



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

Programa de Posgrado en Alimentos del Centro de la República
(PROPAC)

Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

“Efecto del consumo de fibra de café (*Coffea arabica* L.) usado sobre la capacidad antioxidante plasmática y la actividad locomotora circadiana”

TESIS

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

Presenta: LN. Karla Yadhira Oseguera Castro

Dirigido por: Dra. Rocio Campos Vega

CU, Santiago de Querétaro, Qro. Noviembre 2017



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Maestría en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

“Efecto del consumo de fibra de café (*Coffea arabica* L.) usado sobre la capacidad antioxidante plasmática y la actividad locomotora circadiana”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

Maestro en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Presenta:

LN. Karla Yadhira Oseguera Castro

Dirigido por:

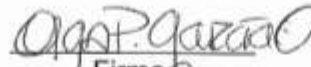
Dra. Rocio Campos-Vega

SINODALES

Dra. Rocio Campos Vega
Presidente


Firma

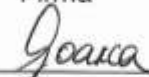
Dra. Olga Patricia García Obregón
Secretario


Firma

Dra. Ma. Dolores Del Castillo Bilbao
Vocal


Firma

Dra. Ma Guadalupe Flavia Loarca Piña
Suplente


Firma

Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz
Suplente


Firma

MSP Sergio Pacheco Hernández
Director de la Facultad

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro. México
Noviembre, 2017

RESUMEN

Las alteraciones en el reloj interno (cronodisrupción), denominado “ritmo circadiano” (RC), se asocian con un aumento del riesgo a desarrollar enfermedades no transmisibles como el cáncer, sobrepeso y obesidad. Se sugiere que la dieta mediterránea modula el RC, asociado a su aporte de fibra dietaria (FD) y antioxidantes. El café usado puede ser empleado como un potencial ingrediente funcional, debido a la elevada cantidad de FD que contiene y la cantidad de compuestos fenólicos que le confieren una marcada actividad antioxidante. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la fibra dietaria antioxidante del café usado (FDACU), adicionada a una galleta (GFDACU), sobre la capacidad antioxidante en plasma y la actividad locomotora circadiana, mediante un estudio clínico (21 días). Con fines comparativos se incluyó una galleta con café usado y oligofruktosa (GCU, 3.4g fibra/45g galletas) y una galleta sin fibra añadida (GSF). Se determinó la composición corporal, parámetros bioquímicos, actividad antioxidante en plasma, evaluación dietaria, cuestionarios de actividad física, calidad de sueño y cronotipo (matutinidad-vespertinidad) de 66 adultos sanos. La adición de FDACU y CU incrementó el contenido de fibra y proteína en las galletas formuladas con éstas. La ingesta calórica disminuyó en los sujetos que consumieron las GFDACU (5g fibra/día en 45g galleta), reflejado en la disminución de la circunferencia de cintura y el porcentaje de grasa corporal ($p < 0.05$), y no así en los otros grupos (GCU y GSF). La ingesta de las GFDACU incrementó significativamente la capacidad antioxidante plasmática en los individuos tratados ($p < 0.05$). El tratamiento mejoró significativamente la calidad del sueño y la actividad física. La incidencia de cronodisrupción en la población (>50 %) disminuyó hasta en un 63% en los sujetos que consumieron la GFDACU, mientras que en el grupo que consumió la GCU se disminuyó en un 16%, lo que se relaciona con el contenido de fibra aportado ingerido en cada caso. Nuestros resultados demuestran que la temperatura de la muñeca de la piel (WT), la actividad locomotora (A) y la posición del cuerpo (P) mejoraron significativamente con el consumo de la GFDACU y GCU comparadas con GSF, lo que se reflejó en la mejora del cronotipo y la melatonina en plasma. Este estudio informa, por primera vez sobre el potencial de la fibra de café en una dosis de 5g para modular la actividad locomotora circadiana, la capacidad antioxidante del plasma y la grasa corporal.

Palabras clave: *café usado, fibra dietaria antioxidante, actividad locomotora circadiana, capacidad antioxidante.*

SUMMARY

Alterations in the internal clock (chronodisruption), called “circadian rhythm” (CR) are associated with an increased risk of developing non-communicable diseases such as cancer, overweight and obesity. It has been suggested that Mediterranean diet modulates CR, which could be associated with their dietary fiber (DF) and antioxidants content. Spent coffee grounds are proposed as functional ingredient due to its high content of DF, phenolic compounds and their antioxidant activity. The aim of this study was to evaluate the effects of the consumption (21 days) of antioxidant dietary fiber (ADF), extracted from spent coffee grounds (SCG), as part of a cookie (C-ADFSCG), on the circadian locomotor activity and plasma antioxidant capacity of adults with normal-weight and overweight. Body composition, biochemical parameters, plasma antioxidant capacity, caloric intake, physical activity, sleep quality and chronotype (morning-evening) were evaluated in 65 healthy adults. The addition of ADFSCG to formulated cookies increased fiber and protein content. Caloric intake decreased in subjects who consumed the C-ADFSCG (5g fiber/day, 45g cookie), reflected on the decrease of waist circumference and body fat percentage ($p < 0.05$), in relation to baseline values and to the other groups (CC, cookie without added fiber and cookie made with spent coffee grounds and oligofructose (C-SCGOL, 3.4 g fiber/day, 45g cookie/21 days)). Plasma antioxidant capacity increased significantly ($p < 0.05$) after C-ADFSCG consumption. Normal-weight subjects increased their sleep quality and physical activity. The incidence of chronodisruption (50%) decreased up to 63% among C-ADFSCG group subjects, while in the group that consumed cookie C-SCGOL decrease up to 16%, effect related with body weight, sleep quality and plasma antioxidant capacity. Our results show that wrist temperature (WT), locomotor activity (A) and body position (P) improved with the consumption of dietary antioxidant fiber and are reflected in the chronotypes. This work reports for the first time the potential of ADFSCG to modulate circadian rhythms, plasma antioxidant capacity and body fat.

Palabras clave: *spent coffee grounds, antioxidant dietary fiber, circadian rhythms, plasma antioxidant capacity.*

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 brindarme todo el apoyo durante mi estancia.

A la **Dra. Rocio Campos Vega** por sus conocimientos invaluable que me brindó para realizar esta investigación, y sobre todo por su tiempo, apoyo y confianza brindada.

A la **Dra. Olga Patricia García Obregón** por apoyarme incondicionalmente en todo, por compartirme sus valiosos conocimientos y por su revisión y atinados comentarios para mejorar este trabajo.

A la **Dra. Ma. Dolores Del Castillo Bilbao** por su guía, revisión, por sus valiosas contribuciones para enriquecer este trabajo y por todo su apoyo durante mi estancia.

A la **Dra. Ma Guadalupe Flavia Loarca Piña y Dra. Sandra Olimpia Mendoza Díaz** por ofrecerme la oportunidad de trabajar con ellas, por las contribuciones aportadas para el mejoramiento de este proyecto, por sus sabios consejos y por siempre ofrecer su ayuda y una sonrisa.

A mis amigos incondicionales con los que realicé y me apoyaron en este proyecto: **Cynthia, Memo, Astrid, Maguie y Jorge**, por su valiosa amistad y apoyo a lo largo de todo este tiempo.

A mis compañeros de laboratorio: **Aurea, Jhony, Kenia, Pablo, Sandra, Laura, Liz y Astrid**, por su gran apoyo brindado e instantes vividos.

Se agradece también a todos aquellos que hicieron posible este proyecto: **Dr. Juan Antonio Madrid Pérez, Dra. María José Martínez Madrid y Amaia Iriondo De Hond** por brindarme la oportunidad de trabajar con ellos.

También se agradece a todos los docentes de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la UAQ por los conocimientos impartidos que engrandecieron mi desarrollo profesional.

Y, por supuesto, el agradecimiento más profundo va para mi familia y Roberto. Sin su apoyo, colaboración, paciencia y ejemplo no habría sido posible para mí llevar a cabo este sueño.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	3
TABLA DE CONTENIDO	6
ÍNDICE DE FIGURAS	9
ÍNDICE DE TABLAS	11
I. INTRODUCCIÓN	13
II. ANTECEDENTES	16
II.1. El café	16
II.2. Subproductos del café	17
II.3. Café usado	18
II.3.1. Composición nutracéutica del café usado	19
II.3.2. Café usado como ingrediente funcional/nutracéutico	21
II.3.3. Compuestos fenólicos	22
II.3.4. Ácido clorogénico	24
II.3.5. Flavonoides	25
II.3.6. Taninos condensados	26
II.3.7. Cafeína	26
II.3.8. Melanoidinas	27
II.4. Fibra	28
II.4.1. Fibra dietaria	29
II.4.2. Soluble	30
II.4.3. Insoluble	30
II.4.4. Fibra dietaria antioxidante	30
II.4.5. Efectos fisiológicos de la fibra dietaria y compuestos fenólicos del café usado	31
II.4.6. Consumo de fibra en México	33
II.5. Actividad antioxidante de los alimentos	33
II.5.1. Estrés oxidativo	34
II.5.2. Efectos fisiológicos de los compuestos bioactivos sobre la capacidad antioxidante	35
II.5.3. Actividad antioxidante plasmática	36

II.6. Cronobiología.....	37
II.6.1. Fisiología del ritmo circadiano.....	38
II.6.3. Tipología circadiana	41
II.6.4. Ritmos circadianos.....	42
II.6.5. Melatonina	42
II.6.6. Metilxantinas.....	44
II.7. Efecto de componentes dietarios sobre la actividad locomotora.....	45
II.7.1. Cronodisrupción	45
II.7.2. Ritmos circadianos en el metabolismo	46
II.8 Marcadores circadianos.....	47
II.8.1. Estudio de la temperatura corporal.....	47
II.8.2. Patrones de comida y sueño	48
III. JUSTIFICACIÓN	51
IV. HIPÓTESIS	53
V. OBJETIVOS	54
V.1. Objetivo general.....	54
V.2. Objetivos específicos.....	54
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
VI.1. Materiales.....	55
VI.1.1. Materia prima.....	55
VI.1.2. Composición corporal.....	55
VI.1.3. Materiales químicos	56
VI.2. Metodología.....	56
VI.2.1.Extracción de fibra antioxidante	56
VI.2.2. Proceso de elaboración de las galletas.....	57
VI.2.3 Análisis proximal	57
VI.2.3.1 Determinación de lípidos (Técnica 920.39).....	57
VI.2.3.2 Determinación de proteína (Técnica 920.105).....	58
VI.2.3.3 Determinación de humedad (Técnica 925.23)	59
VI.2.3.4 Determinación de cenizas (Técnica 945.46).....	59
VI.2.3.5 Determinación de carbohidratos.....	59
VI.2.4. Obtención del extracto etanólico.....	59

VI.2.5. Capacidad antioxidante	60
VI.2.5. Determinación fenoles totales.....	61
VI.2.6. Estudio clínico	61
VI.2.6.1. Sujetos.....	61
VI.2.6.2. <i>Criterios inclusión</i>	62
VI.2.6.3. Criterios exclusión	62
VI.2.7. Diseño experimental.....	63
VI.2.8. Cuestionarios	64
VI.2.9. Determinaciones bioquímicas.....	66
VI.2.10. Obtención de plasma.....	67
VI.2.10.1. Capacidad antioxidante en plasma.....	67
VI.2.10.2 Melatonina	68
VI.2.11. Protocolo de colocación de los sensores para medir ritmo locomotor circadiano.....	69
VI.2.11.1. Procesamiento de los datos	73
VI.2.12. Análisis estadístico	75
VII. Resultados	76
VII.1 Composición proximal del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y las galleta	76
VII.2 Compuestos fenólicos en café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y galletas evaluadas.....	78
VII.2 Capacidad antioxidante del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y galletas evaluadas	79
VII.3. Estudio clínico	81
VII.3.1. Características antropométricas y bioquímicas de la población de estudio	81
VII.3.2. Efecto de los tratamientos sobre la capacidad antioxidante plasmática.	94
VII.3.3. Efecto de los tratamientos sobre la actividad locomotora circadiana.	96
VIII. CONCLUSIONES.....	122
IX. BIBLIOGRAFÍA.....	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Esquema de la producción de diversos subproductos de la industria del café.....	18
Figura 2 Regulación del reloj biológico a nivel molecular	40
Figura 3 Cambios en la amplitud del ritmo circadiano de melatonina con la edad.	44
Figura 4 Representación gráfica de los valores de temperatura periférica, medida en la muñeca en un sujeto sano a lo largo de siete días.....	48
Figura 5 Cambios en el sueño humano en función de la edad.....	50
Figura 6 Ritmo circadiano de la actividad motora.....	71
Figura 7 Ritmo circadiano de la posición del cuerpo	72
Figura 8 Ritmo circadiano de la variable integrada TAP	73
Figura 9 Proceso de oxidación de la fluoresceína por los radicales peroxilo producidos por la descomposición térmica del AAPH	68
Figura 10 Colocación de sensores para ritmo locomotor circadiano	70
Figura 11 Cambios en la capacidad antioxidante en plasma por el método ORAC.	95
Figura 12 Cambios en el cronotipo biológico (Horne-Östberg) por grupo después de 21 días de intervención.	97
Figura 13 Cambios en la actividad física por grupo después de 21 días de intervención.....	99
Figura 14 Cambios en la calidad de sueño por grupo después de 21 días de intervención.....	101
Figura 15 Relación del cronotipo con variables antropométricas y bioquímicas .	102

Figura 16 Comparación de niveles de melatonina en plasma medido a las 09:00 h por cronotipo en relación a los datos de cronotipo del cuestionario Horne-Östberg.	105
Figura 17 Onda media de temperatura periférica basales por grupo de galleta..	108
Figura 18 Onda media de temperatura periférica finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención.....	109
Figura 19 Onda media de actividad basal por grupo de galleta	111
Figura 20 Onda media de actividad motora finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención	112
Figura 21 Onda media de posición basal por grupo de galleta	113
Figura 22 Onda media de posición finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención.....	115
Figura 23 Onda media de sueño basal por grupo de galleta.....	116
Figura 24 Onda media de sueño finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención.....	117
Figura 25 Onda media de exposición a la luz basal por grupo de galleta	118
Figura 26 Onda media de exposición a la luz finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención	119
Figura 27 Onda media de TAP basal por grupo de galleta.....	120
Figura 28 Onda media de TAP finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención.....	121

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química del café usado	20
Tabla 2 Contenido de fenoles en el café usado	24
Tabla 3 Esquema representativo del diseño del estudio clínico	64
Tabla 4 Composición proximal del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado, GFDACU (galleta con FDACU), GCU (galleta con Cu y oligofruktosa) y GSF (galleta sin fibra añadida).....	77
Tabla 5 Concentración de compuestos fenólicos en Café Usado (CU), Fibra Dietaria Antioxidante de Café Usado (FDACU), Galleta con CU (GCU), Galleta con FDACU (GFDACU) y Galleta sin fibra añadida (GSF).....	78
Tabla 6 Capacidad antioxidante en Café Usado (CU), Fibra Dietaria de Café Usado (FDACU), Galleta con CU (GCU), Galleta con FDACU (GFDACU) y Galleta sin Fibra Añadida (GSF).....	80
Tabla 7 Características basales de la población por grupo de tratamiento ^a	82
Tabla 8 Consumo de alimentos semanales por tratamiento e ingesta calórica por recordatorio de 24 horas	84
Tabla 9 Valores antropométricos de los sujetos participantes en el estudio clínico al inicio y final de 21 días de intervención, según el índice de masa corporal y tratamiento experimental	88
Tabla 10 Diferencias de las variables bioquímicas en sujetos sometidos a diferentes tratamientos durante 21 días	92
Tabla 11 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de temperatura periférica en los tratamientos	109

Tabla 12 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de actividad motora en los tratamientos	111
Tabla 13 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de posición en los tratamientos	114
Tabla 14 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de sueño en los tratamientos	116
Tabla 15 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de exposición a la luz en los tratamientos	118
Tabla 16 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de TAP en los tratamientos	120

I. INTRODUCCIÓN

El deterioro ambiental dado por la generación de subproductos de la industria alimentaria ha sido entendida como una problemática mundial. La creación, además de la adaptación de estrategias para el manejo de los subproductos, se convierte en la alternativa de solución a dicho problema y además se convierte en una posibilidad de generar productos con valor agregado. El café es un producto alimenticio de gran importancia debido a su alto consumo e impacto en la economía global, generándose grandes cantidades de residuos industriales durante su procesamiento que pueden ocasionar contaminación en agua, aire y suelo. En los últimos años se vienen desarrollando en el mundo propuestas de productos alimenticios con características diferentes que se clasifican como fisiológicamente funcionales; por tal motivo, se ha investigado el café, su composición, propiedades y su relación con la salud. Actualmente se conoce que este producto agroalimentario posee una serie de bioactividades, tales como: actividad antioxidante, anticarcinogénica y antimutagénica (Monente *et al.*, 2015). El contenido de estos componentes bioactivos varía entre especies y lugar de origen y le dan al café la calidad de alimento funcional y nutracéutico (Naranjo *et al.*, 2011).

Las dos especies de café más importantes mundialmente son *Coffea arabica* y *Coffea canephora* (sinónimo *Coffea robusta*) (Cano-Marquina *et al.*, 2013). El café es el segundo producto más comercializado después del petróleo y es una de las bebidas más populares en el mundo (Naranjo *et al.*, 2011); ésta incluye una mezcla compleja de compuestos bioactivos los cuales presentan una gran diversidad de efectos fisiológicos entre los cuales destaca la fibra antioxidante (Cano-Marquina *et al.*, 2013). La fibra proporciona múltiples beneficios a la salud. Sin embargo, en México según datos de la Encuesta de Salud y Nutrición 2012, el consumo diario de fibra en adultos es de 15.8g cuando la recomendación es de 30 y 35g para mujeres y hombres, respectivamente (Sauceda *et al.*, 2011).

Estudios recientes indican que una cantidad apreciable de polifenoles asociados a la fibra dietaria proporciona capacidad antioxidante significativa que

puede tener efectos pronunciados en sus propiedades. Esta característica se deriva del poder antioxidante sinérgico acumulativo de los polifenoles asociados principalmente; así como, de otros componentes (carotenoides y productos de la reacción de Maillard) (Sauceda *et al.*, 2011) que además podrían estar relacionadas con la actividad locomotora circadiana de los individuos (Méndez *et al.*, 2016).

Los seres vivos han desarrollado un “reloj interno” cuya periodicidad es cercana a 24 horas, de aquí el término “ritmo circadiano” (RC). Los relojes circadianos biológicos ayudan a coordinar la homeostasis metabólica (Ojeda *et al.*, 2016). Dentro de las principales señales de entrada, capaces de modular el RC, se encuentran la luz (cambios luz/oscuridad), el ejercicio programado (actividad/reposo) y la alimentación, debido a que estos relojes moleculares anticipan periodos regulares de suministro de energía frente a la demanda. Investigaciones recientes sugieren a la alimentación como el principal modulador del RC. Los patrones y compuestos de la alimentación producen ciclos diurnos de las comunidades microbianas intestinales y sus metabolitos asociados, promoviendo la sincronización circadiana adecuada en el huésped (Voigt *et al.*, 2014). Las alteraciones en estos ciclos (cronodisrupción) se asocian con un aumento del riesgo a desarrollar enfermedades no transmisibles como el cáncer, sobrepeso y obesidad, debido al vínculo entre la microbiota intestinal y el ritmo circadiano que sugiere un papel fundamental en el establecimiento de la salud metabólica. Por lo tanto, el establecimiento de ritmos circadianos adecuados es prioritario. Se sugiere que la dieta mediterránea podría estar modulando el RC, asociado a su aporte de fibra dietaria y antioxidantes. Las dietas occidentales que suelen ser altas en grasas crean disbiosis y alteran las oscilaciones de las bacterias (Ojeda *et al.*, 2016).

Actualmente se estudia la “actividad locomotora circadiana” que integra el análisis de variables como la temperatura corporal, posición corporal, actividad y exposición a la luz, permitiendo tener un diagnóstico cronobiológico de las personas o la determinación del efecto que la alimentación tiene sobre los RC

(Ortiz-Tudela *et al.*, 2010). Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de la intervención con fibra antioxidante de café usado sobre la capacidad antioxidante plasmática y su posible relación con la actividad locomotora circadiana.

II. ANTECEDENTES

II.1. El café

La planta de café pertenece al género *Coffea* de la familia Rubiaceae con más de 70 especies, solo 2 de importancia económica y comercial, la especie Arabica (*Coffea arabica* L.) y la especie Robusta (*Coffea canephora* var. Robusta). Los granos de café 100 % Arabica, son los preferidos por los consumidores y se consideran como los de mejor calidad en los mercados internacionales (Naranjo *et al.*, 2011).

El café se toma como una infusión que se prepara a partir de las semillas tostadas de un arbusto del género *Coffea*. Las semillas de café, están contenidos en las bayas o cerezas que, una vez maduras, se procesan y se secan. Las cerezas de café están compuestas por una cubierta exterior, el exocarpio o piel, el cual determina el color del fruto; en el interior hay diferentes capas: la pulpa que es fácilmente fermentada por levaduras o metabolizada por bacterias del ácido láctico que producen bebidas alcohólicas y vinagre; el mesocarpio, es una goma rica en azúcares adherida a las semillas que se conoce como mucílago; el endocarpio es una capa amarillenta que cubre cada grano, llamada pergamino; la epidermis, una capa muy delgada conocida como la piel plateada o cascarilla; y los granos o semillas, el endosperma, conocidos como grano de café verde, que son los que tuestan para preparar los diferentes tipos de café (Fonseca-García *et al.*, 2014; Campos-Vega *et al.*, 2015).

La especie *Coffea canephora* Pierre tiene una amplia distribución geográfica. Aproximadamente, el 35% del café que se comercializa en el mundo es de esta especie, conocida como Robusta. Las variedades de Robusta, por lo general, tienen órganos pequeños (hojas, frutos, flores y granos) y son conocidas como Conilon, Koulliou o Quillou. Se cultiva generalmente en altitudes por debajo de 1000 m. Es de polinización cruzada, por lo que para su cultivo se deben sembrar varios genotipos compatibles. Su contenido de cafeína es mayor al 2%. Investigaciones más recientes han podido determinar que la especie Robusta es una de las más antiguas al originarse hace más de 5 millones de años; incluso hay

quienes consideran que puede tener cerca de 25 millones de años (Fonseca-García *et al.*, 2014).

Coffea arabica L. es actualmente la principal especie del género, y constituye más del 60% del café que se comercializa en el mercado internacional. Es una especie autógama, es decir, se auto poliniza o auto fertiliza. Su centro de origen se encuentra en el Sudeste de Etiopía, el Sur del Sudán y el Norte de Kenia. Es una especie tetraploide tiene 44 cromosomas, que proviene de formas antiguas de dos especies diploides *Coffea eugenioides* 22 cromosomas probablemente como madre, y *C. canephora* 22 cromosomas, como padre. Estudios científicos la catalogan como una especie relativamente "joven", que hizo su aparición hace menos de 1 millón de años. Se considera un café de altura, que se cultiva bien en temperatura de 18 a 230°C. El contenido de cafeína de los granos está entre 1,0 y 1,4% en base a materia seca y es menos amargo que la otra especie antes mencionada (Fonseca-García *et al.*, 2014).

La historia del café comienza en Etiopía, donde se le atribuye propiedades energizantes antes del siglo 14. A mediados del siglo 15 hay evidencia de su consumo en los monasterios Yemeni Sufi, desde donde se difundió al resto de Oriente Medio y el norte de África. El intenso comercio de las naves venecianas con el Medio Oriente abrió las puertas de Europa para café, desde donde fue introducida posteriormente a América (Cano-Marquina *et al.*, 2013).

II.2. Subproductos del café

Dependiendo el método de procesamiento de la cereza de café, es decir, proceso húmedo o seco, el tostado y la elaboración de la bebida, se generan diversos residuos sólidos como pergamino, pulpa y cáscara respectivamente, piel plateada y el café usado (CU) (Murthy y Naidu, 2012) (Figura 1).

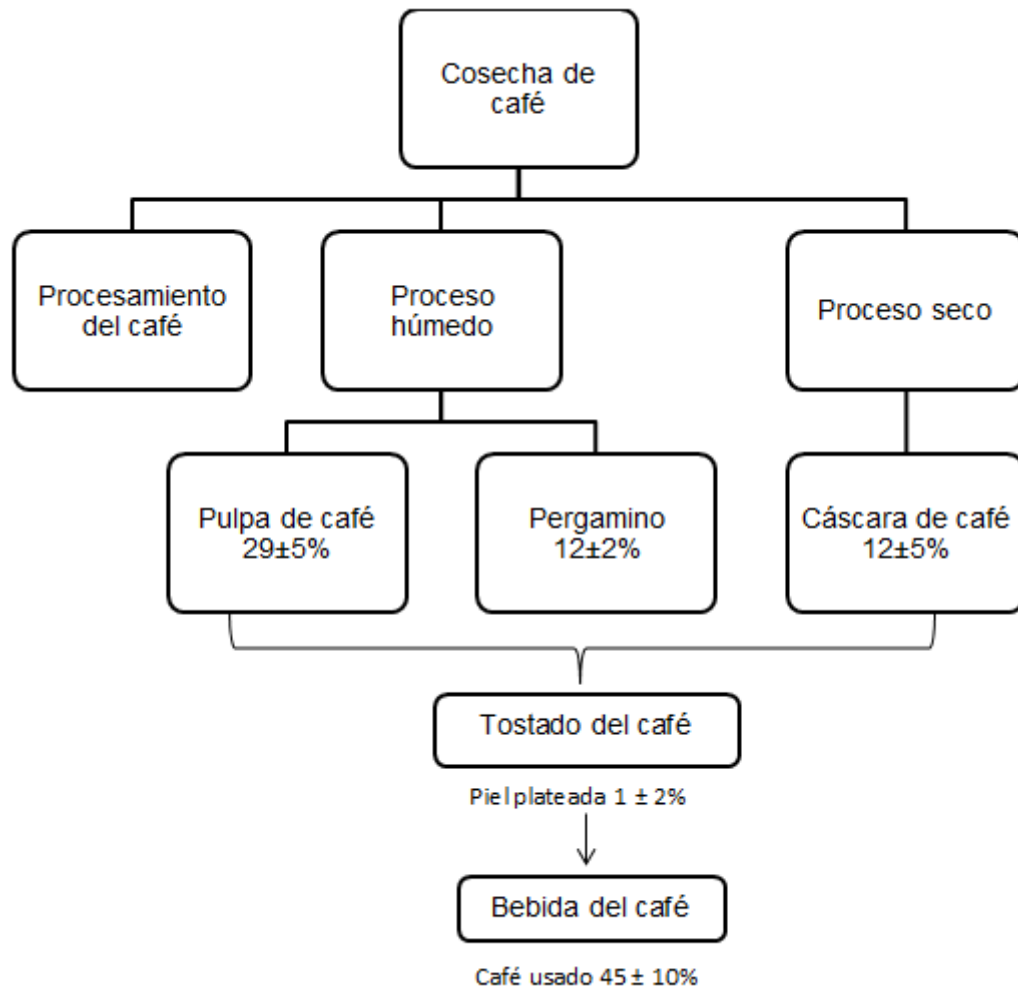


Figura 1 Esquema de la producción de diversos subproductos de la industria del café.
Adaptado de Murthy y Naidu (2012).

Actualmente, se ha tenido una gran demanda en cuanto a la revalorización de los subproductos del café. Entre los usos que se han propuesto para estos subproductos se encuentra la de fuente de prebióticos, fibra dietaria y antioxidantes (Campos-Vega *et al.*, 2015).

II.3. Café usado

El café usado es un residuo con tamaño fino de partícula, alta humedad (en el intervalo de 80-85 %), carga orgánica y acidez, obtenido durante el tratamiento de café tostado en polvo con agua caliente o vapor para la preparación de la bebida. Este es también un importante subproducto de la industria del café,

teniendo en cuenta que casi el 50% de la producción mundial de café se procesa para la obtención de café soluble (Naranjo *et al.*, 2011).

Se ha sugerido que el café usado puede ser empleado como un potencial ingrediente funcional, debido a la elevada cantidad de fibra dietaria insoluble que contiene, además posee una gran cantidad de compuestos fenólicos que le confieren una marcada actividad antioxidante (Esquivel y Jiménez, 2012). Murthy y Naidu (2012) reportaron que entre los tipos de residuos de café, la piel plateada contiene alta cantidad de fibra total (80 %) seguido de la cáscara de la cereza y café usado. La pulpa del café tuvo poca cantidad del total de fibra dietaria en comparación con otros subproductos. En el café usado reportan un contenido del 35% de fibra soluble que podría utilizarse directamente en productos alimenticios para contribuir a la estabilización de la estructura de los alimentos (Murthy y Naidu, 2012).

II.3.1. Composición nutracéutica del café usado

Los granos de café usado son ricos en azúcares polimerizados en las estructuras de celulosa y hemicelulosa, que corresponden a casi la mitad del material. Contienen 46,8% de manosa, galactosa 30.4 %, 19 % de glucosa, 3.8 % de arabinosa y, algunos mananos como los principales polisacáridos (Campos-Vega *et al.*, 2015). La composición química varía de una planta a otra, y dentro de las diferentes partes de la misma planta. También varía dentro de las plantas de diferentes ubicaciones geográficas, edades, el clima y las condiciones del suelo. El conocimiento de las propiedades físicas y químicas conducirá a una mejor comprensión de la aplicación del café usado (Murthy y Naidu, 2012).

Los compuestos de nitrógeno total en el café son relativamente estables entre las especies o incluso durante el tostado, que van desde 8.5 a 13.6 %. La proteína bruta reportada por Cruz *et al.*, (2012) en los residuos de café expresso varían entre 12.8 y 16.9%. El contenido medio de proteínas en el café usado es de 13.6%, sin embargo, puede ser sobreestimado debido a la presencia de otras sustancias que contienen nitrógeno (cafeína, trigonelina, aminas libres y aminoácidos). Al respecto, muchos autores informan contenido de proteínas similares, variando entre 6.7 y 9.9 % y hasta el 14 % (Campos-Vega *et al.*, 2015).

Tabla 1. Composición química del café usado

Fibra dietaria	% por gramo de muestra en base seca	
	Tostado medio	Tostado oscuro
Total	57.1 ± 0.9	58.6 ± 0.6
Soluble	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.2
Insoluble	55.5 ± 0.9	57.1 ± 0.7
Componentes	Base seca (g/100g)	
Celulosa (glucanos)	8.6	
Hemicelulosa	36.7	
Arabinanos	1.7	
Galactanos	13.8	
Mananos	21.2	
Proteínas (Nx6.25)	13.6	
Grupos acetilo	2.2	
Cenizas	1.6	
Almidón resistente	5.6 ± 0.2	
Minerales	(mg/kg)	
Potasio	3549	
Fósforo	1475.1	
Magnesio	1293.3	
Calcio	777.4	
Aluminio	279.3	
Hierro	118.7	
Magnesio	40.1	
Cobre	32.3	
Zinc	15.1	
Azufre	Nd	
Cromo	Nd	

Tabla adaptada de Mussatto *et al.*, (2011) y López-Barrera *et al.*, (2016)

Nd: no detectable

Estos compuestos pueden ejercer su potencial protector contra diversas enfermedades en términos de sus propiedades antimutagénicas (por ejemplo, la hemicelulosa de la fibra insoluble, melanoidinas y polifenoles de alto peso molecular) y propiedades antioxidantes (por ejemplo, ácido clorogénico) (Esquivel y Jiménez, 2012).

II.3.2. Café usado como ingrediente funcional/nutracéutico

Se han descrito diferentes compuestos relacionados con la salud humana en el café usado. La bioaccesibilidad, la permeabilidad y la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de CU (tostado medio y oscuro) se evaluaron mediante un ensayo gastrointestinal in vitro, la absorción intestinal y la fermentación colónica de la fracción no digerible/no absorbible. Se resalta el papel fisiológico potencial de los compuestos fenólicos presentes en el CU para eliminar radicales libres presentes en la circulación sistémica y algunos tejidos (²Campos-Vega *et al.*, 2015).

Los principales estudios que han desarrollado productos en los cuales el ingrediente de mayor importancia funcional sea el café usado han sido desarrollado en productos de panadería. Martínez-Saez *et al.*, (2016) muestran datos sobre caracterización fisicoquímica, estabilidad térmica y seguridad alimentaria del café usado incorporado en formulaciones de galletas por primera vez. Martínez-Saez *et al.*, (2017) evaluó los efectos in vitro de los componentes alimentarios bioaccesibles liberados durante la digestión simulada de la galleta con café usado demostrando que reduce la bioaccesibilidad de los monosacáridos, inhibe una enzima digestiva relacionada con la diabetes α -glucosidasa y mejora la liberación de las hormonas de la saciedad.

Vázquez-Sánchez *et al.*, (2016) obtuvieron fibra dietaria de café usado mediante calentamiento óhmico y lograron su incorporación a una galleta, en donde se llevó a cabo una evaluación nutrimental y nutracéutica de las galletas obtenidas.

Por su parte, López-Barrera *et al.*, (2016) muestran que el café usado es rico en fibra dietética la cual puede fermentarse mediante la microbiota del colon produciendo ácidos grasos de cadena corta con la capacidad de prevenir la inflamación. García-Gutiérrez *et al.*, (2017) muestran los efectos quimiopreventivos del café usado en la supervivencia celular del adenocarcinoma SW480 principalmente por su contenido de polifenoles digeridos y fermentados por la microbiota del colon. Hernández-Arriaga *et al.*, (2017) muestra que la fracción no digerible/no absorbida y su metabolito colónico inducen apoptosis de células HT-29 al reducir la catalasa y la 8-iso-prostaglandina F2 α como biomarcadores de estrés oxidativo *in vivo* como mecanismo primario subyacente a su quimioprotección.

II.3.3. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos (CF) son sustancias fitoquímicas que estando en bajas concentraciones en los alimentos pueden prevenir algunos de los procesos implicados en el desarrollo de cáncer y enfermedades cardiovasculares. En los tejidos vegetales los CF interactúan principalmente con los carbohidratos, encontrándose en forma libre y conjugada (Sauceda *et al.*, 2011).

De acuerdo a los reportes en la literatura, la actividad antioxidante del café está potencialmente relacionada a su alto contenido de compuestos fenólicos (Avello y Suwalsky, 2006; Conde y Mussatto, 2015; Ekbatan *et al.*, 2016). Los CF, además de sus propiedades antioxidantes poseen una amplia gama de efectos biológicos como antibacterianos, antivirales, antiinflamatorios, antitrombóticos y acciones vasodilatadoras. Químicamente, los compuestos fenólicos se pueden definir como sustancias que poseen anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo, incluyendo sus derivados funcionales; esta característica les confiere una acción antioxidante. Son los compuestos bioactivos antioxidantes más abundantes en la dieta. Un gran número de moléculas que tienen una estructura fenólica (grupos hidroxilo unidos a anillos aromáticos) han sido identificadas en las plantas superiores. Estas moléculas son llamadas compuestos fenólicos o polifenoles y son metabolitos secundarios de las plantas que, por lo general, participan en la defensa contra la radiación ultravioleta o daños fisiológicos por

patógenos. Los CF pueden clasificarse en diferentes grupos, en función del número de anillos fenol que poseen y de los elementos estructurales que unen a estos anillos entre sí. Entre los principales grupos se encuentran los flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos. En los alimentos pueden también aparecer en formas conjugadas (glucósidos) con uno o más restos de azúcares unidos a grupos hidroxilo o directamente al anillo aromático aunque también pueden encontrarse asociados a otros compuestos. Una de las principales propiedades de los CF es su potencial antioxidante. Esta actividad de los CF parece estar relacionada con su capacidad quelante, inhibición de la lipoxigenasa y captura de radicales libres (Sauceda *et al.*, 2011).

Entre los CF con un reconocido potencial antioxidante destacan los flavonoides (quercetina, kaemferol, miricetina), los ácidos fenólicos (gálico, coumárico, caféico, clorogénico) y taninos (elagitaninos); los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos de origen vegetal (Sauceda *et al.*, 2011).

Dentro de los compuestos fenólicos encontrados en el café, la clase predominante es la de los ácidos clorogénicos (Castillo *et al.*, 2014). Murthy y Naidu (2012) reportaron en el café usado un porcentaje de ácido clorogénico de 2.3 ± 0.9 y polifenoles totales (% w/w ácido gálico) de 1.02 ± 0.9 . En la Tabla 2 se muestran los polifenoles encontrados en el café usado según su grado de tostado, en donde se destaca el contenido de ácido clorogénico y un contenido de hasta 9.9 mg/g de muestra de polifenoles (López-Barrera *et al.*, 2016).

Tabla 2 Contenido de fenoles en el café usado

	Tostado medio	Tostado oscuro
Polifenoles	Café usado (mg/g)	Café usado (mg/g)
Ácido gálico	2.5 ± 0.06	1.3 ± 0.06
Ácido clorogénico	5.6 ± 0.1	1.8 ± 0.1
Catequina	0.6 ± 0.1	0.3 ± 0.1
Ácido caféico	0.07 ± 0.0	0.03 ± 0.1
Rutina	0.06 ± 0.01	0.06 ± 0.00
Ácido elágico	0.1 ± 0.01	0.06 ± 0.00
Ácido <i>p</i> -cumarico	0.01 ± 0.0	0.01 ± 0.0
Ácido ferulico	0.004 ± 0.0	0.01 ± 0.0
Quercetina	0.96 ± 0.1	1.0 ± 0.0
Polifenoles Totales	9.9	4.57
Cafeína	0.4 ± 0.0	0.4 ± 0.0

Tabla adaptada de López-Barrera *et al.*, (2016)

II.3.4. Ácido clorogénico

El café es la principal fuente de ácido clorogénico en la dieta humana. Se calcula que solo una taza contiene 70-350 mg de ácidos clorogénicos (Fonseca-García *et al.*, 2014). Otros autores mencionan que una sola ración de café ofrece entre 20 y 675 mg de ácidos clorogénicos, dependiendo del tipo de café, tostado y el volumen consumido (Cano-Marquina *et al.*, 2013). Mientras que, el contenido de ácido clorogénico en el café usado varía de 1.8 a 5.6 mg/g, dependiendo del grado de tostado (Tabla 2).

Los ácidos clorogénicos constituyen una familia de ésteres formados por ácido cinámico trans, principalmente el ácido caféico, el ácido ferúlico y ácido quínico. La forma más común de ácido clorogénico es el ácido 5-O-cafeoilquínico. El metabolismo de los ácidos clorogénicos todavía no está claro, aunque los estudios en humanos han confirmado que se produce principalmente en dos estaciones, intestino delgado y colon. La primera etapa se lleva a cabo por las enzimas esterasas activas, que generan los ácidos fenólicos originales tanto en el intestino delgado y grueso. La absorción en el colon es probablemente el más

relevante cuantitativamente, lo que representa alrededor de dos tercios del ácido clorogénico ingerido. El metabolismo se lleva a cabo por la microbiota, que escinde el enlace éster y proporciona esterasas para su posterior metabolismo. Diferentes metabolitos de ácidos clorogénicos se encuentran en la orina. En recuento de 24 h la excreción de los productos y sus metabolitos se aproxima a 27-29 % de la ingesta (Cano-Marquina *et al.*, 2013).

II.3.5. Flavonoides

Los flavonoides son una clase de polifenoles ampliamente distribuidos, se encuentran presentes en plantas, frutas, vegetales y cereales. Dentro de este grupo podemos encontrar diferentes subclases: flavanoles (catequina, epicatequina, etc.), flavanonas (naringina, naringenina, etc.), antocianidinas y flavonoles (quercetina, miricetina, etc.), entre otros. Constan de un anillo pirano que puede ser abierto (chalconas) o reciclado en un anillo furano (auronas). A éstos compuestos se le han atribuido diversos efectos benéficos a la salud incluyendo su actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, antialérgico, antiviral, vasodilatador, entre otros. De igual forma diversos estudios han demostrado que su consumo está asociado con la reducción del desarrollo de enfermedades crónicas como cáncer y enfermedades coronarias (Conde y Mussatto, 2015).

Por otro lado, los flavonoides juegan un papel importante en la inhibición de la peroxidación lipídica, la agregación plaquetaria y afecta la permeabilidad capilar. Metabólicamente, inhiben la actividad de diversos sistemas enzimáticos como la ciclo-oxigenasa y lipoxigenasa, actúan como antioxidantes y eliminan radicales libres (Fonseca- García *et al.*, 2014).

En el café usado López-Barrera *et al.*, (2016) reportó un contenido de flavonoides dependiendo el grado de tostado de 11.47 ± 0.69 y 8.10 ± 0.51 mg/g, tostado medio y oscuro, respectivamente.

II.3.6. Taninos condensados

Pertenecientes al grupo de los polifenoles, los taninos o proantocianidinas son metabolitos secundarios producidos por una gran variedad de plantas, los cuales están formados por condensación de fenoles simple. En el alimento se encuentran unidos a la matriz de fibra por lo que no son fácilmente extraíbles (Pérez-Hernández *et al.*, 2012).

Los taninos pueden ser clasificados en tres grupos: taninos condensados, taninos hidrosolubles y taninos complejos (Vermerris y Nicholson, 2008).

Los taninos pueden reaccionar con diversas moléculas con importancia biológica, lo cual puede tener consecuencias tanto nutricionales como fisiológicas; pueden formar complejos insolubles con enzimas digestivas y proteínas dietarias (Vermerris y Nicholson, 2008).

Éste tipo de compuestos presentan propiedades anti-inflamatorias y antisépticas. También se han empleado para tratar diversas enfermedades como diarreas y tumores en estómago y duodeno. Otra de sus aplicaciones es en la producción de vinos y cervezas, en donde son utilizados para precipitar proteína (Vermerris y Nicholson, 2008).

Para el café usado López-Barrera *et al.*, (2016) reportaron valores según el grado de tostado; para tostado medio: 18.27 ± 0.23 mientras que, en el tostado oscuro: 8.00 ± 0.29 mg/g.

II.3.7. Cafeína

La cafeína, el 1, 3,7-trimetil-xantina, un alcaloide de purina, es el único compuesto más popular por excelencia reconocido en café y como ingrediente en sus productos. Este alcaloide es retirado de los granos de café descafeinado por el proceso de uso común en la escala industrial. Aunque el contenido de cafeína en los residuos de café es inferior a la de los granos de café, una gran cantidad de cafeína todavía permanece. El contenido de cafeína en una taza de café es muy variable, ya que depende de la variedad de planta usada y del método de preparación. El té es rico en teofilina, un isómero de la teobromina, y teína. Hay que puntualizar que la estructura química de la teína del té es la misma que la de

la cafeína, pero se denomina así para diferenciar su origen. En un mismo volumen se encuentra el doble de cafeína en el café que en el té. Los efectos nutracéuticos difieren debido, en gran parte, a que la gran cantidad de flavonoides que contiene el té bloquea los receptores de benzodiazepinas (Pérez-Hernández *et al.*, 2012).

La cafeína tiene una vida media de aproximadamente 4-6 h. Su metabolismo se produce principalmente en el hígado, en donde las cuentas de la isoforma CYP1A2 del citocromo P450 son para casi 95% del metabolismo primario. De dos a tres tazas de café pueden dar como resultado niveles plasmáticos de cafeína de 20-40 $\mu\text{mol/L}$, una concentración en la que la acción principal de la cafeína es ser antagonista de los receptores de adenosina (Cano-Marquina *et al.*, 2013).

Los principales efectos de la cafeína detectados en los seres humanos afectan el sistema cardiovascular y el sistema nervioso central, junto con modificaciones en el metabolismo de hidratos de carbono o en los mecanismos inflamatorios. Otras acciones de la cafeína incluyen la activación de la tasa metabólica y diuresis (Cano-Marquina *et al.*, 2013).

En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos de López *et al.*, 2016 para el contenido de cafeína en el café usado. Dado que el café usado contiene 60% menos cafeína que el grano de café tostado y molido, su potencial consumo en la población es seguro incluso para los niños (de Mejía *et al.*, 2014).

II.3.8. Melanoidinas

Durante la última etapa de la reacción de Maillard se forman compuestos poliméricos de color café llamadas melanoidinas. Éstas influyen en el color, sabor y textura de los alimentos sometidos a temperaturas altas. Entre algunas actividades biológicas importantes de las melanoidinas se encuentran la actividad antioxidante y la quelante (Pérez-Hernández *et al.*, 2012). El grado de tostado aumenta su complejidad mediante la vinculación de nuevos compuestos de bajos pesos moleculares a la cadena principal polimérica. En cuanto al contenido de melanoidinas en la taza de café sólo el material soluble en agua debe ser considerado mientras que las melanoidinas insolubles permanecen en el residuo de café usado (Castillo *et al.*, 2014).

En referencia al contenido de melanoidinas, la separación estructural entre melanoidinas de café y fibra dietética de café constituida por los polisacáridos restantes no derivados después del tostado, es muy difícil (Calixto-Saura, 2010). Esta coincidencia entre la fibra dietaria y las melanoidinas también existe desde el punto de vista nutricional. De hecho, por un lado las melanoidinas no caen dentro de la definición de fibra dietaria porque no son exactamente “polisacáridos presentes de forma natural en los alimentos crudos” (Sauceda *et al.*, 2011).

Vázquez-Sánchez *et al.*, (2016) determinó el contenido de melanoidinas tanto de bajo peso molecular (<10 kDa) (BPM, bajo peso molecular) como de alto peso molecular (>10 kDa) (APM, alto peso molecular) que se encuentran presentes en el café usado y la fibra dietaria antioxidante de café usado. Las melanoidinas de bajo y alto peso molecular en el café usado (6.0 ± 0.1 y 16.1 ± 0.2 mg de melanoidinas / 100g muestra, respectivamente) y en la fibra de café (0.3 ± 0.0 y 9.9 ± 0.1 mg de melanoidinas / 100 g muestra, respectivamente), siendo éstas mayoritarias en la fracción APM.

II.4. Fibra

El Codex alimentario en 2009 define como fibra al conjunto de polímeros de carbohidratos con diez o más unidades monoméricas, que no son hidrolizados por las enzimas endógenas del intestino delgado de los humanos (Mosquera, 2015).

Los alimentos enriquecidos con fibra tienen un mayor porcentaje de nutrientes que los alimentos refinados. Los componentes bioactivos que poseen, así como sus propiedades estructurales modulan favorablemente el apetito, el metabolismo de la glucosa, la sensibilidad a la insulina y la composición microbiana del intestino (Fung *et al.*, 2002).

El problema reside en que durante el proceso de refinado, los alimentos pierden gran parte de su contenido de fibra, así como vitaminas, ácidos grasos esenciales y otros fitoquímicos (Bravo *et al.*, 2013).

II.4.1. Fibra dietaria

La fibra dietaria (FD), considerada un grupo de carbohidratos complejos que no puede ser digerido por el organismo humano, juega un papel importante en la dieta y salud humana. No obstante, existe evidencia que indica que estos carbohidratos complejos pueden interactuar directamente con los compuestos fenólicos presentes en los alimentos y pueden interferir con su adecuada asimilación. Por tal motivo, es importante investigar los mecanismos de bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los CF presentes en matrices sólidas; ya que sólo los compuestos liberados de sus matrices y/o absorbidos en el intestino delgado son potencialmente activos y capaces de ejercer efectos benéficos a la salud (Sauceda *et al.*, 2011).

La FD consiste en una variedad de polisacáridos que incluyen la celulosa, hemicelulosa, pectina, β -glucanos, gomas y lignina. Estos compuestos son resistentes a la hidrólisis de las enzimas digestivas y se encuentran principalmente en tejidos parenquimatosos y otros compuestos distribuidos en el salvado y parte del endospermo amiláceo del grano. En función a su solubilidad se clasifica en fibra dietaria soluble (FDS) y fibra dietaria insoluble (FDI) (Sauceda *et al.*, 2011).

Existe evidencia científica de que, además de los polisacáridos de las plantas y lignina, existen otros compuestos indigeribles como el almidón resistente, oligosacáridos y fitoquímicos que pueden considerarse componentes de la FD (Sauceda *et al.*, 2011).

Curiosamente, las fibras que se caracterizan por ser más viscosas (por ejemplo, pectinas, β -glucanos y goma guar) reducen el apetito con mayor frecuencia que las fibras menos viscosas (59% vs 14%). Otro posible mecanismo por el que la fibra aumenta la sensación de saciedad es debido a la fermentación producida en el intestino gracias a la microflora y los efectos posteriores que producen los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) sobre el metabolismo (Sauceda *et al.*, 2011).

La ingesta recomendada de fibra, según diferentes organizaciones (American Dietetics Association, American Diabetes Association, American Heart

Association, National Cancer Institute entre otras), debe estar entre 20 y 35g por persona al día y en proporción de 3/1 entre insoluble y soluble.

El aislamiento de fibra dietaria de los subproductos del café esta acompañado por la recuperación de otros componentes como antioxidantes o proteínas. El café usado contiene 43% de fibra total (35% y 8% insoluble y soluble, respectivamente) (Campos-Vega *et al.*, 2015).

II.4.2. Soluble

La FDS incluye pectinas, β -glucanos, arabinosilanos, galactomananos, así como otros polisacáridos y oligosacáridos indigeribles (Sauceda *et al.*, 2011).

Este tipo de fibra ayuda a retrasar el vaciado gástrico, disminuye la absorción de glucosa, potencia la función inmune y disminuye los niveles de colesterol en suero. Además, presenta un alto grado de fermentación en colon produciendo ácidos grasos de cadena corta, los cuales pueden inhibir la síntesis de colesterol hepático (Avello y Suwalsky, 2006).

II.4.3. Insoluble

La FDI está compuesta por polisacáridos como la celulosa y otros compuestos como lignina y cutina (Sauceda *et al.*, 2011).

La fibra insoluble, poco fermentable, es la que aumenta en mayor grado la masa fecal debido a los restos de fibra no digeridos y a su capacidad para retener agua (Sauceda *et al.*, 2011).

II.4.4. Fibra dietaria antioxidante

El concepto de fibra antioxidante se refiere a aquella materia prima con un elevado porcentaje de FD y cantidades apreciables de antioxidantes naturales asociados a la matriz del conjunto de compuestos no digestibles como las proteínas y los polisacáridos (Saura-Calixto, 2010).

Concretamente, en el caso de los polifenoles, una parte considerable de ellos puede estar asociada a la fracción de fibra insoluble, principalmente los compuestos de mayor grado de polimerización como taninos condensados

(proantocianidinas) y taninos hidrolizables. Mientras que asociados a la fracción de fibra soluble, se suelen asociar polifenoles de menor peso molecular tales como algunos flavonoides, ácidos fenólicos, dímeros y trímeros de proantocianidinas (Saura-Calixto, 2010).

La principal ventaja de la fibra dietaria de los subproductos agroindustriales, en comparación con otras fuentes alternativas, como los cereales, es su mayor proporción de fibra dietaria soluble. Las principales características de estos subproductos es que son ricos tanto en fibra dietaria como en compuestos fenólicos (Saura-Calixto, 2010).

La fibra del café usado exhibe propiedades antioxidantes: 2.4 mmol de Trolox/100 g, similar al de alimentos considerados ricos en antioxidantes por sus compuestos de color rojo como el vino. Por lo tanto, FD del café usado puede ser categorizado como fibra dietética antioxidante, útil para sugerir su potencial para la industria de alimentos o suplementos (Campos-Vega *et al.*, 2015).

II.4.5. Efectos fisiológicos de la fibra dietaria y compuestos fenólicos del café usado

La FD es un componente esencial de una dieta saludable y un factor preventivo de enfermedades como la diabetes y la obesidad (Fung *et al.*, 2002).

Se han estudiado los efectos de la FD en el control del hambre, saciedad, consumo de energía y peso corporal comprobándose que si se aumenta el consumo de FD aumenta la saciedad en estado postprandial y decrece la sensación de hambre (Fung *et al.*, 2002).

Los componentes primarios de la fibra dietaria (resistentes a la hidrólisis por las enzimas digestivas) son capaces de interactuar con otros constituyentes de los alimentos, como los compuestos fenólicos (Sauceda *et al.*, 2011).

La bioaccesibilidad de cada compuesto fenólico en el tracto gastrointestinal es muy variada y puede depender de diversos factores como la fuente del alimento y las interacciones químicas con otros fitoquímicos y biomoléculas. De acuerdo a esto, los compuestos fenólicos pueden dividirse en dos grupos: bioaccesibles en el tracto gastrointestinal humano y no bioaccesibles o asociados

a la fibra dietaria. Entre los compuestos asociados a la fibra dietaria se encuentran principalmente polifenoles poliméricos y polifenoles de bajo peso molecular (Sauceda *et al.*, 2011).

La presencia de compuestos fenólicos asociados a la fibra dietaria es una característica común en los alimentos vegetales ricos en polifenoles, como el café usado. El complejo grupo de polisacáridos que forman a la fibra dietaria puede actuar atrapando compuestos fenólicos o bien formando interacciones químicas con ellos. Los compuestos fenólicos poseen anillos aromáticos hidrofóbicos y grupos hidroxilo hidrofílicos con la capacidad de enlazar polisacáridos y proteínas en la superficie de la pared celular. Este tipo de interacciones puede darse por puentes de hidrógeno (entre el grupo hidroxilo de los compuestos fenólicos y los átomos de oxígeno de los enlaces glucosídicos de los polisacáridos), interacciones hidrofóbicas y enlaces covalentes (enlace éster entre ácidos fenólicos y polisacáridos). En general, los compuestos de la fibra dietaria que interactúan con los compuestos fenólicos incluyen al grupo carboxilo del ácido urónico (hemicelulosa y pectina) y el grupo hidroxilo presente en la celulosa. Por tal motivo, la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos fenólicos presentes en los alimentos unidos a la fibra dietaria podría afectarse (Sauceda *et al.*, 2011).

Los compuestos fenólicos asociados a la fibra dietaria se caracterizan por presentar diferentes propiedades biológicas como capacidad antioxidante en plasma y colon, además de propiedades relacionadas con la salud. Una cantidad apreciable de polifenoles asociados a la fibra dietaria proporciona una capacidad antioxidante significativa que puede tener efectos pronunciados en sus propiedades. Esta característica se deriva del poder antioxidante sinérgico acumulativo de los polifenoles asociados, así como de otros componentes menores (carotenoides y productos de la reacción de Maillard) (Sauceda *et al.*, 2011).

II.4.6. Consumo de fibra en México

Tras la globalización, han sucedido diversas modificaciones en la estructura de la dieta de los mexicanos, dichos cambios conducen hacia una dieta con alta densidad de energía y con un mayor aporte de grasa, mayor consumo de grasas saturadas (en su mayoría de origen animal), la reducción de la ingesta de hidratos de carbono complejos y fibra dietética, aumento en los azúcares añadidos en los alimentos, y la reducción de la ingesta de frutas y verduras. Estos cambios en la dieta se ven agravados por los cambios de estilo de vida que reflejan la actividad física reducida en el trabajo y durante el tiempo libre (FAO y OMS, 2003).

Datos preliminares de la Encuesta Nacional de Nutrición (ENSANUT, 2012) reportan que el consumo de fibra en niños de etapa escolar fue de 14.1 g por día. Esta cifra no representa ningún aumento comparado con la ENSANUT 2006 que reportaba 14 g de consumo por día.

Por otra parte la ENSANUT 2012 reporta que el consumo diario de fibra en adultos es de 15.8 g, sin embargo en el 2006 se reportaba en promedio un consumo de 20.7g/ día a nivel nacional, lo que refleja la disminución de casi 5g fibra en la dieta del mexicano (ENSANUT, 2012).

Estas cifras se encuentra por debajo de la recomendación de ingesta diaria de fibra dietética de acuerdo con la NOM 051 (30 g/día).

II.5. Actividad antioxidante de los alimentos

Durante el procesamiento del café, el tostado afecta marcadamente su composición, lo que puede reducir la actividad antioxidante, debido a la degradación del ácido clorogénico y otros compuestos fenólicos. Sin embargo, se ha encontrado que la actividad antioxidante del café tostado se puede mantener debido a la formación de los productos de la reacción de Maillard (Fonseca-García *et al.*, 2014).

La capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él. El contenido de los principales antioxidantes en los alimentos varía de un alimento a otro, dentro de un mismo grupo como el de frutas y vegetales. El hecho que los alimentos difieran en

su poder antioxidante explica que también difieran en su capacidad para prevenir las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) asociadas al estrés oxidativo (Fung *et al.*, 2002).

El potencial antioxidante se puede considerar como la actividad biológica responsable de inhibir la oxidación de biomoléculas importantes promoviendo un efecto preventivo sobre determinadas enfermedades (Sauceda *et al.*, 2011).

La capacidad de ejercer el potencial antioxidante de los CF va a depender de su bioaccesibilidad en el alimento y su biodisponibilidad en el tracto gastrointestinal (Saura-Calixto, 2010). Esto indica la necesidad de estudiar el papel específico de la FD en la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de estos compuestos, con la finalidad de observar efectos sobre la actividad antioxidante (Sauceda *et al.*, 2011).

La bioaccesibilidad se define como la cantidad de un componente del alimento que está presente en el intestino humano, como consecuencia de su liberación de la matriz del alimento, y que puede ser capaz de atravesar la barrera intestinal. En cambio, la biodisponibilidad se define como la cantidad y velocidad a la que el principio activo se absorbe y llega al lugar de acción. Por tanto, para que un CF sea potencialmente biodisponible, primeramente debe estar bioaccesible en la matriz del alimento. Sin embargo, la presencia y tipo de FD, puede interferir en diferente magnitud con su biodisponibilidad durante el proceso de digestión (Sauceda *et al.*, 2011).

II.5.1. Estrés oxidativo

Los radicales libres (RL) son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón no apareado (ocupa una órbita molecular por sí mismo). Pueden existir de forma independiente y debido a la inestabilidad de su configuración electrónica, son generalmente muy reactivos (Avelloy Suwalsky, 2006).

El estrés oxidativo puede darse tanto por un exceso de producción de radicales libres (RL) y especies reactivas de oxígeno (ERO) como por un problema

o alteración en el sistema de defensa antioxidante del organismo (Escorza y Salinas, 2009).

Hay fuentes endógenas y exógenas de radicales libres. Al ingerir alimentos la glucosa que llega a la sangre se define como glucosa postpandrial y ésta es una fuente exógena de ERO ya que en condiciones de hiperglicemia un aumento en la concentración de la NAD(P)H oxidasa eleva la concentración de ERO. Una fuente endógena de ERO está asociada a un exceso de poder reductor en la cadena respiratoria a través del cual aparecen subproductos como O_2^- , H_2O_2 y OH^- (Ekbatan *et al.*, 2016).

Los RL en exceso causan daño a diversas estructuras biológicas y pueden originar lesiones en el ADN, pérdida de función de enzimas, incremento en la permeabilidad celular, alteración de la señalización de la célula y, en ocasiones, muerte celular por necrosis o apoptosis (Ekbatan *et al.*, 2016).

II.5.2. Efectos fisiológicos de los compuestos bioactivos sobre la capacidad antioxidante

La fermentación de los compuestos fenólicos en el colon humano es un evento fisiológico que puede tener efectos significativos en la salud intestinal. Los polifenoles no absorbibles asociados a la fibra dietaria no son bioaccesibles en el intestino delgado humano y llegan al colon, donde son sustratos fermentables para la microbiota. Debido a que este material insoluble permanece durante mucho tiempo en el tracto gastrointestinal, tiene la capacidad de estabilizar radicales solubles formados ahí mismo. Los ácidos fenilacético, fenilpropiónico, fenilbutírico y urolitinas A y B, son metabolitos absorbibles de los polifenoles que pueden ejercer efectos sistémicos. Sin embargo, los metabolitos no absorbibles y compuestos fenólicos no fermentables permanecen en el lumen del colon, donde pueden contribuir a un ambiente antioxidante (eliminando radicales libres) y contrarrestar los efectos pro-oxidantes de la dieta (Sauceda *et al.*, 2011).

La mayoría de las células y organismos de nuestro planeta se enfrentan a ambientes con agresores oxidativos. Todo inicia con el empleo del oxígeno como

la molécula oxidante final del metabolismo aeróbico y oxidativo. Ello hace que las células mantengan una alta concentración de productos oxidantes del metabolismo, especies reactivas de oxígeno y en muchas ocasiones radicales libres (Escorza y Salinas, 2009).

II.5.3. Actividad antioxidante plasmática

Existen evidencias epidemiológicas que sustentan el papel patogénico de los radicales libres en procesos biológicos. El plasma puede estabilizar especies reactivas del oxígeno de vida media mayor, como el anión superóxido o el peróxido de hidrógeno, previniendo reacciones con iones metálicos catalíticos que pueden generar especies aún más nocivas. Debido a esto, el estatus antioxidante del plasma es el resultado concomitante de muchos compuestos e interacciones metabólicas sistémicas. La medición de esta capacidad antioxidante combinada puede ser más relevante que la determinación individual de antioxidantes presentes en la sangre. A lo anterior se suma el hecho que la capacidad antioxidante celular está principalmente determinada por sistemas enzimáticos, mientras que las plasmáticas están asociadas a la concentración de antioxidantes de bajo peso molecular suplementados por la dieta. Estos compuestos son rápidamente consumidos y necesitan ser recambiados para mantener el balance frente a las especies oxidantes. Generalmente, se investiga su efecto en el estatus antioxidante plasmático de voluntarios sanos sometidos a la ingestión de éstos (Avello y Suwalsky, 2006),

La capacidad antioxidante del plasma representa el balance antioxidante del organismo y valora tanto los antioxidantes endógenos como exógenos. Se ha usado como marcador indirecto de la biodisponibilidad de los antioxidantes presentes en los alimentos en estudios de intervención, tanto para evaluar el efecto aislado de un alimento a corto plazo como su influencia mediante su suplementación en la dieta a largo plazo (Avello y Suwalsky, 2006).

En el plasma, la capacidad plasmática antioxidante total depende preferentemente de la capacidad y cantidad de albúmina y de ácido úrico. Cuando se realiza en sangre total, la capacidad sanguínea antioxidante total, evalúa adicionalmente enzimas antioxidantes, glutatión y NADPH. La capacidad

antioxidante total del eritrocito evalúa los sistemas eritrocitarios y no los plasmáticos (Escorza y Salinas, 2009).

II.6. Cronobiología

Desde sus orígenes en la antigua Grecia, la fisiología humana se ha basado en el concepto de la constancia como paradigma introducido por Claude Bernard, que culminó en 1932 con la introducción por Walter Cannon del concepto de homeostasis. Esta corriente de pensamiento se mantuvo hasta la aparición de la Cronobiología, una ciencia relativamente reciente cuyo objetivo es el estudio de los ritmos biológicos. Estos son variables biológicas que sufren oscilaciones regulares con un periodo determinado. Según este periodo de oscilación, los ritmos pueden clasificarse en circadianos (con un periodo cercano a las 24 horas, generalmente entre 20 y 28 horas), ultradianos (con un periodo menor de 20 horas) e infradianos (con un periodo mayor de 28 horas) (Madrid y Rol, 2006).

Los ritmos más estudiados son aquellos que presentan un perfil circadiano, ya que son los más importantes en los humanos, y en ellos se centra este trabajo. Algunos de estos ritmos, que se discutirán más adelante, son el ritmo de temperatura corporal, actividad-reposo, secreción de hormonas como melatonina, sueño y exposición a la luz (Ortíz- Tudela *et al.*, 2010).

Los ritmos circadianos son producidos por el sistema circadiano, un conjunto de estructuras encargadas de generar y sincronizar los ritmos entre sí y con los ciclos ambientales. El sistema circadiano se encarga de dirigir temporalmente todos los procesos que ocurren en el organismo, actuando como un director de orquesta (Van Someren *et al.*, 2007); de este modo, si el sistema circadiano goza de buena salud, los diferentes ritmos biológicos estarán sincronizados dando lugar a una homeostasis, mientras que en situaciones patológicas podrían desincronizarse, transformándose en diversos problemas de salud.

II.6.1. Fisiología del ritmo circadiano

El sustrato neurológico que explica esta ritmicidad se encuentra en el hipotálamo, particularmente en el Nucleo Supraquiasmático (NSQ) (Méndez *et al.*, 2015). Esta estructura tiene múltiples conexiones dentro del Sistema Nervioso Central, que le permiten ejercer una función sincronizadora del organismo. Este reloj está formado por tan sólo unas 10.000 neuronas por núcleo, siendo cada una de ellas un oscilador en sí misma (Antle *et al.*, 2005). El reloj circadiano transmite la señal temporal al resto del organismo gracias a una hormona, la melatonina, producida en la glándula pineal en situaciones de oscuridad y otros factores humorales difusibles (prokineticina 2, TGF) o conexiones nerviosas del sistema nervioso vegetativo (Froy *et al.*, 2007). Lesiones en el NSQ suprimen el ritmo de melatonina pineal en mamíferos (Klein y Moore, 1979) e inducen arritmicidad en casi todos los ritmos circadianos de procesos fisiológicos y de comportamiento (Moore *et al.*, 2002).

En la mayoría de las personas, este marcapasos se retrasa debido a que tiene un periodo endógeno (*tau*) de aproximadamente 24.5 horas (Aschoff, 1979); sin embargo, en condiciones normales de vida, este retraso no se produce puesto que, determinados factores ambientales denominados sincronizadores, o *zeitgebers* (dador de tiempo en alemán), ajustan diariamente el marcapasos a través de diversas vías (Van Someren *et al.*, 2007).

Entre estas señales sincronizadoras se encuentran el ciclo de luz-oscuridad, el ritmo de sueño-vigilia, el horario de comidas, el ejercicio físico, los sincronizadores sociales y los compuestos asociados a los alimentos. Entre todos ellos, el *zeitgeber* más estudiado es la luz (Duffy *et al.*, 2005). La luz incidente en la retina, actúa principalmente sobre un subgrupo de células ganglionares (RGCs), que a diferencia del resto de ganglionares son directamente fotosensibles (Antle *et al.*, 2005).

La luz como sincronizador incide directamente sobre el NSQ, pero existen otros *zeitgebers* que ejercen su acción sincronizadora sobre relojes periféricos (dentro y fuera del sistema nervioso central). Estos relojes se organizan jerárquicamente, de manera que el marcapasos circadiano principal es el

localizado en el NSQ y controla la ritmicidad del resto de relojes periféricos (Yamazaki *et al.*,2000). Este presenta 2 mecanismos: uno endógeno (que le permite variar su nivel de actividad en forma espontánea) y uno exógeno (que le permite coordinar su funcionamiento con variables externas relevantes) (Silva, 2010).

II.6.1.1. Oscilador endógeno

En la zona dorsomedial del NSQ existen neuronas que se activan e inhiben en forma cíclica. El mecanismo que explica este fenómeno dependería de un grupo de genes llamados CLOCK (circadian locomotor output cycles caput) (Silva, 2010).

Actualmente se conocen algunos de los genes, proteínas e interacciones proteína-proteína que regulan a los ritmos circadianos así como algunos de sus inductores o *Zeitgebers* (Oliva-Ramírez *et al.*, 2014).

Las proteínas con función de osciladores tienen una localización intracelular, un grupo de ellas regula positivamente y otro grupo regula negativamente los ritmos circadianos (González, 2007).

Algunas de las proteínas que se han descrito como osciladores positivos son: *CLOCK*, *BMAL1* (*Brain and Muscle ARNT-like protein1*) y *ROR α* (*RAR-related Orphan Receptor gene alpha*). Algunos de los osciladores negativos son *Per1* y *Per2* (*Period homologous1, 2*), *CRY1* y *CRY2* (*Cryptochrome 1, 2*), y *REV-ERB α* (*Nuclear Orphan Receptor alpha*) (González, 2007).

Su mecanismo de control es a través de una retroalimentación transcripcional/traslacional. A nivel molecular existen 2 factores de transcripción, conocidos como *CLOCK* y *BMAL 1*, los cuales forman el heterodímero *CLOCK/BMAL 1* que regula la expresión de varios genes reloj (Vieira, 2015).

CLOCK/BMAL 1 activan a transcripción de los *PER* y los *CRY*. Las proteínas *PER* y *CRY* forman heterodímeros con el complejo *CLOCK/BMAL 1* (Figura 2) disminuyendo su propia expresión a modo de retroalimentación negativa. Las proteínas *PER* y *CRY* también son reguladas mediante su degradación en el citoplasma bajo el control de la fosforilación de la proteína

caseína quinasa 1 y así terminando el ciclo de señalización circadiano (Vieira, 2015).

Este proceso tarda alrededor de 12 horas. Una vez en el núcleo, estas proteínas se unen al ARN en sitios específicos, actuando como inhibidores de la transcripción de los mismos genes CLOCK, lo que reduciría gradualmente la concentración en el citoplasma de CRY y PER. Finalmente perderían su afinidad por el segmento de ARN, lo que permitiría reiniciar el ciclo. Es importante notar que el ciclo completo tarda ligeramente más de 24 horas, por lo que requiere constante resincronización con claves ambientales para no desacoplarse del horario cronológico (Escobar *et al.*, 2016).

Por lo anterior, se concluye que las neuronas del SCN forman un marcapasos o “*pacemaker*” de todo el organismo, con capacidad para controlar los ciclos de sueño y vigilia, de hambre y saciedad, la termorregulación, y la liberación de corticosteroides (Oliva-Ramírez *et al.*, 2014).

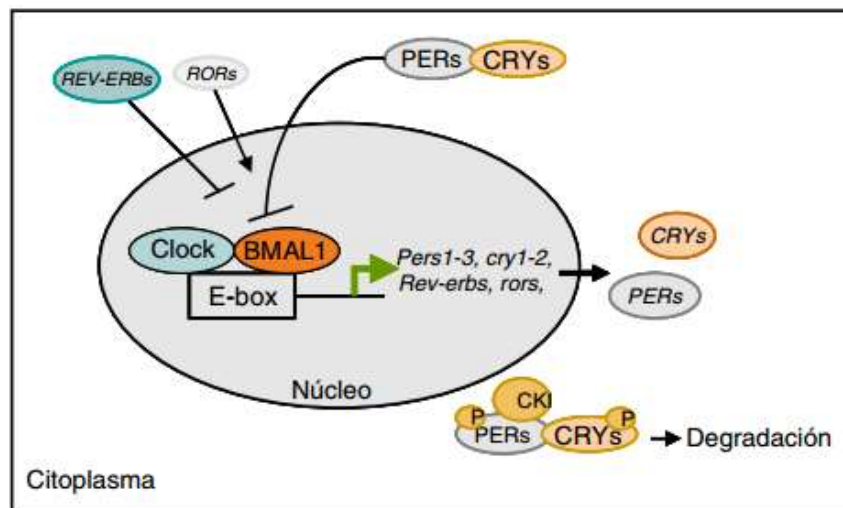


Figura 2 Regulación del reloj biológico a nivel molecular (Vieira, 2015)

II.6.1.2. Oscilador exógeno

El hipotálamo recibe aferencias desde la retina, que funciona como transductor de la luz solar, transformándola en señales neuroquímicas mediante células fotosensibles del ganglion, que poseen el pigmento *melanopsina*. El impulso se transmite a través del nervio óptico, que se conectan por el tracto

retino-hipotalámico al NSQ. Al recibir el estímulo, las células de este núcleo expresan ciertas proteínas de membrana en forma transitoria. Esto afecta el umbral eléctrico de activación neuronal, favoreciendo una máxima frecuencia de descarga al mediodía. Esta modulación de la actividad neuronal cíclica y fotodependiente sería la base anatómica de la sincronía entre ritmos circadianos y la luz solar.

II.6.1.3. Otros mecanismos de sincronización

Aunque la luz (cambios luz/oscuridad) sea la principal señal entrante al NSQ, existen otras entradas periódicas, como son el horario de las comidas (ingesta/ayuno) y el ejercicio programado (actividad/reposo), capaces de poner en hora el sistema circadiano. Estos dos sincronizadores externos, la hora de la comida y del ejercicio, parecen influir principalmente a otros relojes que se encuentran en otros órganos de nuestro cuerpo (Aza, 2015).

II.6.3. Tipología circadiana

La mayoría de las personas tienen fuertes preferencias horarias (matutinas, vespertinas, indefinidas) a la hora de realizar sus actividades diarias, hecho que se conoce como tipología circadiana. El sujeto con una tipología matutina extrema se levanta y acuesta pronto, presentando los máximos de actividad en la primera mitad del día, mientras que el vespertino extremo se levanta y acuesta tarde y sus máximos se desplazan hacia la tarde e incluso a las primeras horas nocturnas (Adan, 2006).

La investigación sobre la tipología circadiana tiene importantes aplicaciones prácticas en ámbitos como el diseño de horarios laborales (Smith *et al.* 1989; Furham *et al.*, 1999), rendimiento deportivo (Smith *et al.*, 1997) y el fracaso escolar (Testu, 1989). De hecho, según Tankova *et al.* (1994) las personas matutinas y vespertinas difieren en la acrofase de sus principales funciones fisiológicas.

La actividad de los sujetos con tipología indefinida, a la que pertenece aproximadamente el 60% de la población suele situarse en una situación intermedia y se halla más sincronizada a las exigencias sociolaborales de nuestra sociedad. En la década de los 70 se confeccionaron cuestionarios de

autoevaluación para clasificar a los sujetos de acuerdo con su tipología circadiana (Adan, 2006).

El cuestionario más utilizado, incluyendo este estudio, es el de Horne y Östberg, (1976), y permite clasificar a los sujetos en 3 grupos: matutinos, indefinidos y vespertinos.

Independientemente de la tipología circadiana, el ritmo circadiano puede verse alterado por trastornos del sueño, el trastorno afectivo estacional, alimentación y el trabajo a turnos (Mongrain *et al.*, 2006, Sack *et al.* 2007), de ahí la importancia de encontrar un marcador de fase circadiano objetivo.

II.6.4. Ritmos circadianos

De entre la enorme diversidad de ritmos biológicos presentes en la fisiología humana, existen algunos cuyas características se utilizan como sistema de referencia para otros procesos rítmicos; estos ritmos son los denominados ritmos marcadores. Entre los más utilizados se encuentran los ritmos plasmáticos de melatonina y cortisol, que tienen como principal inconveniente que su determinación es invasiva, el ritmo circadiano de fuerza muscular, cuya medición requiere despertar al individuo cada cierto tiempo durante el periodo de sueño, o los ritmos de temperatura central y periférica, que tienen como principal ventaja que no requieren la participación activa del individuo (Algiert *et al.*, 2016).

II.6.5. Melatonina

La melatonina (MLT) o N-acetil-5metoxitriptamina es una hormona que está presente desde organismos unicelulares hasta los mamíferos. La síntesis y liberación de la MLT son estimuladas por la oscuridad y suprimidas por la luz. Esta hormona en todas las especies animales incluyendo al hombre, se sintetiza a partir del aminoácido triptófano que es tomado de la circulación y convertido en serotonina, la actividad secuencial de las enzimas: serotonina-acetil-transferasa y de la hidroxindol-O-metiltransferasa convierten a la serotonina en MLT (Velázquez-Paniagua *et al.*, 2009). Otros factores nutricionales podrían influir en la

síntesis de melatonina, por ejemplo, el estado de folato y vitamina B₆ (Torres *et al.*, 2013).

El órgano pineal es un componente fundamental del reloj biológico, capaz de producir y liberar melatonina, y que en algunas especies constituye el marcapasos circadiano principal (Algiert *et al.*, 2016).

Generalmente, las concentraciones de melatonina en sangre durante la noche, son 10 a 20 veces mayores que durante el día. Los valores plasmáticos de melatonina han demostrado ser unos excelentes marcadores biológicos de la desregulación circadiana (Velázquez-Paniagua *et al.*, 2009).

Debido al efecto de la glándula pineal sobre el eje hipofio-adrenal, el estudio del perfil circadiano de melatonina parece ser particularmente importante en situaciones patológicas como la obesidad y el síndrome metabólico (Algiert *et al.*, 2016).

La melatonina tiene la capacidad de atravesar todas las membranas de la célula. Sin embargo, se han identificado al menos tres tipos de receptores membranales para este indol. En mamíferos se encuentran los ML₁ (alta afinidad) y ML₂ (baja afinidad): ambos tipos de receptores están acoplados a proteínas G (González, 2007).

Dentro de las funciones que se le han atribuido a la MLT se encuentran: regulación de ritmos biológicos; regulación neuroinmunológica; modulación del citoesqueleto y actividad oncostática y antioxidante, entre otras. Además, estimula varias enzimas antioxidantes e inhibe a enzimas prooxidantes, reduciendo así, en forma importante el estrés oxidativo (Algiert *et al.*, 2016).

La producción de MLT en el humano es máxima en la infancia, desciende en la pubertad y continúa disminuyendo en el transcurso de los años, de manera que su reducción parece contribuir a incrementar los niveles del estrés oxidativo en los ancianos (Figura 3). Diversos estudios han demostrado que la MLT es el mejor antioxidante endógeno que existe. Es importante señalar que hasta ahora la MLT es única entre los oxidantes conocidos para proteger el ADN nuclear, ya que no hay otros antioxidantes que puedan penetrar hasta el núcleo celular (Torres y Nowson, 2007).

Actualmente, la MLT se emplea en pacientes con enfermedades neurológicas. En algunas de estas enfermedades existe dificultad para regular el sueño, lo que se ha asociado con cambios en los niveles plasmáticos de MLT (Velázquez-Paniagua y Prieto-Gómez, 2009).

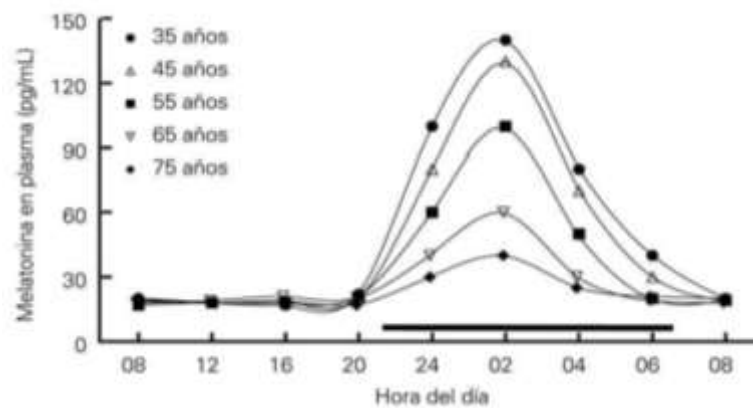


Figura 3 Cambios en la amplitud del ritmo circadiano de melatonina con la edad. (Tomada del Instituto Internacional de la Melatonina (IIMEL))

II.6.6. Metilxantinas

La cafeína tiene un efecto estimulante del sistema nervioso central y cardiovascular, además de ser diurético, laxante y estimulante de la secreción gástrica. La cafeína es antagonista no selectivo de los receptores de adenosina del colon y los riñones; por lo tanto, inhibe la acción sedante de la adenosina. Se dan también algunos casos aislados de personas en que la cafeína actúa de depresor del sistema nervioso central y no de estimulante. Esto podría explicarse por la gran variabilidad existente en el número, distribución y tipo de receptores de adenosina entre las personas. Otra razón para la variabilidad de los efectos de la cafeína entre individuos es el ritmo de vaciamiento gástrico, de absorción individual y de metabolización de la sustancia (Aza, 2015).

II.7. Efecto de componentes dietarios sobre la actividad locomotora

II.7.1. Cronodisrupción

La cronodisrupción es definida como una importante perturbación del orden temporal interno de los ritmos circadianos fisiológicos, bioquímicos y comportamentales. También podría definirse como la ruptura de la sincronización entre los ritmos circadianos internos y los ciclos de 24 horas medioambientales (Aza, 2015).

En los últimos años, el efecto de la cronodisrupción sobre la salud humana ha adquirido un papel relevante. La evidencia actual sugiere que la cronodisrupción está estrechamente asociada con un aumento del riesgo de desarrollar ciertas enfermedades o el empeoramiento de patologías preexistentes como el envejecimiento prematuro, el cáncer y enfermedades cardiovasculares (González, 2007).

La cronodisrupción puede ser el resultado de alteraciones a diferentes niveles. Puede ocurrir por el empeoramiento de las entradas al oscilador central o sincronizadores, como son los ciclos de luz-oscuridad o los horarios de las comidas; fallos en el oscilador central (NSQ); o de las problemas en las salidas relacionadas con la melatonina y glucocorticoides (Mosquera, 2015).

Los cambios en horarios de las comidas, considerado uno de los más importantes sincronizadores externos, es también un importante factor de cronodisrupción (González, 2007).

Es conveniente utilizar técnicas que previamente hayan demostrado ser fáciles de medir y no invasivas, como por ejemplo: a) diarios de sueño, que examinan los ciclos de vigilia/sueño y que han demostrado ser una herramienta útil para evaluar la calidad y duración del sueño; b) Diarios de alimentación, adecuados para analizar el momento y duración de la ingesta alimentaria; c) el cuestionario de Horne-Ostberg, para definir la matutinidad o vespertinidad del individuo; d) la melatonina y el cortisol salival, ya que ambos han sido definidos como indicadores fiables de cronodisrupción; y por último e) la ritmicidad de la temperatura periférica a través de la muñeca, que ha demostrado ser un valioso

indicador biológico interno y se ha asociado a diferentes características del Síndrome metabólico (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

II.7.2. Ritmos circadianos en el metabolismo

La primera evidencia genética entre ritmos circadianos y metabolismo fue descubierta en ratones portadores de la mutación de Clock Δ^{19}/Δ^{19} . Estos ratones exhiben unos ritmos de alimentación atenuados, así como hiperfagia, hiperlipidemia, hiperleptinemia, esteatosis hepática, hiperglucemia e hipoinsulinemia. La alteración observada en la homeostasis glucídica de los ratones Clock Δ^{19}/Δ^{19} se caracteriza por una alteración en la secreción de insulina y en la proliferación de los islotes pancreáticos (Vieira, 2015).

Las secreciones gástricas, pancreáticas y biliares muestran patrones rítmicos en situaciones de ayuno que combinan ritmos circadianos con ultradianos. Estos ritmos, junto con los de vaciamiento gástrico, muestran un importante descenso después de una cena (lo que no sucede en la comida del mediodía) lo que indica la existencia de un cierto deterioro del proceso digestivo después de la cena (Aza, 2015).

Dado el antagonismo de muchos procesos metabólicos, es de esperar que no todos puedan ocurrir al mismo tiempo en la misma célula y en el mismo lugar. Un ejemplo clásico lo encontramos en las oscilaciones circadianas del metabolismo del glucógeno de los hepatocitos. Así, los cambios de almacenamiento de glucógeno durante el día coinciden con los cambios en la actividad de las enzimas clave de su almacenamiento, la glucógeno sintasa, glucógeno fosforilasa y la glucosa-6-fosfatasa (Aza, 2015).

Durante el día señales del sistema nervioso autónomo y sistema endocrino activan tejidos y órganos para la producción de glucosa y de enzimas gástricas, para aumentar la secreción de insulina, favoreciendo la utilización de energía para la actividad física y mental y para generar todos los cambios necesarios en la respiración y flujo sanguíneo que permitan el buen desempeño de estas actividades (Escobar *et al.*, 2013).

Hormonas como la insulina, los glucocorticoides y la hormona de crecimiento contribuyen a la señalización del balance energético y son monitoreadas por núcleos específicos del hipotálamo y el tallo cerebral. Se ha reportado que una reducción en las horas de sueño se relaciona con alteraciones metabólicas, entre ellas insulina alta aún a corto plazo (Escobar *et al.*, 2016).

II.8 Marcadores circadianos

Un ritmo biológico puede ser analizado midiendo una determinada variable cada cierto tiempo a lo largo de varios ciclos en un individuo (muestreo longitudinal) o bien determinando la variable a lo largo de un solo ciclo en varios individuos (muestreo transversal). El primer caso habremos caracterizado los parámetros rítmicos en un sujeto, mientras que en el segundo habremos obtenido una muestra de una población (Torres y Nowson, 2007).

II.8.1. Estudio de la temperatura corporal

Uno de los ritmos marcadores más utilizados es el ritmo de temperatura central, cuyo perfil circadiano ha sido ampliamente descrito (Kräuchi *et al.*, 1997; Kräuchi, 2002; Waterhouse *et al.*, 2005). Sin embargo, recientemente se ha propuesto el ritmo de temperatura periférica como ritmo marcador puesto que presenta evidentes ventajas en su medida y es igualmente indicador del estado del sistema circadiano (Sarabia *et al.*, 2008, Ortiz-Tudela *et al.* 2010).

La temperatura periférica sigue un perfil circadiano, de tal forma que la temperatura aumenta con anterioridad al sueño y se mantiene elevada durante la noche. En el momento del despertar sufre una fuerte caída y sus niveles se mantienen bajos durante el día. En torno a las 21h, aparece la zona de “mantenimiento de la vigilia”, momento en el que la temperatura periférica alcanza sus valores mínimos (Sarabia *et al.* 2008).

Para medir la temperatura corporal, tanto en humanos como en animales de laboratorio, se utilizan los iButton® (Thermochron®); básicamente se trata de un chip encapsulado en acero inoxidable y de pequeño tamaño, de unos 16mm de

diámetro y 4 mm de altura. Su memoria admite hasta 2500 datos. Un lector acoplado a un puerto USB permite tanto la programación del dispositivo (definiendo cada cuanto tiempo queremos la toma de muestras y el momento de inicio de la grabación) como el vaciamiento de los mismos al ordenador para su posterior análisis (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

Un registro representativo de un sujeto sin cronodisrupción durante una semana se muestra en la Figura 4. La temperatura muestra un ritmo característico que exhibe amplia amplitud (de 31 a 36° C), con valores de temperatura alta (36-36.5° C) durante el sueño y los valores bajos (31-32° C) durante los períodos de despertar. El análisis de temperatura en jóvenes muestra la existencia de una alta variabilidad diaria entre días sucesivos, destacando la necesidad de registrar varios días para obtener un patrón confiable (Sarabia *et al.*, 2008).

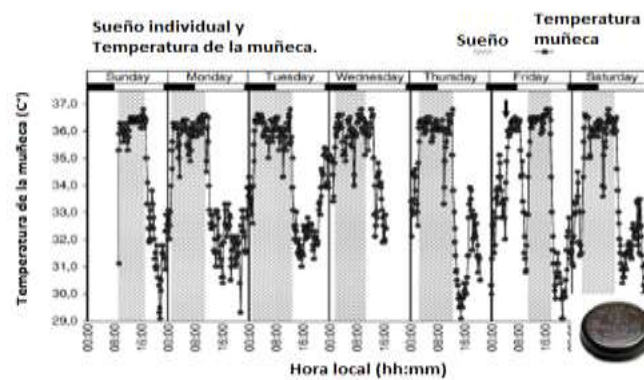


Figura 4 Representación gráfica de los valores de temperatura periférica, medida en la muñeca en un sujeto sano a lo largo de siete días (Sarabia *et al.*, 2008)

Cada elevación de la temperatura coincide con el período de sueño (área sombreada). En la esquina inferior se incluye una foto del equipo utilizado (iButton® (Thermochron®) (Sarabia *et al.*, 2008).

II.8.2. Patrones de comida y sueño

El conocimiento del horario de comidas y su relación con la obesidad es un tema de actualidad en la ciencia y en la sociedad. Es interesante observar la

persistencia de un patrón básico de “tres comidas al día” a través de diferentes culturas y diferentes épocas. Este patrón consiste en hacer tres tomas, una por la mañana, desayuno; otra al mediodía, comida; y otra por la noche, cena, aunque en ocasiones se incorporen otras dos tomas a media mañana y a media tarde. Es de destacar que este patrón se ha observado incluso en humanos completamente aislados del exterior a quienes se les permitía comer cuánto y cuándo quisieran (Ekbatan *et al.*, 2016).

Desde el punto de vista fisiológico, una de las principales señales de apetito es el horario de la comida. A veces comemos en ciertos momentos del día simplemente porque es la hora de comer, sin sentir verdaderamente apetito (González, 2007).

Por otro lado, el patrón de sueño humano presenta muchas variaciones, algunas relacionadas con el nivel de maduración con estados funcionales como el estrés, el impacto de fármacos y muchos otros estados internos o externos. El tiempo de sueño disminuye a lo largo de la vida y las características de los ciclos de sueño-vigilia cambian durante el curso de la vida como se muestra en la Figura 5. El porcentaje de sueño REM es superior en los niños que en los adultos; así, en las dos primeras semanas de vida puede llegar a representar un 50% del sueño. En los ancianos, hay una gran variabilidad, pero, por lo general, es más difícil mantener el sueño (González, 2007).

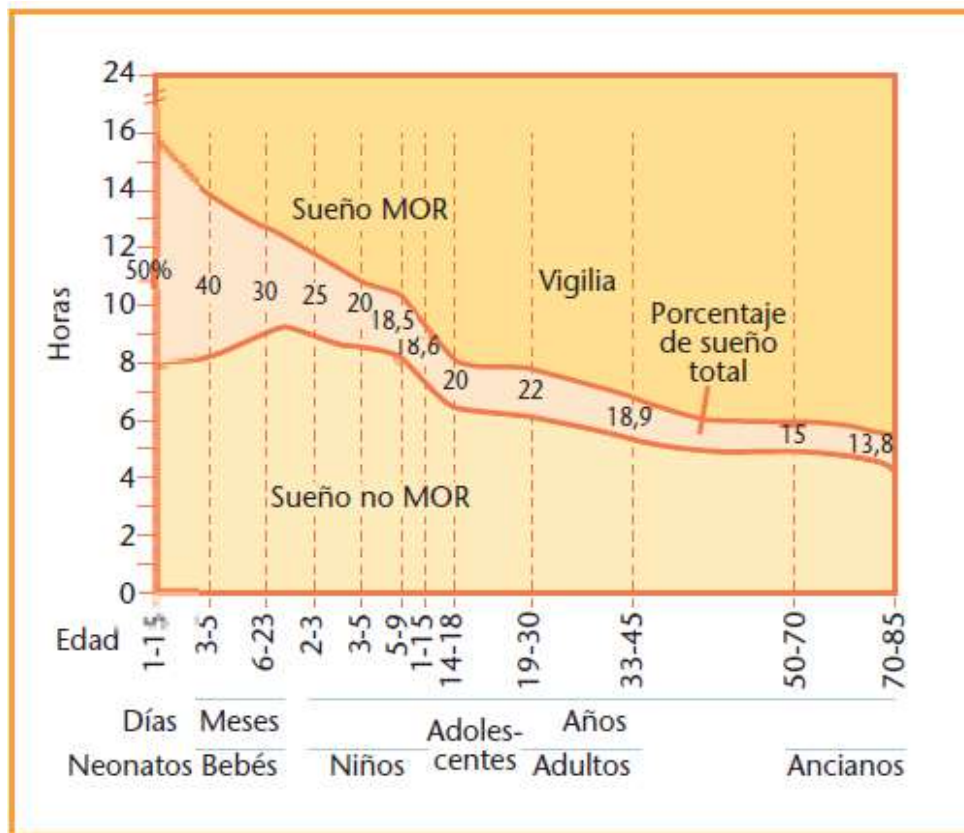


Figura 5 Cambios en el sueño humano en función de la edad (González, 2007)

III. JUSTIFICACIÓN

La industria del café libera enormes cantidades de subproductos, los cuales son ricos en compuestos bioactivos, como los polifenoles. Con la alta producción de café proyectada para los próximos años, hay una necesidad imperativa de equilibrar esta producción con la utilización adecuada de dichos subproductos, por lo que resulta interesante encontrar aplicaciones para estos.

Fuentes de fibra dietaria y compuestos antioxidantes de buena calidad no explotados actualmente de manera formal en nuestra región, como el café usado, brindan una oportunidad para la industria alimentaria de aprovechar dichos residuos y usarlos para la elaboración de ingredientes bioactivos naturales, y con ello promover beneficios a la salud humana.

La dieta es un componente importante del estilo de vida, capaz de influir en el desarrollo de enfermedades. En nuestro país es significativo el peso económico y social que representa la incidencia de enfermedades crónico degenerativas asociadas al estrés oxidativo.

Se ha comprobado que la buena alimentación y los horarios de comida desempeñan un papel fundamental para prevenir estas enfermedades y cada vez es más necesario mejorarla de forma que sea más sana y balanceada; esto se logra incluyendo en la dieta alimentos ricos en nutrientes y que contengan sustancias capaces de producir efectos benéficos en el organismo.

Diferentes órganos implicados en la nutrición y la alimentación del ser humano, tales como el hipotálamo y las zonas del control de la ingesta, el estómago e intestino, el hígado e incluso el tejido adiposo, presentan ritmos circadianos. Estos ritmos circadianos van a tener una gran importancia en el horario de todos los procesos metabólicos relacionados con la alimentación. Es por ello que también el horario de la comida, importante sincronizador de estos relojes periféricos, es determinante en el funcionamiento de nuestra fisiología

Los hábitos alimentarios han cambiado dramáticamente durante el siglo XX. En la antigüedad, la comida era considerada simplemente como una fuente de

energía. Hoy en día, sin embargo, también es un fenómeno sensorial, cultural y social. La estructura tradicional de tres comidas al día, en horarios y lugares determinados se ha ido reemplazando por un patrón más individualizado de consumo de alimentos. Dentro de este contexto de cambio de hábitos alimenticios y alimentos saludables, se ve afectada la actividad locomotora circadiana que afecta el estado de salud. La mejora nutricional de los productos es uno de los campos en los que más invierte el sector agroalimentario; y uno de los principales objetos de este proyecto basado en tener un valor agregado nutricional en una galleta por medio de la fibra dietaria antioxidante proveniente del café usado.

IV. HIPÓTESIS

El café usado es fuente importante de fibra dietaria antioxidante, la cual se caracteriza por su alto contenido de compuestos fenólicos como ácido clorogénico, flavonoides y taninos condensados, entre otros polímeros derivados de la reacción de Maillard, denominados melanoidinas y la sinergia de compuestos como cafeína/melatonina. Este conjunto de compuestos presentes en la fibra dietaria del café usado le confieren un alto poder antioxidante que confieren una correcta sincronización de la actividad locomotora circadiana.

V. OBJETIVOS

V.1. Objetivo general

Evaluar el potencial de la fibra dietaria antioxidante de café usado extraída por tratamiento óhmico (FDACU) adicionada a una galleta y su relación con la actividad locomotora circadiana mediante un estudio clínico.

V.2. Objetivos específicos

- Determinar la composición proximal y nutracéutica del café usado, fibra dietaria antioxidante extraída (dosis) de café usado por tratamiento óhmico y una galleta con fibra de café no purificada y oligofruktosa (dosis).
- Evaluar la capacidad antioxidante del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y la galleta con fibra.
- Determinar el efecto del consumo de fibra antioxidante de café usado (purificada y no purificada) sobre la capacidad antioxidante plasmática mediante un estudio de intervención .
- Determinar el efecto del consumo de fibra antioxidante de café usado (purificada y no purificada) sobre la actividad locomotora circadiana en un estudio de intervención.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

VI.1. Materiales

VI.1.1. Materia prima

El café usado para la extracción de la fibra dietaria antioxidante fue donado por la empresa The Italian Coffee Company, el cual se obtuvo de un producto registrado por la empresa como “mezcla espresso”, que se caracteriza por ser una mezcla de diversos cafés mexicanos de la especie *Coffea Arábica* L. de los estados de Oaxaca, Chiapas, Veracruz y Puebla.

El café usado se sometió a un pre-tratamiento y posteriormente a calentamiento óhmico (patente en trámite) para la extracción de fibra dietaria antioxidante.

Se elaboraron 3 galletas, de acuerdo al tipo de receta: control (sin fibra añadida), con 5 g de fibra dietaria antioxidante de café usado extraída por tratamiento óhmico por porción (45g) (obtenida en trabajos previos; Vázquez-Sánchez, 2016, datos no publicados) y una mezcla de café usado y oligofructosa para obtener una ración de galleta con 3.4 g de fibra/45 g de galletas (Martínez-Saez *et al.*, 2016).

VI.1.2. Composición corporal

Para la medición de circunferencia de cintura se utilizó una cinta métrica SECA 201 ergonómica; para la medición de talla se utilizó el estadímetro seca 274 con transmisión inalámbrica, de colocación libre, con pantalla en la corredera de medición; y el análisis de composición corporal se realizó con seca mBCA 514 medical Body Composition Analyzer.

Las técnicas de medición de antropometría de peso, talla y circunferencia de cintura se realizaron bajo los lineamientos de la Sociedad Internacional de Avances en Cineantropometría (*I.S.A.K.*).

Las medidas de antropometría incluyeron el peso, la estatura, la cintura y la cadera. En todos los participantes se midió peso y estatura para el cálculo del índice de masa corporal ($IMC = \text{peso (kg)} / \text{estatura (cm)}^2$). El peso se midió

utilizando una escala electrónica, sin suéter o chamarras y sin zapatos. La estatura se midió utilizando escala electrónica. El participante se clasificará como peso normal cuando su IMC fue menor a 25, sobrepeso con un IMC mayor a 25 y menor a 30, y obesidad cuando el IMC fue mayor o igual a 30. Las medidas de estandarización se realizaron utilizando los procedimientos recomendados por la Organización Mundial de la Salud. Cada sujeto fue evaluado por el mismo observador en los distintos tiempos de medición. Para realizar la medición de la cintura, se localizó la última parte de la última costilla y se marcó su posición. Se prosiguió a identificar la posición de la cresta iléaca y se marcó también. Se colocó una cinta elástica en el punto medio entre la costilla y la cresta iléaca y se prosiguió a medir la circunferencia de cintura (aproximadamente arriba del ombligo).

VI.1.3. Materiales químicos

Se utilizaron los siguientes reactivos: Kit Melatonin ELISA (RE54021) IBL.. Se usaron además los reactivos DPPH⁺ (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil), ABTS^{°+} (2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico)); como estándares Trolox (antioxidante sintético de referencia), ácido gálico y rutina utilizados (metanol, etanol, acetona, butanol, hexano, ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, acetonitrilo) marca Aldrich y Sigma. Tampón PBS 0.075 M (pH=7.4), fluoresceína disodio (1166.1nM), solución trolox, AAPH 14mM.

VI.2. Metodología

VI.2.1.Extracción de fibra antioxidante

La extracción se realizó siguiendo la metodología de Vázquez-Sánchez (2016). Brevemente, el café usado (8g) seco y tamizado fue mezclado con 200 mL de agua. Ésta mezcla se colocó en matraces de vidrio y se incubó en baño María a 80 °C durante 1h con agitación constante. Finalizado el tiempo se dejó enfriar la mezcla hasta aproximadamente 20-25 °C, posteriormente se colocó en una celda de acrílico de un equipo de calentamiento óhmico. La muestra fue sometida a un

potencial de 275V durante 0.31 minutos. La mezcla se filtró y secó a 43 °C en un horno secador, durante 24 horas.

VI.2.2. Proceso de elaboración de las galletas

Las formulaciones de galleta se prepararon de la siguiente manera: Inicialmente, se pesaron y posteriormente se mezclaron sal, levadura química (royal) y stevia. Sobre esta mezcla de sólidos se añadió agua a temperatura ambiente hasta obtener una mezcla homogénea. En un recipiente separado, se mezclaron la lecitina y el aceite y posteriormente se añadió a la mezcla. Por otra parte, la harina y los marros de café usado ó fibra dietaria antioxidante de café usado (dependiendo la galleta que fue elaborada) se mezclaron en un recipiente y se añadieron gradualmente a la mezcla hasta obtener una masa homogénea, elástica y ligeramente pegajosa. La masa se dejó reposar durante 30 min y a continuación se dió forma de galleta empleando guías de grosor de 3-5 mm y moldes de 6.5 mm de diámetro. La superficie de las galletas fue pinchada con un palillo o tenedor para evitar la formación de burbujas o hinchamiento. Las galletas se hornearon a 185 °C durante 12 minutos.

Para la galleta control se utilizó sacarosa en lugar de stevia. Para la galleta de México se utilizó maltodextrinas en lugar de oligofructosa y fibra dietaria antioxidante de café usado extraída por el método de calentamiento óhmico.

VI.2.3 Análisis proximal

La metodología que fue empleada esta descrita por la (AOAC, 2002), las pruebas se llevaron a cabo tanto en el café usado, la fibra dietaria extraída por tratamiento óhmico y en las galletas.

VI.2.3.1 Determinación de lípidos (Técnica 920.39)

Los lípidos totales se determinaron por el método 920.39 (extracto etéreo) descrito en la (AOAC, 2002). Brevemente, en un cartucho de celulosa se colocaron 5g de muestra, se cubrieron con algodón y se colocaron en el compartimento de extracción de Soxhlet, donde el matraz (a peso constante),

contenía 2/3 partes de su volumen de éter de petróleo. Se mantuvo la extracción a un flujo de 10 reflujos/hora durante 5 horas. Posteriormente, se destiló el solvente, se secó el matraz en estufa con la finalidad de retirar la humedad y residuos de solvente. Se pesaron los matraces y se realizaron los siguientes cálculos:

$$\% \text{ grasa} = (P_f - P_o) / M * 100$$

Dónde: Pf = peso final del matraz; Po = peso inicial del matraz; M = peso de la muestra.

VI.2.3.2 Determinación de proteína (Técnica 920.105)

La proteína total se determinó empleando el método 920.105 (Kjeldhal) descrito en la (AOAC, 2002). Brevemente, en un matraz de digestión tipo Kjeldhal se colocó 1 g de muestra desgrasada, 3.5 g de sulfato de sodio, 0.4 g de sulfato de cobre y se adicionaron 10 mL de ácido sulfúrico. Se colocó el matraz en el digestor durante una hora hasta el cambio de color de la muestra a verde claro.

Se atemperó y se colocó el tubo en el destilador adicionando agua e hidróxido de sodio al 40%. Se recibió el destilado en un matraz con 25 mL de ácido bórico y se empleó como indicadores rojo de metilo y verde de bromocresol. Se tituló con ácido clorhídrico 0.08 N. Finalmente, se determinó el nitrógeno (N) total multiplicado por un factor de conversión equivalente al % de proteína presente en el alimento.

Cálculos:

$$\% N = (A - B) * C * D * 100$$

$$\% P = \% N (6.25)$$

Dónde: A = mL HCl usados en la titulación de la muestra; B = mL HCl usados en la titulación del blanco; C = meq N2 0.014; D = normalidad del ácido; M = peso de la muestra.

VI.2.3.3 Determinación de humedad (Técnica 925.23)

Se pesó 2 g de muestra en una cápsula (previamente llevada a peso constante). Se colocó en una estufa a 130°C por 2 horas. Se llevó la cápsula con la muestra a un desecador y durante 40 min. Se pesó y se realizó el correspondiente:

$$\% \text{ Humedad} = (\text{peso inicial muestra} - \text{peso final muestra}) * 100$$

VI.2.3.4 Determinación de cenizas (Técnica 945.46)

De acuerdo a la metodología propuesta por la (AOAC, 2002), se pesaron 2 g de muestra en un crisol de porcelana, previamente llevado a peso constante. La muestra fue calcinada en una mufla a 550 – 560 °C durante 5 horas. Se llevó a temperatura ambiente en un desecador. Se pesó el crisol junto con la muestra y se restó el peso del crisol.

$$\% \text{ Ceniza} = (\text{peso del residuo de cenizas} / \text{peso de muestra}) * 100$$

VI.2.3.5 Determinación de carbohidratos

El cálculo del contenido de carbohidratos de la muestra, fue realizado por diferencia de peso, con respecto al porcentaje de las determinaciones anteriores.

VI.2.4. Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico se llevó a cabo de acuerdo a la metodología de Campos-Vega *et al.*, (2015), utilizando un horno de microondas casero (LG MS-1145KYL). Un gramo de muestra se suspendió en 9 mL de etanol, posteriormente se calentó en el horno de microondas, en dos ocasiones, durante 20 s con un

poder del 80% (1200 W). Se centrifugó a 5000 rpm por 10 min 4°C y se tomó el sobrenadante, el cual fue utilizado para las siguientes pruebas.

VI.2.5. Capacidad antioxidante

a) **Ensayo ABTS.** Se preparó una solución patrón mezclando 1:1 las siguientes soluciones de trabajo: ABTS 7mM y persulfato de potasio 2.45 mM. Ambas soluciones se mezclaron y se dejaron reposar por 12 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Luego la mezcla se diluyó tomando 1mL al que se le agregó 60mL de metanol absoluto en pequeñas cantidades hasta lograr una absorbancia de 0.706 ± 0.001 unidades a 734 nm.

Se prepararon las diluciones de los extractos por analizar y se procedió a realizar la reacción con 100µL de muestra y 100 µL de solución con el radical la cual se agitó por 5 segundos en oscuridad. Luego se realizaron las lecturas a los 7 minutos a una longitud de onda de 734 nm. Se leyó un control con 100 µL del radical y 100 µL de metanol (Kuskoski *et al.*, 2005).

El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \right] * 100$$

b) **Ensayo DPPH.** Se preparó una solución de DPPH⁺ 125 µL metanol/agua (80:20 v/v). La solución se preparó en el momento de usarse. Se prepararon las diluciones de los extractos por analizar y se procedió a realizar la reacción con 20 µL de solución con el radical. Las muestras se dejaron reposar en oscuridad por una hora y se realizó la lectura a 520 nm en espectrofotómetro. Se realizó la lectura de un control con 200 µL del radical. El porcentaje de capacidad antioxidante (AOX) se calculó con la fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \left[\frac{\text{Abs control} - \text{Abs muestra}}{\text{Abs control}} \right] * 100$$

VI.2.5. Determinación fenoles totales

a) **Método Folin-Ciocalteu.** El contenido de fenoles totales de los extractos (1:10) fue determinado de acuerdo a la metodología descrita por Conde y Mussatto, 2015. Se mezclaron 500 µL de cada extracto con 2.5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu (1:10) y 2mL de una solución de carbonato de sodio (7.5% m/v). La mezcla se incubó a 45°C por 15 minutos para posteriormente incubarse a temperatura ambiente (25°C) por 30 minutos antes de realizarse la lectura a 765 nm. El contenido fenólico total se calculó a partir de una curva de calibración preparada con ácido gálico (10-100 mg/mL) y se expresaron como mg equivalente de ácido gálico por litro de extracto.

VI.2.6. Estudio clínico

Reclutamiento de los participantes

Basados en lo reportado en estudios sobre intervenciones con fibra dietaria, una muestra de 20 sujetos por grupo se consideró adecuada para proveer un poder estadístico del 80% (Stenman *et al.*, 2016, Liu *et al.*, 2003 y Fung *et al.*, 2002).

VI.2.6.1. Sujetos

Participaron un total de 66 sujetos: 27 adultos de ambos sexos de 18 a 45 años de edad con sobrepeso de acuerdo a los criterios de la OMS (WHO, 2007) y 39 adultos con peso normal. Los sujetos fueron reclutados en la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Se reunieron a los sujetos reclutados para informarles acerca del estudio y para responder a cualquier duda. Aquellos que aceptaron participar, firmaron una carta de consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales, de la Universidad Autónoma de Querétaro y está de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Los datos de todos los participantes se incluyeron en una base de datos y se protegieron de su uso indebido.

Dentro de estos 66 participantes se realizó una submuestra de 22 personas basado en lo reportado por Carrión *et al.*, (2013) y Ortiz-Tudela *et al.*, (2010) para el análisis del ritmo locomotor circadiano.

Todos los participantes eran sujetos sanos y sin problemas físicos que pudieran condicionar el sueño (como por ejemplo asma, síndrome de piernas inquietas, apnea obstructiva del sueño). Además se les pidió que mantuvieran su estilo de vida habitual (sobre todo en cuanto al horario de comidas y sueño) durante las semanas de estudio.

Durante el estudio, los sujetos consumieron su dieta habitual, y se les solicitó que siguieran un patrón de alimentación regular (tres comidas al día). La ingesta de alimentos que contienen probióticos y/o prebióticos fue limitado. En el momento de la inclusión, todos los sujetos fueron informados sobre los productos alimenticios que contienen pro-y prebióticos. También se les pidió que leyeran las etiquetas cuidadosamente para comprobar el contenido de la adición de pro-y/o prebióticos.

El cumplimiento se definió como el consumo del tratamiento durante al menos 16 de los 21 días de tratamiento.

VI.2.6.2. Criterios inclusión

- a) Edad de 18-45 años.
- b) Índice de masa corporal (IMC), entre 18.5-29.9.
- c) Sujeto que acepte participar y realizar evaluaciones antropométricas así como bioquímicas y, de ser el caso, monitorización de su ritmo locomotor circadiano.

VI.2.6.3. Criterios exclusión

Los criterios de exclusión fueron: el uso de una dieta baja en energía o de otros hábitos dietéticos extremos en las 6 semanas previas a la admisión al ensayo clínico, uso de antibióticos en los 3 meses anteriores a la admisión, la ingesta de suplementos dietéticos o medicamentos que influyan en el tracto gastrointestinal en las 2 semanas previas al comienzo de la intervención, cirugía

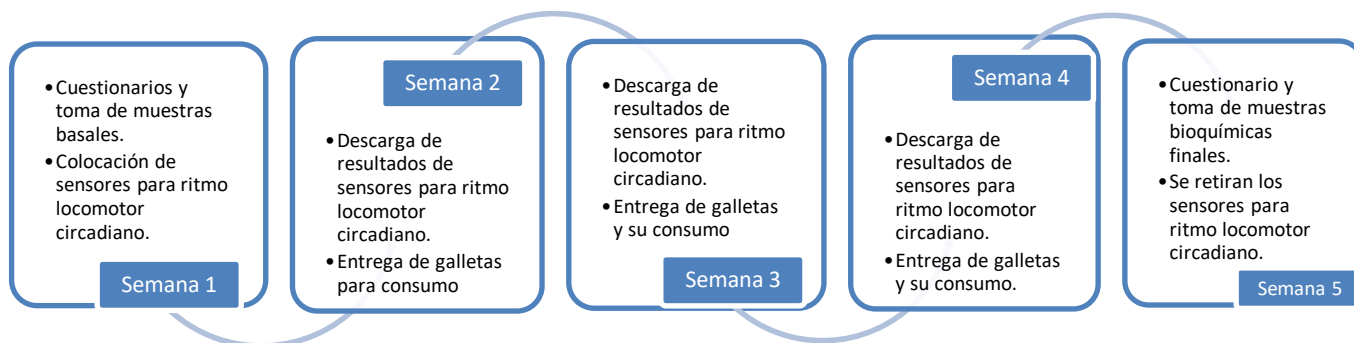
abdominal (con excepción del apéndicectomía), padecimiento de alguna enfermedad grave (definida como aquella que incapacita por más de 2 semanas para poder desempeñar algún trabajo) en los 3 meses antes del comienzo del ensayo clínico, anestesia completa en el mes anterior al inicio del ensayo, padecimiento de enfermedades crónicas gastrointestinales como enfermedad inflamatoria intestinal y el síndrome de intestino irritable, alergia o intolerancia al café y sus productos, abuso de alcohol o tabaco de más de cinco cigarrillos por día.

Para la submuestra donde se analizó el ritmo locomotor circadiano además de los criterios de exclusión mencionados anteriormente se añadieron los siguientes: mostrar patrones normales de sueño (no insomnio), sin problemas médicos ni daltonismo, no estar tomando medicamentos para el sueño, no trabajador de turno nocturno, no haber cruzado más de dos zonas horarias en los 2 meses previos al estudio.

VI.2.7. Diseño experimental

El estudio fue de muestreo no probabilístico, aleatorizado, paralelo y ciego (Tabla 3). Brevemente, el estudio comenzó con una semana de toma de muestras y aplicación de cuestionarios basales, seguido por un período de 3 semanas de tratamiento. Los voluntarios consumieron 3 galletas al día (45g porción), sin importar la hora del consumo. Por lo que los grupos aunque no necesariamente en este orden, fueron: a) GSF (galleta sin fibra añadida), b) GCU (galletas con café usado y oligofruktosa, equivalente a 3.4g/día de fibra) y c) GFDACU (galletas con fibra dietaria antioxidante de café usado, equivalente a 5 g/día de fibra). Tanto las GCU como las GFDACU presentarán alto contenido de fibra, de acuerdo con el Codex Alimentario.

Tabla 3 Esquema representativo del diseño del estudio clínico



Semana	1	2	3	4	5
Recolección de muestras					
-Sangre	✓				✓
Cuestionarios					
-Historia clínica	✓				
-Evaluación dietaria	✓				
-Matutinidad-vespertina de horne y östberg	✓				✓
-Cuestionario internacional de actividad física (ipaq)	✓				✓
-Índice de Calidad de Sueño de Pittsburg.	✓				✓
Antropometría	✓				✓
Colocación de sensores para ritmo locomotor circadiano al inicio de cada semana.	✓	✓	✓	✓	✓
Descarga de resultados de sensores al final de cada semana.	✓	✓	✓	✓	✓

VI.2.8. Cuestionarios

- Historia clínica:* Comprendió aspectos relacionados con las características generales de los sujetos, antecedentes familiares de enfermedades y estado general de salud de los pacientes. La historia clínica fue aplicada por un médico.
- Cuestionario nivel socioeconómico:* Se empleó un cuestionario socioeconómico previamente validado para conocer mejor a la población de estudio. Dicho cuestionario cubre aspectos relacionados con las condiciones de la vivienda,

propiedad de vivienda, condiciones de hacinamiento y escolaridad de los padres. Estas variables se utilizaron para determinar su interacción con las demás variables evaluadas.

- c) *Evaluación de la dieta*: Una frecuencia de alimentos semi-cuantitativa es un instrumento validado que se utilizó para determinar los hábitos alimentarios de un individuo. Esta se realizó mediante una entrevista estructurada en la cual personal previamente capacitado mostró patrones y cantidades de alimentos para evaluar el número de veces que ciertos alimentos, fueron consumidos por los participantes antes y al finalizar el tratamiento con una cantidad y frecuencia aproximada. A los sujetos que se les colocó los sensores para medir el ritmo locomotor circadiano se les solicitó que registrar todo el alimento y la ingesta de bebidas de los días 3-5 del periodo de aplicación de cuestionarios y de los días 17-19 de cada período de tratamiento de 3 semanas. Estos datos fueron utilizados para calcular la ingesta media diaria de energía (kcal) y el porcentaje medio de energía proveniente de carbohidratos, lípidos y proteínas, además de la ingesta de fibra. Los cálculos de macro y micronutrientes se realizarán tomando como referencia las tablas de alimentos del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) y de la base de datos de alimentos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.
- d) *Diario de sueño y alimentación*: A lo largo de las semanas de estudio los voluntarios fueron completando un diario de sueño y comidas, en el que los sujetos recogían diariamente, mediante anotación manual, los siguientes datos: hora de acostarse en la cama, hora de dormir, hora de despertar, hora en la que el sujeto se levantaba de la cama, siestas y hora de las tres comidas principales.
- El diario incluía un apartado para reflejar cualquier observación que los voluntarios consideraran relevante, así como la realización de ejercicio físico intenso o la retirada de los sensores.
- e) *Test Matutinidad-vespertina de Horne y Östberg*: Los días de inicio y fin del estudio los voluntarios completaron el test de Horne y Östberg traducido al

español, que permite mediante 19 preguntas clasificar a cada individuo en función de su tipología circadiana (vespertino, intermedio o matutino) (Horne, 1976).

- f) *Cuestionario internacional de actividad física (IPAQ)*: El cual ha sido utilizado en diversos estudios internacionales y se ha evaluado su validez y confiabilidad sugiriéndose su uso en diferentes países e idiomas, además de ser propuesto por la OMS como un instrumento a utilizarse para vigilancia epidemiológica a nivel poblacional, dado que se ha puesto a prueba en 24 países y actualmente se emplea en varias redes regionales. Este instrumento aporta información sobre gasto energético estimado en 24 horas, en las distintas áreas de la vida diaria; tiene la ventaja de ser aplicable a grandes muestras de distintos niveles socioeconómicos dada su simplicidad tanto en la administración como en la obtención de los puntajes (IPAQ, 2016).
- g) *Índice de Calidad de Sueño de Pittsburg*: Proporciona una puntuación global de su calidad y puntuaciones parciales en siete componentes distintos: calidad subjetiva del sueño, latencia, duración, eficiencia habitual, alteraciones, uso de medicación hipnótica y disfunción diurna. Las preguntas hacen referencia al último mes. La puntuación de cada uno de los siete componentes oscila entre 0 (no existe dificultad) y 3 (grave dificultad); la puntuación global tiene un rango entre 0 (ninguna dificultad) y 21 (dificultades en todas las áreas), con un punto de corte en la puntuación 5 para diferenciar a los buenos de los malos dormidores (Buysse *et al.*, 1989).

VI.2.9.Determinaciones bioquímicas

Se tomaron muestras de sangre antes de iniciar el estudio y al finalizarlo, de las cuales se separó el plasma para la cuantificación de antioxidantes y melatonina. Los sujetos se citaron una semana antes de comenzar el estudio (en ayuno de 8-10 hrs) y en la cuarta semana para la toma de muestras.

- *Análisis bioquímicos de muestras sanguíneas*. Los parámetros metabólicos fueron analizados utilizando técnicas de laboratorio estandarizadas (glucosa,

triglicéridos, colesterol y lipoproteínas de alta y baja densidad) así como insulina y melatonina.

- La *glucosa* se determinó por ensayo colorimétrico en donde la enzima glucooxidasa cataliza la oxidación de glucosa a gluconato y peróxido de hidrógeno. La concentración de glucosa es proporcional al H_2O_2 , este puede medirse apareándolo con un indicador de peroxidasa. La determinación de glucosa se efectúa mediante el método de Trinder (UNAM, 2009).

VI.2.10. Obtención de plasma

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de los voluntarios sanos, mediante venopunción en tubos de recolección que contenían K3EDTA como anticoagulante. Para obtener el plasma sanguíneo, las muestras se centrifugaron a 3000 x g por 10 minutos a 4°C. Se almacenaron a -70 °C hasta su análisis.

VI.2.10.1. Capacidad antioxidante en plasma

La capacidad antioxidante se determinó mediante la técnica de ORAC.

Se basa en la capacidad de generación de radicales peroxilo por descomposición térmica del AAPH. Los radicales generados quedan disponibles en el seno de la reacción para oxidar la fluoresceína. Conforme la fluoresceína se degrada, la intensidad de la señal de emisión de fluorescencia va disminuyendo. Compuestos con actividad antioxidante evitan o retrasan este proceso, viéndose que la caída de la señal de fluorescencia se hace menos acusada o se retrasa en el tiempo. En la Figura 9 se detalla la reacción química que tiene lugar en el ensayo.

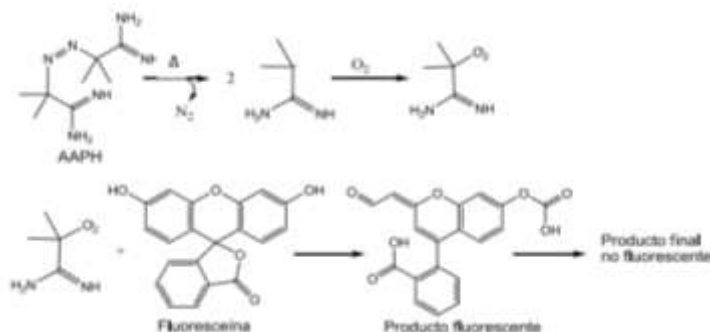


Figura 6 Proceso de oxidación de la fluoresceína por los radicales peroxilo producidos por la descomposición térmica del AAPH (Ou *et al.*, 2001)

Se preparó un tampón PBS 0.075 M (pH=7.4). Se realizó la preparación de fluoresceína disodio (1166.1 nM). Se procedió a la preparación de la solución de trolox para las distintas concentraciones del patrón.

En el período de incubación de la placa en el fluorímetro se realizó la preparación de AAPH 14mM.

Una vez realizadas todas las diluciones oportunas se cargó en la placa de 96 pocillos de fondo plano y negras. Se pusieron 20µl por duplicado o triplicado cada una de las diluciones de cada muestra. Se leyó la placa por 155 min en el fluorímetro.

Una vez terminado el ensayo se procesaron los datos mediante plantilla de Excel elaborada por el laboratorio de Bioquímica Toxicológica de la Facultad de Química. De manera simplificado, se dividió el valor de la pendiente de la recta de la muestra con el valor de la pendiente de la recta del Trolox. Por lo tanto, todos aquellos resultados >1 se tomaron como mayor antioxidante que el Trolox.

VI.2.10.2 Melatonina

Para la cuantificación de melatonina en plasma se utilizó el Kit Melatonin ELISA de IBL (RE54021). El procedimiento de ensayo sigue el principio básico de los ELISAs competitivos, donde existe competencia entre el antígeno biotinilado y el no biotinilado por un número fijo de sitios de unión.

Se realizó la extracción de muestras por medio de columna de extracción y cámara de vacío. Trescientos microlitros del filtrado se añadieron a las columnas C18 de los kitsy procesados de acuerdo con las instrucciones del kit. Para investigar algunas de las propiedades de la unión de la melatonina a las proteínas plasmáticas, diluciones de plasma en tampón de Tris-HCl (50 mmol / L; pH 7,4) se incubaron a 25°C por 2h con 10.000 cpm 2-yodomelatonina en un volumen final de 1 ml. Las alícuotas (900 ml) se añadieron a continuación a tubos con solución EDTA y se centrifugarán durante 45 min a 25° C. Alícuotas de filtrado (300 ml) se contaron en un contador G. Para estimar la afinidad de unión, 50 ml de plasma se incubaron con 10.000 cpm 2-yodomelatonina y junto con la melatonina no marcada (1026 -1023 mol / L) se procesaron como se ha descrito anteriormente.

VI.2.11. Protocolo de colocación de los sensores para medir ritmo locomotor circadiano

Con la finalidad de evaluar el ritmo locomotor circadiano de los sujetos, estos portaron 3 sensores para diferentes determinaciones. La colocación de los sensores se hizo al inicio de cada semana del estudio. Al finalizar la semana los sensores se retiraron para descargar los resultados.

1. El sensor de temperatura (A) (Thermochron iButtonDS1921H, Dallas, Maxim), se situó en la cara interna de la muñeca sobre la arteria radial (justo en la base del dedo pulgar) cubierto por una muñequera. Se pegó con velcro en un extremo el interior de la muñequera y comprobando que se situó en el lugar deseado (Figura 10).
2. El sensor de actividad (B) (HOBO, Pendant G Acceleration Data Logger UA-004-64, Massachusetts, USA) tiene se colocó en un brazalete con la parte que se muestra en la figura y que es de color violeta hacia afuera y la parte para colgar hacia arriba. Comprobar que está en posición de 90° con respecto al brazalete (húmero) y que no se mueve durante el estudio (Figura 10).

3. El luxómetro (C) (HOBO *Pendant Temperature/Light Data Logger UA-002 64*, Onset Computer, Bourne, HOBO, Massachusetts, USA) se situó en un colgante al cuello por encima de la ropa con la cara que presenta la marca verde hacia afuera para que pueda registrar la luz. Cuando el individuo se dormía debió quitarse y colocar este sensor, y sólo este sensor, en la mesilla de lado de su cama con la cara que presenta la marca verde hacia arriba (donde está la lucecita). (Figura 10).

Estos sensores son totalmente impermeables, por lo cual, se recomendó no retirarlos con frecuencia.

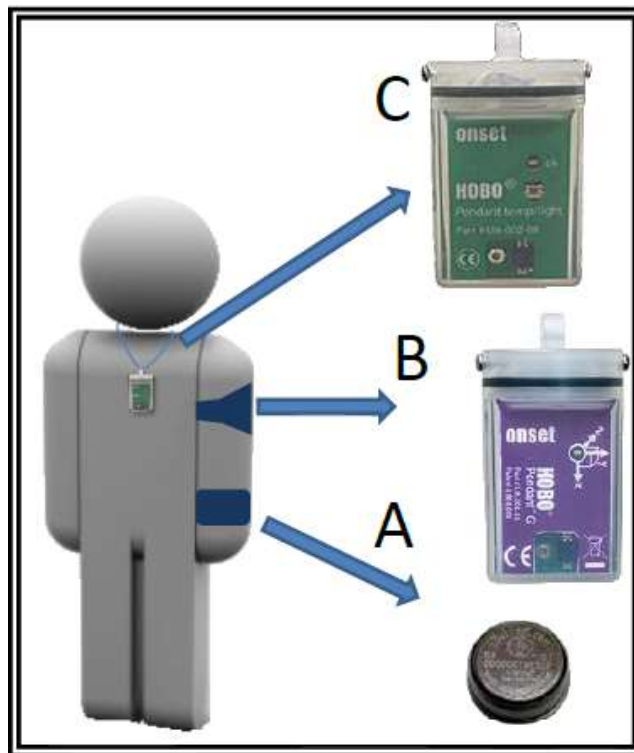


Figura 7 Colocación de sensores para ritmo locomotor circadiano (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010)

Actimetría

La actimetría, es una técnica de evaluación del comportamiento relativamente reciente. Es un método simple y no invasivo que permite evaluar indirectamente el ritmo sueño-vigilia, por lo tanto, se puede considerar un marcador del ritmo circadiano (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

La actividad motora actúa a dos niveles respecto al sistema circadiano, en primer lugar representa una entrada de información al reloj (como un sincronizador), puesto que en parte está sujeto a control voluntario y puede modificar el funcionamiento del reloj (Edgar *et al.*, 1991). Por otro lado, resulta una salida del reloj y puede evaluarse como ritmo marcador del sistema circadiano (Mormont *et al.*, 2000).

El método consiste en la obtención de un registro prolongado de datos mediante el empleo de un dispositivo denominado actímetro, que registra y almacena información sobre el movimiento corporal. La monitorización consiste en cuantificar los movimientos realizados por el sujeto de estudio mediante medidas de la aceleración resultante de dichos movimientos. A partir de la información proporcionada por el actímetro, definimos dos variables: actividad motora (A) y posición del cuerpo (P) (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

La representación gráfica del patrón circadiano de actividad y posición, se caracteriza por presentar valores bajos durante la noche (sueño) y valores más elevados durante el día (vigilia), como se muestra en las Figuras 6 y 7 (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

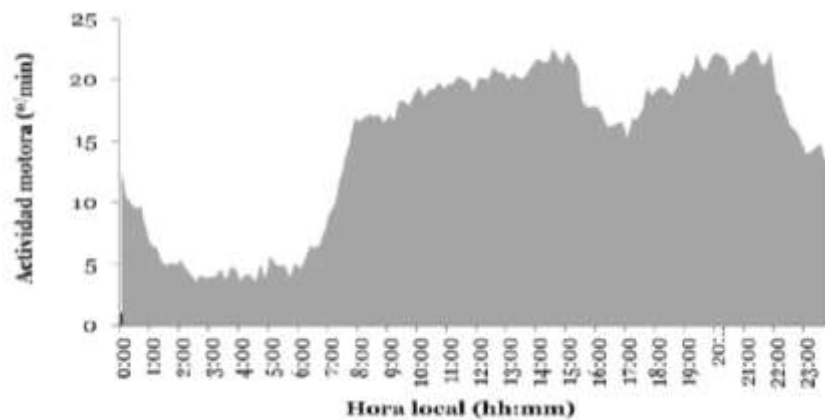


Figura 8 Ritmo circadiano de la actividad motora
Datos tomados del Departamento de Fisiología de la Universidad de Murcia. Grupo de Nutrición.



Figura 9 Ritmo circadiano de la posición del cuerpo
 Datos tomados del Departamento de Fisiología de la Universidad de Murcia. Grupo de Nutrición.

TAP

La existencia de los artefactos y los diferentes factores de enmascaramiento para las variables rítmicas de temperatura, actividad y posición (TAP), considerados marcadores circadianos, llevaron a proponer a Ortiz-Tudela y *col.* la integración de estas tres variables en una sola para evaluar el estado del sistema circadiano humano en condiciones normales de vida (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

Valores bajos de TAP implican la coexistencia de baja actividad, posición horizontal y alta temperatura. Este método sencillo y no invasivo, permite la evaluación del ciclo de sueño-vigilia de un sujeto en su ambiente (casa/normal) a un coste mucho menor que otros métodos. Se calcula a partir de la integración de las variables normalizadas temperatura periférica, actividad y posición (TAP) y predice el sueño en condiciones de vida libre, correlacionándose altamente con la detección polisomnográfica del sueño, tanto en sujetos sanos como en pacientes con patologías del sueño (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

La temperatura, actividad y posición fueron normalizadas y combinadas asignándosele un peso relativo de 1 a cada variable para constituir la variable integrada TAP. Esta osciló entre valores cercanos a 0 (alta probabilidad de sueño) y valores próximos a uno (alta probabilidad de vigilia) (Figura 8) (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).



Figura 10 Ritmo circadiano de la variable integrada TAP
Datos tomados del Departamento de Fisiología de la Universidad de Murcia. Grupo de Nutrición.

VI.2.11.1. Procesamiento de los datos

En primer lugar se clasificaron a los sujetos en función de su tipología circadiana, a partir de los resultados obtenidos en el test de Horne y Östberg. Una vez se procesaron los datos de temperatura, actividad motora, posición corporal y sueño, se realizaron una serie de representaciones gráficas correspondientes a las ondas medias con los 22 sujetos de esos mismos datos, obtenidas de promediar los valores de cada día para el mismo punto horario, tanto para los sujetos individuales como para la muestra de la población (promedio de ondas medias).

El efecto de los principales sincronizadores, como la luz o el sueño, sobre el ritmo de temperatura queda atenuado en la onda media promedio por las grandes diferencias inter e intraindividuales. Por ello, se utilizó como marcador temporal el inicio y final del sueño que fue tomado como tiempo 0 (*zeitgeber time*). Este

cálculo se realizó para cada individuo y posteriormente se promedió para la muestra en su totalidad y los diferentes tratamientos, obteniendo así las ondas medias de cada grupo (vespertinos, indefinidos y matutinos) según la clasificación por cuestionario.

Para cada grupo se calcularon los siguientes índices:

- Estabilidad Interdiaria (IS): cuantifica la estabilidad del ritmo entre los distintos días de registro con independencia de la forma de onda del ritmo, y se calcula según la siguiente fórmula:

$$IS = \frac{n \sum_{h=1}^p (\bar{x}_h - \bar{x})^2}{p \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

<p>n: número total de datos p: número de datos por día \bar{x}_h: valor medio de ese punto horario \bar{x}: valor medio del total de datos x_i: dato individual</p>
--

Los valores de IS varían entre cero para un ruido gaussiano y uno para una estabilidad interdiaria perfecta, lo que sucede cuando la onda se repite exactamente igual cada día.

- Variabilidad Intradiaria (IV): indica la fragmentación del ritmo, y depende de la frecuencia y extensión de transiciones entre los valores altos y los bajos, según la siguiente fórmula:

$$IV = \frac{n \sum_{i=2}^n (x_i - x_{i-1})^2}{(n - 1) \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

<p>n: número total de datos \bar{x}: valor medio del total de datos x_i: dato individual x_{i-1}: dato anterior a x_i</p>
--

Los valores de IV alcanzan valores cercanos a cero cuando se trata de una onda sinusoidal perfecta y llegan en torno a dos para el caso de un ruido gaussiano. Puede tomar un valor mayor si aparece un componente ultradiano, definido con un periodo de 2 horas.

- Amplitud Relativa (RA): en principio este índice se desarrolló para el análisis de la actividad motora y hace referencia a la diferencia entre el máximo y el mínimo del ritmo.

$$RA = \frac{M10 - L5}{M10 + L5}$$

M10: media de 10 horas consecutivas de valores más altos
L5: media de 5 horas consecutivas de valores más bajos

Sin embargo, el ritmo circadiano de TP es exactamente el opuesto al de actividad, de modo que la fórmula utilizada queda de la siguiente forma:

$$RA = \frac{L10 - M5}{L10 + M5}$$

L10: media de 10 horas consecutivas de valores más bajos
M5: media de 5 horas consecutivas de valores más altos

VI.2.12. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de variables como: edad, peso, talla, IMC, %grasa; para obtener las características generales de la población total y por grupos. Se hizo una prueba de chi-cuadrada para determinar si existen diferencias significativas entre el grupo de sobrepeso y normopeso.

Para el análisis de los datos de composición química y actividad antioxidante se realizó comparación de medias \pm el error estándar, seguido de la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

Se utilizó la prueba de tTest y Wilcoxon para evaluar el cambio entre el valor inicial y final de antropometría, bioquímicos, cuestionarios de matutinidad-vespetinidad, actividad física IPAQ y calidad de sueño. Para comparar la eficacia de los tratamientos se realizará un análisis de covarianza controlado por el valor inicial de las variables y los días transcurridos en tratamiento.

Se llevó a cabo una correlación de Spearman para determinar la asociación entre cronodisrupción y antropometría.

Para evaluar la dieta se normalizaron los datos y después se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA).

Los datos obtenidos del sensor de temperatura se filtraron con el fin de eliminar medida incorrectas, como las producidas por la retirada temporal del sensor. Para esta operación se utilizó un método automático basado en la tasa de cambio, que detecta y excluye datos extremos de temperatura, así como elevaciones y caídas abruptas (Van Marken Lichtenbelt *et al.*, 2006). Para la

interpretación de resultados dados por los sensores para el ritmo locomotor circadiano se utilizó el software Kronowizard de la Universidad de Murcia, España. Para los análisis de los índices no paramétricos se utilizó un ANOVA de dos vías para medidas repetidas con comparaciones a posteriori (Bonferroni).

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete de software JMP 8.0.1.

VII. Resultados

VII.1 Composición proximal del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y las galleta.

Los resultados de la composición química (Tabla 5) indican que la FDACU retiene más del 90% de la composición proximal del CU, sin cambios significativos en el contenido de proteínas, lípidos, carbohidratos y cenizas. Lo anterior se vio reflejado en la composición química de las galletas formuladas con CU y FDACU, ya que presentan hasta un 36% más proteína que la formulación comercial. Esto confirma el aporte proteico del CU reportado por Murthy y Naidu (2012a). Los parámetros evaluados en el CU y la FDACU están entre los valores reportados por López-Barrera *et al.*, (2016) y por Hernández-Arriaga *et al.*, (2017), con algunas variaciones. Se destaca que la GFDACU es la que presenta el mayor contenido de proteína que puede deberse a que en su formulación contiene una mayor cantidad de fibra de café (5g/día).

En cuanto al contenido de lípidos el CU y la FDACU no muestran diferencia significativa y son similares a los valores reportados por López-Barrera *et al.*, (2016) y mayores a los reportados por Hernández-Arriaga *et al.*, (2017). La galleta con mayor contenido de lípidos fue la GCU con 9.43%, seguida de la GFDACU con 7.53% sin diferencia significativa entre estas dos y con una desviación estándar mayor para la GCU. Por su parte la GSF 5.45 % es la que muestra menor contenido de lípidos y diferencia significativa con respecto a la GCU. Estos resultados resaltan el aporte de lípidos del CU y FDACU a las formulaciones.

Por otro lado, los carbohidratos, fueron el constituyente principal de las muestras analizadas. El CU y la FDACU no muestran diferencias significativas, con valores similares a los reportados por López-Barrera *et al.*, 2016 y Hernández-Arriaga *et al.*, 2017. Las galletas formuladas presentaron un mayor contenido de carbohidratos debido principalmente a la adición de harina pero sin diferencia significativa entre la GSF y las galletas adicionadas con café usado, sin embargo, la composición en carbohidratos debe ser distinta y esto puede tener un efecto en el metabolismo de los mismos.

En el contenido de cenizas también se observan diferencias estadísticas significativas entre las muestras, presentándose un mayor contenido en la GSF con respecto a GFDACU y GCU. Por su parte el CU y FDACU no muestran diferencia significativa y concuerdan con lo reportado en la literatura (Mussatto *et al.*, 2011; López-Barrera *et al.*, 2016; Hernández-Arriaga *et al.*, 2017).

Tabla 4 Composición proximal del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado, GFDACU (galleta con FDACU), GCU (galleta con Cuy oligofruktosa) y GSF (galleta sin fibra añadida)

Parámetro	%				
	CU	FDACU	GFDACU	GCU	GSF
Humedad	9.91 ± 0.29 ^a	8.73 ± 0.55 ^b	2.98 ± 0.03 ^d	4.74 ± 0.03 ^c	3.55 ± 0.08 ^d
Cenizas	1.32 ± 0.00 ^b	1.30 ± 0.04 ^b	1.71 ± 0.07 ^{ab}	1.46 ± 0.00 ^b	2.09 ± 0.47 ^a
Proteínas	13.78 ± 0.01 ^a	13.04 ± 0.56 ^a	12.23 ± 0.10 ^b	11.42 ± 0.30 ^c	7.85 ± 0.13 ^d
Lípidos	13.91 ± 1.85 ^a	12.99 ± 1.24 ^a	7.53 ± 0.28 ^{bc}	9.43 ± 1.70 ^b	5.14 ± 0.25 ^c
Carbohidratos	61.04 ± 1.91 ^c	63.92 ± 1.27 ^{bc}	79.61 ± 0.06 ^a	72.93 ± 1.92 ^{ab}	81.35 ± 0.54 ^a

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

En general, las diferencias presentadas en la composición proximal, pueden explicarse en base a las diferencias en la formulación de las galletas objeto de estudio (indicar Tabla que muestra la composición de las mismas). La galleta sin fibra añadida (GSF) está compuesta de azúcares simples que se emplea como edulcorante y no contiene fibra dietética añadida, Los carbohidratos que la conforman son fundamentalmente almidón de la harina que se utiliza en su formulación. Las galletas GFDACU y GCU contienen fibra de café en diferentes

concentraciones y no contienen azúcares simples añadidos. El café usado y el producto obtenido a partir de éste por tratamiento óhmico son fuentes de carbohidratos complejos indigestibles, principalmente, y de lípidos y proteínas.

VII.2 Compuestos fenólicos en café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y galletas evaluadas.

El mayor contenido de fenoles totales lo presentó el CU, seguido por la FDACU (Tabla 7) con diferencias significativas. Esto puede relacionarse con el tratamiento térmico que se lleva a cabo mediante el calentamiento óhmico para la extracción de la FDACU y la posible retención de algunos fenoles en el filtrado después de éste. No se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) en el contenido en compuestos fenólicos entre las galletas sin fibra añadida y suplementadas con fibra de café. Los resultados en las galletas pueden deberse a la cantidad de CU Y FDACU añadida en la formulación. A pesar de que CU y FDACU pueden considerarse fuentes de compuestos fenólicos las cantidades que de estos ingredientes se adicionan, para tener alimentos con alto contenido en fibra y buena calidad sensorial, no son suficientes para elevar significativamente el contenido de estos compuestos en el alimento.

Tabla 5 Concentración de compuestos fenólicos en Café Usado (CU), Fibra Dietaria Antioxidante de Café Usado (FDACU), Galleta con CU (GCU), Galleta con FDACU (GFDACU) y Galleta sin fibra añadida (GSF).

Muestra	Folin Ciocalteu*
CU	56.53 ± 1.73 ^a
FDACU	21.40 ± 1.92 ^b
GCU	03.03 ± 0.22 ^c
GFDACU	04.11 ± 0.37 ^c
GSF	02.15 ± 0.67 ^c

*Los fenoles totales son expresados como mg equivalentes ácido gálico/g extracto seco. Cada valor representa el promedio de tres experimentos ± desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna expresan diferencias significativas $\alpha \leq 0.05$ en la prueba de Tukey.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con lo reportado por Vázquez-Sánchez *et al.*, (2016) y Martínez-Saez *et al.*, (2017).. En lo que respecta al café usado, los valores obtenidos en este trabajo son mayores que los reportados por López-Barrera *et al.*, (2016) quienes informan un contenido de fenoles totales de 10.27 ± 0.11 g equivalentes de ácido gálico/g de muestra. Las diferencias encontradas en comparación a los datos descritos por otros autores pueden atribuirse, entre otros factores, al método de extracción utilizado para la obtención de la muestra y al origen del café usado (Conde y Mussatto, 2016; Bravo *et al.*, 2012 y Cruz *et al.*, 2012).

Las diferencias pueden ser atribuidas al tipo de materia prima utilizado para elaborar cada producto, así como a los diferentes procesos de extracción y medición de los compuestos fenólicos.

VII.2 Capacidad antioxidante del café usado, fibra dietaria antioxidante de café usado y galletas evaluadas

La evaluación de la capacidad antioxidante en las diferentes muestras se determinó por dos métodos (ABTS y DPPH) (Tabla 6). Se encuentran diferencias en los valores de actividad antioxidante en cada uno de los métodos utilizados, esto debido a las diferencias existentes en los mismos en cuanto a sus mecanismos de acción. Se presenta la misma tendencia en el incremento o decrecimiento de los valores en las dos metodologías utilizadas, encontrándose diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre las capacidades antioxidantes de la FDACU y las galletas, siendo menores los valores en estas últimas. Si bien las dos técnicas utilizadas son similares, debido a que ambas han mostrado limitaciones en cuanto a su relevancia en sistemas biológicos, se utilizan como técnicas complementarias de observación de capacidad antiradical (Schaich *et al.*, 2015).

Tabla 6 Capacidad antioxidante en Café Usado (CU), Fibra Dietaria de Café Usado (FDACU), Galleta con CU (GCU), Galleta con FDACU (GFDACU) y Galleta sin Fibra Añadida (GSF)

MUESTRA	ABTS*	DPPH*
CU	72.50 ± 3.46 ^b	127.70 ± 67.66 ^a
FDACU	21.45 ± 0.57 ^a	115.49 ± 60.00 ^a
GCU	07.19 ± 3.05 ^c	20.77 ± 2.33 ^b
GFDACU	08.17 ± 3.80 ^c	20.73 ± 6.50 ^b
GSF	07.29 ± 1.52 ^c	14.42 ± 1.33 ^b

*La capacidad antioxidante expresada como μ moles eq de trolox/g de muestra. Cada valor representa el promedio de tres experimentos \pm desviación estándar. Diferentes letras en la misma columna expresan diferencias significativas ($\alpha \leq 0.05$) en la prueba de Tukey.

Para el método de ABTS, la mayor capacidad antioxidante se presentó en el CU; sin embargo, se observaron valores menores a los reportados por Bravo *et al.*, (2013), que podría deberse a la diferencia de solventes utilizados para la extracción de los antioxidantes de la muestra previo al análisis de la capacidad antioxidante de la muestra. En lo que respecta a las muestras de FDACU se presentan diferencias significativas con respecto al CU con un decremento del 22.66 % que podrían deberse a su extracción por calentamiento óhmico. En correspondencia con los resultados encontrados por análisis de los compuestos fenólicos, no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05$) entre los valores de capacidad antioxidante de las tres galletas objeto de estudio y los valores fueron además significativamente menores ($p < 0,05$) que los detectados para CU y FDACU, respectivamente.

Los valores de capacidad antioxidante total de CU y FDACU obtenidos por aplicación del método DPPH no mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) y éstos fueron superiores a los reportados por Bravo *et al.*, (2013). Sin embargo, la capacidad antioxidante de las galletas no mostró diferencias significativas ($p > 0,05$).

El tiempo de medida necesario para realizar las medidas de DPPH (30 minutos) en comparación con el método ABTS (1 minuto), supone una desventaja en su aplicación. Debe señalarse que, a pesar de las diferencias

metodológicas, los resultados obtenidos con los métodos ABTS y DPPH mostrados en la Tabla 6 permiten alcanzar conclusiones prácticamente similares.

De acuerdo con los resultados obtenidos, las galletas GCU y GFDACU presentaron una capacidad antioxidante a través del método DPPH de 20.77 ± 2.33 y 20.73 ± 6.50 μ moles equivalentes trolox/g muestra, éste valor es mayor a lo reportado por (Tańska *et al.*, 2016), quienes determinaron la capacidad antioxidante de galletas adicionadas con pulpa de fruta de rosa mosqueta, serba, grosella negra y saúco que muestran valores de 9.84 ± 0.36 , 9.82 ± 0.10 , 10.94 ± 0.38 y 9.25 ± 0.21 μ mol eq de trolox/g muestra por el método de DPPH respectivamente. Por su parte Caiza (2015), reporta valores de 2.07 μ moles equivalentes trolox/g muestra en una galleta con 2,2 g oligofruktosa y arándano deshidratado que son menores a lo encontrado para las galletas estudiadas en el presente trabajo.

La alta capacidad antioxidante del café se atribuye a la presencia de compuestos fenólicos, principalmente el ácido clorogénico, cafeína, ácido ferúlico y la cumarina, además de los productos formados por la reacción de Maillard durante el tostado (López-Barrera *et al.*, 2016; Panusa *et al.*, 2013; Murthy y Naidu 2012b).

VII.3. Estudio clínico

VII.3.1. Características antropométricas y bioquímicas de la población de estudio

Un total de 66 adultos de 18-45 años participaron en el estudio. El estudio consistió en 3 grupos de acuerdo al tratamiento: GCU (galleta con café usado y oligofruktosa; 3.4 g fibra/45g galletas), GFDACU (galleta con fibra dietaria antioxidante de café usado; 5g fibra/45g galletas) y GSF (galleta sin fibra añadida). Una descripción de la muestra de acuerdo con sus características antropométricas (incluyendo separación por IMC, con fines descriptivos) y bioquímicas, por grupo de tratamiento, se presenta en la Tabla 7.

Los valores antropométricos que mostraron diferencias significativas al inicio del estudio para los tres grupos fueron peso, grasa (kg), IMC y circunferencia de cintura.

Tabla 7 Características basales de la población por grupo de tratamiento^a

Grupo GCU		
VARIABLE	NORMOPESO	SOBREPESO
N	12	10
Edad (años)	27.17 ± 2.24	27.90 ± 2.46
Peso (kg)	59.49 ± 2.56*	75.49 ± 2.81*
Talla (cm)	01.63 ± 0.02	01.65 ± 0.02
IMC (kg/cm²)	22.41 ± 0.48*	27.54 ± 0.53*
% grasa	26.50 ± 2.02	31.95 ± 2.22
Grasa (kg)	15.57 ± 1.56*	24.23 ± 1.71*
Grasa visceral	01.69 ± 0.20	02.17 ± 0.02
Circunferencia cintura (m)	0.793 ± 0.02*	0.891 ± 0.02*
Glucosa (mg/dL)	76.17 ± 2.87	77.70 ± 3.15
Colesterol Total (mg/dL)	184.5 ± 12.38	193.0 ± 13.56
Triglicéridos (mg/dL)	88.00 ± 13.07*	132.0 ± 14.32*
HDL (mg/dL)	51.17 ± 2.62	47.80 ± 2.87
LDL (mg/dL)	115.7 ± 9.90	118.8 ± 10.86
VLDL (mg/dL)	17.60 ± 2.61	26.40 ± 2.86
Riesgo aterogénico (col/HDL)	03.65 ± 0.27	04.13 ± 0.29
Insulina uUI/ml	06.17 ± 0.99*	10.74 ± 1.08*
R.I.	01.16 ± 0.19*	02.04 ± 0.21*
F.C.β	539.2 ± 204.9	397.3 ± 224.5
Grupo GFDACU		
VARIABLE	NORMOPESO	SOBREPESO
N	14	9
Edad (años)	25.07 ± 1.53	28.22 ± 1.92
Peso (kg)	54.68 ± 2.34*	76.79 ± 2.91*
Talla (cm)	01.58 ± 0.02*	01.68 ± 0.03*
IMC (kg/cm²)	21.73 ± 0.49*	27.11 ± 0.61*
% grasa	26.21 ± 1.21*	31.10 ± 1.51*
Grasa (kg)	14.39 ± 1.02*	23.77 ± 1.28*
Grasa visceral	01.49 ± 0.21*	02.66 ± 0.27*
Circunferencia cintura (m)	0.763 ± 0.02*	0.902 ± 0.02*
Glucosa (mg/dL)	80.71 ± 2.37	78.33 ± 2.96
Colesterol Total (mg/dL)	172.4 ± 5.74	187.5 ± 7.16
Triglicéridos (mg/dL)	94.43 ± 11.9	114.1 ± 14.8
HDL (mg/dL)	52.71 ± 2.68	51.33 ± 3.34
LDL (mg/dL)	100.8 ± 5.90	113.4 ± 7.34
VLDL (mg/dL)	18.89 ± 2.38	22.82 ± 2.97
Riesgo aterogénico (col/HDL)	03.34 ± 0.25	03.91 ± 0.32
Insulina uUI/ml	07.36 ± 0.84	08.50 ± 1.05

R.I.	01.47 ± 0.18	01.65 ± 0.22
F.C.β	214.6 ± 189.2	592.3 ± 236
Grupo GSF		
VARIABLE	NORMOPESO	SOBREPESO
N	13	8
Edad (años)	25.77 ± 1.60	29.38 ± 2.04
Peso (kg)	59.15 ± 2.20*	73.42 ± 2.80*
Talla (cm)	01.64 ± 0.02	01.64 ± 0.03
IMC (kg/cm²)	21.84 ± 0.41*	27.06 ± 0.52*
% grasa	24.18 ± 1.68*	32.45 ± 2.14*
Grasa (kg)	14.37 ± 1.22*	23.73 ± 1.55*
Grasa visceral	01.58 ± 0.16*	02.13 ± 0.20*
Circunferencia cintura (m)	0.78 ± 0.02*	0.88 ± 0.02*
Glucosa (mg/dL)	79.00 ± 1.77	76.13 ± 2.25
Colesterol Total (mg/dL)	165.3 ± 7.51	179.5 ± 9.57
Triglicéridos (mg/dL)	75.39 ± 9.17*	117.1 ± 11.68*
HDL (mg/dL)	51.23 ± 3.62	49.50 ± 4.62
LDL (mg/dL)	99.07 ± 7.39	106.5 ± 9.41
VLDL (mg/dL)	15.15 ± 1.83*	23.43 ± 2.33*
Riesgo aterogénico (col/HDL)	03.40 ± 0.24	03.76 ± 0.31
Insulina uUI/ml	06.12 ± 0.68	07.35 ± 0.87
R.I.	01.19 ± 0.13	01.38 ± 0.17
F.C.β	149.4 ± 59.7	111.4 ± 76.0

^aMedia ± ES.

*p < 0.05, en ANOVA por renglón.

Tanto en las mediciones antropométricas como en los parámetros clínicos, no se observaron diferencias estadísticas entre el género y el estatus socioeconómico de los tres tratamientos. Lo anterior es un indicio de que la aleatorización asignada a los participantes en los tres grupos de estudio fue adecuada.

De acuerdo al IMC (18.5-24.9) (OMS, 2017) de los 66 participantes, 39 se puede clasificar como normopeso y un IMC (25-29.9) (OMS, 2017) y 27 como sobrepeso.

La ingesta habitual de energía Kcal totales de los tres grupos presentó diferencias significativas de manera basal y final Tabla 8. Lamisma se calculó a partir de la aplicación de un recordatorio de 24 horas en conjunto de un cuestionario de frecuencia de alimentos.

Tabla 8 Consumo de alimentos semanales por tratamiento e ingesta calórica por recordatorio de 24 horas

Grupo de alimentos	TRATAMIENTOS					
	GCU		GFDACU		GSF	
	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso
Maíz (Kcal)*	345.6 ± 32.65 ^a	326.4 ± 35.77 ^a	301.1 ± 30.23 ^a	279.5 ± 37.70 ^a	324.3 ± 31.37 ^a	348.5 ± 39.99 ^a
Trigo (Kcal)**	294.6 ± 37.06 ^a	258.4 ± 40.59 ^a	233.1 ± 34.31 ^a	219.1 ± 42.79 ^a	230.1 ± 34.31 ^a	255.0 ± 45.38 ^a
Leguminosas (Kcal)	419.2 ± 68.16 ^a	409.5 ± 74.67 ^a	367.7 ± 63.10 ^a	351.0 ± 78.71 ^a	297.0 ± 65.49 ^a	351.0 ± 83.48 ^a
Frutas (Kcal)	230.0 ± 34.98 ^a	258.0 ± 38.32 ^a	261.4 ± 32.39 ^a	266.6 ± 40.39 ^a	189.2 ± 33.61 ^a	262.5 ± 42.85 ^a
Verduras (Kcal)	86.67 ± 9.06 ^a	88.00 ± 9.92 ^a	68.57 ± 8.39 ^a	77.78 ± 10.46 ^a	84.61 ± 8.70 ^a	90.00 ± 11.09 ^a
Pollo y pavo (Kcal)	243.3 ± 47.76 ^{ab}	233.6 ± 45.31 ^b	276.4 ± 38.3 ^{ab}	243.3 ± 47.7 ^{ab}	280.8 ± 39.7 ^{ab}	374.1 ± 50.6 ^a
Carnes (Kcal) [†]	352.8 ± 43.18 ^a	313.9 ± 47.29 ^a	292.0 ± 39.97 ^a	292.0 ± 49.85 ^a	325.6 ± 41.48 ^a	301.1 ± 52.88 ^a
Pescado y mariscos (Kcal)	237.3 ± 40.37 ^a	219.0 ± 44.22 ^a	219.0 ± 37.38 ^a	194.6 ± 46.61 ^a	247.0 ± 38.79 ^a	228.1 ± 49.44 ^a
Lácteos (Kcal)	332.5 ± 48.36 ^a	408.5 ± 52.98 ^a	373.2 ± 44.77 ^a	475.0 ± 55.84 ^a	365.4 ± 46.47 ^a	391.9 ± 59.23 ^a
Huevo (Kcal)	252.0 ± 31.42 ^{ab}	226.8 ± 34.4 ^{ab}	216.0 ± 29.0 ^b	189.0 ± 36.2 ^b	222.9 ± 30.1 ^{ab}	315.0 ± 36.4 ^a
Postres y dulces (Kcal) ^x	68.33 ± 11.38 ^a	52.00 ± 12.47 ^a	57.14 ± 10.54 ^a	66.67 ± 13.14 ^a	66.15 ± 10.94 ^a	75.00 ± 13.94 ^a
Bebidas azucaradas(Kcal)↔	127.5 ± 16.69 ^{ab}	141.0 ± 18.2 ^{ab}	98.57 ± 15.45 ^b	120.0 ± 19.2 ^{ab}	110.7 ± 16.0 ^{ab}	153.7 ± 20.4 ^a
Recordatorio 24hrs. Kcal Totales	<u>Basal:</u> 1904.9 ± 160.7 ^{ab} <u>Final:</u> 1647.0 ± 128.2 ^b	<u>Basal:</u> 2012.4 ± 151.4 ^a <u>Final:</u> 1691 ± 140.4 ^b	<u>Basal:</u> 1724.1 ± 148.5 ^{abc} <u>Final:</u> 1463.7 ± 118.7 ^b	<u>Basal:</u> 1731.4 ± 185.5 ^{abc} <u>Final:</u> 1727 ± 148.0 ^b	<u>Basal:</u> 1530.7 ± 154.4 ^{bc} <u>Final:</u> 2209.2 ± 123.2 ^a	<u>Basal:</u> 1326.5 ± 196.8 ^c <u>Final:</u> 2301.4 ± 156.9 ^a

Los valores son medias ANOVA, ajustado por Kcal.

^{a, b, c} Las letras diferentes por renglón indican una diferencia significativa $p < 0.05$ por la prueba de t-Student.

*Incluye tortillas, gorditas, sopes y tamales.

** Incluye pasta, galletas saladas, pan blanco y bolillo.

[†]Incluye: res, cerdo, barbacoa y embutidos.

^xIncluye dulces y chocolates frituras, helado y nieve.

↔ Incluye jugos, agua de sabor, refrescos y atole.

En las Kcal Totales basales se muestra una diferencia significativa ($p < 0.05$) en los sujetos con sobrepeso de los grupos GCU (2012.4 ± 151.4) y GSF (1326.5 ± 196.8). Por su parte, al finalizar la intervención se muestra en el grupo GCU una disminución significativa en los sujetos con sobrepeso en su ingesta calórica, en el grupo GFDACU no hay diferencias significativas entre los valores basales y finales dependientes del peso y en el grupo GSF los se muestra un incremento significativo de la ingesta calórica para los sujetos con normopeso y sobrepeso. Lo cual coincide con lo reportado por ¹Martínez-Saez, (2017) quien encontró tras la simulación *in vitro* de la digestión humana de una galleta que contiene stevia, fructooligosacáridos (FOS) y CU la estimulación de la liberación de compuestos que inducen saciedad tales péptidos similares al glucagón tipo 1 (GLP1) y serotonina. Por su parte, ²Campos-Vega *et al.*, (2017) reportó una mayor saciedad producida por la GFDACU estadísticamente significativa comparada con la GSF en un estudio agudo que muestran como resultado una disminución de la ingesta calórica total para los sujetos tratados con GFDACU que a pesar de que, en los resultados presentados en la Tabla 8 no fueron significativos se muestra esta misma tendencia a la disminución de ingesta calórica por parte de los sujetos con normopeso y sobrepeso que consumieron la GFDACU.

Por grupos de alimentos se muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) en el de pollo y pavo para los sujetos con sobrepeso de los grupos GCU (233.6 ± 45.31) y GSF (374.1 ± 50.6); y en el de huevo para los sujetos normopeso del grupo GFDACU (98.57 ± 15.45) y los sujetos con sobrepeso del grupo GSF (315.0 ± 36.4).

En la Tabla 9 se observan los principales cambios en los parámetros antropométricos, donde se destaca que el grupo que consumió la GFDACU muestra disminución en todas las variables en los sujetos con sobrepeso lo cual coincide con datos publicados por Liu *et al.*, (2003) en el consumo de alimentos integrales como pan negro, cereal integral para el desayuno, palomitas de maíz, avena cocida, germen de trigo, arroz integral y salvado para cambios antropométricos relacionados al consumo de fibra.

Para los parámetros de peso, IMC y grasa (kg) reflejan la diferencia significativa principal que se tomó en cuenta para la clasificación de los sujetos en normopeso y sobrepeso. Para el peso e IMC el cambio de este parámetro no mostró diferencias significativas, sin embargo para el parámetro de grasa (kg) los sujetos con sobrepeso de los grupos GCU (0.82 ± 0.44) y GFDACU (-0.59 ± 0.46) muestran una diferencia significativa ($p < 0.05$) donde el grupo GFDACU mostró una reducción en este parámetro que es deseable para la salud con respecto a la clasificación de sobrepeso.

La circunferencia de cintura fue significativa entre los sujetos con normopeso y sobrepeso. Dichos valores se encuentran por debajo de la media nacional de CC, la cual fue establecida en 0.91m para mujeres entre 20 y 49 años y 0.98m para hombres entre 20 y 49 años (ENSANUT, 2016).

La CC muestra en el cambio ajustado por sexo, edad y estado socioeconómico una diferencia significativa entre los sujetos con sobrepeso de la GCU (0.02 ± 0.01) y GFDACU (-0.03 ± 0.02) donde muestra una disminución en estos últimos. Es relevante los cambios significativos encontrados favorables para la GFDACU ya que, se ha propuesto que la medida de CC es un indicativo del riesgo de síndrome metabólico, porcentaje de grasa total y obesidad abdominal. Esta última, se ha asociado fuertemente a niveles altos de triglicéridos en sangre (Grundy *et al.*, 2013).

En cuanto al % de grasa se muestran diferencias significativas de manera basal y final principalmente entre los sujetos con normopeso y sobrepeso de los grupos GCU y GSF. Para los cambios en este parámetro se encuentra una diferencia significativa entre los sujetos con sobrepeso de los grupos GCU (1.06 ± 0.46) y GFDACU (-0.53 ± 0.53) donde se muestra una disminución en estos últimos que es favorable para su clasificación.

La grasa visceral muestra diferencias significativas basales en el grupo GFDACU comparando a los sujetos con normopeso (1.49 ± 0.19) y sobrepeso (2.66 ± 0.23) donde se percibe un mayor contenido de grasa visceral en los sujetos con sobrepeso. De manera final se muestran diferencias significativas entre los sujetos con normopeso y sobrepeso de los grupos GFDACU (1.55 ± 0.23 y 2.41 ± 0.28) y

GSF (1.55 ± 0.23 y 2.35 ± 0.30) respectivamente. Sin embargo, únicamente el cambio ajustado para el grupo GFDACU mostro diferencia significativa entre los sujetos con normopeso (0.14 ± 0.15) y sobrepeso (-0.30 ± 0.16) donde se muestra una reducción significativa para estos últimos. A pesar de que este cambio fue de pequeña magnitud, las repercusiones metabólicas pueden ser importantes al tratarse de un factor patogénico (Brito-Zurita *et al.*, 2009).

En términos generales, se puede sugerir que a los 21 días de iniciado el tratamiento con GFDACU, se pueden empezar a notar cambios en parámetros antropométricos. Principalmente en los cambios generados para la CC y la grasa corporal que resultan con altos beneficios a la salud ya que, la prevalencia de obesidad abdominal en adultos de 20 o más años de edad es de 76.6% (ENSANUT, 2016). Específicamente, los depósitos de grasa corporal se han asociado con un mayor riesgo cardiovascular (Rosenquist *et al.*, 2013). Además de que también se relacionan con dislipidemia y alteraciones en el metabolismo de glucosa. Se ha reconocido que es un factor independiente del IMC (Brito-Zurita *et al.*, 2009; Rosenquist *et al.*, 2013), razón por la cual, este tipo de grasa se ha considerado patogénica.

Los sujetos con sobrepeso que consumieron la GCU aumentaron significativamente su grasa corporal (%) con respecto a los del grupo GFDACU a pesar de que en el recordatorio de 24 horas final mostraron disminución significativa de su ingesta calórica, sin embargo, podría deberse a que estos tuvieron un mayor consumo de bebidas azúcaradas la mayoría elaboradas con jarabe de alta fructosa. El grupo GFDACU con sobrepeso disminuyó significativamente su %de grasa, grasa corporal total y grasa visceral, sin dieta de restricción calórica ni actividad física prescrita.

Tabla 9 Valores antropométricos de los sujetos participantes en el estudio clínico al inicio y final de 21 días de intervención, según el índice de masa corporal y tratamiento experimental

Valores antropométricos	TRATAMIENTOS					
	GCU		GFDACU		GSF	
	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso
Peso (kg)						
<i>Basal</i>	59.49 ± 2.46 ^b	75.49 ± 2.70 ^a	54.68 ± 2.28 ^b	76.79 ± 2.85 ^a	59.15 ± 2.37 ^b	73.42 ± 3.02 ^a
<i>Final</i>	59.78 ± 2.52 ^b	75.44 ± 2.76 ^a	54.72 ± 2.33 ^b	76.35 ± 2.90 ^a	59.31 ± 2.42 ^b	73.76 ± 3.08 ^a
<i>Cambio</i>	0.30 ± 0.39 ^a	-0.05 ± 0.42 ^a	0.02 ± 0.37 ^a	-0.43 ± 0.45 ^a	0.18 ± 0.36 ^a	0.34 ± 0.47 ^a
<i>Cambio ajustado†</i>	0.10 ± 0.45 ^a	-0.04 ± 0.44 ^a	-0.21 ± 0.47 ^a	-0.68 ± 0.50 ^a	0.03 ± 0.40 ^a	0.12 ± 0.52 ^a
IMC (kg/m²)						
<i>Basal</i>	22.41 ± 0.48 ^b	27.54 ± 0.53 ^a	21.73 ± 0.45 ^b	27.11 ± 0.56 ^a	21.84 ± 0.46 ^b	27.06 ± 0.59 ^a
<i>Final</i>	22.51 ± 0.52 ^b	27.51 ± 0.57 ^a	21.70 ± 0.48 ^b	26.93 ± 0.60 ^a	21.88 ± 0.50 ^b	27.26 ± 0.63 ^a
<i>Cambio</i>	0.10 ± 0.14 ^a	-0.03 ± 0.15 ^a	-0.04 ± 0.14 ^a	-0.17 ± 0.16 ^a	0.05 ± 0.13 ^a	0.21 ± 0.17 ^a
<i>Cambio ajustado†</i>	-0.01 ± 0.16 ^a	-0.03 ± 0.16 ^a	-0.17 ± 0.17 ^a	-0.27 ± 0.18 ^a	-0.03 ± 0.15 ^a	0.11 ± 0.19 ^a
Circunferencia de cintura (m)						
<i>Basal</i>	0.79 ± 0.02 ^b	0.89 ± 0.02 ^a	0.76 ± 0.02 ^b	0.90 ± 0.02 ^a	0.78 ± 0.02 ^b	0.89 ± 0.02 ^a
<i>Final</i>	0.79 ± 0.02 ^b	0.91 ± 0.02 ^a	0.75 ± 0.02 ^b	0.88 ± 0.03 ^a	0.78 ± 0.02 ^b	0.89 ± 0.03 ^a
<i>Cambio</i>	0.00 ± 0.01 ^a	0.02 ± 0.01 ^a	-0.01 ± 0.01 ^a	-0.02 ± 0.02 ^a	-0.00 ± 0.01 ^a	0.00 ± 0.01 ^a
<i>Cambio ajustado†</i>	-0.00 ± 0.02 ^{ab}	0.02 ± 0.01 ^a	-0.01 ± 0.02 ^{ab}	-0.03 ± 0.02 ^b	-0.00 ± 0.01 ^{ab}	-0.00 ± 0.02 ^{ab}
% de grasa						
<i>Basal</i>	26.50 ± 1.71 ^{bc}	31.95 ± 1.88 ^a	26.21 ± 1.59 ^{bc}	31.10 ± 1.98 ^{ab}	24.18 ± 1.65 ^c	32.45 ± 2.10 ^a
<i>Final</i>	26.83 ± 1.75 ^{bc}	33.03 ± 1.91 ^a	26.38 ± 1.62 ^{bc}	30.47 ± 2.02 ^{ab}	24.36 ± 1.68 ^c	32.94 ± 2.14 ^a
<i>Cambio</i>	0.33 ± 0.40 ^{ab}	1.08 ± 0.44 ^a	0.25 ± 0.38 ^{ab}	-0.63 ± 0.46 ^b	0.10 ± 0.37 ^{ab}	0.49 ± 0.49 ^{ab}
<i>Cambio ajustado†</i>	0.43 ± 0.47 ^{ab}	1.06 ± 0.46 ^a	0.44 ± 0.50 ^{ab}	-0.53 ± 0.53 ^b	0.22 ± 0.42 ^{ab}	0.52 ± 0.55 ^{ab}
Grasa (kg)						
<i>Basal</i>	15.57 ± 1.32 ^b	24.23 ± 1.45 ^a	14.39 ± 1.22 ^b	23.77 ± 1.53 ^a	14.37 ± 1.27 ^b	23.73 ± 1.62 ^a
<i>Final</i>	16.39 ± 1.34 ^b	25.05 ± 1.46 ^a	14.56 ± 1.24 ^b	23.18 ± 1.54 ^a	14.51 ± 1.28 ^b	24.10 ± 1.64 ^a
<i>Cambio</i>	0.82 ± 0.40 ^a	0.82 ± 0.44 ^a	0.22 ± 0.39 ^{ab}	-0.59 ± 0.46 ^b	0.11 ± 0.37 ^{ab}	0.37 ± 0.49 ^{ab}

<i>Cambio ajustado</i> †	0.68 ± 0.47 ^a	0.78 ± 0.46 ^a	0.10 ± 0.50 ^a	-0.58 ± 0.53 ^a	0.10 ± 0.42 ^a	0.24 ± 0.55 ^a
Grasa visceral (L)						
<i>Basal</i>	1.69 ± 0.20 ^{bcd}	2.17 ± 0.22 ^{ab}	1.49 ± 0.19 ^d	2.66 ± 0.23 ^a	1.58 ± 0.19 ^{cd}	2.13 ± 0.25 ^{abc}
<i>Final</i>	1.74 ± 0.24 ^{ab}	2.45 ± 0.27 ^a	1.55 ± 0.23 ^b	2.41 ± 0.28 ^a	1.55 ± 0.23 ^b	2.35 ± 0.30 ^a
<i>Cambio</i>	0.05 ± 0.12 ^{ab}	0.28 ± 0.14 ^a	0.06 ± 0.12 ^{ab}	-0.24 ± 0.14 ^b	-0.02 ± 0.11 ^{ab}	0.23 ± 0.15 ^a
<i>Cambio ajustado</i> †	0.06 ± 0.14 ^{ab}	0.28 ± 0.14 ^a	0.14 ± 0.15 ^a	-0.30 ± 0.16 ^b	0.01 ± 0.13 ^{ab}	0.15 ± 0.16 ^a

Se muestran como *cambio* las diferencias de los valores finales vs los basales dependientes del IMC y tratamiento de los voluntarios. GCU, galleta con café usado; GFDACU, galleta con fibra dietaria antioxidante de café usado y GSF, galleta sin fibra añadida. Letras diferentes por renglón ^{a,b,c} muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) por la prueba de t-Student.

Por lo que se observa que los voluntarios con sobrepeso presentan una mejor respuesta al tratamiento, sin embargo, uno de los factores que podrían explicar la falta de cambios en el grupo GCU es que posiblemente se necesita más tiempo para poder apreciar las diferencias y es importante recordar que la GCU tiene menor cantidad de CU por lo que tales hallazgos, podrían tener una posible relevancia a nivel fisiológico sugiriendo que el consumo de 5g/día de FDACU es el que presenta beneficios a la salud. Aunado a esto se sugiere vigilar el contenido de grasa en la formulación de la galleta GCU y vigilar el consumo de bebidas azucaradas en próximos estudios.

Estudios recientes con fibra dietaria antioxidante muestran efectos sobre desordenes metabólicos cuando estos se consumen durante 8 a 12 semanas, entre los cuales se encuentran la disminución del peso corporal, el índice de masa corporal, de las lipoproteínas de baja densidad y del colesterol total, así como niveles de tensión arterial y grasa corporal (Le Barz *et al.*, 2015; Park *et al.*, 2015).

Se ha reportado que el consumo de fibra dietética y de almidón resistente incrementa el contenido de bifidobacterias y estimulan la secreción de los péptidos GLP-1 y PYY, además de ser el sustrato para la producción de ácidos grasos volátiles que promueven la integridad de la barrera intestinal disminuyendo la inflamación sistémica, específicamente el efecto antioxidante del café se ha asociado con aumento de bifidobacterias tras un consumo de tres tazas al día durante tres semanas, específicamente se le atribuye al ácido clorogénico y la fibra (Tavares da Silva *et al.*, 2013) por lo que que podría asociar nuestros resultados obtenidos para el grupo GFDACU con respecto a la disminución de grasa corporal.

En México, la mortalidad por enfermedad cardiovascular predomina entre las enfermedades crónicas las que hoy, y desde hace varias décadas, se encuentran entre las primeras tres causas de muerte (Chávez *et al.*, 2003). Varios estudios señalan que la mortalidad por enfermedad cardiovascular se ha incrementado en los últimos 30 años y se ha recomendado aumentar 10g al día el consumo de fibra ya que se le ha relacionado con reducir significativamente el riesgo de enfermedades del corazón, por lo que la FDACU puede ser una opción

innovadora para aumentar el consumo de fibra en los mexicanos(Fung *et al.*, 2002). De tal manera que en el presente estudio se obtuvieron resultados de biomarcadores relacionados con este padecimiento. En la Tabla 10 se observan los cambios en los valores bioquímicos al iniciar y finalizar los tratamientos.

Fueron tres las variables que tuvieron relevancia estadística para esta investigación. Tanto colesterol, LDL y el riesgo aterogénico aumentaron en los voluntarios que consumieron GCU y GFDACU, resultando con significancia estadística ($p < 0.05$) en los sujetos con normopeso del grupo GFDACU para el biomarcador de colesterol. Por su parte en cuanto a los triglicéridos se muestra diferencia significativa en el grupo GFDACU entre los sujetos con normopeso (13.61 ± 13.10) y con sobrepeso (-22.9 ± 14.21) mostrando que los sujetos con sobrepeso tuvieron una disminución en este parámetro. Esto se puede explicar con lo descrito por Boekschoten *et al.*, (2004) y Higdon *et al.*, (2006), quienes describen que el aumento de colesterol y LDL puede atribuirse a la presencia de diterpenos tales como cafestol y kahweol que ya han sido reportados con un alto poder hipercolesterolémico en la bebida del café, y su retención en el café usado puede estar directamente relacionado con la preparación de la bebida, es decir, por las variables de temperatura y tipo de filtrado.

Se destaca que pese a presentar aumento en los niveles de colesterol no sobrepasa el límite de referencia normal (200 mg/dL) en ninguno de los grupos. En su caso el LDL permanece en lo establecido como riesgo bajo (menor de 130 mg/dL) al igual que para el riesgo aterogénico considerándose riesgo bajo para valores menores a cuatro.

Tabla 10 Diferencias de las variables bioquímicas en sujetos sometidos a diferentes tratamientos durante 21 días

Valores antropométricos	TRATAMIENTOS					
	GCU		GFDACU		GSF	
	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso
Glucosa (mg/dL)						
<i>Basal</i>	76.16 ± 2.47 ^a	77.70 ± 2.71 ^a	80.71 ± 2.29 ^a	78.33 ± 2.86 ^a	79.00 ± 2.38 ^a	76.13 ± 3.03 ^a
<i>Final</i>	79.58 ± 2.23 ^a	83.70 ± 2.44 ^a	82.85 ± 2.07 ^a	81.56 ± 2.58 ^a	82.23 ± 2.15 ^a	84.00 ± 2.74 ^a
<i>Cambio</i>	3.42 ± 1.93 ^a	6.00 ± 2.12 ^a	2.14 ± 1.79 ^a	3.22 ± 2.23 ^a	3.23 ± 1.86 ^a	7.88 ± 2.37 ^a
<i>Cambio ajustado</i> †	3.56 ± 2.12 ^a	6.18 ± 2.12 ^a	2.49 ± 2.25 ^a	2.90 ± 2.44 ^a	2.81 ± 2.00 ^a	8.24 ± 2.52 ^a
Colesterol Total (mg/dL)						
<i>Basal</i>	184.5 ± 9.16 ^{ab}	193.0 ± 10.03 ^a	172.4 ± 8.48 ^{ab}	187.5 ± 10.5 ^{ab}	165.4 ± 8.80 ^b	179.5 ± 11.2 ^{ab}
<i>Final</i>	191.0 ± 11.6 ^{ab}	195.6 ± 12.7 ^{ab}	197.1 ± 10.81 ^a	201.4 ± 13.48 ^a	164.2 ± 11.2 ^b	175.9 ± 14.3 ^{ab}
<i>Cambio</i>	6.50 ± 8.38 ^{ab}	2.60 ± 9.18 ^{ab}	24.64 ± 7.76 ^a	13.89 ± 9.68 ^{ab}	-1.23 ± 8.06 ^b	-3.63 ± 10.27 ^b
<i>Cambio ajustado</i> †	9.95 ± 9.83 ^{ab}	1.70 ± 9.55 ^b	30.44 ± 10.13 ^a	17.90 ± 10.9 ^{ab}	2.95 ± 9.02 ^b	-3.35 ± 11.35 ^b
Triglicéridos (mg/dL)						
<i>Basal</i>	88.00 ± 11.9 ^{bc}	132.0 ± 13.12 ^a	94.43 ± 11.10 ^{bc}	114.1 ± 13.8 ^{ab}	75.38 ± 11.5 ^c	117.1 ± 14.6 ^{ab}
<i>Final</i>	81.75 ± 17.3 ^{ab}	124.4 ± 19.03 ^a	118.6 ± 16.1 ^{ab}	102.2 ± 20.1 ^{ab}	72.92 ± 16.7 ^b	113.1 ± 21.2 ^{ab}
<i>Cambio</i>	-6.25 ± 11.14 ^b	-7.60 ± 12.2 ^{ab}	24.14 ± 10.32 ^a	-11.8 ± 12.87 ^b	-2.46 ± 10.7 ^{ab}	-4.00 ± 13.6 ^{ab}
<i>Cambio ajustado</i> †	-15.7 ± 12.7 ^{ab}	-7.84 ± 12.3 ^{ab}	13.61 ± 13.10 ^a	-22.9 ± 14.21 ^b	-8.40 ± 11.7 ^{ab}	-13.9 ± 14.7 ^{ab}
HDL (mg/dL)						
<i>Basal</i>	51.17 ± 3.11 ^a	47.80 ± 3.42 ^a	52.71 ± 2.88 ^a	51.33 ± 3.60 ^a	51.23 ± 3.00 ^a	49.50 ± 3.82 ^a
<i>Final</i>	48.08 ± 3.55 ^a	47.00 ± 3.89 ^a	54.00 ± 3.29 ^a	52.00 ± 4.10 ^a	52.00 ± 3.41 ^a	47.38 ± 4.35 ^a
<i>Cambio</i>	-3.08 ± 1.77 ^a	-0.80 ± 1.94 ^a	1.29 ± 1.64 ^a	0.67 ± 2.05 ^a	0.77 ± 1.70 ^a	-2.13 ± 2.17 ^a
<i>Cambio ajustado</i> †	-4.11 ± 2.09 ^a	-0.75 ± 2.03 ^a	-0.35 ± 2.16 ^a	0.04 ± 2.34 ^a	-0.02 ± 1.92 ^a	-2.58 ± 2.42 ^a
LDL (mg/dL)						
<i>Basal</i>	115.7 ± 8.10 ^a	118.8 ± 8.87 ^a	100.8 ± 7.50 ^a	113.4 ± 9.35 ^a	99.08 ± 7.78 ^a	106.5 ± 9.92 ^a
<i>Final</i>	126.5 ± 9.85 ^a	123.7 ± 10.8 ^{ab}	119.4 ± 9.12 ^{ab}	135.7 ± 11.37 ^a	97.57 ± 9.46 ^b	105.9 ± 12.1 ^{ab}
<i>Cambio</i>	10.83 ± 7.69 ^{ab}	4.92 ± 8.42 ^{ab}	18.53 ± 7.12 ^{ab}	22.27 ± 8.87 ^a	-1.51 ± 7.38 ^b	-0.65 ± 9.41 ^{ab}
<i>Cambio ajustado</i> †	17.49 ± 8.83 ^{abc}	4.24 ± 8.6 ^{abc}	28.66 ± 9.09 ^a	28.51 ± 9.86 ^{ab}	4.34 ± 8.10 ^c	2.32 ± 10.2 ^{bc}
VLDL (mg/dL)						

<i>Basal</i>	17.60 ± 2.40 ^{bc}	26.40 ± 2.62 ^a	18.89 ± 2.22 ^{bc}	22.82 ± 2.77 ^{ab}	15.15 ± 2.30 ^c	23.43 ± 2.93 ^{ab}
<i>Final</i>	24.00 ± 4.61 ^a	24.88 ± 5.05 ^a	23.71 ± 4.27 ^a	20.44 ± 5.32 ^a	14.58 ± 4.42 ^a	22.63 ± 5.64 ^a
<i>Cambio</i>	6.40 ± 3.77 ^a	-1.52 ± 4.13 ^a	4.83 ± 3.49 ^a	-2.38 ± 4.35 ^a	-0.60 ± 3.62 ^a	-0.80 ± 4.62 ^a
<i>Cambio ajustado†</i>	3.23 ± 4.40 ^a	-1.74 ± 4.28 ^a	0.60 ± 4.54 ^a	-3.90 ± 4.92 ^a	-2.35 ± 4.04 ^a	-2.85 ± 5.08 ^a
Riesgo aterogénico (CoI/HDL)						
<i>Basal</i>	3.65 ± 0.27 ^{ab}	4.13 ± 0.29 ^a	3.35 ± 0.25 ^b	3.91 ± 0.31 ^{ab}	3.40 ± 0.26 ^{ab}	3.76 ± 0.33 ^{ab}
<i>Final</i>	3.99 ± 0.28 ^{ab}	4.20 ± 0.31 ^a	3.74 ± 0.26 ^{ab}	4.41 ± 0.33 ^a	3.33 ± 0.27 ^b	3.78 ± 0.34 ^{ab}
<i>Cambio</i>	0.34 ± 0.18 ^{ab}	0.07 ± 0.19 ^{ab}	0.39 ± 0.16 ^a	0.51 ± 0.20 ^a	-0.08 ± 0.17 ^b	0.01 ± 0.22 ^{ab}
<i>Cambio ajustado†</i>	0.52 ± 0.20 ^{abc}	0.06 ± 0.19 ^{bc}	0.68 ± 0.20 ^a	0.62 ± 0.22 ^{ab}	0.08 ± 0.18 ^c	0.07 ± 0.23 ^{bc}
Insulina (uUI/mL)						
<i>Basal</i>	6.18 ± 0.88 ^b	10.74 ± 0.97 ^a	7.36 ± 0.82 ^b	8.50 ± 1.02 ^{ab}	6.12 ± 0.85 ^b	7.35 ± 1.08 ^b
<i>Final</i>	6.18 ± 1.25 ^b	13.48 ± 1.37 ^a	6.36 ± 1.16 ^b	8.52 ± 1.44 ^b	6.28 ± 1.20 ^b	9.29 ± 1.54 ^b
<i>Cambio</i>	-1.7 ± 1.04 ^{ab}	2.74 ± 1.14 ^a	-1.00 ± 0.96 ^b	0.02 ± 1.20 ^{ab}	0.16 ± 1.00 ^{ab}	1.94 ± 1.27 ^{ab}
<i>Cambio ajustado†</i>	0.15 ± 1.21 ^a	2.64 ± 1.18 ^a	-0.60 ± 1.25 ^a	0.22 ± 1.35 ^a	0.35 ± 1.11 ^a	2.13 ± 1.40 ^a
R.I.						
<i>Basal</i>	1.16 ± 0.18 ^b	2.04 ± 0.20 ^a	1.47 ± 0.17 ^b	1.65 ± 0.21 ^{ab}	1.19 ± 0.17 ^b	1.38 ± 0.22 ^b
<i>Final</i>	1.21 ± 0.24 ^b	2.75 ± 0.26 ^a	1.30 ± 0.22 ^b	1.73 ± 0.27 ^b	1.26 ± 0.23 ^b	1.92 ± 0.30 ^b
<i>Cambio</i>	0.05 ± 0.21 ^{bc}	0.71 ± 0.23 ^a	-0.17 ± 0.20 ^c	0.08 ± 0.24 ^{abc}	0.07 ± 0.20 ^{bc}	0.54 ± 0.26 ^{ab}
<i>Cambio ajustado†</i>	0.08 ± 0.24 ^{ab}	0.69 ± 0.24 ^a	-0.10 ± 0.25 ^b	0.10 ± 0.27 ^{ab}	0.10 ± 0.22 ^{ab}	0.57 ± 0.28 ^{ab}
F.C. β						
<i>Basal</i>	539.2 ± 172.7 ^a	397.3 ± 189.2 ^a	214.6 ± 159.9 ^a	592.4 ± 199.5 ^a	149.4 ± 166 ^a	111.4 ± 211.6 ^a
<i>Final</i>	147.4 ± 114.3 ^b	511.3 ± 125.2 ^a	139.7 ± 105.8 ^b	185.1 ± 132 ^{ab}	144.0 ± 109 ^b	167.3 ± 140 ^{ab}
<i>Cambio</i>	-391 ± 208.4 ^a	114.0 ± 228.3 ^a	-74.8 ± 192.93 ^a	-407 ± 240.6 ^a	-5.47 ± 200.2 ^a	55.85 ± 255.2 ^a
<i>Cambio ajustado†</i>	-509 ± 240.3 ^a	93.97 ± 233.4 ^a	-141 ± 247.50 ^a	-477 ± 268.4 ^a	-52.9 ± 220.4 ^a	-15.8 ± 277.3 ^a

Los datos presentados como aumento o disminución (-) comparando los valores finales vs los basales. GCU, galleta con café usado; GFDACU, galleta con fibra dietaria antioxidante de café usado y GSF, galleta sin fibra añadida. Letras diferentes por renglón expresan diferencias significativas $\alpha \leq 0.05$ en la t-Student de acuerdo al tratamiento e índice de masa corporal.

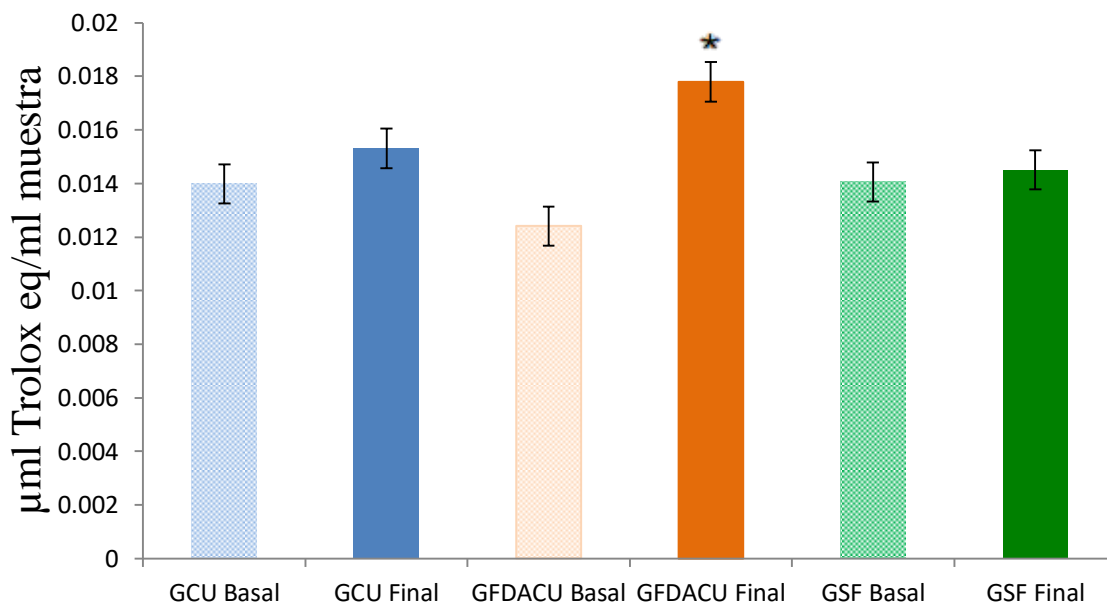
Al analizar los cambios en variables bioquímicas que fueron dependientes del índice de masa corporal de los sujetos (sobrepeso/normopeso) (Tabla 10), se observó que la diferencia significativa de estos parámetros alterados únicamente fue en los sujetos con normopeso donde se incrementó el LDL y riesgo aterogénico del grupo GFDACU comparados con GSF. Estos resultados se asemejan a lo ya reportado por Correa *et al.*, (2013) donde se ve un aumento significativo de colesterol total y LDL después de la ingesta de la bebida de café filtrado donde el colesterol aumenta 0.46 mmol/L para la bebida filtrada y 0.59 mmol/L para la bebida sin filtrar como un efecto crónico. Por su parte, Rendón *et al.*, (2017) muestran que los valores de cafestol (mg/10g café tostado) en el café usado son de 86.75% y de kahweol (mg/10g café tostado) de 88.83%, por lo que se infiere que sea el principal factor que influya en el perfil lipídico de los voluntarios presentados en este trabajo.

Es importante mencionar que en los parámetros bioquímicos con significancia estadística se destacan las diferencias en los ingredientes de la formulación para cada galleta donde una de las principales que podría estar interviniendo es el contenido de fibra total y almidón resistente al igual que la adición de la maltodextrina que contiene la GFDACU ya que según lo reportado por Guerin-Deremaux *et al.*, donde realizaron un estudio clínico controlado, doble ciego y aleatorizado con placebo para determinar el efecto saciante a corto plazo de diferentes dosis dextrina de trigo durante 21 días. Tras la evaluación reportan mejoras significativas en la saciedad y liberación de insulina postprandial. Por lo que se propone que los 5g/día de FDACU más su asociación con la maltodextrina ha alcanzado un efecto benéfico en el metabolismo de carbohidratos, pero aún se necesita trabajar en los ingredientes que podrían estar alterando el metabolismo de lípidos tales como el aceite utilizado y los diterpenos contenidos en la FDACU.

VII.3.2. Efecto de los tratamientos sobre la capacidad antioxidante plasmática.

A pesar de que la capacidad antioxidante de las galletas no presentó diferencias significativas, la capacidad antioxidante en plasma de los sujetos que

consumieron la GFDACU (5 g fibra/día, 21 días) mostró un incremento significativo ($p < 0.05$) al final de la intervención, siendo superior con respecto a la GSF (Figura 11). Lo anterior sugiere la influencia de la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos bioactivos, específicamente antioxidantes, presentes en la FDACU, que no puede ser determinada *in vitro* empleando métodos antioxidantes estándar. Reverri *et al.*, (2015) han reportado incrementos de la capacidad antioxidante del plasma por ingesta diaria de fibra dietaria antioxidante de frijol negro registrándose incrementos mayores a los generados por fibra y antioxidantes comerciales en sinergia. Los resultados sugieren la relevancia de la digestión sobre la bioaccesibilidad y biodisponibilidad de los compuestos antioxidantes; así como, de la matriz alimentaria y las interacciones químicas con otros fitoquímicos y/o biomoléculas. Por lo tanto, los compuestos bioactivos del CU, como los antioxidantes reportados previamente (Hernández-Arriaga *et al.*, 2017) se conservan en la FDACU y en la formulación de la galleta. No se encontraron diferencias significativas en la respuesta de la capacidad antioxidante en plasma de los voluntarios dependiente de su IMC (sobrepeso/obesidad).



Nivel	Nivel	Media	Diferencia	Error Est.	p-Value
GFDACU	GSF	0.015	0.003	0.001	0.0065*
GFDACU	GCU	0.018	0.002	0.001	0.0361*
GCU	GSF	0.015	0.000	0.001	0.5129

Figura 11 Cambios en la capacidad antioxidante en plasma por el método ORAC.

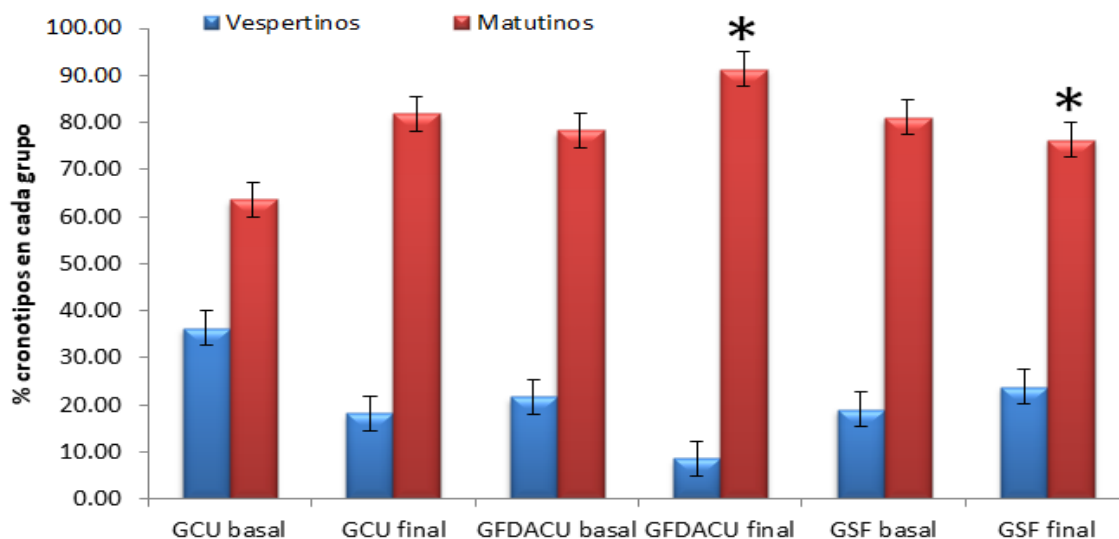
Cambios de la capacidad antioxidante en plasma (ORAC) por grupo, después de 21 días de intervención. Cada muestra de plasma fue analizada por triplicado. Se muestran los promedios de los valores basales y finales de cada grupo. GCU, galleta con café usado. GFDACU, galleta con fibra dietaria antioxidante de café usado y GSF, galleta sin fibra añadida. *Significancia estadística $p < 0.05$ (T-Student) de la diferencia entre valores finales y basales por tipo de galletas consumidas.

Se demuestra el efecto de los 5g/día de CU para observar el efecto mostrado en la Figura 11 para el aumento en la capacidad antioxidante del plasma que principalmente se apuesta a lo reportado por López-Barrera *et al.*, (2016) donde muestran el poder de los antioxidantes generados durante la fermentación por la microbiota intestinal del CU que se muestran bioaccesibles.

VII.3.3. Efecto de los tratamientos sobre la actividad locomotora circadiana.

Cronotipos

Se reconoce la relación íntima y recíproca entre los ritmos circadianos y las vías metabólicas. Esta interacción confiere características únicas a la expresión de la ritmicidad circadiana de cada tejido y órgano. Por lo que ciertos hábitos cobran relevancia para priorizar que no se afecte a dicha interacción tales como ejercicio, sueño, horarios laborales, horarios de alimentación, entre otros. En la Figura 12 se muestran los resultados del test Horne & Östberg utilizado para conocer el cronotipo de los sujetos, es decir, sus preferencias para la realización de sus actividades. Al finalizar el tratamiento el grupo que consumió la GFDACU incrementó significativamente el número de sujetos con cronotipos matutinos. Esta tendencia se presentó también en el grupo GCU, sin ser estadísticamente significativa. En el grupo GSF la tendencia apunta a incrementar los cronotipos vespertinos al finalizar el tratamiento, lo cual según reporte de Lara *et al.*, (2014) y Corbalan-Tutau *et al.*, (2015) podría afectar directamente la salud cognitiva y metabólica.



t Test	GCU	GFDACU	GSF
Media	45.46	69.30	57.20
Desv Est.	25.71	18.80	6.78
Prob > t	0.24	0.02*	0.05
Prob > t	0.12	0.06	0.02*
Prob < t	0.87	0.93	0.97

Figura 12 Cambios en el cronotipo biológico (Horne-Östberg) por grupo después de 21 días de intervención.

Se muestran los promedios, expresados en porcentajes de los valores basales y finales de cada grupo. *Significancia estadística $p < 0.05$ (t Test).

En humanos se ha comprobado que al modificar el patrón alimentario, tanto en el horario de las comidas como en su composición, se modifican los ritmos circadianos del organismo, principalmente debido a sus cronotipos. Se llevó a cabo un experimento en el cual los individuos se alimentaron de tres comidas al día ricas en carbohidratos. El consumo por la mañana aumentó la temperatura corporal y el ritmo cardíaco, en comparación con el consumo por la noche (Krauchi et al., 2002). Por otra parte, la composición de la dieta modifica el ritmo circadiano, mostrando que la mezcla de macronutrientes, o una dieta mixta, es necesaria para el procesamiento del alimento en el hígado. El ritmo de este órgano se ve alterado por la glucosa procedente de la dieta (Hirao et al., 2009). Por lo que se destaca que el grupo GSF es el único que lleva un edulcorante calórico en la formulación de la galleta siendo un carbohidrato simple que puede interactuar con el ritmo metabólico y su implicación en los cronotipos. Por su parte, las GCU y GFDACU

no contienen azúcar simple en su formulación una lleva FOS y otra maltodextrina, respectivamente. Siendo los FOS un carbohidrato indigestible y la maltodextrina un carbohidrato complejo pero digestible que puede estar determinando un mejor funcionamiento en la ritmicidad metabólica de los sujetos estudiados y verse reflejada en los cronotipos.

Actividad física

En la Figura 13 se muestran los resultados obtenidos para el cuestionario Internacional de actividad física (IPAQ), en donde al inicio de la intervención la población de todos los grupos presenta una alta prevalencia (>50%) de actividad física baja, que concuerda con cifras estimadas en la ENSANUT (2012). Corbalan-Tutau *et al.*, (2015) reportan que la baja actividad física propicia cronodisrupción en los individuos generando así aumento en la tasa de enfermedades crónico-degenerativas. Al final de la intervención el número de sujetos con actividad física baja disminuyó en un 17% en el grupo GFDACU, con un incremento significativo del número de sujetos con actividad física alta. El grupo que consumió GCU muestra una disminución significativa del número de sujetos con actividad física baja (14%), lo que favoreció el incremento de la actividad física moderada y alta. Mientras que, los sujetos que consumieron la GSF disminuyeron un 14% y 5% actividad física baja y alta respectivamente, ubicándose la mayor parte de los sujetos (>50%) en la actividad física moderada. Esto podría deberse al incremento del cronotipo matutino que ha reportado mejores alcances en la organización social de los sujetos, permitiendo mejores tiempos de comida, realización de actividad física y mejora del sueño (Madrid, 2006).

Los resultados presentados para la actividad física se consideran positivos para la salud de acuerdo a las corrientes epidemiológicas actuales sobre la evolución de las tasas de sobrepeso y obesidad, donde se indica que una causa importante del problema subyace en modelos dietéticos, cronodisrupción y actividad física inadecuados (Aza, 2015). Por lo que se destaca hoy en día, el estudio de la interacción entre factores endógenos como la genética y exógenos como la dieta, la actividad física y el estilo de vida (Corella, 2008)

La OMS (2015) sugiere que uno de los factores de riesgo más importantes para el desarrollo de la enfermedades crónicas no transmisibles es la inactividad física. Los cambios presentados como elevación de actividad física nos refiere a una mejoría en el estilo de vida. A este respecto, diversos estudios indican que, en los últimos años, está aumentando las horas dedicadas a comportamientos sedentarios entre la población (Buliung *et al.*, 2009; Overby *et al.*, 2013), habiéndose encontrado, además, una asociación inversa entre las conductas sedentarias y los patrones de alimentación saludables como la adherencia a la dieta mediterránea, el mayor consumo de frutas, verduras, cereales y leguminosas, y una asociación directa con el consumo de alimentos de alta densidad energética. Por lo que el incremento en el consumo de fibra dietaria está íntimamente relacionado con actividades físicas moderadas (Pearson *et al.*, 2011; Perea *et al.*, 2012; Arriscado *et al.*, 2014 y Borhese *et al.*, 2014).

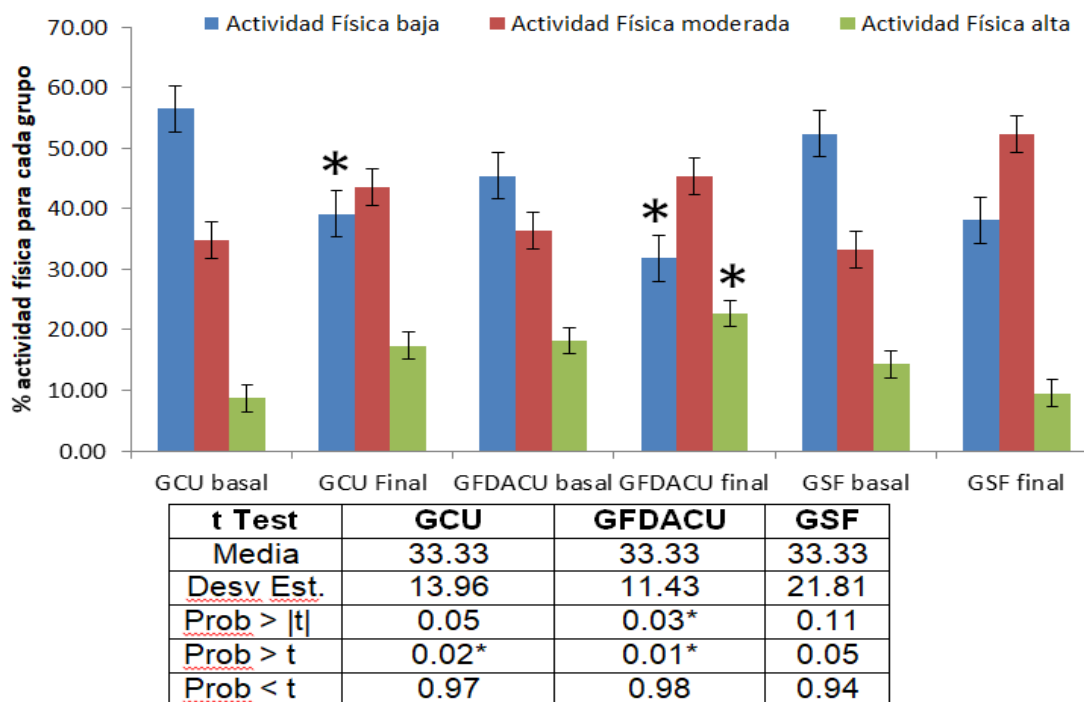


Figura 13 Cambios en la actividad física por grupo después de 21 días de intervención.

Se muestran los promedio, expresados en porcentajes de los valores basales y finales de cada grupo. *Significancia estadística $p < 0.05$ (t Test).

Calidad del sueño

Aunado a los datos anteriores, los resultados de la calidad de sueño indican que al inicio del estudio los tres grupos presentaban mala calidad de sueño (Figura 14). Sin embargo, al concluir la intervención, el grupo que consumió la GFDACU muestra un aumento significativo en su calidad de sueño. Esta tendencia se observó en los sujetos del grupo GCU, aunque sin diferencia estadística con los datos basales. En el grupo que consumió la GSF prevaleció una mala calidad de sueño al final del estudio. Esto es relevante debido a que la evidencia muestra que la mala calidad de sueño se asocia con cronotipos vespertinos que a su vez se relaciona con bajo rendimiento académico, hábitos dietarios pocos saludables y presenta un mayor riesgo de desarrollar alteraciones metabólicas como sobrepeso y obesidad (Miller *et al.*, 2015). Existe evidencia respecto a la asociación entre reducidas horas de sueño y el desarrollo de obesidad, hipertensión, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Guo *et al.*, 2013).

Actualmente, el sobrepeso y la obesidad constituyen una epidemia a nivel mundial y por lo tanto un problema de salud pública. México al igual que otros países latinoamericanos ha atravesado por una transición nutricional generando cambios en la alimentación y estilos de vida. Si bien diferentes trabajos han estudiado la relación entre horas de sueño y enfermedades metabólicas, la asociación con el cronotipo y la ingesta de fibra dietaria antioxidante no ha sido desarrollada.

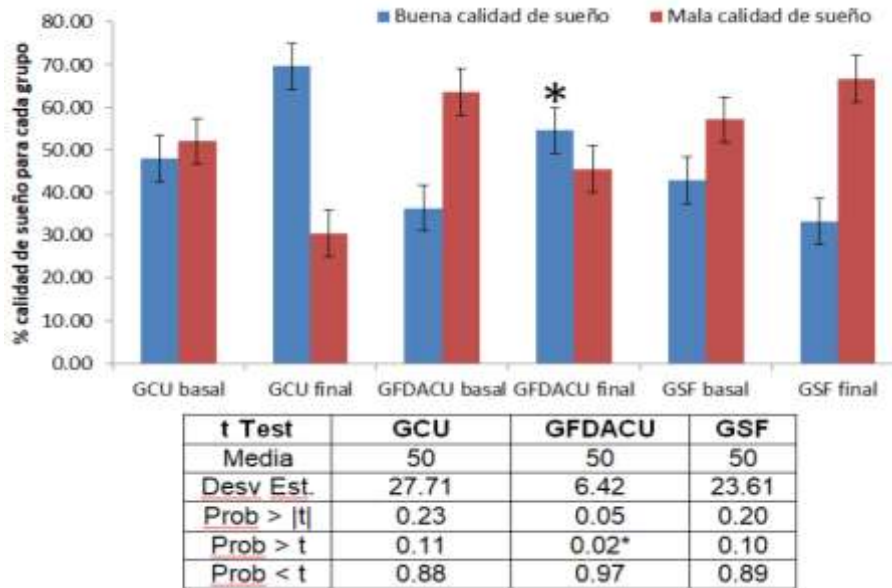


Figura 14 Cambios en la calidad de sueño por grupo después de 21 días de intervención. Se muestran los promedios, expresados en porcentajes de los valores basales y finales de cada grupo. *Significancia estadística $p < 0.05$ (t Test).

Los resultados presentados en la Figura 14 concuerdan con otros estudios relacionados, donde aspectos de la regulación de los ritmos circadianos como cantidad y calidad del sueño o el cronotipo se asocian al desarrollo de enfermedades metabólicas debido a que podrían alterar funciones cerebrales involucradas en el control del apetito, lo que generaría aumento de la ingesta energética (Roenneberg *et al.*, 2007; Miller *et al.*, 2015; Dashti *et al.*, 2015).

Corbalan-Tutau *et al.*, (2015) sugieren que los factores previamente analizados (cronotipo, actividad física y calidad de sueño) pueden repercutir directamente en la antropometría de los sujetos y por lo tanto en su salud. En este contexto, se realizó una correlación estadística del cronotipo con diversas variables antropométricas, bioquímicas y de calidad del sueño (Figura 15).

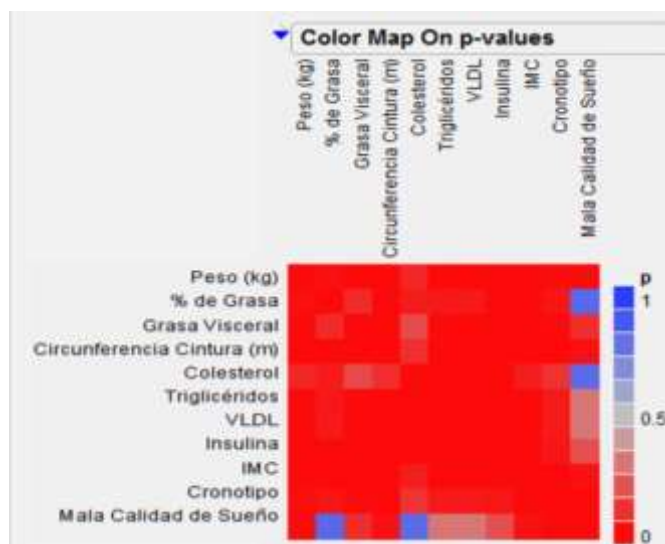


Figura 15 Relación del cronotipo con variables antropométricas y bioquímicas

Como lo esperábamos, los sujetos con cronotipos vespertinos presentaron parámetros bioquímicos y antropométricos alterados, entre los que destacan el peso, la grasa corporal y el colesterol, así como una alta prevalencia de mala calidad del sueño. Parámetros que se aminoraron al finalizar el tratamiento con la GFDACU y en menor proporción con la GCU.

De esta manera se destaca el efecto del consumo de 5g/día de FDACU en las galletas destacando que las dos galletas adicionales con fibra (GCU y GFDACU) no presentaban azúcar simple en su formulación la cual está relacionada con alteraciones en parámetros bioquímicos y antropométricos previamente relacionados al cronotipo vespertino.

Este estudio muestra por primera vez una asociación entre cronotipo y medidas antropométricas, donde se observa que el cronotipo vespertino se relaciona a mayor circunferencia de cintura y mayor porcentaje de grasa. Se ha descrito que el ser vespertino se relaciona con menos restricción en la dieta, hábitos dietarios no saludables y mayor IMC (Schubert *et al.*, 2008; Sato-Mito *et al.*, 2011). Adicionalmente, en relación a la edad, género y estatus socioeconómico no encontramos asociación con el cronotipo; sin embargo, los antecedentes muestran que los puntajes del cuestionario Horne-Östberg aumentan a medida

que la edad es más avanzada (Paine *et al.*, 2006; Yu *et al.*, 2015), lo que indicaría que en poblaciones jóvenes como las estudiadas en el presente trabajo, predomina el cronotipo vespertino y en las poblaciones más adultas el matutino.

Se considera que el cronotipo intermedio actúa como un factor protector. En nuestros resultados se muestra que este cronotipo es el más abundante en los voluntarios, hallazgos que se relacionan con otros estudios realizados en estudiantes universitarios de diferentes poblaciones del mundo y confirma que es el cronotipo más frecuente en la mayor parte de la población (Lima *et al.*, 2009; Bahammam *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2011). Este cronotipo se asocia a buena adaptación a los diferentes horarios en los estilos de vida. Por su parte, el cronotipo matutino se considera el mejor con respecto a salud debido a que presenta su mejor rendimiento en las primeras horas del día y en diversos estudios se ha relacionado con mejor rendimiento estudiantil y laboral respecto de los otros cronotipos (Beşoluk *et al.*, 2011).

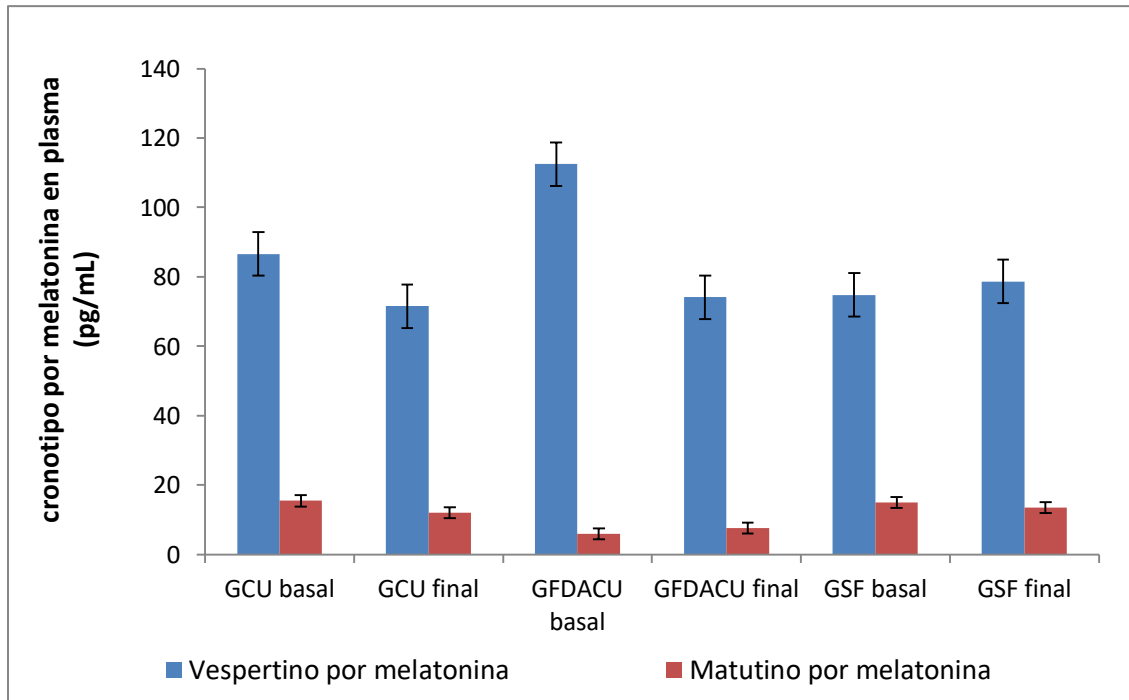
VII.3.2.1. Determinación de melatonina en plasma

Se reconoce que la síntesis de melatonina incrementa por la ingesta de triptófano por vía oral y vitamina B6, coenzima del triptófano. Por lo que se plantea la ingestión de alimentos con alto contenido de este aminoácido o la adición a ciertos alimentos como productos de panificación que actualmente se conocen pocos estudios como el realizado por Matito SM, (2015) donde muestra el efecto de la ingesta de cereales enriquecidos con triptófano sobre el sueño, melatonina, serotonina, cortisol y estado antioxidante en personas. La melatonina es liposoluble y es liberada por la glándula pinal que se encuentra por fuera de la barrera hematoencefálica, distribuyéndose rápidamente a nivel del líquido cefalorraquídeo y el torrente sanguíneo, evidenciándose una concentración mayor a nivel sistémico. Presenta una vida media de 30 a 45 minutos y es inactivada convirtiéndose en 6-hidroximelatonina (Lyford-Pike *et al.*, 2014).

El patrón de melatonina plasmática presenta valores bajos durante el día, mientras que por la noche alcanza valores elevados, con un máximo durante la madrugada (entre las 02:00 y las 04:00 h). Su perfil se ve afectado por la luz, por

la actividad, la cafeína, y fármacos como algunos antiinflamatorios y beta bloqueantes. El ritmo de secreción de melatonina determina la fase de otros ritmos como es el caso del ritmo de temperatura corporal y, por tanto, el de alerta y el de sueño-vigilia. Se puede medir el perfil de melatonina en sangre, plasma, saliva y en orina. En el presente trabajo se cuantificó melatonina en plasma obtenida de los voluntarios al inicio y final del tratamiento; se tomaron las muestras a las 09:00 h que ya ha sido descrita por Morero-Fumero *et al.*, (2013) como representativa para hacer correlación con los valores de cronotipo obtenidas por los cuestionarios y sensores utilizados para medir el ritmo locomotor circadiano. Los resultados de los valores de melatonina en plasma de los voluntarios se muestran en la Figura 16 donde se aprecian cambios significativos al finalizar la intervención en el grupo que consumió la GFDACU, disminuyendo los valores de melatonina en plasma en los sujetos vespertinos contribuyendo de esta forma al incremento de sujetos matutinos. Esto concuerda además con los resultados obtenidos con el cuestionario de Horne-Östberg, confirmando el efecto de la GFACU sobre la modulación del cronotipo. No se presentaron efectos significativos en el grupo GCU y GSF por lo que se sugiere que la dosis de fibra de CU sea más alta para la GCU parecida a la dosis de 5g/día de la GFDACU.

A.



B.

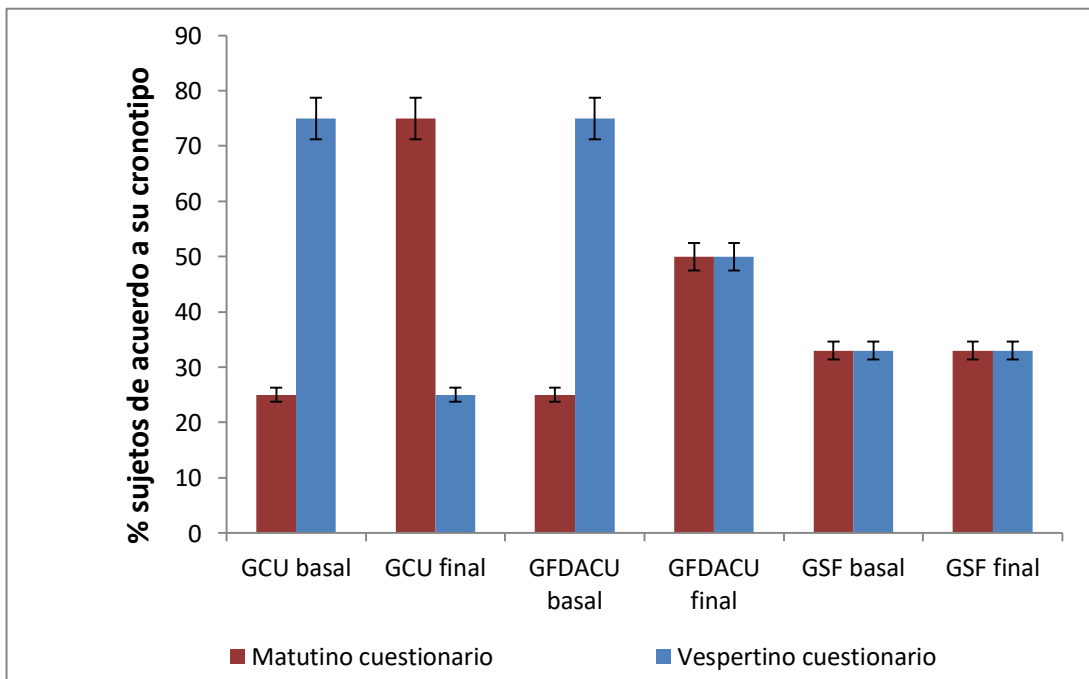


Figura 16 Comparación de niveles de melatonina en plasma medido a las 09:00 h por cronotipo (A) en relación a los datos de cronotipo del cuestionario Horne-Östberg (B).

Los resultados son el promedio de 2 experimentos independientes \pm Desv. Est. y se expresan como muestra de melatonina pg/mL y porcentaje de voluntarios para cada cronotipo de acuerdo a cuestionario de Horne-Östberg.

En especies diurnas, la melatonina promueve la vasodilatación periférica aumentando la temperatura de la piel distal para enfriar el cuerpo y reducir la temperatura corporal central, con lo cual se aumenta la somnolencia, favoreciendo el inicio del sueño. Sin embargo, en especies nocturnas sucede exactamente lo contrario, promueve el aumento de la temperatura del cuerpo, aumenta la alerta y favorece el despertar (Martínez *et al.*, 2015) lo cual coincide con lo previamente reportado para los cronotipos de los sujetos por tratamiento donde se observa mejorías en la calidad de sueño y actividad física del tratamiento GFDACU. De manera importante, se observa que la mayor relación entre cuestionarios y cuantificación de melatonina para la obtención de cronotipo está en los grupos GFDACU y GSF. El grupo que mayor diferencia tuvo entre el valor de cuestionarios y melatonina fue GCU, por lo que la determinación del cronotipo necesita mayores atribuciones que pueden estar dadas por la cantidad de CU utilizado en su elaboración por lo que se propone el incremento a 5g/día como la formulación de GFDACU para la comparación de resultados.

Los resultados en la cuantificación de melatonina coinciden con lo reportado por Bravo *et al.*, (2013), en la intervención con un cereal enriquecido con triptófano consumido por 3 semanas demostrando un aumento en la eficiencia del sueño, el tiempo de sueño y latencia del sueño de acuerdo a la disminución de melatonina medida en orina. Por lo que el tratamiento GFDACU que muestra una disminución en la melatonina a las 09:00h puede estar íntimamente relacionado con mejoras en la calidad de sueño que se reflejan en los cuestionarios previamente analizados (Figura 14). El horario de secreción de la melatonina está estrechamente relacionado con la propensión a dormir y coincide con una caída en la temperatura corporal central, con el grado de excitación y actividad física (Escobar *et al.*, 2013).

Estudios epidemiológicos muestran que un cronotipo vespertino como el que se presenta en mayor porcentaje al inicio de los tratamientos en GCU y

GFDACU, está asociado con la obesidad, hipertrigliceridemia, bajos valores de HDL, obesidad abdominal, diabetes y enfermedad cardiovascular (Karlsson *et al.*, 2001). Además, se observan en los cronotipos vespertinos dados por la cuantificación de melatonina un aumento de glucosa, insulina y triglicéridos como respuesta metabólica postprandial que deriva en una disrupción de la ritmicidad circadiana de los perfiles de melatonina (Lund *et al.*, 2001) por lo que los datos que obtuvimos de manera basal se relacionaban con una disrupción del perfil de melatonina que en el tratamiento GFDACU se mejoró de manera significativa.

VII.3.2.2. Patrones diarios de las variables registradas

A continuación se representan las ondas medias de temperatura, actividad, posición, sueño, exposición a la luz y las variables integradas TAP de todos los individuos, atendiendo al grupo de galleta que consumieron.

El ritmo de temperatura de la piel está asociado al balance simpático-parasimpático, de tal forma que la predominancia de la actividad simpática durante el día se asocia a menores temperaturas, mientras que su inhibición y la activación simultánea de la rama parasimpática se asocia con mayores temperaturas. Es más, el aumento de la temperatura de la piel constituye una señal que favorece el inicio del sueño nocturno mediante la estimulación de áreas hipotalámicas (Martínez-Nicolás *et al.*, 2015).

En torno a lo anterior se presentan las Figuras 17 y 18 para el patrón de temperatura de acuerdo al tratamiento de manera basal y final, respectivamente. Para su interpretación de acuerdo a normalidad de ritmos se consideran los valores elevados como periodos de sueño o somnolencia, que disminuyen al despertar, se mantienen temperaturas bajas durante todo el día, a excepción de la elevación postprandial en torno a las 16:00 h, después de lo cual empieza a bajar de nuevo hasta alcanzar el mínimo en la zona de mantenimiento de la vigilia (alrededor de las 20:00 h) (Carrión *et al.*, 2013).

En los datos basales (Figura 17) se observa una cronodisrupción en la temperatura periférica de los voluntarios. Los sujetos de los grupos GCU y GSF muestran características parecidas, donde se destaca su máxima temperatura en

los periodos comprendidos de 06:00-12:00, que estaría generado por un desfase del sueño. Por su parte los sujetos del grupo GFDACU muestran un abrupto incremento de su temperatura a partir de las 17:00 lo que se interpreta como somnolencia y bajo desempeño de actividades.

El dato más concluyente para determinar la cronodisrupción basal de los voluntarios es que no alcanzan temperaturas mayores a los 34°C por la noche, y sin embargo presentan temperaturas altas durante el día que está estrechamente vinculado a los cronotipos vespertinos (Madrid, 2006).

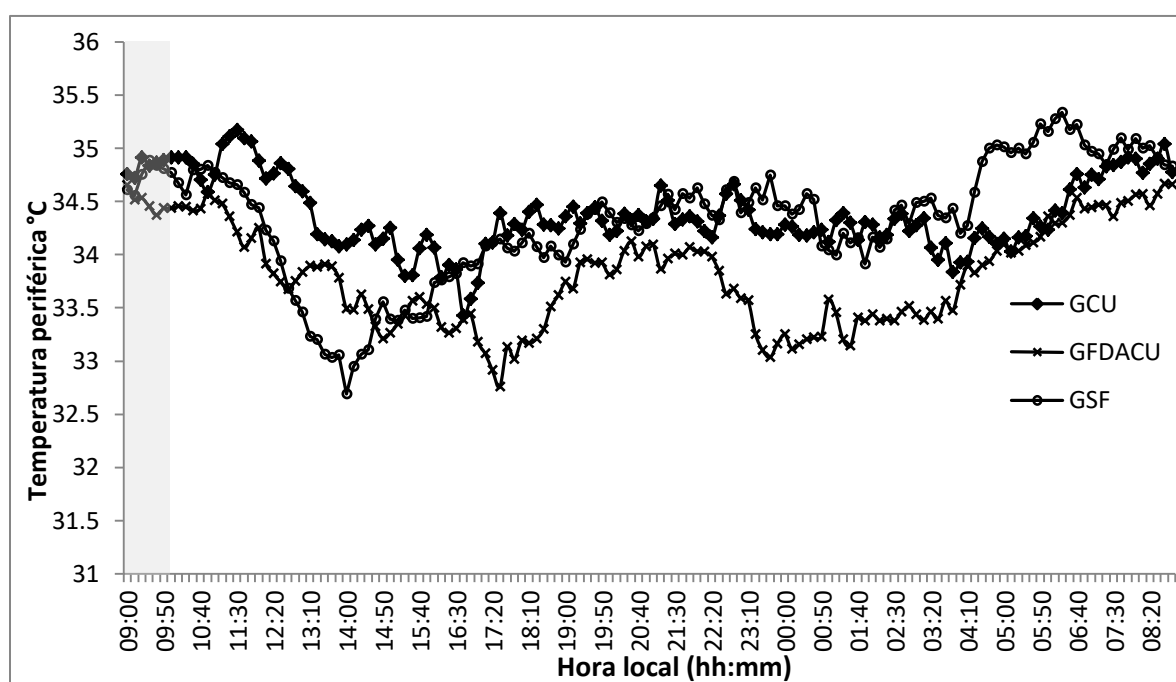


Figura 17 Onda media de temperatura periférica basales por grupo de galleta

Se destaca con sombra gris el período de hora donde se realizó la toma de muestra de melatonina. Donde se puede apreciar que para los grupos GCU y GSF la temperatura empezó a disminuir poco después de la toma de muestra es decir, el periodo de somnolencia en estos grupos estaría desfasado denotando un cronotipo vespertino lo cual coincide con datos publicados por (Henry-Benítez *et al.*, 2013) donde muestran resultados en la comparación de los niveles de melatonina en cada hora del estudio y asocian el cronotipo vespertino con niveles séricos de melatonina significativamente más altos a las 09:00h.

Tabla 11 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de temperatura periférica en los tratamientos

Nivel	Media	Error Est.	p-Value
GCU	4.47	0.13	0.00*
GFDACU	5.64	0.11	0.04*
GSF	1.10	0.07	0.00*

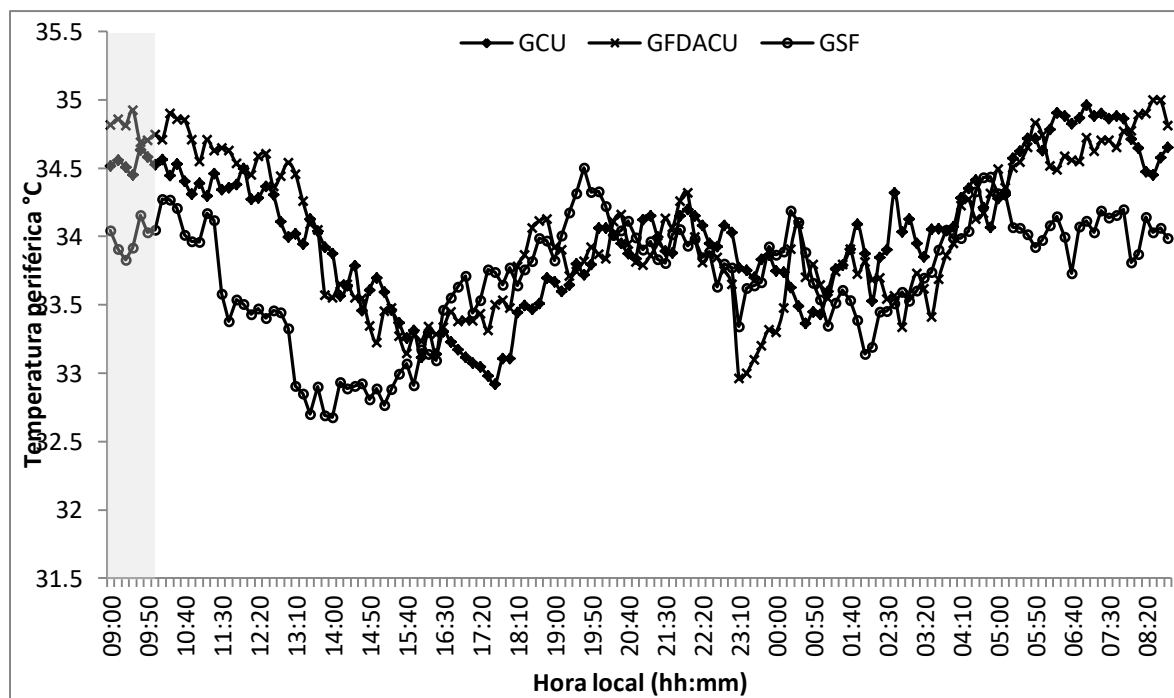


Figura 18 Onda media de temperatura periférica finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención

En la Figura 18 se presentan los valores finales en la temperatura periférica por grupo de tratamiento, donde se destacan diversos cambios significativos (Tabla 13). Se destaca mejoría en la ritmicidad en los tres tratamientos. De manera particular los sujetos en los grupos GCU y GFDACU muestran tendencias similares, con temperaturas máximas entre las 04:00-11:00 con un marcado descenso en las principales horas de actividad del día. De manera contraria, en el grupo GSF se nota una diferencia significativa al no alcanzar ascensos en su temperatura que esta asociado a un cronotipo vespertino.

Corbalán-Tutau *et al.*, (2011) describió en 20 mujeres de peso normal y 50 mujeres obesas la temperatura durante un período de 3 días. Las mujeres obesas mostraron una temperatura significativamente menor ($34.1^{\circ}\text{C} \pm 0.3^{\circ}\text{C}$) con un

patrón de 24h más aplanado, un ritmo de menor calidad y una mayor variabilidad intradía muy parecido al obtenido en el presente trabajo para la GSF.

Se observa que la onda media de temperatura en los grupos GCU y GFDACU se asemeja a la obtenida por Sarabia *et al.*, (2008) para una población sana. En dicho perfil, aparece un aumento de la temperatura momentos antes de la fase de descanso, manteniéndose elevada hasta poco antes del despertar y cayendo posteriormente. Sin embargo el grupo GSF muestra una disminución anticipada en el tiempo que en la Figura 18 se observa alrededor de las 05:00h, lo cual está relacionado con el aumento de la actividad nocturna y la cronodisrupción (Sarabia *et al.*, 2008).

De manera importante, se destacan los cambios representados en la hora de las tomas de muestra para melatonina, donde comparado con los valores basales se muestra una mejoría en la ritmicidad para los valores finales en los tres grupos. Donde se observa un descenso en la temperatura a partir de las 09:00 h que representa los datos obtenidos para la cuantificación de melatonina (Henry-Benítez *et al.*, 2013).

El patrón de actividad-reposo está asociado al ciclo sueño-vigilia, lo que le otorga su popularidad, pero se relaciona también con salud tanto física como mental y con la maduración y envejecimiento del sistema circadiano. Así, cuando el individuo está despierto los valores de actividad son más elevados que durante el descanso (Martínez-Nicolás *et al.*, 2015).

En la Figura 19 podemos ver los datos correspondientes a la onda media de la actividad motora para los datos basales, con valores elevados durante el día y mínimos por la noche que, mayoritariamente, coinciden con los episodios de sueño declarado por los sujetos (ver Figura 23). Se observa un comportamiento parecido para los tres grupos y se destaca un claro retraso de fase en el grupo GCU, ya que marca un descenso de la actividad significativamente más retardado (03:20 h) en comparación de los otros grupos y que muestra una menor actividad motora durante el día.

Tabla 12 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de actividad motora en los tratamientos

Nivel	Media	Error Est.	p-Value
GCU	4903.4	0.08	<.00*
GFDACU	4003.6	0.08	<.00*
GSF	2312.8	0.07	0.59

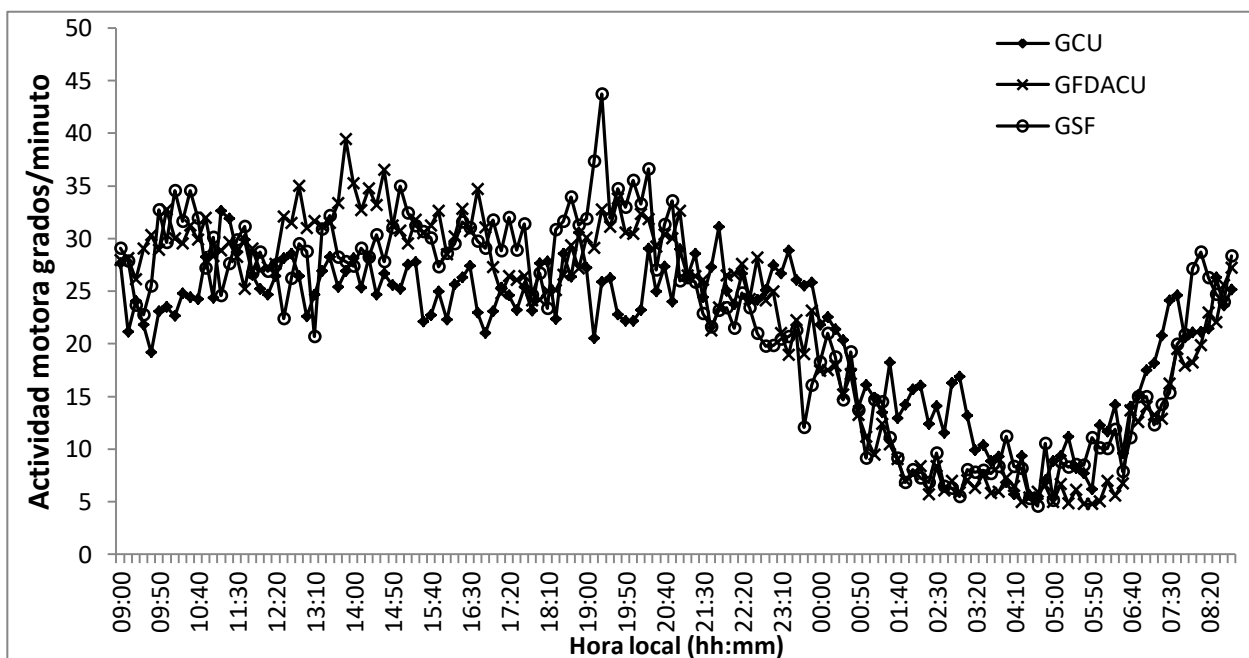


Figura 19 Onda media de actividad basal por grupo de galleta

Se presentaron cambios significativos en los valores finales en los grupos GCU y GFDACU de la actividad motora (Figura 20), donde se destaca que el grupo GCU incrementó de forma considerable su actividad durante el día. Estos dos grupos tienen un adecuado descenso de la actividad a partir de las 20:40 h, comparado con el grupo GSF en donde se observa un descenso abrupto a las 22:10 h; en referencia a este mismo grupo se denota que es en donde se presentó menor actividad durante el día. Estos datos coinciden con los presentados por Ortíz-Tudela *et al.*, (2010) que muestra un registro individual representativo de un sujeto normal donde la actividad motora muestra valores más altos durante el día y valores más bajos durante la noche que se asocia a periodos de descanso.

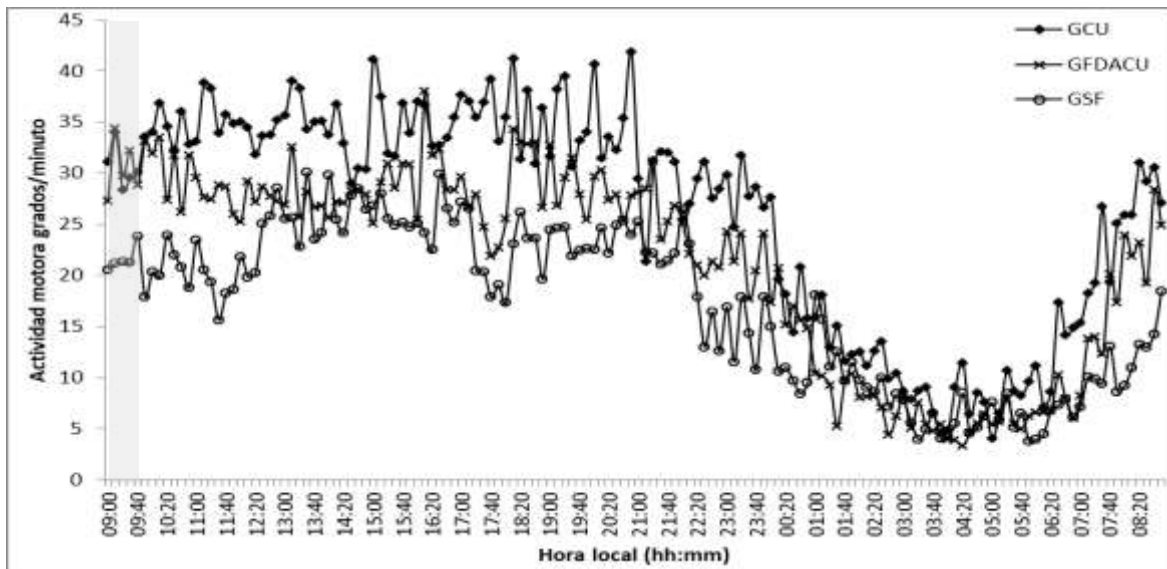


Figura 20 Onda media de actividad motora finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención

En la Figura 20 se destaca el horario de la toma de muestras para melatonina donde se observa que el grupo GSF alcanza menor grado de actividad motora en este umbral comparado con los grupos GFDACU y GCU, lo cual, indicaría un desfase en su aumento de actividad que denota somnolencia en las primeras horas del día y se asocia a cronotipos vespertinos (Henry-Benítez *et al.*, 2013).

El ritmo de posición corporal se ha representado gráficamente en la Figura 21. Como puede apreciarse la posición del cuerpo alcanza valores cercanos a los cero grados cuando el individuo está en posición horizontal (fundamentalmente durante la noche) y cercanos a noventa grados cuando se encuentra en posición vertical (Ortíz-Tudela *et al.*, 2010). Los grupos GFDACU y GSF presentan posiciones más altas que los sujetos del grupo GCU a primera hora de la mañana, mientras que por la noche los tres grupos muestran posiciones más horizontales. Sin embargo se muestra que los grupos GFDACU y GSF tienden a descender una hora antes que los GCU.

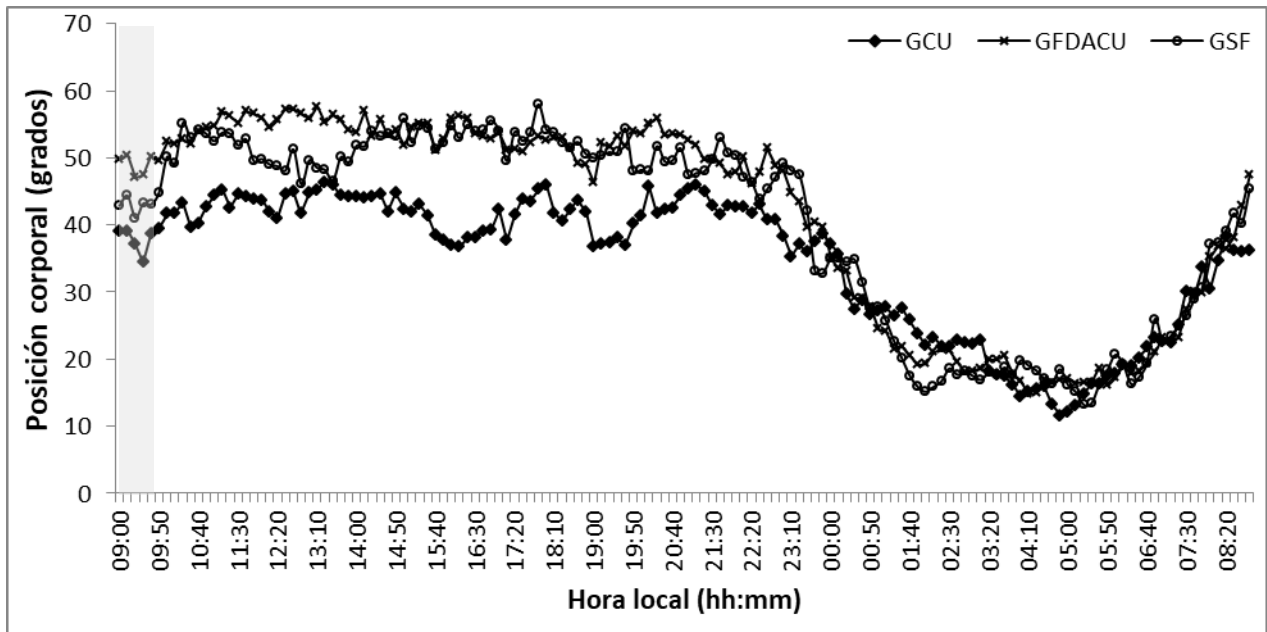


Figura 21 Onda media de posición basal por grupo de galleta

Se marca el período de las 09:00 h para la comparación de la toma de muestra de melatonina. Se observa que los tres grupos elevan sus grados de posición en este período sin embargo el grupo GCU muestra una ligera menor elevación. Estos resultados se comparan con los descritos por Ortíz-Tudela *et al.*, (2010) donde la posición del cuerpo alcanza valores cercanos a 0°, principalmente en la noche, cuando se reporta el descanso de los sujetos. Sin embargo, Ortíz-Tudela *et al.*, (2010) reporta valores cercanos a 90° para indicar actividades altas en los sujetos, en los resultados mostrados en el presente trabajo en la Figura 21 para datos basales de posición, se muestra que los grupos GFDACU y GSF son los que alcanzan mayores grados, sin embargo están alrededor de los 60°, lo cual coincide con los datos recabados por el cuestionario de actividad física IPAQ donde se muestra que al inicio de los tratamientos predominaba la actividad física baja.

Tabla 13 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de posición en los tratamientos

Nivel	Media	Error Est.	p-Value
GCU	7135.8	0.09	0.00*
GFDACU	11264	0.08	<.00*
GSF	4469.3	0.09	0.05

Se observa una diferencia significativa en los grupos GCU y GFDACU Tabla 15 donde se destaca el aumento en los grados de actividad por posición respecto a sus valores basales, donde se destaca que el grupo GCU inició la intervención con valores inferiores a los 50° a primera hora de la mañana y en la Figura 22 se muestran elevaciones que alcanzan hasta los 60°, que nos indicarían un aumento en su actividad matutina. En contraparte el grupo GSF se muestra con valores inferiores a los 50 grados, lo cual denota una actividad durante el día baja (Ortíz-Tudela *et al.*, 2010).

Se destaca en la Figura 22 la hora de la toma de muestras de melatonina, donde los grupos GCU y GFDACU muestran sus picos mas elevados de actividad lo cual coincide con la disminución de sus valores de melatonina denotando un cronotipo matutino, en contraparte el grupo GSF muestra su elevación con un desfase importante alrededor de las 12:00 h que Henry-Benítez *et al.*, (2013) lo asocian a cronotipos matutinos.

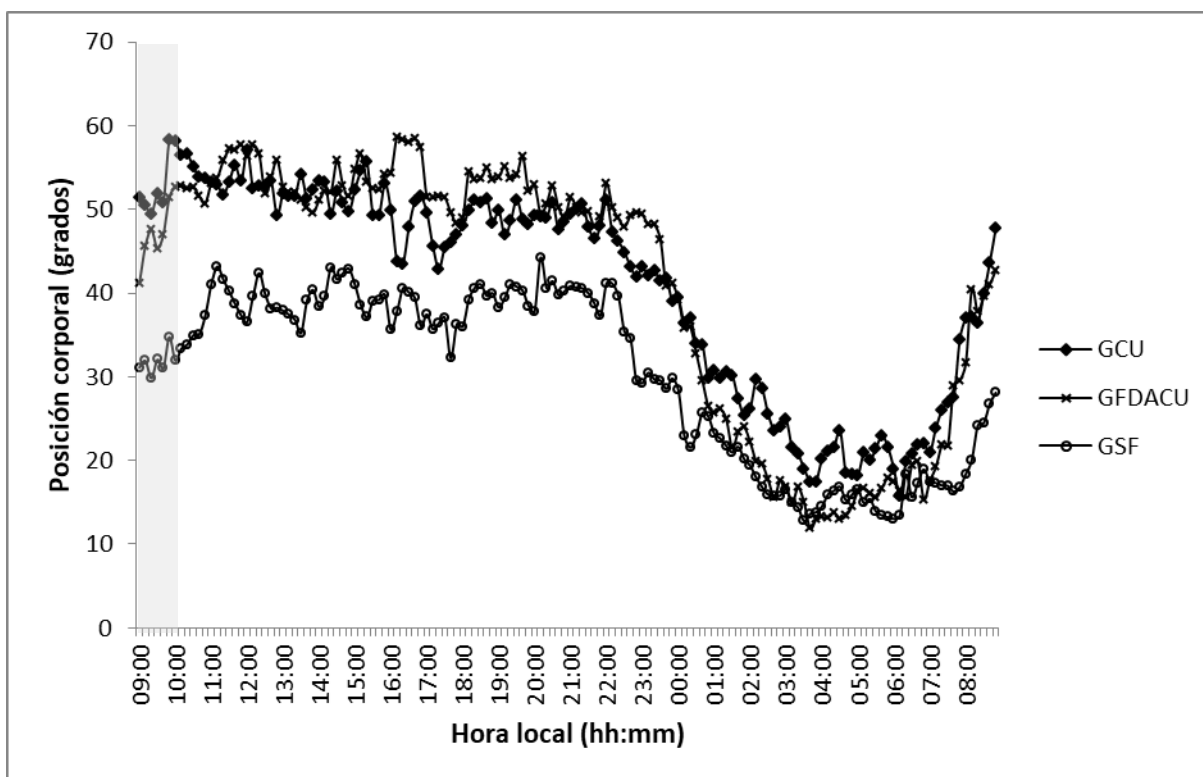


Figura 22 Onda media de posición finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención

El ritmo de sueño vigilia declarado por los sujetos se representa en la Figura 23, donde se observa que en los datos basales no había diferencia significativa entre los grupos. Podemos observar que la probabilidad de sueño es menor en los grupos GFDACU y GSF hasta las 13:00h, lo cual es comparable con los datos anteriores de posición, ya que el grupo GCU presentaba menor ascenso de movimiento que puede ser debido a la somnolencia que se asocia a índices de mala calidad de sueño (Olbrich y Dittmar, 2011). También se ha descrito previamente que este desfase está relacionada con corta duración de sueño, menor eficiencia de sueño y mayores niveles de fatiga (Taylor *et al.*, 2011).

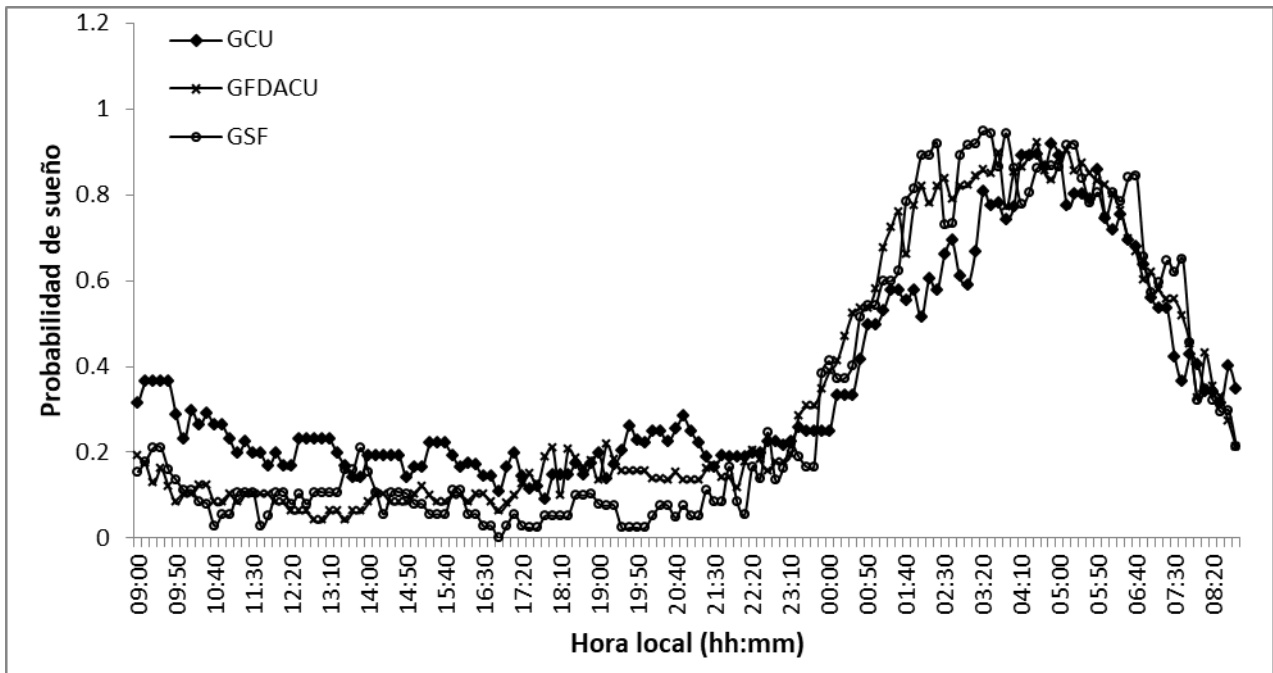


Figura 23 Onda media de sueño basal por grupo de galleta

Al finalizar los 21 días de tratamiento los grupos GCU y GFDACU muestran diferencias significativas con respecto a sus datos basales (Tabla 16). Los dos grupos tendieron a disminuir la probabilidad de sueño durante el día y prolongan su incremento hasta las 20:40 h (Figura 24). Por su parte el grupo GSF al finalizar el tratamiento es el que muestra mayor probabilidad de sueño, presentando ascensos relevantes a las 17:20, 19:00 y 22:20, lo que se traduce como menor rendimiento matutino (Corbalan-Tutau *et al.*, 2015).

Tabla 14 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de sueño en los tratamientos

Nivel	Media	Error Est.	p-Value
GCU	4.06	0.07	<.00*
GFDACU	4.72	0.08	<.00*
GSF	2.61	0.09	0.93

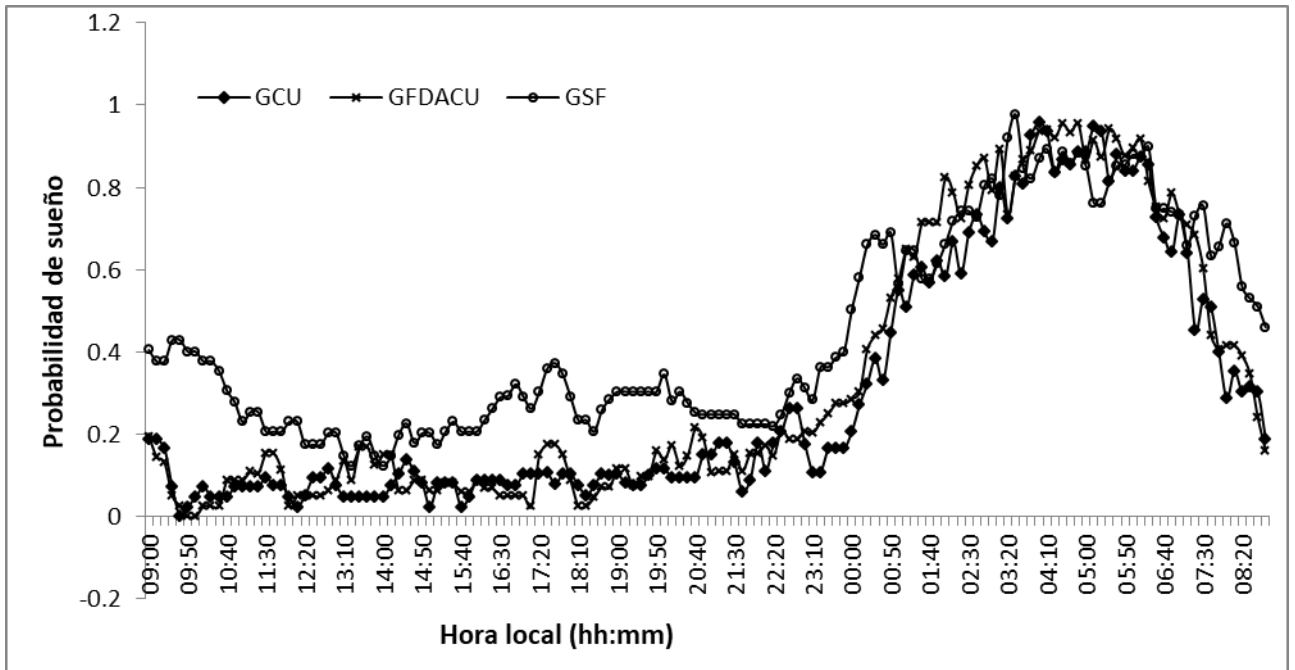


Figura 24 Onda media de sueño finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención

En términos generales, la exposición a la luz debería corresponder con valores de iluminancia en exteriores durante el día que superen los 1000 luxes, mientras que durante la noche deberían ser cercanos a 0 luxes, puesto que la oscuridad o una iluminación de baja intensidad disminuye la temperatura central y el nivel de alerta en comparación con intensidades superiores (Ortíz-Tudela *et al.*, 2010).

En la Figura 25 se muestra la exposición a la luz registrada al inicio del estudio para cada uno de los grupos, donde se observan ritmos muy parecidos, destacando alta exposición a la luz durante el día y disminución a partir de las 19:10 h. Este patrón obtenido coincide con los valores reportados por Carrión *et al.*, (2013) donde los valores más altos (>200 lux) se registraron durante el día, descendiendo suavemente en el ocaso, y con un periodo de intensidad intermedia (<100 lux) hasta la hora de dormir, momento en el que la intensidad descendió a casi 0 lux que responde al periodo de reposo de los sujetos.

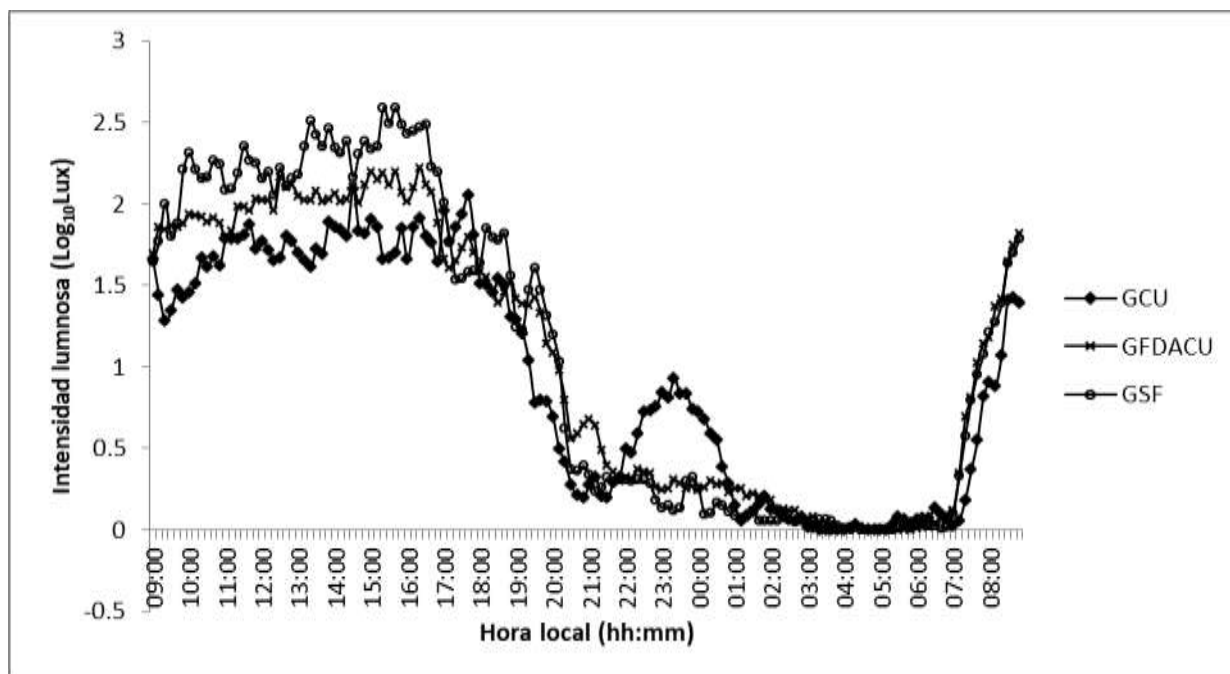


Figura 25 Onda media de exposición a la luz basal por grupo de galleta

Tabla 15 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de exposición a la luz en los tratamientos

Nivel	Media	Error Est.	p-Value
GCU	20.43	0.05	<.00*
GFDACU	26.63	0.08	<.00*
GSF	36.27	0.10	0.00*

Al finalizar el tratamiento se presentaron diferencias significativas en los tres grupos (Tabla 17). Se destaca que los valores finales de exposición a la luz son mayores durante el día para el grupo GSF (Figura 26), lo cual podría estar relacionado con los datos presentados en la Figura 16 para la secreción de melatonina. El grupo GFDACU que muestra una disminución en la exposición a la luz y es proporcional a los datos encontrados para melatonina en este grupo y que se comparan con lo descrito por Henry-Benítez *et al.*, (2013) donde enfatizan la importancia de alargar los estudios de melatonina al menos hasta las 09:00 horas, cuando aún se pueden apreciar diferencias entre los cronotipos.

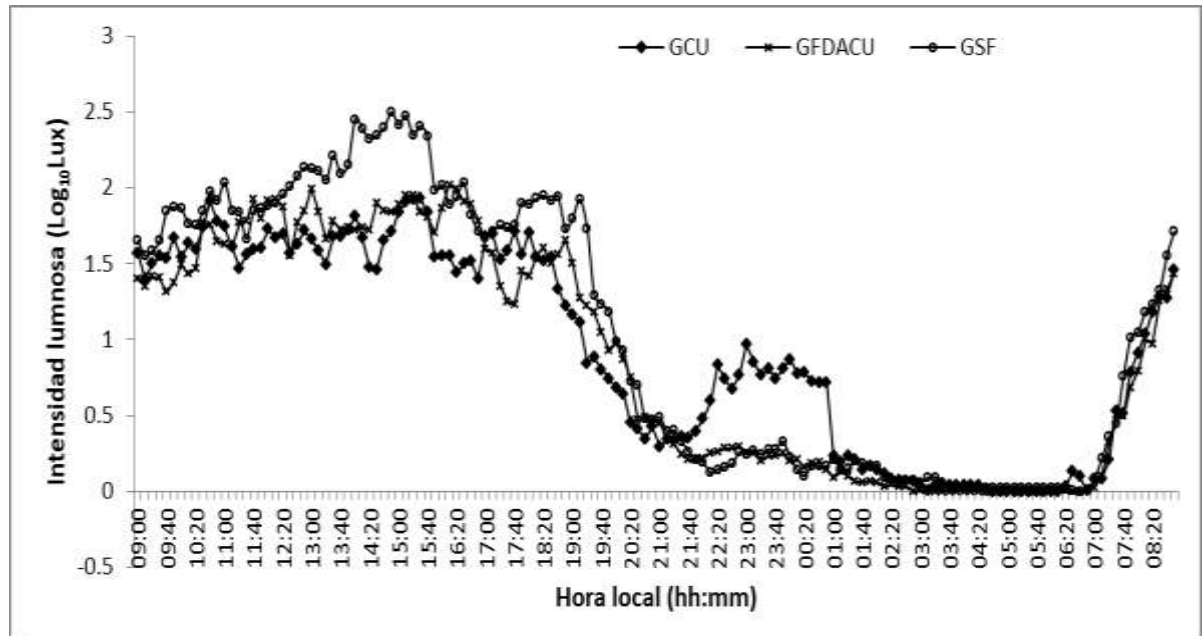


Figura 26 Onda media de exposición a la luz finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención

Ya que todas las variables aisladas pueden estar enmascaradas en mayor o menor grado y presentar distintos errores, se han desarrollado nuevas aproximaciones para evitarlo en lo posible, como las técnicas de monitorización circadiana multicanal (Kolodyazhniy *et al.*, 2011) y los algoritmos integrados, como el TAP (combinación de temperatura periférica, actividad motora y postura) (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010) que nos permite ver si existe cronodisrupción en las personas y los riesgos que esto conlleva.

En la Figura 27 se muestra el calculo de TAP con los valores basales para cada grupo. Se puede observar que existe un desfase de ritmo: el grupo GCU muestra su descenso más importante a las 00:50 h mientras que los grupos GFDACU y GSF lo tienen a las 00:00 h, haciendo referencia a cronotipos vespertinos (Ortiz-Tudela *et al.*, 2010).

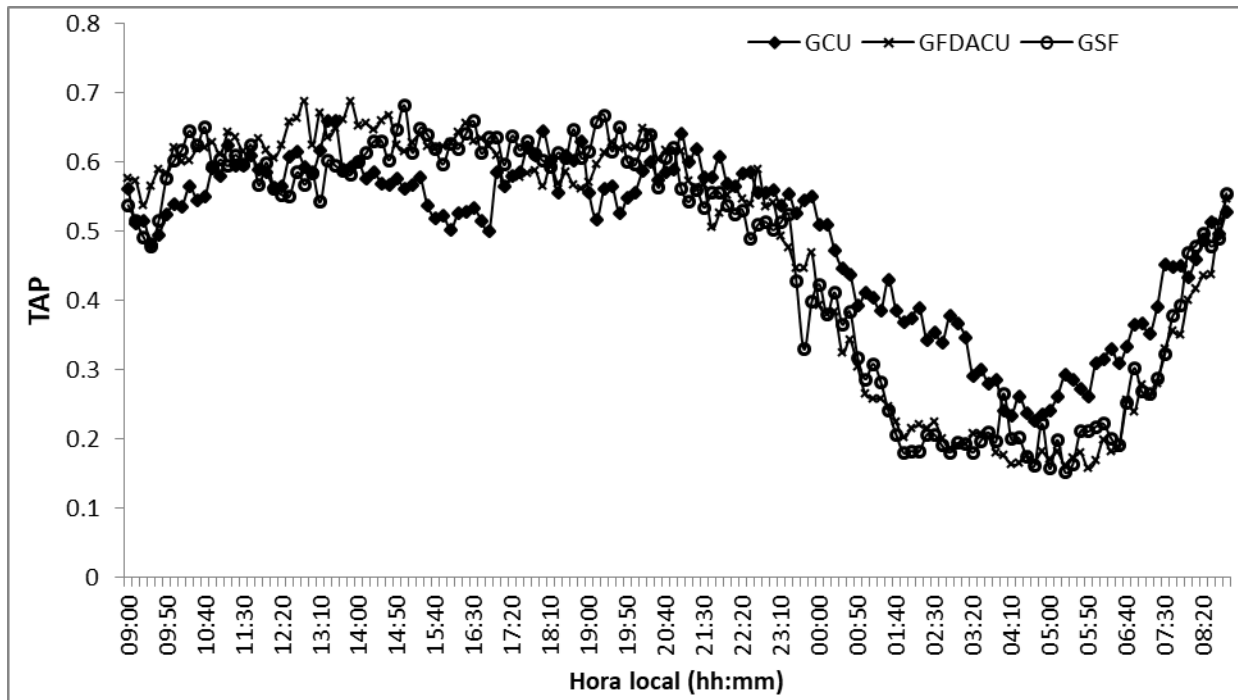


Figura 27 Onda media de TAP basal por grupo de galleta.

Se presentan diferencias significativas en los valores de TAP al finalizar la intervención (Tabla 18). Se destaca una mejoría en la ritmicidad de las variables donde se observa un descenso de la actividad a partir de las 22:00 para los tres grupos (Figura 28). El máximo descanso se ve reflejado en el grupo GFDACU a las 04:00, seguido del grupo GCU y por último el grupo GSF que no logra un descenso adecuado de actividad, lo cual, ha sido traducido anteriormente por Martínez-Nicolás *et al.*, (2015) como despertares nocturnos e insomnio entre otras alteraciones del sueño.

Tabla 16 Análisis de varianza de valores basales vs finales del patrón de TAP en los tratamientos

Nivel	Media	Error Est.	p-Value
GCU	1.13	0.05	<.00*
GFDACU	26.63	0.08	<.00*
GSF	36.27	0.10	0.00*

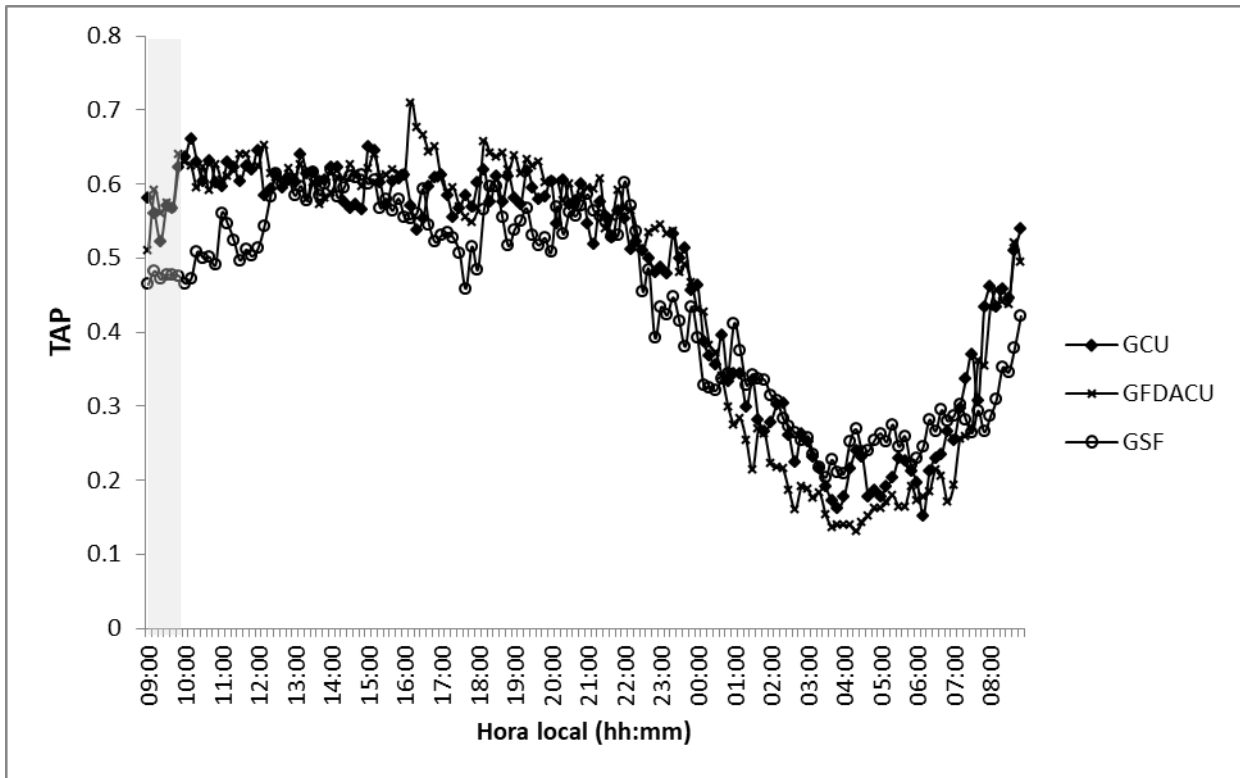


Figura 28 Onda media de TAP finales por grupo de galleta después de 21 días de intervención

Se representa el horario de toma de muestra de melatonina donde se observa que los grupos GCU y GFDACU muestran aumentos en TAP alrededor de este umbral comparados con el grupo GSF que muestra un desfase en su aumento de TAP aproximado a las 11:00 h, lo cual coincide con los resultados previamente analizados de melatonina y se relaciona con los estudios presentados por Henry-Benítez *et al.*, (2013) que determina que el desfase presentado por el GSF es derivado de cronotipos vespertinos.

VIII. CONCLUSIONES

La FDACU retiene más del 90% de la composición química del CU, lo que mejora la composición química de las galletas elaboradas con esta. La adición de FDACU incrementó el contenido de fibra y proteína en las galletas formuladas con esta.

Se concluye que hay una dependencia a la dosis de 5g/día de fibra adicionada a la GFDACU que muestra mejores resultados que los 3.4g/día de la GCU comparada con la GSF por lo que se destaca esta cantidad de fibra añadida en la alimentación de los voluntarios para tener los efectos benéficos en la salud previamente descritos en este trabajo.

Se determinó la composición corporal, parámetros bioquímicos, actividad antioxidante en plasma, evaluación dietaria, cuestionarios de actividad física, calidad de sueño y cronotipo (matutinidad-vespertinidad) de 66 adultos sanos. La ingesta calórica disminuyó en los sujetos que consumieron las galletas con FDACU (5g fibra/día en 45g galleta/21 días), reflejado en la disminución de la circunferencia de cintura y el porcentaje de grasa corporal ($p < 0.05$), y no así en los otros grupos (galleta sin fibra añadida y galleta con café usado y oligofruktosa (3.4 g fibra/día)).

El consumo de las galletas con FDACU incrementó significativamente la capacidad antioxidante plasmática ($p < 0.05$).

Por primera vez, se informa que la FDACU modula positivamente la actividad locomotora circadiana, cambio asociado a la mejora de la actividad física, la calidad del sueño y del cronotipo biológico. Lo anterior podría estar relacionado con que, al ligarse los compuestos fenólicos, entre otros, con la fibra dietaria estos no sufren hidrólisis enzimática durante el tracto intestinal, llegando de manera complejada al colon, permitiendo posiblemente la correcta sincronización de las comunidades microbianas intestinales y sus metabolitos asociados, promoviendo así la sincronización circadiana adecuada en el huésped (Voigt *et al.*, 2014), lo que requiere de futuros estudios para ser confirmado.

De manera adicional, se concluye que más del 50% de la población evaluada presenta alteraciones en su actividad locomotora circadiana debido,

posiblemente, a la baja actividad física, horarios nocturnos, mala calidad de sueño y bajo aporte de fibra dietaria en su alimentación, entre otros factores, por lo que el estado de salud de los sujetos se ve alterado. Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran que los cronotipos humanos se pueden diferenciar objetivamente mediante la monitorización de cualquiera de las variables registradas en el trabajo, temperatura, actividad motora y posición corporal "TAP". Sin embargo, es la temperatura periférica la variable que muestra diferencias más definidas entre los grupos de intervención. Los ritmos de temperatura, actividad y posición permiten discriminar de forma objetiva la tipología circadiana evitando la subjetividad de los cuestionarios.

Estos resultados nos permiten inferir que la FDACU presenta compuestos nutraceuticos, algunos de los cuales contribuyen a su capacidad antioxidante, así como a su capacidad para mejorar la cronodisrupción. Además, contribuyen a respaldar a la FDACU como un ingrediente para el desarrollo de productos funcionales, contribuyendo a dar un valor agregado a este sub-producto de la industria cafetalera e impactando en la salud de la población.

Este estudio informa, por primera vez sobre el potencial de la FDACU para modular la actividad locomotora circadiana, la capacidad antioxidante del plasma y la grasa corporal. De este modo se pretende contribuir a generar interés por la relación entre compuestos alimenticios y ritmos circadianos.

IX. BIBLIOGRAFÍA.

Adan A. Cronobiología del rendimiento cognitivo y físico. Cronobiología Básica y Clínica. Madrid JA y Rol de Lama MA (eds). 2006. Editec@red. Madrid.

Algiert, B., Rotsztein, H., Mucha, P., & Trznadel-Grodzka, E. (2016). The role of melatonin in the light of current knowledge. *Dermatology Review/Przegląd Dermatologiczny*, 103(1).

Antle, M. C., & Silver, R. Orchestrating time: arrangements of the brain circadian clock. *Trends in neurosciences*. 2005. 28(3), 145-51.

Arriscado, D., Muros, J.J., Zabala, M., Dalmau, JM. (2014). Factors associated with low adherence to a Mediterranean diet in healthy children in northern Spain. *Appetite* 80:28-34.

Aschoff, J. Circadian rhythms: influences of internal and external factors on the period measured in constant conditions. *Zeitschrift fur Tierpsychologie*.1979. 49(3), 225-249.

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.

Aza, M. G. (2015). La cronobiología, la alimentación y la salud. *Mediterráneo económico*, (27), 101-122. Bahammam, A., Almestehi, W., Albatli, A., AlShaya, S. (2011). Distribution of chronotypes in a large simple of young adult Saudis. *Ann Saudi Med*, 31 (2), 183-186.

Beşoluk, S., Önder, I., Devei, I., (2011). Morningness-eveningness preferences and academic achievement of university students. *Chronobiol Int*, 28 (2), 118-125.

Borghese, MM., Tremblay, MS., Leduc, G., Boyer, C., Bélanger, P., LeBlanc, AG. (2014). Independent and combined associations of total sedentary time and television viewing time with food intake patterns of 9-to 11-year-old Canadian children. *Appl physiol Nutr Metab* 39: 937-43.

Bravo, R., Matito, S., Cubero, J., Paredes, S. D., Franco, L., Rivero, M. & Barriga, C. (2013). Tryptophan-enriched cereal intake improves nocturnal sleep, melatonin, serotonin, and total antioxidant capacity levels and mood in elderly humans. *Age*, 35(4), 1277-1285.

Builing, R.N., Mitra, R., Faulkner, G., (2015). Active school transportation in the Greater Toronto Area, Canada: an exploration of trends in space and time (1986-2006). *Prev Med*; 48: 507-12.

Buysse D.J., ChF. Reynolds III, T.H. Monk, S.R. Berman, D.J. Kupfer. The Pittsburgh Sleep Quality Index: A New Instrument for Psychiatric Practice and Research. *Psychiatry Res.*, 28 (1989), pp. 193–213

Caiza López, N. P. (2015). *Efecto de la incorporación de arándano deshidratado (Vaccinium Oligofructosa, myrtillus L.) y salvado de trigo en la aceptabilidad de galletas dulces* (Bachelor's thesis).

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

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

Campos-Vega, R., Arreguín-Campos, A., Cruz-Medrano, M.A., Gaytán-Martínez, M., Guerrero-Lara, G., Oseguera-Castro, K.Y. (2017). Novelty fiber rich ingredient from spent coffee grounds increase satiety postprandial ratings and lowers energy intake in healthy humans.

Cano-Marquina, A., Tarín, J. J., & Cano, A. (2013). The impact of coffee on health. *Maturitas*, 75(1), 7-21.

Carrión, M. Á. B., Rol, M. Á., & Madrid, J. A. (2013). Evaluación de la fase circadiana mediante monitorización ambulatoria en humanos: correlación con el dim light melatonin onset. In *II Jornadas de Inicio a la Investigación de Estudiantes de la Facultad de Biología*.

Castillo, M., Martínez Sáez, N., & Ullate, M. (2014). Food formulation comprising spent coffee grounds.

Chaudhri, O., Field, B., Bloom, S. (2008) Gastrointestinal satiety signals. *Int J Obes*. Dec; 32.

Chávez R., Ramírez J., Casanova J. 2003. La cardiopatía en México y su importancia clínica, epidemiológica y preventiva. *Archivos de Cardiología de México*. 73(2):105-114.

Conde, T., & Mussatto, S. I. (2015). Isolation of polyphenols from spent coffee grounds and silverskin by mild hydrothermal pretreatment. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*.

Corbalan-Tutau, M. D., Gomez-Abellan, P., Madrid, J. A., Canteras, M., Ordovas, J. M., & Garaulet, M. (2015). Toward a chronobiological characterization of obesity and metabolic syndrome in clinical practice. *Clinical Nutrition*, 34(3), 477-483.

Corrêa, T. A., Rogero, M. M., Mito, B. M., Tarasoutchi, D., Tuda, V. L., César, L. A., & Torres, E. A. (2013). filtered coffee increases cholesterol and inflammation biomarkers independent of roasting degree: A clinical trial. *Nutrition*, 29(7), 977-981.

Dashti, HS., Follis, JL., Smith, CE. (2015). Habitual sleep duration is associated with BMI and macronutrient intake and may be modified by CLOCK genetic variants. *Am J Clin Nutr.* 101:135-43.

de Mejia, E. G., & Ramirez-Mares, M. V. (2014). Impact of caffeine and coffee on our health. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 25(10), 489-492.

Duffy, J. F., & Wright, K. P. Entrainment of the human circadian system by light. *Journal of biological rhythms.* 2005. 20(4), 326-38.

Edgar, D. M., & Dement, W. C. Regularly scheduled voluntary exercise synchronizes the mouse circadian clock. *American Journal Physiology.* 1991. 261(4:Pt 2, Pt 2):R928-33.

Ekbatan, S. S., Sleno, L., Sabally, K., Khairallah, J., Azadi, B., Rodes, L., & Kubow, S. (2016). Biotransformation of polyphenols in a dynamic multistage gastrointestinal model. *Food chemistry*, 204, 453-462.

ENSANUT. (2016). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales. México.

Escobar, C., Ángeles-Castellanos, M., Bautista, E. N. E., & Buijs, R. M. (2016). Food during the night is a factor leading to obesity. *Revista Mexicana de Trastornos Alimentarios.*

Escobar, C., González Guerra, E., Velasco-Ramos, M., Salgado-Delgado, R., & Angeles-Castellanos, M. (2013). La mala calidad de sueño es factor promotor de obesidad. *Revista mexicana de trastornos alimentarios*, 4(2), 133-142.

Escorza, M. A. Q., & Salinas, J. V. C. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de Educación Bioquímica*, 28(3), 89-101.

Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488-495.

FAO y OMS. (2003). Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Serie de Informes Técnicos, 916, 24-26.

Fonseca-García, L., Calderón-Jaimes, L. S., y Rivera, M. E. (2014). Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en café y subproductos del café producido y comercializado en norte de Santander (Colombia). *Vitae (01214004)*, 21(3).

Froy, O., & Miskin, R. The interrelations among feeding, circadian rhythms and ageing. *Progress in neurobiology*. 2007. 82(3), 142-50.

Fung, T. T., Hu, F. B., Pereira, M. A., Liu, S., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., & Willett, W. C. (2002). Whole-grain intake and the risk of type 2 diabetes: a prospective study in men. *The American journal of clinical nutrition*, 76(3), 535-540.

García-Gutiérrez, N., Maldonado-Celis, M. E., Rojas-López, M., Loarca-Piña, G. F., & Campos-Vega, R. (2017). The fermented non-digestible fraction of spent coffee grounds induces apoptosis in human colon cancer cells (SW480). *Journal of Functional Foods*, 30, 237-246.

González Corbella, M. J. (2007). La alimentación y el sueño: estrategias nutricionales para evitar el insomnio. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 26(2), 77-84.

Grundy, S. M. Neeland, I J., Turer, A. T., & Vega, G. L. (2013). Waist Circumference as Measure of Abdominal Fat Compartments. *Journal of Obesity*.

Guérin-Deremaux, L., Pochat, M., Reifer, C., Wils, D., Cho, S., Miller, L.E. (2011). The soluble fiber NUTRIOSE induces a dose-dependent beneficial impact on satiety over time in humans. *Nutr Res N Y N*. Sep; 31(9):665-72.

Guo, X., Zheng, L., Wang, J. (2013). Epidemiological evidence for the link between sleep duration and high blood pressure: a systematic review and meta-analysis. *Sleep Med*. 14:324-32.

Henry-Benítez, M., Díaz-Mesa, E., Yelmo-Cruz, S., & Gracia-Marco, R. (2013). El cronotipo como modulador de los niveles séricos diurnos de melatonina. *Actas Esp Psiquiatr*, 41(3), 149-53.

Hirao, A., Tahara, Y., Kimura, I., & Shibata, S. (2009). A balanced diet is necessary for proper entrainment signals of the mouse liver clock. *PLoS One*, 4(9), e6909.

Horne JA, Ostberg O. (1976). A self-assessment questionnaire to determine morningness-eveningness in human circadian rhythms. *Int J Chronobiol*. 4:97-110

International Physical Activity Questionnaire. Disponible en <http://www.ipaq.ki.se/downloads.htm> [Consultado el 10 de enero de 2016]

Karlsson B, Knutsson A, Lindahl B. Is there an association between shift work and having a metabolic syndrome? Results from a population based study of 27,48 people. *Occupational and environmental medicine*. 2001;58(11):747-52.

Kräuchi K, Cajochen C, Wirz-Justice A. A relationship between heat loss and sleepiness: effects of postural change and melatonin administration. *J Appl Physiol* 1997 Jul; 83:134-9.

Kräuchi, K., Cajochen, C., Werth, E., & Wirz-Justice, A. (2002). Alteration of internal circadian phase relationships after morning versus evening carbohydrate-rich meals in humans. *Journal of biological rhythms*, 17(4), 364-376.

Le Barz, M., Anhé, F.F., Varin, T.V., Desjardins, Y., Levy, E., Roy, D., Murette, A. (2015) Probiotics as complementary treatment for metabolic disorders. *Diabetes & metabolism journal*, 39 (4), 291-303.

Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.

Lima, P. F., Medeiros, A. L., Araujo, J. F. (2002). Sleep-wake pattern of medical students: early versus late class starting time. *Braz J Med Biol Res*, 35 (11), 1373-1377.

Liu et al (2003) Relation between changes in intakes of dietary fiber and grain products and changes in weight and development of obesity among middle-aged women. *AJCN* 78: 920-927

López-Barrera, D. M., Vázquez-Sánchez, K., Loarca-Piña, M. G. F., & Campos-Vega, R. (2016). Spent coffee grounds, an innovative source of colonic fermentable compounds, inhibit inflammatory mediators in vitro. *Food Chemistry*, 212, 282-290.

Lund J, Arendt J, Hampton SM, English J, Morgan LM. Postprandial hormone and metabolic responses amongst shift workers in Antarctica. *The Journal of endocrinology*. 2001;171(3):557-64.

Lyford Pike, A., Quadrelli, B., Fabius, B., & Oehninger, M. N. (2014). Cronobiología, sueño y depresión. *Rev. psiquiatr. Urug*, 78(1), 42-57.

Madrid JA. Los relojes de la vida. Una introducción a la cronobiología. *Cronobiología Básica y Clínica*. Madrid JA y Rol de Lama MA (eds). 2006. Editec@red. Madrid.

Martínez-Nicolás A. & Blázquez-Manzanera A. (2015). La hora de nuestro cuerpo. Monitorización Ambulatoria Circadiana. *Revista Eubacteria. Especial de Cronobiología*. 33, 22-28.

¹Martinez-Saez, N., Hochkogler, C. M., Somoza, V., & Del Castillo, M. D. (2017). In Vitro Assessment of the Satiety Effect of Non-Added Sugar Biscuit Containing Stevia, Coffee Fibre and Fructooligosaccharides.

²Martinez-Saez, N., García, A. T., Pérez, I. D., Rebollo-Hernanz, M., Mesías, M., Morales, F. J., ... & del Castillo, M. D. (2017). Use of spent coffee grounds as food ingredient in bakery products. *Food chemistry*, 216, 114-122.

Matito Celaya, S. (2015). Efecto de la ingesta de cereales enriquecidos con triptófano sobre el sueño, melatonina, serotonina, cortisol y estado antioxidante en personas mayores.

Méndez, I., Vázquez-Martínez, O., Hernández-Muñoz, R., Valente-Godínez, H., & Díaz-Muñoz, M. (2015). Redox regulation and pro-oxidant reactions in the physiology of circadian systems. *Biochimie*.

Miller, A.L., Lumeng, J.C., LeBourgeois, M.K. (2015). Sleep patterns and obesity in childhood. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 22 (1):41-7.

Monente, C., Bravo, J., Vitas, A. I., Arbillaga, L., De Peña, M. P., & Cid, C. (2015). Coffee and spent coffee extracts protect against cell mutagens and inhibit growth of food-borne pathogen microorganisms. *Journal of Functional Foods*, 12, 365-374.

Mongrain, V, J Carrier, and M Dumont. 2006. "Circadian and homeostatic sleep regulation in morningness-eveningness." *Journal of sleep research* 15(2):162-6.

Morera-Fumero, A. L., & Abreu-Gonzalez, P. (2013). Role of melatonin in schizophrenia. *International journal of molecular sciences*, 14(5), 9037-9050.

Moore RY, Speh JC, Leak RK. Suprachiasmatic nucleus organization. *Cell Tissue Res*. 2002. 309:89-98.

Mosquera, G. V. (2015). Obesidad y balance energético. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*.

Murthy, P. S., & Naidu, M. M. (2012). Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food and Bioprocess Technology*, 5(3), 897-903.

Naranjo, M., Vélez, L. T., & Rojano, B. A. (2011). Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(2), 164-173.

Natella, F., Nardini, M., Giannetti, I., Dattilo, C., & Scaccini, C. (2002). Coffee drinking influences plasma antioxidant capacity in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6211-6216.

OIC, O. I. (2015). Recuperado el 12 de Noviembre de 2015, de Informe del mercado de café: <http://www.ico.org/documents/cy2014-15/cmr-0315-c.pdf>

Ojeda, P., Bobe, A., Dolan, K., Leone, V., & Martinez, K. (2016). Nutritional modulation of gut microbiota—The impact on metabolic disease pathophysiology. *The Journal of nutritional biochemistry*, 28, 191-200.

Olbrich D & Dittmar M. 2011. Older poor-sleeping women display a smaller evening increase in melatonin secretion and lower values of melatonin and core body temperature than good sleepers. *Chronobiology International* 28: 681–689.

Oliva Ramírez, J., Moreno Altamirano, M.M., y Sánchez García, F. (2014). Ritmos circadianos y respuesta inmune. *Mensaje Bioquímico*, 305-319.

Oliva-Ramírez, J., Moreno-Altamirano, M. M. B., Pineda-Olvera, B., Cauch-Sánchez, P., & Sánchez-García, F. J. (2014). Crosstalk between circadian rhythmicity, mitochondrial dynamics and macrophage bactericidal activity. *Immunology*, 143(3), 490-497.

Organización Mundial de la Salud (OMS). 2017. Consultado en línea 15 Octubre 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>

Ortiz-Tudela, E., Martínez-Nicolas, A., Campos, M., Rol, M. Á., & Madrid, J. A. (2010). A new integrated variable based on thermometry, actimetry and body position (TAP) to evaluate circadian system status in humans. *Plos Computational Biology*, 6(11), e1000996.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(10), 4619-4626.

Overby, N. C., Klepp, K-I., Bere, E. (2013). Changes in screen time activity in Norwegian children from 2001 to 2008: two cross-sectional studies. *BMC Pub Health*. 13:80.

Paine, S.J., Gander, P.H., Travier, N. (2006). The epidemiology of morningness/eveningness: influence of age, gender, ethnicity and socioeconomic factors in adults (30-49 years). *J Biol Rhythms*. 21: 68-76.

Panusa, A., Zuorro, A., Lavecchia, R., Marrosu, G., & Petrucci, R. (2013). Recovery of natural antioxidants from spent coffee grounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(17), 4162-4168.

Park, S., & Bae, J.H. (2015). Probiotics for weight loss: a systemic review and meta-analysis. *Nutrition Research*, 35(7), 566-575.

Pavlovic M, Buntic A, Siler S, Dimitrijevic S. Ethanol influenced fast microwave-assisted extraction for natural antioxidants obtaining from spent filter coffee. *Separation and Purification Tech* 2013; 118:503-510.

Pearson, N., Biddle, S. (2011). Sedentary behavior and dietary intake in children, adolescents, and adults. A systematic review. *Am J Prev Med*; 41 (2): 178-88.

Perea, JM., Peñas, C., Navia, B., Aparicio, A., Villalobos, T., Ortega, RM. (2012). The Effects of Physical Activity on Dietary Habits in Young Adults from Madrid. *Int J Vitam Nutr Res*; 82 (6): 405-11.

Pérez-Hernández, L., Chávez-Quiroz, K., Medina-Juárez, L., & Meza, N. G. (2012). Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora*. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, 15(1), 51-56.

Rangan, A. M., Randall, D., Hector, D. J., Gill, T. P., & Webb, K. L. (2008). Consumption of 'extra'foods by Australian children: types, quantities and contribution to energy and nutrient intakes. *European Journal of Clinical Nutrition*, 62(3), 356-364.

Rendón, M. Y., dos Santos Scholz, M. B., & Bragagnolo, N. (2017). Is cafestol retained on the paper filter in the preparation of filter coffee?. *Food Research International*, 100, 798-803.

Reverri, E. J., Randolph, J. M., Steinberg, F. M., Kappagoda, C. T., Edirisinghe, I., & Burton-Freeman, B. M. (2015). Black beans, fiber, and antioxidant capacity pilot study: examination of whole foods vs. functional components on postprandial metabolic, oxidative stress, and inflammation in adults with metabolic syndrome. *Nutrients*, 7(8), 6139-6154.

Roenneberg, T., Kuehne, T., Juda, M. (2007). Epidemiology of the human circadian clock. *Sleep Med*. 11: 429-38.

Ruiz, J. M. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria*, 32(2), 8-20.

Sack, Robert L *et al.* 2007. "Circadian rhythm sleep disorders: part I, basic principles, shift work and jet lag disorders. An American Academy of Sleep Medicine review." *Sleep (Rochester)* 30(11):1460-1483. Retrieved.

Sánchez Almaraz R, Martín Fuentes M, Palma Milla s, López Plaza B, López B, M.L.,(2015) Indicaciones de diferentes tipos de fibra en distintas patologías. *Nutr Hosp*. 2372-83.

Sarabia, J. A., Rol, M. A., Mendiola, P., & Madrid, J. A. (2008). Circadian rhythm of wrist temperature in normal-living subjects: A candidate of new index of the circadian system. *Physiology & behavior*, 95(4), 570-580.

Sato-Mito, N., Shibata, S., Sasaki, S. (2011). Dietary intake is associated with human chronotype as assessed by morningness-eveningness score and preferred midpoint of sleep in Young Japanese women. *Int J Food Sci Nutr*. 62: 525-32.

Sauceda, A. E. Q., Palafox, H., Sánchez, R. M. R., & Aguilar, G. A. G. (2011). Interacción de compuestos fenólicos y fibra dietaria: capacidad antioxidante y biodisponibilidad. *Biotechnia*, 13(3), 3-11.

Saura-Calixto, F. (2010). Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: an essential physiological function. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(1), 43-49.

Schaich, K.M., Tian, X. & Xie, J. (2015). Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14, 111-125.

Schubert, E., Randler, C. (2008). Association between chronotype and the constructs of the Three-Factor-Eating-Questionnaire. *Appetite*. 51: 501-55.

Siegel, J. M. (2005). Clues to the functions of mammalian sleep. *Nature*, 437(7063), 1264-1271.

Silva, F. (2010). Trastornos del Ritmo Circadiano del Sueño: fisiopatología, clasificación y tratamientos. *Revista Memoriza. com*, 7, 1-13.

Smith, R. S., Guilleminault, C., & Efron, B. Circadian rhythms and enhanced athletic performance in the National Football League. *Sleep (Rochester)*. 1997. 20(5), 362-365.

Stenman, L. K., Lehtinen, M. J., Meland, N., Christensen, J. E., Yeung, N., Saarinen, M. T., ... & Apter, D. (2016). Probiotic with or without fiber controls body fat mass, associated with serum zonulin, in overweight and obese adults—randomized controlled trial. *EBioMedicine*, 13, 190-200.

Tankova, I., Adan, A., & Buela-Casal, G. Circadian typology and individual differences. A review. *Personality and Individual Differences*. Elsevier. 1994. 16(5), 671–684.

Tańska, M., Roszkowska, B., Czaplicki, S., Borowska, E. J., Bojarska, J., & Dąbrowska, A. (2016). Effect of fruit pomace addition on shortbread cookies to improve their physical and nutritional values. *Plant Foods for Human Nutrition*, 71(3), 307-313.

Tavares da Silva, S., Araujo dos Santos, C., & Bressan, J. (2013). Intestinal microbiota; relevance to obesity and modulation by prebiotics and probiotics. *Nutrición Hospitalaria*, 28(4), 1039-1048.

Taylor, D. J., Clay, K. C., Bramoweth, A.D., Sethi, K., Roane, B.M. (2011). Circadian phase preference in college students: relationships with psychological functioning and academics. *Chronobiol Int*, 28 (6), 541-7.

Testu, F. Chronopsychologie et rythmes scolaires. 1989. París: Masson.

Torres, J. S. S., Cerón, L. F. Z., Amézquita, C. A. N., & López, J. A. V. (2013). Ritmo circadiano: el reloj maestro. Alteraciones que comprometen el estado de sueño y vigilia en el área de la salud. *Morfología*, 5(3).

Torres, S. J., & Nowson, C. A. (2007). Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition*, 23(11), 887-894.

Van Someren, E. J. W., & Riemersma-Van Der Lek, R. F. Live to the rhythm, slave to the rhythm. *Sleep medicine reviews*. 2007. 11(6), 465-84.

Velázquez-Paniagua, M., & Prieto-Gómez, B. (2009). Melatonina y neuropatologías. *Revista de la Facultad de Medicina*, 52(003).

Vermerris, W., & Nicholson, R. (2008). Phenolic compounds and their effects on human health. In *Phenolic Compound Biochemistry* (pp. 235-255). Springer Netherlands.

Vieira, E. (2015). La importancia del reloj biológico en el desarrollo de la obesidad y de la diabetes. *Avances en Diabetología*, 31(2), 60-63.

Waterhouse, J., Drust, B., Weinert, D., Edwards, B., Gregson, W., Atkinson, G., Kao, S., *et al.* The Circadian Rhythm of Core Temperature: Origin and some Implications for Exercise Performance. *Chronobiology International*. 2005. 22(2), 207-225.

Wiczowski, W., Szawara-Nowak, D., & Romaszko, J. (2016). The impact of red cabbage fermentation on bioavailability of anthocyanins and antioxidant capacity of human plasma. *Food chemistry*, 190, 730-740.

Willis H.J., Thomas W., Eldridge AL., Harkness L., Green H., Slavin JL., (2010) Increasing doses of fiber do not influence short-term satiety or food intake and are inconsistently linked to gut hormone levels. *Food Nutr Res*. 54

Yamazaki S, Numano R, Abe M, Hida A, Takahashi R, Ueda M, Block GD, Sakaki Y, Menaker M, Tei H. Resetting central and peripheral circadian oscillators in transgenic rats. *Science* 2000 Apr; 288:682-5.

Yu, JH., Yun, CH., Ahn, JH. (2015). Evening chronotype is associated with metabolic disorders and body composition in middle-aged adults. *J Clin Endocrinol Metab*. 100(4): 1494-502.