



**“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”**  
Multidisciplinario  
21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

**“Determinación de la bioaccesibilidad de productos de la reacción de Maillard y antioxidantes en café usado (*Coffea arabica* L.)”**

Kenia Vázquez Sánchez<sup>1\*</sup>, Ma. Dolores del Castillo<sup>2\*\*</sup>, Nuria Martínez-Sáez<sup>2\*\*\*</sup>,  
Rocio Campos Vega<sup>1\*\*\*\*</sup>.

<sup>1</sup>Programa en Alimentos del Centro de la Republica (PROPAC), Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro 76010, México.

<sup>2</sup>Instituto de Investigación de Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM), 28049 Madrid, España.

\*keny\_vazquez@hotmail.com, Maestro en Ciencias; \*\*nuria.m.s@cial.uam-csic.es; \*\*\*mdolores.delcastillo@csic.es; \*\*\*\*\*chio\_cve@yahoo.com.mx, autor correspondencia



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

**Título:** “Determinación de la bioaccesibilidad de productos de la reacción de Maillard y antioxidantes en café usado (*Coffea arabica* L.)”

### Resumen

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el balance riesgo / beneficio del empleo del café usado como ingrediente alimentario humano. La reacción de Maillard es el principal evento químico que tiene lugar durante el tostado del café. La reacción afecta la calidad nutricional, seguridad y valor sensorial de la bebida dado que causa la formación de compuestos con potenciales efectos benéficos a la salud por su carácter antioxidante (melanoidinas) y perjudiciales (productos avanzados de la glicación, AGEs).

El café usado se trató bajo condiciones fisiológicas de digestión oral gastrointestinal *in vitro*. Se determinó el contenido en grupos amino libre, fructosamina, AGEs fluorescentes y antioxidantes bioaccesibles en la fracción soluble del digerido. La capacidad antioxidante del café usado y la fracción indigestible obtenida tras su digestión (fibra antioxidante) se determinó por el método QUENCHER. La capacidad antioxidante de la fracción indigestible (fibra antioxidante) fue del 78,6% del valor encontrado en la muestra original. Se detectaron niveles cuantificables de grupos amino libres ( $0,022 \pm 97,5$  mM N- $\alpha$ -Lys/ mg de proteína), fructosamina ( $31 \pm 0,01$  mM DMF/ g muestra), AGEs fluorescentes ( $544,3 \pm 12,8$  UF) y antioxidantes ( $0,54 \pm 0,02$  CGA/g muestra) bioaccesibles. Los resultados sugieren que el balance riesgo/beneficio del uso del café usado como ingrediente alimentario humano es positivo dado que tras el proceso de digestión quedan bioaccesibles antioxidantes, que pueden contribuir a mantener la salud gastrointestinal, y bajas concentraciones de AGEs fluorescentes. Se requieren de más estudios para confirmar estos resultados.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

**Palabras clave:** café usado, capacidad antioxidante, bioaccesibilidad, reacción de Maillard.

### **Abstract**

The aim of this study was to evaluate the risk/benefit balance of the use of spent ground coffee (SGC) as a functional ingredient for humans. The Maillard reaction is the main chemical event occurring during coffee roasting. The reaction affects nutritional quality, safety and sensory value of the beverage. Maillard reaction products present health promoting (melanoidins) and potential harmful effects (advanced glycation end products, AGEs).

SCG was treated under physiological human oral gastrointestinal conditions *in vitro*. The content of free amino groups, fructosamine, fluorescent AGEs and antioxidants bioaccessible were determined in the soluble fraction of the digests. The overall antioxidant capacity of SC and the indigestible fraction were analyzed by direct ABTS (QUENCHER). The 78.6% of the overall antioxidant capacity of SC remained in the non-digestible fraction. Levels of amino groups of  $0.022 \pm 97.5$  mM N- $\alpha$ -Lys/mg protein, fructosamine of  $31 \pm 0.01$  mM DMF/g sample, fluorescent AGEs of  $544.3 \pm 12.8$  and antioxidants equivalent to  $0.54 \pm 0.02$  CGA/g samples were bioaccessible. The results suggest that the risk/benefit balance of the use of SC as a human food ingredient is positive since after digestion antioxidants and low concentrations of fluorescent AGEs (glycotoxins) remain bioaccessible. Further studies are needed to confirm these results.

**Keywords:** spent ground coffee, antioxidant capacity, bioaccessibility, Maillard reaction.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

### I. INTRODUCCIÓN

El café usado ha sido propuesto como un nuevo ingrediente funcional debido al alto contenido de compuestos orgánicos, como compuestos fenólicos los cuales presentan una elevada biaccesibilidad en el tracto gastrointestinal; así como, al elevado contenido de fibra dietaria y la capacidad antioxidante que posee (Campos-Vega *et al.*, 2015; Del Castillo Bilbao, Martínez Saez, & Ullate Artiz, 2014).

Durante el procesamiento del café, éste es sometido a elevadas temperaturas las cuales favorecen reacciones de Maillard a partir de las cuales se forman precursores de color, aroma y sabor en los alimentos. La reacción se lleva a cabo cuando un grupo amino proveniente de proteínas o péptidos reacciona con un grupo carbonilo presente en azúcares reductores, lípidos oxidados, vitamina C, entre otros (Poulsen *et al.*, 2013; Silván *et al.*, 2006).

La reacción de Maillard suele dividirse, para facilitar su comprensión, en tres etapas principales: temprana, avanzada y final. Durante estas etapas se forman diversos compuestos, en la etapa temprana se lleva a cabo la formación de los primeros compuestos estables de la reacción denominados compuestos de Amadori; durante la etapa avanzada se forman los productos finales de glicación avanzada (AGEs, por sus siglas en inglés) y finalmente se lleva a cabo la formación de melanoidinas en la fase final (Silván *et al.*, 2006).

Los AGEs están involucrados en enfermedades como la diabetes y procesos como el envejecimiento. Éstos presentan diversos efectos en el cuerpo, ya que pueden deformar estructuralmente o unirse a las proteínas del cuerpo, por lo que a



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

acumulación de AGEs en diversos órganos lleva a complicaciones en personas diabéticas; además, pueden unirse a receptores de AGEs, dando como resultado el aumento de estrés oxidativo e inflamación (Poulsen *et al.*, 2013). Es de gran importancia determinar si los productos de la reacción de Maillard son benéficos o perjudiciales para la salud, con el fin de producir alimentos seguros y desarrollar nuevos alimentos funcionales; por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de los diversos productos de la reacción de Maillard en el café usado, su bioaccesibilidad y evaluar la capacidad antioxidante que posee.

## II. METODOLOGÍA

**Muestra.** Se trabajó con granos de café de la variedad arábica, de tostado medio de la marca Tuytz (café ecogourmet), adquiridos en una cafetería local, procedentes de Chiapas, México (2015). El café usado se obtuvo del filtro de una cafetera comercial después de una percolación; se congeló a -70, se sometió a liofilización y se almacenó protegiéndolos de la luz hasta su uso.

**Digestión gastrointestinal *in vitro*.** Las muestras fueron sometidas a una digestión gastrointestinal *in vitro*, la cual constó de 3 fases (salival, gástrica y duodenal) (Hollebeeck *et al.*, 2013). Las sales biliares de la fracción soluble obtenida dura la digestión, fueron removidas mediante procedimiento descrito por Edwards *et al.*, (2009).

**Capacidad antioxidante.** Se empleó el método de ABTS directo (Serpen, Gökmen, & Fogliano, 2012) para determinar la capacidad antioxidante total del café usado y en la fracción no digerible obtenida tras su digestión oral gastrointestinal. Para la fracción digerible se determinó por medio del ABTS indirecto (Re *et al.*, 1999).



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

### **Indicadores químicos del grado de desarrollo de la Reacción de Maillard (RM).**

**Grupos amino libres.** Los grupos amino libres de las proteínas (N-terminal y épsilon-NH<sub>2</sub> de la lisina) se determinaron por el método OPA (Go, Horikawa, Garcia, & Villarreal, 2008). La cuantificación de las proteínas en las muestras previamente hidrolizadas (proteínasa K) se llevó a cabo mediante el kit DC Protein Assay, el ensayo se realizó siguiendo las especificaciones del fabricante (BioRad).

**Compuestos iniciales de la RM (compuestos de Amadori).** Se determinó la fructosamina por el método NBT.

**Compuestos avanzados de la RM (AGEs).** La concentración de AGEs fluorescentes se determinó mediante espectrometría de fluorescencia utilizando un lector de placas BioTek Sinergy HT (BioTek Instruments, Estados Unidos).

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Capacidad antioxidante del café usado.** La capacidad antioxidante determinada por el método de ABTS directo se muestra en la Figura 1. La capacidad antioxidante obtenida para CU antes de ser sometido a la digestión fue de  $6.7 \pm 0.1$  mg eq de ácido clorogénico/g de muestra; una vez que el CU fue sometido a la digestión gastrointestinal *in vitro* la fracción digerible presentó una capacidad antioxidante de  $0.54 \pm 0.02$  mientras que la fracción no digerible  $5.27 \pm 0.05$  mg eq de CGA/g muestra. En nuestro conocimiento, no existen reportes de capacidad antioxidante determinada en café usado mediante ABTS directo. Los resultados están en línea con los encontrados por Bravo *et al.*, (2012). Los autores encontraron valores de capacidad antioxidante para café usado de 2.02 - 53.84 mg eq Trolox/g de muestra, dependiendo de los diferentes métodos empleados



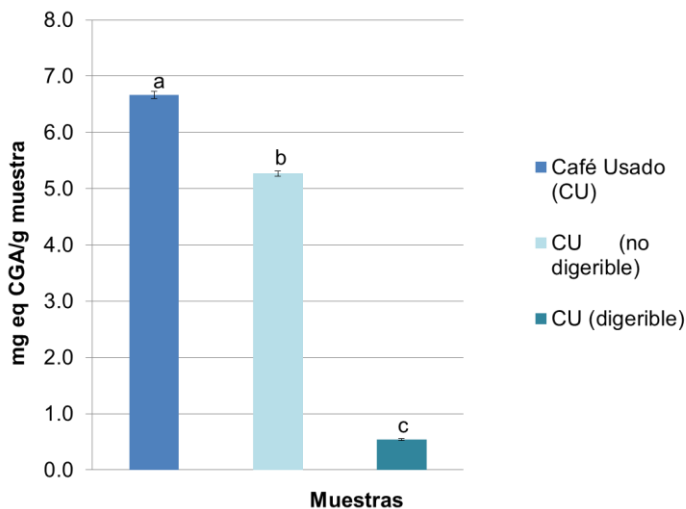
## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

para la extracción. Por otra parte, los resultados indican que los antioxidantes que forman la matriz resisten la digestión y que la bioaccesibilidad de estos puede incrementarse durante su paso por el tracto gastrointestinal.

Figura 1. Capacidad antioxidante del café usado (CU) y los productos de la digestión.



Cada valor representa la media de dos experimentos  $\pm$  el error estándar. Letras diferentes por barra indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre muestras. CU: Café usado antes de ser sometido a la digestión gastrointestinal *in vitro*; CU digerible: representa la fracción absorbida en el intestino; CU no digerible: representa la fracción de colon.

### Indicadores de la reacción de Maillard en el café usado.

En la Tabla 1 se presentan los resultados de bioaccesibilidad de los indicadores de los productos de la reacción de Maillard presentes en café usado. Los resultados sugieren que tras el proceso de digestión se detectan aminoácidos y sus derivados formados vía reacción de Maillard bioaccesibles. Otros autores han descrito previamente la presencia de AGEs en café empleando diferentes metodologías a las empleadas en el presente trabajo (Henle *et al.*, 1997; Borrelli *et al.*, 2002; Goldberg *et al.*, 2004; Henle, 2005; Urribari *et al.*, 2010). Sin embargo,



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

en nuestro conocimiento no existen trabajos previos que indiquen la bioaccesibilidad de fructosamina (compuestos iniciales de la reacción de Maillard) y AGEs en café y café usado. El presente trabajo muestra los primeros datos en este sentido. En la actualidad existe un gran interés por disminuir la ingesta de AGEs de la dieta dado que su consumo se asocia a un riesgo de padecer de enfermedades crónicas no transmisibles (Uribarri *et al.*, 2015). Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que los valores de AGEs bioaccesibles tras la ingesta de café usado podrían ser bajos. Se requieren de más estudios empleando otros métodos analíticos más robustos para confirmar el resultado. De acuerdo con los resultados de otros autores y los de los grupos de investigación participantes en la presente investigación sugieren que el contenido de AGEs bioaccesibles en esta matriz podrían mitigarse modificando el proceso de tostado. A través de la mejora del proceso tecnológico podría lograrse un ingrediente seguro y saludable.

**Tabla 1.** Indicadores de la progresión de la reacción de Maillard en café usado

PARÁMETROS	CU (digerible)
Grupos aminos libres <sup>+</sup>	2.5 ± 0.07
Fructosamina <sup>++</sup>	31.1 ± 0.1
AGEs fluorescentes <sup>+++</sup>	944.6 ± 135.5

Cada valor representa el promedio de tres experimentos ± ES. Los resultados están expresados como: <sup>+</sup> mM N-α-Lys/ mg de proteína; <sup>++</sup> mM DMF/ g muestra; <sup>+++</sup> unidades de fluorescencia /mg de proteína. Letras diferentes por columna indican diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre muestras. CU: Café usado antes de ser sometido a la digestión gastrointestinal *in vitro*; CU digerible: representa la fracción absorbida en intestino.

## CONCLUSIONES





## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

Por vez primera, se aportan resultados de bioaccesibilidad de productos de la reacción de Maillard en café usado. El balance riesgo/beneficio del uso alimentario del café usado, a la luz de estos resultados, es positivo e indican el interés de su uso como fibra antioxidante para el consumo humano. Se requieren de más estudios para validar los resultados del presente trabajo.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el apoyo económico otorgado por los proyectos No. 242282 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y AGL2014-57239-R, MINECO, Madrid, España.

### BIBLIOGRAFÍA

**Borrelli, R. C., Visconti, A., Mennella, C., Anese, M., & Fogliano, V. (2002).** Chemical Characterization and Antioxidant Properties of Coffee Melanoidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), 6527–6533.

**Bravo, J., Juárez, I., Monente, C., Caemmerer, B., Kroh, L. W., De Peña, M. P., & Cid, C. (2012).** Evaluation of Spent Coffee Obtained from the Most Common Coffeemakers as a Source of Hydrophilic Bioactive Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(51), 12565–12573.

**Campos-Vega, R., Vázquez-Sánchez, K., López-Barrera, D., Loarca-Piña, G., Mendoza-Díaz, S., & Oomah, B. D. (2015).** Simulated gastrointestinal digestion and in vitro colonic fermentation of spent coffee (*Coffea arabica* L.): Bioaccessibility and intestinal permeability. *Food Research International*, 77, Part 2, 156–161.

**Del Castillo, Bilbao M., Martínez Sáez, N., & Ullate, M. (2014).** Formulación alimentaria que comprende marros de café y sus aplicaciones. **Go, K., Horikawa, Y., Garcia, R., & Villarreal, F. J. (2008).** Fluorescent method for detection of cleaved collagens using O-phthaldialdehyde (OPA). *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 70(6), 878–882.

**Goldberg, T., Cai, W., Peppas, M., Dardaine, V., Baliga, B. S., Uribarri, J., & Vlassara, H. (2004).** Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 104(8), 1287–1291. **Henle, T. (2005).** Protein-bound advanced glycation endproducts (AGEs) as bioactive amino acid derivatives in foods. *Amino Acids*, 29(4), 313–322.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

21 y 22 de abril de 2016, Cortazar, Guanajuato, México

**Henle, T.,** Schwarzenbolz, U., & Klostermeyer, H. (1997). Detection and quantification of pentosidine in foods. *Zeitschrift Für Lebensmitteluntersuchung Und -Forschung A*, 204(2), 95–98.

**Hollebeeck, S.,** Borlon, F., Schneider, Y.-J., Larondelle, Y., & Rogez, H. (2013). Development of a standardised human in vitro digestion protocol based on macronutrient digestion using response surface methodology. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1936–1944.

**Poulsen, M. W.,** Hedegaard, R. V., Andersen, J. M., de Courten, B., Bügel, S., Nielsen, J., ... Dragsted, L. O. (2013). Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 10–37.

**Pym, R. V. E.,** & Milham, P. J. (1976). Selectivity of reaction among chlorine, ammonia, and salicylate for determination of ammonia. *Analytical Chemistry*, 48(9), 1413–1415.

**Re, R.,** Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237.

**Serpen, A.,** Gökmen, V., & Fogliano, V. (2012). Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1–2), 52–57.

**Silván, J. M.,** van de Lagemaat, J., Olano, A., & del Castillo, M. D. (2006). Analysis and biological properties of amino acid derivatives formed by Maillard reaction in foods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1543–1551.

**Uribarri, J.,** Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R., ... & Vlassara, H. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911–916.

**Uribarri, J.,** del Castillo, M. D., de la Maza, M. P., Filip, R., Gugliucci, A., Luevano-Contreras, C., ... & Portero-Otin, M. (2015). Dietary Advanced Glycation End Products and Their Role in Health and Disease. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, 6(4), 461–473