

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						
CARTA DE AUTORIZACIÓN							
CÓDIGO	AP-BIB-FO-06	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 1

Neiva, 28 de octubre de 2019

Señores

CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA

Ciudad

El suscrito

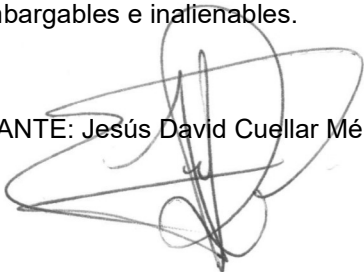
Jesús David Cuellar Méndez con C.C. No. 1075301133, autor del trabajo de grado titulado: ***Evaluación del contenido de acrilamida en granos de cafés, obtenidos de diferentes beneficios***, presentado y aprobado en el año 2019 como requisito para optar al título de Ingeniera Agrícola; autorizo al CENTRO DE INFORMACIÓN Y DOCUMENTACIÓN de la Universidad Surcolombiana para que con fines académicos, muestre al país y el exterior la producción intelectual de la Universidad Surcolombiana, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera:

- Los usuarios puedan consultar el contenido de este trabajo de grado en los sitios web que administra la Universidad, en bases de datos, repositorio digital, catálogos y en otros sitios web, redes y sistemas de información nacionales e internacionales “open access” y en las redes de información con las cuales tenga convenio la Institución.
- Permita la consulta, la reproducción y préstamo a los usuarios interesados en el contenido de este trabajo, para todos los usos que tengan finalidad académica, ya sea en formato Cd-Rom o digital desde internet, intranet, etc., y en general para cualquier formato conocido o por conocer, dentro de los términos establecidos en la Ley 23 de 1982, Ley 44 de 1993, Decisión Andina 351 de 1993, Decreto 460 de 1995 y demás normas generales sobre la materia.
- Continúo conservando los correspondientes derechos sin modificación o restricción alguna; puesto que de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación del derecho de autor y sus conexos.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

EL AUTOR / ESTUDIANTE: Jesús David Cuellar Méndez.

Firma:



Vigilada Mineducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA							
	GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS							
DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO								
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	1 de 3	

TÍTULO COMPLETO DEL TRABAJO: Evaluación del contenido de acrilamida en granos de cafés, obtenidos por diferentes beneficios.

AUTOR O AUTORES:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Cuellar Méndez	Jesús David

DIRECTOR TESIS:

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre
Girón Hernández	Lunier Joel

ASESOR (ES):

Primero y Segundo Apellido	Primero y Segundo Nombre

PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Ingeniero Agrícola

FACULTAD: Ingeniería

PROGRAMA O POSGRADO: Ingeniería Agrícola

CIUDAD: Neiva

AÑO DE PRESENTACIÓN: 2019

NÚMERO DE PÁGINAS: 10

TIPO DE ILUSTRACIONES (Marcar con una X):

Diagramas_x_ Fotografías_x_ Grabaciones en discos___ Ilustraciones en general___ Grabados___
 Láminas___ Litografías___ Mapas___ Música impresa___ Planos___ Retratos___ Sin ilustraciones___ Tablas
 o Cuadros_x_

SOFTWARE requerido y/o especializado para la lectura del documento:

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	2 de 3

MATERIAL ANEXO:

PREMIO O DISTINCIÓN (*En caso de ser LAUREADAS o Meritoria*):

PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS:

Español

Inglés

- | | |
|-------------------------|----------------------|
| 1. Tueste | 1. roast |
| 2. Temperatura | 2. temperature |
| 3. Natural | 3. natural |
| 4. Lavado | 4. washed; |
| 5. Reaccion de Maillard | 5. Maillard reaction |

RESUMEN DEL CONTENIDO: (Máximo 250 palabras)

En el presente trabajo se evaluaron las concentraciones de acrilamida en muestras de café procesadas por dos métodos de beneficio; vía húmeda o lavado y seco o natural; posteriormente, se secaron al sol y a la sombra. El tostado se realizó a 160 y 200 °C, variando el tiempo del tueste de 6 y 12 minutos. Las muestras fueron molidas con un grado de molienda fina, se prepararon los extractos y para la cuantificación del contenido de acrilamida se utilizó el equipo de cromatografía de líquidos de alta eficacia; los resultados obtenidos se evaluaron estadísticamente mediante análisis de varianza multifactorial para determinar si existía influencia de los factores con el contenido del compuesto en el grano. Adicionalmente, se usó la metodología de la superficie de respuesta para modelar el comportamiento del contenido de acrilamida frente al tiempo de tueste. El análisis multifactorial permitió identificar que el proceso o beneficio de café está correlacionado al contenido de azúcares reductores presentes en el grano, dependiendo de la vía de beneficio que se realice; la temperatura y el tiempo de tueste influyeron en la formación y reducción de la acrilamida ya que a temperaturas entre 120 °C – 185 °C y el tiempo de duración del proceso de tueste permitieron la formación de la acrilamida, pero si se sobrepasa este rango de temperatura y un tiempo prologado se degrada.

ABSTRACT: (Máximo 250 palabras)

In this document, acrylamide concentrations in coffee samples processed by two beneficial methods were evaluated; Wet or washed and dry or natural way; subsequently, they dried in the sun and in the shade. The roasting was done at 160 and 200 ° C, varying the roasting time of 6 and 12 minutes. Samples were ground with a fine grinding grade, the extracts were prepared and for the quantification of the acrylamide content, the high efficiency liquid chromatography equipment was used; the results obtained were statistically evaluated by multifactor analysis of variance to determine if there was influence of factors with the content of the compound in the grain. Additionally, the response surface methodology was used to model the evolution of acrylamide in the roasting curve. The multifactorial analysis allowed to identify the process or benefit of coffee was correlated to the content of reducing sugars present in the grain, depending on the route of benefit that is carried out; The temperature and roasting time influenced the formation and reduction of the compound since at temperatures

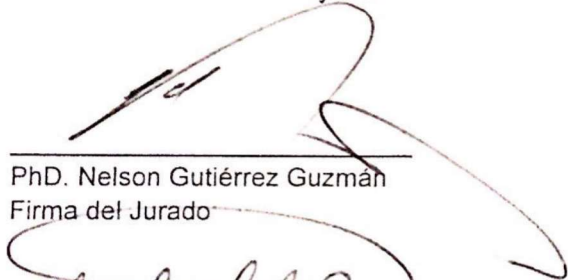
	UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA GESTIÓN SERVICIOS BIBLIOTECARIOS						
	DESCRIPCIÓN DE LA TESIS Y/O TRABAJOS DE GRADO						
CÓDIGO	AP-BIB-FO-07	VERSIÓN	1	VIGENCIA	2014	PÁGINA	3 de 3

between 120 ° C - 185 ° C and the duration of roasting process allowed the formation of the compound, but if this temperature range is exceeded and after a prolonged time the compound degrade.

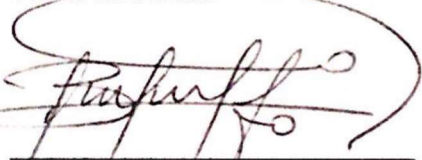
APROBACIÓN DE LA TESIS



PhD. Joel Giron Hernández
Firma del Director del Proyecto



PhD. Nelson Gutiérrez Guzmán
Firma del Jurado



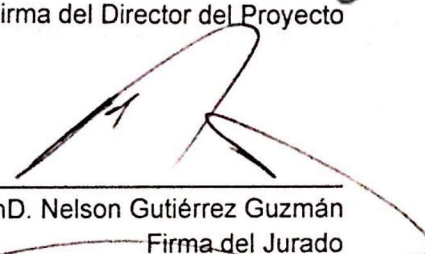
Ing. Bertulfo Delgado Joven
Firma del Jurado

Vigilada mieducación

La versión vigente y controlada de este documento, solo podrá ser consultada a través del sitio web Institucional www.usco.edu.co, link Sistema Gestión de Calidad. La copia o impresión diferente a la publicada, será considerada como documento no controlado y su uso indebido no es de responsabilidad de la Universidad Surcolombiana.

Nota de aceptación:


PhD. Joel Girón Hernández
Firma del Director del Proyecto


PhD. Nelson Gutiérrez Guzmán
Firma del Jurado


Ing. Bertulfo Delgado Joven
Firma del Jurado

Evaluación del contenido de acrilamida en cafés obtenidos de diferentes beneficios.

Evaluation of acrylamide content in coffees obtained from different benefits.

Jesús David Cuellar Mendez¹, Andrés Bahamón Monje² y Joel Girón Hernández³

Resumen

La acrilamida es un compuesto que se forma principalmente por la reacción de Maillard, en café se han realizado estudios para disminuir el contenido de acrilamida en el grano de café tostado, los resultados no han sido satisfactorios; sin embargo, el actuar sobre las etapas tempranas en el procesamiento del grano podría tener algún efecto en la reducción de la acrilamida. En el presente trabajo se evaluaron las concentraciones de acrilamida en muestras de café procesadas por dos métodos de beneficio; vía húmeda o lavado y seco o natural; posteriormente, se secaron al sol y a la sombra. El tostado se realizó a 160 y 200 °C, variando el tiempo del tueste de 6 y 12 minutos. Las muestras fueron molidas con un grado de molienda fina, se prepararon los extractos y para la cuantificación del contenido de acrilamida se utilizó el equipo de cromatografía de líquidos de alta eficacia; los resultados obtenidos se evaluaron estadísticamente mediante análisis de varianza multifactorial para determinar si existía influencia de los factores con el contenido del compuesto en el grano. Adicionalmente, se usó la metodología de la superficie de respuesta para modelar el comportamiento del contenido de acrilamida frente al tiempo de tueste. El análisis multifactorial permitió identificar que el proceso o beneficio de café está correlacionado al contenido de azúcares reductores presentes en el grano, dependiendo de la vía de beneficio que se realice; la temperatura y el tiempo de tueste influyeron en la formación y reducción de la acrilamida ya que a temperaturas entre 120 °C – 185 °C y el tiempo de duración del proceso de tueste permitieron la formación de la acrilamida, pero si se sobrepasa este rango de temperatura y un tiempo prolongado se degrada.

Palabras clave: tueste; temperatura; natural; lavado; reacción de Maillard

Abstract

Acrylamide is a compound formed mainly by the Maillard reaction, in coffee studies have been conducted to decrease the content of the substance in roasted beans, the results have not been satisfactory; however, acting on the early stages in grain processing could have some effect on compound reduction. In this document, acrylamide concentrations in coffee samples processed by two beneficial methods were evaluated; Wet or washed and dry or natural way; subsequently, they dried in the sun and in the shade. The roasting was done at 160 and 200 °C, varying the roasting time of 6 and 12 minutes. Samples were ground with a fine grinding grade, the extracts were prepared and for the quantification of the acrylamide content, the high efficiency liquid chromatography equipment was used; the results obtained were statistically evaluated by multifactor analysis of variance to determine if there was influence of factors with the content of the compound in the grain. Additionally, the response surface methodology was used to model the evolution of acrylamide in the roasting curve. The multifactorial analysis allowed to identify the process or benefit of coffee was correlated to the content of reducing sugars present in the grain, depending on the route of benefit that is carried out; The temperature and roasting time influenced the formation and reduction of the compound since at temperatures between 120 °C - 185 °C and the duration of roasting process allowed the formation of the compound, but if this temperature range is exceeded and after a prolonged time the compound degrades.

Keywords: roast; temperature; natural; washed; Maillard reaction

¹ Estudiante de ingeniería Agrícola. Universidad Surcolombiana Av. Pastrana Borrero-cra1. E-mail: u20141127024@usco.edu.co*(Autor para correspondencia)

²Ingeniero Agrícola Universidad Surcolombiana Av. Pastrana Borrero-cra1. E-mail:u2010297360@usco.edu.co

³PhD. Ciencia e ingeniería de los alimentos. Dpto. de Ingeniería Agrícola, Universidad Surcolombiana. Av. Pastrana Borrero-cra1. E-mail: joel.giron@usco.edu.co

1. Introducción

La presencia de acrilamida en alimentos ha despertado interés desde antes del año 2000, pero fue a principios del siglo XXI que realmente se levantaron las alertas alimentarias sobre este compuesto, la acrilamida y sus derivados aparecen al someter productos ricos en azúcares a altas temperaturas durante su procesamiento (Anese, 2016). Los alimentos transformados a altas temperaturas como las papas fritas fueron las primeras en hallarse en investigación; siguieron en la lista los jugos procesados de ciruelas, productos tostados como cereales, nueces y panes, aceitunas enlatadas, chocolates, galletas horneadas hasta llegar al café. A partir de las alertas generadas en 1994 por La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), clasificaron la acrilamida como un “posible carcinógeno humano del grupo 2A” (IARC, 1994).

Con la alerta generada, por la presencia de este compuesto en los alimentos de alto consumo, se han desarrollado varias opciones tecnológicas para reducir los niveles de acrilamida en los alimentos ricos en almidón que se someten a altas temperaturas, estas tecnologías se han aplicado a las papas fritas y la pasta. En ambos casos se han logrado reducciones del compuesto disminuyendo la exposición humana a esta sustancia a través de la ingesta; por el contrario en el café no se han obtenido resultados similares debido a que las técnicas desarrolladas para tal fin no han sido efectivas (Chavarrias M. , 2010).

El café es una de las bebidas más consumida a nivel mundial, hace parte de la dieta diaria de millones de personas (Posada, 2018). Países como Finlandia, Noruega, Austria, Dinamarca, Suiza y Suecia, superan el consumo de dos tazas de café al día por persona, lo que equivale de 7.5 a 9.5 kg/persona por año del consumo de café (ICO O. I., 2013). En el caso de Colombia, para el año 2007 el consumo de tazas de café era de 2.9 tazas/día y en el año 2015 se produjo un aumento a 3.4 tazas/día; con un volumen promedio de 154ml. (Gómez, 2015)

Cada taza de café, añade al organismo del consumidor de 0.9 µg a 2.4µg de acrilamida (Andrzejewski, 2004). De acuerdo a lo anterior se maneja un promedio 1.7 µg de acrilamida por taza de café consumida; a pesar de toda las investigaciones y alarmas generadas alrededor de este compuesto químico, no se han fijado valores máximos o límites máximos de consumo de acrilamida; sin embargo, los resultados obtenidos de investigaciones realizadas con roedores y primates por parte de la Comisión de la FAO/OMS, impulsó a establecer el nivel de no presencia de efectos adversos con un valor de 0.5 mg/kg/día como nivel máximo de ingesta en humanos, de acuerdo a (FAO/OMS, 2004).

La ingesta de acrilamida, tanto en seres humanos como en animales genera neurotoxicidad, altas dosis de este compuesto produce cambios en el sistema nervioso central; por el contrario, si la exposición es prolongada pero en bajas dosis genera neuropatía periférica (FAO/OMS, 2004). Las células mayormente afectadas por el compuesto son las somáticas y las germinales, producen alteraciones y daños hereditarios en los genes y cromosomas. Las investigaciones realizadas con roedores, expuestos a concentraciones de acrilamida, detectaron que después de un periodo de cuatro semanas en los machos se inducía reducción de la fertilidad debido a la disminución de espermatozoides y la formación de tumores benignos y malignos en diversos órganos (testículos, glándulas mamarias, tiroides, glándulas suprarrenales) (FAO/OMS, 2004)

Los estudios epidemiológicos de las muertes por cáncer en trabajadores expuestos a la acrilamida debido a su ocupación no demostraron ningún aumento en su incidencia, por tal razón no se generan conclusiones definitivas debido a ciertos sesgos observados en los estudios. (Tte. Cor. M.V. Armando García-López, 2007). Según el

reglamento de la Unión Europea, se establecieron medidas de mitigación, desde la producción de los alimentos la selección de materias primas, los procesos de elaboración y transformación de alimentos; con este reglamento se estipularon los niveles de referencia para la reducción de la presencia del compuesto en alimentos. (FAO/OMS, 2004)

En el caso de la bebida de café los principales factores responsables del contenido de acrilamida son: la variedad, maduración del grano, condiciones de tostado, almacenamiento y preparación de la bebida (Machado Baptestini, Corrêa, Horta de Oliveira, Cecon, & Ferreira Soares, 2017). Se han realizado estudios en busca de disminuir el contenido de acrilamida en el café al actuar sobre las etapas tempranas de la cadena productiva; tales como cosecha, beneficio, secado y tueste (Chavarrias M. , 2010).

La cereza de café se conforma por capas, las cuales cubren y protegen los granos, la piel exterior que recubre se denomina exocarpio, la pulpa se llama mesocarpio, es una capa delgada debajo de la piel de la cereza. El mucílago es la capa interna de la pulpa y también hay una capa de pectina debajo del mucílago. Estas capas son ricas en azúcares y junto a los aminoácidos son los principales precursores de la formación de acrilamida en los granos de café durante su tueste (Quintero, Composición química de una taza de café, 2011).

El café verde, posee 50,8 % de polisacáridos, 8 % de sacarosa, 0,10 % azúcares reductores para café Arábica y 56,4 % de polisacáridos, 4 % de sacarosa, 0,40 % azúcares reductores para café Robusta (Puerta Quintero G. I., Composición química de una taza de café, 2011); los anteriores porcentajes corresponden a los azúcares presentes en los granos de café, debido a que la acrilamida se forma principalmente en la reacción de Maillard, en la cual intervienen los aminoácidos y los azúcares. (Neiker, 2004).

El grano de café cereza después de cosechado, pasa por un proceso de despulpado, fermentado, lavado, secado y se transforma en pergamino seco, a este proceso se le conoce como beneficio. El beneficio seco o natural es el más antiguo y sencillo; no se requiere de maquinaria, pero sí de mano de obra; este método consiste en secar el café cereza, sin retirar la piel o cáscara del grano (Aristizábal Arias & Duque Orrego, 2005). Para el beneficio húmedo o lavado, es necesario aplicar grandes cantidades de agua; al retirar la pulpa, el grano queda cubierto por una capa gelatinosa y dulce llamada mucílago, el cual se degrada en el proceso de fermentación; posteriormente, el café es lavado para retirar cualquier resto de azúcar después de la fermentación. Finalmente los granos son sometidos al secado para obtener café pergamino seco (Sanz U., Oliveros T., Ramírez G., Peñuela M., & Ramos G., 2013).

Después del beneficio, sigue el tueste, en este proceso cambian los contenidos de los compuestos químicos y la concentración de estos en los granos tostados con respecto al grano verde, los polisacáridos disminuyen, la sacarosa se degrada completamente, los azúcares reductores aumentan, las proteínas disminuyen, los lípidos y la cafeína del grano tostado conforman cerca de la misma proporción (Puerta Quintero G. I., Composición química de una taza de café, 2011). El tueste es una etapa crítica ya que el café generalmente se calienta a temperaturas en un rango de 193°C, para un tueste claro, cerca de los 200°C para un tueste medio y cerca de los 218°C para un tueste oscuro.

La reacción de Maillard representa la ruta principal para la formación de acrilamida en el café, que se inicia por la condensación de asparagina y carbohidratos reductores o carbonilos reactivos cuando los granos se someten a altas temperaturas de tostado (Arismendy, 2015). La formación de acrilamida sucede rápidamente al comienzo del proceso y disminuye poco después de alcanzar un nivel máximo, probablemente se deba a las pérdidas físicas y químicas de los compuestos precursores (Tte. Cor. M.V. Armando García-López, 2007)

La acrilamida es altamente soluble en agua lo que facilita la transferencia del café molido a la bebida (Andrzejewski, 2004). Sin embargo, la composición química del café es altamente dependiente de varios factores, incluyendo la cantidad de café utilizada para preparar la mezcla, variedad del café, su grado de tueste, así como la proporción de café / agua utilizada, que depende de las preferencias culturales y personales (Reis, Franca, &

Oliveira, Discrimination between roasted coffee, roasted corn and coffee husks by Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy, 2018). Por lo tanto, el objetivo del trabajo consistió en la cuantificación del contenido de acrilamida en los granos de café, procesados por beneficio natural y lavado.

2. Materiales y métodos

2.1. Muestras de café

Se recolectaron 40 kg de café (*Coffea arabica*) variedad Caturra, del municipio de Colombia Huila, únicamente se seleccionaron los granos que presentaron una coloración roja intensa. Las muestras se depositaron en contenedores de poliestireno con geles refrigerantes para evitar la fermentación temprana, fueron transportadas hasta la Universidad Surcolombiana para realizar el proceso de beneficio por dos métodos de beneficio; vía húmeda o lavado y seco o natural. La fermentación, se inició con un valor de pH de 5.81 ± 0.014 hasta alcanzar un valor de 4.59 ± 0.107 .

Posteriormente se realizó el proceso de secado y se llevó el grano hasta un contenido de humedad en base húmeda de $11.3 \% \pm 0.05$ y $11.0 \% \pm 0.10$ para el beneficio natural y lavado, respectivamente. El proceso de trilla se realizó en una trilladora de laboratorio (ING-C-200, Ingesec, Bogotá, Colombia); seguidamente, se realizó la selección de almendra sana de acuerdo con lo establecido por la Asociación Americana de Cafés Especiales (SCAA S. C., 2015). El café restante se pasó por un tamiz N° 13 de diámetro 5 mm para eliminar los granos de menor tamaño. En la figura 1, se representa gráficamente el proceso.

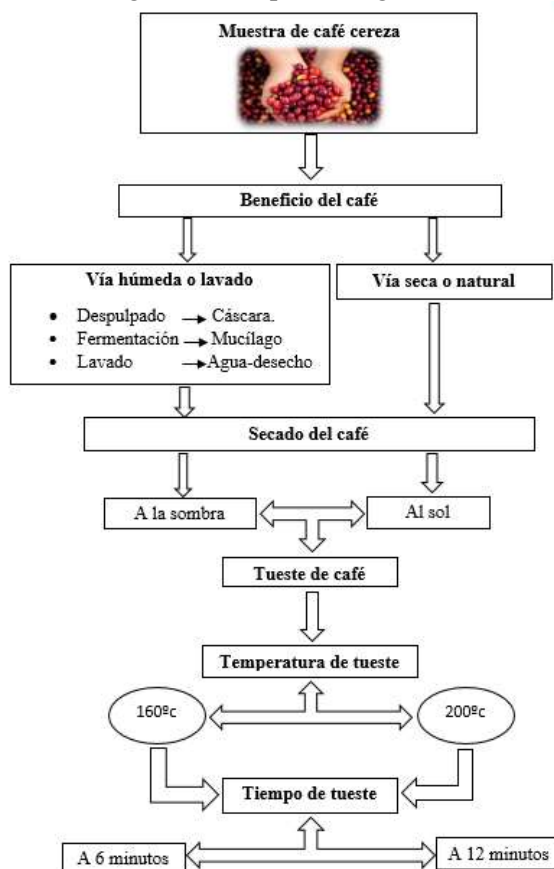


Figura 1. Representación esquemática del proceso realizado.

2.2 Tueste de las muestras de café

El proceso de tueste para las muestras de cafés tanto café natural como lavado, fue realizado en un sistema por transferencia de calor; conducción, una máquina de tambor rotatorio TC 150R (Quantik, Colombia). Cuando el valor de la temperatura alcanzó los 160-200 °C se introdujeron 120 g de cada una de las muestras, y se extrajeron a los 6-12 minutos, hasta llegar a temperaturas entre 160-200 °C dependiendo del tratamiento.

2.3 Cuantificación del contenido de acrilamida mediante cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC)

2.3.1 Preparación de los extractos

Para la preparación de los extractos se ajustó el proceso usado por (O. Pule & Torto, 2010), para la determinación del contenido de acrilamida. Las muestras de café natural y lavado se molieron para obtener un polvo fino, utilizando un molino para café tostado marca Bunn G3 Hd (Springfield, USA), se pesó 1 g de café de la muestra, se dispuso un tubo de 50 ml del kit QuEChERS – Bon Elut, se fortificó la muestra con 1000 µl de acrilamida (a partir de la solución estándar de 10 mg de acrilamida/10 ml acetonitrilo).



Se agregaron 5 ml de hexano, se adicionaron 9 ml de agua y 10 ml de acetonitrilo (CH_3CN), por último se añadió el Kit QuEChERS; para los pasos anteriores se agitó manualmente y de forma vigorosa la mezcla entre la adición de los compuestos. El tubo de 50 ml, se dividió en dos tubos de 15 ml para centrifugarse en la centrífuga EBA 200 (Tuttlingen, Alemania); durante 5 minutos a 6000 rpm.

Después de la centrifugación la mezcla se divide en fases como se aprecia en la figura 1:

1. Hexano, 2. Acetonitrilo y acrilamida, 3. Café y 4. Agua (H_2O).

Se extrae la primera capa y se toma un muestreo de 1000 µl de la segunda capa para el análisis de cromatografía. Todas las muestras se analizaron por triplicado.

Figura 2. Fases de la mezcla.

2.3.2 Reactivos

En el procedimiento se utilizaron los reactivos metanol, hexano y el acetonitrilo grado HPLC (Sigma-Aldrichand), la acrilamida grado HPLC (Sigma-Aldrichand) (Buchs SG, Suiza). QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged & Safe) – Bon Elut, el cual contiene 4 g de sulfato de magnesio (MgSO_4) y 0.5 g de Cloruro de Sodio (NaCl) (Agilent Technologies, USA). Se utilizó agua de calidad bidestilada.

2.3.3 Condiciones del HPLC

Para determinar el contenido de acrilamida se trabajó bajo las siguientes condiciones del equipo, la detección del compuesto se realizó a los 210 nm con un tiempo de retención en promedio de 4.3 minutos, un flujo de 0.3 ml/min, una temperatura de la columna de 30°C, inyección de 2 µl; el tiempo después de la corrida fue de 6 minutos y en total fueron 15 minutos por cada corrida, con elusión isocrática de 3 %, 5 nm de ácido acético y 97 % de acetonitrilo para la fase móvil del sistema.

2.4 Análisis estadístico

En la primera parte del estudio, se usó un análisis de varianza multifactorial (ANOVA multifactorial) para determinar si los parámetros evaluados presentaron influencia sobre la variable de respuesta, se consideró como variable dependiente el contenido acrilamida. Adicionalmente, se utilizó la metodología de superficies de respuesta para modelar, analizar y encontrar la relación entre los factores evaluados y la variable de respuesta (acrilamida) y a su vez hallar los niveles óptimos de los factores. Los análisis se ejecutaron con el programa Statgraphics (versión 5.0; Manugistics, Inc., Rockville MD, USA).

3. Resultados y discusión

El análisis de varianza multifactorial del contenido de acrilamida con cada factor evaluado y las interacciones entre estos, presentaron los resultados observados en la tabla 3.

Tabla 3. Comportamiento de la razón-P y valor-P del contenido de acrilamida y los factores evaluados.

Factores Compuesto	P	S	T	T.t	PxS	PxT	PxT.t	SxT	SxT.t	TxT.t	PxSxT	PxSxT.t	PxTxT.t	SxTxT.t
Acrilamida	1145.92*	462.93*	344.20*	362.27*	104.26 ^{ns}	28.31 ^{ns}	1126.66 ^{ns}	70.48 ^{ns}	11.50 ^{ns}	59.69*	8.29 ^{ns}	1.93 ^{ns}	298.82*	289.31*

ns: no significativo >0.05 *p<0.05 **p<0.01 ***p<0.001

El factor proceso (beneficio), presentó un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de acrilamida, esto puede deberse a que el objetivo del beneficio del café es conservar la calidad física, organoléptica y sanitaria del grano; para ello se remueven las capas del grano de café. La pulpa de café está conformada por diferentes compuestos químicos, entre ellos azúcares reductores en un 12.4 % en base seca (Braham, 1978); el mucílago en estado fresco posee entre 6.2 % y 7.4 % de azúcares, un 63 % de esos azúcares son reductores (Puerta Quintero & Ríos Arias, 2011), dependiendo de la vía de beneficio se remueven capas y de acuerdo a esto existen menores o mayores concentraciones de azúcares y aminoácidos en los granos; estos dos compuestos están implicados en la principal vía de formación de acrilamida, la reacción de Maillard (Lantz, *et al.*, 2006).

La temperatura de tueste, presentó influencia significativa en el contenido de acrilamida en los granos de café de las muestras de café natural y lavado, debido a que este factor más la presencia de los precursores (asparagina, carbohidratos y altas temperaturas) de la acrilamida, tiene lugar la reacción de Maillard; de acuerdo al análisis realizado a las muestras de café, los cafés sometidos a temperaturas de 160 °C exhibieron concentraciones más elevadas que las muestras sometidas a temperaturas de 200 °C, de acuerdo a investigaciones durante el proceso de tueste, al inicio la acrilamida presenta un aumento rápido en su concentración hasta llegar a un valor máximo, el cual no es permanente y se reduce de forma exponencial en relación a la tasa de degradación de los compuestos precursores y la velocidad de formación de la acrilamida (Penyuya & Gökmen, 2005).

Con los datos obtenidos, se establece que el tiempo de tueste influye significativamente en el contenido de acrilamida en los granos de café presentando el mismo comportamiento en las muestras de café natural y café lavado, ya que se detectó que las muestras de café con un tratamiento de 6 minutos en el proceso de tueste presentaron un contenido más elevado del compuesto que las muestras sometidas a un tueste de 12 minutos, estos resultados están acordes a observaciones realizadas por (Lantz, Ternit, Wilkens, Hoenicke, & Guenther, 2006), quienes identificaron que la formación y la reducción del compuesto se presenta durante el proceso de tueste y

dependiendo de la duración de este proceso; la acrilamida llega a formarse y se degrada después de alcanza su pico máximo de concentración.

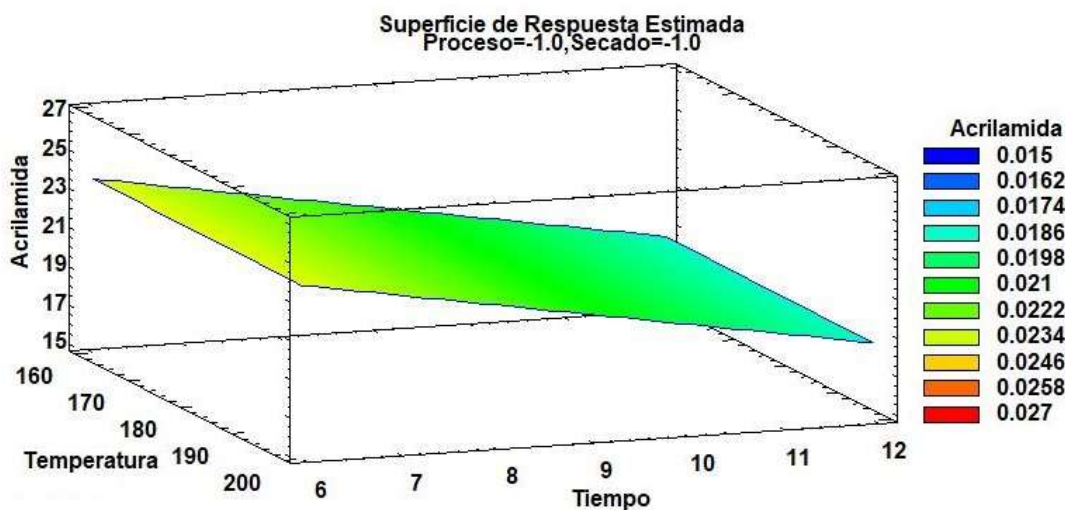
Los factores temperatura y tiempo de tueste, se ven relacionados con el grado de tueste, a un grado de tueste alto, la coloración del grano de café es oscuro y su contenido de acrilamida bajo, correspondiente a la degradación del compuesto durante el tueste; por el contrario un grado de tueste ligero, el grano de café posee una tonalidad más clara y con un contenido de acrilamida elevado; debido a que la degradación del compuesto aún no ha empezado (Lantz, Ternit, Wilkens, Hoenicke, & Guenther, 2006).

Las interacciones como TxT.t, PxTxT.t y SxTxT.t mostraron un efecto estadísticamente significativo sobre la concentración de acrilamida; de acuerdo a lo expuesto anteriormente y debido que la formación de acrilamida se genera por el aumento de la temperatura y el tiempo del tratamiento al que es sometido el alimento (Biedermann-Brem S, 2003). Las interacciones restantes entre los compuestos no presentaron influencias significativas sobre la concentración de acrilamida en el grano de café de las muestras de café natural y lavado.

Modelación del contenido de acrilamida durante el tueste

La figura 3 muestra la superficie de respuesta obtenida a partir de la minimización del compuesto, de acuerdo a los valores óptimos que minimizan la concentración de la acrilamida en los granos de café, los factores analizados se optimizaron. Los valores óptimos son: para el proceso -1 (lavado) de acuerdo a lo anteriormente referenciado, el proceso de beneficio lavado es aquel que se le realiza la remoción total de las capas que cubren los granos de café; así reduciendo la cantidad de azúcares presentes en el grano, para el secado -1 (sombra), debido a una exposición indirecta con la luz solar, los compuestos volátiles presentes en el grano no son alterados. (Puerta Quintero G. I., Composición química de una taza de café, 2011).

Figura 3. Superficie de respuesta del contenido de acrilamida respecto a la temperatura y el tiempo de tueste.



De acuerdo a investigaciones se ha determinado que a temperaturas entre 120 y 185 °C el contenido de acrilamida se aumenta debido a la formación del compuesto a temperaturas mayores a las citadas, la acrilamida formada sufre una degradación, lo que disminuye la concentración final en el grano; por eso en cafés con tueste alto la concentración de acrilamida es menor y a grados de tueste menores los contenidos del grano son mayores ; este comportamiento se detectó en las muestras de café natural y café lavado. (Stadler, 2004)

Con los valores óptimos para la reducción del compuesto anteriormente mencionado, la modelación de la superficie expone 61 % de la variabilidad en el contenido de acrilamida en los granos de café. Para el ajuste de

la modelación se expone un 51.25 % de la variabilidad en el contenido de café, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes. La ecuación del modelo ajustado es:

Contenido de acrilamida = $0.0254586 - 0.00313668 * \text{Proceso} - 0.000303848 * \text{Tiempo} + 0.000524953 * \text{Proceso} * \text{Tiempo}$

Conclusiones

- Factores como la concentración de azúcares y aminoácidos influyen directamente en el contenido de acrilamida; las temperaturas elevadas y los tiempos prolongados que a su vez influyen en el grado de tueste, impiden la formación de dicho compuesto como se determinó en el análisis de varianza multifactorial.
- A partir del análisis de superficie de respuesta se encontró que el valor óptimo para la temperatura fue de 160 °C y tiempo de 12 minutos.
- Se estableció un contenido de acrilamida óptimo de 0.0186497 % p/p de acuerdo a la ecuación de modelación, con respecto a los valores óptimos de cada factor.

Recomendaciones

- Realizar la evaluación de contenido de acrilamida en granos de café, relacionándolo con otros compuestos que están presentes en el grano.
- Aplicar los reglamentos interpuestos por la Unión Europea frente a la mitigación del contenido de acrilamida por medio de la producción de los alimentos la selección de materias primas, los procesos de elaboración y transformación de alimentos; con este reglamento se estipularon los niveles de referencia para la reducción de la presencia del compuesto en alimentos.

4. Referencias bibliográficas

- Andrzejewski, D. J. (2004). Analysis of Coffee for the Presence of Acrylamide by LC-MS/MS. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52. DOI: 10.1021/jf0349634
- Anese, M. (2016). *Chapter 9 - mAcrylaide in Coffee and Coffee Substitutes*. DOI:10.1016/B978-0-12-802832-2.00009-7
- Arismendy, J. H. (2015). *Evaluacion del proceso de secado del café y su relacion con las propiedades fisicas, composición química y calidad en taza*. Medellin, Colombia.
- Aristizábal Arias, C., & Duque Orrego, H. (2005). Caracterización del proceso de beneficio de café en cinco departamentos cafeteros de Colombia. . *Cenicafé*, 299-318.
- Biedermann-Brem S, N. A. (2003). *How much reducing sugar may potatoes contain to avoid excessive acrylamide formation, during roasting and baking ?* European Food Research and Technology.
- Braham, J. B. (1978). *Pulpa de café: composición, tecnología y utilización*. Bogotá.

- Chavarrias, M. (02 de Junio de 2010). *Acrilamida y cafe*. Obtenido de Acrilamida y cafe - Consumer: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2010/06/02/193460.php> consultado: 20 de agosto de 2019.
- Craig, A. P., Botelho, B. G., Oliveira, L. S., & Franca, A. S. (15 de April de 2018). Mid infrared spectroscopy and chemometrics as tools for the classification of roasted coffees by cup quality. *Food Chemistry*, 245, 1052-1061.
- FAO/OMS. (2004). Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos. *Comisión del codex alimentarius*, (pág. 18). Roma.
- Gómez, C. (19 de 11 de 2015). *El Tiempo*. Obtenido de El Tiempo: <https://www.eltiempo.com/archivo/documento/DR-1063784>
- IARC. (1994). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Industrial Chemicals. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Industrial Chemicals*, 60.
- ICO, O. I. (2013). *Infocafe*. Obtenido de Infocafe: <https://www.infocafe.es/cafe/principales-consumidores-cafe.php>
- Lantz, I., Ternité, R., Wilkens, J., Hoenicke, K., Guenther, H., & D. van der Stegen, G. H. (2006). *Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee*. Germany.
- Machado Baptestini, F., Corrêa, P. C., Horta de Oliveira, G. H., Cecon, P. R., & Ferreira Soares, N. (July-Sept. de 2017). Kinetic modeling of water sorption by roasted and ground coffee. *Acta Scientiarum. Agronomía*, 39, 273-281.
- Neiker, I. V. (2004). *Determinación de los niveles de acrilamida en el café*.
- O. Pule, B., & Torto, N. (2010). *Determination of acrylamide in cooking oil by agilent bond elut QuEChERS acrylamide kit and HPLC-DAD*.
- Penyuva, H. Z., & Gökmen, V. (2005). *Estudio de acrilamida en el café utilizando un método mejorado de masas por cromatografía líquida espectrometría de: Investigación de los cambios de color y la formación de acrilamida en el café durante el tostado*. Ankara.
- Posada, S. G. (26 de 11 de 2018). *Qué café*. Obtenido de Qué café: <https://quecafe.info/paises-consumidores-de-cafe-top-10/>
- Puerta Quintero, G. I. (Diciembre de 2011). Avances técnicos Cenicafé. *Composición química de una taza de café*, 1-12. Chinchiná, Caldas, Colombia.
- Puerta Quintero, G. I., & Ríos Arias, S. (2011). *Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación y refrigeración*. Cenicafé 62.
- SANZ U., J., OLIVEROS T., C., RAMÍREZ G., C., PEÑUELA M., A., & RAMOS G., P. (2013). *Manual del cafatero colombiano: Investigación y tecnología para la sostenibilidad de la caficultura*. Cenifé Vol 3.

SCAA. (16 de Diciembre de 2015). *SPECIALITY COFFEE ASOCIATION OF AMERICA: Cupping Speciality Coffee*.
Obtenido de SPECIALITY COFFEE ASOCIATION OF AMERICA:
<http://scaa.org/?page=resources&d=cupping-protocols>

Stadler, R. &. (2004). *Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control*. Nutrition Reviews.

Tte. Cor. M.V. Armando García-López, M. M.-M. (2007). *Acrilamida en alimentos para consumo humano*.