

Actividad antioxidante de café colombiano de diferentes calidades

Antioxidant activity of different grades of Colombian coffee

Mauricio Naranjo,^I Luz T. Vélez,^{II} Benjamín A. Rojano^{III}

^I Ingeniero Químico. Máster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Centro de Investigación y Desarrollo. COLCAFE. S.A. Medellín, Colombia.

^{II} Ingeniera Biológica. Aspirante a Máster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Laboratorio de Ciencia de Alimentos, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín, Colombia.

^{III} Máster en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Doctor en Ciencias Químicas. Laboratorio de Ciencia de Alimentos, Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Medellín, Colombia.

RESUMEN

Introducción: el café colombiano estudiado por diferentes investigadores, corresponde a un café verde con calidad de exportación. Sin embargo, el café procesado en Colombia, se elabora con diferentes materias primas, no reportadas en ningún trabajo de investigación. La calidad del café depende de: tipo de café verde, proceso de tostado y molienda. Estas variables determinan la concentración de los compuestos fenólicos, importantes en la capacidad antioxidante, parámetro de calidad de un alimento nutracéutico.

Objetivos: determinar la capacidad antioxidante de infusiones acuosas de 5 calidades de café colombiano.

Métodos: se evaluaron las propiedades antioxidantes y algunos componentes de los extractos acuosos de muestras de café verde de 5 calidades que se comercializan en Colombia (Excelso UGQ, excelso D3, chorreado de pergamino, consumo y pasilla de máquinas), todas provenientes de la región de Antioquia, Colombia. Los contenidos de fenoles totales se determinaron por el método *Follin Ciocalteu*, los ácidos fenólicos por cromatografía líquida de alta resolución y las capacidades antioxidantes por los métodos DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracil) y ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*).

Resultados: los contenidos de fenoles totales de las bebidas fueron muy similares en las 5 calidades de café, mientras que los valores TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity*) por la metodología DPPH y los valores ORAC para el café

excelso UGQ resultaron superiores a las otras muestras, debido a su alto contenido de ácidos fenólicos: elálgico, cafeico y clorogénico.

Conclusiones: el café Excelso UGQ tiene altas concentraciones de ácidos fenólicos responsables de su mayor actividad antioxidante, comparado con las cuatro calidades de café consumidos en Colombia.

Palabras clave: café, actividad antioxidante, *Coffea arabica*.

ABSTRACT

Introduction: the Colombian coffee studied by different researchers, represents a export quality green coffee. However, processed coffee in Colombia is prepared from different raw materials that are not reported in any research work. The quality of coffee depends on the type of green coffee, the roasting and the grinding processes. These variables determine the concentration of phenolic compounds that are so important for the antioxidant capacity and a quality parameter of one nutraceutical food.

Objectives: to determine the antioxidant capacity of aqueous infusions prepared from 5 grades of Colombian coffee.

Methods: the antioxidant properties and some components of the aqueous extracts from green coffee samples of the five grades sold in Colombia (*Excelso UGQ, Excelso D3, chorreado de pergamino, consumo y pasilla de máquinas*) were evaluated, all from the region of Antioquia, Colombia. The total phenolic content was determined by the *Follin Ciocalteu* method, phenolic acids were identified by high performance liquid chromatography (HPLC) and antioxidant capacity was detected by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ORAC (oxygen radical absorbance capacity) methods.

Results: the total phenol contents in drinks were very similar in the 5 grades of coffee, whereas TEAC (*trolox equivalent antioxidant capacity*) using DPPH methodology and ORAC values for the *Excelso UGQ* coffee were higher than those of other samples due to the high acid phenol content of this type of coffee including ellagic, caffeic and chlorogenic acids.

Conclusions: *Excelso UGQ* coffee presents high phenolic acid concentrations that account for higher antioxidant activity compared with the other 4 grades of coffee consumed in Colombia.

Key words: coffee, antioxidant activity, *Coffea arabica*.

INTRODUCCIÓN

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 arábica (*Coffea arabica* L.) syn. *Coffea arabica* var. *arabica* A. Chev. y la especie robusta (*Coffea canephora* var. *robusta* (L. Linden) A. Chev.) syn. *Coffea robusta* L. Linden.¹ Los granos de café 100 % arábica, son los preferidos por los consumidores y se consideran como los de mejor calidad en los mercados internacionales.² El café es el segundo producto más comercializado después del petróleo y es una de las bebidas más populares en el mundo, debido a su sabor y características sensoriales

únicas. Actualmente la producción mundial es de 6,3 millones de toneladas anuales.³ En Colombia, el café es el producto insignia de la economía colombiana con una producción de $7,2 \times 10^4$ t anuales, es decir, 11,4 % del mercado mundial; lo cual convierte a este producto agrícola como fuente vital del crecimiento económico y del desarrollo industrial de Colombia.

En los últimos años se vienen desarrollando en el mundo propuestas de productos alimenticios con características diferentes a las fisicoquímicas y sensoriales, es decir, alimentos fisiológicamente funcionales; por tal motivo, se ha venido investigando el café, su composición, propiedades y su relación con la salud.^{3,4} Actualmente se conoce que este producto agroalimentario posee una serie de bioactividades, como actividad antioxidante, anticarcinogénica y antimutagénica.⁵ Los granos de café verde contienen antioxidantes como ácidos fenólicos, polifenoles y alcaloides; especialmente los ácidos fenólicos elágico, cafeico y clorogénico; el contenido de estos componentes varía entre especies y lugar de origen y le dan al café la calidad de alimento funcional y nutracéutico.⁶⁻⁹

Las características antioxidantes del café dependen de la variedad, el grado de tuestión, el tipo de fermentación y la molienda del material.^{4,10-13} En dependencia de las condiciones de tostado, los antioxidantes naturales son parcialmente descompuestos o pueden unirse a otras estructuras; lo cual genera incluso productos de la reacción de *Maillard*, que también presentan actividad antioxidante.^{11,14}

Los antioxidantes son conocidos por proveer beneficios a la salud, como reducción de riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer, al combatir el daño celular causado por los radicales libres.¹⁵⁻²⁰

Los estudios encontrados en café muestran resultados con productos que no son los que se procesan y comercializan en Colombia. No se conocen las propiedades antioxidantes de las diversas variedades de café que se cultivan, tuestan, comercializan y consumen en Colombia. Por todo lo anterior, el objetivo de esta investigación fue estudiar las propiedades antioxidantes de las bebidas de café tal cual se consumen en Colombia, obtenidas a partir de cinco calidades (variedades) de café tipo arábica que se comercializan en Colombia; para ello se midió la actividad antioxidante por el método ORAC (*Oxygen radical absorbance capacity*), ensayo DPPH, el contenido total de fenoles y la determinación por cromatografía líquida de alta presión (HPLC) de los ácidos fenólicos: elágico, cafeico y clorogénico, únicamente a la calidad UGQ.

MÉTODOS

Muestras de café

Se pesaron 5 calidades de café verde tipo arábica (12 % de humedad en promedio) provenientes de la región de Antioquia, Colombia, suministradas por COLCAFE S.A.S. (150,0 g cada muestra, 4 repeticiones), tostadas en un tambor rotatorio de laboratorio marca *Probat*, a temperatura de carga de 200 °C, y posteriormente molidas en un equipo marca MAHLKONIG para obtener una partícula de tamaño alrededor de 600 micras. Las muestras tostadas y molidas se empacaron en bolsas de alta barrera al oxígeno y al vapor de agua con válvula desgasificadora, y almacenadas a 4 °C para su posterior preparación y análisis.

Preparación de la bebida

Con cada muestra de café tostado y molido se preparó una bebida de café en una cafetera de goteo (marca Universal), utilizando 60,00 g de café por litro de agua. Después de la extracción, las bebidas fueron rápidamente enfriadas, y diluidas a concentraciones adecuadas para realizar las medidas de actividad antioxidante.

Reactivos y equipos

El radical libre DPPH (1,1-difenil2-picrilhidrazilo), fosfato ácido de sodio, MeOH, 2,2'-Azinobis (2-amidinopropano) diclorhidrato (AAPH) y fluoresceína se compraron a Aldrich Chem. Co (Millwaukee, WI); persulfato de potasio, reactivo de Follin-Ciocalteu, ácido gálico, ácido ascórbico se obtuvieron de Merck (Alemania). Los experimentos ultravioleta-visible se realizaron en un espectrofotómetro Jenway 6405. La disminución en la intensidad de la fluorescencia medida en el ensayo ORAC fue realizada en un espectrofluorímetro Perkin-Elmer LS-55, Beaconstield, U.K. Los estudios cromatográficos se hicieron en un cromatógrafo líquido Shimadzu UGLC. La medición de color se llevó a cabo según la norma colombiana ICONTEC NTC 2442, utilizando un colorímetro Agrtron que entrega señales de luminosidad L.

Evaluación de la capacidad antioxidante (ORAC)

Mediante ORAC se midió la inhibición por antioxidantes de la reacción de oxidación en cadena inducida por el radical peroxilo, generado por la descomposición térmica del AAPH. El mecanismo se fundamentó en la transferencia de un átomo de hidrógeno del antioxidante a los radicales peroxilos, los cuales reaccionaron con la fluoresceína y formaron un producto no fluorescente que pudo ser fácilmente cuantificado. La capacidad antioxidante se determinó por una disminución en la velocidad y cantidad de producto formado en el tiempo. El procedimiento experimental estuvo basado en reportes previos de Ou, en los cuales se emplea Trolox como estándar y condiciones controladas de temperatura a 37 °C y pH 7,4.²¹ Las lecturas se realizaron a una *l* de excitación de 493 nm y *slit* de excitación 5, *l* de emisión 515 nm y *slit* de emisión 13, con atenuador de 1 % y sin placa atenuadora. Para el desarrollo de la técnica se utilizaron soluciones de fluoresceína 1×10^{-2} M en PBS (75 mM) AAPH 0,6 M en PBS (75 mM). La muestra contenía 21 μ L de fluoresceína, 2,899 μ L de PBS, 30 μ L del extracto ensayado y 50 μ L de AAPH. Como referencia se usó Trolox. El efecto protector del antioxidante se calculó usando las diferencias de áreas bajo la curva de decaimiento de la fluoresceína entre el blanco y la muestra, y se comparó contra la curva del Trolox, y se expresó en micromoles equivalentes de Trolox por gramo de muestra (μ mol Trolox/g muestra), de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$ORAC = \frac{AUC_{\text{muestra}} - AUC^0}{(AUC_{\text{Trolox}} - AUC^0)} f [\text{Trolox}]$$

Donde:

AUC es el área bajo la curva de la muestra, AUC^0 área bajo la curva para el control, AUC_{Trolox} área bajo la curva para el Trolox, *f* es el factor de dilución de los extractos.

Evaluación de la capacidad antioxidante por el método del DPPH

Se empleó el método de *Brand-Williams* y otros de 1995, con algunas modificaciones.^{22,23} El 1,1-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH^{i%}) es un radical libre estable que presenta una coloración púrpura en medio metanólico. Cuando hay donación de un electrón o un protón por un compuesto con poder antioxidante esta tonalidad desaparece. Este procedimiento se llevó a cabo utilizando 10 mL del compuesto estudiado y 990 mL de la solución metanólica de DPPH^{i%} ajustada a una absorbancia de 0,30 unidades, a una longitud de onda de 517 nm. Como referencia se usó la misma cantidad de DPPH y 10 mL del solvente de la muestra. Luego de 30 min de reacción a temperatura ambiente y en la oscuridad, se lee la absorbancia. La curva de referencia se construyó usando trolox como patrón primario. Los resultados se formularon como capacidad antioxidante expresada en equivalentes trolox (TEAC).

Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles se realizó por el método colorimétrico de *Follin-Ciocalteu*.²⁴ Se construyó una curva patrón usando como estándar ácido gálico. Los resultados se expresaron como miligramo de ácido gálico/litro de bebida. Las lecturas se realizaron a 760 nm.

Componentes fenólicos por HPLC. Determinación de ácido clorogénico, cafeico y elágico

La bebida de café se filtró (tamaño de poro 0,45 mm) y se hicieron diluciones en agua supra-pura. Las condiciones cromatográficas son: fase móvil acetonitrilo/agua acidificada (ácido fosfórico pH= 2,5), (400:600 v/v). Los compuestos fenólicos fueron eluidos a las condiciones siguientes: flujo de 1 mL/min, 25 °C y condiciones isocráticas. El espectro UV-visible fue recorrido de 200 a 600 nm para todos los picos; la identificación y cuantificación de los compuestos se hizo con estándar externo.²⁵

Análisis estadísticos

Para el estudio de las diferentes variables de interés se utilizó un análisis de un factor de efectos fijos, donde el factor es el tipo de muestra con 5 niveles a saber: UGQ, D3, CON, CHO y MQ. Para este análisis se contó con 4 réplicas por cada uno de los niveles del factor. El objetivo principal fue probar si en cada una de las variables de interés, los diferentes tipos de muestra tienen promedios iguales en la actividad antioxidante medida por diferentes metodologías, para lo cual se usará un nivel de significancia de 0,05. El programa empleado fue el paquete estadístico SAS.

RESULTADOS

La temperatura final de tostado, el porcentaje de extracción y el color de las diversas calidades de café tienen pocas diferencias en sus valores (tabla 1), este resultado permite realizar comparaciones entre las actividades antioxidantes estudiada por las diferentes metodologías, para las diferentes calidades de café.

Tabla 1. Temperatura final de tostado, color y porcentaje de extracción de las diferentes calidades de café

Muestra	Temperatura final (°C)	% de extracción	Color (L)*
UGQ	185,0 ± 2,5	18,1	61,927 ± 1,3
D3	185,0 ± 5,0	17,3	53,376 ± 1,7
CON	196,0 ± 1,9	20,7	61,957 ± 0,5
CHO	192,0 ± 3,8	20,5	63,433 ± 0,4
MQ	180,0 ± 10,0	16,9	72,6375 ± 7,1

*Todas las calidades de café están en el rango de colores claros.

En la tabla 2 se señala que las muestras evaluadas con un mayor contenido de fenoles (expresados en mg de ácido gálico/g de extracto) fueron CON, CHO y MQ; sin embargo, no hay diferencias significativas en la composición fenólica de las 5 calidades de café colombiano comercial. Una notable capacidad de inhibición del DPPH presentaron todas las muestras analizadas (expresados en $\mu\text{mol Trolox/L}$ de café). El valor $p=0,3409$ de la prueba F es significativamente más grande que 0,05; por lo tanto, los diferentes tipos de muestra producen promedios diferentes de la variable "TEAC DPPH Trolox/L de café"; la calidad UGQ (tabla 2) resultó la de mayor actividad $21338,5 \pm 361,2$ TEAC $\mu\text{mol Trolox/L}$.

Tabla 2. Actividad antioxidante de las bebidas obtenidas de diferentes muestras de café

	Fenoles	DPPH	ORAC
Muestra	mg ácido gálico/ L	TEAC $\mu\text{mol Trolox/ L}$	TEAC $\mu\text{mol Trolox/ L}$
UGQ	2 000,8 ± 28,0	21 338,5 ± 361,2	12 224,6 ± 550,0
D3	1 941,7 ± 38,0	17 028,9 ± 2912,2	10 274,0 ± 400,0
CON	2 178,5 ± 132,6	18 989,0 ± 1473,0	9 955,9 ± 320,0
CHO	2 128,6 ± 36,4	18 346,1 ± 2592,3	10 558,8 ± 228,0
MQ	2 119,1 ± 159,2	18 781,3 ± 2101,5	10 270,4 ± 654,0

Calidades de café verde: UGQ-excelso UGQ, D3-excelso D3, CON-consumo, CHO-chorreado de pergamino, MQ-pasilla de máquinas.
DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidracil; ORAC: *oxygen radical absorbance capacity*.

En el ensayo ORAC la disminución de la intensidad de la fluorescencia se siguió monitoreando en el área de las curvas (AUC) de decaimiento de la fluoresceína (hasta 80 %) con los extractos evaluados (fig.).^{21,26}

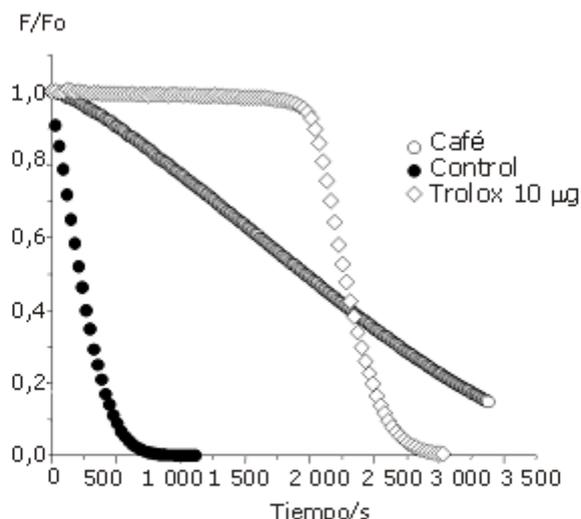


Fig. Efecto de la bebida de café y el trolox sobre la disminución en la intensidad en la fluorescencia de la fluoresceína.

En la tabla 3 se encuentra que los valores ORAC son estadísticamente diferentes y el más alto valor obtenido fue para la muestra UGQ con $12224,6 \pm 550,0$ TEAC $\mu\text{mol Trolox/L}$ y el más bajo para la muestra con un valor de $9955,9 \pm 320,0$ mmol Trolox/L bebida café, respectivamente. Entre todas las calidades se seleccionó el café UGQ como la calidad de café colombiano con mayor potencial antioxidante; por esto, se realizó un perfil cromatográfico por HPLC de algunos ácidos orgánicos determinantes de las propiedades antioxidantes; se encontró la composición siguiente: ácido elágico= $65,2 \pm 2,0$ mg/L; ácido clorogénico= $31,9 \pm 1,8$ mg/L y ácido cafeico= $18,8 \pm 0,8$ mg/L.

Tabla 3. Composición de ácidos fenólicos de café calidad UGQ

	Fenoles	DPPH	ORAC
Muestra	mg ácido gálico/ L	TEAC $\mu\text{mol Trolox/ L}$	TEAC $\mu\text{mol Trolox/ L}$
UGQ	$2000,8 \pm 28,0$	$21338,5 \pm 361,2$	$12224,6 \pm 550,0$

DPPH: 1,1-difenil-2-picrilhidracil; ORAC: *oxygen radical absorbance capacit.*

DISCUSIÓN

La temperatura final del proceso de tostado determina el color y muchas propiedades organolépticas de las diferentes calidades de café; porque en este proceso, ocurren grandes cambios fisicoquímicos al interior del grano; se forman muchos compuestos producto de las reacciones de *Maillard*, los cuales tienen una incidencia directa sobre la actividad antioxidante; en este trabajo la homogeneidad del proceso de tostado permitió realizar comparaciones de la actividad antioxidante de las diferentes calidades de café.^{10,11} Este tipo de muestras presenta un contenido de fenoles totales en cantidades similares; sin embargo su expresión como antioxidantes es muy diferente entre ellas, debido a su diferencia composicional. Se encuentran para la calidad excelso UGQ valores TEAC (*trolox equivalent antioxidant*

capacity) por la metodologías ORAC y DPPH muy superiores a las otras muestras. Las especies del género *Vaccinium* como los agraz, arándanos y mortiño, entre otros, son los frutos que poseen los mayores valores de ORAC y están entre 90 y 1 000 mg TE/g de extracto; las infusiones acuosas de las diferentes calidades de café colombiano estudiadas en este trabajo están en el mismo orden de esos valores (681,9-853,5 mg TE/g de extracto de café); algunos investigadores recomiendan consumir diariamente entre 3 000 y 5 000 unidades ORAC,²⁷ los cuales pueden ser suministrados por 200 a 300 mL de un café de cualquiera de las calidades estudiadas en este trabajo y preparado bajo las mismas condiciones experimentales.^{27,28}

La presencia de los ácidos orgánicos en la calidad UGQ, tipo cinámico como clorogénico, elálgico y cafeico, se han encontrado en diferentes variedades de café con tostado claro y están asociados a la prevención de diabetes tipo 2 y a enfermedades cardiovasculares.^{19,20} El ácido elálgico, el cual se encontró en mayor concentración en la bebida de café, es un polifenol antioxidante característico de frutas que se conocen por su alta actividad antioxidante como las fresas, frambuesas, arándanos y uvas.¹⁹ Además, este ácido puede inhibir enlaces de ADN de ciertos compuestos cancerígenos, incluidas nitrosaminas e hidrocarburos policíclicos aromáticos.^{28,29} Todo lo anterior le confiere al café colombiano calidad UGQ las características de un alimento con propiedades nutraceuticas y se recomienda su consumo.

AGRADECIMIENTOS

A COLCAFÉ S.A.S. de Colombia y al laboratorio de Ciencia de los Alimentos de la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo económico en la ejecución del trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso-Salces RM, Serra F, Reniero F, Herberger K. Botanical and geographical characterization of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): Chemometric evaluation of phenolic and methylxanthine contents. *J Agric Food Chem.* 2009;57:4224-35.
2. Meinhart A, Bizzotto C, Ballus CA, Prado MA, Bruns RE, Filho JT, et al. Optimization of a method for caffeine analysis in decaffeinated coffee. *Food Chemistry.* 2010;120(4):1155-61.
3. Parras P, Martínez-Tomé M, Jiménez AM, Murcia MA. Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures. *Food Chemistry.* 2007;102:582-92.
4. Naidu MM, Sulochanamma G, Sampathu SR, Srinivas P. Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry.* 2008;107:377-84.
5. Calixto FS, Gonzalez IS, Escrig AJ. *In vitro* antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter). *Food Chemistry.* 2004;90:133-9.

6. Ramalakshmi K, Rahath Kubra I, Jagan Mohan Rao L. Antioxidant potential of low-grade coffee beans. *Food Research International*. 2008;41(1):96-103.
7. Belay A, Ture K, Redi M, Asfaw A. Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer. *Food Chemistry*. 2008;108:310-5.
8. Chu Q, Lin M, Yu X, Ye J. Study on extraction efficiency of natural antioxidant in coffee by capillary electrophoresis with amperometric detection. *European Food Research Technology*. 2007;226(6):1373-8.
9. Stalmach A, Mullen W, Nagai C, Crozier A. On-line HPLC analysis of the antioxidant activity of phenolic compounds in brewed, paper-filtered coffee. *Brazilian J Plant Physiology*. 2006;18:253-62.
10. Brezova V, Šlebodova A, Staško A. Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. *Food Chemistry*. 2009;114:859-68.
11. Nicoli MC, Anese M, Manzocco L, Lerici CR. Antioxidant properties of coffee brews in relation to the roasting degree. *Lebensm.-Wiss U Technol*. 1997;30:292-7.
12. Del Castillo MD, Ames JM, Gordon MH. Effect of roasting on the antioxidant activity of coffee brews. *J Agricultural Food Chemistry*. 2002;50:3698-3703.
13. Sacchetti G, DI Mattia C, Pittia P, Mastrocola D. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *J Food Engineering*. 2008;90:74-80.
14. Cid C, Andueza S, Nicoli MC. Comparison of antioxidant and pro-oxidant activity in coffee beverages prepared with conventional and "Torrefacto" coffee. *Lebensm.-Wiss U Technol*. 2004;37:893-7.
15. Del Castillo MD, Gordon MH, Ames JM. Peroxyl radical-scavenging activity of coffee brews. *European Food Research Technology*. 2005;221:471-7.
16. Olthof MR, Hollman PC, Katan MB. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. *J Nutrition*. 2001;131(1):66-7.
17. Paynter NP, Yeh HC, Voutilainen S, Schmidt MI, Heiss G, Folsom AR, et al. Coffee and sweetened beverage consumption and the risk of type 2 diabetes mellitus. *Am J Epidemiology*. 2006;164(11):1075-84.
18. Morton LW, Caccettah RAA, Puddey IB, Croft KD. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: Relevance to cardiovascular disease. *Clinical Experimental Pharmacology Physiology*. 2000;27(3):152-9.
19. Vatter DA, Shetty K. Biological function of ellagic acid: A review. *J Food Biochemistry*. 2005;29:234-66.
20. Temple NJ. Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutrition Research*. 2000;20:449-59.
21. Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior R.L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem*. 2001;49:4619-26.

22. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm.-Wiss U Technol* 1995;28:25-30.
23. Rojano B, Gaviria C, Gil M, Sáez J, Shinella G, Trounier H. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vitae*. 2008;15(1):173-81.
24. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965;16:144-58.
25. Kelebek H, Serkan S, Ahmet C, Turgut C. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kosan. *Microchemical J*. 2009;91:187-92.
26. Atala E, Vásquez L, Speisky H, Lissi E, López-Alarcón C. Ascorbic acid contribution to ORAC values in berry extracts: An evaluation by the ORAC-pyrogallol red methodology. *Food Chemistry*. 2009;113(1):331-5.
27. Al-Duais M, Muller L, Bohm V, Jetschke G. Antioxidant capacity and total phenolics of *Cyphostemma digitatum* before and after processing: use of different assays. *Eur Food Res Technol*. 2009;228:813-2.
28. Feeney MJ. Fruits and the prevention of lifestyle-related diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2004;31:S11-S12.
29. Madal S, Shivappurkar N, Galati A, Stoner GD. Inhibition of N-nitrosobenzylamine metabolism and DNA binding in cultured rat esophagus by ellagic acid. *Carcinogenesis*. 1988;9:1313-6.

Recibido: 21 de abril de 2009.

Aprobado: 30 de diciembre de 2010.

Benjamín A. Rojano. Laboratorio de Ciencia de Alimentos. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. A.A 3840, Medellín, Colombia.
Teléf.: +57(4) 430 9381; Fax: +57(4) 430 9347. Correo electrónico:
brojano@unal.edu.co