



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

“Desarrollo de una bebida Cold Brew con potencial funcional, a partir de dos subproductos de café *Coffea arabica* L. (pulpa y café de desmanche)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para
obtener el grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Presenta

LBT. Lady Laura Rosales Cueto

Dirigida por:

Dra. Rocio Campos Vega

Querétaro, Qro, Noviembre 2023.



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Desarrollo de una bebida Cold Brew con potencial funcional, a partir de dos subproductos de café *Coffea arabica* L. (pulpa y café de desmanche).

por

Lady Laura Rosales Cueto

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-143232



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

“Desarrollo de una bebida Cold Brew con potencial funcional, a partir de dos subproductos de café Coffea arabica L. (pulpa y café de desmanche)”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

Presenta:

LBT. Lady Laura Rosales Cueto

Dirigido Por:

Dra. Rocio Campos Vega

Dra. Rocio Campos Vega

Presidenta

Firma

Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez

Secretaria

Firma

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz

Vocal

Firma

Dra. Dulce María Rivera Pastrana

Suplente

Firma

Dra. Sofía María Arvizu Medrano

Suplente

Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Noviembre 2023
México

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico brindado durante la realización de este proyecto.

A la **Universidad Autónoma de Querétaro** por el espacio brindado y por la oportunidad de seguir creciendo profesionalmente.

A la **Dra. Rocio Campos Vega** por creer en mí, por escucharme, por tenerme paciencia, por darme la oportunidad de aprender de ella y por todo el apoyo.

A la **Dra. Ana Angélica Feregrino Pérez**, por sus valiosas aportaciones al proyecto.

A la **Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz** por el conocimiento compartido, por las palabras de aliento y por el apoyo.

A la **Dra. Dulce María Rivera Pastrana** por la retroalimentación y contribuciones al proyecto.

A la **Dra. Sofía María Arvizu Medrano** por la motivación, los consejos y por las valiosas aportaciones al proyecto.

Al **Dr. Juan Ramiro Pacheco Aguilar** por su tiempo en las tutorías, por estar al pendiente de mis avances, por los consejos y la motivación.

Al **Dr. Sergio de Jesús Romero Gómez** por siempre animarme, por creer en mi y por sus consejos.

A mis compañeras de laboratorio, que se convirtieron en grandes amigas, por escucharme, por su amistad, por su apoyo, por la convivencia y por enseñarme. **Dafne, Yessi, Kass, Karen** gracias.

A **mi mamá, mi papá y mis hermanas** por su apoyo incondicional. A mis hijas **Sofía y Fernanda** por la paciencia, por su esfuerzo y por sus sonrisas. A **Aldo** por motivarme a retomar mis estudios y por apoyarme incondicionalmente.

CONTENIDO

CONTENIDO.....	I
ÍNDICE DE TABLAS.....	VI
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	XII
I. ANTECEDENTES.....	1
I.1. Alimentos nutraceuticos y funcionales.....	1
I.1.1 Definiciones.....	1
I.1.2 Desarrollo de alimentos y bebidas funcionales.....	2
I.1.3 Valor del mercado.....	3
I.1.4 Producción industrial viable.....	4
I.1.5 Producción sustentable y economía circular.....	5
I.1.6 Tendencias en el mercado (consumo y producción).....	6
I.1.7 Café de especialidad.....	7
I.1.8 Bebidas “Cold Brew”.....	9
I.1.8.1 Método de preparación.....	10
I.2. Importancia del café en el mundo.....	10
I.2.1 Planta de café.....	11
I.2.2 Fruto.....	12
I.3. Procesos para la obtención del café.....	13
I.3.1 Beneficio en seco.....	14
I.3.2 Beneficio en húmedo.....	14
I.4. Subproductos del café.....	15
I.4.1 Café de desmanche.....	17
I.4.1.1 Composición química del café de desmanche.....	17
I.4.1.2 Composición nutraceutica del café de desmanche.....	19

I.4.1.3	Aprovechamiento del café de desmanche	20
I.4.2	Pulpa.....	21
I.4.2.1	Composición química de la pulpa.....	21
I.4.2.2	Composición nutracéutica de la pulpa.....	23
I.4.3	Aprovechamiento de la pulpa	24
I.5.	Revalorización de los subproductos de la industria del café.....	24
I.6.	Compuestos bioactivos del café como ingredientes para el desarrollo de alimentos y bebidas funcionales.....	26
I.6.1	Efecto en las emociones	28
I.6.2	Efecto en el estado de ánimo	29
I.6.3	Efecto en la vitalidad	32
I.6.4	Efecto en la ansiedad.....	33
II.	JUSTIFICACIÓN	35
III.	OBJETIVOS.....	36
III.1.	General.....	36
III.2.	Específicos	36
IV.	METODOLOGÍA.....	37
IV.1.	Materiales.....	37
IV.1.1	Obtención del café de desmanche y la pulpa.	37
IV.2.	Métodos.....	37
IV.2.1	Obtención de la harina de pulpa de café.....	37
IV.2.2	Composición química	37
IV.2.2.1	Determinación de proteína.....	37
IV.2.2.2	Determinación de cenizas.....	38
IV.2.2.3	Determinación de humedad.....	39
IV.2.2.4	Determinación de lípidos.....	39
IV.2.2.5	Carbohidratos	40
IV.2.2.6	Fibra insoluble	40
IV.2.2.7	Fibra soluble	40

IV.3. Composición nutraceútica.....	41
IV.3.1 Obtención de extracto etanólico	41
IV.3.2 Cuantificación de fenoles totales	41
IV.3.3 Cuantificación de taninos condensados	42
IV.3.4 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD.....	42
IV.3.5 Flavonoides	42
IV.3.6 Antocianinas totales	43
IV.3.7 Melanoidinas.....	43
IV.3.8 Cuantificación de trigonelina, cafeína y ácidos clorogénicos por extracción con QuEChERS.....	44
IV.4. Determinación de la capacidad antioxidante	44
IV.4.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH.....	44
IV.4.2 Capacidad antioxidante por el método ABTS	45
IV.5. Diseño de experimental para la formulación base de la bebida.....	45
IV.6. Elaboración de “Cold Brew”	46
IV.7. Análisis microbiológico del “Cold Brew”	46
IV.8. Estudio de intervención.....	46
IV.8.1 Reclutamiento de participantes.....	46
IV.8.2 Criterios de Inclusión.....	47
IV.8.3 Criterios de exclusión	47
IV.8.4 Criterios de eliminación	47
IV.9. Diseño.....	48
IV.9.1 Tratamientos.....	49
IV.9.2 Evaluaciones de biomarcadores.....	49
IV.9.2.1 Tomas de muestras biológicas	49
IV.9.2.2 Obtención de plasma humano	50
IV.9.2.3 Determinación de capacidad antioxidante total en plasma humano (ORAC)	50
IV.9.3 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD	51
IV.9.3.4 Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos.....	51
IV.9.4 Herramientas de evaluación de estados de ánimo	51

IV.9.4.1	Evaluación del estado emocional	51
IV.9.4.2	Intensidad de las emociones	52
IV.9.4.3	Cuestionario de perfil del estado de ánimo POMS	52
IV.9.4.4	Medición del estado de ansiedad	53
IV.9.4.5	Escala de vitalidad	53
IV.9.4.6	Escala de estados de ánimo transitorios.....	54
IV.9.5	Evaluaciones fisiológicas	54
IV.9.5.1	Medición de la presión arterial y pulso	54
V.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	55
VI.	RESULTADOS	56
VI.1.	Composición proximal de la pulpa de café y el café de desmanche	56
VI.2.	Capacidad antioxidante de la pulpa de café y el café de desmanche.	57
VI.3.	Composición nutracéutica de la pulpa y el café de desmanche.	58
VI.4.	Diseño de las formulaciones para la elaboración de las bebidas	61
VI.5.	Caracterización de las bebidas Cold Brew	62
VI.6.	Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH para bebidas Cold Brew	64
VI.7.	Perfil fenólico y de metilxantinas para las bebidas	65
VI.8.	Características fisicoquímicas (pH, °Brix y Sólidos Disueltos Totales) para las bebidas	67
VI.9.	Criterios de elegibilidad para la selección de bebida Cold Brew.....	68
VI.10.	Calidad microbiológica para la bebida Cold Brew	69
VI.11.	Evaluación del potencial funcional : Descripción del grupo de estudio.....	70
VI.12.	Efecto de las bebidas sobre respuestas fisiológicas (presión arterial y pulso) 71	
VI.13.	Efecto del consumo de bebidas en las emociones.....	75
VI.14.	Efecto del consumo de las bebidas sobre la vitalidad	89
VI.15.	Biomarcadores y actividad antioxidante asociados a la ingesta de bebidas Cold Brew	92

VII. CONCLUSIONES.....	97
VIII. REFERENCIAS.....	98
ANEXOS	116

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Especificaciones del café de especialidad (NMX-F-177-SCFI-2009)	8
Tabla 2 Composición química de los granos de café verde.	18
Tabla 3 Características químicas de la pulpa de café de la especie <i>C. arabica</i>	21
Tabla 4 Composición mineral de la pulpa de café de la especie <i>Coffea arabica</i>	22
Tabla 5 Principales usos de los subproductos de café en los alimentos.	25
Tabla 6 Composición proximal de la pulpa de café y el café de desmanche en base húmeda.	56
Tabla 7 Capacidad antioxidante y porcentaje de inhibición de la pulpa y el café de desmanche.....	58
Tabla 8 Composición nutracéutica de la pulpa de café y el café de desmanche. ...	59
Tabla 9 Proporciones de pupa y café de desmanche molidos para las mezclas iniciales.....	62
Tabla 10 Composición nutracéutica de las bebidas Cold Brew a partir las mezclas de café y pulpa.....	63
Tabla 11 Capacidad antioxidante evaluada mediante los métodos de ABTS y DPPH para las mezclas de las bebidas Cold Brew	64
Tabla 12 Compuestos fenólicos y metilxantinas identificados por HPLC en las bebidas Cold Brew.....	66
Tabla 13 Características físicas de las bebidas.....	67
Tabla 14 Análisis microbiológicos de la bebida Cold Brew.....	69
Tabla 15 Identificación de compuestos fenólicos en plasma, durante el ensayo clínico.	93

INDICE DE FÍGURAS

Figura 1 Sistema propuesto para autorizar un alimento funcional,	3
Figura 2 Cafetos <i>Coffea arabica</i>	11
Figura 4 Diagrama general del beneficio húmedo y sus subproductos.	15
Figura 5 Productos y subproductos de cada etapa del procesamiento del café	16
Figura 6 Arcoíris emocional	29
Figura 7 Los tres niveles del estado mental emocional: temperamento, estado de ánimo y emociones.	30
Figura 8 Descripción de la población de estudio.	70
Figura 9 Efecto del consumo de bebidas (Cold Brew CB1 y placebo) sobre el pulso, en tres diferentes tiempos.	72
Figura 10 Efecto del consumo de bebidas (Cold Brew CB1 y placebo) sobre la presión arterial, en tres diferentes tiempos.....	73
Figura 11 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Tristeza/depresión	76
Figura 12 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Ansiedad, en diferentes tiempos, para dos intervenciones en las que se ingirió Cold Brew o placebo.....	77
Figura 13 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Ira/hostilidad, en diferentes tiempos, para dos intervenciones en las que se ingirió Cold Brew o placebo.....	78
Figura 18. Estados de ánimo transitorios después de 2 horas de la ingesta de la bebida (Cold Brew o placebo) respecto al estado basal.	85
Figura 19. Estados de ánimo transitorios después de 5 horas de la ingesta de la bebida (Cold Brew o placebo) respecto al estado basal.	86

Figura 21. Efecto del consumo de placebo y bebida Cold Brew en la sensación subjetiva de vitalidad a las 5 horas post ingesta.	90
Figura 22. Efecto del consumo de placebo y bebida Cold Brew en la sensación subjetiva de vitalidad a las 5 horas post ingesta.	91
Figura 23. Actividad antioxidante en plasma, posterior al a intervención con placebo o Cold Brew, evaluado por ORAC.....	95

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DEL ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.



Lady Laura Rosales Cueto

RESUMEN

Uno de los subproductos del procesamiento del café que menos se utiliza es la pulpa. El café defectuoso o de desmanche (grano descartado como café especial), y la pulpa presentan dos compuestos de gran interés: la cafeína y los ácidos clorogénicos, por sus efectos en el estado de alerta, de ánimo y en las emociones. Otros compuestos bioactivos como las melanoidinas, las antocianinas, los taninos y los flavonoides también han mostrado un efecto neuroprotector debido a su capacidad antiinflamatoria y antioxidante. Este estudio tuvo como objetivo desarrollar una base para una bebida “Cold Brew” a partir de pulpa de café y café defectuoso con potencial funcional para mejorar el estado de ánimo, las emociones, la vitalidad y la ansiedad. En primer lugar, se evaluó la composición química y nutracéutica, y la capacidad antioxidante de la pulpa de café y del café. En segundo lugar, se utilizaron tres mezclas de café y pulpa CB1, CB2 y CB3 (proporción 1 café : 2 pulpa, 1 café:1 pulpa, 2 café :1 pulpa, respectivamente) para preparar bebidas Cold Brew. El Cold Brew se preparó por inmersión con una relación de 1:10 p/v (mezcla/agua potable) durante 7 h a 4°C. La bebida CB1 (1:2) fue la que se utilizó en el ensayo clínico, ya que tuvo mayor concentración de compuestos fenólicos ($181.5 \pm 0,0$ mg GAE/ml), flavonoides (39.5 ± 2.8 mg Eq. rutina/ml), taninos (2.1 ± 0.0 mg Eq. (+)- catequina), antocianinas (9.4 ± 0.0 mg cianidina-3-glucósido/ml), melanoidinas (27.2 mg Eq. melanoidinas/ml), metilxantinas (cafeína 0.4 mg/ml, trigonelina 1.2 mg/ml), un perfil fenólico con 181.6 μ g /ml de ácido clorogénico y otros ácidos fenólicos (cafeico, cumárico, ferúlico, gálico), flavonoides (catequina, epicatequina, rutina) y mayor capacidad antioxidante (ABTS 29.4 mmol TE/L, DPPH 48.3 mmol TE/L). El consumo de la bebida Cold Brew CB1 en el ensayo clínico piloto mostró efectos en la mejora del estado de ánimo, el pulso y la presión arterial, estos efectos pueden estar asociados a la ingesta de los compuestos bioactivos presentes (ácidos fenólicos, flavonoides, metilxantinas y melanoidinas) en la bebida. A su vez, estos efectos coinciden con la identificación de biomarcadores (fenoles en plasma) presentes únicamente cuando se consumió la bebida.

(**Palabras clave:** Antioxidantes, pulpa de café, café de desmanche, Cold Brew, estado de ánimo).

ABSTRACT

Coffee pulp is by-products of coffee processing of the most underutilized. Defective coffee (beans discarded as specialty coffee) and pulp present two compounds of great interest: caffeine and chlorogenic acids, both related to mood, alertness, and emotions. Other bioactive compounds such as melanoidins, anthocyanins, tannins, and flavonoids have also shown a neuroprotective effect due to their anti-inflammatory and antioxidant capacity. In addition to the physiological benefits, drinking those compounds generates a sensory experience that enhances emotions and mood. This study aims to develop a base for a “Cold Brew” drink from coffee pulp and defective coffee with the functional potential to improve mood, emotions, vitality, and anxiety. First, the chemical and nutraceutical composition, and antioxidant capacity of coffee pulp and coffee were evaluated. Second, three mixes of coffee and pulp CB1, CB2, and CB3 (1:2, 1:1, 2:1 ratio, respectively) were used to prepare Cold Brew beverages. The Cold Brew was prepared for immersion with a ratio of 1:10 w/v (mix/potable water) for 7 h at 4°C. The beverage CB1 (1:2) has a higher concentration of phenolic compounds (0.9 ± 0.0 mg GAE/ml), flavonoids (39.5 ± 2.8 mg eq. rutin/ml), tannins (2.1 ± 0.0 mg eq. (+)-catechin), anthocyanins (9.4 ± 0.0 mg cyanidin-3-glucoside/ml), melanoidins (27.2mg eq. melanoidins/ml), methylxanthines (caffeine 0.4 mg/ml, trigonelline 1.2 mg/ml), and phenolic profile with 181.6 μ g/ml of chlorogenic acid and other phenolic acids (caffeic, coumaric, ferulic, gallic), flavonoids (catechin, epicatechin, rutin) and higher antioxidant capacity (ABTS 29.4 mmol TE/L, DPPH 48.3 mmol TE/L). The content of bioactive compounds found suggests that the beverage CB1 could have functional potential in emotions and mood.

(Keys words: antioxidants, coffee pulp, stain removal coffee, bioactive compounds, Cold Brew, caffeine, chlorogenic acids, mood, vitality, anxiety)

INTRODUCCIÓN

La bebida preparada a partir del grano de café tostado y molido (CTM), es la más consumida en el mundo. Esto se debe a su efecto psicoestimulante, su aroma, su sabor y sus beneficios a la salud (Socała *et al.*, 2021). El procesamiento para obtenerla, va desde la cosecha del fruto hasta la infusión del CTM. Cada kilogramo de CTM genera 1.5 veces su peso en subproductos. El principal subproducto del procesamiento húmedo es la pulpa de café (60% del fruto fresco), en base seca representa el 29% del peso de la cereza (Klingel *et al.*, 2020) y recientemente la demanda por los cafés de especialidad generan como subproducto los granos de desmanche. El café de desmanche es aquel que no cumple las especificaciones de calidad (Muñoz-Rodríguez, *et al.*, 2020).

Tanto la pulpa de café como el café de desmanche presentan compuestos bioactivos de interés. Los compuestos fenólicos, como los ácidos clorogénicos, las antocianinas, las metilxantinas como la cafeína y las melanoidinas presentes en ambos subproductos, han demostrado *in vivo* e *in vitro* beneficios a la salud (de Melo Pereira *et al.*, 2020a; Khochapong *et al.*, 2021; Socała *et al.*, 2021b; Lee *et al.*, 2023).

La valorización de los subproductos agroindustriales, como una fuente de compuestos bioactivos, es una alternativa para el desarrollo de bebidas con beneficios en la mejora del estado de ánimo (Heeger *et al.*, 2017; Klingel *et al.*, 2020). Las bebidas elaboradas por el método de extracción en frío “Cold Brew” son muy populares debido a la experiencia sensorial que le dan al consumidor (Asiah *et al.*, 2019; Claassen *et al.*, 2021). Este método permitiría la extracción de compuestos bioactivos de la pulpa y del café de desmanche, manteniendo la experiencia sensorial.

El estrés es parte de la vida diaria, sin embargo, su manifestación continua tiene efectos a nivel metabólico, emocional y anímico (Martin *et al.*, 2012). Las emociones, el estado de ánimo y el desempeño cognitivo se ven afectados por la inflamación, la oxidación y la falta de nutrientes, consecuencia de una alimentación deficiente y situaciones de estrés (Taylor & Holscher, 2020). El estado de ánimo es el estado

emocional predominante en un periodo de tiempo, las alteraciones en él son los trastornos mentales más frecuentes (Ordóñez *et al.*, 2017).

Los antioxidantes de los alimentos, protegen contra los trastornos mentales, incluidos los trastornos de ansiedad y la depresión (Lee *et al.*, 2020). Por otro lado, la cafeína es un psicoestimulante con efecto en el estado de alerta, la energía y la neuroprotección (Haskell-Ramsay *et al.*, 2018). Por tanto, sería probable que los desequilibrios nutricionales puedan afectar al estado de ánimo y a las funciones neurológicas.

Por lo que el objetivo de este trabajo fue desarrollar una base para bebida “Cold Brew” con potencial funcional en la mejora del estado de ánimo, la ansiedad, la vitalidad y los estados de ánimo transitorios, a partir de la pulpa de café y el café de desmanche obtenidos como subproductos de la producción de café.

I. ANTECEDENTES

I.1. Alimentos nutraceuticos y funcionales

En la década de 1980 se introdujo en Japón el término de alimento funcional donde se estudiaba la relación entre la nutrición, la satisfacción sensorial, la suplementación y la influencia sobre el sistema fisiológico debido a que el alimento funcional posee algunos componentes que mejoran el estado de salud y reducen el riesgo de enfermedad (Cádiz-Gurrea, 2020). Debido a la regulación intrínseca y las aplicaciones de diferentes usos en los países, los significados y definiciones mundiales de este término aún no están claros (Granato *et al.*, 2020).

I.1.1 Definiciones

Los alimentos funcionales son definidos por el Centro de Alimentos Funcionales de Estados Unidos como: "alimentos naturales o procesados que contienen compuestos bioactivos en cantidades definidas; se consumen para promover la salud, mejorar los síntomas y reducir el riesgo de enfermedades, y han sido probados clínicamente y analizando biomarcadores específicos" (Martirosyan *et al.*, 2021).

Granato *et al.* (2017) definieron los alimentos funcionales como alimentos naturales o procesados industrialmente que, cuando se consumen regularmente a niveles eficaces dentro de una dieta diversa, tienen efectos potencialmente positivos para la salud más allá de la nutrición básica. Para hacer una declaración sobre las propiedades saludables de algún alimento, éste debió someterse ensayos clínicos para establecer la eficacia funcional. Esta definición limita el uso generalizado del término funcional, de modo que sin un ensayo clínico adecuado y evidencia experimental sustancial de seguridad (es decir, toxicología) y funcionalidad, ningún alimento fresco, sin procesar o procesado puede considerarse funcional (Granato *et al.*, 2020)

Los nutraceuticos son alimentos o parte de los alimentos que además de su contenido nutricional aporta beneficios a la salud (Santini *et al.*, 2017). También se conocen como sustancias bioactivas que están presentes en alimentos comunes o

fuentes de origen botánico, que pueden entregarse en forma de suplementos dietéticos o alimentos funcionales, proporcionando efectos benéficos adicionales a los componentes nutricionales esenciales. Con efectos previamente establecidos o potenciales, los nutraceúticos son bien conocidos por su papel en el tratamiento y prevención de enfermedades, propiedades antienvjecimiento y prevención de malignidad (AlAli *et al.*, 2021).

I.1.2 Desarrollo de alimentos y bebidas funcionales

El primer dilema que enfrenta el desarrollo de los alimentos/bebidas funcionales en México es que no existe un reconocimiento gubernamental a este término, por lo tanto, no hay una legislación que lo regule y apruebe. Algunos países, como Japón, han formado sistemas reguladores de alimentos funcionales para la confianza y la seguridad del público. En Estados Unidos se ha propuesto un estricto sistema de 15 pasos basados en el sistema Japonés y sumados a los requisitos de la agencia gubernamental de Administración de Drogas y Alimentos FDA (por sus siglas en ingles) para autorizar un alimento funcional para el mercado nacional (Martirosyan, 2021). El sistema contempla lo siguiente:

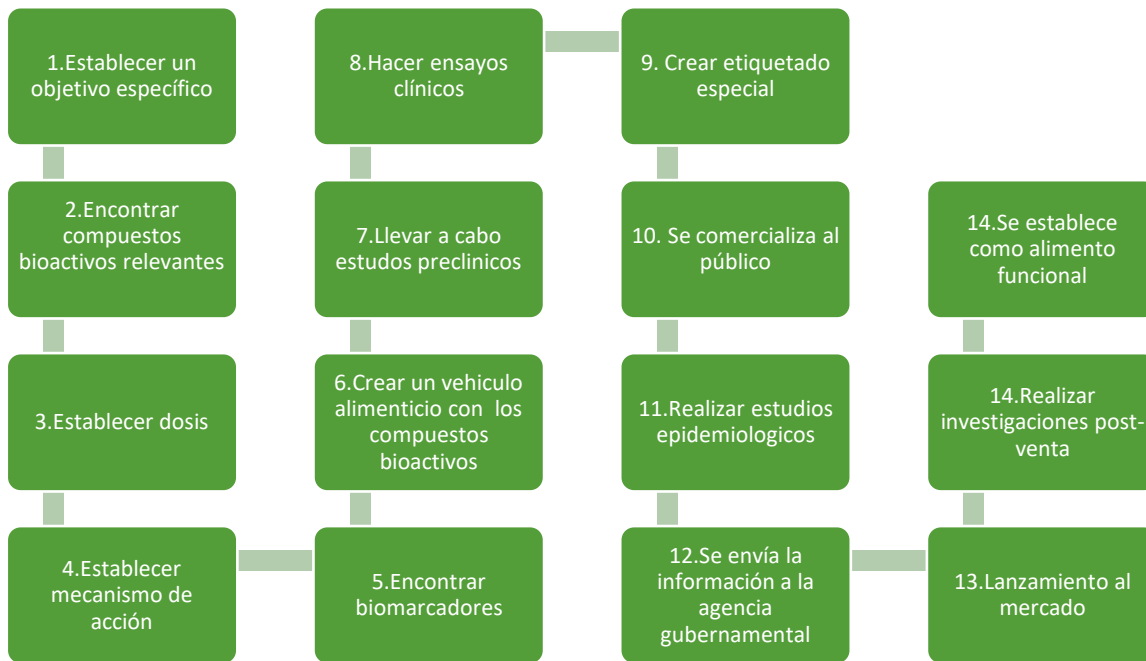


Figura 1 Sistema propuesto para autorizar un alimento funcional, (adaptado de (Martirosyan, 2021)).

I.1.3 Valor del mercado

A nivel mundial los alimentos funcionales tienen un lucrativo nicho de mercado, en países como Japón, Estados Unidos y regiones como la Unión Europea y Asia Pacífico se estima que la producción siga en aumento. En 2020 superó los 300 mil millones de dólares, con un crecimiento anual del 8.5 %. Los productos alimenticios funcionales más comunes en el mercado incluyen yogur para mejorar salud digestiva, cereales para enfermedad celiaca, margarinas y mantequillas que mejoran el metabolismo del colesterol, barras y bebidas energéticas o proteicas para la saciedad (Granato, 2020). El método de extracción en frío (“Cold Brew”) se ha establecido en el mercado americano y mostró un aumento del 580% en las ventas del 2011 al 2016 (Claassen *et al.*, 2021).

I.1.4 Producción industrial viable

Durante muchos años la producción capitalista buscaba producir lo máximo posible, aumentar las ganancias tanto como fuera posible, sin conciencia de los recursos naturales, la explotación laboral y la evasión de impuestos. En la actualidad hay una transición hacia la producción sustentable. El desarrollo de la tecnología en la producción de alimentos enfrenta un reto muy importante, es necesario satisfacer las tendencias de consumo, producir alimentos con mejores propiedades nutrimentales, funcionales, organolépticas, garantizar su inocuidad si no que es necesario que se realicen en un marco de economía circular dónde se disminuya o elimine la generación de residuos, se respete el medio ambiente y se garanticen los derechos humanos de las personas que trabajan a lo largo de la cadena de valor (Santos, 2011). Otro reto importante en la innovación es proteger el desarrollo tecnológico bajo algún esquema de protección intelectual. Los modelos de patente y propiedad intelectual pueden ser de utilidad en estos casos.

De acuerdo a la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, el artículo 48 dice que serán patentables las invenciones en todos los campos de la tecnología que sean nuevas, resultado de una actividad inventiva y susceptibles de aplicación industrial, en los términos de esta Ley (Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, 2020).

El artículo 83 refiere que se considera secreto industrial a toda información de aplicación industrial o comercial que guarde una persona física o moral con carácter confidencial, que le signifique obtener o mantener una ventaja competitiva o económica frente a terceros en la realización de actividades económicas y respecto de la cual haya adoptado los medios o sistemas suficientes para preservar su confidencialidad y el acceso restringido a la misma (Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, 2020).

I.1.5 Producción sustentable y economía circular

Uno de cada cinco estadounidenses informa que ha pensado mucho en si los alimentos y bebidas que compran o consumen se producen de manera sustentable, y el cuarenta y cuatro por ciento ha pensado un poco en el tema. Cuando se les pregunta qué acciones realizan con regularidad, alrededor de un tercio (36 %) dice que compra alimentos y bebidas porque se anuncian como "naturales" en la etiqueta. Casi una cuarta parte de los estadounidenses informa que compra alimentos y bebidas porque se anuncian como "orgánicos" en la etiqueta (27 %). Menos informan que compran alimentos o bebidas con regularidad porque están en envases reciclados y / o reciclables (18 %), y compran alimentos y bebidas porque se anuncian como "ecológicos" o "amigables con el ambiente" en la etiqueta (17 %). Estos datos muestran que la sustentabilidad en la producción de alimentos es un tema de importancia para los consumidores. Es un hecho cada vez más constado que los nuevos hábitos del consumidor por la salud ocupan un lugar central, de manera que la industria alimentaria necesita renovar y promover este lineal en constante evolución (IFIC, 2013).

La cantidad de consumidores que están de acuerdo en pagar un mejor precio por aquellos servicios y productos que son sostenibles, de acuerdo a *The Nielsen Company* (2019), aumentó de 45 % a 55 % de 2011 a 2014, respectivamente. Las compañías que generan impacto social y ambiental, son más atractivas para los consumidores, ya que ellos están concientes de que estas practicas generan un mayor valor al producto y por tanto un mayor precio por poder disfrutar de un productos de calidad, sostenibles y que además le confiera beneficios a la salud.

La economía circular juega un papel fundamental en el camino hacia un desarrollo más sustentable y el manejo inteligente de la gestión de residuos. Los desechos agroindustriales de plantas ofrecen una amplia gama de subproductos para su revalorización, conteniendo moléculas de alto valor agregado, tal es el caso de los metabolitos secundarios (Chiocchio *et al.*, 2021). Por lo que las estrategias industriales han apuntado a la revalorización de estos subproductos para recuperar

sustancias de valor agregado que podrían ser aprovechadas en un uso posterior. Esta práctica está en sintonía con lo propuesto por la Organización de las Naciones Unidas como los principales objetivos de desarrollo sostenible. Adicionalmente, las técnicas para su extracción deben ser también benignas para cumplir con el marco sostenible de la revalorización de subproductos. En este sentido, las técnicas avanzadas de extracción de compuestos bioactivos, surgidas en los últimos años, han jugado un papel clave reduciendo el tiempo de extracción, la cantidad de solvente requerida y utilizando solventes amigables con el medio ambiente sin afectar la eficiencia o selectividad fomentando su consumo y la producción responsable (Cádiz-Gurrea *et al.*, 2020).

1.1.6 Tendencias en el mercado (consumo y producción)

En los últimos años la industria de alimentos y bebidas está enfocada en la obtención de alimentos ingredientes funcionales que sean de origen natural, siendo esta tendencia el motor de innovación en el mercado. Ligado a la innovación está el reto de alimentar a una población creciente, de forma sostenible. Un consumidor, además de buscar ingredientes más saludables, naturales y sostenibles, mantiene altas las exigencias en cuanto a sabor y el disfrute hedónico que los alimentos le aportan (The Food Tech, 2018). El consumo de las bebidas refrescantes carbonatadas y las bebidas azucaradas, ha disminuido, y a su vez esto ha favoreciendo el aumento de productos orgánicos y naturales, evitando los colorantes, conservadores y aromas artificiales. Estas tendencias han favorecido la consolidación de las llamadas bebidas listas para consumir (RTD, por sus siglas en inglés), por tratarse de bebidas funcionales que adquieren el atributo de energéticas gracias al contenido natural de cafeína del café, sin alcohol, sin azúcares ni edulcorantes y naturales (Castillo, 2017), atributos que le permiten ser socialmente más aceptadas que los refrescos. En efecto, en su informe 2018, la Asociación Nacional del Café reporta que mientras la proporción de consumidores de café en Estados Unidos se ubicó en 64 %, el nivel más alto desde 2012, los de refrescos cayeron 15 % entre 2012 y 2018, para ubicarse en 35 % (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019). El éxito de la categoría RTD estriba, en gran medida, en su adaptación al modo de vida actual, dado que se comercializa en

formato On The Go, es decir, fácil de tomar en cualquier parte, de ahí que los clientes sean fundamentalmente hombres y mujeres jóvenes (por encima de los 25 años), con una vida muy activa, urbanos y con poco tiempo libre (Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019).

Las nuevas tendencias nutricionales y la necesidad de atender las exigencias sociales y de salud en alza, han impulsado el cada vez más demandado concepto de los alimentos funcionales y nutraceúticos que, además de sus funciones nutritivas generales, presentan determinadas propiedades para el mantenimiento de la salud (ITC, 2012). El potencial funcional de los alimentos tradicionales y el desarrollo de nuevos productos con compuestos nutraceuticos, son una oportunidad para la industria de alimentos y bebidas, proporcionando soluciones en salud y nutrición. Las empresas de alimentación han de ofertar alimentos funcionales que fortalezcan el sistema inmunológico y que se adapten a las preferencias y hábitos de consumo de la población senior, es decir, que sean fáciles de masticar, digerir y con texturas agradables (The Food Tech, 2018) Muñoz-Rodríguez *et al.*, 2019 y Jiménez, 2019). El café preparado por extracción en frío, popularmente llamado “Cold Brew” es tendencia en la industria de las bebidas (Claassen *et al.*, 2021).

I.1.7 Café de especialidad

El término de “café de especialidad” o café especial fue acuñado por primera vez en 1974 por Erna Knutset, quien lo utilizó en la revista Tea & Coffee Trade Journal para referirse a unos granos de café exclusivos que habían sido cultivados en condiciones climatológicas idóneas y resaltaban por su aroma y sabor únicos (Stack, 2018). Para que un café pueda considerarse café especial, deben ser granos de la variedad arábica y tener una puntuación arriba de 80 sobre 100. Sólo un Q Grader o catador certificado puede otorgar este puntaje, basándose en los patrones de la SCA (Specialty Coffee Association). La calidad se evalúa puntuando 10 características: Se valora la calidad en función de 10 atributos: acidez, aroma (fragancia), cuerpo, sabor, dulzura, retrogusto, equilibrio, taza limpia y uniformidad en la bebida. Sin embargo, la definición de esta categoría es muy difusa y actualmente suelen

emplearse hasta cuatro diferentes enfoques, a saber: i) la calidad en taza, ii) las prácticas de producción, iii) percepción del consumidor y, iv) percepción del consumidor, más la disposición a pagar precios superiores (Muñoz-Rodríguez, *et al.*, 2020). En México los requisitos para el café de especialidad se establecen en la Norma mexicana NMX-F-177-SCFI-2009.

La norma mexicana NMX-F-177-SCFI-2009 dicta la definición, clasificación y método de evaluación, que se utiliza para el café verde de especialidad. El método de beneficiado o de producción por el cual se obtenga el café oro verde de especialidad es indiferente para la ejecución de esta norma, así mismo puede aplicarse a otros mercados (Internacionales, cafés de origen, etcetera) previo acuerdo entre comprador y vendedor. Las especificaciones de calidad indicadas en la **Tabla 1**, son las que debe cumplir el café en oro verde para que se considere café de especialidad.

Tabla 1 Especificaciones del café de especialidad (NMX-F-177-SCFI-2009)

Parámetro	Grado Premio	Grado Especialidad	Método de prueba
Defectos totales en 350g	Hasta 8	Hasta 5	Véase 9.1
Defectos categoría 1 en 350 g	Sin especificación	Ninguno	Véase 9.1
Uniformidad de tamaño	Máximo 5% arriba o abajo del tamaño acordado entre el comprador y vendedor		NMX-F-158-SCFI-2008
Humedad	De 10 % a 12 %		NMX-F-176-SCFI-2008
Olor extraño en verde	Ninguno	Ninguno	NMX-F-158-SCFI-2008
Color, para cafés lavados	SP (5 753 C), SP (5 763 C), SP (5 773 C), SP (5 783 C), SP (5 793 C) o SP (5 803 C),	SP (5 753 C), SP (5 763 C), SP (5 773 C) ó SP (5 783 C),	NMX-F-158-SCFI-2008

Color, para cafés no lavados	Sin especificación		
Vanos al tueste en 100 g de café tostado	Hasta 3	Ninguno	Véase 9.2

NMX-F-177-SCFI-2009 .

De acuerdo a las Buenas prácticas para la prevención de los defectos de la calidad del café: fermento, reposado, fenólico y mohoso propuestas por el Fondo Nacional de Café de Colombia (Cenicafé, 2007), los granos defectuosos se pueden originar desde el cultivo, principalmente por plagas como la broca del cafeto. Los defectos en el grano de café se producen generalmente por la falta de estandarización durante el beneficio, ya sea en una sola etapa del procesamiento o como consecuencia de malas prácticas en varias etapas. Los principales criterios para la selección de los granos de especialidad respecto a los de desmanche son:

Granos flojos, decolorados, mordidos por animales, cortados, quemados o sobresecados, perforados por insectos, partidos, malformados, inmaduros, aplastados, flotadores o arrugados.

1.1.8 Bebidas “Cold Brew”

Existen diferentes métodos de extracción para preparar la bebida del café. El método de extracción influye en la composición de la bebida. El método más común es la infusión, donde la bebida se obtiene y consume en caliente. Este método influye en la obtención de aromas característicos (Claassen *et al.*, 2021).

Sin embargo, el método de extracción en frío “Cold Brew” es una tendencia en la industria del café y mostró un aumento del 580% en las ventas. Las propiedades sensoriales en el “Cold Brew” dependen del proceso, sin embargo, éste aún no está estandarizado, como en el caso de los métodos para café caliente (Asiah *et al.*, 2019).

Los parámetros que pueden influir en el proceso son: tipo de grano, tipo de tostado, tamaño del molido, composición del agua, temperatura de extracción, tiempo de extracción, turbulencia, concentración (Fuller & Rao, 2017; Claassen *et al.*, 2021).

I.1.8.1 Método de preparación

Si bien no se ha estandarizado el proceso, la practica recurrente de este método indica que se usa café arábico, con un tueste medio, molido grueso, usando de 50 a 100g por litro de agua a 8°C por 24 horas (Claassen *et al.*, 2021). La extracción consiste en macerar el café con el agua fría, por 24 horas, posteriormente se filtra. Sin embargo, Fuller y Rao (2017), determinaron que la mayor cantidad de cafeína y ácidos clorogénicos se extraen en tiempos cercanos a 400 minutos. El tipo de tueste no mostró diferencias en la extracción de cafeína y ácidos clorogénicos, mientras que el tamaño de molienda si podría influir el tiempo de extracción.

I.2. Importancia del café en el mundo

El café es la bebida farmacológicamente activa más popular en la vida diaria. Siendo la segunda más consumida en el mundo, la primera es el agua. Su consumo se debe a su efecto psicoestimulante, sabor y sus propiedades benéficas para la salud (Socała *et al.*, 2021). En el mercado mundial es el producto básico más valioso, se posiciona en segundo lugar sólo después del petróleo. La mayor parte de los ingresos se deben a la bebida, preparada por la infusión de los granos tostados y molidos. De acuerdo a la “Organización Internacional del Café” (ICO por sus siglas en inglés) se estimó que durante el ciclo 2020/2021 la producción mundial fue de 169 millones de sacos de 60 kg(International Coffee Organization, 2022). Cada saco producido de 60 kg genera 1.5 veces su peso en residuos, es decir en 2021 se generaron casi 300 millones de residuos de café (Echeverria & Nuti, 2017). Los residuos o subproductos generados del procesamiento del café son: las hojas, las flores, la cereza, la pulpa (incluye la piel, la pulpa y el mucílago), el pergamino, los granos de oro verde defectuosos, los jugos del despulpado y el café usado (Echeverria & Nuti, 2017; Klingel *et al.*, 2020).

1.2.1 Planta de café

El cafeto es la planta de la cual se obtiene el café a través de su semilla. Pertenece a la familia de las rubiáceas y su género es *Coffea*, del cual hay tres especies comerciales: *Coffea arabica*, *Coffea Canéphora* y *Coffea liberica* (World Coffee Research, 2022). La primera es la más importante debido a su calidad, valor en el mercado internacional y superficie cultivada, representa el 58.8% de la producción mundial (International Coffee Organization, 2022). En Etiopía (antiguo Yemen) tiene origen esta especie y se cultiva desde hace más de 2000 años. La especie arábica (**Figura 2A**) se caracteriza por ser un arbusto que alcanza hasta 8 metros de altura. Sus hojas son de color verde intenso y sus granos de color rojo o amarillo (**Figura 2B**) cuando maduran (World Coffee Research, 2022).

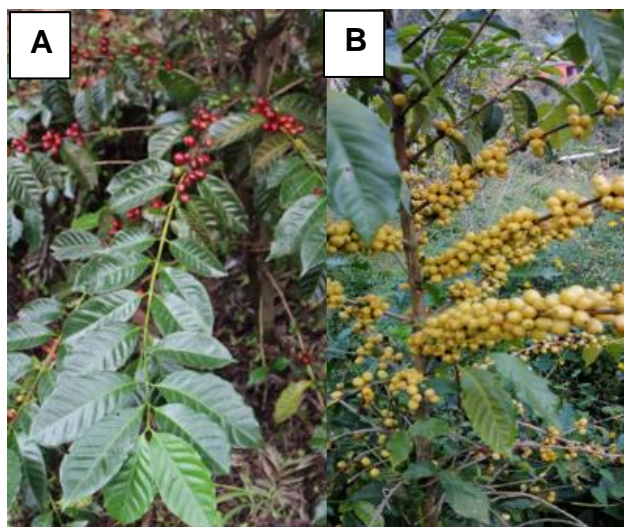


Figura 2 Cafetos *Coffea arabica*, A) variedad Geisha (World Coffee Research, 2019) y B) Bourbon amarillo (fuente propia).

Los granos tostados de café arábica se caracterizan por su sabor dulce y suave, así como una acidez media y balanceada. La taza de excelencias otorgada mayormente a cafés de variedades arábicas. Las variedades más famosas de la especie arábica son Borbón y Typica, aunque en los últimos años la variedad Geisha (**Figura 1A**) ha despertado el interés de los consumidores de café de especialidad

debido a que al cultivarla en alturas mayores a 1300 msnm tiene una calidad excepcional en taza y es conocida por sus delicados aromas florales, de jazmín y de melocotón (World Coffee Research, 2022).

La planta de café es una importante fuente de antioxidantes para la dieta, éstos son aportados principalmente por la bebida, preparada a partir de los granos tostados. Sin embargo, se encuentran distribuidos en toda la planta, las mayores concentraciones están en las hojas, frutos maduros y semillas (Acidri *et al.*, 2020).

1.2.2 Fruto

El fruto está constituido por el grano, el pergamino, la pulpa y la piel como se observa en la **Figura 3** (Klingel *et al.*, 2020). La piel (exocarpio) es de color verde cuando no ha madurado, dependiendo de la especie al madurar los tonos van del amarillo al rojo (De Melo *et al.*, 2019).

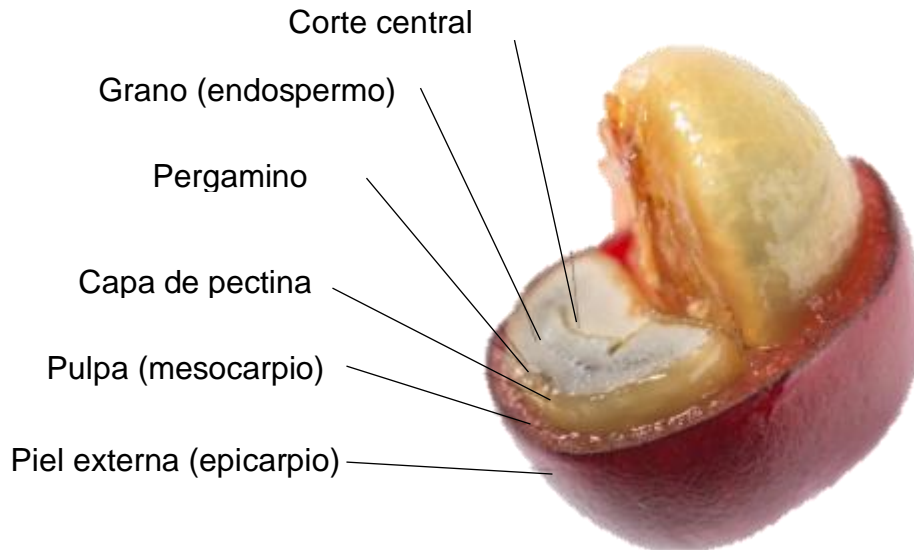


Figura 3 Corte transversal de una cereza de café con sus diferentes capas (Klingel *et al.*, 2020).

Cada cereza tiene dos semillas elipsoidales, cubiertas por una capa de mucilago. Cada una está recubierta por una membrana con el nombre de pergamino o cascarilla de café, que es duro y quebradizo cuando se seca, y el cual rodea individualmente a cada una de las dos fracciones que constituyen un grano (de Melo Pereira *et al.*, 2020). El pergamino, está cubierto por una gruesa capa de células esponjosas que forman la pulpa (Klingel *et al.*, 2020).

El mesocarpio es una pulpa carnosa y fácilmente removible, compuesta principalmente por carbohidratos, como glucosa, fructosa y pectina. La capa de pectina, también conocida como mucílago, contiene proteínas, grasas, minerales lipídicos, taninos, polifenoles y cafeína (de Melo Pereira *et al.*, 2020b). Esta capa tiene un espesor aproximado de 5 mm. Debido a la consistencia viscosa del mucílago, una leve presión sobre el fruto es suficiente para expulsar fuera de él las dos mitades que constituyen el grano (Klingel *et al.*, 2020).

El endocarpio o pergamino es una capa delgada de color amarillento y fácil de triturar, está compuesto principalmente de polisacáridos, como la lignocelulosa (De Melo *et al.*, 2019). La capa que rodea el grano es el tegumento, también llamado piel plateada, está compuesta de celulosa, hemicelulosa, monosacáridos, proteínas y compuestos fenólicos.

I.3. Procesos para la obtención del café

El procesamiento del café inicia con la cosecha de las cerezas maduras para transformarlas en granos de café verde, mediante la eliminación de cascará de café (incluye la piel, la pulpa y el mucílago), esto puede ser por un método (beneficio) en seco, húmedo o ecológico (Figuroa-Hernández *et al.*, 2015). Estos beneficios generan diferentes concentraciones y cantidades de residuos (De Melo *et al.*, 2019).

I.3.1 Beneficio en seco

Consiste en secar al sol (entre 21 y 35 días) los frutos completos, sin quitar la cáscara, la pulpa y el mucílago, (De Melo *et al.*, 2019), para obtener el café bola o capulín. Durante la exposición al sol la pulpa sufre una fermentación que perjudica al grano, pues le hace perder su aroma. Después se mortera para retirar la cáscara, para luego ser clasificado y comercializado (Figuroa-Hernández *et al.*, 2015). El grano se amarillenta y frecuentemente se mancha. Con este beneficio se obtienen los “café naturales”, que se caracterizan por un sabor más astringente. Los productos son de menor calidad debido a que los frutos cosechados tienen diferentes grados de madurez y al efecto de las fermentaciones no controladas durante el secado (Figuroa Hernández *et al.*, 2015).

I.3.2 Beneficio en húmedo

El proceso inicia con la recepción, etapa donde los frutos son recibidos en un tanque lleno de agua para evitar que el fruto se caliente y comience a fermentar (Figuroa Hernández *et al.*, 2015). Se lava para separar las cerezas de baja densidad, las semillas, y remover extraña por diferencia de densidad (De Melo *et al.*, 2019).

Posteriormente pasa al despulpado, donde el grano de café se separa de la pulpa y cascara (Figuroa-Hernández *et al.*, 2015)., este proceso puede ser manual o mecánico. Los frutos inmaduros permanecen intactos debido a la dureza de las capas exteriores y se separan de la cereza despulpada (De Melo *et al.*, 2019). Una vez obtenidos los granos, estos pasan a la fermentación, donde se elimina el mucílago, esta fase dura en promedio 24 horas. Posteriormente se lava para retirar los residuos, de allí el nombre de café lavado.

El secado es la etapa posterior a la remoción, donde se busca bajar la humedad del grano del 52% al 12 %. Obteniendo el café pergamino que pasa por un proceso de morteo o remoción de la cascarilla (pergamino) para obtener como producto café

oro verde y se procede a almacenar (Figuroa-Hernández *et al.*, 2015). En la **Figura 4** se muestra el proceso general del beneficio húmedo.

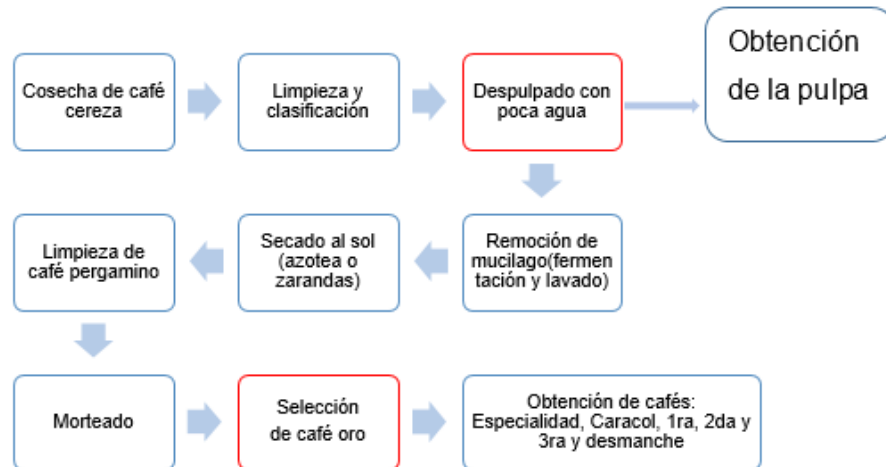


Figura 4 Esquema general del beneficio húmedo y sus subproductos.

La figura en rojo representa los pasos claves para la obtención de la pulpa y los granos de café seleccionados. (Elaboración propia con datos de Figuroa-Hernández *et al.*, 2015).

El beneficiado húmedo tradicional requiere grandes cantidades de agua por lo que se ha desarrollado un beneficio ecológico, que se caracteriza por la ausencia o el reciclado del agua de despulpe, el inmediato lavado posterior al despulpe y la fermentación con un mínimo de agua, esto permite obtener granos de mejor calidad y una pulpa con baja humedad (Figuroa Hernández *et al.*, 2015).

1.4. Subproductos del café

Los subproductos generados del procesamiento de la bebida de café desde la cosecha del fruto hasta la bebida preparada son: las hojas, las flores, la cereza, la

casará de café, pulpa de la cereza (incluye la piel y la pulpa), el pergamino, los granos de oro verde defectuosos, los jugos del despulpado y el café usado. Los procesos y los subproductos se pueden observar en la **Figura 5** (Echeverría & Nuti, 2017; Klingel *et al.*, 2020).

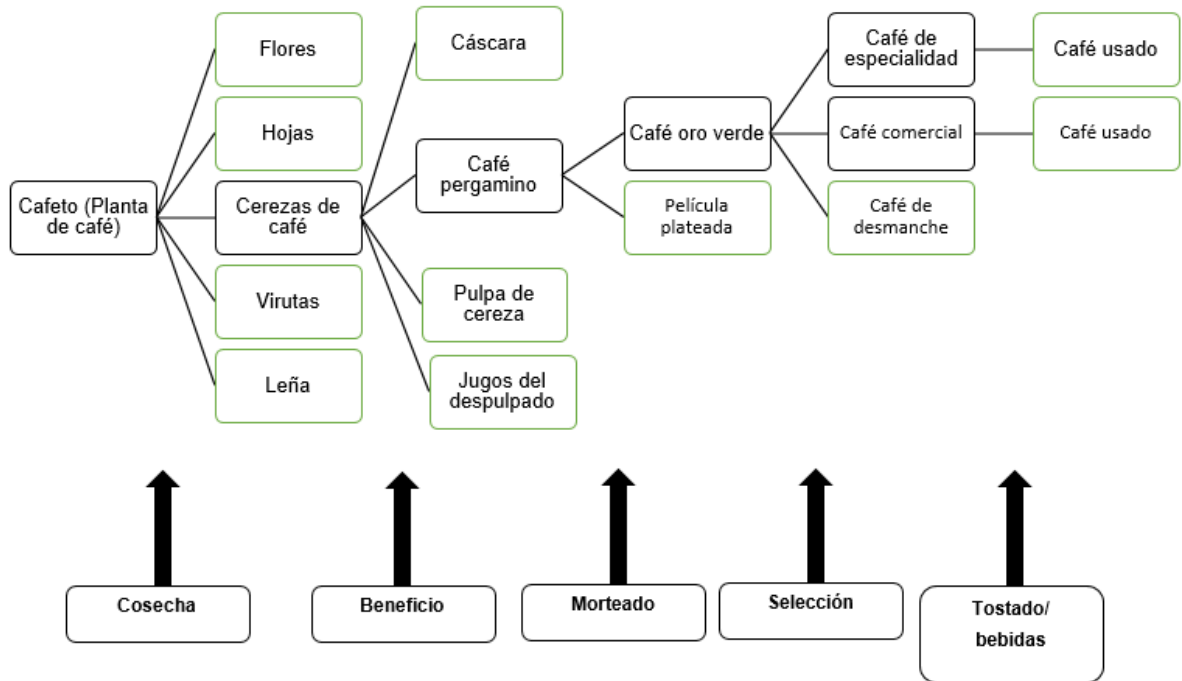


Figura 5 Productos y subproductos de cada etapa del procesamiento del café (los recuadros verdes representan los subproductos de cada parte del proceso). Adaptado de (Klingel *et al.*, 2020).

Después de la cosecha de las cerezas de café, estas toman diferentes vías para producir el café oro verde. En el proceso seco, las cerezas son extendidas inmediatamente después de la cosecha y son secadas. Después la pulpa seca, el pergamino y parte de la piel plateada son removidas con máquinas despulpadoras, este desecho recibe el nombre de cáscara.

El proceso húmedo es mucho más complejo y se puede diferenciar por que consta de 3 etapas clave: 1) Despulpado natural, 2) Semi-lavado y 3) Lavado completo.

Durante el despulpado natural la pulpa de la cereza de café es separada del café pergamino mediante una despulpadora, dejando todo el mucilago adherido a pergamino y secado en el mismo. Durante el semi-lavado se remueve parte del mucilago del pergamino, en el lavado final, se retira prácticamente todo el mucilago restante a través de la “fermentación espontánea”, donde las bacterias, levadura y hongos del ambiente rompen los azúcares del mucilago para producir ácidos y alcoholes dando como resultado un amplio espectro de posibilidades aromáticas y de sabor, un posterior lavado.

Respecto al café usado este es otro tipo de residuo que se genera de la elaboración de la bebida. Las hojas y las flores también se consideran subproductos, ya que se generan a lo largo de la cosecha (Klingel *et al.*, 2020).

I.4.1 Café de desmanche

El grano de café que durante la selección minuciosa realizada para obtener el café de especialidad no cumple las especificaciones que marca la norma mexicana NMX-F-177-SCFI-2009 respecto a tamaño, forma, color y otros defectos se le denomina café de desmanche. Durante mucho tiempo la producción total del café de especialidad era destinado a exportación y el café de desmanche era para consumo nacional. Sin embargo, esto ha cambiado y el consumidor nacional busca cafés de alta calidad como el café de especialidad (Desai *et al.*, 2019).

I.4.1.1 Composición química del café de desmanche

Los granos de café verde se componen principalmente, por polisacáridos insolubles como celulosa y hemicelulosa (aprox. 50 % p/p) (De Melo *et al.*, 2019). Contienen carbohidratos solubles, como la fructosa, glucosa, galactosa y arabinosa, oligosacáridos como la sacarosa (que representan más del 90 % de los oligosacáridos), estaquiosa y rafinosa, polímeros de manosa, galactosa, arabinosa y glucosa. Además, los ácidos alifáticos no volátiles (como el cítrico, ácidos málico y quínico) y ácidos volátiles también están presentes (como los ácidos acéticos, propanoico, butanoico, isovalérico, hexanoico y decanoico) (De Melo *et al.*, 2019).

La fracción lipídica se compone principalmente de triacilgliceroles, esteroides, tocoferoles y diterpenos, comprendiendo estos últimos hasta el 20% de los lípidos totales (De Melo *et al.*, 2019).

Los granos de café verde presentan variaciones en cuanto al porcentaje de su composición química, esta cambiará dependiendo de la variedad y la especie, sin embargo, se conservan las proporciones presentadas en el **Tabla 2** (Socala *et al.*, 2020).

Tabla 2 Composición química de los granos de café verde.

Compuestos			Contenido en peso seco en el café verde (%)
Carbohidratos	Polisacáridos	celulosa, arabinogalactona, galatomanona	60
	Oligosacáridos	estaquiosa, rafinosa	
	Disacáridos	sacarosa	
	Monosacáridos	glucosa, galactosa, arabinosa, fructosa, manosa, manitol, xilosa, ribosa	
Lípidos	Triglicéridos		8-18
	Esteroides	estigmasterol, sitosterol	
	Ácidos grasos con ciclopentanos	linoleico, linolénico, palmítico, esteárico, araquídico, lignocérico	
	Diterpenos	cafestol, kahweol	
	Ceras		
	Tocoferol		
	Fosfáticos		

Proteínas	Aminoácidos	asparaginas, ácido glutámico, alanina, ácido aspártico, lisina	9-16
Minerales			4
Ácidos orgánicos, inorgánicos y ésteres			6-15
	Ácidos clorogénicos		4-14.4
	Ácidos alifáticos y ácido quínico		0.7-2.5
	Otros ácidos inorgánicos y orgánicos		2
Otros compuestos nitrogenados			1-6
	Cafeína		0.9-3.33
	Trigonelina		0.88-3.42
	Ácido nicotínico		2×10^{-6} - 3×10^{-6}

(Socala *et al.*, 2020).

I.4.1.2 Composición nutracéutica del café de desmanche

Los compuestos fenólicos totales varían de 4 a 8.4 % en base seca para el *C. arabica*, la mayoría son derivados de los ACG (Garrett *et al.*, 2016). Los ACG representan hasta el 85.5% del contenido fenólico total en los granos de café verde. Dentro de estos, hay tres isómeros principales: ácido 5-cafeoilquínico (5-ACQ), ácido 4-cafeoilquínico (4-ACQ) y ácido 3-cafeoilquínico (3-ACQ) que representan el 62-69%, 8.5-11.4 % y 4.4–6.8% respectivamente (Hall *et al.*, 2022).

El resto representa solo el 1 % del total de fenoles y comprende compuestos libres simples, volátiles y no volátiles, incluidos los ácidos cafeico, ferúlico, p-cumárico y p-hidroxibenzoico. Estos pueden incluir antocianinas, probablemente derivadas de

residuos de pulpa y piel (cianidinas, pelargonidinas y una peonidina) y lignanos como secoisolariciresinol, lariciresinol, matairesinol y pinoresinol (Baeza *et al.*, 2016).

Los taninos también se pueden encontrar en pequeñas cantidades, de nuevo quizás como un residuo de la pulpa (Hall *et al.*, 2022).

Cafestol y kahweol son dos diterpenos con un característico grupo furano, que están naturalmente en los granos de café. El grano de café *C. arabica* contiene alrededor de 0.3 a 0.7% de cafestol y 0.1 a 0.3% kahweol por peso (Godos *et al.*, 2014) Una taza (150 ml) de bebida de café Arabica contiene en promedio 17.2 y 19.7 mg de kahweol y cafestol respectivamente (Makino *et al.*, 2021).

I.4.1.3 Aprovechamiento del café de desmanche

En los últimos años, el extracto de grano de café verde se ha promocionado para la pérdida de peso con énfasis en los ACG, que podrían promover la absorción de glucosa desde la porción distal, en lugar de la proximal, del tracto gastrointestinal, lo que conduce a una disminución de la ingesta calórica. Las investigaciones en animales han sugerido que los ACG puede disminuir la absorción intestinal de grasas y activar su metabolismo en el hígado. Otros efectos potenciales incluyen perfiles de lípidos mejorados, reducción de la lipasa hepática y aumento de la expresión de los receptores de peroxisomas, que son los moduladores claves de los lípidos y la glucosa, lo que indica un uso potencial en la prevención de la diabetes (Desai *et al.* 2019). El aceite de café verde, generalmente obtenido por métodos mecánicos como el prensado en frío y la extracción por solventes, se utiliza en la industria cosmética, debido a que mantiene la humedad natural de la piel y su potencial como protector solar (De Melo, 2019). Los diterpenos en grandes cantidades grande limitan su uso como aceite vegetal comestible; sin embargo, el fraccionamiento por la destilación molecular o extracción con CO₂ supercrítico permite emplearlo en aplicaciones nutricionales, cosméticas y farmacéuticas.

I.4.2 Pulpa

La pulpa de café es un subproducto de la producción de café, la cual contiene cantidades considerables de compuestos fenólicos que pueden tener valor para producir bebidas antioxidantes (Oktaviani *et al.*, 2020). Desde hace varios años se ha estudiado y caracterizado la composición de la pulpa por lo que han surgido diversas propuestas para su manejo, entre ellas para alimentación en sistema de producción pecuaria (Flores & Rosales, 2018) la producción de combustible (Londoño *et al.*, 2016), extracción de ingredientes activos, sustratos fermentables para uso de cultivos (Torres-Mancera *et al.*, 2011), procesos de compostaje y extracción de minerales, aminoácidos, polifenoles y cafeína (Duangjai *et al.*, 2016).

I.4.2.1 Composición química de la pulpa

La composición química de la pulpa presentada en la **Tabla 3** se acuerdo a Fierro-Cabrales *et al.* en 2018, muestra el contenido de humedad en la pulpa procesada en base húmeda es del 85%, la pulpa contiene principalmente azúcares reductores, mayormente xilosa y glucosa. Es un subproducto ácido, su pH se encuentra por debajo de 5, el pH es importante para llevar a cabo la recuperación de los compuestos fenólicos (Ovira, 2016).

Tabla 3 Características químicas de la pulpa de café de la especie *C. arabica*

Variable medida	Base seca	Base Húmeda
Materia orgánica (%)	92.1	-
Azúcares reductores (%)	45.7	-
Fibra (%)	36.1	30.6
Humedad (%)	12.1	85.4
Proteína (%)	10.6	9.0
Cenizas (%)	9.6	-
Grasa (%)	5.8	6.9

Conductividad eléctrica (S/dm)	7.9	-
pH	4.2	
Sólidos solubles totales (°Brix)	3	

(Adaptado de Fierro-Cabrales *et al.*, 2018).

También se ha documentado alto contenido de N, K, P; Ca, Mg, Na, Cu, Fe, Mn, Zn y C lo que demuestra que la pulpa es rica en nutrientes esenciales los cuales se pueden apreciar en la **Tabla 4** (Fierro-Cabrales *et al.*, 2018).

Tabla 4 Composición mineral de la pulpa de café de la especie *Coffea arabica*.

Variable medida	Base seca
Potasio (g/kg)	25.1
Nitrógeno (g/kg)	17.0
Calcio (g/kg)	4.1
Magnesio (g/kg)	1.4
Fósforo (g/kg)	2.5
Hierro (mg/kg)	77.0
Manganeso (mg/kg)	46.0
Cobre (mg/kg)	21.0
Boro (mg/kg)	11.0
Zinc (mg/kg)	11.0
Sodio (mg/kg)	2.1
Carbono total %	53.4
Nitrógeno total %	17.0
Relación C/N	31.3

(Fierro-Cabrales *et al.*, 2018).

I.4.2.2 Composición nutracéutica de la pulpa

La pulpa de café seca es fuente de fibra dietaria, contiene compuestos como celulosa, pectina y lignina. Tiene un 36 % de fibra, el contenido de fenoles totales es alrededor de 4.09mg EAG/g (Equivalentes de ácido gálico por gramo) con una capacidad antioxidante de 132.54 μmol Eq Trolox/g.

En la pulpa de café Arábica hay cuatro clases principales de polifenoles: flavanoles, ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y antocianidinas (De Melo, 2019). Los mayores contenidos de fenoles presentes son el ácido gálico, vanilina, catequina, etilcatecol, coumarina, cafeína y ácido ferúlico (Manasa, 2021). En pulpa de café fresca los compuestos fenólicos son: ácido clorogénico (ácido 5-cafeoilquínico) (42.2%), epicatequina (21.6%), ácido 3,4-dicafeoilquínico, (5.7%), ácido 3,5-dicafeoilquínico (19.3%), ácido 4,5-dicafeoilquínico (4.4%), catequina (2.2%), rutina (2.1%), ácido protocatequico (1.6%), ácido ferúlico (1.0%), y también se ha identificado ácido 5-feruloilquínico (De Melo *et al.*, 2019).

Las cáscaras y pulpas derivadas de procesos húmedos, contienen cianidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido y su aglicona, presentes antes y después del oscurecimiento de los tejidos. Los taninos condensados (proantocianidinas), aumentan a lo largo del secado, y son mayores en las variedades de café amarillo que en las rojas (De Melo *et al.*, 2019). La cafeína presente en la pulpa seca y en la cascarilla es en promedio el 2.3 % (Fierro-Cabrales *et al.*, 2018). Dado que este alcaloide ya no se sintetiza en las últimas etapas del desarrollo de la fruta, lo sintetizado en las primeras etapas es lo único presente en plena madurez.

Las melanoidinas son los pigmentos cafés formados como productos de las reacciones de Maillard, durante el secado y tostado. Se han reportado en la cáscara, la pulpa, la película plateada, el café gastado y en la bebida (Iriundo-DeHond A, 2021). Las melanoidinas, presentes en la cáscara de café, son complejos de macromoléculas que tienen un núcleo de polisacáridos (arabinogalactanos y glucomananos), compuestos fenólicos (ácidos hidroxicinámicos) y proteínas. Debido

a esta estructura, las melanoidinas no son digeribles y se consideran fibras dietéticas antioxidantes (Iriundo-DeHond, 2021).

I.4.3 Aprovechamiento de la pulpa

El 90 % de la pulpa de café es desechada como desperdicio. La eliminación de los desechos agroindustriales es una de las tareas más desafiantes para los productores de café. La mayoría de los esfuerzos están encaminados a tratarlo como un residuo y no en como reutilizarlo. La utilización sustentable de la pulpa de café para la obtención de pectina y polifenoles puede ser una buena solución al problema (Manasa *et al.*, 2021). También ha sido validada como un ingrediente seguro y es una fuente de nutrientes y compuestos que restauran la salud, y podría ser usada como nutracéutico para tratar algunas enfermedades crónicas (Braojos *et al.*, 2020)







I.5. Revalorización de los subproductos de la industria del café

Los desperdicios de la producción de alimentos pueden ser usados como materia prima para elaborar productos y disminuir el desperdicio industrial, tal es el caso de los subproductos generados a partir de la producción de café (Bhandarkar *et al.*, 2021).

Cerca de 10 millones de toneladas de residuos son generadas anualmente de la agroindustria del café en todo el mundo. Se han hecho muchos intentos para reutilizar los residuos sólidos provenientes del procesamiento del café, estos incluyen el uso como combustible en granjas, alimento para animales, sustrato para fermentación, estudios de adsorción, producción de biodiesel, bloques para construcción, peletización, extracción de taninos y producción de materias primas especializadas. Para reusar las aguas residuales se ha propuesto la producción de biogás directamente en las plantaciones, y a lo largo del proceso tratarlas con filtración, irrigación o lechos de fermentaciones aeróbicas y anaeróbicas (Echeverría & Nuti, 2017).

La aplicación de los subproductos en el sector de los alimentos y bebidas, ha aumentado, esto como consecuencia de la caída de los precios del café, la excesiva generación de desechos y la búsqueda de nuevos ingredientes con compuestos bioactivos (Klingel *et al.*, 2020, Bhandarkar *et al.*, 2021). Los subproductos más importantes para la producción de alimentos a partir del café se muestran en la **Tabla 5**.

Tabla 5 Principales usos de los subproductos de café en los alimentos.

Subproductos del café		Usos en alimentos
Flores		Bebidas (Té): “Te de flor de café”
Hojas		Bebidas (Té): “Te de hoja de café”
Pulpa de café		Mermeladas, jugos, concentrados, bebidas alcohólicas, jaleas, harina de pulpa de café para brownies, galletas, panes, pastas y salsas.
Casará, cerezas de café deshidratadas		Bebidas (Té), bebidas alcohólicas, condimento, fuente de fibra dietaria, extracción de cafeína.
Granos defectuosos en oro verde (de desmanche)		Suplementos dietarios, bebidas (Té); “Café blanco, café verde” .
Piel plateada		Fuente de fibra dietaria , productos para panadería (pan, bísquets) , bebidas (Té), aditivo sabor ahumado

Café usado		Históricamente se ha usado para alterar el café, bebidas alcohólicas, productos de panadería, fuente de fibra dietaria. La harina de café para panadería, saborizante, snacks, productos listos para comer RTE por sus siglas en inglés.
Pergamino		Conservador de alimentos, antioxidante.

(Adaptada de Klingel, 2020)

I.6. Compuestos bioactivos del café como ingredientes para el desarrollo de alimentos y bebidas funcionales

La incorporación exitosa de fenoles en productos alimenticios funcionales está determinada principalmente por su bioaccesibilidad, capacidad de supervivencia en condiciones difíciles y el estrés digestivo durante su paso a través del tracto gastrointestinal del ser humano (Desai et al., 2019)

Para los ácidos clorogénicos, sus propiedades específicas principalmente la reacción de oxidación y transesterificación durante el almacenamiento o el procesamiento de alimentos, son las principales limitaciones para el uso exitoso en aplicaciones alimentarias. Por lo tanto, la suplementación de productos alimenticios y farmacéuticos con extractos de café verde requieren una formulación que preserve y mantenga su integridad estructural y aumente la biodisponibilidad (Desai *et al.*, 2019).

Los complejos fitoquímicos de la pulpa muestran capacidad para prevenir y contrastar la actividad inflamatoria, siendo el ácido quínico y los derivados de las procianidinas las moléculas bioactivas más relevantes, por lo que se pueden utilizar como suplementos alimenticios (Iriondo-DeHond *et al.*, 2021).

La ingesta de cafeína induce actividades lipolíticas y termogénicas, aumenta el metabolismo tasa a través de la elevación del nivel de dopamina, y mejora la

protección contra radicales libres (Janitschke, 2021). La trigonelina es un alcaloide presente en los granos de café con alta biodisponibilidad, ha demostrado actividad hipoglucemiante, neuroprotectora y antibacteriana (de Melo Pereira *et al.*, 2020). Los efectos neuroprotectores de la trigonelina no se han estudiado tan extensamente. Sin embargo, estudios *in vitro e in vivo* muestran que la trigonelina proporciona neuroprotección y puede ser benéfica en el manejo de algunas enfermedades neurodegenerativas (Socala *et al.*, 2021a)

La pulpa de café se ha usado como fuente de fitoquímicos, fibra dietética y cafeína para la suplementación de bebidas. También se puede utilizar como colorante alimentario natural debido a la presencia de antocianinas y melanoidinas (Iriundo-DeHond, Elizondo, *et al.*, 2020a). Las antocianinas, los ácidos cafeoilquínicos, las catequinas y la cafeína, están asociadas a la reversión del deterioro cognitivo (Howes *et al.*, 2020). Además, el alto contenido de pectina (3.83% del peso seco) en la pulpa de café podría explorarse como agente gelificante, espesante, texturizante, emulsionante, estabilizador y sustituto del azúcar o la grasa en alimentos bajos en calorías

El 30% del cafestol consumido se descompone por los jugos gástricos, mientras que alrededor del 64-70% del cafestol ingerido se absorbe en el duodeno (Godos *et al.*, 2014). El acetato de kahweol y el cafestol tienen una amplia variedad de propiedades bioactivas, que incluyen propiedades antiinflamatorias, antiangiogénicas y antitumorales, y se estima que tres o cuatro tazas de café alcanzan la concentración sérica bioactiva de kahweol y cafestol (Makino *et al.*, 2021). Como resultado de un metanálisis se encontró que un consumo de 3-5 tazas/día de café (moderado) se relacionó con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y el consumo de ≥ 6 tazas/día (fuerte) no se relacionó con el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Gökçen & Şanlıer, 2019). Los efectos benéficos en los humanos también podrían esperarse sin un aumento en el colesterol en la sangre (Iriundo-DeHond, 2021).

I.6.1 Efecto en las emociones

Desde el punto de vista neurológico las emociones son respuestas a estímulos competentes, que son percibidos por medio de construcciones aprendidas socialmente, que se convierten en parte del propio cuerpo/mente (se sienten) y que actúan de manera automática (sin reflexión consciente), desencadenando procesos biológicos en el cuerpo (García Andrade & García Andrade, 2019). Las emociones primarias universales son: sorpresa, miedo, felicidad, asco, tristeza, enojo. La complejidad y riqueza de matices del mundo emocional dificulta la existencia de un modelo universalmente aceptado de clasificación de emociones, Valderrama (2015) propuso 4 dimensiones emocionales distribuidas en dos polos, negativo y positivo, se observan en la **Figura 6**. Las emociones del rango negativo se reciben como desagradables, se asocian con una amenaza o pérdida, así como con la frustración de objetivos, y dirigen al cuerpo hacia el rechazo y la aversión. Las emociones positivas se perciben como agradables, se relacionan con el logro de una meta y orientan al organismo a la aproximación (Valderrama, 2015).

Las emociones se miden de acuerdo a un Perfil de emociones, que consiste en un cuestionario con diferentes emociones, a cada emoción se le asignará un valor, de acuerdo a una escala de aceptación de dicha emoción en ese instante, existen diferentes instrumentos para medir estos perfiles (Richins, 1997). Además de medir el perfil de emociones, se puede medir la intensidad de las mismas mediante cuestionarios y su respectivo análisis descriptivo (Bhumiratana *et al.*, 2019) .



Figura 6 Arcoíris emocional

(Izquierda Emociones negativas, derecha emociones positivas) (Valderrama, 2015).

Los sentidos son poderosos potenciadores de emociones (Bhumiratana *et al.*, 2019). Las emociones están relacionadas con la aceptación de alimentos y bebidas, por lo que evaluar el estado emocional relacionado al consumo de un producto, es vital. La “experiencia de beber café” está relacionada con 44 emociones, la experiencia sensorial que regala es la razón de su consumo, además de la estimulación fisiológica por la cafeína (Bhumiratana *et al.*, 2019). Las melanoidinas presentes en la pulpa y en el café tienen un gran impacto en el perfil sensorial de alimentos y su aceptación por los consumidores (Iriundo-DeHond, 2021). Efecto en el estado de ánimo

Conviene diferenciar entre emociones que son breves, intensas y desencadenadas por un acontecimiento concreto y los estados de ánimo que son duraderos, por lo general menos intensos y más vagos, no ligados a un evento preciso (Valderrama, 2015).

Los estados de ánimo se definen como estados difusos que aparecen sin motivo específico y se prolongan en el tiempo, considerándose memorias de emociones (Ordóñez *et al.*, 2017). Los tres niveles de estado mental emocional se deben evaluar simultáneamente para captar de forma fiable el estado de ánimo. En la 7, se

puede observar que el temperamento (verde) se mantiene relativamente estable durante años y décadas, el estado de ánimo (rojo) por lo general cambia en horas y días y la emoción (naranja) cambia en segundos y minutos. La columna azul representa la experiencia concurrente de los tres componentes, que es lo que una persona describe como su estado de ánimo (Kaufmann *et al.*, 2020)

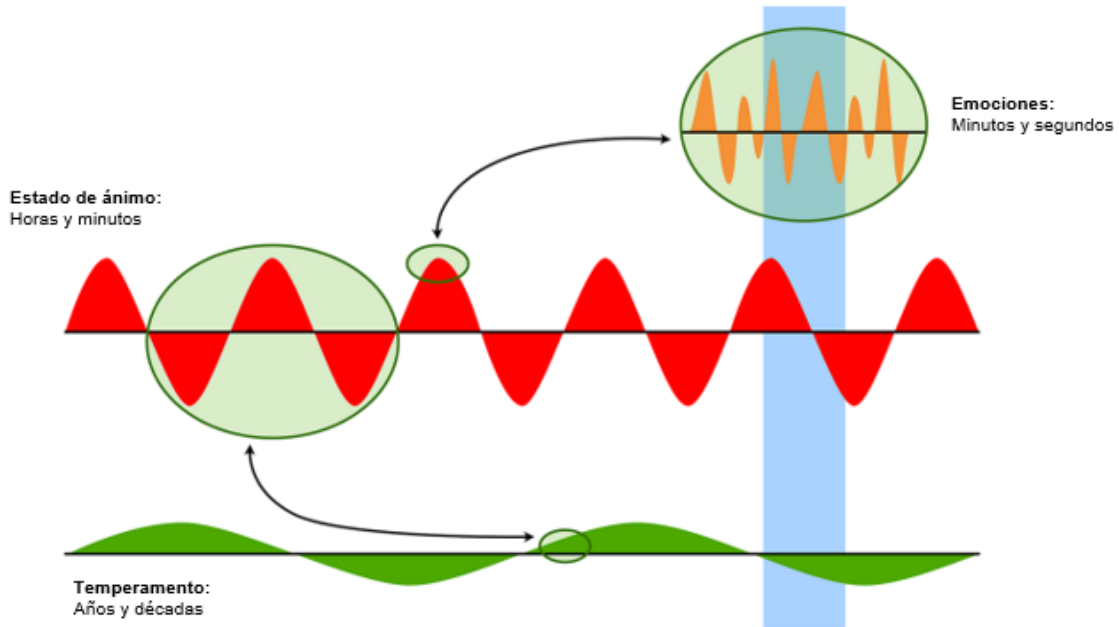


Figura 7 Los tres niveles del estado mental emocional: temperamento, estado de ánimo y emociones.

Adaptado de Kaufmann *et al.*, (2020).

Los estados de ánimo se pueden evaluar a través de cuestionarios, que evalúan distintas dimensiones del estado de ánimo. Dos herramientas muy utilizadas para generar perfiles del estado de ánimo son: La Escala de Valoración del Estado de Ánimo (EVEA) y el cuestionario Profile of Mood States (POMS por sus siglas en inglés), que en español es conocido como: El Perfil de los Estados de Ánimo (Andrade *et al.*, 2013).

La escala EVEA se usa para valorar estados de ánimo transitorios de ansiedad, tristeza-depresión, alegría o ira-hostilidad.

La EVEA tiene índices aceptables en cuanto a sus propiedades psicométricas, por tener consistencia interna fiable, respecto a otras herramientas que miden depresión, ansiedad o emociones positivas y negativas sus resultados son congruentes, es clara la diferencia entre los estados positivos y negativos, se puede distinguir entre un paciente sano y uno que presenta trastornos, además permite detectar cambios después de inducir algún tratamiento que pudiera influir en el estado de ánimo (Andrade *et al.*, 2013).

McNair, Lorr y Dropleman (1971), diseñaron una autoevaluación emocional del Perfil de los Estados de Ánimo, que pretende evaluar seis dimensiones distintas de los estados afectivos o estados de ánimo agrupados como: 1.- Tensión-ansiedad, 2.- Depresión-melancolía, 3.- Cólera-hostilidad, 4.- Vigor-afectividad, 5.- Fatiga-inercia y 6.- Confusión-desorientación.

La Tensión-Ansiedad, incluye de términos que refieren aumento en la sensación de tensión somática que a veces no visibles como estar tenso o sentirse con los nervios de punta, la tensión músculo esquelética y las representaciones visibles psicomotoras como estar inquieto.

La melancolía y depresión se refiere a una sensación de percibirse ser innapropiado, sentir inutilidad, desmerecimiento, falta de esperanza, soledad, infelicidad, tristeza, culpabilidad y un estado de ánimo depresivo.

La hostilidad y la cólera, se muestra como un estado de antipatía hacia todos y cólera intensa, refiere mal genio, rencor, hostilidad, rebeldía y malhumor.

El Vigor por su parte se considera una dimensión positiva, donde existe alta actividad y energía, bullicio y la sensación de vigor.

La Fatiga-Inercia, representa un estado de ánimo de nivel muy bajo de energía, laxo, inerte y puede considerarse lo opuesto al Vigor, sin embargo, son estados independientes.

El estado de desorientación o confusión se caracteriza por el desorden y la sensación de estar confundido, una característica de ineficiencia cognitiva, esto puede representar la ansiedad o estados asociados a ella.

Los polifenoles de la pulpa del café (ácido clorogénico) mejoran el estado de ánimo y aumentan el flujo sanguíneo cerebral en humanos sanos (Jackson *et al.*, 2021) Por otra parte, la cafeína modula la neurotransmisión dopaminérgica como antagonista no selectivo del receptor de adenosina en el cerebro. El efecto antagónico de la cafeína sobre la adenosina también puede implicar que la cafeína actúa a través de mecanismos no dopaminérgicos; por ejemplo, modulando la liberación de acetilcolina y serotonina. La serotonina es fundamental para la modulación de la conducta social, las emociones y una gran cantidad de funciones fisiológicas (Kim & Kim, 2018).

1.6.3 Efecto en la vitalidad

La vitalidad es la activación mental y física persistente, la predisposición de invertir esfuerzos y persistencia, incluso durante dificultades y ha sido considerado como un indicador de bienestar pleno y una medida de resultado clínicamente relevante de bienestar psicológico positivo (Ryan & Frederick, 1997; Castillo *et al.*, 2017). La Escala de Vitalidad Subjetiva (SVS), compuesta por siete elementos, fue diseñada para medir este constructo, lo que desde un punto de vista fenomenológico refleja el grado en el que una persona está funcionando plena y psicológicamente bien (Castillo *et al.*, 2017). La cafeína es conocida por aumentar el estado de alerta, a través de estimulación del sistema nervioso central, aumento de la circulación sanguínea y la respiración, también mejora el rendimiento durante el ejercicio y reduce el tiempo de reacción (De Melo *et al.*, 2020). El ácido clorogénico, la trigonelina, el ácido nicotínico, el ácido quinolínico, el ácido tánico y el ácido gálico, tienen efectos antiinflamatorios y antioxidantes *in vivo* e *in vitro*. Extractos ricos en ácidos clorogénicos y flavonoles han demostrado disminución de la fatiga mental y aumento en el estado de alerta durante un proceso cognitivo, esto coincide con un aumento en la hemoglobina total y la saturación de oxígeno en la corteza frontal

(Jackson *et al.*, 2021). Un tercio de los ácidos clorogénicos se vuelven biodisponibles en plasma, después de lo cual pueden atravesar la barrera de hematoencefalo y actuar sobre el sistema nervioso central (Reed *et al.*, 2019).

I.6.4 Efecto en la ansiedad

La Secretaria de Salud de México (Secretaria de Salud de México, 2022) la ansiedad es un estado emocional que presenta cambios psíquicos y somáticos. Cuando son continuos y de forma excesiva se considera patológica, lo que provoca disfuncionalidad en la persona que lo manifiesta.

La ansiedad se presenta con síntomas psíquicos los cuales pueden ser conductuales, cognoscitivos y afectivos. Algunos son sentirse inquieto, nervioso, mostrar algún miedo irracional como el deseo de salir huyendo, temor a perder la razón o la sensación de muerte inminente. Las manifestaciones también pueden ser a nivel somático como el aumento de la frecuencia cardiaca, el pulso, temblores, mareos, palpitaciones, ganas de orinar y malestar estomacal (Secretaría de Salud, 2022).

Existen dos sistemas involucrados en la configuración de la respuesta a la ansiedad, el eje hipotálamo-pituitario-adrenocortical (HPA) y el sistema simpático-adrenomedular (SAM). La activación de HPA provoca un aumento en la secreción de cortisol en la corteza suprarrenal (Schumacher *et al.*, 2013). Las concentraciones de cortisol en saliva están estrechamente relacionadas con la concentración de cortisol sérico. Por lo tanto, el cortisol en saliva refleja la actividad de HPA. En el sistema SAM, las catecolaminas salivales pueden ser un índice útil de la actividad del sistema (Takai *et al.*, 2004). La alfa-amilasa es una de las principales enzimas salivales en humanos y es secretada por las glándulas salivales en respuesta a estímulos simpáticos. Se considera que la medición de esta enzima salival es una herramienta útil para evaluar el sistema SAM. EL cortisol y la alfa-amilasa pueden ser determinados mediante saliva (Pachimsawat *et al.*, 2021).

II. JUSTIFICACIÓN

En 2021 se generaron casi 300 millones de residuos de la producción de café. Dos subproductos importantes son la pulpa que representa hasta el 60% del fruto, mientras que para el café de desmanche no se tiene un dato exacto, pero debido a la demanda del café de especialidad cada año se generan mayores cantidades. Ambos contienen cantidades considerables de compuestos bioactivos como la cafeína, la trigonelina, las melanoidinas, los ácidos clorogénicos, las antocianinas, los flavonoles, fibra, además de vitaminas y minerales. Estos compuestos han demostrado su potencial benéfico en la salud. Al equilibrio entre el bienestar mental, físico y social se le conoce como un estado de salud óptimo. El bienestar mental y social está relacionado a estado de ánimo. Los alimentos y bebidas funcionales se están desarrollando con la intención de nutrir y ayudar a mantener la salud. En las bebidas funcionales hay dos tendencias en crecimiento por un lado las bebidas para consumir al momento (RTD, por sus siglas en inglés), que son de bebidas funcionales energéticas por la cafeína natural contenida, no alcohólicas, sin edulcorantes ni azúcares y son de origen vegetal. La otra tendencia es el café preparado por extracción en frío, popularmente llamado “Cold Brew”. Por lo cual, en este trabajo se propuso desarrollar una base para bebida “Cold Brew” a partir de la pulpa de café y el café de desmanche tostado, obtenidos como subproductos de la producción de café de especialidad y evaluar su potencial funcional en la mejora del estado de ánimo de personas sanas.

III.OBJETIVOS

III.1. General

Desarrollar una bebida “Cold Brew” con potencial funcional en la mejora del estado de ánimo (ansiedad vitalidad y estados de ánimo transitorios), a partir de la pulpa de café y el café de desmanche obtenidos como subproductos de la producción de café de especialidad.

III.2. Específicos

1. Caracterizar química y nutraceuticamente la pulpa y el café de desmanche de *Coffea arabica* tostado y molido.
2. Formular mezclas de pulpa y café de desmanche para la elaboración de la bebida Cold Brew.
3. Determinar la composición química, nutraceútica, capacidad antioxidante y calidad microbiológica de la bebida Cold Brew.
4. Evaluar el potencial funcional de la bebida Cold Brew sobre el estado de ánimo, evaluando la ansiedad, la vitalidad y los estados de ánimo transitorios.

IV. METODOLOGÍA

IV.1. Materiales

IV.1.1 Obtención del café de desmanche y la pulpa.

Los granos de café verde y la pulpa utilizados fueron *Coffea arabica* cv. Geisha, cultivada a 1458 msnm, bajo sombra y bajo prácticas agroecológicas, cosechados de manera manual y obtenidos por despulpe mecánico el día 10 de febrero del 2022. Fueron donados por Finca Xuuka, localizada en el municipio de Santiago Atitlán, en la región Mixe de la sierra Norte de Oaxaca, México. El café verde de desmanche se tostó en un tostador de tambor hasta llevarlo a un tueste medio, se almacenó en bolsa de papel kraft con cierre tipo zipper por 8 días para que desgafisicara, se molió en un molino eléctrico con un grado de molienda gruesa con tamaño de partícula de 420 μ M (malla 40).

IV.2. Métodos

IV.2.1 Obtención de la harina de pulpa de café.

La pulpa de café se secó al sol, durante 12 días, se molió hasta obtener un polvo grueso de 420 μ M, se midió la humedad y se tamizó. Se mantuvo en bolsa de plástico cerrada, en un lugar fresco (<25°C) y seco, hasta su uso (no más de 12 semanas).

IV.2.2 Composición química

Se determinó la composición química del café de desmanche tostado, como de la pulpa de café siguiendo la metodología descrita en la AOAC.

IV.2.2.1 Determinación de proteína

Se determinó el contenido de proteína con el método 920.15 de la AOAC (1992). Se colocaron en los matraces de digestión tipo Kjeldhal, un gramo de muestra desgrasada, se añadió una pastilla de catalizador y 10 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄). Los tubos se colocaron en la plancha del digestor (Bloc-Digest) a 400 °C durante 30 minutos o hasta el cambio de color a verde claro. Se enfriaron y se pasaron al

neutralizador y destilador. Para la destilación se agregaron 50 mL de NaOH al 35 % por cada tubo. El destilado se recibió en un matraz con 50 mL de ácido bórico al 4% y se empleó como indicador rojo de metilo y verde bromocresol. El volumen obtenido se tituló con NaOH 0.2 N. Finalmente se registraron los mL usados de NaOH 0.2 N y se sustituyeron en la siguiente fórmula (AOAC, 1992):

$$\% \text{ Nitrogeno} = \frac{(V1-V0) (N) (1.4)}{P}$$

Donde:

V1 = volumen de HCl titulado

V0 = volumen de HCl del blanco

P = peso de la muestra en gramos

N = Normalidad del HCl

% Proteína = (%N) (Factor)

Factor = 6.25

IV.2.2.2 Determinación de cenizas

El contenido de cenizas se realizó con el método 945.46 (AOAC, 2019). Se puso a peso constante los crisoles necesarios por 2 horas en la mufla a 550 °C. Se dejaron 40 minutos en el desecador para atemperarse. Se pesaron los crisoles y se registró su peso. Se pesaron entre 2 y 4 g de muestra en los crisoles a peso constante, registrando su peso exacto. Se calcinaron en la mufla a 550 °C hasta tener las cenizas blancas (5-6 horas). Se dejaron enfriar los crisoles en el desecador durante 40 minutos, para finalmente registrar el peso (AOAC, 2019). Para los cálculos se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ cenizas} = (M1 - M2) * 100$$

donde:

M1 = peso de la muestra

M2 = peso de la cenizas

IV.2.2.3 Determinación de humedad

Acorde con el método 925.23 de la AOAC (2019) se determinó el contenido de humedad. Se pesó 1 gramo de muestra y se colocó dentro del plato metálico de la termobalanza, se cerró con cuidado y se esperó a que el equipo diera el % de Humedad. Se realizó por triplicado y registraron los datos obtenidos.

IV.2.2.4 Determinación de lípidos

Los lípidos se determinaron de acuerdo con el método Goldfish (Gravimétrico). Las muestras (3.5 g de pulpa y 3 g de café), se colocaron en sobres de papel filtro y estos dentro de los cartuchos de celulosa y se colocó en el equipo Goldfish de extracción, donde los matraces (a peso constante, secados previamente durante 12 horas a 80 °C), contendrían 2/3 partes de su volumen de éter de petróleo. Se calentó, permitiendo 10 ciclos de reflujo/hora, entre 4 y 5 horas. Después del tiempo de extracción se recuperó el solvente y se evaporó en la estufa, para retirar la humedad. Los matraces se enfriaron en el desecador por 40 min y se pesaron. El contenido de lípidos se obtuvo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ lípidos} = [(M_T - M_I) / P] * 100$$

donde:

M_T = peso final del matraz

M_I = peso inicial del matraz

P = peso exacto de la muestra

IV.2.2.5 Carbohidratos

Los carbohidratos se determinarán por la diferencia entre el total de materia (100 %) menos la sumatoria de los porcentajes de proteínas, lípidos, humedad y cenizas.

IV.2.2.6 Fibra insoluble

La fibra dietaria se determinó de acuerdo con lo sugerido por Shiga *et al.*, (2003). Se pesó un gramo de muestra pulverizada y desgrasada. Posteriormente se adicionó 50 mL de amortiguador de fosfatos 0.08 mM a pH 6, así como 100 μ L de α -amilasa, protegiendo el matraz de la luz. La muestra se incubó a 95 °C por 30 minutos en baño maría, agitando cada 5 min. Al finalizar, se ajustó a pH 7.5, se atemperó la muestra, se adicionaron 100 μ L de proteasa (5 mg/mL) y se incubó a 60 °C por 30 min en baño María con agitación continua, se ajustó pH a 4 con la muestra atemperada. Se adicionó 300 μ L de amiloglucosidasa y se incubó por 30 min a 60 °C con agitación continua. Se atemperó y se filtró en papel Whatman no.4 pesado previamente. Los filtros se lavarón 2 veces con 15 mL de agua destilada, y 2 lavados con 15 mL de etanol al 80 %. Se llevó a peso constante el filtro a 60 °C por 24 horas, registrando los pesos. El cálculo se realizó en base seca y de acuerdo con el porcentaje de carbohidratos de la muestra (Shiga *et al.*, 2003).

Cálculo de fracción insoluble (%) = ((papel con muestra - papel solo) *100) / peso de muestra.

IV.2.2.7 Fibra soluble

El líquido de filtración recuperado de la fibra insoluble, de la metodología anterior, se le adicionó el mismo volumen de etanol al 80 % y se dejó durante 12 horas en reposo. Se filtró en papel Whatman No. 42 (pesado previamente) al vacío, se realizaron 2 lavados con 15 mL de etanol al 80 % y 2 con 15 mL de acetona. Se dejó secar el papel filtro por 24 horas a 60 °C. Se registró el peso (Shiga *et al.*, 2003). Para los cálculos se utilizó la siguiente fórmula:

Cálculo de fracción soluble (%)= $(W \text{ papel con la muestra } / W \text{ papel solo } * 100) / W \text{ muestra}$

Fibra dietaria total (FAT)= Fibra dietaria insoluble + fibra dietaria soluble

IV.3. Composición nutracéutica

Se evaluó la composición nutracéutica en la pulpa, el café de desmanche tostado y en las bebidas “Cold Brew”.

IV.3.1 Obtención de extracto etanólico

El extracto etanólico se obtuvo pesando un gramo de muestra y se suspendió en 10 mL de etanol al 50 %, la muestra se homogeneizó en vórtex por 1 minuto y se sonicó 40 minutos (Ultrasonic Bath CPXH Series, 2012, Emerson Industrial Automation). Se centrifugó a 10000 rpm por 5 min a 4 °C, se recuperó por filtración el sobrenadante, se mantuvo protegido de la luz y en refrigeración hasta su uso.

IV.3.2 Cuantificación de fenoles totales

De acuerdo a Singteton y Rossi (1965) y con adaptaciones de Prior *et al.*, (2005) se realizó la siguiente metodología: el reactivo de Folin-Ciocalteu se diluyó con agua destilada (1:10, v/v) justo antes de su uso. Se preparó una solución madre de ácido gálico (0.1 mg/ml) para realizar una curva estándar (10-100 µg). En 30 µL del extracto se adicionaron 150 µL de Folin y 120 µL de carbonato de sodio (Na₂CO₃). Después de 30 min, se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro UV-visible con lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Thermo Scientific). Se realizó el experimento por triplicado de forma independiente. Los resultados se expresaron como µg equivalentes de ácido gálico (µg EAG/g de muestra).

IV.3.3 Cuantificación de taninos condensados

Los taninos condensados se determinarán de acuerdo con la metodología de Waterman *et al* 1994. Se adicionaron 200 μL del reactivo de vainillina-HCl (1:1) (vainillina 1%-HCl 4%) de 50 μL en 50 μL hasta llegar a los 200 μL . Se tomarón 50 μL del extracto etanólico o de la bebida “Cold Brew” y se leyó la microplaca a una longitud de onda de 540 nm en un lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Termo Scientific). Se realizó el experimento por triplicado de forma independiente.

Se realizó una curva de estándar de (+)-catequina(0–1 mg/ml). El blanco fue la muestra sin vainillina, para corregir interferencias potenciales de los pigmentos naturales del café. La concentración de taninos condensados se expresó como mg equivalentes de (+)-catequina/g muestra.

IV.3.4 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Estas determinaciones de llevaron a cabo a partir del extracto etanólico obtenido anteriormente y en las bebidas “Cold Brew”, bajo la metodología de Sánchez-Quezada (2023). Todos los análisis se realizaron a 25 °C con una mezcla de fase móvil de 50 % de fase móvil A y 50 % de fase móvil B (A: agua acidificada con ácido fórmico al 1 %; B: 100 % acetonitrilo) en un equipo HPLC Agilent Serie 1200 y una columna C-18. La fase móvil se fijó con un flujo en 1 mL/min con un volumen de inyección de 20 μL . La cuantificación se realizó utilizando el método de estándar externo con los estándares comerciales de trigonelina, cafeína, teobromina, rutina, (+)-catequina, quercetina y los ácidos clorogénicos, cafeico, gálico, ferúlico y p-cumárico.

IV.3.5 Flavonoides

Los flavonoides totales se cuantificaron utilizando la metodología descrita por Hairi *et al.* (1991) y modificaciones realizadas por Oomah *et al.*, (2005). Se tomarón 50 μl del extracto etanólico, y de la bebida “Cold Brew”, se agregaron 180 μl de agua

destilada y 20 µl de solución de 2-aminoetildifenilborato al 1% en metanol. Las muestras fueron medidas a una absorbancia de 404 nm en un lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Termo Scientific).

Se realizó una curva de estándar de rutina (0 a 50 µg). Los resultados se expresarán como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra.

IV.3.6 Antocianinas totales

El contenido total de antocianinas se determinó en el extracto etanólico y en las bebidas “Cold Brew” siguiendo la metodología de Abdel-Aal & Hucl, (1999) con ligeras modificaciones de Giusti & Wrolstad, (2001). Para la extracción de las antocianinas se utilizó metanol acidificado (metanol con HCl 1N al 1%). Se agregó a 1 gramo de muestra en 10 ml de metanol acidificado y se dejaron reposar durante 60 minutos. La mezcla se centrifugó a 5000 g por 5 minutos. Se separó el sobrenadante. En una placa de 96 pozos, se agregaron 250 µL de muestra y se leyó a una absorbancia de 535 nm en un lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Termo Scientific). Se empleó cianidina-3-glucósido (C3G) como referencia para la curva de calibración (0.0–0.2 mg/mL) y las mediciones se realizaron por triplicado.

IV.3.7 Melanoidinas

El contenido de melanoidinas se determinaron de acuerdo a Iriondo-DeHond *et al.*, (2020) en los extractos etanólicos y en las bebidas “Cold Brew”, se analizó espectrofotométricamente. Se tomó 1 gramo de la muestra y se le agregaron 20 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente. La medición de la absorción de luz de las muestras se leyó a 420 nm en un lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Termo Scientific). Se usó color caramelo (E-150d) como patrón de melanoidinas, la curva estándar fue de 1-10 mg/mL de equivalentes de melanoidinas de caramelo. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de melanoidinas de caramelo/gramo de muestra.

IV.3.8 Cuantificación de trigonelina, cafeína y ácidos clorogénicos por extracción con QuEChERS.

Se cuantificó de acuerdo al método propuesto por Atlabachew *et al.*, (2021) basado en la extracción líquido-líquido asistida por salificación, utilizando sal QuEChERS y acetonitrilo seguido de análisis UV-Vis. Se tomaron 50 del extracto etanólico y se agregaron 4 ml de ácido acético al 1%, 4 ml de acetonitrilo (grado HPLC), 1 g de MgSO₄, 0.5 g de NaCl, se mezcló con vortex durante 1 minuto y después se centrifugó durante 5 min a 10 000 rpm. La fase superior de acetonitrilo se separó y se midió a 274 y 325 nm, mientras que la fase inferior de agua a 264nm.

Para la curva de calibración se empleó trigonelina de 0.4 a 40 mg/mL. Para la curva de calibración de cafeína y ácido clorogénico, se mezclaron y analizaron directamente en concentraciones iguales de cada analito (0.5–50 mg/L). El ácido clorogénico se cuantificó a partir de la absorbancia a 325 nm, para la cafeína a 274 nm y para la trigonelina a 264nm en un lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Termo Scientific). Se realizó el experimento por triplicado de forma independiente.

IV.4. Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se evaluó en la pulpa, el café de desmanche (extractos etanólicos) y en la bebida “Cold Brew” mediante los métodos ABTS y DPPH.

IV.4.1 Capacidad antioxidante por el método DPPH

Este método utilizó el ensayo de decoloración 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) por medio de técnica propuesta por Fukumoto & Mazza, (2000), adaptando a microplaca. Se añadieron 20 µL de extracto etanólico y 200 µL de solución DPPH en una microplaca de 96 pozos. Se preparó un control de 20 µL de metanol y 200 µL de

DPPH. Se prepararon muestras por triplicado y se leyeron cada 10 minutos durante 90 minutos a una longitud de onda de 520 nm utilizando un espectrofotómetro con lector de microplacas (Multiskan Go Serie 1510-02959, Termo Scientific). Se realizó una curva de calibración de trolox (0-800 μ M). Expresando los resultados de capacidad antioxidante como μ mol equivalentes de trolox /g de muestra.

IV.4.2 Capacidad antioxidante por el método ABTS

La determinación por el método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se realizó mediante la técnica descrita por Nenadis *et al.*, (2004), en microplaca. Se preparó una solución acuosa 7mM de ABTS y una solución de $K_2S_2O_8$ 140mM, se mezclarán 5 mL y 88 μ L respectivamente. Se incubó durante 12 horas a temperatura ambiente, protegido de la luz. Pasado el tiempo, se realizó una dilución, mezclando 500 μ L de la solución y se le agregarán de 20-25 mL de etanol. La solución se leyó a una longitud de onda de 734 nm, alcanzando valores entre 0.7 y 1 de absorbancia. Se adicionó a una microplaca de 96 pozos, 20 μ L del extracto etanólico y un control con solo 20 μ L metanol para más tarde agregar 230 μ L de ABTS a cada pozo, realizando la muestra por triplicado. Los valores se compararon con una curva de calibración de trolox y los resultados de capacidad antioxidante se expresaron como μ mol equivalentes de trolox/g de muestra.

IV.5. Diseño de experimental para la formulación base de la bebida

A partir de la caracterización química y considerando que la bebida deberá tener un límite máximo de 200 mg de cafeína y al menos 10 mg de ácidos clorogénicos por porción. Se realizó la preparación de la bebida "Cold Brew" a partir de 3 mezclas de pulpa y café (2:1, 1:1 y 1:2) en peso.

IV.6. Elaboración de “Cold Brew”

De acuerdo a Rao & Fuller, (2018), las condiciones de elaboración fueron inmersión durante 7 horas en refrigeración (4C) y la relación sólido líquido fue de 1:10. Las muestras fueron filtradas (Hario V60) para su análisis. Las bebidas fueron elaboradas siguiendo las buenas prácticas de manufactura de alimentos de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios, con sus respectivos análisis microbiológicos para garantizar su seguridad e inocuidad.

IV.7. Análisis microbiológico del “Cold Brew”

Los métodos empleados para determinar la cuenta total de bacterias mesófilas aerobias, la cuenta total de hongos y levaduras y coliformes totales fueron los reportados por las normas NOM-092-SSA-1-1994, NOM-111-SSA-1-1994, NOM-210-SSA1-2014. Se enviaron 100 ml del lote de bebida “Cold Brew” al Laboratorio para la evaluación y control de riesgos microbianos en alimentos (LECRIMA UAQ).

IV.8. Estudio de intervención

Acorde con los principios de la Declaración de Helsinki se realizó el estudio. El protocolo fue registrado ante el Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro con número CBQ22/063.

IV.8.1 Reclutamiento de participantes

El reclutamiento de participantes se realizó a través de una invitación abierta a participar en el estudio de intervención mediante la publicación de un cartel (Anexo 1) en redes sociales oficiales (Facebook) de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro y con carteles físicos en diferentes puntos de la Universidad (Biblioteca central, dirección de la facultad, cafetería y pasillos de salones de clase)

en población universitaria y público en general. Se incluyeron todos los participantes que cumplieron con los criterios de inclusión. Todos los participantes recibieron una plática informativa y aceptaron participar dando su consentimiento informado por escrito (Anexo 2).

IV.8.2 Criterios de Inclusión

Mujeres y hombres de 20 a 45 años

Participación voluntaria

Firma de consentimiento informado

Sin enfermedades diagnosticadas

Bebedores habituales o esporádicos de café

IV.8.3 Criterios de exclusión

Diagnóstico de enfermedad o alteración mental

Consumo de drogas

Intolerancia a la cafeína

Tratamiento farmacológico antidepresivo

Personas con depresión y enfermedades relacionadas

Mujeres embarazadas o lactando

IV.8.4 Criterios de eliminación

Todo participante que decida voluntariamente dejar la investigación.

Negación a seguir indicaciones

La persona que no asista a alguna de las sesiones.

Falta de respeto al equipo de trabajo.

Aclaraciones:

Esta investigación fue revisada y aprobada por el Comité de Investigación y Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro que son independientes al grupo de investigadoras, para proteger sus intereses.

Su decisión de participar en la presente Investigación es completamente voluntaria, por lo que podrá dejar de participar en el momento que así lo decida.

En el transcurso de la Investigación, usted podrá solicitar información actualizada sobre la misma, a la investigadora responsable.

La información obtenida en esta investigación, utilizada para la identificación de cada participante será mantenida con estricta confidencialidad, conforme la normatividad vigente.

Se le garantiza que usted recibirá respuesta a cualquier pregunta, duda o aclaración acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios u otros asuntos relacionados con la presente investigación.

No se le pedirá ningún aporte económico ni se le dará pago alguno por su participación.

En caso de presentar alguna reacción durante la intervención, será canalizado inmediatamente al consultorio médico de servicios de salud de FarmaUAQ (ubicado en la explanada de la rectoría) de la Universidad Autónoma de Querétaro.

IV.9. Diseño

Se realizó un estudio piloto de intervención agudo, aleatorizado, cruzado, simple ciego controlado con personas adultas, voluntarias, sanas. El tamaño de la muestra fue de 15 participantes, de acuerdo con la literatura es lo que corresponde para este tipo de estudios. Donde el 50% de los participantes tuvieron el tratamiento control y

el otro 50% el tratamiento de estudio, asignándoles la bebida de manera aleatoria simple y cruzada, y en días diferentes (al día 1 y una semana después). Se incluyó una bebida placebo que era aparentemente idéntica al tratamiento (Cold Brew), pero el control/placebo fue una bebida con sabor a café (sin pulpa ni café). Los participantes fueron citados en el consultorio “Su Salud” de la facultad de Química, de la Universidad Autónoma de Querétaro, donde firmaron el consentimiento informado y se les realizaron evaluaciones clínicas: de biomarcadores (IV.9.2), de estados de ánimo con herramientas de evaluación psicológicas (sección IV.9.3) y fisiológicas (sección IV.9.4).

Respecto a las herramientas de evaluación de estados de ánimo: llenaron evaluaciones al tiempo 0 y después de consumir la bebida a los tiempos 1, 3 y 6 horas para medir del estado de ansiedad, cuestionario del perfil del estado de ánimo POMS, escala de vitalidad y escala de intensidad de emociones. Las evaluaciones fisiológicas incluyeron la medición del pulso y la presión arterial a cada persona por triplicado, al tiempo 0 y después de consumir la bebida a los tiempos 1, 3 y 6 horas.

IV.9.1 Tratamientos

Tratamiento A: Se le administró la bebida “Cold Brew” elaborada a partir de la base de café de desmanche y pulpa.

Tratamiento B: Fué el grupo control (placebo), que tomó una bebida Cold Brew de sabor y apariencia similar al tratamiento A pero sin café ni pulpa.

IV.9.2 Evaluaciones de biomarcadores

IV.9.2.1 Tomas de muestras biológicas

Las muestras biológicas de sangre (para obtención de plasma) fueron tomadas por personal capacitado de en el laboratorio de la Unidad de Servicios Químicos (USC)

de la Facultad de Química de la UAQ, ubicado en el Edificio 9, planta baja. Facultad de Química, Centro Universitario.

IV.9.2.2 Obtención de plasma humano

Se le pidió a los participantes ayuno de 8 a 12 h previas al estudio. Se presentaron el día y hora señalados en el laboratorio de la Unidad de Servicios Químicos (USC) de la Facultad de Química de la UAQ, ubicado en el Edificio 9, planta baja. Facultad de Química, Centro Universitario.

Se recolectó una muestra de sangre por punción venosa, en tubos Vacutainer con EDTA, antes y a las 6 horas del consumo de la bebida. La muestra se procesó inmediatamente mediante centrifugación a 2500 g durante 15 min para obtener el plasma humano. Una vez procesada la muestra inmediatamente se conservó a -70 °C.

IV.9.2.3 Determinación de capacidad antioxidante total en plasma humano (ORAC)

De acuerdo al método sugerido por Prior *et al.*, (2005) con modificaciones de Benítez-Estrada *et al.*, (2020) las muestras se disolvieron en un amortiguador de fosfatos (75 mM, pH 7,4) en una relación 1:4, se centrifugó a 2000 g por 15 minutos y se recuperó el sobrenadante. Se colocaron 20 µL de la muestra, en placas en un Espectrofluorómetro donde se mezclaron con fluoresceína (82 nM) y se preincubaron a 37 °C durante 30 min. Pasado este tiempo, se añadió solución de AAPH (diclorhidrato de 2,2'-azobis(2-amidino-propano)) (145 mM). Las placas se agitaron durante 15 s, después de lo cual se registró la fluorescencia cada minuto durante 45 min con filtros de excitación de 485 nm y emisión de 530 nm. Los resultados se expresarán en µmol TE/g de muestra.

IV.9.3 Compuestos fenólicos por HPLC-DAD

Estas determinaciones se llevaron a cabo en el plasma, bajo la metodología de Sánchez-Quezada (2023). Todos los análisis se realizaron a 25 °C con una mezcla de fase móvil de 50 % de fase móvil A y 50 % de fase móvil B (A: agua acidificada con ácido fórmico al 1 %; B: 100 % acetonitrilo) en un equipo HPLC Agilent Serie 1200 y una columna C-18. El flujo de la fase móvil se fijó en 1 mL/min con un volumen de inyección de 20 µL. La cuantificación se realizó utilizando el método de estándar externo con los estándares comerciales de cafeína, teobromina, trigonelina, (+)-catequina, rutina, quercetina y los ácidos clorogénicos, cafeico, p-cumárico, ferúlico y gálico.

IV.9.3.4 Manejo de residuos peligrosos biológico-infecciosos

Los Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos como la sangre, saliva y los residuos punzocortantes se desecharon en contenedores color rojo para RPBI acorde a la norma oficial mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, protección ambiental - salud ambiental - residuos peligrosos biológico infecciosos - clasificación y especificaciones de manejo (Secretaría de Salud de México, 2002).

IV.9.4 Herramientas de evaluación de estados de ánimo

Los participantes respondieron las diferentes herramientas de evaluación a los tiempos 0, 60, 180 y 360 minutos posteriores de haber consumido la bebida. Las evaluaciones fueron realizadas por personal capacitado.

IV.9.4.1 Evaluación del estado emocional

La evaluación del estado emocional se realizó mediante el cuestionario EVEA (Anexo 3). Consta de 16 oraciones afirmativas, que incluyen una escala de 11 puntos (de 0 a 10), donde “nada” es 0 y “mucho” es 10. De lado derecho se presenta el gráfico

con la escala y de lado izquierdo la oración. Todas las oraciones comienzan con la frase “me siento” seguido de un adjetivo asociado a un estado de ánimo (“me siento triste”, “me siento alegre”).

Para la obtención del puntaje de tristeza-depresión se suman los puntajes de las oraciones 4, 7, 10 y 16 (“melancólico”, “alcaído”, “apagado” y “triste”); para la ansiedad hay que sumar las puntuaciones de las afirmaciones 1, 5, 9 y 13 “nervioso”, “tenso”, “ansioso” e “intranquilo”; el puntaje para ira-hostilidad se obtiene de las oraciones 2, 8, 11 y 14 “irritado”, “enojado”, “molesto” y “enfadado”, y para la alegría las oraciones 3, 6, 12 y 15 “alegre”, “optimista”, “jovial” y “contento”. Los niveles correspondientes a cada estado de ánimo dependen de la puntuación obtenida, es decir, entre mayor sea la puntuación es mayor el nivel de esa emoción.

IV.9.4.2 Intensidad de las emociones

Siguiendo la metodología de Bhumiratana *et al.*, (2019), inmediatamente al ser ingerida la bebida se midió la intensidad de la emoción provocada por el consumo de la bebida, se utilizó un perfil con 44 términos de emociones (Anexo 4) utilizando una escala numérica de 5 puntos (1 = nunca; 2 = ligeramente; 3 = moderadamente; 4 = mucho; 5 = extremadamente). Antes de analizar los datos, los índices de emoción previos a la bebida se restaron de las calificaciones de emoción durante la evaluación. Se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos (HCA) utilizando el método de Ward sobre los datos generales de gusto de la bebida. Luego se separaron los perfiles de emoción de cada participante.

IV.9.4.3 Cuestionario de perfil del estado de ánimo POMS

De acuerdo a la metodología de Jackson *et al.*, (2021) se empleó la versión del POMS en español publicada por Andrade *et al.* (2013), con 44 elementos, que representa seis dimensiones conceptuales: Cólera (11 elementos, Fatiga (6

elementos), Vigor (5 elementos), Amistad (6 elementos), Tensión (7 elementos) y Deprimido (9 elementos). Las respuestas se valoran en 5 puntos dónde 4 es muchísimo y 0 nada. Las afirmaciones se plantearon en un mismo sentido, a excepción del 29-relajado, donde su puntaje debe invertirse al final de la prueba. Los participantes respondieron el cuestionario POMS (Anexo 5), siguiendo la petición “rodea con un círculo el número que mejor describa cómo te sientes ahora mismo”. La oración está formulada para registrar los estados anímicos momentáneos (Jackson *et al.*, 2021).

IV.9.4.4 Medición del estado de ansiedad

State Trait Anxiety Inventory – STAI (Inventario de Ansiedad Estado- Rasgo)

El cuestionario (Anexo 6) constó de dos subescalas compuestas de 20 reactivos cada una de ellas, las cuales evaluaron la ansiedad como estado (STAI-S) y ansiedad como rasgo (STAI-T). Esta herramienta mide la ansiedad momentánea, refiriéndose a como se sienten en una situación particular. Las personas eligen una respuesta en una escala de 0 a 3, 0 es “nada”, 1 “algo”, 2 “bastante” y 3 “mucho” (Spielberger *et al.*, 1983; Vera-Villarreal *et al.*, 2007).

IV.9.4.5 Escala de vitalidad

Siguiendo la metodología de Castillo *et al.*, (2017) se aplicó la traducción al español de la Escala de Vitalidad Subjetiva del cuestionario diseñado por Ryan & Frederick, (1997) para medir la experiencia subjetiva de estar lleno de energía y vivo (vitalidad). La instrucción en el cuestionario (Anexo 7) será “Por favor, responda a cada una de las siguientes afirmaciones indicando el grado en que en general, la afirmación es cierta para usted”. Las respuestas estarán respaldadas usando una escala de Likert de 7 puntos (1 = nada cierto; 7 = muy cierto).

IV.9.4.6 Escala de estados de ánimo transitorios

De acuerdo a Haskell-Ramsay *et al.*, (2018) la siguiente descripciones se presentaron en papel: "relajado", "alerta", "nervioso", "cansado", "tenso", "dolor de cabeza", "estado de ánimo general", y 'mentalmente fatigado'. Se pidió a los participantes que califiquen en qué medida estas descripciones coinciden con su estado actual colocando una 'x' en una línea con los puntos finales etiquetados como 'nada en absoluto' (extremo izquierdo) y 'extremadamente' (extremo derecho); con la excepción de "dolor de cabeza", que estuvo etiquetado como "sin dolor de cabeza" y "dolor de cabeza extremo", "estado de ánimo general", se etiquetó como "muy malo" y "muy bueno". Las calificaciones se puntuaron como % a lo largo de la línea de izquierda a derecha (Anexo 8).

IV.9.5 Evaluaciones fisiológicas

IV.9.5.1 Medición de la presión arterial y pulso

Las mediciones fueron realizadas por personal capacitado teniendo como perfil deseable la formación en enfermería, nutrición o medicina general.

Se midió la presión arterial por medio de un monitor automático, con brazalete inflable, a cada persona se le pidió sentarse en posición cómoda, recostando su brazo izquierdo sobre la mesa, se introdujo el brazalete, ajustando al antebrazo. Se inició la medición automática, por triplicado, los datos se registraron, en una tabla y se obtuvo el promedio, al tiempo 0 y después de consumir la bebida a los tiempos 1, 3 y 6 horas (Eisenberg, 2012). De igual manera se midió el pulso arterial con la ayuda de un monitor automático (oxímetro) en el dedo índice derecho.

V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las pruebas de composición química y nutracéutica (compuestos fenólicos totales, ácido clorogénico, cafeína, antocianinas, taninos condensados, flavonoides y melanoidinas y de la capacidad antioxidante) se evaluaron mediante un análisis de varianza. Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar, con su respectiva prueba de T de Students y Tukey según correspondía ($\alpha=0.05$), mediante el programa Software GraphPad Prism 9 Version 9.5.1 (528).

Las herramientas de evaluación de estados de ánimo se valoraron mediante diagramas de dispersión y estadísticas descriptivas a través de un análisis de conglomerados jerárquicos de acuerdo a (Vega-Dienstmaier & Arévalo-Flores, 2014).

Las evaluaciones fisiológicas de presión arterial y pulso se evaluarón mediante prueba de Dunnet, evaluando las mediciones de los tiempos (1, 3, 6 horas) respecto al tiempo 0 (control).

Para la evaluación de los biomarcadores (saliva y sangre) se evaluaron los efectos principales de las medias obtenidas a los diferentes tiempos respecto al tiempo cero, mediante una prueba de Dunnet.

VI. RESULTADOS

VI.1. Composición proximal de la pulpa de café y el café de desmanche

La composición proximal de la pulpa de café y del café de desmanche, mostrada en la **Tabla 6**, se ve influenciada por varios factores como son: la variedad del café, la altura a la que crece, el estado de maduración al momento de la cosecha, el tipo de procesamiento, el grado de tostado, el grado de molienda y finalmente el almacenamiento (Aguirre et al., 2018; Klingel et al., 2020b; Socala et al., 2021b).

Tabla 6 Composición proximal de la pulpa de café y el café de desmanche en base húmeda.

Composición proximal (%)	Pulpa de café	Café de desmanche
Humedad	4.4 ± 0.39	3.8 ± 0.17
Cenizas	4.3 ± 0.04	9.4 ± 0.05*
Proteína	8.7 ± 0.02	13.6 ± 0.17*
Lípidos	1.6 ± 0.26	5.8 ± 0.33*
Carbohidratos	81.0*	67.3
de los cuales:		
-Fibra dietaria total	49.9 ± 0.003	52.4 ± 0.00*
-Fibra dietaria insoluble	43.5 ± 0.00	45.3 ± 0.00*
-Fibra dietaria soluble	6.5 ± 0.00	7.1 ± 0.00

Cada valor representa la media ± desviación estándar de tres experimentos independientes, * en el mismo renglón indican diferencia significativa ($p < 0.05$) con la prueba de T-Students.

Los carbohidratos en la pulpa (81 %) son significativamente mayores que en el café de desmanche (67.3%), sin embargo, la cantidad de fibra (dietaria total, soluble e insoluble) es mayor en el café de desmanche, siendo en su mayoría fibra insoluble (45.3%). Se ha reportado que las fibras contenidas son principalmente celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina. Un alto contenido de fibra dietaria (mayor al 55%) podría beneficiar al intestino y a la microbiota intestinal; estudios *in vitro* han demostrado que puede promover el crecimiento de bifidobacterias, por lo que

sugiere que su consumo podría tener un efecto prebiótico (Iriundo-DeHond, Iriundo-DeHond, *et al.*, 2020).

El contenido de proteína es mayor en el café de desmanche (13.6 %) que en la pulpa (8.7 %), ambos corresponden a lo reportado por Machiado *et al.*, (2023), donde las proteínas representan el 13.3% en café de desmanche. Iriundo-deHond (2020) reportó que para la pulpa de café el contenido de lípidos estaba entre 0.5 y 3 % por lo que el 1.6 % obtenido en este trabajo se encuentra dentro de lo reportado; para el caso del café de desmanche (5.8 %) se encuentra por debajo de lo reportado por Oliveira, (2006), donde menciona que el rango de lípidos está entre 9-15 %.

El contenido de humedad, aunque es mayor para la pulpa (4.4%) que para el café de desmanche (3.8%), no representa diferencia significativa. Las cenizas son mayores para el café de desmanche (9.4 %), casi el doble que para la pulpa (4.3 %). Respecto a la pulpa Fierro-Cabrales *et al.*, (2018) reporta que los minerales que se han encontrado en las cenizas son P, Zn, K, Mg, Fe, Ca, Cu y Mn.

La pulpa de café, por su composición proximal, puede declararse como un alimento alto en fibra y bajo en grasa, mientras que el café de desmanche como fuente de proteína y alto en fibra. Para que se pueda declarar de esa manera el producto debe contener al menos 6 g de fibra por cada 100 g para ser alto en fibra, no contener más de 3 g de grasa por 100 g de sólidos para ser bajo en grasa y al menos 10% de proteínas por cada 100g de sólidos para ser fuente de proteína, de acuerdo al Comisión del Codex Alimentario (1997) y acorde a lo reportado por (Iriundo-DeHond, *et al.*, (2020).

VI.2. Capacidad antioxidante de la pulpa de café y el café de desmanche.

La capacidad antioxidante evaluada por los métodos de ABTS y DPPH en los extractos etanólicos de la pulpa y del café de desmanche se muestran la **Tabla 7**. Para ambas metodologías, el porcentaje de inhibición, es mayor para el café de

desmanche (68.8% ABTS y 44.6 % DPPH) que para la pulpa (60.4% ABTS y 26.8 % DPPH), y se encuentran dentro de lo ya reportado por otros autores (Iriondo-DeHond, Iriondo-DeHond, *et al.*, 2020; Janissen & Huynh, 2018; Mišek *et al.*, 2021).

Tabla 7 Capacidad antioxidante y porcentaje de inhibición de la pulpa y el café de desmanche.

Capacidad Antioxidante	Pulpa	Café de desmanche
ABTS	16.6 ± 0.02 60.4 % Inhibición	22.1 ± 0.02 * 68.8 % Inhibición
DPPH	12.0 ± 0.01 26.8 % Inhibición	20.9 ± 0.01* 44.6 % Inhibición

Cada valor representa la media ± desviación estándar n=3. * en el mismo renglón indican diferencia significativa (p <0.05) con la prueba de T-Students. La capacidad antioxidante se expresa mmol Eq Trolox/g.

VI.3. Composición nutracéutica de la pulpa y el café de desmanche.

Entre los compuestos nutracéuticos que podemos encontrar en la pulpa y el café de desmanche se encuentran fenoles, taninos condensados, flavonoides, antocianinas, melanoidinas, ácidos clorogénicos y metilxantinas como la cafeína y la trigonelina.

Como se observa en la **Tabla 8**, los fenoles totales no son diferentes entre muestras; para el café de desmanche (23.5 mg EAG/g) son similares a lo reportado mientras que para la pulpa (23.3 mg EAG/g) los valores corresponden a lo reportado por Kusumocahyo *et al.*, (2020). Sin embargo, es importante recordar que esta metodología no es específica ya que puede detectar todos los grupos OH reductores del extracto, incluyendo los de las proteínas extraíbles, además de la interferencia de otros grupos reductores como el ácido ascórbico.

Los taninos se encuentran en la corteza de plantas vasculares, aunque su contenido es menor, también están en frutos, hojas, flores y semillas. Los taninos son considerados como compuestos anti-nutricios para la alimentación animal; sin

embargo, en cantidades determinadas tienen propiedades benéficas para la salud humana, incluyendo que pueden ser antibacterianos, antimicrobianos, inflamatorios, antialérgicos, además de los efectos benéficos sobre las enfermedades cardiovasculares (Janissen & Huynh, 2018). El café de desmanche presentó un mayor contenido de taninos condensados que la pulpa. Los taninos condensados en pulpa (1.4 mg equivalentes (+)-catequina/g de muestra) se asemejan a lo reportado por Iriondo-DeHond, *et al.*, (2020) y el café de desmanche con 3.7 mg equivalentes (+)-catequina/g de muestra se encuentran por debajo de lo reportado (Iriondo-DeHond, *et al.*, 2020).

Tabla 8 Composición nutracéutica del café de desmanche y la pulpa.

Determinación	Pulpa de café	Café de desmanche
Fenoles totales ¹	23.3 ± 0.03	23.5 ± 0.05
Taninos condensados ²	1.4 ± 0.004	3.7 ± 0.005 *
Flavonoides ³	8.4 ± 0.001	17.3 ± 0.05*
Antocianinas totales ⁴	17.6 ± 0.01	ND
Melanoidinas ⁵	117.5 ± 0.03	164.4 ± 0.01*
Ácidos clorogénicos ⁶	0.66 ± 0.0000	0.92 ± 0.0002*
Metilxantinas ⁶		
Cafeína ⁶	1.0 ± 0.001	1.2 ± 0.037
Trigonelina ⁶	0.55 ± 0.000	0.68 ± 0.000*

Cada valor representa la media ± desviación estándar, n=3. * en el mismo renglón indican diferencia significativa (p <0.05) con la prueba de T-Students. ND no detectado, ¹ mg equivalentes de ácido gálico/g de muestra, ² mg equivalentes (+)-catequina/g de muestra, ³ mg equivalentes rutina/g de muestra, ⁴ mg cianidina-3-glucósido /100 g de muestra: ⁵ mg equivalentes melanoidinas de caramelo/g de muestra, ⁶ % de materia seca.

El contenido de antocianinas totales en la pulpa de café (17.6 mg de cianidina-3-glucósido / 100 g de muestra), es similar a lo reportado por Prata y Oliveira (2007), donde realizaron la extracción de antocianinas monoméricas y poliméricas en cinco

variedades de pulpa de café y el contenido promedio de antocianinas monoméricas en cáscara fue de 19.2 mg de pigmento por 100 g de cáscara fresca. Las antocianinas obtenidas de la cáscara de café durante el procesamiento húmedo del café se han propuesto como una fuente potencial colorantes alimentarios naturales. Este subproducto debe manejarse adecuadamente en el proceso de secado para preservar estos compuestos (Iriondo-DeHond, *et al.*, 2020). En el caso del café de desmanche de desmanche las antocianinas no fueron detectadas por esta metodología.

En 2020 se describió la presencia de melanoidinas y la aparición de la reacción de Maillard en la cáscara de café. Las melanoidinas pueden haberse formado durante el secado al sol de la materia prima, como ocurre durante la deshidratación de higos, dátiles y pasas en condiciones similares a las empleadas en el procesamiento de la pulpa (Iriondo-DeHond, Elizondo, *et al.*, 2020b). Las melanoidinas encontradas para la pulpa de café (117.5 mg de equivalentes de caramelo/ g de muestra) son casi el triple de lo reportado por Iriondo-DeHond *et al.*, (2020), esto podría deberse a que las condiciones de secado de la pulpa fueron diferentes, la pulpa se secó inmediatamente después de ser obtenida y estuvo durante 10 días al sol, posteriormente fue molida y almacenada protegida de la luz y la humedad.

Se ha reportado que la bebida de café es la principal fuente de melanoidinas para la dieta humana, contribuyendo a la ingesta total de antioxidantes provenientes de la dieta (Fogliano & Morales, 2011). En el proceso de tostado los granos de café verde se producen cambios estructurales y químicos, donde los polisacáridos, como los arabinogalactanos y galactomananos, proteínas y compuestos fenólicos, principalmente hidroxicinamatos, contribuyen a la formación de las melanoidinas. Las melanoidinas reportadas previamente para el grano de café son de entre 36-115 mg de equivalentes de melanoidinas/g de café (Fogliano & Morales, 2011), en este caso para el café de desmanche se reportan 164.4 mg equivalentes de melanoidinas / g de café, esta diferencia podría deberse a que en este proyecto se usaron los granos de café con defectos y ellos reportan en cafés comerciales. Además de que el tostado fue reciente, respecto a cuando es un café comercial.

Los ácidos clorogénicos en café tostado se han encontrado en un rango de 1-4 % del peso seco (Socała *et al.*, 2021b) por lo que el resultado para café de desmanche (0.92 % de peso seco) se ubica en este intervalo. El ácido clorogénico puede tener un efecto neuroprotector ya que reduce la neuroinflamación y la neurotoxicidad en células de neuroblastoma humano SH-SY5Y (modelo de función y diferenciación neuronal) causadas por factores tóxicos liberados por la microglía y los astrocitos activados (Socała *et al.*, 2021b).

La cafeína es el compuesto químico más estudiado del café, debido a su acción psicoestimulante y a los efectos sobre la salud. En la pulpa de café se encontró 1.0% de cafeína (**Tabla 8**), similar a lo reportado por (Iriundo-DeHond, Iriundo-DeHond, *et al.*, 2020), lo encontrado para el café de desmanche (1.2 %) concuerda con lo reportado por (Honda *et al.*, 2022). La ingesta moderada de cafeína se asocia con la reducción de la fatiga, mejora en el estado de alerta, lo que conduce a un mejor rendimiento en tareas psicomotoras que necesitan una respuesta rápida. Además, se ha demostrado que la cafeína tiene propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas y neuroprotectoras (Socała *et al.*, 2021b).

El valor de la trigonelina presente en el café de desmanche (0.68 %) está dentro de lo reportado (0.7-1.2 % en peso seco) para café tostado medio (Atlabachew *et al.*, 2021b; Socała *et al.*, 2021b). Por otro lado, la trigonelina en la pulpa de café (0.55 %) (**Tabla 8**) es menor ($p < 0.05$) respecto a lo encontrado en café de desmanche (0.68 %). A la trigonelina, el segundo alcaloide más abundante en los granos de café, se le atribuyen diversos efectos farmacológicos como actividad antihiper glucémica, antihiperlipidémica, antibacteriana, antiviral y antitumoral (Konstantinidis *et al.*, 2023). Los efectos neuroprotectores de la trigonelina no se han estudiado extensamente. Sin embargo, hay varios estudios preliminares *in vitro* e *in vivo* que muestran que la trigonelina proporciona neuroprotección y puede ser benéfica en el tratamiento de algunas enfermedades neurodegenerativas (Socała *et al.*, 2021b).

VI.4. Diseño de las formulaciones para la elaboración de las bebidas

Se realizaron tres mezclas iniciales (**Tabla 9**) para elaborar una bebida de 60 ml. Las mezclas fueron a partir del café molido de desmanche y la pulpa de café molida, éstas mezclas se utilizaron en una relación 1:10 (mezcla: agua) para la elaboración del Cold Brew, y estas tres bebidas fueron caracterizadas nutracéuticamente y en su capacidad antioxidante.

Tabla 9 Proporciones de pulpa y café de desmanche molidos para las mezclas iniciales.

Formulación 60ml	Pulpa (gramos)	Café (gramos)
Cold Brew 1 (CB1) 2:1	4	2
Cold Brew 2 (CB2) 1:1	3	3
Cold Brew 3 (CB3) 1:2	2	4

VI.5. Caracterización de las bebidas Cold Brew

La presencia de compuestos fenólicos y metilxantinas en las bebidas Cold Brew podrían indicar el potencial funcional de las mismas. Las tres bebidas elaboradas (CB1, CB2 y CB3) fueron caracterizadas en cuanto al contenido de fenoles totales, taninos condensados, flavonoides, antocianinas totales y melanoidinas (**Tabla 10**).

La bebida CB1 tuvo mayor ($p < 0.05$) contenido de fenoles totales (181.5 ± 1.16 mg EAG/ml) respecto a las bebidas CB2 y CB3 (155.7 ± 1.22 EAG/ml y 141.4 ± 1.92 EAG/ml, respectivamente). El contenido de taninos condensados también fue mayor

en la bebida CB1 (2.1 ± 0.0 mg Eq. catequina/ml) respecto a las bebidas CB2 y CB3 (1.6 y 1.5 mg Eq. catequina/ml, respectivamente). En el contenido de flavonoides no se encontró diferencias entre las tres bebidas, mientras que para las antocianinas y melanoidinas la concentración fue mayor en la bebida CB1 respecto a las CB2 y CB3. Las antocianinas, los ácidos cafeoilquínicos, las catequinas y la cafeína, están asociadas a la reversión del deterioro cognitivo (Howes *et al.*, 2020).

Tabla 10 Composición nutracéutica de las bebidas Cold Brew a partir las mezclas de café y pulpa.

Determinación	CB1	CB2	CB3
Fenoles totales ¹	181.5 ± 1.16^a	155.7 ± 1.22^b	141.4 ± 1.92^b
Taninos condensados ²	2.1 ± 0.0^a	1.6 ± 0.0^b	1.5 ± 0.0^c
Flavonoides ³	39.5 ± 2.8^a	38.8 ± 2.4^a	43.0 ± 2.2^a
Antocianinas totales ⁴	9.4 ± 0.0^a	1.8 ± 0.0^b	7.2 ± 0.0^c
Melanoidinas ⁵	5.6 ± 1.4^a	5.5 ± 1.4^b	4.6 ± 0.7^c

Cada valor representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. Valores con diferente letra en el mismo renglón indican diferencia significativa (p) con la prueba de Tukey-Kramer. ¹ mg equivalentes de ácido gálico/ml, ² mg equivalentes (+)-catequina/ml, ³ mg equivalentes rutina/ml, ⁴ mg cianidina-3-glucósido /ml, ⁵ mg equivalentes melanoidinas de caramelo/ml, ⁶ mg/L.

Las melanoidinas contribuyen en gran medida a la ingesta total de antioxidantes. Los antioxidantes en la dieta española provienen principalmente del café (Fogliano & Morales, 2011), por lo que fue un parámetro elegido, además de la capacidad antioxidante, para determinar la mezcla de base de la bebida Cold Brew con mejores características.

De acuerdo a lo reportado previamente por Fogliano y Morales (2011), en una bebida de café podemos encontrar entre 2.5 y 8.1 mg de melanoidinas por mL de café, esto dependerá del método de preparación de la bebida. Por lo que, los valores reportados para las bebidas Cold Brew formuladas en este trabajo, con diferentes mezclas de pulpa y café se encuentran dentro del intervalo (4.6-5.6 mg de equivalentes de

melanoidinas por ml) (**Tabla 10**), siendo la mezcla 1:2 (CB1), café:pulpa la que presenta mayor contenido de melanoidinas (5.6 mg/ml).

Las melanoidinas y otros compuestos antioxidantes producidos durante el proceso de tostado pueden no ser solubles en agua a baja temperatura, lo que reduce la eficiencia de extracción del proceso de preparación en frío (Rao *et al.*, 2020).

VI.6. Capacidad antioxidante por ABTS y DPPH para bebidas Cold Brew

Se encontró que la bebida CB1 mostró capacidad antioxidante (**Tabla 11**) con un 39.2 % de inhibición para ABTS correspondiente a 6.5 mmol ET/L, siendo esto mayor ($p < 0.05$) respecto a las bebidas CB2 y CB3; sin embargo, las tres bebidas: CB1, CB2 y CB3, presentan capacidad antioxidante sin diferencias entre ellas. Para el radical ABTS (48.7 ± 1.46 , 48.3 ± 0.93 , 49.0 ± 1.56 mmol ET/L CB1, CB2 y CB3 respectivamente), estos valores concuerdan por lo reportado para bebidas de pulpa de café (3-9 mmol ET/L) (Heeger *et al.*, 2017b).

Tabla 11 Capacidad antioxidante evaluada mediante los métodos de ABTS y DPPH para las mezclas de las bebidas Cold Brew

ABTS	CB1	CB2	CB3
Porcentaje de Inhibición (%)	48.7 ± 1.46^a	48.3 ± 0.93^a	49.0 ± 1.56^a
1 mmol ET / L	29.4 ± 0.02^a	29.9 ± 0.00^a	30.5 ± 0.01^b
DPPH			
Porcentaje de Inhibición (%)	48.3 ± 3.03^a	38.2 ± 2.74^b	32.1 ± 3.94^c
1 mmol ET / L	41.1 ± 0.02^a	35.9 ± 0.02^b	32.7 ± 0.03^c

Cada valor representa la media de tres repeticiones \pm desviación estándar. ¹ La capacidad antioxidante se expresa mmol Equivalentes de Trolox /L.

Sin embargo, de acuerdo a lo reportado como capacidad antioxidante por ABTS para Cold Brew (11-13 mmol ET/L) todas la mezclas presentan cerca del doble de los valores reportados (Rao *et al.*, 2020). Esto puede deberse a que es una mezcla tanto de pulpa como de café de desmanche.

La diferencia en la capacidad antioxidante entre los cafés preparados en frío y en caliente con un mayor grado de tueste, indica que los cambios químicos y físicos que ocurren durante el tueste dan como resultados compuestos antioxidantes que están menos disponibles y menos solubles durante el proceso de preparación en frío. La temperatura de extracción del agua influye en el rendimiento de los compuestos antioxidantes en todos los tuestes, pero de manera más significativa en los cafés de tueste oscuro (Rao *et al.*, 2020).

VI.7. Perfil fenólico y de metilxantinas para las bebidas

El perfil de compuestos fenólicos y de metilxantinas puede darnos información acerca de la composición de las bebidas, lo cual podría estar relacionado con la actividad biológica de éstas. Efectos de benéficos en la mejora del estado de ánimo y la neuroprotección están asociados al consumo alimentos ricos en polifenoles y metilxantinas (Robinson *et al.*, 2021).

La identificación y cuantificación de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos y flavonoides), y metilxantinas, relacionados con efectos benéficos en la neuroprotección, la vitalidad, la disminución de la ansiedad y un aumento de los estados de ánimo positivos, en las tres diferentes bebidas se muestra en la **Tabla 12**. La bebida CB1 tuvo las mayores concentraciones en 6 de los 10 compuestos fenólicos identificados: ácido caféico ($13.9 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$), ácido *p*-cumárico ($39.1 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$), ácido ferúlico ($15.7 \pm 0.0 \mu\text{g/ml}$), catequina ($428.3 \pm 15.5 \mu\text{g/ml}$), epicatequina ($449.9 \pm 0.3 \mu\text{g/ml}$), galato de epicatequina ($0.3 \pm 0.0 \mu\text{g/ml}$) y en las dos metilxantinas:

cafeína ($0.4 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) y trigonelina ($1.2 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$), respecto a las bebidas CB2 y CB3.

La mayor concentración de ácido gálico ($19.4 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$) y de cianidina 3-glucósido ($199.8 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$) se encuentra en la bebida CB3, mientras que la bebida CB2 contiene las mayores concentraciones de ácido clorogénico ($206.1 \pm 2.3 \mu\text{g/ml}$) y rutina ($192.7 \pm 0.9 \mu\text{g/ml}$).

Tabla 12 Compuestos fenólicos y metilxantinas identificados por HPLC en las bebidas Cold Brew.

Ácidos fenólicos	CB1	CB2	CB3
	2 pulpa: 1 café	1 pulpa: 1 café	1 pulpa: 2 café
Ácido clorogénico	181.6 ± 0.8^a	206.1 ± 2.3^b	205.9 ± 3.5^b
Ácido <i>p</i> -cumárico	39.1 ± 0.2^a	29.9 ± 0.8^b	24.3 ± 0.5^c
Ácido ferúlico	15.7 ± 0.0^a	7.8 ± 0.03^b	4.9 ± 0.0^c
Ácido caféico	13.9 ± 0.1^a	6.5 ± 0.5^b	5.6 ± 0.6^b
Ácido gálico	10.6 ± 0.2^a	13.8 ± 0.2^b	19.4 ± 0.1^c
Flavonoides			
Catequina	428.3 ± 15.5^a	372.2 ± 5.0^b	190.7 ± 22.7^c
Epicatequina	449.9 ± 0.3^{ac}	439.4 ± 1.7^{bc}	446.1 ± 7.7^{ab}
Galato de epigalotequina	0.3 ± 0.00^a	0.06 ± 0.01^b	0.08 ± 0.06^b
Cianidina 3-glucósido	196.4 ± 0.3^a	180.6 ± 1.0^b	199.8 ± 0.4^c
Rutina	122.8 ± 0.02^a	192.7 ± 0.9^b	175.5 ± 0.7^c
Metilxantinas			
Cafeína	0.4 ± 0.02^a	0.17 ± 0.00^b	0.08 ± 0.007^c
Trigonelina	1.2 ± 0.06	1.09 ± 0.02	1.10 ± 0.006

Los valores representan la media \pm la desviación estándar. Letras diferentes por renglón indican diferencias significativas Tukey ($p < 0.05$). Los resultados de este ensayo están expresados en $\mu\text{g/}$ por ml de bebida ($\mu\text{g/ml}$).

VI.8. Características fisicoquímicas (pH, °Brix y Sólidos Disueltos Totales) para las bebidas

El Cold Brew es una categoría de bebida de café muy popular, representa el 10 % de todas las ventas de café en los Estados Unidos (National Coffee Data Trends Report, 2022). Existe la creencia generalizada de que el café preparado en frío es más dulce y menos ácido (tanto química, como sensorialmente) que el café preparado en caliente y enfriado, lo que impulsa su reciente popularidad. Parámetros asociados a esta percepción son el pH, los °Brix y los sólidos disueltos totales (SDT) (Batali *et al.*, 2022).

En la **Tabla 13** se pueden apreciar estas características en las tres bebidas. La bebida CB1 presentó mayor pH (4.8 ± 0.015) que CB2 (4.64 ± 0.023) y CB3 (4.48 ± 0.012), esto coincide con lo reportado para las bebidas Cold Brew de café (4.8 a 5.8) y para las infusiones de pulpa de café (4.8 ± 0.015) (Jiamjariyatam *et al.*, 2022) .

Tabla 13 Características físicas de las bebidas.

Característica	CB1	CB2	CB3
pH	4.80 ± 0.015^a	4.64 ± 0.023^b	4.48 ± 0.012^c
°Brix	5.77 ± 0.058^a	3.53 ± 0.058^b	3.77 ± 0.058^b
Sólidos Disueltos Totales (SDT) ¹	1.35 ± 0.001^a	1.55 ± 0.00^b	1.53 ± 0.00^b

Los valores representan la media \pm la desviación estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas (Tukey. $p < 0.05$).

¹Los resultados de este ensayo están expresados en mg por ml de muestra (mg/ml).

En las bebidas de café un pH cercano a 5, está asociado con la percepción sensorial de más dulce y menos ácido (Angeloni *et al.*, 2019). Por lo que se esperaría una buena aceptación sensorial entre los consumidores.

Los °Brix se relacionan con el dulzor en las bebidas, siendo que la bebida CB1 tiene mayor concentración (5.77 ± 0.058), respecto a las CB2 y CB3 (3.53 ± 0.058 y 3.77 ± 0.058 respectivamente).

Los sólidos disueltos totales (SDT) en bajas concentraciones, en las bebidas del café, están relacionados con la percepción de “taza limpia”, que es un término de la SCA (Specialty Coffee Association, 2023) referente a una sensación de agrado en la boca. La bebida CB1 es la que presentó menor concentración ($p < 0.05$) de SDT (1.35 ± 0.001 mg/ml) respecto a las bebidas CB2 y CB3 (1.55 ± 0.00 mg/ml y 1.53 ± 0.00 mg/ml, respectivamente). Estos valores concuerdan con lo reportado en para bebidas Cold Brew ($1.1 - 8.4$ mg/ml).

El café menos fuerte y con menos SDT es más dulce que los cafés con más SDT, mientras que la acidez y el amargor aumentan con SDT (Batali *et al.*, 2022).

VI.9. Criterios de elegibilidad para la selección de bebida Cold Brew

De acuerdo a los análisis realizados, se eligió como formulación para usarse en el ensayo de la evaluación del potencial funcional a la bebida CB1. Los criterios de considerados fueron los siguientes:

- 1) La disponibilidad de la pulpa es mayor respecto al café de desmanche, está formulación contenía 2 partes de pulpa por cada parte de café.
- 2) El contenido de fenoles totales fue mayor para está formulación (181.5 ± 1.16 mg EAG/ml).
- 3) De los compuestos fenólicos identificados, el 60 % de los mismos se encontraron en mayores concentraciones en esta bebida: ácido caféico (13.9 ± 0.1 µg/ml), el ácido *p*-cumárico (39.1 ± 0.2 µg/ml), el ácido ferúlico (15.7 ± 0.0 µg/ml), catequina (428.3 ± 15.5 µg/ml), epicatequina (449.9 ± 0.3 µg/ml), galato de epicatequina (0.3 ± 0.0 µg/ml).

4) Las metilxantinas: cafeína ($0.4 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) y trigonelina ($1.2 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) tuvieron mayor concentración, pero se mantenían en el rango del límite máximo ($2.5 \mu\text{g/ml}$).

5) La capacidad antioxidante para el radical ABTS no tuvo diferencia respecto a las otras bebidas, mientras que la actividad antioxidante para el radical DPPH fue mayor en esta bebida.

6) Presentó las mejores características de pH, Brix y SDT, asociados a la percepción sensorial agradable para los consumidores.

7) Contenía más ácidos clorogénicos (10.4 mg/ml) que los reportados para un efecto benéfico sobre los estados de ánimo (4 mg/ml) (Robinson *et al.*, 2021).

VI.10. Calidad microbiológica para la bebida Cold Brew

Las bebidas destinadas al consumo humano deben cumplir al menos la calidad microbiológica establecida en las normas oficiales mexicanas (NOM-218-SSA1-2011. Productos y Servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína, 2011).

La bebida CB1 fue analizada microbiológicamente y se encuentra dentro de los límites permisibles (**Tabla 14**), por lo que su consumo es seguro, no representa algún riesgo a la salud.

Tabla 14 Análisis microbiológicos de la bebida Cold Brew.

Determinación	Valor de referencia ⁴	Bebida Cold Brew ⁵
BMA ¹	50	42
Mohos ²	NA	1
Levaduras ²	NA	4

Coliformes Totales ³	10	<0.3
Coliformes Fecales ³	NA	<0.3

¹ Estimación de bacterias mesófilas aerobias (BMA) en UFC (Unidades Formadoras de Colonias) / ml de muestra, ² UFC/ ml de muestra, ³ NMP (Número Más Probable) /gramos de muestra, ⁴NOM-218-SSA1-2011. Productos y Servicios. Bebidas saborizadas no alcohólicas, sus congelados, productos concentrados para prepararlas y bebidas adicionadas con cafeína. Especificaciones y disposiciones sanitarias. Métodos de prueba, ⁵ resultado obtenido por LECRIMA (Laboratorio para la Evaluación y Control de Riesgos Microbianos en Alimentos).

VI.11. Evaluación del potencial funcional : Descripción del grupo de estudio

Se invitó a participar en el ensayo clínico a través de carteles (Anexo 1) publicados en redes sociales oficiales de la Facultad de Química (Facebook e Instagram).

58 voluntarios contestaron la encuesta preliminar, de los cuales solo 20 cumplían con los criterios de inclusión. Los 20 participantes asistieron a una plática informativa y firmaron el consentimiento informado, sin embargo, a la primera evaluación (mediciones antropométricas) se presentaron 18. Terminaron el ensayo 15 participantes, 3 se retiraron después de la primera semana de intervención.



Figura 8 Descripción de la población de estudio.

El 70% de la población fueron mujeres con una edad promedio de 24.4 ± 4.9 años, un peso promedio de 61.2 ± 12.5 kg, altura promedio de 165.2 ± 6.9 cm, con

normopeso (Índice de Masa Corporal de 24.5 ± 3.7). Siendo consumidores habituales de café con un consumo promedio de 2-3 tazas al día (**Figura 8**). El 30 % de la población fueron hombres con una edad promedio de 24.7 ± 3.5 años, con un peso promedio de 75.3 ± 12.5 kg, altura promedio de 160.3 ± 6.8 cm, con normopeso (Índice de Masa Corporal de 23.9 ± 4.5). Siendo consumidores habituales de café con un consumo promedio de 3-4 tazas al día.

VI.12. Efecto de las bebidas sobre respuestas fisiológicas (presión arterial y pulso)

La presión arterial y el pulso son respuestas fisiológicas que cambian cuando hay estímulos psicológicos como las emociones (Suárez, *et al*, 2019), o cuando se ingiere algún psicoestimulante como las metilxantinas (cafeína y trigonelina) (Stefanelloa *et al.*, 2019) .

Se midió el pulso de los participantes (**Figura 9**), a los tiempos 0h, 2h y 5h después de consumir aleatoriamente la bebida (Cold Brew CB1 o placebo). No se encontró diferencia en el pulso al tiempo 0 entre grupos para la intervención con Cold Brew y con placebo, siendo 71.9 y 71.2, respectivamente. Pero si hubo diferencia ($p < 0.05$) entre el tiempo basal (0 h) y los tiempos post ingesta de las bebidas (2 y 5 h), aumentando tanto a las 2 horas (78 para Cold Brew y 77.4 para placebo) como a las 5 horas (79.6 para Cold Brew y 76.7 para placebo).

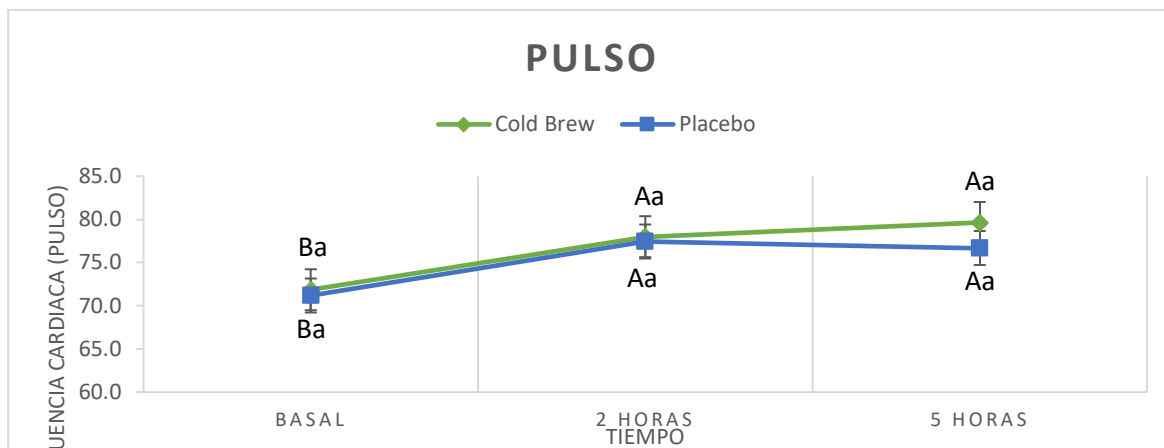


Figura 9 Efecto del consumo de bebidas (Cold Brew CB1 y placebo) sobre el pulso, en tres diferentes tiempos.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$). Letras mayúsculas indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$).

En ambos tiempos las intervenciones donde se consumió la bebida Cold Brew fue mayor el aumento en el pulso, sin embargo, no es significativo respecto al consumo del placebo, y además se encuentra dentro de los valores normales de pulso (60-100 pulsaciones por minuto) de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2023). Los estímulos estresores causan una reacción fisiológica en el cuerpo, provocando cambios físicos y psicológicos que afectan los niveles de proteínas, glucocorticoides, andrógenos que influyen en los procesos infecciosos, así como un aumento de la coagulación, del pulso y de la presión arterial (Suárez, *et al*; 2019).

La medición de signos vitales, como el pulso y la presión arterial, son variables asociadas a respuestas provocadas por cambios en las emociones humanas (Suárez, *et al*; 2019). La presión arterial media en los participantes se midió al tiempo cero (basal), respecto a la ingesta de las bebidas y a las 2 y 5 horas (**Figura 10**). Durante este tiempo los participantes estuvieron realizando sus actividades cotidianas, regresando a los tiempos indicados para las mediciones.

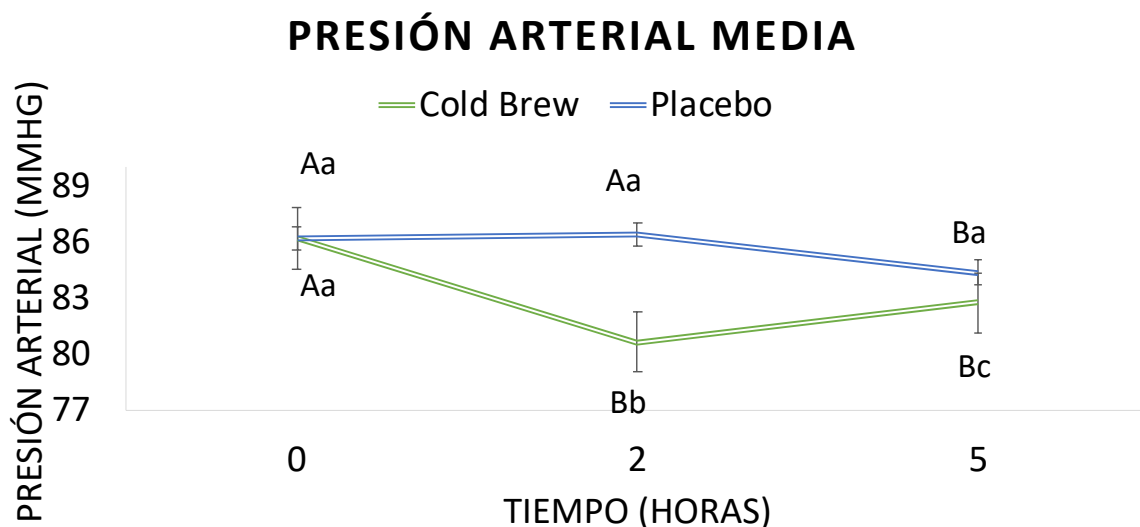


Figura 10 Efecto del consumo de bebidas (Cold Brew CB1 y placebo) sobre la presión arterial, en tres diferentes tiempos.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras mayúsculas diferentes indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$).

La intervención donde se ingirió el placebo mostró una disminución en la presión arterial media a las 5 horas (84.4 ± 12.4 mmHg) respecto a los tiempos 0 y 2 horas (86.2 ± 10.7 mmHg y 86.4 ± 12.9 mmHg, respectivamente), pero sin diferencia ($p < 0.05$) entre tiempos. Durante la intervención donde se ingirió la bebida Cold Brew, hubo una disminución ($p < 0.05$) de la presión arterial media en los tiempos 2 y 5 horas (80.6 ± 19.2 mmHg y 82.8 ± 12.6 mmHg, respectivamente), respecto al tiempo 0 (86.2 ± 11.1 mmHg).

Los resultados fueron contrarios a los esperados, pues se esperaba que la presión arterial aumentara consecuencia de la ingesta de cafeína presente en la bebida Cold Brew, esto debido a que la cafeína actúa como antagonista no selectivo de la adenosina A1 y A2. La inhibición del receptor A1 aumenta la liberación de noradrenalina en la placa neuromuscular, ejerciendo un efecto vasopresor indirecto,

mientras que la inhibición del receptor A2 tiene un efecto vasoconstrictor directo (Schuster & Mitchell, 2019).

Además de que el 90% de la cafeína se absorbe dentro de los 45 minutos siguientes a la ingesta de consumo de una dosis moderada (50-250 mg). Las concentraciones plasmáticas máximas se alcanzan aproximadamente 30 minutos después de la ingesta y la vida media es de aproximadamente 2.5 a 5 h (Schuster & Mitchell, 2019). Por lo que la ingesta de la cafeína suponía un incremento en la PA media (PAM), consecuencia del efecto vasopresor, la vasoconstricción y la resistencia vascular periférica. Sin embargo este comportamiento se ha observado en dosis elevadas de cafeína (>200 mg) (Moreyra *et al.*, 2018).

La bebida placebo no contenía cafeína y la bebida Cold Brew tenía una concentración baja de cafeína (24 mg) y alta de ácidos clorogénicos (10.4 mg/ml) por lo que el efecto de disminuir la presión arterial media pudiera estar relacionado con estas concentraciones, y sumar al efecto de los taninos que se comenta más adelante.

En estudios previos dónde administraron extractos de ácidos clorogénicos a largo plazo y en diferentes dosis 0.25, 0.5 y 1% de la dieta, disminuyó la presión arterial sistólica (PAS) de forma dependiente de la dosis (199, 186 y 179 mmHg, respectivamente, frente a 211 mmHg en la dieta de control). Sin encontrar algún cambio significativo en el grupo normotenso (Tajik *et al.*, 2017) .

Sin embargo, la bebida Cold Brew tiene otros compuestos bioactivos a los que se les ha atribuido actividad antihipertensiva, y que se encuentran en cantidades relevantes para mostrar este efecto. Estos compuestos son las melanoidinas, los ácidos clorogénicos, los taninos y los flavonoides (Rauf *et al.*, 2019; Klingel *et al.*, 2020b; Robinson *et al.*, 2021).

El contenido de melanoidinas es de 1.65 g por bebida Cold Brew, estos compuestos son considerados fibra dietaria antioxidante que participan en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Fogliano & Morales, 2011).

Los ácidos clorogénicos son antioxidantes y antiinflamatorios, lo que puede contribuir a sus efectos neurocognitivos benéficos al proteger a las neuronas. Además, la administración crónica está asociada con una disminución de la presión arterial y mejoras en la función endotelial al promover la liberación de óxido nítrico y tromboxano A2 (Schuster & Mitchell, 2019).

Los taninos condensados también conocidos como proantocianidinas, alivian las enfermedades cardiovasculares a través de la relajación de los vasos y la inhibición de la oxidación de LDL. La relajación de los vasos sanguíneos está relacionada con la disminución de la presión arterial (Rauf *et al.*, 2019).

VI.13. Efecto del consumo de bebidas en las emociones

Las emociones humanas y los estados de ánimo, se originan en el sistema nervioso como respuestas fisiológicas a un estímulo interno o externo. Para la evaluación de las emociones no existe una forma directa de hacerlo, ya que estas se producen en el sistema nervioso y por ende se requiere de procedimientos invasivos (Suárez, *et al.*; 2019). Sin embargo, se pueden evaluar a través de cuestionarios validados, que evalúan distintas dimensiones del estado de ánimo.

Dos herramientas muy utilizadas para generar perfiles del estado de ánimo son: La Escala de Valoración del Estado de Ánimo (EVEA) y el cuestionario Profile of Mood States (POMS por sus siglas en inglés), que en español es conocido como: El Perfil de los Estados de Ánimo (Andrade *et al.*, 2013). Haskell-Ramsay *et al.*, (2018) propusieron una herramienta para evaluar los estados de ánimo transitorios, estos resultados complementan y confirman los observados en EVEA y POMS.

En la **Figura 11**, están graficados los cambios en la escala de emociones para Tristeza/depresión. Los resultados de la intervención con la bebida Cold Brew se presentan de lado izquierdo, mientras que los del placebo de lado derecho. Cada grupo tiene tres barras, correspondientes a los tres tiempos (0, 2 y 5 horas).

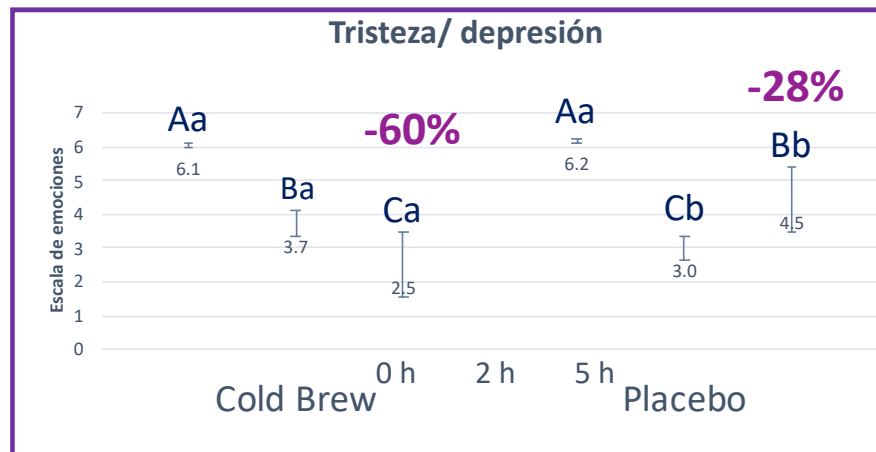


Figura 11 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Tristeza/depresión, en diferentes tiempos, para dos intervenciones en las que se ingirió Cold Brew o placebo.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n=15$. Letras minúsculas diferentes por barra indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras diferentes mayúsculas por barra indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$). Los porcentajes representan el cambio en la sensación de emoción Tristeza/depresión respecto a la misma sensación en el estado basal.

La sensación inicial (tiempo 0 h) de tristeza/depresión en la escala de emociones, entre las intervenciones con Cold Brew y con placebo (6.1 y 6.2 en la escala de emociones de EVEA) no mostró diferencias, pero fue mayor ($p < 0.05$) en ambas respecto a las sensaciones reportadas a los tiempos 2h y 5 horas.

En la intervención con la bebida Cold Brew, a las 2 horas los participantes manifestaron una disminución del 60% en la sensación de tristeza/depresión respecto a la sensación inicial (de 6.1 a 3.7 en la escala de emociones de EVEA), y esta sensación disminuyó a las 5 horas no sólo respecto a la inicial (de 6.1 a 2.5 en la escala de emociones de EVEA), sino también respecto al tiempo 2 horas (de 3.7 a 2.5 en la escala de emociones de EVEA).

Se observaron comportamientos similares para sensaciones de Ansiedad, Ira/hostilidad. Siendo mayor las sensaciones en los estados basales y disminuyendo

con el paso del tiempo. Esto se puede observar en la **Figura 12 y 13**, para la ansiedad y la Ira/hostilidad respectivamente del cuestionario EVEA.

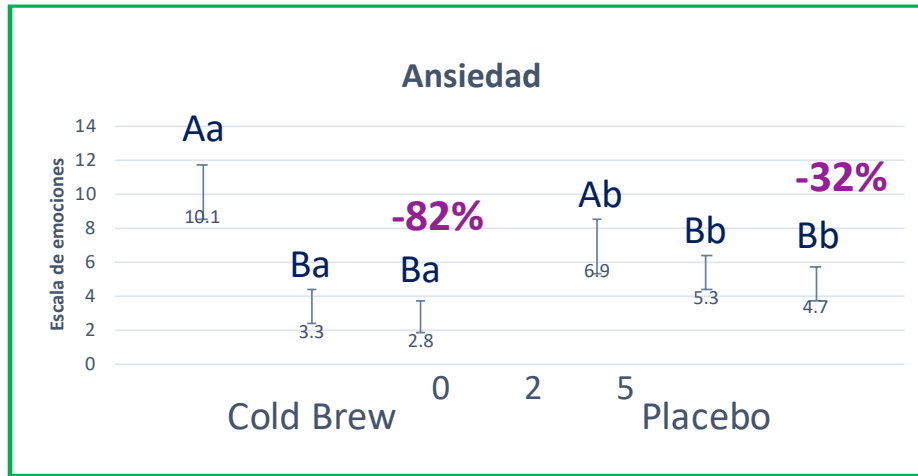


Figura 12 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Ansiedad, en diferentes tiempos, para dos intervenciones en las que se ingirió Cold Brew o placebo.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n= 15$. Letras minúsculas diferentes por barra indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras diferentes mayúsculas por barra indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$). Los porcentajes representan el cambio en la sensación de emoción con el paso del tiempo respecto a la misma sensación en el estado basal.

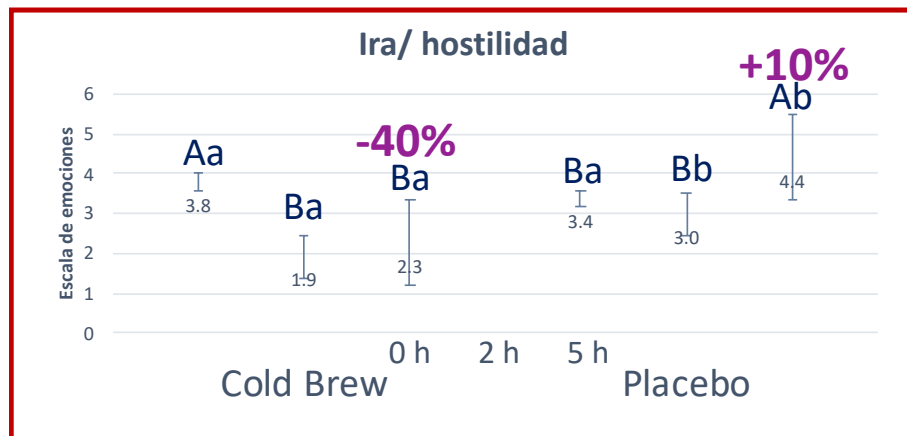


Figura 13 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Ira/hostilidad, en diferentes tiempos, para dos intervenciones en las que se ingirió Cold Brew o placebo.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n=15$. Letras minúsculas diferentes por barra indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras diferentes mayúsculas por barra indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$). Los porcentajes representan el porcentaje de cambio en la sensación de emoción con el paso del tiempo respecto a la misma sensación en el estado basal.

Las intervenciones con placebo muestran también una disminución en las sensaciones de ansiedad, Ira/hostilidad, sin embargo, esta disminución no se sostiene a lo largo del tiempo, esto pudiera explicarse debido a que el sólo hecho de realizar la intervención genera un cambio. Siendo relevante la diferencia respecto al grupo donde se intervino con la bebida Cold Brew, en dónde la sensación de ansiedad disminuyó hasta en un 82% y la ira/hostilidad hasta en un 40%.

Esta respuesta, podría estar asociada a los compuestos bioactivos presentes en la misma. Es importante mencionar qué, para el caso de la ansiedad, la disminución “real” debe considerar también el efecto de la intervención, estimado mediante el efecto en el grupo placebo, por lo que la bebida Cold Brew disminuyó esta emoción en un 50%.

El estado de ansiedad también fue evaluado mediante la prueba STAI, los resultados se presentan en las **Figuras 14 y 15**, donde hay 20 oraciones, de arriba hacia abajo 11 corresponden al estado de ansiedad y 9 son de calma y tranquilidad.

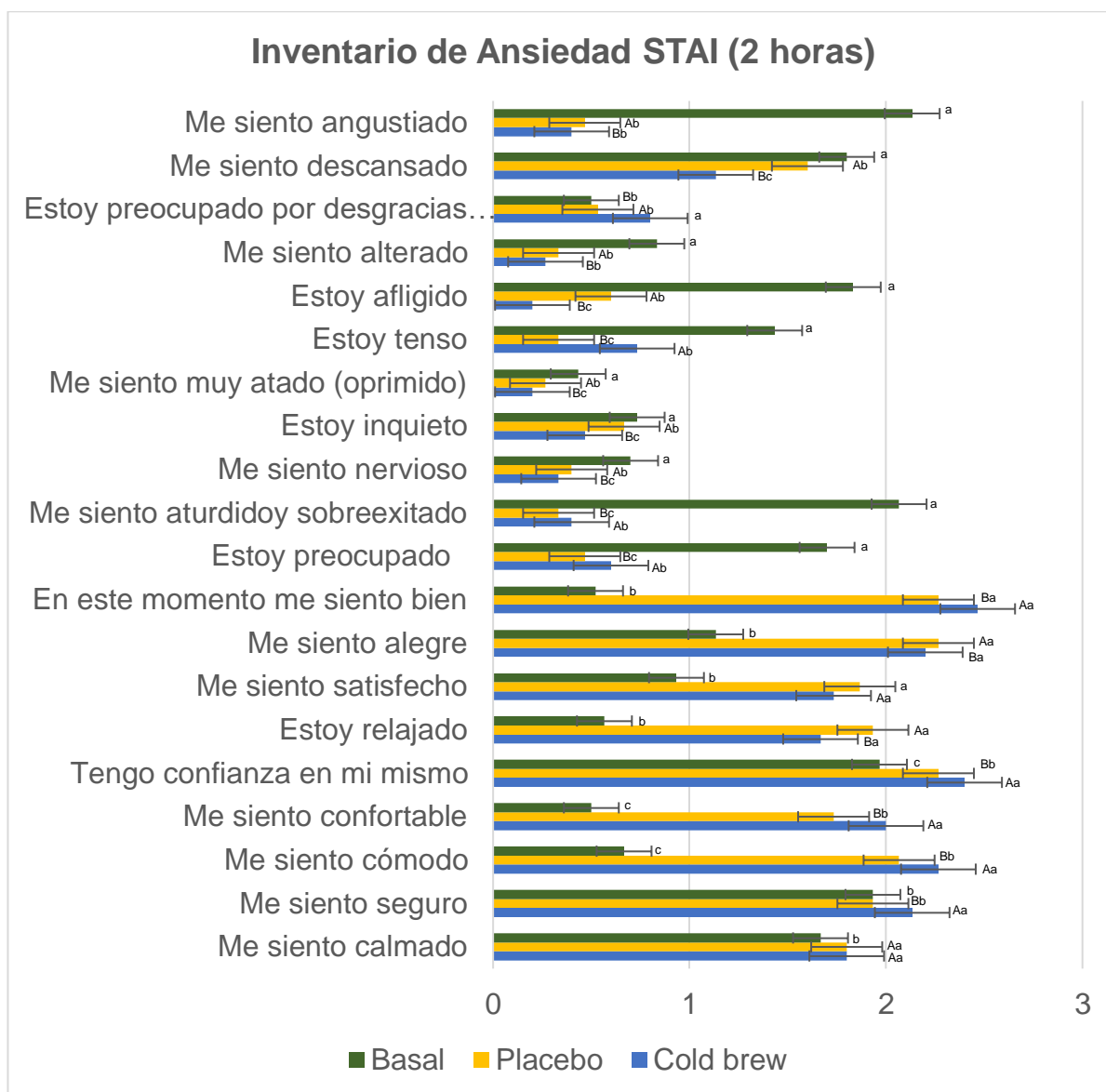
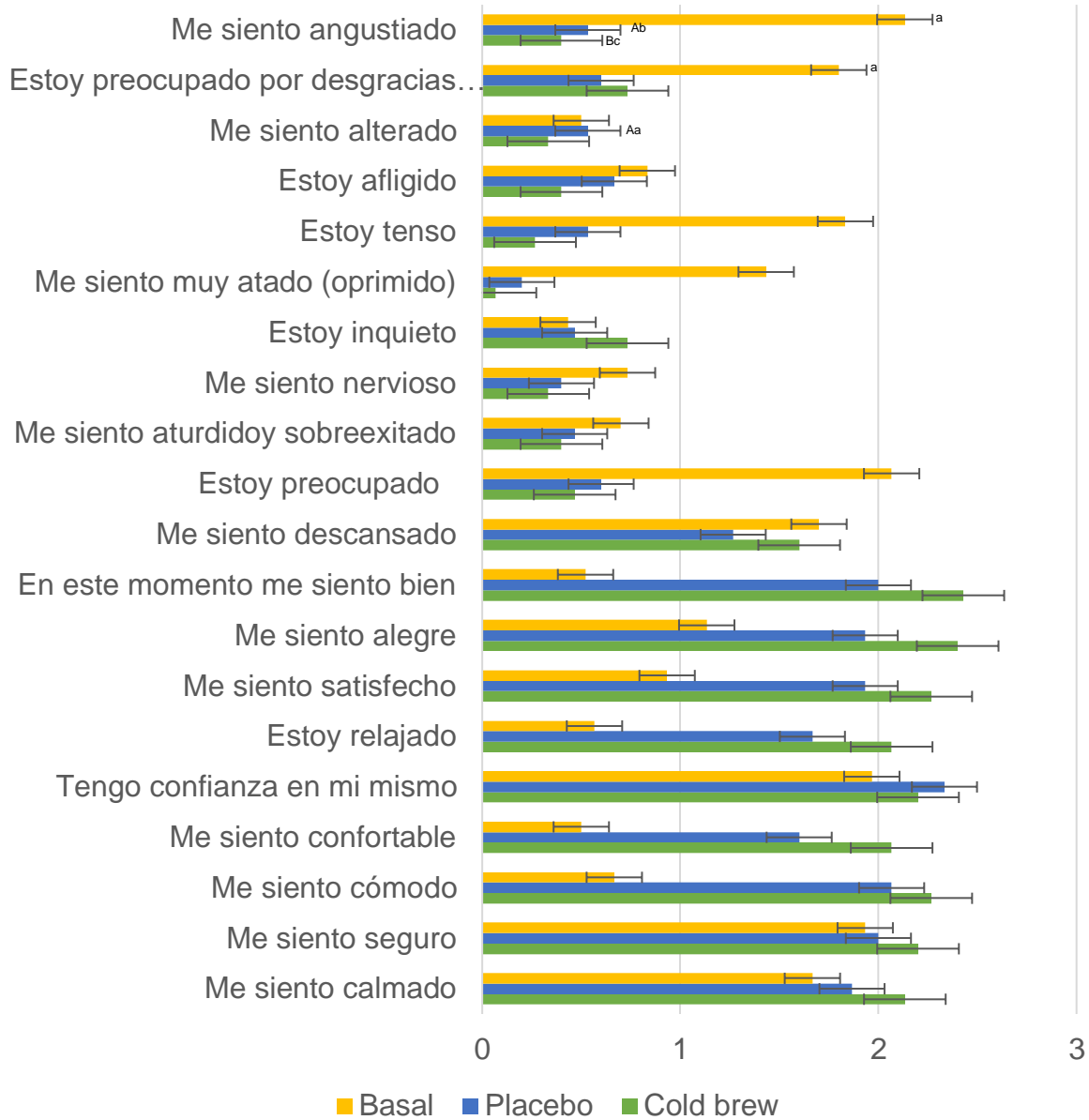


Figura 14. Inventario de ansiedad (STAI) post ingesta de 2 horas.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

Inventario de Ansiedad STAI (5 horas)



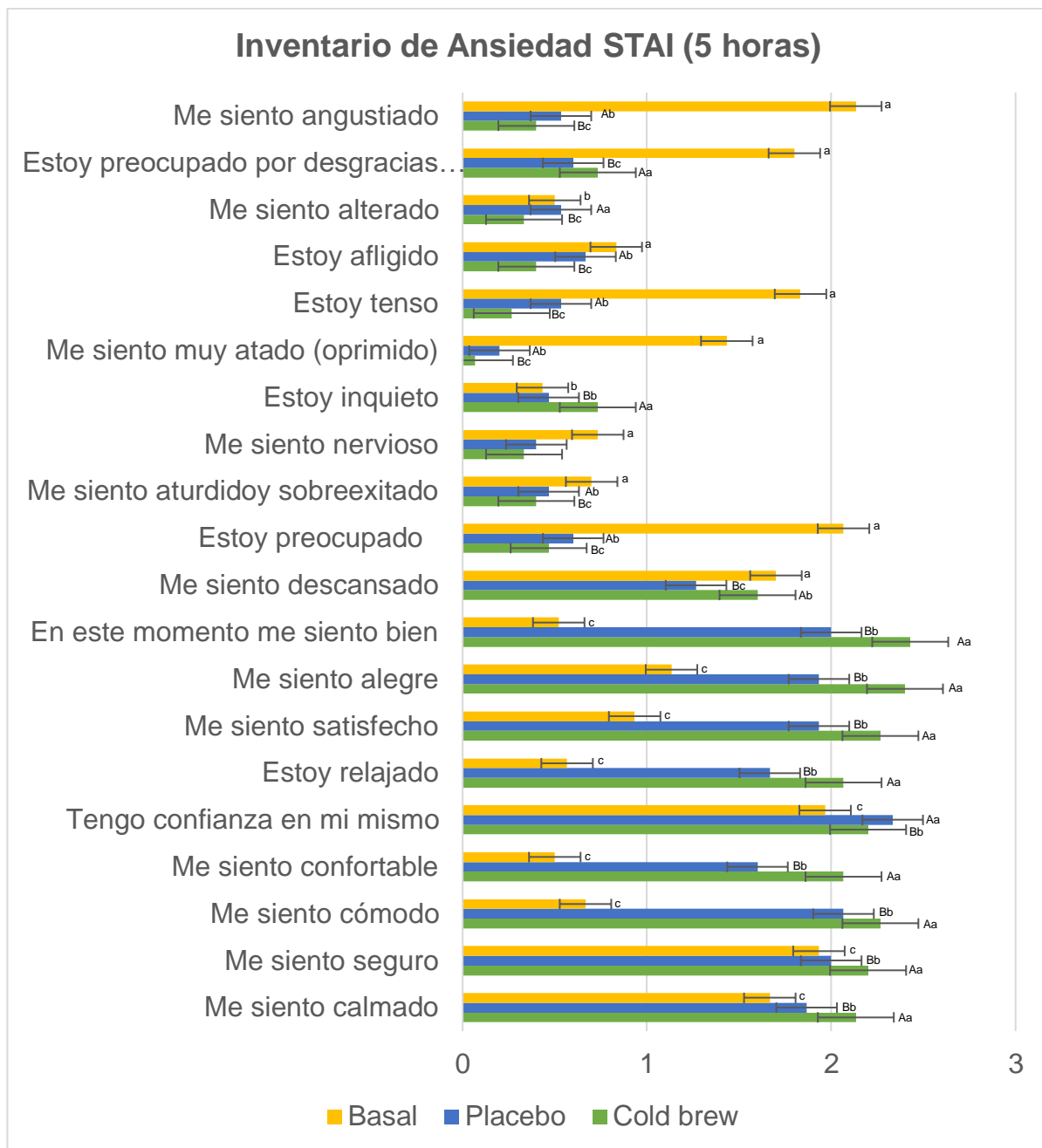


Figura 15. Inventario de ansiedad (STAI) post ingesta de 5 horas.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

En los tiempos 2 y 5 horas, para ambas intervenciones, es mayor ($p < 0.05$) la sensación reportada en el estado basal para las oraciones que corresponden a la

ansiedad que para las de calma y tranquilidad. Las oraciones que corresponden a la calma y tranquilidad, en ambos tiempos son mayores ($p < 0.05$) para ambos tiempos en la intervención con el Cold Brew respecto al placebo y al basal, siendo diferente en los dos.

El Perfil de Estados de Ánimo (POMS) tiene 44 términos, que se agrupan en seis dimensiones: cólera, fatiga, vigor, amistad, tensión y estado deprimido. La **Figura 16** y **17** muestran los resultados para la intervención con Cold Brew y el placebo a las 2 y 5 horas después de ingerir las bebidas, respectivamente.

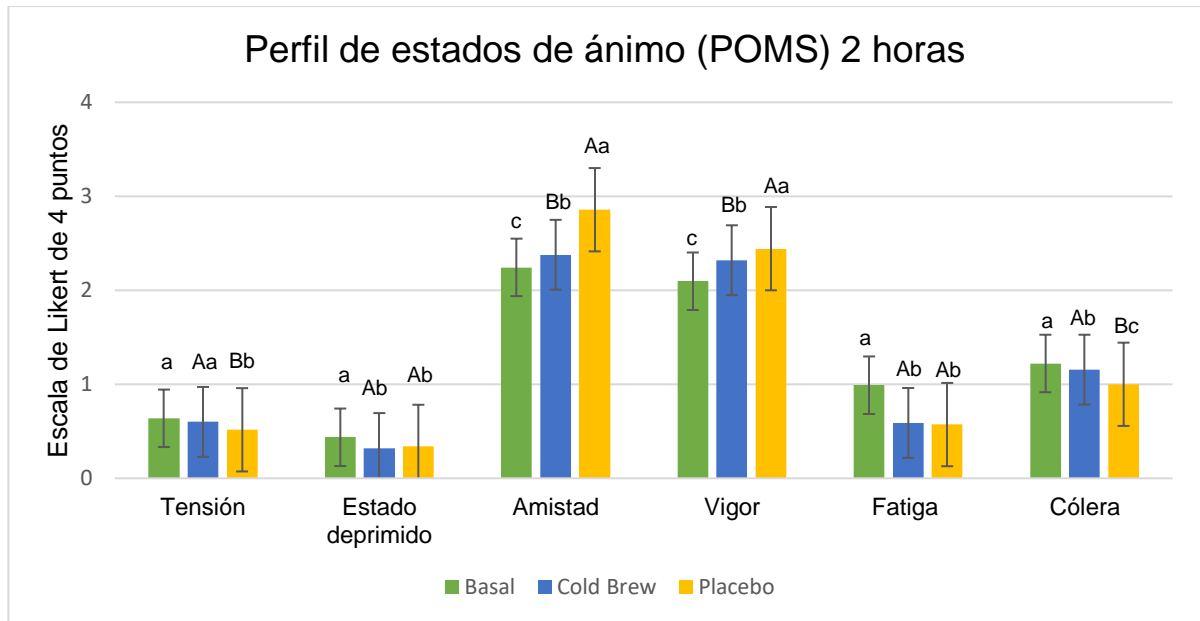


Figura 16. Perfil de estado de ánimo post ingesta de 2 horas, para la intervención con placebo y con Cold Brew.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

Las evaluaciones a las 2 y 5 horas para los estados de tensión, cólera, fátiga y deprimido se observa un efecto en la disminución de la sensación autopercebida de estos estados, en ambas intervenciones (Cold Brew y placebo) respecto a la basal.

En el estado de tensión la valoración basal (0.64) es mayor ($p < 0.05$) respecto a las intervenciones en ambos tiempos, siendo significativo el cambio en el caso de la intervención con Cold Brew (0.40) después de las 5 horas de la ingesta.

En el POMS el estado de cólera es el equivalente al de Ira/hostilidad en el EVEA, y el comportamiento en ambas pruebas se asemeja: respecto al basal la sensación disminuye a las 2 horas (EVEA=1.9 y POMS=1.16) y aumenta a las 5 horas (EVEA=2.3 y POMS=1.22) al consumir el Cold Brew.

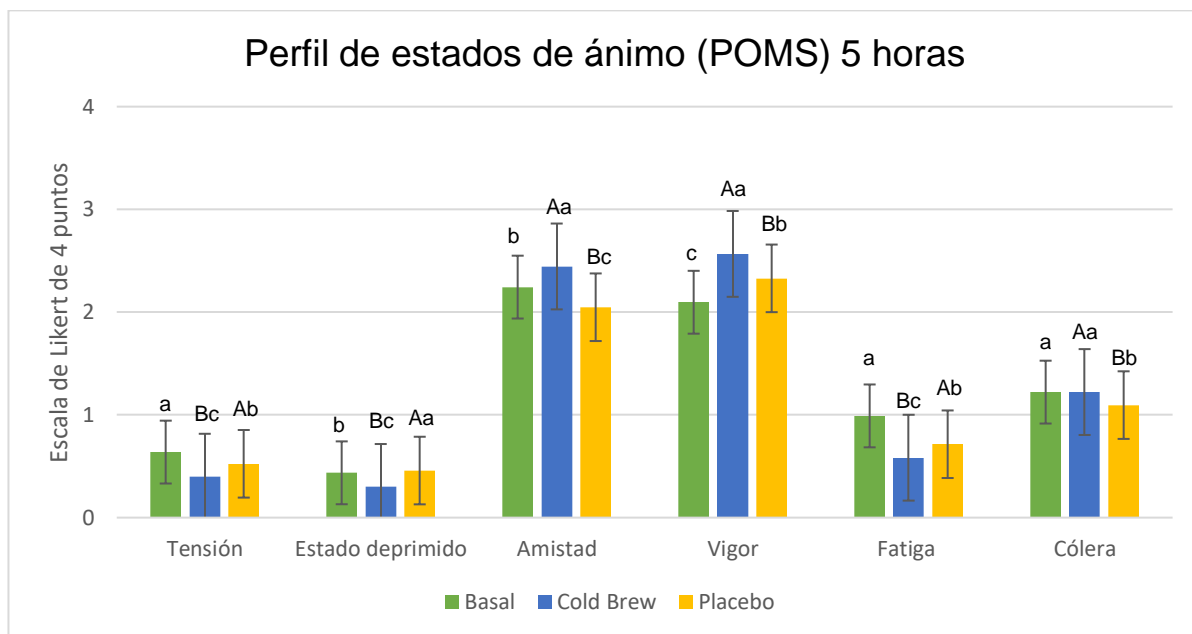


Figura 17. Perfil de estado de ánimo post ingesta de 5 horas, para la intervención con placebo y con Cold Brew.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$)

El estado deprimido en POMS corresponde a los estado de tristeza/depresión en EVEA. Se puede observar que en ambas intervenciones y tiempos disminuye la sensación autopercibida de dicho estado de ánimo.

Para el caso del Cold Brew el estado deprimido tuvo un comportamiento similar al ya observado en la prueba EVEA: disminuye la sensación (0.32) a las 2 horas respecto al basal (0.40) y a las 5 horas vuelve a disminuir (0.30) respecto al basal y además respecto a las 2 horas (de 0.32 a 0.30).

En la intervención con placebo la prueba POMS se comporta igual que el placebo de EVEA, en el estado basal (0.44) la sensación de tristeza es mayor ($p < 0.05$) que en el tiempo de 2 horas (0.34), pero el efecto no se mantiene a lo largo del tiempo, ya que a las dos horas vuelve a aumentar (0.46), siendo incluso mayor que el basal.

Por su parte los estados de ánimo transitorios observados en la **Figura 18** y **19**, correspondientes a los tiempos 2 y 5 horas respectivamente, muestran un comportamiento similar a los observados en las **Figuras** anteriores (**11 a 17**), donde la sensación de estado de ánimo general y el de relajación mejoran con la ingesta de Cold Brew, respecto al placebo y en el tiempo, además de un aumento en el estado de alerta.

La sensación de fatiga disminuye ($p < 0.05$) en el caso de consumir el Cold Brew respecto al placebo, y esta sensación persiste con el tiempo. Mientras que los estados de ánimo negativos (nervioso, cansado, tenso y el dolor de cabeza) son menores ($p < 0.05$) que en el estado basal y que con el placebo.

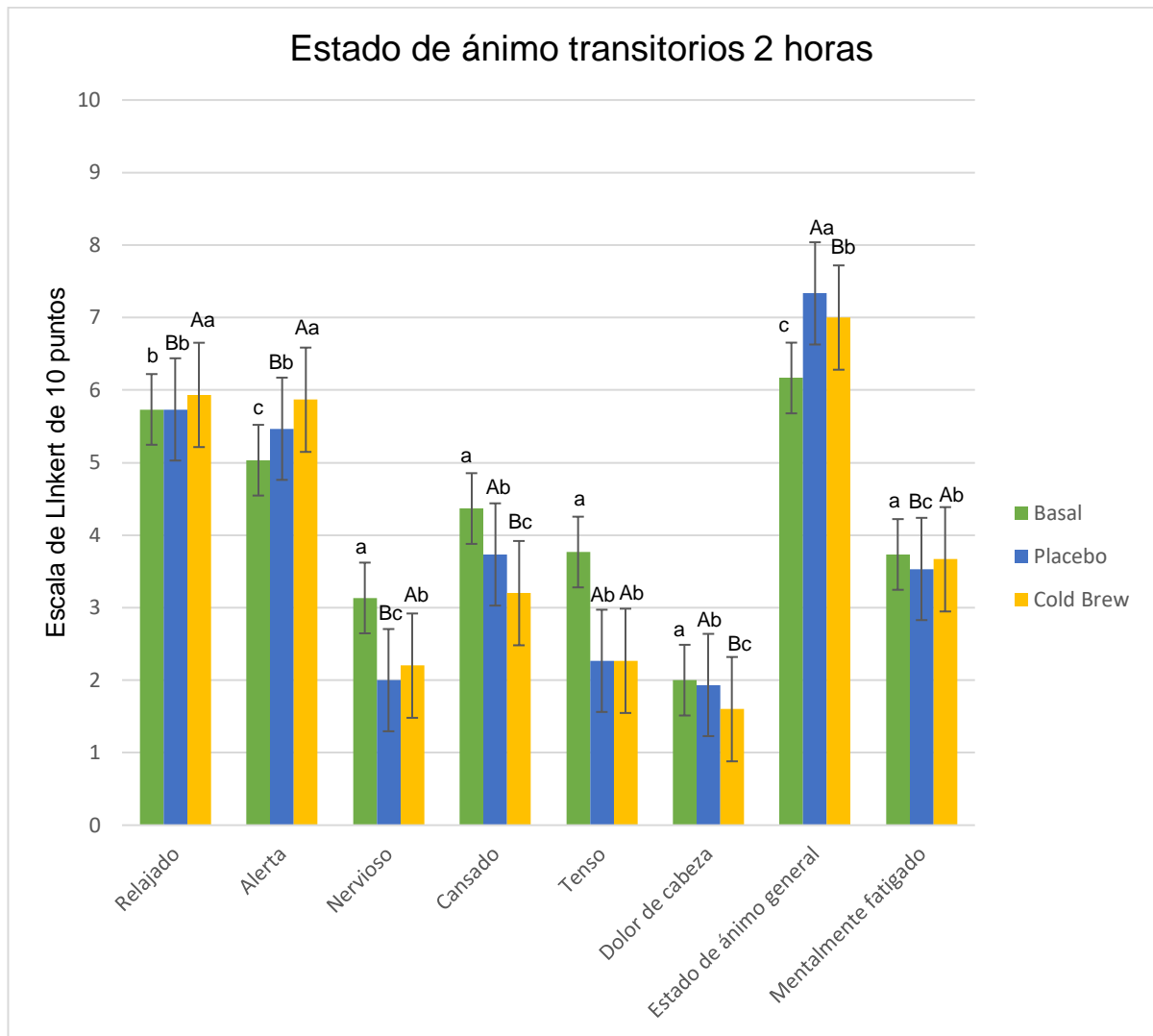


Figura 18. Estados de ánimo transitorios después de 2 horas de la ingesta de la bebida (Cold Brew o placebo) respecto al estado basal.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

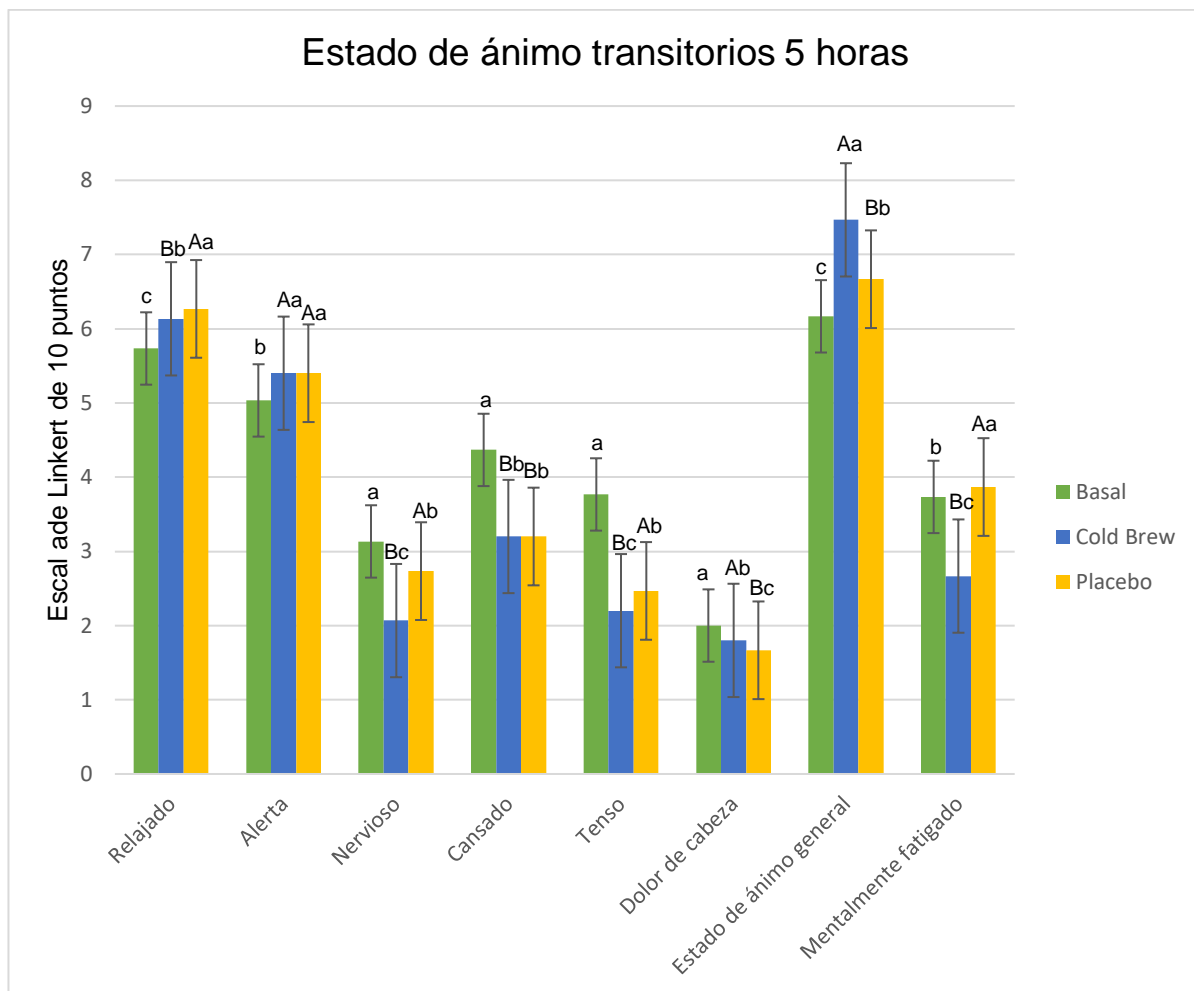


Figura 19. Estados de ánimo transitorios después de 5 horas de la ingesta de la bebida (Cold Brew o placebo) respecto al estado basal.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

Se ha reportado la relación entre la mejora de los estados de ánimo y la ingesta de cafeína, ácidos fenólicos (ácidos clorogénicos, ácido caféico, ácido gálico) y flavonoides (Camfield *et al.*, 2013a; Nieman *et al.*, 2018; Angeloni *et al.*, 2019).

La cafeína tiene diversos blancos en el cerebro, como los receptores de adenosina, rianodina, ácido γ -aminobutírico y las isoenzimas de fosfodiesterasa de nucleótido cíclico, a través del antagonismo de los receptores de adenosina, afecta funciones

cerebrales como el sueño, la cognición, el aprendizaje y la memoria, modifica disfunciones y enfermedades cerebrales: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, epilepsia, dolor/migraña, depresión y esquizofrenia (Rodak *et al.*, 2021).

Otro posible mecanismo de acción de la cafeína sobre el sistema nervioso es la inhibición del neurotransmisor acetilcolinesterasa. Una dosis más baja (menor a 50 mg) de cafeína produjo efectos positivos como sensaciones de euforia, tranquilidad, por lo que podría estar asociado con la disminución de la sensación de ira/hostilidad.

El consumo de una bebida rica en polifenoles, la cual contenía 4 mg de ácidos clorogénicos totales, ha reportado un efecto sobre el aumento del Factor Neurotrófico Derivado del Cerebro, los niveles de glutamato y de ácido gama-aminobutírico, esto a su vez está asociado con cambios neurológicos, psicológicos y neurofisiológicos (Robinson *et al.*, 2021).

La administración de un extracto de café verde (rico en ácidos clorogénicos y descafeinado) y de una mezcla de ácidos clorogénicos, demostró que había una mejora en el estado de ánimo (disminuyendo el nerviosismo) y en la disminución del dolor de cabeza, respecto a la administración de un placebo, sugiriendo que estos cambios podrían deberse en parte a la administración de los ácidos clorogénicos (Camfield *et al.*, 2013b).

Muchos de los efectos benéficos para la salud dados por los flavonoides se han relacionado con su capacidad antioxidante, aunque sus efectos sobre la salud cognitiva y de mejora anímica probablemente sean causados por otros mecanismos.

Se ha demostrado que los flavonoides afectan las cascadas de señales que están involucradas en la potenciación a largo plazo y la supervivencia de las neuronas *in vitro*; sin embargo, no está claro si los flavonoides pueden llegar al cerebro en niveles suficientes (Jackson *et al.*, 2020).

Se ha reportado que los flavonoides pueden atravesar la barrera hematoencefálica: por ejemplo, las antocianinas de los arándanos recolectados en regiones asociadas

con la memoria espacial, como el hipocampo, el cuerpo estriado y la corteza (Schuster & Mitchell, 2019).

En términos de efectos sobre el estado de ánimo, se ha reportado que los flavonoides pueden modificar los efectos de la cafeína. En experimentos de Boolani *et al.* (2017) encontraron que la combinación de extracto de cacao y cafeína atenuó los efectos que provocan ansiedad de la cafeína sola (Schuster & Mitchell, 2019).

Experimentos sobre los efectos en el estado de ánimo en autoevaluaciones, donde se consumieron de 300 mg de epicatequina encontraron un aumento en la calma y un menor estrés mental en comparación con los sujetos que recibieron un placebo. Por lo tanto, epicatequina puede reducir los efectos negativos de la cafeína en el estado de ánimo de manera similar a la L-teanina.

Se ha documentado que epicatequina revierte los efectos ansiogénicos inducidos por la cafeína en ratones (Schuster & Mitchell, 2019). La bebida Cold Brew contenía 449.9 mg de epicatequina, por lo que el efecto observado en la disminución de la ansiedad, de la Ira/hostilidad durante la intervención, podría estar relacionada también a la presencia de este compuesto.

Para la manifestación del estado de ánimo de alegría, ambas intervenciones manifestaron altos niveles en la escala de emociones, los que se pueden observar en la **Figura 16 y 17** del cuestionario POMS y en la **Figura 20** correspondiente al cuestionario EVEA.

En el cuestionario POMS la sensación de amistad aumentó ($p < 0.05$) en los tiempos 2 y 5 horas (2.38 y 2.44, respectivamente), respecto al basal (2.24) para la intervención con Cold Brew. En el placebo, la sensación de amistad aumento ($p < 0.05$) en el tiempo 2 horas, pero éste efecto no se mantuvo a lo largo del tiempo (5 horas) ya que después disminuyó la sensación (2.05).

Para el EVEA en la intervención con Cold Brew hubo un aumento en la sensación de alegría para ambos tiempos (2 y 5 horas), aumentando en un 29% respecto a la percepción basal.

En la intervención con placebo, aún que los niveles se mantuvieron altos, en el tiempo 5 horas se observó una disminución ($p < 0.05$) del 5 % en la sensación de alegría respecto a lo reportado en el tiempo 0 (pasando de 22.2 a 21.3). Además, a las 5 h, esta sensación baja en el grupo placebo.

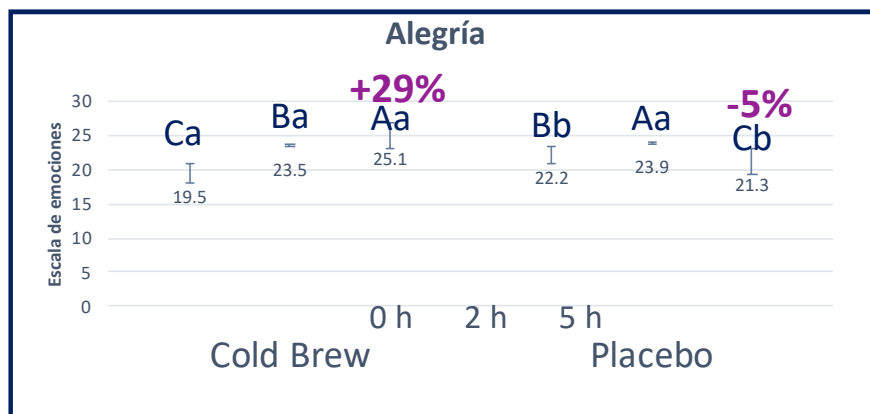


Figura 20 Cambios en la escala de emociones para la sensación de Alegría, en diferentes tiempos, para dos intervenciones en las que se ingirió Cold Brew o placebo.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Letras minúsculas diferentes por barra indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras diferentes mayúsculas por barra indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$). Los porcentajes representan el porcentaje de cambio en la sensación de emoción con el paso del tiempo respecto a la misma sensación en el estado basal.

La disminución en la sensación de tristeza/depresión, ira/hostilidad y ansiedad (estados de ánimo negativos) manifestados en los participantes, se puede interpretar como una mejora en los estados de ánimo positivos, manifestados como sensaciones de alegría y amistad.

VI.14. Efecto del consumo de las bebidas sobre la vitalidad

La vitalidad es definida como la sensación de energía y viveza, correspondiente a sentimientos positivos. Aunque varios cambios somáticos y psicológicos pueden afectar la vitalidad o cantidad de energía, ésta sensación se considera como un parámetro del Bienestar (salud y motivación). También es considerada un factor

protector en situaciones de estrés, mientras que su carencia es un factor de riesgo (Rodríguez-Carvajal *et al.*, 2010) .

En la **figura 21** y **22**, se muestra la puntuación en una escala de 7 puntos, donde 0 representa que los participantes no se identifican en lo absoluto y 7 que están totalmente identificados.

La vitalidad representada por las aseveraciones de estar lleno de energía y vida, fue mayor ($p < 0.05$) en la intervención donde consumieron el Cold Brew que en el placebo y en estado basal., y se mantuvo durante el tiempo (2 y 5 horas).

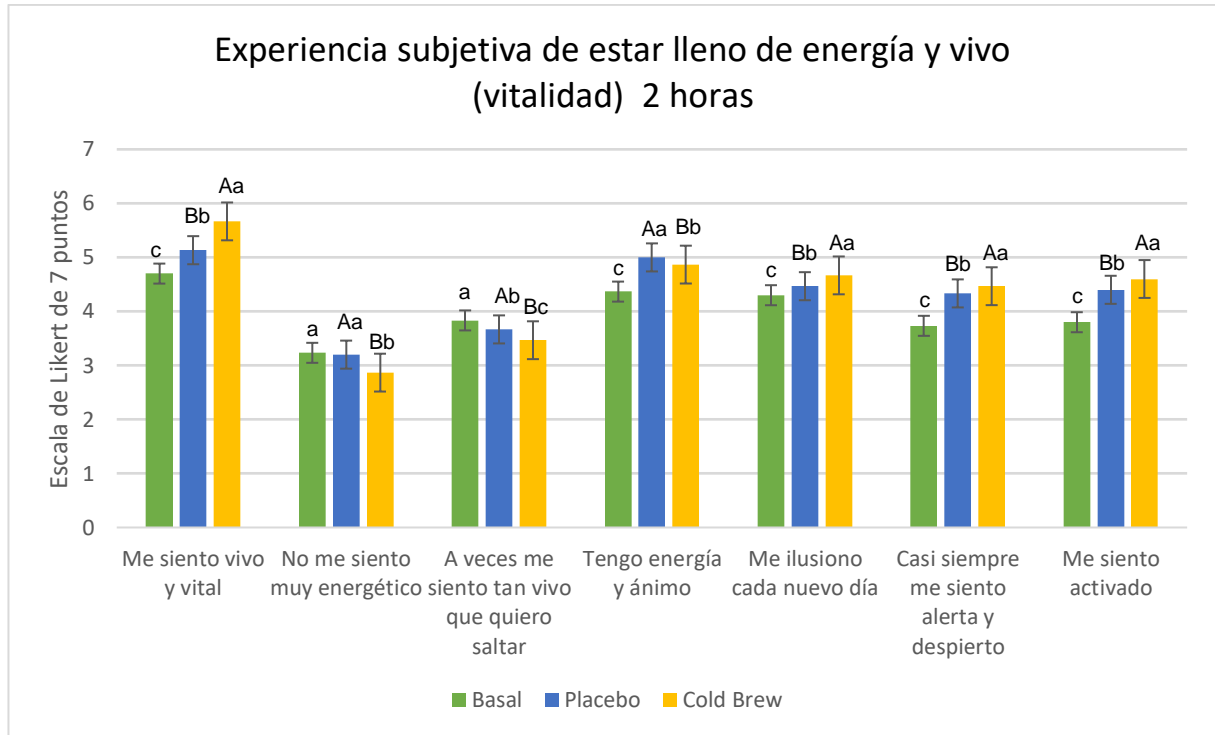


Figura 21. Efecto del consumo de placebo y bebida Cold Brew en la sensación subjetiva de vitalidad a las 5 horas post ingesta.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

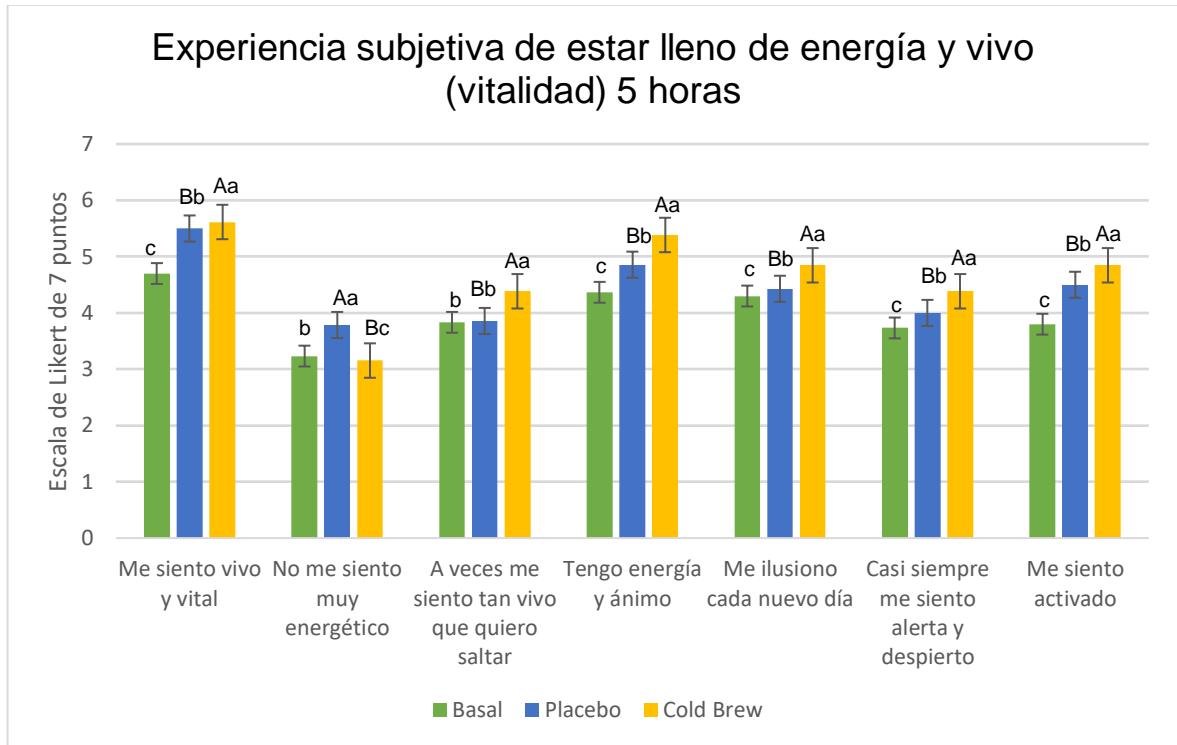


Figura 22. Efecto del consumo de placebo y bebida Cold Brew en la sensación subjetiva de vitalidad a las 5 horas post ingesta.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Las letras minúsculas diferentes por barra en cada dimensión indican diferencias entre el estado basal y cada intervención (Dunnett $p < 0.05$). Las letras mayúsculas indican diferencia entre las intervenciones (T Students $p < 0.05$).

Tener alta vitalidad está relacionado positivamente con otros indicadores de bienestar psicológico como la autoestima, la satisfacción con la vida y los afectos positivos, y negativamente con indicadores de malestar como el burnout, la ansiedad, y el desanimo (Rodríguez-Carvajal , 2010).

La disminución de la fatiga observada en los cuestionarios POMS (**Figura 16** y **17**), la disminución del cansancio reportada en el cuestionario de Estados de Animo transitorios (**Figura 18** y **19**) se relaciona con el aumento de la vitalidad (**Figura 21**

y **22**), cuando se consume la bebida Cold Brew, esto puede deberse a los compuestos que contiene, como la cafeína y fenólicos, que han reportado previamente su efecto sobre la vitalidad y la energía.

VI.15. Biomarcadores y actividad antioxidante asociados a la ingesta de bebidas Cold Brew

De acuerdo a la definición de Alimento o Bebida funcional por el Centro de Alimentos Funcionales de Estados Unidos donde versa que: "son los alimentos que tienen moléculas con actividad biológica en cantidades específicas. Se consumen para promover la salud, mejorar los síntomas y reducir el riesgo de enfermedades, y han sido probados clínicamente y analizando biomarcadores específicos" (Martirosyan *et al.*, 2021), y acorde con el objetivo del proyecto se propuso como biomarcadores, la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides y metilxantinas en plasma sanguíneo de los participantes y su actividad antioxidante determinada por ORAC.

Independientemente de la ingesta nutrimental que realizaran los participantes durante las sesiones de intervención, se esperaba ver un cambio asociado a la ingesta de la bebida Cold Brew. Por lo que, se tomaron muestras sanguíneas a los participantes, durante las dos intervenciones y a los mismos tiempos (0, 2 y 5 horas) que se realizaron los cuestionarios psicológicos, las mediciones de pulso y presión arterial.

En la **Tabla 15** se muestran los compuestos fenólicos identificados en plasma. En la intervención con el placebo, solo se identificó trigonelina y catequina, en los tres tiempos (0, 2 y 5 horas). En la intervención con Cold Brew también se identificó al tiempo 0 h y 5 h, trigonelina y catequina. Sin embargo, en la intervención con Cold Brew, en el tiempo 2 h, además del trigonelina y catequina, se encontró ácido gálico, ácido *p*-cumárico y galato de epigallocatequina. En ninguna de las muestras de plasma se identificó cafeína ni teobromina.

Tabla 15 Identificación de compuestos fenólicos en plasma, durante el ensayo clínico.

Intervención	Placebo			Cold Brew		
	0	2	5	0	2	5
Tiempos (Horas)						
Ácidos fenólicos						
Ác. gálico	ND	ND	ND	ND	0.81 ± 0.02	ND
Ácido p-cumárico	ND	ND	ND	ND	0.04 ± 0.02	ND
Flavonoides						
Catequina	5.8 ± 0.0 ^{Ab}	5.8 ± 0.0 ^{Aa}	5.1 ± 0.0 ^{Bb}	6.0 ± 0.0 ^{Aa}	5.8 ± 0.0 ^{Ba}	5.8 ± 0.0 ^{Ba}
Epicatequina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Galato de epigallocatequin	ND	ND	ND	ND	0.003 ± 0.0	ND
Metilxantinas						
Trigonelina	0.46 ± 0.0 ^{Ab}	0.47 ± 0.0 ^{Ab}	0.47 ± 0.0 ^{Ab}	0.49 ± 0.0 ^{Ba}	0.53 ± 0.0 ^{Aa}	0.54 ± 0.0 ^{Aa}
Teobromina	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cafeína	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Los valores representan la media ± la desviación estándar de n= 15. ND no detectado. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras diferentes mayúsculas indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$). Los resultados de este ensayo están expresados en $\mu\text{g/}$ por ml de plasma ($\mu\text{g/ml}$).

Una posible explicación a no haber detectado ni cafeína, ni teobromina en las muestras de plasma, es que pueda deberse a la baja cantidad de cafeína que contenía la bebida (24 mg) y a qué la absorción completa de la cafeína en humanos alcanza el 99% en unos 45 min después de su ingestión y su valor máximo promedio ocurre a los 30 minutos, ocurriendo en el tracto gastrointestinal. Después del consumo oral, la concentración plasmática máxima de cafeína se alcanza a los 15-120 min, la vida media metabólica es de 3 a 5 h y penetra fácilmente la barrera hematoencefálica (Rodak *et al.*, 2021).

El ácido clorogénico fue el ácido más abundante en la bebida, sin embargo no se detectó en plasma, en ninguna intervención ni a ningún tiempo, esto podría deberse a que algunos ácidos clorogénicos se absorben en el estómago y pasan al hígado,

riñón o cerebro para ser metabolizados, mientras que otra parte pasa se absorbe en el intestino y son metabolizados por la microbiota intestinal. Los metabolitos obtenidos después de la absorción en el estómago y/o el intestino delgado se eliminan del plasma entre 5 a 6 h, pero los metabolitos asociados a la microbiota del colon pueden detectarse en el plasma después de 24 h (Clifford *et al.*, 2020; Socała *et al.*, 2021).

Además de los metabolitos primarios, en el plasma también se detectan ácidos clorogénicos en su forma sulfatada, glucuronidada, y conjugada con glicina, no evaluados en este trabajo. Estos se obtienen principalmente del metabolismo ocurrido en el hígado, riñón e intestino, la transformación de los ácidos clorogénicos sulfatados ocurre por sulfotransferasas (SULT1A1 y SULT1A3) y los glucuronidados por uridina 5'-difosfatoglucuroniltransferasas (UGT1A1 y UGT1A9) (Wong *et al.*, 2010). Los metabolitos primarios como los secundarios pueden conjugarse con glicina. Los ácidos clorogénicos pueden excretarse a través de los fluidos digestivos y reciclarse mediante recirculación enterohepática (Clifford *et al.*, 2020) .

Además, después de la intervención con las bebidas todos participantes comieron, y se ha reportado que algunos alimentos grasos, dulces y pectinas disminuyen de la tasa de vaciado gástrico, lo que puede provocar un aclaramiento plasmático prolongado y por tanto una detección tardía (Socała *et al.*, 2021).

El ácido *p*-cumárico que se encontraba presente en el Cold Brew ($39.1 \pm 02 \mu\text{g/ml}$) , también fue detectado en las muestras de plasma ($0.04 \pm 0.02 \mu\text{g/ml}$) durante la intervención con Cold Brew a las 2 horas.

El ácido *p*-cumárico es un ácido fenólico, que ha demostrado un papel protector contra el estrés oxidativo y la inflamación en diversas enfermedades, incluidas las enfermedades cardiovasculares, la diabetes y el cáncer. Recientemente, se ha investigado la protección del ácido *p*-cumárico contra la depresión y el deterioro de la memoria en un modelo de ratón con depresión crónica inducida por corticosterona (Yu *et al.*, 2022). Por lo que estos beneficios pudieran estar relacionados con los

efectos de mejora en el estado de ánimo, el aumento de la actividad antioxidante y mejora de la presión arterial durante la intervención con Cold Brew.

La actividad antioxidante determinada por ORAC, no mostró diferencias en ningún tiempo durante la intervención con placebo (**Figura 23**). Durante la intervención con Cold Brew, la actividad antioxidante aumentó ($p < 0.05$) en el tiempo 2 y 5 h respecto al tiempo 0 h de la misma intervención y respecto a la intervención con placebo.

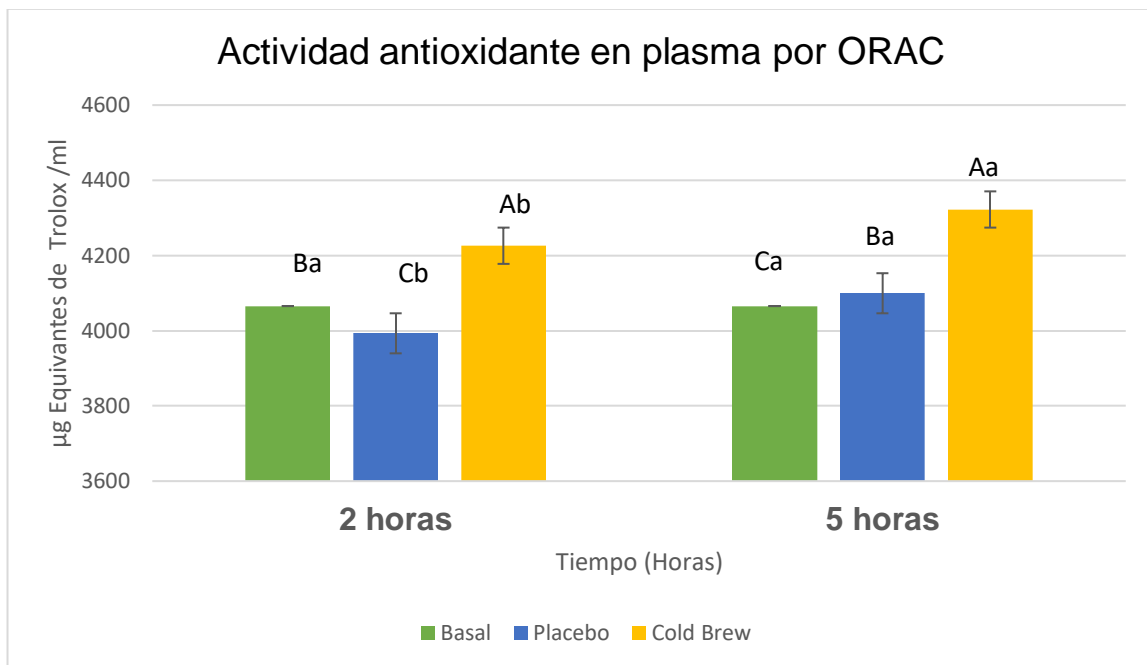


Figura 23. Actividad antioxidante en plasma, posterior a la intervención con placebo o Cold Brew, evaluado por ORAC.

Los valores representan la media \pm la desviación estándar de $n = 15$. Los resultados están expresados como µg Equivalentes de Trolox /ml de plasma. Letras minúsculas diferentes por barra indican diferencias significativas entre grupos (T Students $p < 0.05$), las letras diferentes mayúsculas por barra indican diferencias significativas en el mismo grupo (Dunnett $p < 0.05$).

El aumento de la actividad antioxidante pudiera estar relacionado con la ingesta de fenoles y flavonoides presentes en la bebida cold brew (fenoles totales 10856 mg, 2350 mg de flavonoides y 564 mg de antocianinas por porción). En un ensayo clínico agudo, donde los participantes ingirieron una dosis única (2240 mg de fenoles totales

y 710 mg de antocianinas) o agua, la capacidad antioxidante evaluada por ORAC y los niveles totales de polifenoles en plasma aumentaron a lo largo del tiempo (1, 2 y 4 h), teniendo un pico máximo a 1 h, atribuyendo a dichos compuestos estos efectos, debido a que al aumentar el volumen de moléculas antioxidantes circulantes (fenoles y antocianinas), se neutralizan los radicales libres y reducen el estrés oxidativo Kashi *et al.*, 2019).

Se ha reportado que el té y el chocolate tienen flavonoides que han demostrado un efecto antioxidante *in vitro e in vivo*, ya que elevan la capacidad antioxidante en plasma. La ingesta de 150 mg de flavonoides provenientes de una taza de té son suficientes para producir un rápido efecto antioxidante en el plasma *in vivo* (Kris-Etherton & Keen, 2002).

VII. CONCLUSIONES

Es la primera vez que se reporta el uso de la pulpa y el café de desmanche (dos subproductos del café) para la elaboración de bebidas Cold Brew, y además de que se evalúa el potencial funcional de las mismas sobre el estado de ánimo, la emociones, la vitalidad y la ansiedad.

Las tres formulaciones (CB1, CB2 y CB3) de las bebidas Cold Brew, tienen perfiles diferentes en cuanto a la cantidad de compuestos bioactivos. Aunque, se eligió como mejor formulación a CB1 debido a que es la que contenía mayor cantidad de compuestos bioactivos asociados a la mejora en el estado de ánimo, la mayor cantidad de capacidad antioxidante y mejores características sensoriales, las tres podrían tener efectos benéficos en la salud psicológica.

El consumo de la bebida Cold Brew en el ensayo clínico piloto muestra efectos en la mejora del estado de ánimo y la presión arterial, estos efectos pueden estar asociados a los compuestos bioactivos presentes (ácidos fenólicos, flavonoides, metilxantinas y melanoidinas), por lo que se podría realizar un ensayo clínico con un tamaño de muestra mayor, así como evaluar si el efecto se debe sólo a los compuestos identificados, si participan algunos otros o si es sinergia de los mismos.

Las bebidas preparadas a partir de pulpa y café de desmanche podrían ser consideradas bebidas funcionales por su contenido de compuesto bioactivos, sin embargo es necesario optimizar las materias primas y estandarizar las condiciones de procesamiento para lograr un perfil fitoquímico consistente.

Se sugiere realizar una evaluación sensorial y considerar estos parámetros en el rediseño de la bebida. También es necesario realizar pruebas de estabilidad y vida de anaquel.

Las condiciones de elaboración de Cold Brew se podrían optimizar para encontrar las mejores condiciones de extracción y poder escalar el proceso.

VIII. REFERENCIAS

- Abdel-Aal, E.-S. M., & Hucl, P. (1999). A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chemistry*, 76(3), 350-354. <https://doi.org/10.1094/CCHEM.1999.76.3.350>
- Acidri, R., Sawai, Y., Sugimoto, Y., Handa, T., Sasagawa, D., Masunaga, T., Yamamoto, S., & Nishihara, E. (2020). Phytochemical profile and antioxidant capacity of coffee plant organs compared to green and roasted coffee beans. *Antioxidants*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/antiox9020093>
- Aguirre, L. A., Rodríguez, Z., Saca, V., & Apolo, V. (2018). Bromatological characterization of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp for animal feeding purposes. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 52(2), 9.
- AlAli, M., Alqubaisy, M., Aljaafari, M. N., AlAli, A. O., Baqais, L., Molouki, A., Abushelaibi, A., Lai, K.-S., & Lim, S.-H. E. (2021). Nutraceuticals: transformation of conventional foods into health promoters/disease preventers and safety considerations. *Molecules*, 26(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/molecules26092540>
- Andrade, E., Arce, C., Francisco, C. D., Torrado, J., & Garrido, J. (2013). Versión breve en español del cuestionario POMS para deportistas adultos y población general. *Revista de Psicología del Deporte*, 22(1), 95-102.
- Angeloni, G., Guerrini, L., Masella, P., Bellumori, M., Daluiso, S., Parenti, A., & Innocenti, M. (2019). What kind of coffee do you drink? An investigation on

- effects of eight different extraction methods. *Food Research International*, 116, 1327-1335. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.10.022>
- Asiah, N., Dwiranti, S., & David, W. (2019). Sensory and chemical changes of cold and hot brew arabica coffee at various resting time. *Asia Pacific Journal of Sustainable Agriculture, Food and Energy*, 7. <https://doi.org/10.36782/apjsafe.v7i2.1948>
- Atlabachew, M., Abebe, A., Alemneh Wubieneh, T., & Tefera Habtemariam, Y. (2021a). Rapid and simultaneous determination of trigonelline, caffeine, and chlorogenic acid in green coffee bean extract. *Food Science & Nutrition*, 9(9), 5028-5035. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2456>
- Baeza, G., Sarriá, B., Bravo, L., & Mateos, R. (2016). Exhaustive qualitative LC-DAD-MSn analysis of arabica green coffee beans: cinnamoyl-glycosides and cinnamoylshikimic acids as new polyphenols in green coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(51), 9663-9674. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04022>
- Batali, M. E., Lim, L. X., Liang, J., Yeager, S. E., Thompson, A. N., Han, J., Ristenpart, W. D., & Guinard, J.-X. (2022). Sensory analysis of full immersion coffee: cold brew is more floral, and less bitter, sour, and rubbery than hot brew. *Foods*, 11(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/foods11162440>
- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos

- (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(0), Article 0. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244>
- Bhumiratana, N., Wolf, M., Chambers IV, E., & Adhikari, K. (2019). Coffee drinking and emotions: are there key sensory drivers for emotions? *Beverages*, 5(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/beverages5020027>
- Cádiz-Gurrea, M. de la L., Villegas-Aguilar, M. del C., Leyva-Jiménez, F. J., Pimentel-Moral, S., Fernández-Ochoa, Á., Alañón, M. E., & Segura-Carretero, A. (2020). Revalorization of bioactive compounds from tropical fruit by-products and industrial applications by means of sustainable approaches. *Food Research International*, 138, 109786. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109786>
- Camfield, D. A., Silber, B. Y., Scholey, A. B., Nolidin, K., Goh, A., & Stough, C. (2013a). A randomised placebo-controlled trial to differentiate the acute cognitive and mood effects of chlorogenic acid from decaffeinated coffee. *PLoS ONE*, 8(12), e82897. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082897>
- Castillo, I., Tomás, I., & Balaguer, I. (2017). The Spanish-Version of the Subjective Vitality Scale: Psychometric Properties and Evidence of Validity. *The Spanish Journal of Psychology*, 20. <https://doi.org/10.1017/sjp.2017.22>
- Chiocchio, I., Mandrone, M., Tomasi, P., Marincich, L., & Poli, F. (2021). Plant secondary metabolites: an opportunity for circular economy. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(2), 495. <https://doi.org/10.3390/molecules26020495>
- Claassen, L., Rinderknecht, M., Porth, T., Röhnisch, J., Seren, H. Y., Scharinger, A., Gottstein, V., Noack, D., Schwarz, S., Winkler, G., & Lachenmeier, D. W.

- (2021). Cold Brew Coffee—pilot studies on definition, extraction, consumer preference, chemical characterization and microbiological hazards. *Foods*, 10(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/foods10040865>
- Clifford, M. N., Kerimi, A., & Williamson, G. (2020). Bioavailability and metabolism of chlorogenic acids (acyl-quinic acids) in humans. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1299-1352. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12518>
- de Melo Pereira, G. V., de Carvalho Neto, D. P., Magalhães Júnior, A. I., do Prado, F. G., Pagnoncelli, M. G. B., Karp, S. G., & Soccol, C. R. (2020b). Chemical composition and health properties of coffee and coffee by-products. En *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 91, pp. 65-96). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.10.002>
- Desai, N. M., Haware, D. J., Basavaraj, K., & Murthy, P. S. (2019). Microencapsulation of antioxidant phenolic compounds from green coffee. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(4), 400-406. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1575858>
- Echeverria, M. C., & Nuti, M. (2017). Valorisation of the residues of coffee agro-industry: perspectives and limitations. *The Open Waste Management Journal*, 10(1). <https://doi.org/10.2174/1876400201710010013>
- Eisenberg, J. M. (2012). Las Guías Sumarias de los Consumidores. Cómo medir la presión arterial en casa. *Las Guías Sumarias de los Consumidores*. Agency for Healthcare Research and Quality (US). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK97819/>

- Figueroa Hernández, E., Pérez Soto, F., & Godínez Montoya, L. (2015). *La producción y el consumo del café*. Ramos Escamilla, María de Jesús. <https://isbn.cloud/9786078324491/la-produccion-y-el-consumo-del-cafe/>
- Flores, D. F., & Rosales, E. (2018). Uso del ensilaje de pulpa de café en alimentación animal. *Mundo FESC*, 8(15), 73-82.
- Fogliano, V., & Morales, F. J. (2011). Estimation of dietary intake of melanoidins from coffee and bread. *Food & Function*, 2(2), 117. <https://doi.org/10.1039/c0fo00156b>
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597-3604. <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- García Andrade, A., & García Andrade, A. (2019). Neurociencia de las emociones: La sociedad vista desde el individuo. Una aproximación a la vinculación sociología-neurociencia. *Sociológica (México)*, 34(96), 39-71.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00(1), F1.2.1-F1.2.13. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Godos, J., Pluchinotta, F. R., Marventano, S., Buscemi, S., Li Volti, G., Galvano, F., & Grosso, G. (2014). Coffee components and cardiovascular risk: Beneficial and detrimental effects. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(8), 925-936. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.940287>

- Gökçen, B. B., & Şanlıer, N. (2019). Coffee consumption and disease correlations. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(2), 336-348. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1369391>
- Granato, D., Barba, F. J., Bursać Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional Foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annual Review of Food Science and Technology*, 11(1), 93-118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Hall, R. D., Trevisan, F., & de Vos, R. C. H. (2022). Coffee berry and green bean chemistry – Opportunities for improving cup quality and crop circularity. *Food Research International*, 151, 110825. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110825>
- Haskell-Ramsay, C. F., Jackson, P. A., Forster, J. S., Dodd, F. L., Bowerbank, S. L., & Kennedy, D. O. (2018). The acute effects of caffeinated black coffee on cognition and mood in healthy young and older adults. *Nutrients*, 10(10), E1386. <https://doi.org/10.3390/nu10101386>
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2017a). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969-975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>
- Heeger, A., Kosińska-Cagnazzo, A., Cantergiani, E., & Andlauer, W. (2017b). Bioactives of coffee cherry pulp and its utilisation for production of Cascara beverage. *Food Chemistry*, 221, 969-975. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.067>

- Honda, M., Takezaki, D., Tanaka, M., Fukaya, M., & Goto, M. (2022). Effect of roasting degree on major coffee compounds: a comparative study between coffee beans with and without supercritical CO₂ Decaffeination Treatment. *Journal of Oleo Science*, 71(10), 1541-1550. <https://doi.org/10.5650/jos.ess22194>
- Howes, M.-J. R., Perry, N. S. L., Vásquez-Londoño, C., & Perry, E. K. (2020). Role of phytochemicals as nutraceuticals for cognitive functions affected in ageing. *British Journal of Pharmacology*, 177(6), 1294-1315. <https://doi.org/10.1111/bph.14898>
- International Coffee Organization. (2022). *Monthly Coffee Market Report (2021/22)*. International Coffee Organization. <https://www.ico.org/Market-Report-21-22-e.asp>
- Iriondo-DeHond, A., Elizondo, A. S., Iriondo-DeHond, M., Ríos, M. B., Mufari, R., Mendiola, J. A., Ibañez, E., & del Castillo, M. D. (2020a). Assessment of Healthy and Harmful Maillard Reaction Products in a Novel Coffee Cascara Beverage: Melanoidins and Acrylamide. *Foods*, 9(5), 620. <https://doi.org/10.3390/foods9050620>
- Iriondo-DeHond, A., Elizondo, A. S., Iriondo-DeHond, M., Ríos, M. B., Mufari, R., Mendiola, J. A., Ibañez, E., & del Castillo, M. D. (2020b). Assessment of Healthy and Harmful Maillard Reaction Products in a Novel Coffee Cascara Beverage: Melanoidins and Acrylamide. *Foods*, 9(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods9050620>

- Iriondo-DeHond, A., Iriondo-DeHond, M., & del Castillo, M. D. (2020). Applications of Compounds from Coffee Processing By-Products. *Biomolecules*, *10*(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/biom10091219>
- Iriondo-DeHond, A., Uranga, J. A., del Castillo, M. D., & Abalo, R. (2021). Effects of Coffee and Its Components on the Gastrointestinal Tract and the Brain–Gut Axis. *Nutrients*, *13*(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/nu13010088>
- Jackson, P. A., Haskell-Ramsay, C., Forster, J., Khan, J., Veasey, R., Kennedy, D. O., Wilson, A. R., Saunders, C., & Wightman, E. L. (2021). Acute cognitive performance and mood effects of coffee berry and apple extracts: A randomised, double blind, placebo controlled crossover study in healthy humans. *Nutritional Neuroscience*, *0*(0), 1-9. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2021.1963068>
- Jackson, P. A., Wightman, E. L., Veasey, R., Forster, J., Khan, J., Saunders, C., Mitchell, S., Haskell-Ramsay, C. F., & Kennedy, D. O. (2020). A Randomized, Crossover Study of the Acute Cognitive and Cerebral Blood Flow Effects of Phenolic, Nitrate and Botanical Beverages in Young, Healthy Humans. *Nutrients*, *12*(8), 2254. <https://doi.org/10.3390/nu12082254>
- Janissen, B., & Huynh, T. (2018). Chemical composition and value-adding applications of coffee industry by-products: A review. *Resources, Conservation and Recycling*, *128*, 110-117. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2017.10.001>
- Jiamjariyatam, R., Samosorn, S., Dolsophon, K., Tantayotai, P., Lorliam, W., & Krajangsang, S. (2022). Development of Cascara Tea from Coffee Cherry

- Pulp. *Journal of Culinary Science & Technology*, 0(0), 1-16.
<https://doi.org/10.1080/15428052.2022.2106336>
- Kaufmann, C., Agalawatta, N., Bell, E., & S Malhi, G. (2020). Getting emotional about affect and mood. *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry*, 54(8), 850-852. <https://doi.org/10.1177/0004867420943943>
- Khochapong, W., Ketnawa, S., Ogawa, Y., & Punbusayakul, N. (2021). Effect of in vitro digestion on bioactive compounds, antioxidant and antimicrobial activities of coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extract. *Food Chemistry*, 348, 129094. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129094>
- Kim, J., & Kim, J. (2018). Green Tea, Coffee, and Caffeine Consumption Are Inversely Associated with Self-Report Lifetime Depression in the Korean Population. *Nutrients*, 10(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/nu10091201>
- Klingel, T., Kremer, J. I., Gottstein, V., Rajcic de Rezende, T., Schwarz, S., & Lachenmeier, D. W. (2020a). A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union. *Foods*, 9(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods9050665>
- Klingel, T., Kremer, J. I., Gottstein, V., Rajcic de Rezende, T., Schwarz, S., & Lachenmeier, D. W. (2020b). A Review of Coffee By-Products Including Leaf, Flower, Cherry, Husk, Silver Skin, and Spent Grounds as Novel Foods within the European Union. *Foods*, 9(5), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods9050665>

- Konstantinidis, N., Franke, H., Schwarz, S., & Lachenmeier, D. W. (2023). Risk Assessment of Trigonelline in Coffee and Coffee By-Products. *Molecules*, 28(8), 3460. <https://doi.org/10.3390/molecules28083460>
- Kris-Etherton, P. M., & Keen, C. L. (2002). Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. *Current Opinion in Lipidology*, 13(1), 41-49. <https://doi.org/10.1097/00041433-200202000-00007>
- Kusumocahyo, S. P., Wijaya, S., Dewi, A. A. C., Rahmawati, D., & Widiputri, D. I. (2020). Optimization of the extraction process of coffee pulp as a source of antioxidant. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 443(1), 012052. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/443/1/012052>
- Lee, K. H., Cha, M., & Lee, B. H. (2020). Neuroprotective Effect of Antioxidants in the Brain. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7152. <https://doi.org/10.3390/ijms21197152>
- Lee, Y.-G., Cho, E.-J., Maskey, S., Nguyen, D.-T., & Bae, H.-J. (2023). *Value-Added Products from Coffee Waste: A Review*. <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/8/3562>
- Makino, T., Izumi, K., Hiratsuka, K., Kano, H., Shimada, T., Nakano, T., Kadomoto, S., Naito, R., Iwamoto, H., Yaegashi, H., Shigehara, K., Kadono, Y., Nakata, H., Saito, Y., Nakagawa-Goto, K., Sakai, N., Iwata, Y., Wada, T., & Mizokami, A. (2021). Anti-proliferative and anti-migratory properties of coffee diterpenes kahweol acetate and cafestol in human renal cancer cells. *Scientific Reports*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80302-4>

- Martin, F.-P. J., Antille, N., Rezzi, S., & Kochhar, S. (2012). Everyday eating experiences of chocolate and non-chocolate snacks impact postprandial anxiety, energy and emotional states. *Nutrients*, 4(6), 554-567. <https://doi.org/10.3390/nu4060554>
- Miłek, M., Młodecki, Ł., & Dżugan, M. (2021). Caffeine content and antioxidant activity of various brews of specialty grade coffee. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 20(2), 179-188. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2021.0890>
- Moreyra¹, C., Castellanos², V., Tibaldi³, M. Á., Arias⁴, V., & Moreyra⁵, E. (2018). Efecto de la cafeína sobre la presión arterial y parámetros de la rigidez vascular. *Insuficiencia cardíaca*, 13(2), 67-71. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1852-38622018000200004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Muñoz-Rodríguez, M., Gómez-Pérez, D., V.H. Santoyo-Cortés, & Rosales-Lechuga, R. (2020, febrero 11). ¿Cómo innovar en el contexto de la paradoja del café, en pro de una red de valor más inclusiva y accesible? *CIESTAAM*. <https://ciestaam.edu.mx/libro/los-negocios-del-cafe/>
- Nenadis, N., Wang, L.-F., Tsimidou, M., & Zhang, H.-Y. (2004). Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using the ABTS•+ Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4669-4674. <https://doi.org/10.1021/jf0400056>
- Nieman, D. C., Goodman, C. L., Capps, C. R., Shue, Z. L., & Arnot, R. (2018). Influence of 2-Weeks Ingestion of High Chlorogenic Acid Coffee on Mood

- State, Performance, and Postexercise Inflammation and Oxidative Stress: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 28(1), 55-65. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.2017-0198>
- Oktaviani, L., Astuti, D. I., Rosmiati, M., & Abduh, M. Y. (2020). Fermentation of coffee pulp using indigenous lactic acid bacteria with simultaneous aeration to produce cascara with a high antioxidant activity. *Heliyon*, 6(7). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04462>
- Oliveira, L. S. (2006). Proximate composition and fatty acids profile of green and roasted defective coffee beans. *Elsevier*, 39, 235-239. <https://doi.org/0.1016/j.lwt.2005.01.011>
- Oomah, B., Cardador-Martínez, A., & Lóarca-Piña, G. (2005). *Phenolics and antioxidative activities in common beans (Phaseolus vulgaris L)*. <https://doi.org/10.1002/JSFA.2019>
- Ordóñez, A., González, R., Montoya, I., & Schoeps, K. (2017). Conciencia emocional, estados de ánimo y rendimiento académico. *International Journal of Developmental and Educational Psychology. Revista INFAD de Psicología.*, 6(1), 229. <https://doi.org/10.17060/ijodaep.2014.n1.v6.738>
- Pachimsawat, P., Tangprasert, K., & Jantaratnotai, N. (2021). The calming effect of roasted coffee aroma in patients undergoing dental procedures. *Scientific Reports*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80910-0>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements.

- Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
<https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Rao, N. Z., & Fuller, M. (2018). Acidity and Antioxidant Activity of Cold Brew Coffee. *Scientific Reports*, 8(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34392-w>
- Rao, N. Z., Fuller, M., & Grim, M. D. (2020). Physiochemical Characteristics of Hot and Cold Brew Coffee Chemistry: The Effects of Roast Level and Brewing Temperature on Compound Extraction. *Foods*, 9(7), Article 7. <https://doi.org/10.3390/foods9070902>
- Rauf, A., Imran, M., Abu-Izneid, T., Iqbal, S., Patil, S., Pan, X., Naz, S., Sanches Silva, A., Saeed, F., & Rasul Suleria, H. A. (2019). Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 116, 108999. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108999>
- Reed, R. A., Mitchell, E. S., Saunders, C., & O'Connor, P. J. (2019). Acute Low and Moderate Doses of a Caffeine-Free Polyphenol-Rich Coffeeberry Extract Improve Feelings of Alertness and Fatigue Resulting from the Performance of Fatiguing Cognitive Tasks. *Journal of Cognitive Enhancement*, 3(2), 193-206. <https://doi.org/10.1007/s41465-018-0118-8>
- Richins, M. L. (1997). Measuring Emotions in the Consumption Experience. *Journal of Consumer Research*, 24(2), 127-146. <https://doi.org/10.1086/209499>
- Robinson, J. L., Yanes, J. A., Reid, M. A., Murphy, J. E., Busler, J. N., Mumford, P. W., Young, K. C., Pietrzowski, Z. J., Nemzer, B. V., Hunter, J. M., & Beck, D. T. (2021). Neurophysiological Effects of Whole Coffee Cherry Extract in Older Adults with Subjective Cognitive Impairment: A Randomized, Double-Blind,

- Placebo-Controlled, Cross-Over Pilot Study. *Antioxidants*, 10(2), 144.
<https://doi.org/10.3390/antiox10020144>
- Rodak, K., Kokot, I., & Kratz, E. M. (2021). Caffeine as a Factor Influencing the Functioning of the Human Body—Friend or Foe? *Nutrients*, 13(9), Article 9.
<https://doi.org/10.3390/nu13093088>
- Rodríguez-Carvajal, R., Méndez, D. D., Moreno-Jiménez, B., & Abarca, A. B. (2010). Vitalidad y recursos internos como componentes del constructo de bienestar psicológico. *Psicothema*, 22(1), 63-70.
- Ryan, R. M., & Frederick, C. (1997). On energy, personality, and health: Subjective vitality as a dynamic reflection of well-being. *Journal of Personality*, 65(3), 529-565. <https://doi.org/10.1111/j.1467-6494.1997.tb00326.x>
- Santini, A., Tenore, G. C., & Novellino, E. (2017). Nutraceuticals: A paradigm of proactive medicine. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 96, 53-61.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.09.003>
- Schumacher, S., Kirschbaum, C., Fydrich, T., & Ströhle, A. (2013). Is salivary alpha-amylase an indicator of autonomic nervous system dysregulations in mental disorders?—A review of preliminary findings and the interactions with cortisol. *Psychoneuroendocrinology*, 38(6), 729-743.
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.02.003>
- Schuster, J., & Mitchell, E. S. (2019). More than just caffeine_ psychopharmacology of methylxanthine interactions with plant-derived phytochemicals. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 89, 263-274.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.09.005>

- Secretaría de Salud. (2022). *¿Qué es la ansiedad?* Secretaria de Salud.
<http://www.gob.mx/salud/articulos/que-es-la-ansiedad>
- Shiga, T. M., Lajolo, F. M., & Filisetti, T. M. C. C. (2003). Cell wall polysaccharides of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23(2), 141-148. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612003000200007>
- Socała, K., Szopa, A., Serefko, A., Poleszak, E., & Wlaź, P. (2021a). Neuroprotective Effects of Coffee Bioactive Compounds: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/ijms22010107>
- Socała, K., Szopa, A., Serefko, A., Poleszak, E., & Wlaź, P. (2021b). Neuroprotective Effects of Coffee Bioactive Compounds: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/ijms22010107>
- Spielberger, C., Gorsuch, R., Lushene, R., Vagg, P., & Jacobs, G. (1983). Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Form Y1 – Y2). En *Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press; Vol. IV*.
- Stefanelloa, N., Spanevellob, R. M., Passamontic, S., Porciúnculad, L., Bonane, C. D., Olabiyif, A. A., Schetinger, M. R. C., Morscha, V. M., Assmanna, C. E., & Batista Teixeira da Rochaa, J. (2019). Coffee, caffeine, chlorogenic acid, and the purinergic system | Elsevier Enhanced Reader. *Food and Chemical Toxicology*, 298-313(123).
<https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0278691518307282?token=8F6C8684BDCE8B6B07CA39A1277B22D81D2E061ABF5D81A6184A00C9BCBD82E1483871E80228A68B084A929F215B29D8&originRegion=us-east-1&originCreation=20221115180557>

- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: A comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*, *56*(7), 2215-2244. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1379-1>
- Takai, N., Yamaguchi, M., Aragaki, T., Eto, K., Uchihashi, K., & Nishikawa, Y. (2004). Effect of psychological stress on the salivary cortisol and amylase levels in healthy young adults. *Archives of Oral Biology*, *49*(12), 963-968. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2004.06.007>
- Taylor, A. M., & Holscher, H. D. (2020). A review of dietary and microbial connections to depression, anxiety, and stress. *Nutritional Neuroscience*, *23*(3), 237-250. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2018.1493808>
- Valderrama, B. (2015). Emociones. Una taxonomía para el desarrollo emocional. *Arandu UTIC Revista Científica Internacional*, *2*(1). <https://www.utic.edu.py/revista.ojs/index.php/revistas/article/view/14>
- Vega-Dienstmaier, J. M., & Arévalo-Flores, J. M. (2014). Clasificación mediante análisis de conglomerados: Un método relevante para la psiquiatría. *Revista de Neuro-Psiquiatría*, *77*(1), 31. <https://doi.org/10.20453/rnp.v77i1.1161>
- Vera-Villaruel, P., Celis-Atenas, K., Córdova-Rubio, N., Buena-Casal, G., & Spielberger, C. D. (2007). Análisis Preliminar y Datos Normativos del Cuestionario de Ansiedad Estado-Rasgo en Adolescentes y Adultos de la Ciudad de Santiago de Chile. *Terapia psicológica*, *25*(2), 155-162. <https://doi.org/10.4067/S0718-48082007000200006>

- Wong, C. C., Meinel, W., Glatt, H.-R., Barron, D., Stalmach, A., Steiling, H., Crozier, A., & Williamson, G. (2010). In vitro and in vivo conjugation of dietary hydroxycinnamic acids by UDP-glucuronosyltransferases and sulfotransferases in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(11), 1060-1068. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.09.001>
- World Coffee Research. (2022). *Arabica Coffee Varieties*. <https://varieties.worldcoffeeresearch.org>
- Yu, X.-D., Zhang, D., Xiao, C.-L., Zhou, Y., Li, X., Wang, L., He, Z., Reilly, J., Xiao, Z.-Y., & Shu, X. (2022). P-Coumaric Acid Reverses Depression-Like Behavior and Memory Deficit Via Inhibiting AGE-RAGE-Mediated Neuroinflammation. *Cells*, 11(10), 1594. <https://doi.org/10.3390/cells11101594>

ANEXOS

Anexo 1. Invitación de reclutamiento



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
EDUCO EN LA VERDAD Y EN EL HONOR

¿UN CAFÉ?

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
PREVENIR LA VIDA
Y MEJORAR SU CALIDAD

El laboratorio de bioquímica toxicológica del Posgrado en Ciencia y Tecnología de los Alimentos, busca voluntarios* para participar en una investigación sobre:

EFECTO DEL CONSUMO DE CAFÉ "COLD BREW" EN LA MEJORA DEL ESTADO DE ÁNIMO, LAS EMOCIONES, LA ANSIEDAD Y LA VITALIDAD.

REQUISITOS:

- MUJERES Y HOMBRE DE 18 A 50 AÑOS
- BEBEDORES HABITUALES O ESPORÁDICOS DE CAFÉ
- SIN ENFERMEDADES DIAGNOSTICADAS
- NO TOMAR MEDICAMENTOS ANTIDEPRESIVOS
- NO PRESENTAR INTOLERANCIA A LA CAFEÍNA
- NO ESTAR EMBARAZADA O LACTANDO

Previa aprobación del Comité de Bioética

Informes: 442-786-59-67

* Los datos serán empleados únicamente con fines de investigación y su identidad permanecerá anónima.

Anexo 2. Formato de consentimiento informado y revocacion del consentimiento



Consentimiento informado

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Posgrado de Alimentos, Facultad de Química

“Carta consentimiento para participar en el proyecto de investigación”

Título del protocolo:

“VALORIZACIÓN DE DOS SUBPRODUCTOS (PULPA Y CAFÉ DE DESMANCHE) DE CAFÉ *Coffea arabica* L. cv. GEISHA A TRAVÉS DEL DESARROLLO DE UNA BEBIDA COLD BREW CON POTENCIAL FUNCIONAL”

Investigador principal: Dra. Rocio Campos Vega

Sede donde se realizará el estudio: Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

INVITACIÓN

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como *consentimiento informado*. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

1.JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La pulpa de café es un subproducto de la producción de café, la cual contiene cantidades considerables de compuestos fenólicos que pueden tener valor para producir bebidas antioxidantes. La gran variedad de compuestos bioactivos

presentes en el café y su la pulpa han demostrado su potencial benéfico en la mejora del estado de ánimo, las emociones, la ansiedad y la vitalidad.

2. OBJETIVO DEL ESTUDIO

Desarrollar una bebida con potencial funcional en la mejora del estado de ánimo, las emociones, la fatiga y la ansiedad, a partir de la pulpa de café y el café obtenidos como subproductos de la producción de café de especialidad.

3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO

Este estudio permitirá conocer el efecto de los compuestos bioactivos contenidos en una bebida elaborada a partir de pulpa de café y café sobre el estado de ánimo, las emociones, la ansiedad y la vitalidad.

4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

En caso de aceptar participar en el estudio usted seguirá el siguiente procedimiento:

- Se aplicará un breve cuestionario para determinar su historia clínica y algunos datos antropométricos.
- Se le aplicarán cuestionarios para conocer su estado de ánimo, ansiedad, vitalidad y emociones.

Usted tendrá que asistir el día y hora señalados al laboratorio de Bioquímica Toxicológica del Posgrado de Alimentos, Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. Deberá presentarse en ayuno para la toma de muestra de sangre. Deberá presentarse con higiene bucal normal, para la toma de muestra de saliva. Se le dará a tomar una bebida Cold Brew elaborada a base de café y pulpa de café y otra bebida Cold Brew con sólo café, el tiempo de ingesta entre una y otra será de una semana, siendo de forma aleatoria. Posterior a la toma deberá permanecer en promedio 5 horas en edificio de pruebas, donde se realizarán nuevamente cuestionarios para conocer su estado de ánimo, ansiedad, vitalidad y emociones. Así como tomas de muestra de saliva y sangre en diferentes tiempos.

5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO

Al donar una muestra de sangre, la molestia por la punción podría ser un riesgo asociado. Las bebidas contienen una dosis de cafeína por debajo de la dosis recomendada, por lo que es seguro su consumo. Sin embargo, puede existir la sensibilidad a la cafeína. En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario o requiera otro tipo de atención, ésta se le brindará en los términos del apartado 6.

6. ACLARACIONES

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aún cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.
- En caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario no previsto, se le proporcionará el cuidado médico apropiado, siempre que estos efectos sean consecuencia de su participación en el estudio, previamente valorado por el médico.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador corresponsable al teléfono: 1921200 ext.: 5585
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

7. INFORMACIÓN DE CONTACTO

Si tiene alguna pregunta acerca de su participación o desea la opinión de otra persona fuera del estudio, usted puede consultar al médico de su confianza.

En caso de que tenga cualquier pregunta acerca del proyecto o en caso de una emergencia, llame al número 4427865967, con la LBT. Lady Laura Rosales Cueto.

8. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante

Fecha de la firma

Testigo 1

Fecha

Testigo 2

Fecha

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

9. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título del protocolo:

“VALORIZACIÓN DE DOS SUBPRODUCTOS (PULPA Y CAFÉ DE DESMANCHE) DE CAFÉ *Coffea arabica* L. cv. GEISHA A TRAVÉS DEL DESARROLLO DE UNA BEBIDA COLD BREW CON POTENCIAL FUNCIONAL”

Investigador principal: Dra. Rocio Campos Vega

Sede donde se realizará el estudio: Departamento de Investigación y Posgrado de Alimentos. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro.

Nombre del participante: _____

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Opcional)

Nombre del participante

Firma del participante

Fecha de la firma

Anexo 4. Intensidad de las emociones adaptado de Bhurmiratana *et al.*, (2019).

Instrucciones: Escribe frente a cada término de emociones, cómo te sientes en este momento, en relación a la experiencia de consumo de la bebida. Utiliza una escala numérica de 5 puntos (1 = nunca; 2 = ligeramente; 3 = moderadamente; 4 = mucho; 5 = extremadamente).

Activo	Disgustado	Motivado	Relajado	
Molesto	Educado	Complacido	Descansado	
Despierto	Empoderado	Emocionado	Agradecido	
Equilibrado	Energético	Alegre	Satisfecho	
Impulsivo	Satisfecha	Motivado	Sociable	
Aburrido	Cumplido	Nervioso	Calmado	
Divertido	Relajado	Desbalanceado	Especial	
Cómodo	Bueno	Pacífico	Confundido	
Limitado	Gruñón	Agradable	Cálido	
Curioso	Culpable	Complacido	Salvaje	
Decepcionado	Controlado	Productivo	Preocupado	

Anexo 5. Perfil de estados de ánimo POMS

Instrucciones: Responda con una X frente a cada aspecto indicando según la escala de respuesta que usted considere.

MUCHISIMO	BASTANTE	MODERADO	POCO	NADA
4	3	2	1	0

1. Tenso					21. Exhausto				
2. Inestable					22. Perezoso				
3. Con los pelos de punta					23. Abatido				
4. Asustado					24. Tirado (muy cansado)				
5. Relajado					25. Infeliz				
6. Intranquilo					26. Arrepentido por cosas hechas				
7. Inquieto					27. Triste				
8. Nervioso					28. Melancólico				
9. Ansioso					29. Falto de esperanza				
10. Animado					30. Indigno				
11. Activo					31. Desanimado				
12. Enérgico					32. Solo				
13. De buen humor					33. Miserable				
14. Alerta					34. Pesimista				
15. Lleno de dinamismo					35. Desesperado				
16. Despreocupado					36. Inútil				
17. Vigoroso					37. Atemorizado				
18. Rendido					38. Culpable				
19. Apático					39.				
20. Fatigado					40.				

Anexo 6. Inventario de Ansiedad Estado-Rasgo (STAI) de Spielberger *et al.*, (1983); y modificado por Vera-Villarroel *et al.*, (2007).

INSTRUCCIONES: a continuación, encontrará una serie de frases que se utilizan comúnmente para describirse a sí mismo o una así misma. Lea cada frase y marque con una X la alternativa que indique mejor cómo se siente usted ahora mismo, en este momento. Las opciones de respuesta están graduadas desde 0 a 3, dónde 0 significa “Nada” y 3 “mucho”. Por ejemplo, si usted marca la alternativa “2”, significa “bastante”. Ejemplo: Me siento somnolienta

NADA	ALGO	BASTANT E	MUCHO
0	1	X	3

No hay respuestas ni buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa su situación presente.

	Nad a	Alg o	Bastan te	Much o
Me siento calmado	0	1	2	3
Me siento seguro	0	1	2	3
Estoy tenso	0	1	2	3
Estoy afligido	0	1	2	3
Me siento cómodo (estoy a gusto)	0	1	2	3
Me siento alterado	0	1	2	3
Estoy preocupado ahora por posibles desgracias futuras	0	1	2	3
Me siento descansado	0	1	2	3
Me siento angustiado	0	1	2	3
Me siento confortable	0	1	2	3
Tengo confianza en mismo	0	1	2	3
Me siento nervioso	0	1	2	3
Estoy inquieto	0	1	2	3
Me siento muy atado (oprimido)	0	1	2	3

Estoy relajado	0	1	2	3
Me siento satisfecho	0	1	2	3
Estoy preocupado	0	1	2	3
Me siento aturdido y sobreexcitado	0	1	2	3
Me siento alegre	0	1	2	3
En este momento me siento bien	0	1	2	3

Anexo 7. Traducción al español de la Escala de Vitalidad Subjetiva del cuestionario diseñado por Ryan y Frederick (1997).

Instrucciones: “Por favor, responda a cada una de las siguientes afirmaciones indicando el grado en que en general, la afirmación es cierta para usted”. Las respuestas estarán respaldadas usando una escala de Likert de 7 puntos (1 = nada cierto; 7 = muy cierto).

Elementos

1. Me siento vivo y vital _____
2. No me siento muy energético _____
3. A veces me siento tan vivo que quiero saltar _____
4. Tengo energía y ánimo _____
5. Me ilusiono cada nuevo día _____
6. Casi siempre me siento alerta y despierto _____
7. Me siento activado (siento que tengo mucha energía) _____

Anexo 8. Escala visual análoga adaptada de (Haskell-Ramsay *et al.*, 2018).

Instrucciones: califiquen en qué medida estas descripciones coinciden con su estado actual colocando una 'x' en una línea con los puntos finales etiquetados como 'nada en absoluto' (extremo izquierdo) y 'extremadamente' (extremo derecho); con la excepción de "dolor de cabeza", que estará etiquetado como "sin dolor de cabeza" y "dolor de cabeza extremo", "estado de ánimo general", se etiquetará como "muy malo" y "muy bueno".

1. Relajado

Nada en absoluto Extremadamente

2. Alerta

Nada en absoluto Extremadamente

3. Nervioso

Nada en absoluto Extremadamente

4. Cansado

Nada en absoluto Extremadamente

5. Tenso

Nada en absoluto Extremadamente

6. Dolor de cabeza

Sin dolor de cabeza Dolor de cabeza extremo

7. Estado de ánimo general

Muy malo Muy bueno

8. Mentalmente fatigado

Nada en absoluto Extremadamente