor of Nrf2 gene transcription has caused pancreatic cancer cells to be more susceptible to cell death through apoptosis (Nuhu, 2014).

15 Chlorogenic acid and caffeine as the main components of coffee

Caffeine and CGA are the main chemical components within the genus *Coffea* (Figure 5). The CGA compounds are formed by esterification of *trans*-cinnamic acids (caffeic acid or ferulic acid) with quinic acid, from which subclasses of caffeoylquinic (CQA), feruloylquinic (FQA) and dicaffeoylquinic (diCQA) acids are formed (Babova *et al.*, 2016). Chlorogenic acid (5-CQA) is found in high concentrations (6-12% of the dry weight) in green coffee beans (*C. arabica*) and degrades during the roasting process; the content of 5-CQA depends on the roasting temperature (Ruiz-Palomino *et al.*, 2019). In green beans *C. canephora* from Uganda, 3 CGAs were identified and quantified: acid 3-*O*-caffeoylquinic (3-*O*-CQA), 4-*O*-caffeoylquinic (4-*O*-CQA) and 5-*O*-caffeoylquinic (5-*O*-CQA). The predominant CGAs were 5-*O*-CQA, with a 77% of the total content and 4-*O*-CQA with a 13%, while 3-*O*-CQA a 10% of the total content. These CGAs were found in very similar proportions in Arabica coffee from Brazil (Jeszka-Skowron *et al.*, 2016). During the process of coffee roasting, CGA can be isomerized, hydrolyzed or degraded into low molecular weight compounds (Farah & Donangelo, 2006). For Robusta coffee, the total content of CGAs (monochlorogenic and dichlorogenic) in a green bean extract was 54.35%; in beans roasted at 230 °C for 12 min, the CGA content was reduced by 24% (Budryn *et al.*, 2017). Depending on the species, the form of extraction and the roasting process, between 70 and 350 mg of CGA can be ingested in a 200 mL cup of coffee, 30% of which is absorbed in the small intestine; the rest reaches the colon, where it can be hydrolyzed by the intestinal microflora to obtain caffeic acid and quinic acid, compounds with antioxidant properties (Godos *et al.*, 2014). It has been determined that the antioxidative properties of caffeine are related to increased levels of reduced glutathione (GSH) due

to greater absorption of cysteine in the presence of caffeine and its ability to eliminate reactive oxygen species (ROS), particularly the hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), it is the main target being the adenosine receptors involved in the regulation of ROS production (Stefanello *et al.*, 2019). In *in vivo* tests, antioxidant activity has been determined based on the actions of regulatory enzymes that protect against oxidative damage, such as SOD and GSH reductase (Al-Megrin *et al.*, 2020; Choi *et al.*, 2018; Kwak *et al.*, 2018; Nemzer *et al.*, 2021). Other functions associated with CGA are anti-inflammatory activity and the regulation of glucose and lipid metabolism (Bhandarkar *et al.*, 2019). In metabolic syndrome conditions, CGA has beneficial effects on glucose and lipid metabolism. In the case of lipids, it reduces serum and hepatic levels of cholesterol and triglycerides, inhibits fat absorption and activates fat metabolism in the liver (Sarría *et al.*, 2018). The effect of the inhibition of glucose-6-phosphate by CGA has helped in the regulation of blood glucose, its absorption in the small intestine, and the degradation of glycogen, making it a potential agent for the treatment of diabetes. In skeletal muscle, CGA is an important activator of the AMP-activated kinase (AMPK) pathway, increasing the gene expression of glucose transporters (GLUT-4) and therefore reducing blood glucose levels (Naveed *et al.*, 2018). *in vitro* studies were used to assess the inhibition of α -glucosidase and α -amylase using an extract of the coffee cherry (*C. arabica*), CGA and acarbose, a drug used in diabetic patients. The treatments inhibited both enzymes, presenting mean inhibitory concentrations (IC₅₀) in the α -glucosidase test of 33 mg/mL, 2.1 mg/mL and 1.25 mg/mL for the extract, CGA, and acarbose, respectively; in the tests of α -amylase, the IC₅₀ values were 15 mg/mL for the extract, 2.8 mg/mL for CGA and 0.008 mg/mL for acarbose (Nemzer *et al.*, 2021). Caffeine (1,3,7-trimethylxanthine) is a heterocyclic alkaloid that has a purine base known as xanthine (Figure 5d). Caffeine exerts several physiological effects in humans, most of them associated with the functions of the central nervous system (Jung *et al.*, 2021). Caffeine acts as an antagonist of adenosine receptors in the brain; this function is better known as neuromodulation and enhances energy expenditure (Hu *et al.*, 2019). In green beans of *C. arabica*, caffeine contents up to 1.45% have been reported, while in the species *C. canephora*, caffeine contents up to 2.38% have been reported (Babova *et al.*, 2016). In Arabica coffee from Brazil, 36.2 g of caffeine per kg of the extract was observed; in Robusta beans from Vietnam, the content

was 74.3 g/kg (Jeszka-Skowron *et al.*, 2016). In the Typica and Bourbon varieties of *C. arabica*, 73% of the caffeine contents were preserved in a light roast, while in medium and dark roasts, the caffeine content was reduced by 58% and 28%, respectively (Górecki & Hallmann, 2020). The caffeine contents in a beverage will depend on the type of mixture and the water/coffee ratio. In a cup of Arabica coffee (150 mL) made with drip infusion (one of the most widely consumed beverages), the caffeine content can range from 80-120 mg; in espresso coffee, the content can range between 50 and 100 mg. (Pietsch, 2017). Studies have shown that the consumption of 400 mg of caffeine per day can benefit health by reducing the risk of Parkinson's disease, Alzheimer's disease and type 2 diabetes mellitus (Awwad *et al.*, 2021).

Conclusions

Coffee infusions from green or roasted beans of *C. arabica* and *C. canephora* are the most consumed beverages in the world. The species *C. arabica* and *C. canephora* are predominant in the market and the largest producer countries are not the main consumers. Mexico is a minority producer of coffee due to people prefers consume soluble coffee made with Robusta coffee (*C. canephora*) with high content of caffeine and low content of chlorogenic acid. The Mexican government has promoted the coffee infusion consumption and cultivation of coffee plants. The State of Guerrero is a producer of high-altitude and organic coffee by indigenous populations. Despite controversy related to potential adverse effects from coffee on the central nervous system that have been attributed to caffeine, chemical-biological studies have shown that coffee has important biological properties, such as antioxidant, anti-inflammatory, anti-hyperglucemic and lipid-lowering activities. The compounds responsible for these pharmacological effects are mainly phenolic acids (CGA, caffeic acid, ferulic acid, catechin and epicatechin), whose content is related to the species, cultivation conditions and processing of the beans. Because of the evidence presented herein, it is suggested that infusions of *C. arabica*, which is low in caffeine and high in CGA, can provide compounds that benefit the health of consumers, although it is important to consider the method used for its preparation.

Acknowledgments

The first author (J.G.-I.) thanks to Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología of Mexico (CONACYT-México), for the Basic Grant 58714 for his Doctoral studies at the Biotechnology Doctoral Program of Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

References

- Alianza Estratégica para el Desarrollo Sustentable de la Región Pacífico Sur. (2020). Territorios Cafetaleros y Capital Natural. Available at: <http://adesur.centrogeo.org.mx/cms/multimedia/cafe/menuSect-25-563>. Accessed: March 15, 2022.
- Al-Megrin, W. A., El-Khadragy, M. F., El-Khadragy, M. F., Hussein, M. H., Mahgoub, S., Abdel-Mohsen, D. M., Taha, H., Bakkar, A. A. A., Abdel Moneim, A. E., and Amin, H. K. (2020). Green *Coffea arabica* extract ameliorates testicular injury in high-fat Diet/Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Journal of Diabetes Research* 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6762709>
- Alvarado-Ambriz, S. G., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, L., and Vemon-Carter, E. J. (2020). Wet coffee processing waste as an alternative to produce extracts with antifungal activity: *in vitro* and *in vivo* valorization. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 19(1), 135-149. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio1612>
- Anthony, F., Bertrand, B., Etienne, H., and Lashermes, P. (2011). *Coffea* and *Psilanthus*. In *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources* (pp. 41-61). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-21201-7_3
- Awwad, S., Issa, R., Alnsour, L., Albals, D., and Al-Momani, I. (2021). Quantification of caffeine and chlorogenic acid in green and roasted coffee samples using HPLC-DAD and evaluation of the effect of degree of roasting on their levels. *Molecules* 26(24). <https://doi.org/10.3390/molecules26247502>

- Babova, O., Occhipinti, A., and Maffei, M. E. (2016). Chemical partitioning and antioxidant capacity of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of different geographical origin. *Phytochemistry* 123, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.01.016>
- Barrera, J. F. (2017). Insect pests of coffee and their management in nature-friendly production systems. In V. Vacante and S. Kreiter (Eds.), *Handbook of Pest Management in Organic Farming* (pp. 477-501). CABI.
- Bhandarkar, N. S., Brown, L., and Panchal, S. K. (2019). Chlorogenic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced cardiovascular, liver, and metabolic changes in rats. *Nutrition Research* 62, 78-88. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.11.002>
- Bobadilla Landey, R. (2013). Influence of micropropagation through somatic embryogenesis on somaclonal variation in coffee (*Coffea arabica*): assessment of variations at the phenotypical, cytological, genetic and epigenetic level. Doctoral dissertation, Université Montpellier II-Sciences et Techniques du Languedoc.
- Boonphang, O., Ontawong, A., Pasachan, T., Phatsara, M., Duangjai, A., Amornlerdpison, D., Jinakote, M., and Srimaroeng, C. (2021). Antidiabetic and renoprotective effects of *Coffea arabica* pulp aqueous extract through preserving organic cation transport system mediated oxidative stress pathway in experimental type 2 diabetic rats. *Molecules* 26(7). <https://doi.org/10.3390/molecules26071907>
- Budryn, G., Zaklos-Szyda, M., Zaczyńska, D., Zyzelewicz, D., Grzelczyk, J., Zduńczyk, Z., and Juśkiewicz, J. (2017). Green and roasted coffee extracts as antioxidants in β T3L1 cells with induced oxidative stress and lipid accumulation inhibitors in 3T3L1 cells, and their bioactivity in rats fed high fat diet. *European Food Research and Technology* 243(8), 1323-1334. <https://doi.org/10.1007/s00217-017-2843-0>
- Caprioli, G., Cortese, M., Sagratini, G., and Vittori, S. (2015). The influence of different types of preparation (espresso and brew) on coffee aroma and main bioactive constituents. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 66(5), 505-513. <https://doi.org/10.3109/09637486.2015.1064871>
- Castaldo, L., Narváez, A., Izzo, L., Graziani, G., and Ritieni, A. (2020). *in vitro* bioaccessibility and antioxidant activity of coffee silverskin polyphenolic extract and characterization of bioactive compounds using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Molecules* 25(9). <https://doi.org/10.3390/molecules25092132>
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural y Sustentable y la Soberanía Alimentaria (CEDRSSA). (2018). *El café en México diagnóstico y perspectiva*. <http://www.cedrssa.gob.mx/files/10/30E1%20caf%20C3%A9%20en%20M%20C3%A9xico:%20diagn%20C3%B3stico%20y%20perspectiva.pdf>. Accessed: August 05, 2022.
- Choi, S., Jung, S., and Ko, K. S. (2018). Effects of coffee extracts with different roasting degrees on antioxidant and anti-inflammatory systems in mice. *Nutrients* 10(3). <https://doi.org/10.3390/nu10030363>
- Clifford, M. N., and Willson, K. C. (1985). Coffee (M. N. Clifford and K. C. Willson, Eds.). Springer US. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6657-1>
- Contreras-Medina, D. I., Contreras-Medina, L. M., Pardo-Núñez, J., Olvera-Vargas, L. A., and Rodríguez-Peralta, C. M. (2020). Road mapping as a driver for knowledge creation: A proposal for improving sustainable practices in the coffee supply chain from Chiapas, Mexico, using emerging technologies. *Sustainability* 12(14). <https://doi.org/10.3390/su12145817>
- Davis, A. P., Chester, Mi., Aurin, O., and Fay, M. F. (2007). Searching for the relatives of *Coffea* (Rubiaceae, Ixoroideae): the circumscription and phylogeny of Coffeaceae based on plastid sequence data and morphology. *American Journal of Botany* 94(3), 313-329. <https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.313>
- Davis, A. P., Gargiulo, R., Almeida, I. N. das M., Caravela, M. I., Denison, C., and Moat, J. (2021). Hot Coffee: The identity, climate profiles, agronomy, and beverage characteristics

- of *Coffea racemose* and *C. zanguebariae*. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 5, 383. <https://doi.org/10.3389/FSUFS.2021.740137>
- Davis, A. P., Gargiulo, R., Fay, M. F., Sarmu, D., and Hagggar, J. (2020). Lost and Found: *Coffea stenophylla* and *C. affinis*, the forgotten coffee crop species of West Africa. *Frontiers in Plant Science*, 1-18. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2020.00616>
- de la Cruz, S., Iriondo-DeHond, A., Herrera, T., Lopez-Tofiño, Y., Galvez-Robleño, C., Prodanov, M., Velazquez-Escobar, F., Abalo, R., and Castillo, M. D. del. (2019). An assessment of the bioactivity of coffee silverskin melanoidins. *Foods* 8(2), 68. <https://doi.org/10.3390/foods8020068>
- Delgado-Alvarado, A. (2018). Sistema de producción de café (*Coffea arabica* L.) en la comunidad del Cerro Cuate, Iliatenco, Guerrero. *Agro Productividad* 11(10), 157-163. <https://doi.org/10.32854/AGROP.V11I10.1262>
- Duangjai, A., Saokaew, S., Goh, B. H., and Phisalprapa, P. (2021). Shifting of physicochemical and biological characteristics of coffee roasting under ultrasound-assisted extraction. *Frontiers in Nutrition* 8, 1-8. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.724591>
- Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamngong, N., and Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research* 5(4), 324-331. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.001>
- Endeshaw, H., and Belay, A. (2020). Optimization of the roasting conditions to lower acrylamide content and improve the nutrient composition and antioxidant properties of *Coffea arabica*. *PLOS ONE*, 1-18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237265>
- Farah, A., and Donangelo, C. M. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 18(1), 23-36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
- Flores Vichi, F. (2015). La producción de café en México: ventana de oportunidad para el sector agrícola de Chiapas. *Revista Espacio I+D Innovación Más Desarrollo* 4(7), 174-194. <https://doi.org/10.31644/IMASD.7.2015.a07>
- Geremu, M., Tola, Y. B., and Sualeh, A. (2016). Extraction and determination of total polyphenols and antioxidant capacity of red coffee (*Coffea arabica* L.) pulp of wet processing plants. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* 3(1). <https://doi.org/10.1186/s40538-016-0077-1>
- Godos, J., Pluchinotta, F. R., Marventano, S., Buscemi, S., Volti, G. L., Galvano, F., and Grosso, G. (2014). Coffee components and cardiovascular risk: Beneficial and detrimental effects. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 65(8), 925-936. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.940287>
- Górecki, M., and Hallmann, E. (2020). The antioxidant content of coffee and its *in vitro* activity as an effect of its production method and roasting and brewing time. *Antioxidants* 9(4). <https://doi.org/10.3390/antiox9040308>
- Górnaś, P., Dwiecki, K., Siger, A., Tomaszewska-Gras, J., Michalak, M., and Polewski, K. (2016). Contribution of phenolic acids isolated from green and roasted boiled-type coffee brews to total coffee antioxidant capacity. *European Food Research and Technology* 242(5), 641-653. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2572-1>
- Herrera, J. C., and Lambot, C. (2017). The coffee tree-genetic diversity and origin. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 1-16). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00001-3>
- Hidalgo-Espinosa, E. (2020). Coffee Origins: A Guide to Mexico-Perfect Daily Grind. Perfect Daily Grind. Available at: <https://perfectdailygrind.com/2020/03/coffee-origins-a-guide-to-mexico/>. Accessed: March 21, 2022.
- Hu, G. L., Wang, X., Zhang, L., and Qiu, M. H. (2019). The sources and mechanisms of

- bioactive ingredients in coffee. In *Food and Function* 10(6), 3113-3126. <https://doi.org/10.1039/c9fo00288j>
- Hutachok, N., Angkath, P., Chumpun, C., Fucharoen, S., Mackie, I. J., Porter, J. B., and Srichairatanakool, S. (2020). Anti-platelet aggregation and anti-cyclooxygenase activities for a range of coffee extracts (*Coffea arabica*). *Molecules* 26(1). <https://doi.org/10.3390/molecules26010010>
- International Coffee Organization. (2021). Exports of all forms of coffee by exporting countries to all destinations January 2022. Available at: <https://www.ico.org/prices/ml-exports.pdf>. Accessed: May 15, 2022.
- International Coffee Organization. (n.d.-a). Botanical aspects. Available at: https://www.ico.org/es/botanical_c.asp. Accessed: March 12, 2022.
- International Coffee Organization. (n.d.-b). History of coffee. Available at: https://www.ico.org/ES/coffee_storyc.asp. Accessed: March 12, 2022
- International Coffee Organization. (2021). Coffee Market Report. Available at: <https://www.ico.org/documents/cy2021-22/cmr-1221-e.pdf>. Accessed: March 29, 2022.
- Jeszka-Skowron, M., Sentkowska, A., Pyrzyńska, K., and de Peña, M. P. (2016). Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology* 242(8), 1403-1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>
- Jung, S., Gu, S., Lee, S. H., and Jeong, Y. (2021). Effect of roasting degree on the antioxidant properties of espresso and drip coffee extracted from *Coffea arabica* cv. Java. *Applied Sciences* 11(15). <https://doi.org/10.3390/app11157025>
- Khochapong, W., Ketnawa, S., Ogawa, Y., and Punbusayakul, N. (2021). Effect of *in vitro* digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extract. *Food Chemistry* 348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129094>
- Król, K., Gantner, M., Tatarak, A., and Hallmann, E. (2020). The content of polyphenols in coffee beans as roasting, origin and storage effect. *European Food Research and Technology* 246(1), 33-39. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03388-9>
- Kwak, H. S., Jeong, Y., and Kim, M. (2018). Effect of yeast fermentation of green coffee beans on antioxidant activity and consumer acceptability. *Journal of Food Quality* 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5967130>
- Lazcano-Sánchez, E., Trejo-Márquez, Ma. A., Vargas-Martinez, Ma. G., and Pascual-Bustamante, S. (2015). Contenido de fenoles, cafeína y capacidad antioxidante de granos de café verdes y tostados de diferentes estados de México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha* 16(2), 293-298. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81343176021>
- Li, X., Zhang, J., Lin, S., Xing, Y., Zhang, X., Ye, M., Chang, Y., Guo, H., and Sun, X. (2022). (+)-Catechin, epicatechin and epigallocatechin gallate are important inducible defensive compounds against *Ectropis griseascens* in tea plants. *Plant Cell and Environment* 45(2), 496-511. <https://doi.org/10.1111/pce.14216>
- Lim, T. K. (2013a). *Coffea canephora*. In edible medicinal and non-medicinal plants (pp. 680-709). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5653-3_33
- Lim, T. K. (2013b). *Coffea arabica*. *Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants* 42(4), 614-679. https://doi.org/10.1007/978-94-007-5653-3_32
- Ludwig, I. A., Mena, P., Calani, L., Cid, C., del Rio, D., Lean, M. E. J., and Crozier, A. (2014). Variations in caffeine and chlorogenic acid contents of coffees: What are we drinking? *Food and Function* 5(8), 1718-1726. <https://doi.org/10.1039/c4fo00290c>
- Mengistu, M. W., Workie, M. A., and Mohammed, A. S. (2020). Biochemical compounds of *arabica* coffee (*Coffea arabica* L.) varieties grown in northwestern highlands of Ethiopia. *Cogent Food and Agriculture* 6(1). <https://doi.org/10.1080/23311932.2020.1741319>

- Mestdagh, F., Glabasnia, A., and Giuliano, P. (2017). The brew-extracting for excellence. *The Craft and Science of Coffee*, 355-380. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00015-3>
- Muzykiewicz-Szymańska, A., Nowak, A., Wira, D., and Klimowicz, A. (2021). The effect of brewing process parameters on antioxidant activity and caffeine content in infusions of roasted and unroasted Arabica coffee beans originated from different countries. *Molecules* 26(12). <https://doi.org/10.3390/molecules26123681>
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., Fang Fang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., and XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 97, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>
- Nemzer, B., Kalita, D., and Abshiru, N. (2021). Quantification of major bioactive constituents, antioxidant activity, and enzyme inhibitory effects of whole coffee cherries (*Coffea arabica*) and their extracts. *Molecules* 26(14). <https://doi.org/10.3390/molecules26144306>
- Ngamsuk, S., Huang, T. C., and Hsu, J. L. (2019). Determination of phenolic compounds, procyanidins, and antioxidant activity in processed *Coffea arabica* L. leaves. *Foods* 8(9), 1-13. <https://doi.org/10.3390/foods8090389>
- Nuhu, A. A. (2014). Bioactive micronutrients in coffee: recent analytical approaches for characterization and quantification. *ISRN Nutrition* 2014, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2014/384230>
- Ontawong, A., Duangjai, A., Muanprasat, C., Pasachan, T., Pongchaidecha, A., Amornlerdpison, D., and Srimaroeng, C. (2019). Lipid-lowering effects of *Coffea arabica* pulp aqueous extract in Caco-2 cells and hypercholesterolemic rats. *Phytomedicine* 52, 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.06.021>
- Otero, A., and Elms, R. (2021). Coffee anual Mexico. Available at: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileNamefileName=Coffee%20Annual_Mexico%20City_Mexico_05-15-2021. Accessed: March 21, 2022.
- Ozuna, C., Mulík, S., Valdez-Rodríguez, B., Abraham-Juárez, M. del R., and Fernández-López, C. L. (2020). The effect of organic farming on total phenols, total flavonoids, brown compounds and antioxidant activity of spent coffee grounds from Mexico. *Biological Agriculture and Horticulture* 36(2), 107-118. <https://doi.org/10.1080/01448765.2019.1704876>
- Peña-Maravilla, M., Calixto-Romo, M. A., Gullén-Navarro, K., Sánchez, J. E., and Amaya-Delgado, L. (2017). Cellulases and xylanases production by *Penicillium citrinum* CGETCR using coffee pulp in solid state fermentation. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 16(3), 757-769. <http://www.rmiq.org/ojs311/index.php/rmiq/article/view/929>
- Prandi, B., Ferri, M., Monari, S., Zurlini, C., Cigognini, I., Verstringe, S., Schaller, D., Walter, M., Navarini, Philippe, L., Benoît, B., and Hervé, E. (2009). Breeding coffee (*Coffea arabica*) for sustainable production. *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, 525-543. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71201-7_14
- Pietsch, A. (2017). Decaffeination-Process and Quality. In *The Craft and Science of Coffee* (pp. 225-143). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00010-4>
- Prandi, B., Ferri, M., Monari, S., Zurlini, C., Cigognini, I., Verstringe, S., Schaller, D., Walter, M., Navarini, L., Tassoni, A., Sforza, S., and Tedeschi, T. (2021). Extraction and chemical characterization of functional phenols and proteins from coffee (*Coffea arabica*) by-products. *Biomolecules* 11(11), 1-17. <https://doi.org/10.3390/biom11111571>
- Raharimalala, N., Rombauts, S., McCarthy, A., Garavito, A., Orozco-Arias, S., Bellanger, L., Morales-Correa, A. Y., Froger, S., Michaux, S., Berry, V., Metairon, S., Fournier, C., Lepelley,

- M., Mueller, L., Couturon, E., Hamon, P., Rakotomalala, J. J., Descombes, P., Guyot, R., and Crouzillat, D. (2021). The absence of the caffeine synthase gene is involved in the naturally decaffeinated status of *Coffea humblotiana*, a wild species from Comoro archipelago. *Scientific Reports* 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87419-0>
- Reich, A. (2010). Coffee and tea history in a cup. *The Herbarist*, 8-15. <https://edsp.uam.elogim.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=3&sid=24d6d9b1-6dab-40dc-8fd4-3a1c2c002fd7%40redis>
- Rizk, S., Taha, H., Abdel Moneim, A. E., and Amin, H. K. (2021). Neuroprotective effect of green and roasted coffee bean extracts on cerebral ischemia-induced injury in rats. *Metabolic Brain Disease* 36(7), 1943-1956. <https://doi.org/10.1007/s11011-021-00769-6>
- Ruiz-Palomino, P., Guatemala-Morales, G., Mondragón-Cortéz, P. M., Zúñiga-González, E. A., Corona-González, R. I., and Arriola-Guevara, E. (2019). Empirical model of the chlorogenic acid degradation kinetics during coffee roasting in a spouted bed. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 18(2), 387-396. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2019v18n2/Ruiz>
- Sangta, J., Wongkaew, M., Tangpao, T., Withee, P., Haituk, S., Arjin, C., Sringarm, K., Hongsibsong, S., Sutan, K., Pusadee, T., Sommano, S. R., and Cheewangkoon, R. (2021). Recovery of polyphenolic fraction from *arabica* coffee pulp and its antifungal applications. *Plants* 10(7), 1-15. <https://doi.org/10.3390/plants10071422>
- Sarriá, B., Martínez-López, S., Sierra-Cinos, J. L., García-Diz, L., Mateos, R., and Bravo-Clemente, L. (2018). Regularly consuming a green/roasted coffee blend reduces the risk of metabolic syndrome. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 269-278. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1316-8>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2017). *Café Mexicano*. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/256426/B_sico-Caf_.pdf. Accessed: August 05, 2022.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2018). México, onceavo productor mundial de café. Available at: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/mexico-onceavo-productor-mundial-de-cafe?idiom=es>. Accessed: March 15, 2022.
- Segheto, L., Santos, B. C. S., Werneck, A. F. L., Vilela, F. M. P., Sousa, O. V. de, and Rodarte, M. P. (2018). Antioxidant extracts of coffee leaves and its active ingredient 5-caffeoylquinic acid reduce chemically-induced inflammation in mice. *Industrial Crops and Products* 126, 48-57. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.027>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2021). Cierre de la producción agrícola-Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Acciones y Programas. Available at: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Accessed: March 13, 2022.
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., Medeiros, L. L. de, Madruga, M. S., and Bezerra, T. K. A. (2020). Obtaining bioactive compounds from the coffee husk (*Coffea arabica* L.) using different extraction methods. *Molecules* 26(1). <https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- Smith, R. F. (1985). A History of Coffee. In: *Coffee*, 1-12. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6657-1_1
- Souza, L. dos S. de, Carrero Horta, I. P., de Souza Rosa, L., Barbosa Lima, L. G., Santos da Rosa, J., Montenegro, J., da Silva Santos, L., Nana de Castro, R. B., Freitas-Silva, O., and Teodoro, A. J. (2020). Effect of the roasting levels of *Coffea arabica* L. extracts on their potential antioxidant capacity and antiproliferative activity in human prostate cancer cells. *RSC Advances* 10(50), 30115-30126. <https://doi.org/10.1039/D0RA01179G>
- Stanek, N., Zarębska, M., Bilos, L., Barabosz, K., Nowakowska-Bogdan, E., Semeniuk, I., Blaszkiewicz, J., Kulesza, R., Matejuk, R., and Szkutnik, K. (2021). Influence of coffee brewing methods on the chromatographic and spectroscopic profiles, antioxidant and sensory properties. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01001-2>

- Stefanello, N., Spanevello, R. M., Passamonti, S., Porciúncula, L., Bonan, C. D., Olabiyi, A. A., Teixeira da Rocha, J. B., Assmann, C. E., Morsch, V. M., and Schetinger, M. R. C. (2019). Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system. *Food and Chemical Toxicology* 123, 298-313. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.10.005>
- Tablas González, I., Guerrero Rodríguez, J. de D., Aceves Ruiz, E., Álvarez Calderón, N. M., Loyo, E. L., and Olvera Hernández, J. I. (2021). El cultivo de café en Ojo de Agua de Cuauhtémoc, Malinaltepec, Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 12(6), 1031-1042. <https://doi.org/10.29312/REMEXCA.V12I6.2736>
- Trujillo-Carretero, C., González-Ríos, O., Figueroa-Hernández, C. Y., and Suárez-Quiroz, M. L. (2021). Effect of modified atmospheres storage on physicochemical and biological parameters of *arabica* Mexican green coffee. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 21(1), 1-22. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim2620>
- United States Department Agriculture. (2021). Coffee: World Markets and Trade. Available at: <https://public.govdelivery.com/accounts/USDAFAS/subscriber/new>. Accessed: March 12, 2022.
- Várady, M., Ślusarczyk, S., Boržikova, J., Hanková, K., Vieriková, M., Marcinčák, S., and Popelka, P. (2021). Heavy-metal contents and the impact of roasting on polyphenols, caffeine, and acrylamide in specialty coffee beans. *Foods* 10(6). <https://doi.org/10.3390/foods10061310>
- Vázquez-Sánchez, K., Martínez-Saez, N., Rebollo-Hernanz, M., del Castillo, M. D., Gaytán-Martínez, M., and Campos-Vega, R. (2018). *in vitro* health promoting properties of antioxidant dietary fiber extracted from spent coffee (*Coffea arabica* L.) grounds. *Food Chemistry* 261, 253-259. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.064>

Article

Chemical and Biological Characterization of Green and Processed Coffee Beans from *Coffea arabica* Varieties

Javier Gallardo-Ignacio ¹, Anislada Santibáñez ², Octavio Oropeza-Mariano ³, Ricardo Salazar ⁴, Rosa Mariana Montiel-Ruiz ², Sandra Cabrera-Hilerio ⁵, Manasés Gonzáles-Cortazar ², Francisco Cruz-Sosa ^{1,*} and Pilar Nicasio-Torres ^{2,*}

¹ Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril de San Rafael Atlixco No. 186, Col. Leyes de Reforma 1ª Sección, Iztapalapa, Mexico City 09310, Mexico; gajarig-07mx@hotmail.com

² Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social (CIBIS-IMSS), Argentina No. 1 Col Centro, Xochitepec 62790, Mexico; anisszg@gmail.com (A.S.); montielmariana@gmail.com (R.M.M.-R.); gmanases@hotmail.com (M.G.-C.)

³ Cafeticultores Mephaa de la Montaña, Paraje Montero, Malinaltepec 41500, Mexico; ooropezam05@gmail.com

⁴ Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT), CONACYT, Laboratorio de Bromatología y Tecnología de Alimentos Universidad Autónoma de Guerrero, Av. Lázaro Cárdenas S/N, Chilpancingo de los Bravo 39086, Mexico; rsalazarlo@conacyt.mx

⁵ Laboratorio de Bromatología, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Av. San Claudio S/N Ciudad Universitaria, Puebla 72000, Mexico; sandra.cabrera@correo.buap.mx

* Correspondence: cuhp@xanum.uam.mx (F.C.-S.); pialiva@yahoo.com.mx (P.N.-T.)



Citation: Gallardo-Ignacio, J.; Santibáñez, A.; Oropeza-Mariano, O.; Salazar, R.; Montiel-Ruiz, R.M.; Cabrera-Hilerio, S.; Gonzáles-Cortazar, M.; Cruz-Sosa, F.; Nicasio-Torres, P. Chemical and Biological Characterization of Green and Processed Coffee Beans from *Coffea arabica* Varieties. *Molecules* **2023**, *28*, 4685. <https://doi.org/10.3390/molecules28124685>

Academic Editors: Patricia Morales, Virginia Fernández-Ruiz and Maria Ciudad-Mulero

Received: 12 May 2023

Revised: 6 June 2023

Accepted: 8 June 2023

Published: 10 June 2023



Copyright: © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Coffee is one of the most consumed beverages in the world; its production is based mainly on varieties of the *Coffea arabica* species. Mexico stands out for its specialty and organic coffee. In Guerrero, the production is done by small indigenous community cooperatives that market their product as raw material. Official Mexico Standards stipulate the requirements for its commercialization within the national territory. In this work, the physical, chemical, and biological characterizations of green, medium, and dark roasted beans from *C. arabica* varieties were carried out. Analysis by HPLC showed higher chlorogenic acid (55 mg/g) and caffeine (1.8 mg/g) contents in the green beans of the Bourbon and Oro Azteca varieties. The caffeine (3.88 mg/g) and melanoidin (97 and 29 mg/g) contents increased according to the level of roasting; a dissimilar effect was found in the chlorogenic acid content (14.5 mg/g). The adequate nutritional content and the sensory evaluation allowed the classification of dark-roasted coffee as premium coffee (84.25 points) and medium-roasted coffee as specialty coffee (86.25 points). The roasted coffees presented antioxidant activity without cytotoxic effects; the presence of CGA and caffeine supports the beneficial effects of drinking coffee. The results obtained will serve as a basis for making decisions on improvements to the coffees analyzed.

Keywords: antioxidant; *C. arabica* beans; chlorogenic acid; caffeine; cytotoxicity; melanoidins

1. Introduction

Coffee commercialization is mainly based on *Coffea arabica*, which accounts for 70% of global production. The cultivation of *C. arabica* occurs mainly in Latin American countries such as Colombia, Honduras, Peru, and Mexico, with a production of 13.8, 5.6, 4.45, and 3.7 million bags of 60 kg, respectively [1]. Peru and Mexico are recognized for their organic and high-altitude coffee production. In Mexico, 3.33% of total coffee production is organic, and 28,000 t are principally exported to the European Union [2].

In Mexico, there are more than 600 cooperatives dedicated to coffee cultivation whose producers have obtained certifications such as USDA Organic, Fair Trade, Shade Grown, Rainforest Alliance, and Small Producer to achieve new markets and offer their products [3]. Mexican coffee is cultivated in four main regions: the Gulf of Mexico, the Soconusco, the

north-central part of Chiapas, and the Pacific Ocean slope; the latter includes Colima, Guerrero, Jalisco, Nayarit, and Oaxaca [4]. Chiapas State produces 41% of Mexican coffee. Of the total coffee production, 70% is exported to the United States, European Union, Japan, Cuba, and Canada as green coffee (85%), soluble coffee (12%), and roasted coffee (3%); the rest (30%) is for national sale [5].

In Guerrero, *C. arabica* varieties are cultivated in Costa Grande, Costa Chica, and the Región de la Montaña. The coffee cultivated in the “Región de la Montaña” is characterized by growing under shade, also known as “benefit”, and it is cultivated traditionally by people from the Mixtec and Tlapaneco ethnic groups, grouped in cooperatives [6]. The coffee produced by these cooperatives is sold to intermediary companies such as Asociación Rural de Interés Colectivo de R.L. (ARIC), CAFECO Agroindustrial del Pacífico S.A. de C.V., and the Unión de Ejidos y Comunidades Luz de La Montaña, A.C. [7]. More than 60% of the production is marketed as green coffee to Nestlé S.A. Company; a small amount is exported to Europe by the Network of Sustainable Self-Managed Farmers S.C (RASA); and the remaining $\approx 30\%$ is destined for coffee shops highlighting Starbucks as the main buyer, self-service, and convenience stores (Oxxo, 7 Eleven, among others), as well as for local consumption [8].

Some producers have organized themselves to give added value to their coffee by looking for methods that improve the quality of their products and marketing; one of them is the Cooperative Cafeticultores Mephaa de La Montaña. This cooperative currently produces small batches of commercial and specialty coffee from mixtures of *C. arabica* varieties, Typica, Bourbon, and Oro Azteca, which are marketed at regional and national levels. The cooperative sells green and roasted coffee to coffee shops and roasters in the country (70%) such as Buzz Café, Bombilla Errante, Sonata tostadores, and Comercializadora Golmex de México S.A de C.V.; the rest is locally sold as roasted and ground coffee.

In Mexico, there are Official Mexico Norms such as NMX-F-013-SCFI-2010 and PROY-NOM-255-SE-2021 that establish physical, chemical, and nutritional specifications to market roasted and ground coffee within the national market. The Cooperative Cafeticultores Mephaa de “La Montaña” coffee production is carried out on a small scale and organically. To expand its market, it is necessary to carry out studies that contribute to improving yields and cost reduction [9,10].

The main compounds related to the cup quality of the coffee drink, which gives it astringency and flavor, are chlorogenic acid (CGA), caffeine, caffeic acid, ferulic acid, vanillic acid, cinnamic acid, trigonelline, and volatile compounds such as furans, pyridines, pyrazines, and pyrroles [11,12].

The major compounds present in the coffee are CGA, caffeic, ferulic, catechin, epicatechin, and anthocyanin phenolic compounds; caffeine and trigonelline alkaloid compounds; and those that form during roasting, such as melanoidins and acrylamide (Figure 1) [11,12]. The Official Mexican Norms specify the caffeine and acrylamide levels required to market roasted and ground coffee. Furthermore, these compounds have important biological activities such as antioxidants, caffeine as a neurostimulator, CGA as an anti-inflammatory, and glucose and lipid metabolism [13–15].

The Cooperative Cafeticultores Mephaa de “La Montaña” has implemented a physical analysis of green beans as a first step in improving their commercial coffees. To address this point, in the present study, it was proposed to determine the nutritional and chemical specifications of green, medium, and dark roasted coffee beans that are currently marketed in addition to the antioxidant effect, as well as the cup quality of coffee drinks obtained from these commercial coffees.

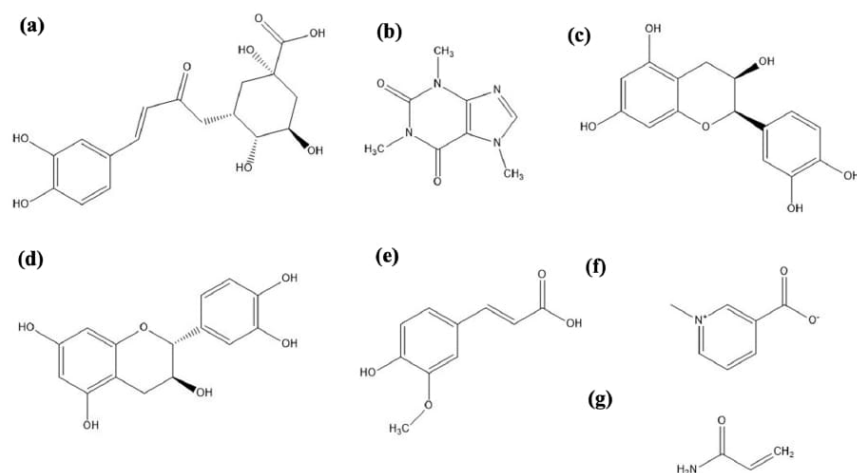


Figure 1. Chemical structures of main compounds identified in the beans of *Coffea arabica*: (a) 3-O-caffeoylquinic acid (CGA); (b) Caffeine; (c) Epicatechin; (d) Catechin; (e) Ferulic acid; (f) Trigonelline; (g) Acrylamide.

2. Results and Discussion

The organic coffee of the State of Guerrero is known for its natural dry process, which preserves the pulp. In La Región de la Montaña, in the State of Guerrero, coffee is produced by people of the Mixtec and Tlapaneca ethnic groups, whose crops are mainly the Typica, Bourbon, Caturra, and Mundo Novo varieties of *C. arabica*, although hybrid varieties are being promoted such as Colombia, Costa Rica 95, Oro Azteca, and Sarchimor. The Cooperative Cafeticultores Mephaa de “La Montaña” cut the ripe cherries and processed them in an artisanal way; cherries are dehydrated under the sun until they obtain dry fruits with a humidity of 11–12%, and the shell is removed to obtain the green coffee beans (GC) [13]. The green beans are principally marketed on a small scale as mixtures of Typica, Bourbon, and Oro Azteca varieties, based on their color and size.

The next step is to determine the nutritional and chemical analyses of green and ground roasted beans that are currently marketed, in addition to the antioxidant effect, as well as the cup quality of coffee drinks.

2.1. Nutritional Composition

The bromatological analysis of green and processed beans in coffee allows for knowledge of the quality and nutritional composition of commercial coffees. The protein and carbohydrate content were similar between toasted beans and the mixture (GCM) of Typica, Bourbon, and Oro Azteca (Table 1); the fat content was higher in the dark roast coffee (DCR). The higher humidity content was found in GCM, which decreases as the roasting temperature is increased (MRC 180 °C and DCR 210 °C), while the ashes generated are similar in GCM and DRC samples. The humidity (<6.0%) and ash (<6.5%) contents in the medium roasting coffee (MRC) and DCR commercial coffee beans are within the range established by the Official Mexican Norm for roasted and ground coffee, NMX-F-013-SCFI-2010. The humidity of green beans is inferior to the range specified to prevent the growth of fungi and bacteria (10–12%) and preserve physical properties and nutritional content. Instead, only the fat content of DCR beans as an etheric extract (8–18%) achieves the parameter stipulated by the norm. The roasted coffee beans darken, and the released oils give them a shiny appearance.

Table 1. Nutritional composition of commercial coffee with *Coffea arabica* varieties in the mixture.

Coffee	Content in Percentage (%)				
	Humidity	Ash	Fats	Proteins	Carbohydrates
GCM	8.48 ± 0.13 **	4.54 ± 0.06 **	5.09 ± 0.89	12.34 ± 0.29	69.56 ± 1.06
MRC	4.23 ± 0.14 *	3.84 ± 0.11	6.48 ± 0.34 *	13.04 ± 0.28	72.41 ± 1.26
DRC	3.59 ± 0.12	4.44 ± 0.08 **	8.15 ± 0.63 **	13.01 ± 0.38	70.81 ± 1.11

Values are mean ± standard deviation ($n = 3$). According to the ANOVA and Tukey's test, the means with * and ** were significantly different. Humidity $F = 1251.75$, $p \leq 0.0001$, $Tukey_{0.05} = 0.33$; Ash $F = 62.89$, $p \leq 0.0001$, $Tukey_{0.05} = 0.20$; Fats $F = 16.26$, $p \leq 0.0001$, $Tukey_{0.05} = 1.65$; Proteins $F = 4.56$, $p > 0.05$, $Tukey_{0.05} = 0.80$; Carbohydrates $F = 7.55$, $p \leq 0.0001$; $Tukey_{0.05} = 2.25$.

In the *C. arabica* beans with light (176 °C), medium (204 °C), and dark (232 °C) roasts, the humidity content was reduced with the temperature increase, while protein (16%) and fat (16.2%) contents increased in the dark roast. Ashes and sugar contents were similar (2 °Brix) in the three roasts [16].

2.2. Chemical Analysis

The High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) analysis showed that compounds of greater predominance identified in the infusions of greens and processed beans were CGA ($\lambda = 330$ nm) and caffeine ($\lambda = 280$ nm), with a retention time of 8.51 min and 8.88 min, respectively (Figure 2). Minority compounds around CGA and caffeine were detected at these long waves; one of them was caffeic acid with a retention time of 8.3 min. These compounds are related to the cup quality of the coffee drink, which gives it astringency and flavor [15,17].

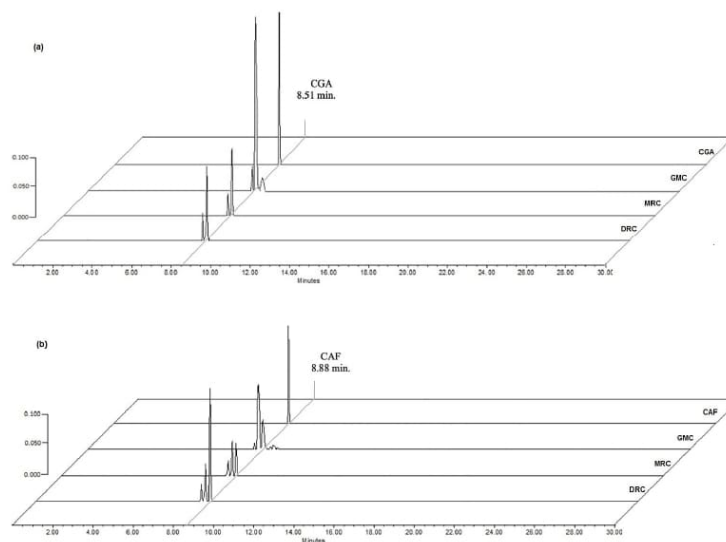


Figure 2. Chromatograms of HPLC at $\lambda = 330$ nm of (a) CGA standard (25 µg/mL) and infusions of GCM (125 µg/mL), MRC, and DCR (500 µg/mL); (b) at $\lambda = 280$ nm of caffeine (CAF) standard (10 µg/mL) and infusions of GCM (125 µg/mL), MRC, and DCR (500 µg/mL).

The ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) analysis of the compound isolated from the MRC infusion validated that it corresponds to CGA; chemical displacements

and coupling constants (Table 2) correspond to those reported in the literature for this compound [18].

Table 2. ^1H (400 MHz) and ^{13}C NMR (100 MHz) Spectroscopic Data of Chlorogenic Acid (MeOH-d_4 , δ , ppm, J/Hz).

C Atom	δ ^1H -Experimental	δ ^{13}C -Experimental	Data of [18]	
			δ ^1H	δ ^{13}C
1		70.24		71.06
2a	2.09 (m)			
b	1.92 (dd,12.1, 12.4 Hz)	39.44	2.21 (m)	37.65
3	5.23 (ddd, 5.1,5.5, 10.2 Hz)	71.29	5.17	71.06
4	3.62 (d, br, 10.1 Hz)	72.97	4.89	68.48
5	4.12 (s, br)	71.91	4.77	73.90
6a	1.98 (m)			
b	1.98 (m)	37.21	1.84	36.66
1'		126.03		126.05
2'	7.10 (d,1.4 Hz)	115.06	7.00	114.99
3'		146.07		148.80
4'		148.80		145.71
5'	6.82 (d,8.1 Hz)	116.25	6.98	116.20
6'	7.03 (dd,1.5, 8.1 Hz)	121.68	7.00	114.99
7'	7.52 (d,15.8 Hz)	145.18	7.42	145.71
8'	6.30 (d,15.9 Hz)	115.20	6.15	114.99
9'		166.74		166.18
COOH		175.88		175.38

Among the green beans of *C. arabica* varieties analyzed (Table 3), the Typica variety has the lowest contents of CGA (36.81 mg/g) and caffeine (1.16 mg/g). The GCM is composed of a greater proportion of the beans of the Typica species (Typica-Bourbon-Oro Azteca, 40–30–30%), and the content of both compounds in the GCM is close to those detected in this variety. It has been reported that in *C. arabica* green coffee, the CGA content ranges between 52 and 76 mg/g [19]. The CGA content in the Bourbon and Oro Azteca varieties is within this range.

Table 3. Contents of CGA, caffeine, and melanoidins in green and processed beans of *Coffea arabica* varieties.

Coffee Beans	CGA	Caffeine	Melanoidins		$K_{\text{mix}} \text{Lg}^{-1}\text{cm}^{-1}$
			Unclarified	Clarified	
			mg/g Coffee		
GCM	30.81 ± 2.22	0.87 ± 0.09	15.41 ± 1.15	2.04 ± 0.88	0.07
Bourbon-GC	55.75 ± 2.31 **	1.78 ± 0.12 **	-	-	-
Oro Azteca-GC	54.63 ± 2.43 **	1.77 ± 0.15 **	-	-	-
Typica-GC	36.81 ± 0.10	1.16 ± 0.18	-	-	-
MRC	30.26 ± 0.45 **	2.52 ± 0.17 *	85.51 ± 5.99 *	18.95 ± 1.9 **	1.586
DRC	14.52 ± 0.65	3.88 ± 0.23 **	96.79 ± 3.44 **	29.06 ± 7.7 **	1.614

Values are mean ± standard deviation ($n = 9$). According to the ANOVA and Tukey's test, the means with ** were significantly different. CGA $F = 328.13$ $p \leq 0.0001$, Tukey $_{0.05} = 2.66$; caffeine $F = 101.83$ $p \leq 0.0001$, Tukey $_{0.05} = 0.17$ in mg/g of coffee in green beans; CGA $F = 415.72$ $p \leq 0.0001$, Tukey $_{0.05} = 1.60$; caffeine $F = 678.07$ $p \leq 0.0001$, Tukey $_{0.05} = 0.20$ in mg/g of coffee in processed beans. For melanoidins, values are mean ± standard deviation ($n = 3$). According to the ANOVA and Tukey's test, the means with * and ** were significantly different. Unclarified melanoidins $F = 1423.09$ $p \leq 0.0001$, Tukey $_{0.05} = 4.055$ in mg/g of coffee, and clarified melanoidins $F = 26.45$ $p \leq 0.0001$, Tukey $_{0.05} = 11.516$ in mg/g of coffee.

When the green beans are subjected to the roasting process, the CGA content is reduced by the effects of temperature and time exposure. CGA is hydrolyzed into the molecules of

simple phenols that compose it, caffeic acid and quinic acid [17]. In the GCM and MRC beans, the CGA content was similar, while in the DRC beans roasted at 210 °C, the CGA content was reduced by 53% in comparison to the unroasted beans (Table 3).

Studies carried out at different levels of roasting show that the content of CGA in the beans is correlated with the temperature and the time of roasting, finding greater content in a light roast (186.5 °C, 7:15 min) of 11.24 mg/g of coffee; when the roasting time is prolonged to a dark roast (186.5 °C, 14:02 min), the content is reduced by 70% [20].

Similarly, the Typica variety has a low content of caffeine (1.16 mg/g) compared with the other two varieties; therefore, the GCM presents a low level (0.87 mg/g) of caffeine (Table 3). The caffeine content determined in green beans increased in the roasted beans as the level of roasting increased (Table 3). Darkly roasted beans presented a higher caffeine content; when the green beans are roasted, they lose moisture, increase in size, and become porous, allowing a better caffeine extraction [21]. Nevertheless, this content is minor compared with that established for the commercialization of roasted coffee; according to the Mexican Norm (NMX-F-013-SCFI-2010), the acceptable caffeine content range is between 10 and 20 mg/g for roasted coffee.

The CGA and caffeine content are related to the variety of coffee, growing conditions, and degree of ripeness of the fruits. In a study conducted on coffees from Veracruz, Nayarit, Oaxaca, and Chiapas states of Mexico, it was found that the level of caffeine ranges between 2.9 and 7.0 mg/g of roasted coffee [22]. The caffeine content determined in the processed coffee from Guerrero State (Región de la Montaña) and reported in this study is between these ranges.

In Typica variety coffee beans from plants grown in two different places, the caffeine content in light roasting was 4.19 mg/g and 5.01 mg/g; when the level of roasting was increased to a dark level, the content presented an increase (5.18 mg/g and 6.12 mg/g), a similar effect that was reflected in this study [21]. Other studies on *C. arabica* have not reported variations in its content at different levels of roasting (11.9–13 mg/g), even using temperatures between 194 and 217 °C, showing a thermostable behavior of caffeine [23].

In other studies, it has been reported that in *C. arabica* beans from Brazil, the highest content of caffeine was present in light (6.42 mg/g) and medium (5.77 mg/g) roasts, compared with dark roast (2.63 mg/g). A similar effect was reported in the Typica and Bourbon varieties of coffee beans; the highest content was presented in light roasting (14.59 mg/g), followed by medium and dark (5.57 mg/g). The caffeine content in green beans of Sidama (16.4 mg/g), Yirgacheffe (15.72 mg/g), and Harar (15.03 mg/g) varieties was reduced to 7.96, 8.87, and 4.52 mg/g, respectively, after the beans were subjected to a dark roasting process [20,24].

2.3. Melanoidins

During roasting practice, the phenolic compounds can be degraded by Maillard and Strecker reactions, or they can be followed by the formation of new compounds such as melanoidins, acrylamides, and hydroxymethylfurfural [25,26]. Melanoidins give the beans a brown pigment, flavor, and color, and they are associated with antioxidant activity that is enhanced by simple phenolic compounds such as caffeic, ferulic, and chlorogenic acids binding to their structure [17].

In this study, two procedures were performed to determine the melanoidin content of the coffee infusions. In unclarified solutions, the melanoidins are present in the GCM, and the content more than doubled after beans were roasted in the DRC (~2.87 fold). The coffee beans presented a dark brown coloration (Table 2). Carrez I and II solutions are used to precipitate proteins and remove turbidity and micelles, reducing interference at the time of reading ($\lambda = 420$ nm). In the clarified samples, the melanoidin content was lower compared with those not clarified, but with similar behavior in their content; it was related to the increase in the level of roasting. The samples subjected to the clarification process lost color and presented the formation of a precipitate, which may be influencing the elimination of compounds of high molecular weight. The contents of melanoidins determined are lower

than those reported in the literature (200–250 mg/g) [27,28]. Other authors report that the highest melanoidin content was determined in soluble coffee obtained from *C. canephora* (676 mg/g) and *C. arabica* varieties (peaberry, known as caracolillo in Spanish, 305 mg/g) roasted with sugar [28].

2.4. Sensory Evaluation

An important evaluation for commercial coffees is the cup quality of coffee drinks; this value depends on the physical and organoleptic properties of the beverage, such as flavor, aroma, acidity, body, and balance. These properties are associated with the content of their chemical compounds (Figure 1), mainly CGA, caffeine, caffeic acid, ferulic acid, vanillic acid, and cinnamic acid, among others [17]. In this work, CGA and caffeine contents were analyzed.

The GCM infusions had a pH of 5.6, the MRC infusions had a pH of 4.74, and the DRC infusions had a pH of 6.15. The MRC infusions had a higher acidity correlated with the CGA content (Table 3), as reported [16]. The sensory attributes established by the Mexican Norm PROY-NOM-255-SE-2021 in fragrance/aroma, flavor, acidity, balance, and taster score must present a score ≥ 8.0 ; in residual flavor and body, a score ≥ 7.5 ; and in uniformity, cup cleanliness, and sweetness, a score of 10. Natural coffees or honeyed coffees of specialty are those that present a total rating of 85 to 87.75 points according to the Mexican Norm.

The sensory analysis of the infusions prepared from MRC achieved a score of 86.25, and it was considered a natural specialty coffee. The points obtained in each parameter are within the values considered by the Norm (Table 4). In natural coffee or dry coffee, it is common to obtain characteristic fruity aromas and flavors due to the preservation of the peel and pulp of the fruit [29], such as those determined in this study, which present aromas of tropical fruits and flavors of white wine, grape, and honey.

Table 4. Sensory profile of commercial coffee blend of *Coffea arabica* varieties.

Coffee Beans	MRC	DRC
Aroma	8.00 \pm 0.16 *	7.75 \pm 0.20
Taste	7.75 \pm 0.29	7.75 \pm 0.29
Aftertaste	8.00 \pm 0.20	8.00 \pm 0.20
Acidity	8.00 \pm 0.61	8.00 \pm 0.13
Body	8.25 \pm 0.20 *	8.00 \pm 0.13
Balance	8.00 \pm 0.29 *	7.25 \pm 0.29
Uniformity	10 \pm 0	10 \pm 0
Clean cup	10 \pm 0	10 \pm 0
Sweetness	10 \pm 0	10 \pm 0
Taster score	8.25 \pm 0.29 *	7.5 \pm 0.41
Total Score	86.25	84.25

Values are mean \pm standard deviation ($n = 4$). According to the Student's *t*-test ($p \leq 0.05$), the means with * were significantly different.

The score of DRC coffee (84.25) was lower than that required to be considered a natural specialty coffee, but it is within the natural coffees named premium (80 to 84.75 points) according to the Norm, and attributes such as aroma, flavor, body, and balance presented the lowest score. In this drink, a floral and fruity aroma with date, grape, and red apple flavors was detected, along with tartaric citrus acidity, a juicy-silky body, and medium-high sweetness. The sensory analysis performed on the MRC beans is within the considered range of specialty coffees; a lower flavor was reported (7.75) and a greater body (8.25); in the case of DRC, beans showed a lower aroma (7.75), a lower balance (7.25), as well as a smaller body than in MRC beans.

In roasted coffee, it is very common to find mixtures of *C. arabica* varieties identifying different organoleptic characteristics influenced by the method to which the cherries are subjected to obtain the green beans. Other aspects that must be considered are the altitude at which the crops are located and their degree of maturity. The commercial coffees analyzed in this study were carefully collected by hand, considering the uniformity of ripe cherries, from

C. arabica plant varieties grown from 1900 m.a.s.l. under the shade of other native trees of the place; furthermore, during drying, cherries were placed on beds to avoid contact with the soil and the growth of contaminating microorganisms. In addition, selected and sorted grains are stored in moisture-controlled spaces to preserve the quality of the green beans.

C. arabica beans from Brazil processed as natural coffee (87.8 points) presented better attributes in aroma, flavor, acidity, and body than honeyed coffee (83.8 points), possibly due to fermentation carried out by the microorganisms present in the fruit [30]. Likewise, natural coffee (dry, 80), wet (85), and semi-dry (86) with the fermentation of *C. arabica* variety Colombia presented similar attributes such as medium fruity body, medium fresh acidity, and chocolate and caramel flavors. Sensory attributes are related to geographic conditions, climate, altitude, and crop field practices [31].

2.5. Biological Activities

2.5.1. Antioxidant Effect

The coffee beverage has antioxidant activity related to the content of chemical compounds such as caffeine, CGA, and melanoidins [17]. The antioxidant activity of processed coffee infusions was determined by the equivalents of Trolox and CGA related to the inhibitory effect of the radicals DPPH, ABTS, and FRAP (Table 5). In the tests carried out, the MRC extract showed a greater capacity for radical scavenging compared with the DRC extract. The CGA content in the infusion of MRC was related to the greater inhibitory activity, likely due to the low degradation of phenolic compounds involved in antioxidant processes. Furthermore, DRC presented a higher content of melanoidin, although its activity was lower than that presented by MRC. Finally, in the case of caffeine, it acts indirectly in the antioxidant process by increasing levels of glutathione [32]. Other molecules related to the main effect of coffee beverages are ferulic acid, caffeic acid, vanillic acid, guaiacol, epicatechin, catechin, and anthocyanins, which can unravel various mechanisms for the elimination or inhibition of free radicals [11,12,33].

Table 5. Antioxidant activity of commercial coffee with *Coffea arabica* varieties in the mixture.

Sample	DPPH		ABTS		FRAP		
	eq CGA	eq Trolox	eq CGA	eq Trolox	eq CGA	eq Trolox	eq FeSO ₄
MRC	1.60 ± 0.27 *	52.74 ± 4.84 *	16.09 ± 0.33 *	14.39 ± 1.16	16.22 ± 1.04 *	14.59 ± 2.35 *	54.68 ± 1.46 *
DRC	1.12 ± 0.37	42.52 ± 1.91	12.49 ± 0.46	12.15 ± 0.49	8.82 ± 0.94	6.38 ± 1.40	33.30 ± 0.63

Values are mean ± standard deviation ($n = 3$). According to the Student's *t*-test ($p \leq 0.05$), the means with * were significantly different.

The roasted beans of Colombia, Typica, and Bourbon varieties presented a similar effect to that reported in this study; the greatest antioxidant activity was found in the light and medium roasts through the tests carried out with DPPH and ABTS [20,31]. The high content of phenolic compounds provides greater radical inhibitory activity in beans with light roasting of the Cataui variety [34].

The concentration needed to inhibit 50% of DPPH and ABTS radicals depends on the content of phenolic compounds present, such as CGA. According to the tests performed, the MRC extract (higher CGA content, Table 3) presents a greater antioxidant effect (Table 5), and a lower concentration is required to achieve IC₅₀ compared with DRC (Table 6). In *C. arabica*, the content of CGA was higher in green beans than in roasted beans, so less content of the green extract was required to achieve IC₅₀ using the DPPH test [35].

Table 6. Inhibitory concentration (IC₅₀) of commercial coffee with *Coffea arabica* mixture varieties.

Assay	IC ₅₀					
	MRC	DRC	MRC	DRC	CGA	Trolox
	mg/mL Extract		µg/mL CGA Content		µg/mL Standard	
DPPH	2.22 ± 0.08	2.59 ± 0.05 *	56.92 ± 1.90	66.20 ± 1.46 *	28.18 ± 0.83	91.88 ± 3.75 *
ABTS	0.38 ± 0.02	0.49 ± 0.02 *	9.69 ± 0.35	12.67 ± 0.44 *	6.51 ± 0.16 *	6.29 ± 0.03

Values are mean ± standard deviation (*n* = 3). According to the Student's *t*-test (*p* ≤ 0.05), the means with * were significantly different.

2.5.2. Cytotoxic Activity

Coffee, being a food product with high demand around the world, must be free of harmful chemical compounds and biological agents. It promotes the formation of toxic compounds in coffee beans when exposed to high temperatures, such as acrylamide and hydroxymethylfurfural, which are considered carcinogenic or genotoxic [26,36]. Based on the IC₅₀ determined for DRC (216.26 ± 27.7 µg/mL) and MRC (234.63 ± 29.6 µg/mL) infusions on the growth of the 3T3-L1 fibroblast cell line at 48 h of exposition, it was determined that the infusions did not present cytotoxic effects. A plant extract has been determined to be cytotoxic when it presents IC₅₀ values <100 µg/mL [37]. Studies on coffee extracts have reported a cytotoxic effect on prostate cancer cell lines DU145 and PC3, without showing toxic effects in macrophage cell lines (RAW 2647), hepatocytes (AML-12), or normal CCD-18Co fibroblast cells [34]. The commercial samples (MRC and DRC) analyzed did not show toxic effects, likely due to the low content of harmful compounds in these coffees.

The acrylamide content is regulated by each country; in the European Union, the permissible limit for acrylamide content is 400 µg/kg for roasted coffee and 800 µg/kg for soluble coffee. Studies reported variable amounts of acrylamide, but it has been shown that in dark coffees or with prolonged levels of roasting, the acrylamide content may be higher than in medium or light coffees [25,38].

Several studies have shown that the content of chemical compounds is influenced by the processing method of beans and infusion preparation [39]. In the infusion preparation, it is essential to consider the pressure, temperature, and contact time of the beans with the water; within the populations, the amount of coffee used can vary; for example, for filtered coffees in Europe, the United States, and Canada, 7 g per 100 mL of water is usually used, in Brazil 10 g, and in Italy 20 g [40]. In Mexico, it is common for coffee preparation to use one or two tablespoons per coffee cup for Turkish coffee or drip coffee. In this study, infusions were prepared with 6.6 g of coffee (equivalent to one tablespoon) per 100 mL of water by extraction using a French press due to its practicality.

On average, people usually ingest two to four cups (≈150 mL per cup) of coffee per day. Moderate coffee drinkers consume per day between 200 and 400 mg of caffeine and between 200 and 500 mg of CGA per cup [13,41]. Studies have shown that coffee consumption of four cups per day can benefit health by reducing the risk of Parkinson's disease, Alzheimer's disease, and type 2 diabetes mellitus [42]. Infusions of MCR using 9.9 g of coffee in 150 mL of water would contain 25.0 mg of caffeine and 299.5 mg of CGA, while in DRC infusions the content would be 38.4 mg of caffeine and 143.7 mg of CGA per cup. Coffee beverage consumption of MCR or DCR coffee can benefit people's health.

The antioxidant properties of coffee infusions are mainly attributed to CGA and caffeine, although other compounds that influence antioxidant properties, such as epicatechin, catechin, and anthocyanins, have also been reported. Oxidative stress is a trigger for chronic degenerative diseases such as arthritis, diabetes mellitus, and cancer. Important pharmacological effects such as anti-inflammatory, regulation of glucose and lipid metabolisms, and anticancer have been reported for coffee beverages and CGA [13,15,40,43]. Caffeine exerts physiological effects associated with the functions of the central nervous system [44].

3. Materials and Methods

3.1. Biological Material

The cherries of *Coffea arabica* varieties Typica, Bourbon, and Oro Azteca employed in the present study were harvested in the 2020–2021 and 2021–2022 cycles in the plantations of the Cooperative Cafeticultores Mephaa “Region de La Montaña”, at the localities of La Soledad and Paraje Montero, municipality of Malinaltepec (longitude: 98.704167 and latitude: 17.164167), Guerrero, Mexico (Figure 3). Coffee cherries of each variety were dried on drying beds under the sun at room temperature for 15 days; after that time, the husk was removed to obtain the GC.

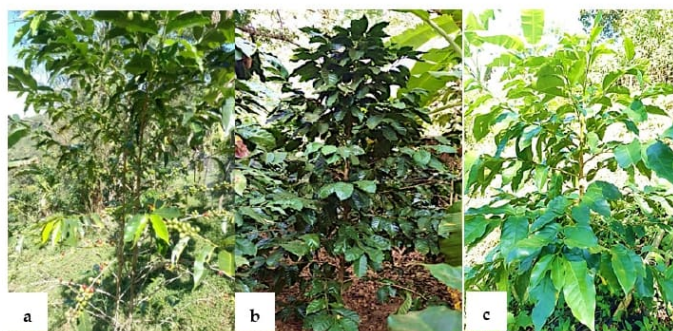


Figure 3. Photographs of the varieties *Coffea arabica* (a) Typica, (b) Bourbon, and (c) Oro Azteca grew in the Paraje Montero locality municipality of Malinaltepec at 1980 m.a.s.l.

Subsequently, the GC of the Typica, Bourbon, and Oro Azteca varieties were mixed (GCM) in a ratio of 40–30–30%. The mixture of coffee beans was processed in a 100MEX[®] brand industrial roaster with a steel rotating cylinder to reach an Agrtron Gourmet Bean roasting level of 45 (180 °C per 15 min) to obtain a medium roast coffee (MRC) and an Agrtron Gourmet Bean roasting level of 35 (210 °C per 15 min) for a dark roast coffee (DRC). The roasted beans are transferred onto plates and allowed to cool at room temperature (Figure 4).



Figure 4. Processed cherries and beans of *C. arabica* (a) Drying of cherries of different varieties (GCM); (b) Mixture of green beans of different varieties; (c) Medium-roasted coffee beans (MRC); (d) Dark-roasted coffee beans (DRC).

3.2. Bromatological Analysis

The analysis of the nutritional components of GCM, MRC, and DRC beans was performed based on the standard methods of the American Cereal Chemical Association (AACC International) [45]. The methods employed were moisture (44–15.02), protein (46–16.01), fat (30–25.01), and ash content values (08–01.01). Moisture (%) was determined by the weight difference of the grain before and after drying in a forced-air oven (VWR, DHG-9070A[®] (Beijing, China) for 5 min. The ash content (%) was obtained from the

difference in weight of the waste generated by the samples placed in a porcelain pot and incinerated in a muffle at 550 °C for 4 h. The fats of the grains were extracted by Soxhlet with petroleum ether, the solvent was evaporated, and the extracted residue was kiln-dried at 100 °C, weighed, and expressed as % ethereal extract (crude fat). The protein content (%) was determined by the quantification of total free nitrogen by the modified Kjeldahl method. Carbohydrate content was calculated by subtracting the sum of the percentages of moisture, lipids, protein, and ash from 100%.

The values of humidity, ash, proteins, lipids, and carbohydrates obtained in the GCM, MRC, and DRC were expressed as an average of three replicates and their standard deviation (SD). Each variable was analyzed with a simple ANOVA and a Tukey *post*-test with a confidence level of 95% ($p < 0.05$) using the SAS System for Windows 9.1 software (Statistical software, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA).

3.3. Chemical Analyses

3.3.1. Infusion Preparation

The beans of Typica-GC, Bourbon-GC, Oro Azteca-GC, GCM, MRC, and DRC were ground in an MCT-750 100MEX[®] (Veracruz, Mexico) grinder with a particle size of 1.0 mm. Infusions of each coffee were prepared in the laboratory in triplicate at room temperature with 13.2 g of ground coffee beans in 200 mL of boiling water to 98 °C in a French press for 5 min. The infusions were filtered, and the pH was measured with a potentiometer Oakton pH 510; subsequently, the infusions were concentrated at reduced pressure in a rotary evaporator (Heidolph Laborota 4000). Then, the extracts were freeze-dried (Heto Drywinner DW3), and the powders were stored in amber glass containers at room temperature.

3.3.2. Chlorogenic Acid and Caffeine Quantification

The concentrations of chlorogenic acid (CGA) and caffeine (CAF) in the Typica-GC, Bourbon-GC, Oro Azteca-GC, GCM, MRC, and DCR infusions were determined by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) in Waters equipment consisting of a separation module (Waters 2695) and a photodiode detector (Waters 2696). For this purpose, 10 µL of each infusion at concentrations of 0.25, 0.5, and 1.0 mg/mL were injected and eluted through an RP-18 column (250 × 4.6 mm, 5 µm, SUPELCO Discovery[®], Merck, Darmstadt, Germany) with a flow of 0.9 mL/min in a gradient system of 30 min based on water HPLC grade (VWR, Mississauga, ON, Canada) with 0.5% trifluoroacetic acid (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) (A) and acetonitrile-HPLC (Merck, Germany) (B). Gradient flow starts at A-100%, with gradient changes to 95% in 2 min, 70% in 2 min, 50% in 17 min, 20% in 3 min, 0% A and 100% B in 3 min, and finally system return to initial conditions (A-100%) in 3 min. Data were processed with the Empower Pro 3.0 software (Waters, Milford, MA, USA), and the chromatograms were obtained at wavelengths (λ) of 330 nm for CGA and at $\lambda = 280$ nm for caffeine. The identification of both compounds was determined by comparison of their retention time (RT) and absorption spectra. The CGA and caffeine concentrations were calculated according to external standards for CGA (3-(3,4-Dihydroxycinnamoyl) quinic acid; $\geq 95\%$ purity, Sigma-Aldrich) and caffeine ($\geq 99\%$ purity, Sigma-Aldrich). The calibration curves of CGA and caffeine were constructed using a lineal square model $y = mx + b$ with the Microsoft Office Excel 365 Software (Microsoft[®] Excel V.16.70) with correlation coefficients ≥ 0.9995 ; for CGA, it was a regression equation of $y = 11,702x + 19,276$ with an $R^2 = 0.9982$, and for caffeine, $y = 87,483x + 38,786$ with an $R^2 = 0.9993$.

The CGA and CAF contents were expressed in mg/g of coffee beans as the mean of nine analyses and their standard deviation (SD). The GC contents of the varieties, GCM, MRC, and DRC infusions, were compared with an ANOVA and a Tukey *post*-test with a 95% confidence level ($p < 0.05$).

3.3.3. Chemical Fractionation of MRC Infusion

The MRC extract (2 g) was fractionated by open column chromatography (2.7 cm diameter \times 44 cm high), packed with 20 g of RP-18 silica gel (Supelco, Germany), and eluted with a gradient system of H₂O: CH₃CN. Aliquots of 10 mL were collected with an initial system of 100% H₂O (1–10) and polarity changes from CH₃CN at 5% (11–15), CH₃CN at 50% (16–17), and CH₃OH at 100% (18). The fractions were analyzed by reverse-phase-thin layer chromatography with an elution system of 90:10 H₂O:CH₃CN and displayed in a UV lamp (UVP UVGL-58) at $\lambda = 254$ nm and $\lambda = 365$ nm. Aliquots with a similar chromatographic profile (13–15) were grouped and diluted in dimethyl sulfoxide to be analyzed by NMR of ¹H and ¹³C spectra at 100 MHz, 2-dimensional (2-D) correlated spectroscopy (COSY), heteronuclear simple quantum coherence (HSQC), and heteronuclear multiple bond coherence (HMBC) at 400 MHz on Varian INOVA-400 equipment.

3.4. Melanoidins

The melanoidin content was analyzed in infusions of GCM, MRC, and DRC by two different procedures:

- (1) Serial dilutions (2.0–0.0625 mg/mL) were prepared from a solution of 10 mg/mL of each infusion, and the absorbance of each concentration was measured at $\lambda_{\text{max}} = 420$ nm in a UV-VIS spectrophotometer (Genesys 20-Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). The melanoidin content in the infusions was determined by the Lambert-Beer formula: $C = A/cb$, where C is concentration, A absorbance, b cell length (1 cm), and c extinction coefficient (1.1289 L/g cm) [28,46].
- (2) Extracts from 2 g of each infusion were dissolved in 20 mL distilled water, and they were filtrated through Acrodiscs Pall® (0.45 μ m). The calibration curves for each coffee were built from dilutions with absorbances between 1.0 and 0.01. For melanoidin determination, 1 mL of the filtrate was diluted with water (1/5, v/v), and 1 mL of Carrez I and II solutions were added (Sigma-Aldrich). The solution was homogenized and completed to a volume of 10 mL. Then, each sample was centrifuged at 4000 rpm for 5 min, and the clarified samples were filtered through Acrodiscs Pall® (Pall Port Washington, NY, USA) (0.20 μ m). The corresponding readings for melanoidins were carried out to obtain the content and the specific extinction coefficient (K_{mix}) determined by Lambert-Beer's law.

The melanoidin content values in the GCM, MRC, and DRC were expressed as the mean of three analyses and their SD, compared with an ANOVA and a Tukey *post*-test with a 95% confidence level ($p < 0.05$).

3.5. Sensory Assessment

Infusions in cups of MRC or DRC ground coffee (MCT-750 100MEX® grinder (100MEX Veracruz, Mexico) with a particle size of 1.0 mm) were prepared with 8.25 g in 150 mL of distilled water at 93 °C in a simple infusion. The sensory evaluation of the coffee in cup was carried out by four tasters certified by the Mexican Association of Specialty Coffees and Cafeterias, AC (AMCCE, abbreviations in Spanish), following the cupping protocol of the Specialty Coffees of America Association (SCAA) [47]. The parameters of the SCAA are based on a reference of 100 points; a score of 0 to 10 points was given to each organoleptic characteristic of aroma/fragrance, flavor, residual flavor, sweetness, acidity, body, uniformity, balance, clean cup, and taster. The point total sum was the result of the sensory analysis; scores ≥ 80 are considered very good coffees and are classified as specialty coffees.

3.6. Biological Analyses

3.6.1. Antioxidant Activity Assays

Radical Scavenging of 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

In each well of microplates of 96 wells, 175 μL of DPPH (1 mg/mL of methanol) solution was added, followed by 25 μL of CGA (3.0–100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Trolox (6-Methoxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) (3.0–100 $\mu\text{g}/\text{mL}$), MRC (0.1–5.0 mg/mL), or DRC (0.1–5.0 mg/mL) solutions. The absorbance was measured at the beginning of the reaction (A_0), and the plates were stored protected from light for 30 min. After this period, the absorbance was measured (A_1) again with an ELISA lector (Perkin-Elmer Lambda 40 UV/Vis) to $\lambda = 515$ nm. The inhibition percentage was calculated with the equation:

$$\% \text{ inhibition} = \left[\frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \right] \times 100$$

The CGA, Trolox, MRC, and DRC mean inhibitory concentrations (IC_{50}) of scavenging DPPH radicals were determined based on the curves generated by recording the inhibition percentages of the reaction against the concentration. In addition, the absorbance values of the samples were compared with the graphed curves of the inhibition percentage against the concentration of the standards and reported in GCA or Trolox equivalents (eq CGA and eq Trolox) [25].

The IC_{50} and GCA, or Trolox equivalents, were expressed as the mean of three replicates and their SD. Each variable of MRC and DRC was compared by a Student's *t*-test with a $p < 0.05$.

ABTS (2,2'-Azinobis (3-Ethylbenzothiazoline-6 sulfonic Acid) Radical

The 7 mM ABTS radical solution was prepared with persulfate of potassium 140 μM in the dark under agitation for 12 to 16 h; after, the solution was diluted with methanol until it had an absorbance value of 0.7 at $\lambda = 734$ nm. In each well, 230 μL of ABTS solution and 20 μL of CGA (0.3–1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Trolox (0.3–1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), MRC (0.1–5.0 mg/mL), or DCR (5.0–0.1 mg/mL) were added. After a 30 sec stirring, the absorbance was determined at $\lambda = 734$ nm. The antioxidant activity was expressed by inhibition percentage, IC_{50} , and CGA or Trolox equivalents, as previously described.

The IC_{50} and GCA, or Trolox equivalents, were expressed as the mean of three replicates and their SD. Each variable of MRC and DRC was compared by a Student's *t*-test with a $p \leq 0.05$ value.

Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP)

The FRAP solution was produced with 1 mL of 10 mM 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) solution and 1 mL 20 mM ferric chloride ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) solution in 10 mL of 300 mM sodium acetate buffer (CH_3COONa) to pH 3.6. The FRAP solution was prepared freshly and kept at 37 $^\circ\text{C}$. To each well, 175 μL of FRAP was added, along with 50 μL of CGA (13–0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), Trolox (0.3–1.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$), MRC (0.1–5.0 mg/mL), or DCR (0.1–5.0 mg/mL). The absorbance was measured at $\lambda = 595$ nm after 30 s of the reaction.

The IC_{50} and GCA, Trolox, or ferric sulfate equivalents were expressed as the mean of three replicates and their SD. Each variable of MRC and DRC was compared by a Student's *t*-test with a $p \leq 0.05$ value.

3.6.2. Cytotoxic Evaluation

The 3T3-L1 (ATCC[®] CL-173) cell line was used for cytotoxic assays; this culture is a mouse embryonic fibroblast cell line obtained from IN VITRO S.A. The 3T3-L1 fibroblasts are committed to differentiation into adipocytes. The cells were cultivated in Dubelco's Modified Eagle medium (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum, L-glutamine (1 mL \times 100), antibiotic 3X (1 mix100), non-essential amino acids (1 mL \times 100), and sodium

bicarbonate (3 mL × 100). Cellular cultures were incubated at 37 °C in a humidified atmosphere with 5% CO₂.

For the cytotoxic assay, the 3T3-L1 cells were cultivated in plates of 96 wells with a cellular density of 3 × 10⁴ cells per well. After 24 h of plate attachment, the non-adherent cells were eliminated and subsequently treated with DMSO 1% as the negative control, different concentrations of MRC and DRC infusions (15.6–500 µg/mL), and paclitaxel as the positive control (0.6–20 µg/mL). The plates were incubated for 24 and 48 h at the conditions above described.

After each incubation time, the medium was discarded, and 80 µL of DMEM medium and 20 µL of (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) (MTT, 5 mg/mL in PBS) were added to each well and incubated for 4 h at 37 °C to allow the formation of formazan crystals. The supernatant was removed, 100 µL of isopropanol was added, and the plates were incubated at room temperature with stirring for 15 min until the formazan crystals were dissolved. The optical density of the solution was measured with a microplate spectrophotometer at λ = 490 nm.

The cell viability percentage was determined by the following equation:

$$\text{Cell viability (\%)} = \left[\frac{(\text{negative control OD} - \text{tested sample OD})}{\text{negative control OD}} \right] \times 100$$

The mean inhibitory concentration (IC₅₀) for each infusion was calculated with a dose-response curve regression analysis.

4. Conclusions

The artisanal coffees showed variable chemical contents related to the roasting process to which they were subjected. The nutritional composition of MRC and DRC beans is according to normative requirements. Both infusions presented variations in sensory attributes, allowing the classification of the MRC as specialty coffee and the DRC coffee as premium. It is well known that coffee consumption is related to its flavor and aroma; both coffees had aromas of tropical fruits and flavors of white wine, grape, and honey.

The conditions of cultivation, the proportions of the *C. arabica* varieties in the coffee bean mixture, the roasting processing of the beans, and the infusion preparation are parameters related to the CGA and caffeine contents. CGA content was reduced by the effect of roasting, while caffeine and melanoidins were increased, although below the suggested levels by the norm. The commercial samples analyzed showed antioxidant activity without presenting toxic effects; the content of harmful compounds in these coffees may be at low concentrations.

The results obtained in this experimental work will be the basis for making modifications to improve the manufacturing processes of these commercial coffees, comply with the standards for green and roasted coffee dealing by the Mexican Standard, and preserve their chemical composition and biological potential.

Author Contributions: Conceptualization, F.C.-S. and P.N.-T.; methodology, J.G.-I., A.S., R.S., R.M.M.-R., S.C.-H., M.G.-C. and O.O.-M.; formal analysis, J.G.-I., A.S. and P.N.-T.; writing—original draft preparation, J.G.-I., A.S., P.N.-T. and F.C.-S.; writing—review and editing, J.G.-I., A.S., R.S., R.M.M.-R., S.C.-H., M.G.-C., O.O.-M., F.C.-S. and P.N.-T.; supervision, F.C.-S. and P.N.-T.; project administration, F.C.-S. and P.N.-T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: All data generated during this study are included in this published article.

Acknowledgments: The first author (J.G.-I.) acknowledges that this work was supported by Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT-Mexico), for the Basic Grant 745198 for his Doctoral studies at the Biotechnology Doctoral Program of Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. To CIBIS-IMSS for providing its infrastructure to carry out the experimental work. To the Cooperativa Cafeticultores Mephaa de la Región de la Montaña for providing the biological material for this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Sample Availability: Not applicable.

References

- International Coffee Organization. Exports of All Forms of Coffee by Exporting Countries to All Destinations. 2022. Available online: <https://www.ico.org/prices/m1-exports.pdf> (accessed on 10 May 2022).
- Comercio Internacional del Café, *El Caso de México*; Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria: Ciudad de México, México, 2019.
- Otero, A.; Elms, R. Coffee Anual Mexico; 2021. Available online: https://apps.fas.usda.gov/newgainapi/api/Report/DownloadReportByFileName?fileName=Coffee%20Annual_Mexico%20City_Mexico_MX2022-0031.pdf (accessed on 11 November 2022).
- Flores, V.F. La Producción de Café En México: Ventana de Oportunidad Para El Sector Agrícola de Chiapas. *Rev. Espac. I+D Innovación Más Desarro.* **2015**, *4*, 174–194. [CrossRef]
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Café: Datos Preliminares a 2017 Indican Una Producción Nacional de 839 Mil Toneladas. Available online: <https://www.gob.mx/siap/articulos/cafe-datos-preliminares-a-2017-indican-una-produccion-nacional-de-839-mil-toneladas> (accessed on 30 March 2023).
- Hidalgo-Espinosa, E. Coffee Origins: A Guide to Mexico—Perfect Daily Grind. Available online: <https://perfectdailygrind.com/2020/03/coffee-origins-a-guide-to-mexico/> (accessed on 20 March 2022).
- Tablas González, I.; Guerrero Rodríguez, J.D.D.; Aceves Ruiz, E.; Álvarez Calderón, N.M.; Láinez-Loyo, E.; Olvera Hernández, J.I. El Cultivo de Café En Ojo de Agua de Cuauhtémoc, Malinaltepec, Guerrero. *Rev. Mex. De Cienc. Agric.* **2021**, *12*, 1031–1042. [CrossRef]
- Alianza Estratégica para el Desarrollo de la Región Pacífico Sur. Planeación Espacial Participativa y Diálogo Estratégico. Available online: <http://adesur.centrogeo.org.mx/ms/guerrero/narrative/77> (accessed on 14 March 2023).
- El Café En México Diagnóstico y Perspectiva*; Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria: Ciudad de México, México, 2018.
- Roman-Maldonado, Y.; Gutiérrez-Salomón, A.L.; Jaimez-Ordaz, J.; García-Barrón, S.E.; Barajas-Ramírez, J.A. Drivers of Liking to Predict Consumers' Acceptance of Local Coffee from Indigenous Mexican Regions. *Eur. Food Res. and Technol.* **2022**, *248*, 467–475. [CrossRef]
- Hutachok, N.; Angkasith, P.; Chumpun, C.; Fucharoen, S.; Mackie, I.J.; Porter, J.B.; Srichairatanakool, S. Anti-Platelet Aggregation and Anti-Cyclooxygenase Activities for a Range of Coffee Extracts (*Coffea arabica*). *Molecules* **2020**, *26*, 10. [CrossRef] [PubMed]
- Nemzer, B.; Kalita, D.; Abshiru, N. Quantification of Major Bioactive Constituents, Antioxidant Activity, and Enzyme Inhibitory Effects of Whole Coffee Cherries (*Coffea arabica*) and Their Extracts. *Molecules* **2021**, *26*, 4306. [CrossRef]
- Gallardo-Ignacio, J.; Nicasio-Torres, P.; Santibáñez, A.; Cabrera-Hilerio, S.L.; Cruz-Sosa, F. Ethnopharmacological Study of the Genus *Coffea* and Compounds of Biological Importance. *Rev. Mex. Ing. Quim.* **2022**, *21*, Bio2856. [CrossRef]
- Khochapong, W.; Ketnawa, S.; Ogawa, Y.; Punbusayakul, N. Effect of In Vitro Digestion on Bioactive Compounds, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Coffee (*Coffea arabica* L.) Pulp Aqueous Extract. *Food Chem.* **2021**, *348*, 129094. [CrossRef]
- Murai, T.; Matsuda, S. The Chemopreventive Effects of Chlorogenic Acids, Phenolic Compounds in Coffee, against Inflammation, Cancer, and Neurological Diseases. *Molecules* **2023**, *28*, 2381. [CrossRef]
- Duangjai, A.; Saokaew, S.; Goh, B.-H.; Phisalprapa, P. Shifting of Physicochemical and Biological Characteristics of Coffee Roasting Under Ultrasound-Assisted Extraction. *Front. Nutr.* **2021**, *8*, 724591. [CrossRef]
- Farah, A.; Donangelo, C.M. Phenolic Compounds in Coffee. *Braz. J. Plant Physiol.* **2006**, *18*, 23–36. [CrossRef]
- Xu, Y.; Zhang, J.; Pan, T.; Ren, F.; Luo, H.; Zhang, H. Synthesis, Characterization and Effect of Alkyl Chain Unsaturation on the Antioxidant Activities of Chlorogenic Acid Derivatives. *LWT* **2022**, *162*, 113325. [CrossRef]
- Jeszka-Skowron, M.; Sentkowska, A.; Pyrzyńska, K.; De Peña, M.P. Chlorogenic Acids, Caffeine Content and Antioxidant Properties of Green Coffee Extracts: Influence of Green Coffee Bean Preparation. *Eur. Food Res. Technol.* **2016**, *242*, 1403–1409. [CrossRef]
- Górecki, M.; Hallmann, E. The Antioxidant Content of Coffee and Its In Vitro Activity as an Effect of Its Production Method and Roasting and Brewing Time. *Antioxidants* **2020**, *9*, 308. [CrossRef] [PubMed]
- Tsai, C.-F.; Jioe, I.P.J. The Analysis of Chlorogenic Acid and Caffeine Content and Its Correlation with Coffee Bean Color under Different Roasting Degree and Sources of Coffee (*Coffea arabica* Typica). *Processes* **2021**, *9*, 2040. [CrossRef]

22. Lazcano-Sánchez, E.; Trejo-Márquez, M.A.; Vargas-Martinez, M.G.; Pascual-Bustamante, S. Contenido de Fenoles, Cafeína y Capacidad Antioxidante de Granos de Café Verdes y Tostados de Diferentes Estados de México. *Rev. Iberoam. Tecnol. Postcosecha* **2015**, *16*, 293–298.
23. Cwiková, O.; Komprda, T.; Šottníková, V.; Svoboda, Z.; Simonová, J.; Slováček, J.; Jůzl, M. Effects of Different Processing Methods of Coffee *Arabica* on Colour, Acrylamide, Caffeine, Chlorogenic Acid, and Polyphenol Content. *Foods* **2022**, *11*, 3295. [CrossRef]
24. Król, K.; Gantner, M.; Tatarak, A.; Hallmann, E. The Content of Polyphenols in Coffee Beans as Roasting, Origin and Storage Effect. *Eur. Food Res. Technol.* **2020**, *246*, 33–39. [CrossRef]
25. Endeshaw, H.; Belay, A. Optimization of the Roasting Conditions to Lower Acrylamide Content and Improve the Nutrient Composition and Antioxidant Properties of *Coffea arabica*. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0237265. [CrossRef]
26. Várady, M.; Ślusarczyk, S.; Boržikova, J.; Hanková, K.; Vieriková, M.; Marcinčák, S.; Popelka, P. Heavy-Metal Contents and the Impact of Roasting on Polyphenols, Caffeine, and Acrylamide in Specialty Coffee Beans. *Foods* **2021**, *10*, 1310. [CrossRef]
27. Moreira, A.S.P.; Nunes, F.M.; Domingues, M.R.; Coimbra, M.A. Coffee Melanoidins: Structures, Mechanisms of Formation and Potential Health Impacts. *Food Funct.* **2012**, *3*, 903. [CrossRef]
28. Pérez-Hernández, M.L.; Chávez-Quiroz, K.; Medina-Juárez, L.Á.; Gámez, M.N. Compuestos Fenólicos, Melanoidinas y Actividad Antioxidante de Café Verde y Procesados de Las Especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. *Rev. Cienc. Biológicas Salud* **2013**, *15*, 51–56. [CrossRef]
29. de Melo Pereira, G.v.; de Carvalho Neto, D.P.; Magalhães Júnior, A.I.; Vásquez, Z.S.; Medeiros, A.B.P.; Vandenberghe, L.P.S.; Soccol, C.R. Exploring the Impacts of Postharvest Processing on the Aroma Formation of Coffee Beans—A Review. *Food Chem.* **2019**, *272*, 441–452. [CrossRef] [PubMed]
30. Stanek, N.; Zarębska, M.; Bilos, L.; Barabosz, K.; Nowakowska-Bogdan, E.; Semeniuk, I.; Błaszkiwicz, J.; Kulesza, R.; Matejuk, R.; Szkutnik, K. Influence of Coffee Brewing Methods on the Chromatographic and Spectroscopic Profiles, Antioxidant and Sensory Properties. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 21377. [CrossRef]
31. Cortés-Macias, E.T.; López, C.F.; Gentile, P.; Girón-Hernández, J.; López, A.F. Impact of Post-Harvest Treatments on Physicochemical and Sensory Characteristics of Coffee Beans in Huila, Colombia. *Postharvest Biol. Technol.* **2022**, *187*, 111852. [CrossRef]
32. Stefanello, N.; Spañavello, R.M.; Passamonti, S.; Porciúncula, L.; Bonan, C.D.; Olabiyi, A.A.; Teixeira da Rocha, J.B.; Assmann, C.E.; Morsch, V.M.; Schetinger, M.R.C. Coffee, Caffeine, Chlorogenic Acid, and the Purinergic System. *Food Chem. Toxicol.* **2019**, *123*, 298–313. [CrossRef]
33. Bhandarkar, N.S.; Brown, L.; Panchal, S.K. Chlorogenic Acid Attenuates High-Carbohydrate, High-Fat Diet-Induced Cardiovascular, Liver, and Metabolic Changes in Rats. *Nutr. Res.* **2019**, *62*, 78–88. [CrossRef] [PubMed]
34. de Souza, L.D.S.; Horta, I.P.C.; de Souza Rosa, L.; Lima, L.G.B.; da Rosa, J.S.; Montenegro, J.; da Silva Santos, L.; de Castro, R.B.N.; Freitas-Silva, O.; Teodoro, A.J. Effect of the Roasting Levels of *Coffea arabica* L. Extracts on Their Potential Antioxidant Capacity and Antiproliferative Activity in Human Prostate Cancer Cells. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 30115–30126. [CrossRef]
35. Acidri, R.; Sawai, Y.; Sugimoto, Y.; Handa, T.; Sasagawa, D.; Masunaga, T.; Yamamoto, S.; Nishihara, E. Phytochemical Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Plant Organs Compared to Green and Roasted Coffee Beans. *Antioxidants* **2020**, *9*, 93. [CrossRef]
36. Castaldo, L.; Narváez, A.; Izzo, L.; Graziani, G.; Ritieni, A. In vitro Bioaccessibility and Antioxidant Activity of Coffee Silverskin Polyphenolic Extract and Characterization of Bioactive Compounds Using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS. *Molecules* **2020**, *25*, 2132. [CrossRef]
37. Cordell, G.A.; Farnsworth, N.R.; Beecher, C.W.W.; Soejarto, D.D.; Kinghorn, A.D.; Pezzuto, J.M.; Wall, M.E.; Wani, M.C.; Cobb, R.R.; O'Neill, M.J.; et al. Novel Strategies for the Discovery of Plant-Derived Anticancer Agents. In *Anticancer Drug Discovery and Development: Natural Products and New Molecular Models*; Springer: Boston, MA, USA, 1994; pp. 63–83.
38. Kocadağlı, T.; Gökmen, V. Formation of Acrylamide in Coffee. *Curr. Opin. Food Sci.* **2022**, *45*, 100842. [CrossRef]
39. Caporaso, N.; Genovese, A.; Canela, M.D.; Civitella, A.; Sacchi, R. Neapolitan Coffee Brew Chemical Analysis in Comparison to Espresso, Moka and American Brews. *Food Res. Int.* **2014**, *61*, 152–160. [CrossRef]
40. Farah, A.; de Paula Lima, J. Consumption of Chlorogenic Acids through Coffee and Health Implications. *Beverages* **2019**, *5*, 11. [CrossRef]
41. Pietsch, A. Decaffeination-Process and Quality. In *The Craft and Science of Coffee*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 225–243. ISBN 9780128035580.
42. Awwad, S.; Issa, R.; Alnsour, L.; Albals, D.; Al-Momani, I. Quantification of Caffeine and Chlorogenic Acid in Green and Roasted Coffee Samples Using HPLC-DAD and Evaluation of the Effect of Degree of Roasting on Their Levels. *Molecules* **2021**, *26*, 7502. [CrossRef] [PubMed]
43. Hu, G.L.; Wang, X.; Zhang, L.; Qiu, M.H. The Sources and Mechanisms of Bioactive Ingredients in Coffee. *Food Funct.* **2019**, *10*, 3113–3126. [CrossRef] [PubMed]
44. Jung, S.; Gu, S.; Lee, S.H.; Jeong, Y. Effect of Roasting Degree on the Antioxidant Properties of Espresso and Drip Coffee Extracted from *Coffea arabica* Cv. Java. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 7025. [CrossRef]
45. Cereals & Grains Association. Approved Methods of Analysis. Available online: <https://www.cerealsgrains.org/resources/methods/Pages/default.aspx> (accessed on 11 March 2023).

46. Tagliazucchi, D.; Elena, V.; Angela, C. Effect of Dietary Melanoidins on Lipid Peroxidation during Simulated Gastric Digestion: Their Possible Role in the Prevention of Oxidative Damage. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58*, 2513–2519. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Specialty Coffee Association of America SCAA. *SCAA Protocols. Cupping Specialty Coffee*; Specialty Coffee Association of America SCAA: Santa Ana, CA, USA, 2015.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE DISERTACIÓN PÚBLICA

No 00287
Matrícula: 2193801635

Caracterización química-biológica de granos y propagación *in vitro* de *Coffea arabica*.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 29 del mes de abril del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO
DRA. GUADALUPE ANISLADA SANTIBAÑEZ GARCIA
DR. RICARDO SALAZAR LOPEZ
DR. FERNANDO RIVERA CABRERA

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretario el último, se reunieron a la presentación de la Disertación Pública cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

DOCTOR EN BIOTECNOLOGÍA
DE: JAVIER GALLARDO IGNACIO

y de acuerdo con el artículo 78 Fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

JAVIER GALLARDO IGNACIO
ALUMNO

REVISÓ
MTRA. ROSALÍA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

DRA. ANGELICA ROMAN GUERRERO

VOCAL

DRA. GUADALUPE ANISLADA SANTIBAÑEZ GARCIA

VOCAL

DR. RICARDO SALAZAR LOPEZ

SECRETARIO

DR. FERNANDO RIVERA CABRERA