



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

**“Bioaccesibilidad colónica y efecto de la microbiota sobre oligosacáridos del café (*Coffea arabica* L.) usado, con dos grados de tostado”**

Ana Cecilia González de Cosío-Barrón<sup>1\*</sup>, Ma. Guadalupe Flavia Loarca-Piña<sup>1</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.

\* ceci\_glz@hotmail.com, IIA, estudiante Maestría en Ciencias;

\*\*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:** Bioaccesibilidad colónica y efecto de la microbiota sobre oligosacáridos del café (*Coffea arabica* L.) usado, con dos grados de tostado.

**Resumen.** Debido a los compuestos bioactivos presentes en el café usado, residuo sólido recuperado posterior a la preparación de la bebida y el café soluble, entre ellos la fibra dietaria, relacionada con beneficios prebióticos modulados por compuestos como los oligosacáridos, entre otros, es importante encontrar ideas prácticas e innovadoras que permitan su uso en la industria de alimentos, dando un valor agregado a este producto de desecho, con potenciales beneficios a la salud del consumidor. Para lo que se requiere de su extensiva evaluación tanto nutracéutica como funcional. El objetivo principal de este trabajo fue determinar la bioaccesibilidad de los oligosacáridos del café (*Coffea arabica* L.) usado y el efecto de la microbiota colónica de un sujeto con peso normal y uno con sobrepeso, a nivel del colon. Rafinosa, estaquiosa y verbascosa fueron identificados en el grano de café mientras que solo los dos últimos se encontraron en el café usado (644.18 y 655.55, 581.58 y 530.49, francés y americano,  $\mu\text{g}$  equivalentes de estaquiosa y verbascosa/g muestra, respectivamente). La microbiota de sujetos con sobrepeso logró la mayor liberación de rafinosa (para ambos grados de tostado, en comparación con el peso normal) de hasta 4327.85  $\mu\text{g}$  para Francés y de hasta 8862.96  $\mu\text{g}$  para Americano. Mientras que para estaquiosa y verbascosa no se observó una tendencia importante, con liberación con ambas fuentes de inóculo fecal y ambos grados de tostado. Por primera vez se aportan resultados sobre la bioaccesibilidad de los oligosacáridos del café usado a nivel de colon, así como la influencia de la microbiota colónica sobre los mismos. Se requieren de más estudios para validar los resultados del presente trabajo. **Palabras clave:** café usafo, oligosacádiso, fermentación colónica, peso normal, sobrepeso.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

**Abstract.** Due the bioactive compounds present in Spent Coffee (SC), solid residue recovered after preparing the beverage and instant coffee, including dietary fiber, with prebiotic related benefits modulated by compounds such as oligosaccharides, among others, it is important to find innovative ideas that allow their use in the food industry, giving an added value to this waste product, with potential benefits to the health of consumers. The main objective of this work was to determine the oligosaccharides bioaccessibility from spent coffee (*Coffea arabica* L.) and the effect of the colonic microbiota from a subject with normal weight and overweight, in the colon. Raffinose, stachyose and verbascose were identified in coffee bean, while only the last two compounds were found in the SC (644.18 and 655.55, 581.58 and 530.49, French and American,  $\mu\text{g}$  equivalent of stachyose and verbascose/g sample, respectively). Microbiota from overweight subjects achieved the highest release of raffinose (for both degrees of toasting, compared with normal weight) up to 4327.85  $\mu\text{g}$  for French and up to 8862.96  $\mu\text{g}$  for American. The results suggest the potential functional of SC supporting their use as ingredient into the food industry. Further studies are required to validate the results of this work. **Keywords:** spent coffee, oligosaccharides, colonic fermentation, normal weight, overweight.

**I. Introducción.** El café usado (CU) se genera en el proceso de la obtención de la bebida mediante la filtración y percolación por goteo de agua caliente, por lo que este es el residuo sólido. En el café usado se encuentran altos valores de fibra dietaria (aproximadamente 43%, de la cual el 35% es insoluble y el 8% es soluble). Debido a esto tiene un gran potencial para ser utilizado como materia prima en el desarrollo de alimentos funcionales (Campos-Vega *et al.*, 2015a) pero su caracterización y valoración es limitada. Uno de los componentes de la fibra dietaria son los oligosacáridos no digeribles (NDO), que poseen importantes



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

propiedades fisicoquímicas, ya que se comportan como fibra dietética y prebióticos. La mayor parte del interés para su uso como ingredientes de los alimentos se debe a sus beneficios a la salud, como lo es su función prebiótica (Mussatto *et al.*, 2007). Recientemente se ha informado que sujetos con sobrepeso presentan disbiosis, lo que podría afectar la liberación/hidrólisis de los compuestos provenientes de la dieta como el ácido eláxico (Selma *et al.*, 2015) o como los oligosacáridos. Por lo anterior es relevante determinar no solo su presencia en el CU, sino también su liberación en el colon, principal órgano blanco; así como el efecto de la microbiota de un sujeto con sobre peso sobre su bioaccesibilidad en colon. El objetivo de este trabajo fue determinar la bioaccesibilidad de los oligosacáridos del café (*Coffea arabica* L.) usado, con dos grados de tostado, y el efecto de la microbiota colónica de un sujeto con peso normal y uno con sobrepeso, sobre su liberación a nivel del colon.

**II. Metodología.** Se trabajó con granos de café de la variedad arábica, de tostado francés y americano (oscuro y 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, se pasó por una malla No. 60, para homogenizar el tamaño de la partícula y se almacenó protegiéndolos de la luz hasta su uso. El contenido de humedad, cenizas, proteínas y lípidos totales se determinaron usando la metodología descrita por la AOAC (2002). Mientras que el contenido de fibra dietaria, soluble e insoluble se obtuvo mediante el método de Shiga *et al.*, (2013). **Extracción oligosacáridos.** Se realizó a partir del grano y el café usado, mediante la técnica descrita por Díaz-Batalla *et al.*, (2006). Las curvas de calibración se determinaron utilizando rafinosa, estaquiosa y verbascosa (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.). **Digestión gastrointestinal.** Consistió en



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

una simulación *in vitro* del proceso digestivo, desde la boca hasta la fermentación en el colon, utilizando las muestras de CU con diferentes grados de tostado. Diversos métodos fueron seguidos con las modificaciones y adaptaciones sugeridas por Campos-Vega *et al.*, (2015b). **Fermentación colónica.** Se llevó a cabo mediante la técnica descrita por Campos-Vega *et al.*, (2009), empleando inóculo fecal humano de un sujeto con peso normal y un sujeto con sobrepeso, como fuente de la microbiota representativa del colon. 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 la Tabla 1 se muestra la composición proximal de las muestras en estudio. Podemos observar que el grado de tostado influye sobre la retención de proteína en el café usado siendo este valor mayor en el Cu con tostado francés.

**Tabla 1.** Composición química del grano y café usado con dos diferentes grados de tostado.

	TOSTADO AMERICANO		TOSTADO FRANCÉS	
	GRANO DE CAFÉ	CAFÉ USADO	GRANO DE CAFÉ	CAFÉ USADO
<b>PROTEÍNA</b>	19.1 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	15.9 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	18.3 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>	19.1 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>
<b>LÍPIDOS</b>	13.2 $\pm$ 0.86 <sup>b</sup>	17.9 $\pm$ 0.22 <sup>a</sup>	13.4 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	17.5 $\pm$ 0.69 <sup>a</sup>
<b>CARBOHIDRATOS</b>	62.9 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	64.6 $\pm$ 0.41 <sup>a</sup>	63.6 $\pm$ 1.27 <sup>a</sup>	61.5 $\pm$ 0.98 <sup>a</sup>
<b>CENIZAS</b>	4.7 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	1.5 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	4.7 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.8 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
<b>HUMEDAD</b>	1.4 $\pm$ 0.10 <sup>c</sup>	4.0 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	1.8 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	4.5 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de tres experimentos independientes  $\pm$  ES, y son expresados como porcentaje en base seca. Letras diferentes por renglón muestran diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por prueba de Tukey.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

Sin embargo, el contenido total de fibra fue mayor en el café usado con tostado Americano (aunque sin diferencia significativa), lo que podría explicarse por la formación de compuestos de la reacción de Maillard durante el tostado del grano tipo Francés (Tabla 2).

Al cometer a digestión gastrointestinal *in vitro* y posterior fermentación colónica, las muestras de café usado, con microbióta de un sujeto con peso normal y uno con sobre peso, monitoreamos los cambios en el pH durante este último proceso (Tabla 3). No se observaron diferencias estadísticas entre los grados de tostado o la microbióta empleada, sin embargo la mayor caída del pH se observa a las 6 hr de la fermentación del café usado de ambos tostados con la microbióta de sujetos con sobrepeso, y para las 24 hr del control positivo (inulina) con microbióta de peso normal, lo que pudiera ser el reflejo de la actividad metabólica de las especies presentes y su capacidad para utilizar el sustrato.

**Tabla 2.** Contenido de fibra soluble, fibra insoluble y fibra total del grano y café usado de dos diferentes grados de tostado.

	TOSTADO AMERICANO		TOSTADO FRANCÉS	
	GRANO DE CAFÉ	CAFÉ USADO	GRANO DE CAFÉ	CAFÉ USADO
<b>FIBRA INSOLUBLE</b>	44.1 ± 0.95 <sup>b</sup>	56.6 ± 0.40 <sup>a</sup>	44.3 ± 1.29 <sup>b</sup>	54.1 ± 1.48 <sup>a</sup>
<b>FIBRA SOLUBLE</b>	1.5 ± 0.44 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.25 <sup>a</sup>
<b>FIBRA TOTAL</b>	45.7 ± 1.03 <sup>b</sup>	58.1 ± 0.55 <sup>a</sup>	45.9 ± 1.27 <sup>b</sup>	55.1 ± 1.71 <sup>a</sup>

Cada valor representa el promedio de tres experimentos ± ES y son expresados como porcentaje (%) en base seca por gramo de muestra. Letras diferentes por renglón indican diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) por la prueba de Tukey.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

Respecto al contenido de oligosacáridos y su bioaccesibilidad en el colon, en la Tabla 4 se muestra que los 3 oligosacáridos evaluados fueron detectados. Rafinosa y estaquiosa fueron los compuestos mayoritarios en el grano, mientras que en el café usado solo se detecto estaquiosa y verbascosa. Al parecer el grado de tostado no influye sobre el contenido de estos compuestos.

A nivel del colon, la mayor bioaccesibilidad se mostró para rafinosa, para ambos grados de tostado, siendo incluso mayor que en el grano. Esto sugiere que la actividad de la microbiota influyó en su liberación de la matriz ya que si bien en el CU no fue detectada, los valores obtenidos en la fermentación colónica son mayores incluso que en el grano. La microbiota de sujetos con sobrepeso logró la mayor liberación de rafinosa (para ambos grados de tostado, en comparación con el peso normal). Mientras que para estaquiosa y verbascosa no se observa una tendencia importante.

**Tabla 3.** Efecto de la fermentación colónica *in vitro* de la fracción no digerible del café usado, de dos diferentes grados de tostado, sobre el pH del medio de incubación, empleando microbiota de individuos con peso normal y sobrepeso.

Muestra	pH							
	0 hr		6hr		12hr		24hr	
	Normal	Sobrepeso	Normal	Sobrepeso	Normal	Sobrepeso	Normal	Sobrepeso
Francés usado	6.96±0.07 <sup>Aa</sup>	6.95±0.23 <sup>Aa</sup>	6.36±0.15 <sup>ABa</sup>	6.06±0.39 <sup>Ba</sup>	6.45±0.33 <sup>ABa</sup>	6.92±0.23 <sup>Aa</sup>	6.43±0.30 <sup>ABa</sup>	6.53±0.19 <sup>ABa</sup>
Americano usado	6.93±0.09 <sup>Aa</sup>	6.89±0.25 <sup>Aa</sup>	6.40±0.08 <sup>ABa</sup>	6.00±0.37 <sup>Ba</sup>	6.50±0.28 <sup>ABa</sup>	6.40±0.25 <sup>ABa</sup>	6.64±0.18 <sup>ABa</sup>	6.54±0.13 <sup>ABa</sup>
Control (+)	7.08±0.14 <sup>Aa</sup>	7.08±0.23 <sup>Aa</sup>	5.33±1.09 <sup>ABa</sup>	5.19±1.12 <sup>Aba</sup>	4.46±0.36 <sup>Bb</sup>	4.36±0.12 <sup>Bb</sup>	4.22±0.25 <sup>bb</sup>	5.15±1.34 <sup>ABa</sup>
Control (-)	7.05±0.12 <sup>Aa</sup>	6.98±0.28 <sup>Aa</sup>	6.56±0.79 <sup>Aa</sup>	6.46±0.47 <sup>Aa</sup>	6.78±0.35 <sup>Aa</sup>	6.61±0.26 <sup>Aa</sup>	7.02±0.34 <sup>Aa</sup>	6.94±0.29 <sup>Aa</sup>

Los resultados representan la media de 3 experimentos por triplicado + ES. Letras mayúsculas diferentes por renglón expresan diferencia significativa entre los diferentes tiempos de fermentación de cada grupo ( $\alpha = 0.05$ ) por prueba de Tukey. Letras minúsculas diferentes por columna expresan diferencia significativa entre grupos bajo las mismas horas ( $\alpha = 0.05$ ) por prueba de Tukey. El control positivo representa la inulina y el negativo la ausencia de la muestra.



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

**Tabla 4.** Concentración de oligosacáridos de los productos de la fermentación colónica *in vitro* del café usado de dos diferentes grados de tostado, empleando microbiota de individuos con peso normal y sobrepeso.

Muestra	Cuantificación de oligosacáridos					
	Rafinosa		Estaquirosa		Verbascosa	
	Francés	Americano	Francés	Americano	Francés	Americano
Grano de café	872.30 <sup>d</sup>	656.27 <sup>c</sup>	644.18 <sup>a</sup>	655.55 <sup>b</sup>	581.58 <sup>a</sup>	530.49 <sup>a</sup>
Café usado	ND	ND	659.69 <sup>a</sup>	688.07 <sup>ab</sup>	528.16 <sup>ab</sup>	502.66 <sup>ab</sup>
<b>Fermentación colónica (normal)</b>						
6h	1634.11 <sup>c</sup>	2000.46 <sup>b</sup>	232.85 <sup>b</sup>	132.13 <sup>b</sup>	226.83 <sup>bc</sup>	148.57 <sup>c</sup>
12h	6819.26 <sup>a</sup>	704.82 <sup>c</sup>	118.30 <sup>b</sup>	117.74 <sup>b</sup>	316.60 <sup>bc</sup>	113.26 <sup>c</sup>
24h	65.49 <sup>e</sup>	43.40 <sup>d</sup>	109.27 <sup>b</sup>	131.18 <sup>b</sup>	518.60 <sup>ab</sup>	170.28 <sup>c</sup>
<b>Fermentación colónica (sobrepeso)</b>						
6h	1522.40 <sup>c</sup>	1475.90 <sup>b</sup>	93.08 <sup>b</sup>	97.22 <sup>b</sup>	132.57 <sup>c</sup>	225.86 <sup>c</sup>
12h	3424.77 <sup>b</sup>	168.77 <sup>cd</sup>	223.34 <sup>b</sup>	179.18 <sup>b</sup>	301.99 <sup>bc</sup>	140.53 <sup>c</sup>
24h	2087.34 <sup>c</sup>	8291.27 <sup>a</sup>	170.95 <sup>b</sup>	220.47 <sup>b</sup>	196.72 <sup>bc</sup>	284.89 <sup>bc</sup>

Las letras diferentes columna expresan diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ) por prueba de Tukey. ND= No detectado. La concentración de los oligosacáridos son expresados en  $\mu\text{g}$  equivalentes de rafinosa, estaquirosa y verbascosa por gramo de muestra, respectivamente. Los resultados representan la media de 3 experimentos por triplicado  $\pm$  ES.

**Conclusiones.** Por primera vez se informa sobre la liberación de oligosacáridos a partir del café usado, con dos grados de tostado, así como la influencia de la microbiota colónica. Los resultados sugieren el potencial funcional del café usado y su empleo como ingrediente en la industria de alimentos, como lo podría ser el reconocido efecto prebiótico de estos oligosacáridos, dando no solo un valor agregado a un producto de desecho, sino un efecto benéfico a la salud de quién lo consume. Se requieren de más estudios para validar los resultados del presente trabajo.



## “CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

**Agradecimientos:** Los autores agradecen el apoyo económico otorgado por los proyectos No. 242282 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al programa PRODEP.

### V. Bibliografía

[AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 2002. Official methods of analysis. 17th ed. Arlington, Va.: AOAC.

Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Vergara-Castañeda, H. A., & Oomah, B. D. (2015a). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 24–36.

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.

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

Díaz-Batalla, L., Widholm, J. M., Fahey, G. C., Castano-Tostado, E., & Paredes-Lopez, O. (2006). Chemical components with health implications in wild and



“CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN 2016”

Multidisciplinario

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

cultivated Mexican common bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 2045–2052.

Mussatto, S. I., & Mancilha, I. M. (2007). Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*, 68(3), 587–597.

Selma, M. V., Romo-Vaquero, M., García-Villalba, R., González-Sarrías, A., Tomás-Barberán, F. A., & Espín, J. C. (2016). The human gut microbial ecology associated with overweight and obesity determines ellagic acid metabolism. *Food & function*.

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.