



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

**“Bioaccesibilidad de los ácidos clorogénico y caféico, y capacidad antioxidante del café (*Coffea arabica* L.) usado, durante la digestión gastrointestinal y fermentación colónica *in vitro*”**

**Angélica María Hernández-Arriaga<sup>1\*</sup>, Ma. Guadalupe Flavia Loarca-Piña<sup>1</sup>, Rocío Campos-Vega<sup>1\*\*</sup>**

<sup>1</sup>Programa en Alimentos del Centro de la República (PROPAC), Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro, 76010, México. \*Licenciada en Nutrición y Ciencia de los Alimentos, estudiante de Maestría: ang-ha@hotmail.com. \*\*Autor de correspondencia: chio\_cve@yahoo.com.mx



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

**Título:** “Bioaccesibilidad de los ácidos clorogénico y caféico, y capacidad antioxidante del café (*Coffea arabica* L.) usado, durante la digestión gastrointestinal y fermentación colónica *in vitro*”

### Resumen

En nuestros trabajos previos se confirmó que la fibra del CU, residuo sólido recuperado posterior a la preparación de la bebida, es fermentada por la microbiota colónica humana generando metabolitos de interés biológico, además de que los compuestos fenólicos se liberan a partir de esta matriz. En este trabajo se evaluó la composición química, bioaccesibilidad y permeabilidad de los ácidos clorogénico y caféico, así como la capacidad antioxidante en las etapas de la digestión y fermentación colónica. De manera adicional se determinó el efecto que la microbiota proveniente de sujetos con peso normal y sobrepeso tiene sobre la bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de estos compuestos a nivel del colon. El contenido de proteínas, lípidos y fibra total fue mayor en el CU ( $17.9 \pm 0.8$ ,  $16.5 \pm 0.4$  y  $50.8 \pm 2.5$  %, respectivamente), en comparación con el grano. Ambos compuestos fenólicos fueron bioaccesibles en todas las etapas de la digestión gastrointestinal, incluyendo el colon, mostrando variaciones moderadas en su concentración (de 15962 a 13067 y de 32120 a 31943  $\mu\text{g}$  equivalentes de ácido clorogénico y ácido caféico/g de muestra, respectivamente). Lo anterior se reflejó en la capacidad antioxidante (de 9.46 a 7.89  $\mu\text{moles eq de trolox/mL}$ ). De manera particular la capacidad antioxidante sugiere que estos y otros compuestos fueron permeables a nivel del intestino delgado, sugiriendo su potencial a nivel sistémico. Sorprendentemente, y aunque la microbiota de sujetos con peso normal o sobrepeso no modificó la bioaccesibilidad de estos compuestos, la capacidad antioxidante fue mayor en los ensayos con microbiota de sujetos con sobrepeso [ $8.17 \pm 0.47$  vs  $4.80 \pm 0.96$   $\mu\text{moles eq de trolox/mL}$  (24 hr fermentación colónica), sobrepeso y peso normal, respectivamente]. Estos resultados apoyan el empleo del café usado en el desarrollo de productos funcionales. Estudios adicionales son necesarios para ampliar y confirmar estos resultados. **Palabras clave:** café usado, bioaccesibilidad,



CONGRESO  
INTERNACIONAL  
DE INVESTIGACION  
E INNOVACION  
DOS MIL DIECISEIS



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

clorogénico, caféico, digestión gastrointestinal, fermentación colónica, peso normal, sobrepeso.

### Abstract

In our previous work it was confirmed that dietary fiber from spent coffee (SC), solid residue recovered after preparing the drink, is fermented by the human colonic microbiota generating metabolites of biological interest; in addition, phenolic compounds are released from the matrix. In this work the chemical composition, bioaccessibility and permeability of chlorogenic and caffeic acids, as well as antioxidant capacity in the stages of *in vitro* digestion and colonic fermentation, was evaluated. Additionally, the effect of microbiota from subjects with normal weight and overweight has on bioaccessibility and antioxidant capacity of these compounds in the colon, was determined. The content of proteins, lipids and total dietary fiber was higher in the SC ( $17.9 \pm 0.8$ ,  $16.5 \pm 0.4$  and  $50.8 \pm 2.5\%$  respectively) than in the grain. Both phenolic compounds were released at all stages of gastrointestinal digestion, including the colon, displaying moderate variations in their concentration (from 15,962 to 13,067 and 32,120 to 31,943  $\mu\text{g}$  equivalent of chlorogenic acid and caffeic acid/g sample, respectively). This was reflected in the antioxidant capacity (from 9.46 to 7.89  $\mu\text{mol Trolox eq/mL}$ ). In particular, the antioxidant capacity suggests that these and other compounds from SC were permeable at small intestine level, suggesting its systemic potential. Surprisingly, although the microbiota from subjects with normal weight or overweight does not modify the bioaccessibility of these compounds, the antioxidant capacity was higher in vessels with microbiota from overweight subjects than normal weight [ $8.17 \pm 0.47$  vs  $4.80 \pm 0.96$   $\mu\text{mol Trolox eq/mL}$  (24 hr colonic fermentation), overweight and normal weight, respectively]. These results support the use of spent coffee in the development of functional products. Additional studies are needed to confirm and extend these results. **Keywords:** spent coffee, bioaccessibility, chlorogenic, caffeic, gastrointestinal digestion, colonic fermentation, normal weight, overweight.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

### I. Introducción

El residuo posterior a la preparación de la bebida es conocido como café usado (CU), este subproducto contiene una gran cantidad de compuestos bioactivos como lo son: melanoidinas, polifenoles, proteínas, ácidos grasos, minerales e hidratos de carbono, entre los que se encuentra la fibra, pero el contenido de estos compuestos varía dependiendo del tipo de café así como del grado de tueste (Campos-Vega *et al.*, 2015a)

La mayoría de estos compuestos permanecen en el CU otorgándole propiedades nutraceuticas pero su uso como ingrediente funcional en la industria de alimentos es limitado, ya que no se ha evaluado exhaustivamente su potencial nùtraceutico (Campos-Vega *et al.*, 2015b). Algunos de los compuestos abundantes en el CU son los polifenoles, de interés en salud y la industria de alimentos pues han sido reportado ampliamente sus efectos antioxidantes y anti-cáncerigenos, entre otros; sin embargo al consumir el alimento que los contiene, estos compuestos están sujetos a las condiciones digestivas del tracto gastrointestinal que alteran su estructura y por lo tanto su función (Brown *et al.*, 2012).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la bioaccesibilidad y permeabilidad de los ácidos clorogénico y caféico, así como la capacidad antioxidante en las etapas de la digestión y fermentación colónica. De manera adicional se determinó el efecto que la microbiota proveniente de sujetos con peso normal y sobrepeso tiene sobre la bioaccesibilidad y capacidad antioxidante de estos compuestos a nivel del colon.

### II. Metodología

Se emplearon granos de café de la variedad arabica, tostado oscuro o francés, provenientes de Chiapas, México y cosechados en el año 2015. El café usado se recuperó del filtro de una cafetera convencional (MOULINEX, heliora comfort, México) posterior a 6 minutos de percolación con agua a una temperatura de 90°C, estas son las condiciones usuales de la preparación de la bebida. El contenido de humedad, cenizas, proteínas y lípidos totales se determinaron usando la metodología descrita por la AOAC (2002).



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

Mientras que el contenido de fibra dietaria, soluble e insoluble se obtuvo mediante el método de Shiga *et al.*, (2013). La capacidad antioxidante se determinó mediante el método espectrofotométrico de DPPH y se expresó como Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC,  $\mu\text{mol}$  equivalentes de Trolox por gramo de muestra en peso seco y/o mL). Simulando las condiciones fisiológicas se realizó una digestión gastrointestinal *in vitro*; donde se simularon las condiciones de la boca y estómago utilizando diversas enzimas e incubaciones. La fase del intestino delgado se desarrollo usando la técnica de saco intestinal invertido de rata; a la solución que no atravesó la barrera intestinal se le denominó fracción no digerible (FND) y a los compuestos retenidos en el saco intestinal se les denominó compuestos permeables (Campos-Vega *et al.*, 2015b). El método de fermentación colónica se llevó a cabo de acuerdo a lo descrito por Campos-Vega *et al.*, (2009), usando inulina como control positivo y se empleó inóculo fecal humano, de un sujeto con peso normal y uno con sobrepeso, como fuente de microbiota representativa del colon. La cuantificación los ácidos clorogénico y caféico ese realizó por HPLC siguiendo la metodología propuesta por Ramírez-Jiménez *et al.*, (2014). Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  el error estándar, la comparación entre medias se realizó mediante la prueba estadística Tukey mediante el software estadístico JMP versión 8.0.

### III. Resultados

En el contenido de proteínas (aunque sin diferencia significativa) y lípidos fué mayor en el CU, posiblemente debido a un efecto de concentración por migración de otros compuestos durante la preparación de la bebida. Los carbohidratos son los macronutrientes contenidos en mayor cantidad en el GC así como en el CU (64.1 y 59.02 %, respectivamente).

**Tabla 1 Composición proximal de grano de café y café usado tostado francés**

Tostado oscuro



### “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

	Grano de café	Café usado
Humedad	1.3 ± 0.06 <sup>a</sup>	4.5 ± 0.2 <sup>b</sup>
Cenizas	4.6 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.03 <sup>b</sup>
Proteínas	16.4 ± 1.8 <sup>a</sup>	17.9 ± 0.8 <sup>a</sup>
Lípidos	13.0 ± 0.51 <sup>a</sup>	16.5 ± 0.4 <sup>b</sup>
Carbohidratos	64.1 ± 1.62 <sup>a</sup>	59.0 ± 1.1 <sup>b</sup>

Cada valor representa la media de tres repeticiones ± ES y son expresados como porcentaje en base seca. Letras diferentes por renglón, muestran diferencia significativa (P<0.05) por prueba de Tukey.

El CU contiene una alta cantidad de carbohidratos, entre los que se encuentra la fibra dietaria, reportándose un 42.4 % en el grano de café y un 50.8 % en el CU, de la cual la mayor parte es insoluble (Tabla 2). Nuevamente el CU presentó un mayor contenido de estas fracciones. Estos valores son similares a los reportados en otras semillas, como el frijol común, reconocido por sus efectos benéficos a la salud (Campos-Vega *et al.*, 2009).

**Tabla 2 Contenido de fibra total, fibra soluble e insoluble en el grano de café y café usado, tostado francés.**

	Tostado oscuro	
	Grano de café	Café usado
Fibra total	43.9 ± 1.4 <sup>a</sup>	51.5 ± 2.4 <sup>b</sup>
Fibra soluble	1.7 ± 0.1 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.3 <sup>b</sup>
Fibra insoluble	42.2 ± 1.5 <sup>a</sup>	50.8 ± 2.5 <sup>b</sup>

Cada valor representa la media de tres repeticiones ± ES y son expresados como porcentaje en base seca. Letras diferentes por renglón, muestran diferencia significativa (P<0.05) por prueba de Tukey.

De importancia para la salud es la presencia de compuestos antioxidantes como clorogénico y caféico en los alimentos, pero más aún lo es la liberación de los mismos a partir de la matriz alimentaria (bioaccesibilidad) durante las diferentes etapas de la digestión gastrointestinal, así como su capacidad antioxidante. En la Tabla 3 se muestra la



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

bioaccesibilidad de los ácidos clorogénico y caféico determinados por HPLC en los productos de la digestión gastrointestinal y fermentación colónica *in vitro* del CU, así como en el grano de café y CU previos a la digestión.

Tabla 3. Bioaccesibilidad de compuestos fenólicos del grano de café y café usado, tostado francés, en las etapas de digestión y fermentación colónica *in vitro*.

Muestra	Compuesto	
	Ac. Clorogénico	Ac. Caféico
Grano de café	30942.8 ± 454.3 <sup>a</sup>	32209.6 ± 8.16 <sup>a</sup>
Café usado	18227.5 ± 18.28 <sup>b</sup>	32021.55 ± 1.95 <sup>c</sup>
Boca	15962.42 ± 1.04 <sup>c</sup>	32120.74 ± 1.25 <sup>b</sup>
Estómago	14188.19 ± 0.94 <sup>cd</sup>	32018.28 ± 0.46 <sup>c</sup>
Intestino (60 min)	14674.06 ± 1.17 <sup>cd</sup>	32020.76 ± 0.52 <sup>c</sup>
Fermentación colónica obeso	13067.67 ± 0.14 <sup>d</sup>	31945.32 ± 0.37 <sup>d</sup>
Fermentación colónica sano	15074.21 ± 32.7 <sup>cd</sup>	31943.78 ± 1.86 <sup>d</sup>

Letras diferentes por columna expresan diferencia significativa (α = 0.05) por prueba de Tukey. Los resultados son expresados en µg equivalentes de ácido clorogénico y ácido cafeico por gramo de muestra, respectivamente. Los resultados representan la media de 3 experimentos por triplicado ± ES.

Como se puede observar, ambos compuestos presentan alta bioaccesibilidad durante todas las etapas de la digestión gastrointestinal, siendo mayor para el caféico. Y aunque se evaluó la bioaccesibilidad de estos compuestos utilizando microbióta proveniente de un sujeto con peso normal y otro con sobrepeso, no se observó diferencia significativa en los valores obtenidos.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

Tabla 3. Capacidad antioxidante en las etapas de digestión y fermentación colónica del café usado.

Muestra	DPPH (TEAC)	Muestra	DPPH (TEAC)
<b>Grano de café</b>	436.7 ± 15.3 <sup>a</sup>	<b>Fermentación colónica (microbiota sujeto con sobrepeso)</b>	
<b>Café usado</b>	225.3 ± 8.23 <sup>b</sup>	6 h	7.44 ± 0.44 <sup>d</sup>
<b>Boca</b>	7.89 ± 0.34 <sup>ef</sup>	12 h	7.63 ± 0.24 <sup>d</sup>
<b>Estómago</b>	9.46 ± 0.22 <sup>c</sup>	24 h	8.17 ± 0.47 <sup>cd</sup>
<b>Intestino delgado (fuera)</b>		<b>Fermentación colónica (microbiota sujeto con peso normal)</b>	
<b>15 min</b>	8.12 ± 0.34 <sup>cd</sup>	6 h	5.51 ± 1.02 <sup>e</sup>
<b>30 min</b>	8.03 ± 0.98 <sup>cd</sup>	12 h	5.48 ± 0.40 <sup>e</sup>
<b>60 min</b>	8.03 ± 0.55 <sup>cd</sup>	24 h	4.80 ± 0.96 <sup>e</sup>
<b>Intestino delgado (compuestos permeables)</b>			
<b>15 min</b>	4.74 ± 0.65 <sup>e</sup>		
<b>30 min</b>	4.72 ± 0.15 <sup>e</sup>		
<b>60 min</b>	6.36 ± 0.13 <sup>de</sup>		

Letras diferentes por columna expresan diferencia significativa (α = 0.05) por prueba de Tukey. La actividad antioxidante de DPPH es expresada como μmoles eq de trolox/mL. Los resultados representan la media de 3 experimentos por triplicado ± ES.

Al evaluar la capacidad antioxidante, reflejo de la bioaccesibilidad no solo de los compuestos fenólicos evaluados en ese trabajo sino de otros presentes en el café usado, podemos observar que en concordancia con la bioaccesibilidad, esta se ejerce desde la boca y hasta el colon (Tabla 4). Incluso, la capacidad antioxidante es reflejada en la fracción correspondiente a los compuestos que lograron cruzar la barrera del intestino delgado (permeables), y que por lo tanto podrían ejercer sus efectos benéficos a la salud, por





## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

ejemplo, la disminución de padecimientos con antecedente inflamatorio. Sorprendentemente, la capacidad antioxidante en la fermentación colónica del CU con microbiota de sujetos con sobrepeso, fue mayor que la obtenida con microbiota de sujetos con peso normal. Lo anterior podría estar reflejando la diferencia en la microbiota y en su actividad metabólica, y no solo del sustrato disponible. Debido a que se ha reportado que el consumo de café modula la microbiota colónica de manera favorable (Cowan *et al.*, 2014), y que en sujetos con sobrepeso se observa un estado de disbiosis, es importante extender el estudio de los efectos del CU usado a nivel del colon para elucidar los procesos que expliquen estos resultados.

### IV. Conclusiones

El café usado tostado francés contiene una gran cantidad de compuestos bioactivos, de los cuáles, el ácido clorogénico y caféico son bioaccesibles en todas las etapas de la digestión gastrointestinal y más aún, son permeables en el intestino delgado. Lo anterior sugiere su potencial para ejercer efectos benéficos a nivel sistémico. Además, la bioaccesibilidad de estos y otros compuestos del café usado se refleja en su capacidad antioxidante, desde boca hasta colon. Otras investigaciones son necesarias para clarificar el efecto de la microbiota sobre la liberación de compuestos antioxidantes a nivel del colon. Estos resultados contribuyen a respaldar el uso del café usado como ingrediente de productos funcionales, contribuyendo a dar un valor agregado a este sub-producto de la industria cafetalera e impactando en la salud de la población.

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT; fondo No. 242282).

### V. Bibliografía



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

Brown, E. M., McDougall, G. J., Stewart, D., Pereira-Caro, G., González-Barrio, R., Allsopp, P., ... & Gill, C. I. (2012). Persistence of anticancer activity in berry extracts after simulated gastrointestinal digestion and colonic fermentation.

Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H., & Oomah, B. D. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*. (a)

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, 156-161. (b)

Campos-Vega, R., Reynoso-Camacho, R., Pedraza-Aboytes, G., Acosta-Gallegos, J. A., Guzman-Maldonado, S. H., Paredes-Lopez, O., & Loarca-Piña, G. (2009). Chemical composition and in vitro polysaccharide fermentation of different beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Food science*, 74(7), T59-T65.

Cowan, T. E., Palmnäs, M. S., Yang, J., Bomhof, M. R., Ardell, K. L., Reimer, R. A., ... & Shearer, J. (2014). Chronic coffee consumption in the diet-induced obese rat: impact on gut microbiota and serum metabolomics. *The Journal of nutritional biochemistry*, 25(4), 489-495.

Hur, S. J., Lim, B. O., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2011). In vitro human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, 125(1), 1-12.

Mussatto, S. I., Machado, E. M., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011). Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661-672.

Ramírez-Jiménez, A. K., Reynoso-Camacho, R., Mendoza-Díaz, S., & Loarca-Piña, G. (2014). Functional and technological potential of dehydrated *Phaseolus vulgaris* L. flours. *Food chemistry*, 161, 254-260.

Shiga, T. M., & Lajolo, F. M. (2006). Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)—Composition and structure. *Carbohydrate Polymers*, 63(1), 1-12.