

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA
DE ALIMENTOS



**“VARIACIÓN DE LA COMPOSICIÓN BIOACTIVA,
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, EN CAFÉ ORO POR ZONA GEOGRÁFICA Y
PISO ECOLÓGICO Y EN MEZCLAS TOSTADAS-MOLIDAS”**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTADO POR:

PAOLA QUISPE UGARTE

Tingo María – Perú

2017

A DIOS todopoderoso,
Por darme la vida
Y la dirección que necesito.

A mis queridos padres:
PEDRO PABLO QUISPE CHANCO, JULIA UGARTE HUILCA

Por su apoyo incondicional en
La realización de mis estudios
Y son modelos a seguir,
Gracias por todo.

A todos mis hermanos:
ROSSMERY, KARINA, MAYTE, PEDRO Y mis hermosos sobrinos
KAREN, PABLITO, JOSE CARLOS, ANITA, MARIA JULIA, MARIA CRISTHINA
Que fueron apoyo Constante y motivo de
Retos que cumplir.

A mis amigos,
Compañeros y docentes
Que de una u otra forma
Hicieron que la
Universidad fuera
Acogedora.

AGRADECIMIENTOS

- ❖ A Dios por guiar mi camino.
- ❖ A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios universitarios.
- ❖ A los docentes de la Especialidad de Ciencias Económicas, por su contribución a mi formación profesional.
- ❖ Al Dr. PELAEZ SANCHEZ, Pedro Pablo, por su asesoramiento en la elaboración de la presente investigación.
- ❖ A mis padres Pedro y Julia, por su apoyo incondicional en la presente investigación.
- ❖ A los mis hermanos Rossmery, Karina, Mayte, Pedro Y Mis Hermosos Sobrinos Karen, Pablito, Anita, José Carlos, Mariajulia Y Maria Cristhina
- ❖ trabajadores del CIDBAN de la UNAS por la gratitud de sus servicios personalizados. Gracias muchas gracias.

RESUMEN

La Cooperativa Agraria Cafetalera Divisoria Ltda., proporcionó muestras de café oro, muestras de mezclas de café oro, tostados y molidos para realizar la investigación con los objetivos de determinar polifenoles totales (PPT), antocianinas (AA), azúcares reductores (AR), capacidad antioxidante (CA) frente los radicales DPPH y ABTS, ácido cafeico (AC), cafeína (CF) y ácido clorogénico (ACG), considerando cuatro zonas geográficas y tres altitudes de siembra.

Los mayores contenidos de PPT se encontraron en los cafés oro de Padre Abad y Rupa Rupa, a 1200 y 1800 msnm, con 3.42 ± 0.07 a 3.91 ± 0.01 g EAG/100 g ($p \leq 0.05$) y en las muestras TE y MOUNTEIN con 3.44 ± 0.07 y 3.57 ± 0.17 g EAG/100 g café. El contenido de AA varió entre 7.521 ± 0.001 a 61.4230 ± 0.011 mg de cianidin 3 glucosido / L. El mayor contenido de AR se encontró en el café Rupa Rupa, a 1200 msnm, con $0.66 \pm 0.02\%$ ($p \leq 0.05$) y en las muestras oro MISTY y MOUNTEIN, con $0.59 \pm 0.03\%$ y $0.59 \pm 0.02\%$. La mayor CA frente al radical DPPH y ABTS, lo presentó el café de Monzón a 1800 y 1200 msnm, con un IC_{50} de 3.5670 ± 0.43 y 4.7425 ± 0.37 $\mu\text{g/g}$ café y el café de Padre Abad a 1800 msnm, con un IC_{50} de 2.0570 ± 0.15 $\mu\text{g/g}$ café. El mayor contenido de AC lo presentó el café de Padre Abad a 1200 msnm con 6.8712 ± 0.0068 g de ácido/100 g de café y el mayor contenido de CF a 1800 y 1200 msnm con 3.7065 ± 0.18 y 3.5718 ± 0.05 g de cafeína/100 g de café. El mayor contenido de ACG se encontró en el café oro procedente de Monzón a 1200 msnm con 8.8013 ± 0.49 g de ACG/100 g muestra.

I. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de café en el período 2012/2013 fue de 144.611 millones de sacos, siendo el mayor productor Brasil (ICO, 2014) y en el Perú las áreas de producción se ubican en los departamentos de Junín con 67,790 (t), Cajamarca 59,020 (t), San Martín 53,334 (t), Amazonas 34,743 (t), Cusco 24,475 (t) y el resto del país con 25,430 (t), expresada como peso en grano (FICHA TECNICA MINAG-OEEE., 2010).

El café es un arbusto de regiones tropicales del género *Coffea*, de la familia de los rubiáceos, las especies más conocidas son *Coffea arábica* y *Coffea canéphora*, su semilla seca, tostada y molida es ampliamente utilizada, en la preparación de diversas bebidas, denominadas en términos generales café. Para caracterizar la calidad del extracto acuoso del café, es importante conocer sus componentes bioactivos como son: el ácido clorogénico, ácido cafeíco, cafeína, polifenoles totales, antocianinas, azúcares reductores y la capacidad antioxidante del mismo. A la fecha no se conoce qué efecto tienen las zonas geográficas y pisos ecológicos sobre el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los granos de café oro, que se producen en los distritos de Rupa Rupa y Monzón (departamento de Huánuco), Tocache (departamento de San Martín) y Padre Abad (departamento de Ucayali); tampoco cómo varían estos compuestos y capacidad antioxidante al tostar y moler los granos;

El objetivo general de la investigación fue determinar la variación de la composición bioactivos, capacidad antioxidante, en café oro y en mezclas tostadas-molidas; por zona geográfica y piso ecológico. Los objetivos específicos fueron:

- Determinar polifenoles totales, antocianinas, azúcares reductores, capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS, ácido cafeíco, cafeína y ácido clorogénico, en extractos de café oro, considerando zona geográfica y piso ecológico.
- Determinar polifenoles totales, antocianinas, azúcares reductores, capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS, ácido cafeíco, cafeína y ácido clorogénico en extractos de mezclas de café oro y en cafés tostados-molidos de venta nacional y de exportación.

II. MARCO TEORICO

2.1. El café

El café es originario de Etiopía Central (África), donde aún crece de manera silvestre, luego fue llevado a Arabia. La leyenda árabe cuenta que un pastor de Etiopía observaba en sus rebaños de cabra un comportamiento nerviosos por las noches, sorprendido el pastor relató a los monjes de tan extraño suceso y estos después de largas horas de ingerido algún tipo de planta. Al acompañar los monjes al pastor, descubrieron gran cantidad de arbustos cuyas hojas habían sido consumidas por las cabras. Tomaron los frutos de estas plantas y después de beberlos como infusión, pudieron realizar sus oraciones nocturnas tranquilamente sin tener sueño (SANCHEZ, 2005).

CASTAÑEDA (1997), refiere que el café es originario del continente africano, de Sudan y Etiopía. La variedad típica fue llevada del invernadero de Paris a Cayena en 1706; después llegó al Perú y se desarrolló en forma comercial en el Valle de Chanchamayo a partir de 1876. La clasificación taxonómica del café es la siguiente:

Taxonomía

Reino	: Vegetal
División	: Magnoliophita
Tipo	: Espermatofita
Sub tipo	: Angiosperma

Clase : Dicotyledoneae
Sub Clase : Gamnopétalas – inferováricos
Orden : Rubiales
Familia : Rubiaceae
Género : *Coffea*
Sub Género : *Eucofea*
Especie : *Coffea arábica*
Coffea canephora
Coffea libérica

SANCHEZ (2005), indica que las especies más conocidas son *Coffea arábica* y *Coffea canephora* que cubre el 95 % de la producción mundial; en tanto que CASTAÑEDA (1997) refiere que *C. Arábica* es conocida como “Arábica”, éste presenta el 70 % de la producción mundial y *C. canephora* es conocida como Robusta y representa el 30 % de la producción mundial.

El fruto de todas las variedades al principio es verde y al madurar se torna a rojo claro y luego rojo vinoso; pero la variedad caturra amarilla y Bourbón Amarillo maduran de color amarillo – anaranjado. Los cafés al madurar contienen en su pulpa dulce (mesocarpio) dos semillas que se unen por su cara lisa.

Presentan un surco, lo cual está envuelto por una membrana amarillenta, transparente y sólidamente adherido (tegumento) y luego recubierto por una capa córnea apergaminada que es el endocarpio, bien

desarrollado. También se encuentran frutos con una sola semilla la cual recibe el nombre de café perlado o caracolillo (BELTTZ y GROSCH, 1997).

La composición de las cerezas de café se muestra en el siguiente cuadro:

Cuadro 1. Composición del café cerezo

COMPONENTES	% (*)
Pulpa	43,2
Mucílago	11,8
Cascarillas	6,1
Café pilado	38,9

Fuente: * INCAP (1978) citado por HOYOS (2002).

2.1.1. Estado físico del café

Cereza madura

Se le denomina cereza madura al fruto recién cortado en su etapa óptima de madurez, antes de ser procesado en el beneficio húmedo. Cabe mencionar que el fruto maduro está compuesto por cuatro partes importantes (USAID, 2005); Pulpa (pericarpio) Mucílago (mesocarpio) Película plateada (perisperma) Cotiledones o semillas (endosperma).

Pergamino seco

Es la que proviene del proceso de la línea de secada en el beneficio húmedo, obteniéndose del resultado en los patios de 4 a 6 días de sol y en secadoras en un proceso aproximado de 24 horas de aire desecante continuo, el buen proceso en estas dos líneas dará como resultado un café parejo en

secamiento, con una humedad de 10 a 12% (en café oro), la cloración del pergamino es amarillo claro, limpio y con un aroma de trigo agradable (USAID, 2005).

Café oro verde

Es el café que resulta de la transformación del pergamino a oro, en el proceso del beneficio seco, obteniéndose del trillado, su presentación tiene que ser verde homogéneo (de verde jade a verde azulado), el porcentaje de humedad es de 10 a 12% (USAID, 2005). 2.5.4. Café tostado Es el producto resultante de someter el café oro a calor que transforma los almidones a azúcares o caramelización a través de la deshidratación, a lo que llamamos proceso de tostado (USAID, 2005).

2.1.2. Variedades de café cultivadas en el Perú

Variedad típica

Su origen, condiciones genéticas y las características externas que se toman, están de acuerdo en las conveniencias de tomar el nombre de típica bautizado por Craner, como prototipo para la descripción arábica. Esta variedad es más resistente a la variedad caturra, pero su etapa de crecimiento es mayor. Fue introducida en Brasil a fines del siglo XVIII, procedente de la Guyana francesa, esta es la variedad (HIDALGO, 2001).

Variedad Pache

Tiene su origen en Guatemala, en la finca “Brito” de Santa cruz de Naranjo, Santa Rosa; en 1949 don Elíseo Romero la descubrió y el Ing. José Ramírez la identificó como una posible mutación de la típica (HIDALGO, 2001).

Variedad Caturra

Fue descubierta en el estado de Minas Gerais, Brasil, como una posible mutación de Bourbón. Es una variedad de alta producción y requiere un buen manejo cultural y adecuada fertilización; de lo contrario se resiente mucho, bajo condiciones adversas del suelo y el ambiente (HIDALGO, 2001).

Variedad Catimor

Es el resultado del cruzamiento artificial entre las variedades Híbrido de timor y caturra. El catimor fue generado en el “Centro de Investigaciones sobre las Royas del Cafeto” Oeiras, Portugal, en 1959; el caturra original fue semilla caturra rojo de Angola. El objetivo del centro era obtener una variedad de alta producción resistente a la Roya (HIDALGO, 2001)

Variedad Catuai

Se generó en el Instituto agrónomo de Campinas en Brasil, en 1949, como frutos de trabajos de un grupo de investigadores bajo la dirección del genetista Alcides Carvalho. Es resultados de hibridaciones específicas con los progenitores Mundo Novo y caturra. Su comportamiento se hace honor a su nombre que es una voz tupi – Guarani que no tiene superlativos y en forma repetitiva dice “muy bueno” (HIDALGO, 2001).

2.2. Aspectos Químicos

2.2.1. Ácido clorogénico

Los principales son los ácidos clorogénicos en los que se incluyen diferentes grupos de compuestos e isómeros (ver Figura 1). Se forman por

esterificación de una molécula de ácido quínico y de una a tres moléculas de ácidos hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico y p-cumárico). Los principales grupos de ácidos clorogénicos presentes en el café verde son los ácidos cafeoilquínicos (80% del total de ácidos clorogénicos) dicafeoilquínicos y feruloilquínicos. Menos abundantes son los p-cumaroilquínicos y las mezclas de diésteres de ácidos cafeoil-feruloil-quínicos (Clifford, 1999; Clifford *et. al*, 2003). El más abundante de los ácidos clorogénicos del café es el 5-cafeoilquínico, que representa más del 60%, siendo por ello el más estudiado. Más recientemente se han encontrado también cantidades minoritarias de isómeros de ácidos dimetoxi-cinamoilquínico, dimetoxi-hidroxicinamoilquínico, dihidroxi-metoxicinamoilquínico, di-feruloilquínicos, di-p-cumaroilquínico, y diésteres mezclas de los anteriormente señalados ácidos hidroxicinámicos y ácidos metoxicinámicos (Stalmach *et. al*, 2011). Además, se han identificado al menos tres ácidos cinámicos en estado libre: ácido cafeíco, ácido ferúlico y ácido 3,4 dimetoxicinámico, y en cantidades minoritarias otros compuestos fenólicos como los cinamoil-aminoácidos (Clifford y Knight, 2004; Alonso-Salces *et. al*, 2009) formadas por conjugación de ácidos hidroxicinámicos con aminoácidos, o los cinamoil-glicósidos por conjugación con glicósidos (Clifford, 1985; Alonso-Salces *et. al*, 2009; Belitz *et. al*, 2009). Generalmente, los cafés verdes Robusta contienen cantidades más elevadas de ácidos clorogénicos que los cafés Arábica (STALMACH *et. al*, 2011).

2.2.2. Cafeína

La cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, sólido cristalino, blanco y de sabor amargo, que actúa como una droga psicoactiva y

estimulante. La cafeína fue descubierta en 1819 por el químico alemán Friedrich Ferdinand Runge: fue él quien acuñó el término *Koffein*, un compuesto químico en el café, el cual pasaría posteriormente al español como cafeína (CALLE, 2011)

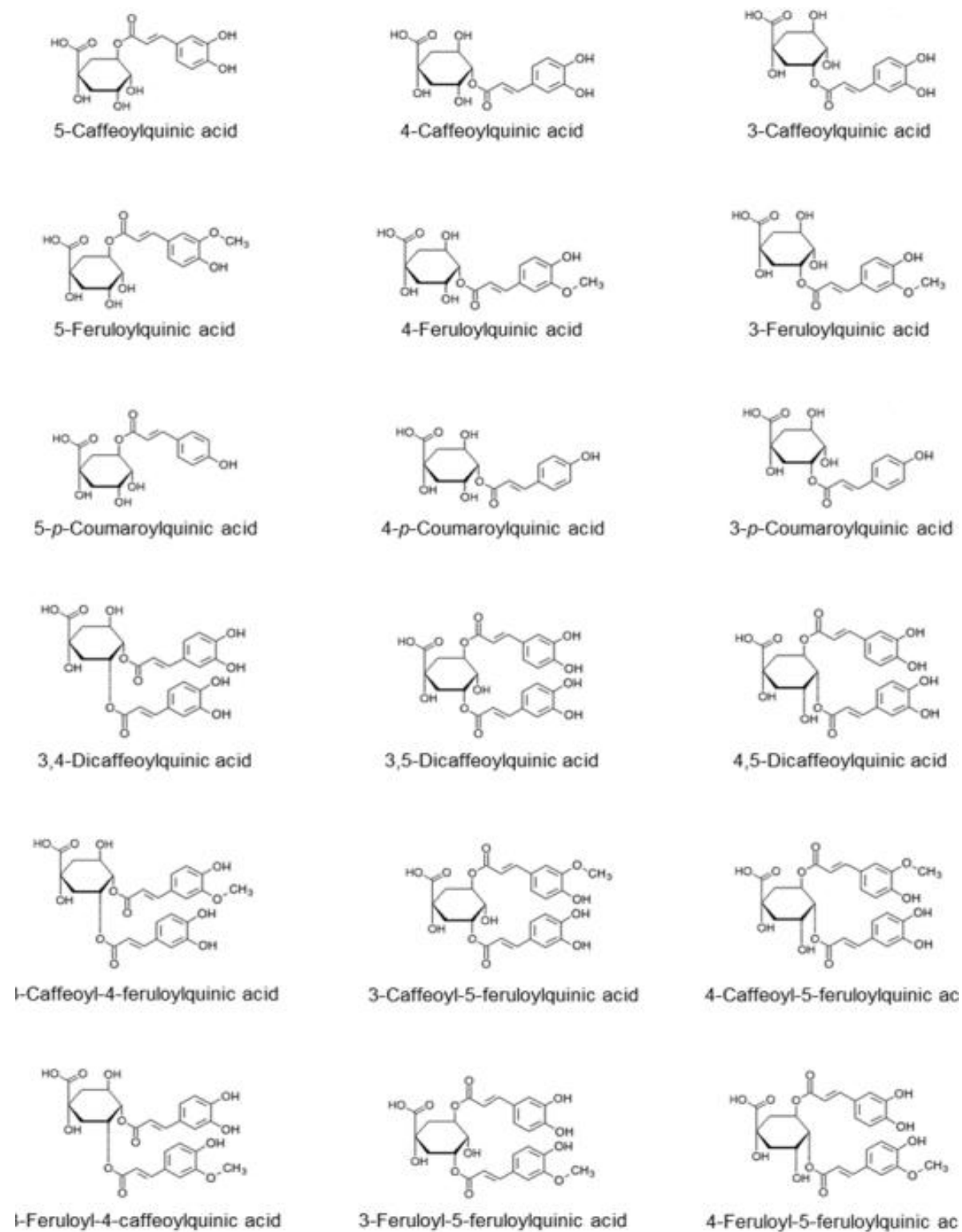


Figura 1. Estructura química de los principales ácidos clorogénicos del café

(Fuente: Ludwig, 2013).

Este alcaloide actúa como estimulante del sistema nervioso central y se encuentra presente también en forma natural en el té y el café (GOTTELAND M., SATURNINO V., 2007)

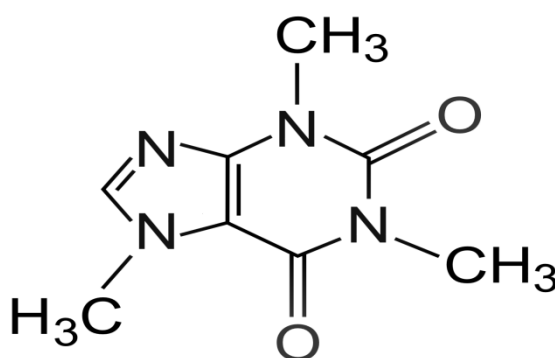


Figura 2. Formula química de la cafeína.

2.2.3. Ácido elágico

El ácido elágico es una molécula de naturaleza fenólica que puede estar presente en forma libre en algunas especies vegetales como producto del metabolismo de las mismas, o bien puede encontrarse a partir de sus precursores, los elagitaninos.

El subgrupo de los elagitaninos pertenece a un gran grupo de compuestos polifenólicos conocidos como taninos, que también provienen del metabolismo secundario de los vegetales. Los elagitaninos poseen en su estructura un grupo conocido como HHDP (6´6 dicarbonil 3´3, 4´4, 5´5 hexahidroxidifénico o bien, ácido hexahidroxidifénico), el cual es característico de los elagitaninos, y que cuando se encuentran en presencia de ácidos o bases fuertes se hidroliza y se libera el ácido HHDP de los elagitaninos, el cual,

sufre una reacción de lactonización espontánea que da origen a la molécula conocida como ácido elágico (Ascacio-Valdés *et al.*, 2013).

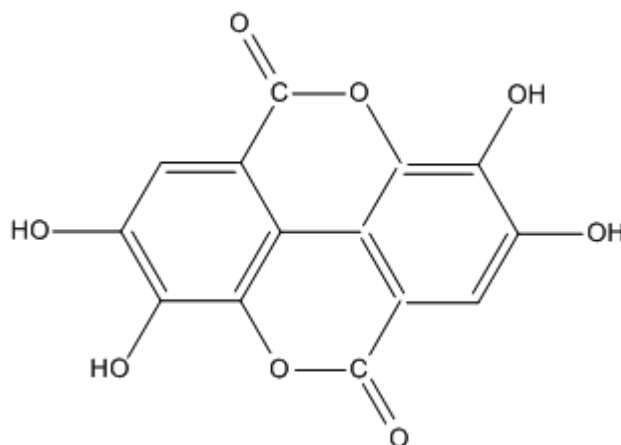


Figura 3. Estructura química del ácido elágico.

El ácido elágico (EA) es un compuesto fenólico natural, presente en frutas y frutos secos con los niveles más altos se encuentran en las frambuesas. Se ha estudiado intensamente por su papel beneficioso como un agente contra el cáncer y como un antioxidante. Reduce la peroxidación de lípidos de plasma y macrófagos aliviando el estrés oxidativo. También previene la inflamación endotelial y suprime la oxidación de la lipoproteína de baja (UMA *et al.*, 2011).

2.3. Azúcares reductores

Durante el proceso de fermentación se observa una disminución en los contenidos de azúcares reductores y totales en la fracción pulpa más testa, siendo este efecto más pronunciado durante los tres primeros días del proceso. Este descenso es atribuido a la emisión de exudado y a la fermentación

alcohólica. En relación al cotiledón se ha encontrado que estos azúcares reductores disminuyen durante la fermentación (PORTILLO, 2007).

2.4. Antioxidantes del café

Los antioxidantes evitan que se produzcan daños tisulares por radicales libres, al reducir su formación o eliminarlos una vez originados. Como muchos antioxidantes ingresan al organismo a través de los alimentos que los contienen, se recomienda el consumo de vegetales y frutas ricas en antioxidantes, no solo en las vitaminas antioxidantes, sino también en compuestos de naturaleza fenólica, aún más efectivos que las propias vitaminas antioxidantes. El café, como el té y el vino, contiene importantes antioxidantes fenólicos, tales como los ácidos clorogénico y cafeico, en algunos aspectos similares a las epicatequinas y taninos del té o las quercetinas del vino tinto, pero con diferentes estructuras químicas y, por tanto, distintas funciones metabólicas (GUTIERREZ, 2002).

En el café verde existe una gran cantidad y variedad de compuestos fenólicos, ejemplificados por los ácidos clorogénico, cafeico, fenílico y cumárico; pero al tostarse, se afecta marcadamente su composición en fenoles debido a la reacción de Maillard, lo cual le confiere un agradable sabor y aroma, y se originan pigmentos denominados melanoidinas, que le dan al café tostado su color característico. El ácido clorogénico es el mayor componente fenólico del café. (GUTIERREZ, 2002).

En otro estudio realizado en la Universidad de Navarra – España, se ha comprobado que la mayor capacidad antioxidante se presenta en los cafés molidos sometidos a tueste torrefacto, y que estas propiedades podrían

deberse al mayor contenido en compuestos pardos desarrollados durante el proceso de tueste, compuestos polifenólicos y cafeína. No obstante, tanto los componentes del café como del aroma se ven afectados tanto por el tipo de tueste como por el sistema de extracción (LOPEZ, 2008).

2.5. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las plantas, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas. Entre otras, intervienen en el crecimiento y reproducción de las plantas y en procesos defensivos frente a patógenos, predadores o incluso radiación ultravioleta. Los compuestos fenólicos presentan un anillo benceno hidroxilado como elemento común en sus estructuras moleculares, las cuales pueden incluir grupos funcionales como ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc. (MARTÍNEZ-VALVERDE *et al.*, 2000).

Aunque existe una gran variedad de compuestos fenólicos en las plantas (se conocen más de 8000), la mayor parte de ellos tienen como origen metabólico común la ruta del ácido siquímico (Ácido (3R,4S,5R)-3,4,5-trihidroxi-1-ciclohexen-1-carboxílico) y el metabolismo de los fenilpropanoides (ROBARDS *et al.*, 1999). Los fenilpropanoides simples poseen un esqueleto básico de 9 carbonos (C6-C3) y derivan de los aminoácidos fenilalanina y tirosina producidos en la ruta del ácido siquímico. Las distintas familias de compuestos fenólicos se caracterizan principalmente por el número de átomos de carbono de su esqueleto básico molecular.

- Ácidos cinámicos (C6-C3)

- Ácidos benzoicos (C6-C1 o C6-C2)
- Flavonoides (C6-C3-C6)
- Proantocianidinas o taninos condensados ((C6-C3-C6)_n)
- Estilbenos (C6-C2-C6)
- Cumarinas (C6-C3)
- Lignanós (C6-C3-C3-C6)
- Ligninas ((C6-C3)_n)

Así, los compuestos fenólicos comprenden desde moléculas simples como los ácidos benzoicos hasta polímeros complejos como las ligninas. Dentro de cada familia, el número de compuestos fenólicos existentes será más o menos variado. Por ejemplo, se conocen más 4000 flavonoides diferentes, distribuidos en varias subfamilias. Los compuestos fenólicos están presentes en todo el reino vegetal y sus cantidades y tipos varían en función de la especie vegetal y variedad, parte de la planta considerada (frutos, semillas, hojas, tallos, etc.), horas de exposición solar, grado de madurez, condiciones de cultivo, procesado y almacenamiento, etc. En los alimentos, los compuestos fenólicos habitualmente se presentan conjugados con azúcares como la glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa, o los ácidos glucurónico y galacturónico. También pueden unirse a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminos y lípidos.

En la actualidad este grupo de compuestos de origen vegetal presenta gran interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana. De hecho, desde 1990, varias organizaciones internacionales en el ámbito de la nutrición recomiendan un consumo diario de al menos 5

raiones de frutas y/o verduras para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (World Health Organization 1990; World Cancer Research Foundation and American Institute for Cancer Research 1997). Así, muchos de los efectos beneficiosos asociados al consumo de alimentos de origen vegetal se atribuyen en gran medida a los compuestos fenólicos (MANACH *et al.*, 2004). Además de las propiedades antioxidantes, a estos compuestos se les atribuyen actividades biológicas beneficiosas para salud. Entre estas destacan sus efectos vasodilatadores, anticarcinogénicos, antiinflamatorios, bactericidas, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, antivirales, inhibidores de enzimas pro oxidantes.

III.MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía– CIDBAM, en el área de HPLC, de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09° 17' 08" de Latitud Sur, a 75° 59' 52" de Latitud este ,con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84 % y temperatura media anual de 24°C.

3.2. Material vegetal

Las muestras de granos de café fueron proporcionadas por la Cooperativa Agraria Cafetalera Divisoria, las cuales comprenden muestras de café verde procedentes de las zonas de: Padre Abad, Monzón, Tocache y Rupa Rupa, considerando 3 pisos ecológicos con alturas de 1200, 1500 y 1800 msnm; de igual modo, se evaluaron mezclas comerciales de café oro para exportación (7) y café tostado-molido para venta nacional (7).

3.3. Equipos, materiales y reactivos

3.3.1. Equipos de laboratorio

- Equipo HPLC (Shimadzu Scientific, MD, USA.).
- Balanza analítica modelo ESJ-210-4 (Digital precisión).

- Estufa modelo ODH6- 9240A (TOMOS HeatingDrying Oven)
- Congelador FFV-2065FW (Frigidaire, USA)
- Desionizador modelo D 7035 (Barnstead)
- Agitador magnético modelo 625 standard (VWRTM hotplate/stirrer)
- Homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (Scientific industries SITM)
- Bañomariamodelo YCW-010E (Associated With Cannic, Inc, USA).
- Refrigeradora Icebeam Door Cooling LG GR-5392QLC.
- Espectrofotómetro UV visible modelo Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation) SN 2M6G261002.
- Centrifuga Hettich modelo MIKRO 22R.
- pH – metro Mettler Toledo SevenEasy, pH 0-14, T° 0-100°C SN 8513902.
- Empacadora Multivac modelo A 300/16.
- Refractómetro
- Bureta

3.3.2. Materiales

Materiales de vidrio

- Matraces erlenmeyer de 150, 250 mL.
- Vasos de precipitación de 50, 80, 100, 250 y 1000 mL.
- Pipetas graduadas de 10 mL.
- Micropipetas 0.5-10µL, 10 – 50 µL, 10– 100µL, 20– 200 µL y

100– 1000 μL .

- Tubos de ensayo Gene Mate® de 10 mL.
- Fiolas de 10, 50, 100, 500 y 1000 mL.
- Probetas graduadas de 10, 100, 250, 500 y 1000mL.

Otros materiales

- Tips, FISHERBRAND® (1000 y 200 μL).
- Microtubos (1,5 -2,00 mL)
- Filtro de membrana de 0,2 μm
- Microfiltro de jeringas de 0.2 μm
- Pinzas.
- Espátulas.
- Gradillas.

3.3.3. Reactivos y solventes

- Etanol (grado HPLC), Sigma Chemical
- Metanol (grado HPLC), Sigma Chemical
- Etanol al 99,99% Merck KGaA.
- Ácido acético glacial
- Agua destilada desionizada (H₂O dd).
- Ácido clorhídrico concentrado (HCl) Merk.
- Hidróxido de sodio (NaOH) sigma; pureza 99,5 %.
- Ácido gálico (C₇H₆O₅) Sigma Atdrichal 98,1%.
- Folin - ciocalteu phenol reagent Sigma Aldrich; 2N.
- Carbonato de Sodio (Na₂CO₃) ISO – Scharlau, p.a.

- Agua destilada desionizada (H₂O_{dd}).
- Agua destilada.
- Reactivo DNS.

3.4. Métodos de análisis

Humedad, método 931.04 (AOAC, 1995).

Cuantificación de polifenoles totales (SYMONEWICZ *et al.*, 2012; SULTANA *et al.*, 2012).

Cuantificación de antocianinas, se realizará por el método del pH diferencial (POO, 2005; SYMONEWICZ *et al.*, 2012).

Determinación de azúcares reductores (MILLER, 1959; GUSAKOV, 2011).

Capacidad de Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) (SCHERER, R.; GODOY, 2009).

Capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+}) (GOKMEN, *et. al*, 2009).

Determinación de cafeína por HPLC (NAZARUDDIN *et. al.*, 2001; F. LO COCO *et. al.*, 2007).

Determinación de ácido clorogénico, elágico y cafeico por HPLC (M. MADHAVA NAIDUPAPER *et al.*, 2008; MAURICIO NARANJO, *et al.*, 2011).

3.5. Metodología experimental

3.5.1. Acondicionamiento de la muestra y extracción de compuestos bioactivos

En la Figura 3, se muestra el procedimiento para realizar el tratamiento de las muestras, las cuales se almacenarán en el laboratorio a temperatura ambiente, para luego proceder a la extracción de compuestos bioactivos y análisis correspondientes.

Con cada muestra de café verde, tostado y molido se prepara una bebida de café en una cafetera de goteo, 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 los análisis y medidas de capacidad antioxidante (NARANJO, *et.al*, 2011; CID, 2013).

Las muestras de café verde y comerciales se tratarán como se muestra en la Figura 3.

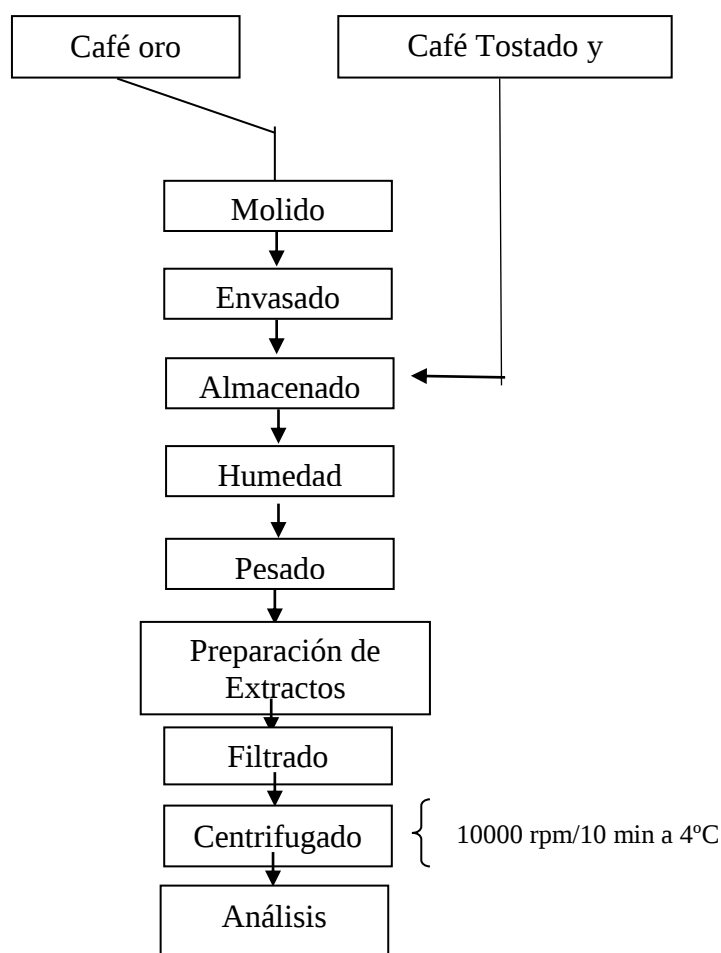


Figura 4. Preparación de los extractos acuosos.

3.5.2.Determinación de compuestos bioactivos

Polifenoles totales

Según el método Folin – Ciocalteu (AMAKURA, 2000), la cuantificación de polifenoles totales en granos de café verde y tostado se realizará según el método Folin – Ciocalteu (AMAKURA, 2000). Se realizó partiendo del extracto acuoso 100 mg/ mL (filtrado y centrifugado 10000 rpm/10min a 4°C) la dilución de trabajo 15 mg/mL, con 3 repeticiones por tratamiento. Se adicionó en los tubos para cada tratamiento 1580 µL de agua destilada, 20 µL de extracto diluido (15 mg/mL), 100 µL de fenol folin ciocalteu y finalmente 300 µL Na₂CO₃ al 20 % y se incubó por 2 horas luego se leyó la absorbancia a 700 nm, estos resultados se cuantificaron con una curva patrón realizada con ácido gálico expresándose en mg EAG/100 g.

Antocianinas

Cuantificación de antocianinas, se realizará por el método del pH diferencial (POO, 2005; SYMONOWICZ *et al.*, 2012).

•Preparación de la solución Buffer

Se prepararon dos soluciones buffer:

Buffer pH = 1: 125 mL de 0,2 M KCl y 375 mL de 0,2 M HCl y aforado a 1 L con agua desionizada.

Buffer pH = 4,5: 200 mL de 1 M CH₃COONa, 120 mL de 1 M HCl y 180 mL de H₂O desionizada y aforado a 1 L.

•Procedimiento de análisis

Para la cuantificación de antocianinas se empleará el extracto acuoso 100 mg/mL, en una cubeta de poliestireno se adicionará diferentes

volúmenes de muestra según los tratamientos. Las absorbancias obtenidas serán reemplazadas en la ecuación y expresadas en mg cianidina-3-glucósido/g muestra.

$$C(mg/g) = (A_{pH=1,0} - A_{pH=4,5}) * 482,82(1000/24825) * DF$$

Donde:

$C(mg/g)$ = mg de cianidina-3-glucósido por g de muestra seca.

PM = La masa molecular de la cianidina-3-glucósido es **484,82**.

AbM = La absorptividad molar a 510 nm, a pH = 1,0; pH = 4,5 es la corrección de la formación de productos de degradación es **24825**

DF = Factor de dilución.

Capacidad antioxidante

Capacidad de Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), método descrito por Brand-Williams (*et al.* (1995), Modificado por SCHERER, R.; GODOY, (2009).

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método del DPPH, se usará el reactivo 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) el que se disolverá en metanol al 96%, este radical libre (DPPH) es estable y se utilizará como indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto que posea actividad antioxidante. El principio del método DPPH consistió en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (extractos)

para generar el compuesto difenylpicrylhydrazine y una especie radical. En este proceso, la reacción desarrolló un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia. Se preparó un extracto madre de 2 g de café en 10 mL de agua, a partir de allí se utilizaron concentraciones del extracto acuoso de los granos de café de 1.25, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 ug/g café. La reacción se desarrolló en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm), con un volumen de 25 µl de muestra y 975 µl de radical DPPH. Luego inmediatamente se procederá a la lectura de absorbancia en un espectrofotómetro, las lecturas se registrarán a 515 nm por espacio de 10 minutos. El porcentaje de inhibición del radical DPPH fue calculado con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = [(Ac - Am)/Ac] \times 100$$

Dónde:

Ac: Absorbancia de los controles.

Am: Absorbancia de la muestra en función del tiempo (10 minutos).

La actividad antioxidante fue expresada en IC₅₀ para ello se graficó concentración versus porcentaje de inhibición con las cuales se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal sobre la cual se determinó el valor IC₅₀.

Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar con arreglo factorial, 4A3B con tres repeticiones y en los niveles donde existió significación estadística se aplicó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+})

Se realizó con el reactivo ABTS (GOKMEN, *et. al*, 2009). El método consiste en medir la capacidad de la muestra para estabilizar el respectivo radical químico en medio acuoso. Según la metodología desarrollada por PELLIGRINI *et al.* (1999) el radical ABTS^{o+} se forma tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (140mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16h. Una vez formado el radical ABTS^{o+} se diluye con metanol hasta obtener un valor de absorbancia entre 0,7 a 1.2. El extracto madre se preparó empleando 2 g de café en 10 mL de agua, a partir del cual se tomaron concentraciones del extracto acuoso de los granos de café (0.25, 0.75, 2.5, 5.0, 6.5 ug/g café). La reacción se desarrolló en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm), con un volumen de 10 µl de muestra y 990 µl del radical ABTS^{o+}. La disminución de la absorbancia fue registrada a 734 nm por espacio de 5 minutos. El porcentaje de inhibición del radical fue calculado con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición ABTS}^{o+} = [(Ac - Am)/Ac] \times 100$$

Dónde:

Ac: Absorbancia de los controles.

Am: Absorbancia de la muestra en función del tiempo (5 minutos).

La actividad antioxidante fue expresada en IC₅₀ para ello se graficó concentración versus porcentaje de inhibición con las cuales se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal sobre la cual se determinará el valor del IC₅₀.

Análisis por HPLC

Por el método de cromatografía HPLC-FR se determinarán los ácidos clorogénico, elágico, cafeico y cafeína (C. A. B. DE MARIA, 1995; NARANJO *et al.*, 2011).

El análisis cromatográfico se realizó usando un cromatógrafo líquido de fase reversa LC-10 AT VP Shimadzu Scientific, MD, USA., que consta de un desgasificador Shimadzu, DGU – 14A; un inyector manual Rheodyne 7725i; un módulo de administración de solvente que incluye una bomba cuaternaria, Shimadzu LC – 10 AT; un horno columna Shimadzu CTO – 10AS; un detector UV-Vis Shimadzu (272 nm), SPD_10AV, usado para determinar la pureza del pico cromatográfico; interfase SCL 10AV. La identificación e integración de picos se realizó a través del software Shimadzu, Class – VP, versión 6.13 SP2. La fase móvil fue agua bidestilada a una velocidad de flujo de 0,5 ml / min. La cuantificación fue por comparación con los estándares de las áreas de la cafeína y de los ácidos clorogénico, elágico, cafeico.

3.5.3. Diseño experimental

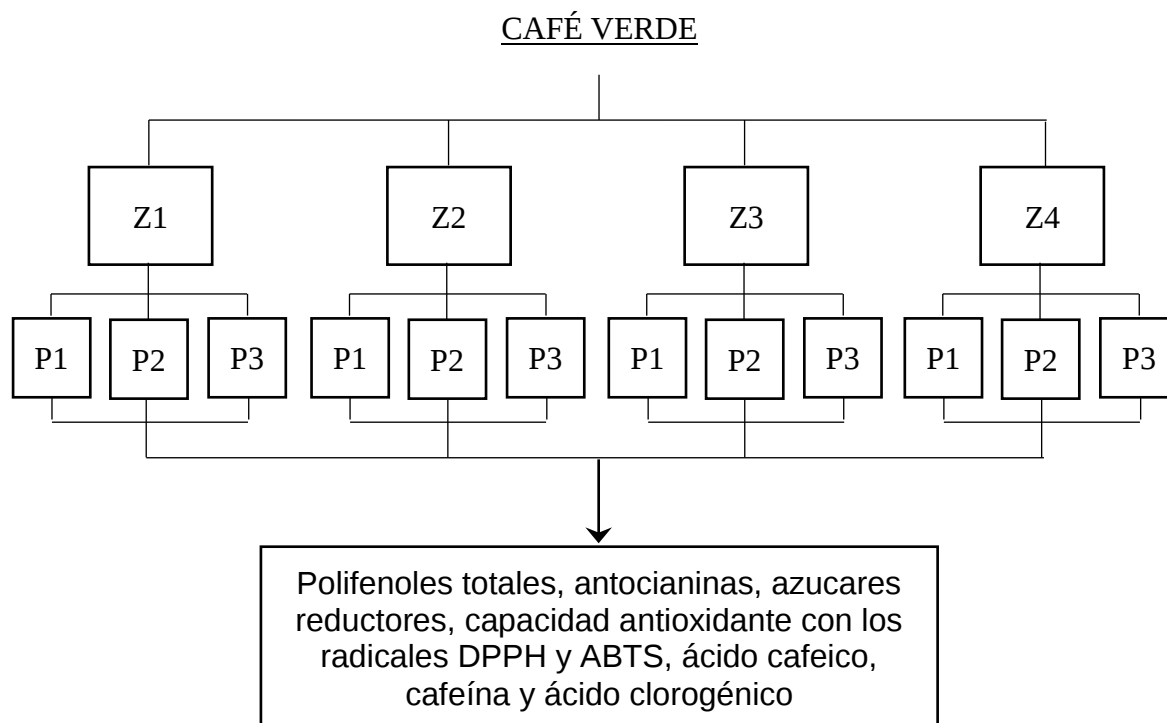


Figura 5. Determinación de compuestos bioactivos en granos de café oro.

Z es el factor zona: Z1=Padre Abad Z2=Monzón, Z3=Tocache, Z4=Rupa Rupa,.

P es el factor altitud (m): P1=1200, P2=1500, P3= mayor e igual a 1800.

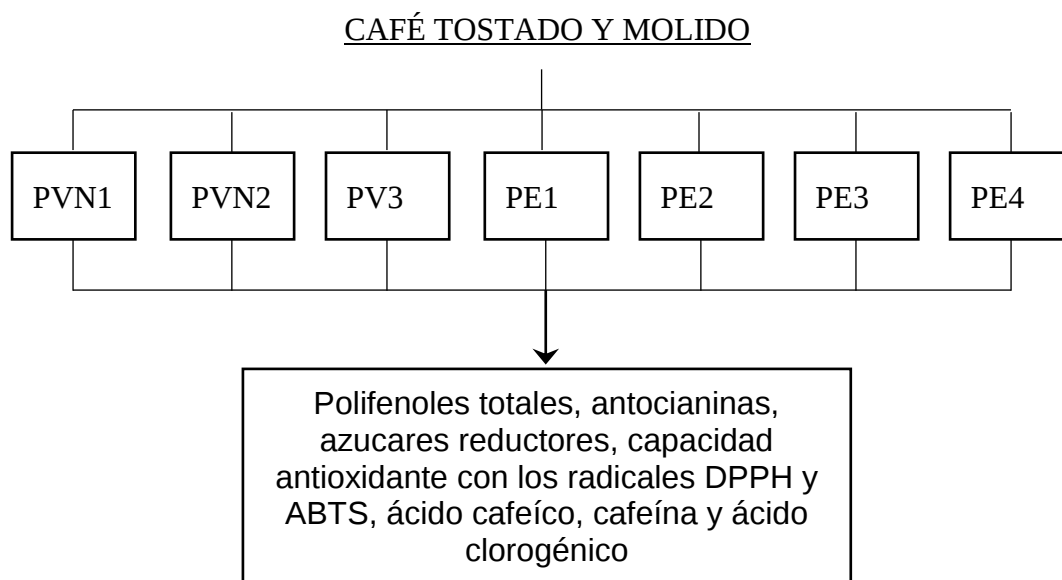


Figura 6. Determinación de compuestos bioactivos en mezclas de cafés tostados y molidos.

PVN es la Muestra café oro, producto venta nacional: PVN1, PVN2, PVN3.

PE es la Muestra café tostado-molido, producto de exportación: PE1, PE2, PE3, PE4.

3.5.4. Análisis estadístico

Los resultados del diseño experimental que se muestra en la Figura 5, fue evaluado estadísticamente empleado un diseño completo al azar DCA, con arreglo factorial 4A (Zona geográfica) x 3B (Altura), considerando tres repeticiones; empleándose la prueba de Tukey (DE MENDIBURÚ, 2007).

Los resultados del diseño experimental que se muestra en las Figura 6, fue evaluado estadísticamente empleado un diseño completo al azar DCA, considerando tres repeticiones; empleándose la prueba de Tukey (DE MENDIBURÚ, 2007).

Modelo matemático:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + E_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Contenido de polifenoles totales, antocianinas, azúcares reductores, ácido cafeíco, cafeína, ácido clorogénico, ácido elágico.

μ = Media general.

α_i = Es el efecto del i – ésimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental.

El análisis estadístico se realizó empleando el software STATGRAPHICS CENTURION, versión 15.2.06.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Determinación de compuestos bioactivos

4.1.1. Polifenoles totales

Para la determinación de Polifenoles se realizó la curva estándar de ácido gálico, resultados que muestran en el Cuadro 2 y su representación gráfica en la Figura 6.

Cuadro 2. Resultados de Absorbancia medidos a 765 nm, para elaborar la curva estándar de ácido gálico.

Estándar	Concentración (mg/mL) ácido gálico	Absorbancia promedio
1	0,200	0,5883
2	0,175	0,5053
3	0,150	0,4683
4	0,125	0,4170
5	0,100	0,3373
6	0,075	0,2770

La Figura 6, nos muestra la representación típica de la curva estándar del ácido gálico, en base a la cual se realizó la cuantificación de polifenoles totales en las diferentes muestras de granos de café y se expresó como equivalentes de ácido gálico (VIGNOLI *et al.*, 2011).

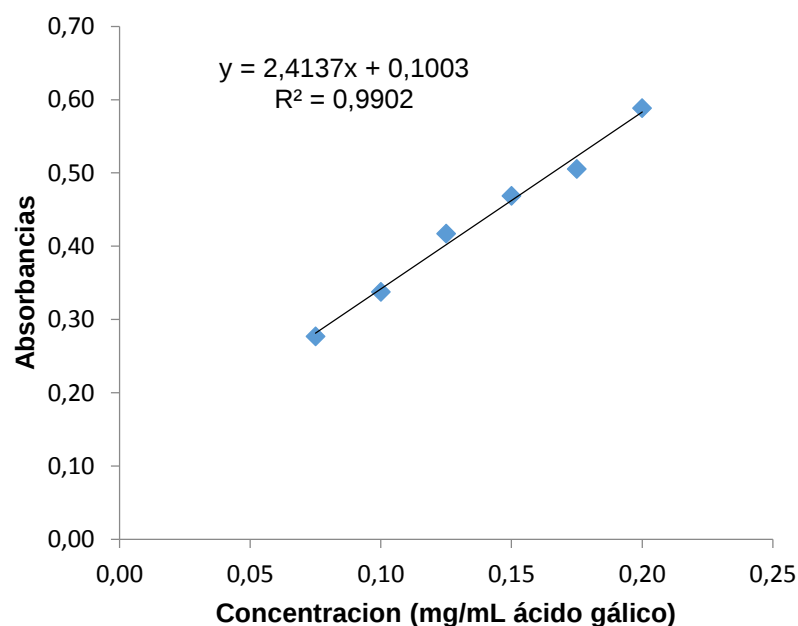


Figura 7. Curva estándar de ácido gálico para determinar polifenoles totales.

En el Cuadro 3, se puede apreciar que el mayor contenido de polifenoles totales se encontró en las muestras de café procedentes de las zonas de Padre Abad y Rupa Rupa y a las alturas de 1200 y 1800 msnm, estos valores fueron iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$), pero superan a las otras zonas y altitudes de siembra; los valores encontrados fluctuaron entre 3.42 ± 0.07 y 3.91 ± 0.01 g EAG/100 g. Los contenidos de polifenoles totales determinados son similares a lo reportado en investigaciones realizadas, con un valor de 3.238 g EAG/100g (KHELIL *et al.*, 2016).

Cuadro 3. Contenido de polifenoles totales en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	g EAG/100 g
Padre Abad	1800	UA	3,62 ± 0,08 ^{aa}
	1500	UM	2,80 ± 0,12 ^{ab}
	1200	UB	3,91 ± 0,10 ^{aa}
Monzón	1800	MA	2,68 ± 0,19 ^{ba}
	1500	MM	2,90 ± 0,08 ^{bb}
	1200	MB	3,36 ± 0,28 ^{ba}
Tocache	1800	TA	3,67 ± 0,05 ^{ca}
	1500	TM	2,38 ± 0,12 ^{cb}
	1200	TB	2,25 ± 0,11 ^{ca}
Rupa Rupa	1800	HVA	3,42 ± 0,07 ^{aa}
	1500	HVM	2,72 ± 0,08 ^{ab}
	1200	HVB	3,70 ± 0,02 ^{aa}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 36, Tukey (p ≤ 0.05).

En el Cuadro 04, se muestran los resultados del contenido de polifenoles totales de muestras de blends de café oro, café tostado y molido; de exportación (TE, MISTI, MOUNTEIN, A2C) y de venta nacional (Q80, Q85, Q90). El mayor contenido de polifenoles totales se encontró en los blends TE (3.44 ± 0.07 g EAG/100 g) y MOUNTEIN (3.57 ± 0.17 g EAG/100 g), estos valores son iguales estadísticamente (Tukey, p ≤ 0.05), pero superan a las

otras mezclas. Estos contenidos de polifenoles totales son superiores al de 2.298 g EAG/100 g (KWAK, 2017).

Cuadro 4. Contenido de polifenoles **totales** en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.

Muestra Blend	Café Oro	Café tostado Molido
	g EAG/100 g	g EAG/100 g
TE	3,44 ± 0,07 ^a	0,25 ± 0,11 ^a
QA2C	2,72 ± 0,11 ^c	0,39 ± 0,13 ^a
Q90	3,10 ± 0,03 ^{bc}	0,31 ± 0,12 ^a
Q80	1,72 ± 0,14 ^e	0,52 ± 0,14 ^a
Q85	2,37 ± 0,05 ^d	0,27 ± 0,11 ^a
MISTY	2,93 ± 0,05 ^b	0,57 ± 0,03 ^a
MOUNTEIN	3,57 ± 0,17 ^a	0,54 ± 0,17 ^a

Los valores representan el promedio ± DS, n = 21, Tukey (p ≤ 0.05).

4.1.2. Antocianinas

En el Cuadro 5, se puede apreciar que el contenido de antocianinas no presentó diferencias estadísticas considerando las zonas y las altitudes de siembra ($p \leq 0.05$), los contenidos variaron entre 7.521 ± 0.001 mg/mL a 61.4230 ± 0.011 mg de cianidin 3 glucosido / L. Los contenidos de antocianinas determinados son similares a lo reportado en investigaciones realizadas con café arábica durante el proceso de maduración, donde el contenido varió entre 12.88 ± 0.18 – 63.14 ± 0.28 de cianidin 3 glucosido /L,

para café con grado de maduración verde a maduro respectivamente (PUERTAS-MEJIA *et al.*, 2012).

Cuadro 5. Contenido de antocianinas en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	mg de cianidin 3 glucosido /L
Padre Abad	1800	UA	23,817 ± 0,005 ^a
	1500	UM	20,057 ± 0,007 ^a
	1200	UB	25,071 ± 0,004 ^a
Monzón	1800	MA	28,831 ± 0,002 ^a
	1500	MM	36,352 ± 0,002 ^a
	1200	MB	7,521 ± 0,001 ^a
Tocache	1800	TA	25,071 ± 0,004 ^a
	1500	TM	43,874 ± 0,002 ^a
	1200	TB	61,423 ± 0,011 ^a
Rupa Rupa	1800	HVA	12,535 ± 0,010 ^a
	1500	HVM	23,817 ± 0,006 ^a
	1200	HVB	47,634 ± 0,008 ^a

Los valores representan el promedio ± DS, n = 36, Tukey ($p \leq 0.05$).

En el Cuadro 6, se puede apreciar que el mayor contenido de antocianinas lo presentaron las muestras de los blends de café oro Q90 (70.198 ± 0.001 mg de cianidin 3 glucosido /L), los valores encontrados fueron similares estadísticamente ($p \leq 0.05$) (PUERTAS-MEJIA *et al.*, 2012).

Cuadro 6. Contenido de antocianinas en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.

Muestra	Café Oro
	Mg de cianidin 3 glucosido / L
TE	66,437 ± 0,016 ^a
A2C	62,677 ± 0,007 ^a
Q90	70,198 ± 0,001 ^a
Q80	21,310 ± 0,002 ^a
Q85	56,409 ± 0,001 ^a
MISTY	18,803 ± 0,025 ^a
MOUNTEIN	32,592 ± 0,006 ^a

Los valores representan el promedio ± DS, n = 14, Tukey (p ≤ 0.05).

4.1.3. Azúcares reductores

En el Cuadro 7, se puede apreciar que el mayor contenido de azúcares reductores se encontró en las muestras de café de la zona de Rupa Rupa, a un altura de siembra de 1200 msnm, con un contenido de $0.66 \pm 0.02\%$ (Tukey, $p \leq 0.05$). No se encontró referencias sobre contenidos de azúcares reductores, pero se sabe que el café fresco contiene entre 6 – 7% de sacarosa, 0.11% de fructosas, 0.05% de glucosa (KLEINWÄCHTER, M.; SELMAR, D., 2010), los contenidos de azúcares reductores encontrados, podrían estar correlacionados con la degradación de la sacarosa, como producto de la fermentación. También se puede apreciar que en todas las

zonas, el contenido de azúcares reductores tiene una tendencia a disminuir conforme se incrementa la altura de los pisos ecológicos.

Cuadro 7. Contenido de azúcares reductores en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	%
Padre Abad	1800	UA	0,36 ± 0,02 ^{bc}
	1500	UM	0,47 ± 0,01 ^{bb}
	1200	UB	0,54 ± 0,02 ^{ba}
Monzón	1800	MA	0,36 ± 0,01 ^{bc}
	1500	MM	0,58 ± 0,01 ^{bb}
	1200	MB	0,47 ± 0,00 ^{ba}
Tocache	1800	TA	0,41 ± 0,01 ^{bc}
	1500	TM	0,44 ± 0,01 ^{bb}
	1200	TB	0,56 ± 0,01 ^{ba}
Rupa Rupa	1800	HVA	0,38 ± 0,01 ^{ac}
	1500	HVM	0,46 ± 0,01 ^{ab}
	1200	HVB	0,66 ± 0,02 ^{aa}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 36, Tukey (p≤ 0.05).

En el Cuadro 08, se muestran los resultados del contenido de azúcares reductores de muestras de blends de café oro, café tostado y molido. El mayor contenido de azúcares reductores se encontró en los blends de café

MISTY y MOUNTEIN, con valores de $0.59 \pm 0.03\%$ y $0.59 \pm 0.02\%$, para café oro y destacó la muestra A2C para café tostado molido, con un valor de $0.94 \pm 0.01\%$, estos contenidos encontrados en café oro, fueron iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$).

Cuadro 8. Contenido de azúcares reductores en la muestras de café oro, café tostado y molido según tipo de blend.

Muestra	Café Oro	Café Tostado Molido
	%	%
TE	$0,50 \pm 0,02^{cd}$	$0,93 \pm 0,02^{ab}$
A2C	$0,45 \pm 0,03^d$	$0,94 \pm 0,01^a$
Q90	$0,58 \pm 0,01^{ab}$	$0,84 \pm 0,04^{abc}$
Q80	$0,52 \pm 0,01^{bc}$	$0,81 \pm 0,04^c$
Q85	$0,52 \pm 0,01^{bc}$	$0,87 \pm 0,05^{abc}$
MISTY	$0,59 \pm 0,03^a$	$0,82 \pm 0,04^{bc}$
MOUNTEIN	$0,59 \pm 0,02^a$	$0,92 \pm 0,05^{abc}$

Los valores representan el promedio $\pm$ DS, n = 21, Tukey ($p \leq 0.05$).

4.1.4. Capacidad antioxidante radicales DPPH y ABTS

Se conoce que el café es una buena fuente de antioxidantes y contiene flavonoides. La presencia de antioxidante retardará o evitará la oxidación de otros productos químicos. La oxidación puede simplificarse como ganancia de oxígeno y pérdida de electrones. Por otra parte, los antioxidantes

pueden estar presentes en dos formas que son antioxidantes naturales y antioxidantes sintéticos. Los antioxidantes naturales incluyen flavonoides, fenólicos, tocoferoles (Vitamina E) y también ácido ascórbico. Sobre el contenido de cafeína y ácido clorogénico, Arábica generalmente tiene menos cantidad de cafeína que es aproximadamente 1,2% y 5,5 a 8,0% de ácido clorogénico, mientras que Robusta tiene 2,2% de cafeína y 7,0-10,0% de ácido clorogénico. El procesamiento posterior a la cosecha da efecto a la composición química de las semillas de café especialmente en componentes solubles en agua como azúcar, cafeína, trigonelina y ácido clorogénico (SIVA, 2016)

En el Cuadro 9, se puede apreciar que la mayor capacidad antioxidante lo presentaron los cafés de la zona de Monzón, en combinación con las altitudes de 1800 y 1200 msnm, con un valor IC_{50} de 3.5670 ± 0.43 y $4.7425 \pm 0.37 \mu\text{g/g}$ café, respectivamente, estos valores fueron iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$); pero superan a las otras zonas y altitudes de siembra. Se investigó diversas especies de café y de diferentes procedencias, se concluyó que el café verde representa una fuente importante de polifenoles y metilxantinas, con alta capacidad antioxidante (BAEZA *et al.*, 2016).

Cuadro 9. Capacidad antioxidante frente al radical DPPH de las muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	IC ₅₀ µg / g café
Padre Abad	1800	UA	5,2508 ± 0,02 ^{ba}
	1500	UM	5,0211 ± 0,12 ^{bb}
	1200	UB	4,4857 ± 0,35 ^{ba}
Monzón	1800	MA	3,5670 ± 0,43 ^{aa}
	1500	MM	4,8991 ± 0,28 ^{ab}
	1200	MB	4,7425 ± 0,37 ^{aa}
Tocache	1800	TA	3,8682 ± 0,55 ^{aba}
	1500	TM	5,5768 ± 0,34 ^{abb}
	1200	TB	4,0536 ± 0,41 ^{aba}
Rupa Rupa	1800	HVA	4,4323 ± 0,33 ^{aba}
	1500	HVM	4,5258 ± 0,29 ^{abb}
	1200	HVB	4,7458 ± 0,16 ^{aba}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 36, Tukey (p ≤ 0.05).

En el Cuadro 10, se muestran los resultados de la capacidad antioxidante de muestras de blends de café oro, café tostado y molido; de exportación (TE, MISTI, MOUNTAIN, A2C) y de venta nacional (Q80, Q85, Q90). La mayor capacidad antioxidante se encontró en el blends A2C, como café oro o café tostado molido con valores de 2.9562 ± 0.05 ug / g café y 4.37±0.35 ug / g café, estos valores superan estadísticamente (Tukey, p ≤ 0.05)

a las otras muestras; la disminución en la capacidad antioxidante es debido a la degradación de compuestos antioxidantes debido al tostado, esta afirmación coincide con lo indicado en trabajos realizados en café y el efecto del tostado (OPITZ *et al.*, 2016). La muestra Q85 ocupó el segundo lugar en capacidad antioxidante.

Cuadro 10. Capacidad antioxidante frente al radical DPPH en la muestras de café oro, café tostado y molido, según tipo de blend.

Muestra	Café Oro	Café Tostado Molido
	IC ₅₀ µg / g café	IC ₅₀ µg / g café
TE	3,9291 ± 0,12 ^{bcd}	5,01 ± 0,14 ^{ab}
A2C	2,9562 ± 0,05 ^a	4,37 ± 0,35 ^a
Q90	3,9920 ± 0,11 ^{cd}	4,87 ± 0,16 ^{ab}
Q80	3,8327 ± 0,00 ^{bc}	5,06 ± 0,21 ^{ab}
Q85	3,7668 ± 0,05 ^b	5,43 ± 0,03 ^b
MISTY	3,9526 ± 0,04 ^{bcd}	5,24 ± 0,34 ^b
MOUNTEIN	4,1071 ± 0,01 ^d	5,08 ± 0,52 ^{ab}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 21, se utilizó la prueba de Tukey (p ≤ 0.05).

En el Cuadro 11, se puede apreciar que la mayor capacidad antioxidante lo presentaron los cafés de las zonas de Monzón, Tocache y Padre Abad, en combinación con la altitud de 1800 msnm, la combinación con el mayor capacidad antioxidante IC₅₀ fue Padre Abad a la altitud de 1800 msnm con un valor de 2.0570 ± 0.15 µg/g café, este valor fue igual estadísticamente

(Tukey, $p \leq 0.05$); pero supera a las otras zonas y altitudes de siembra. Se sabe que el café verde de diversas especies y de diferentes procedencias, representan una fuente importante de polifenoles y metilxantinas, con alta capacidad antioxidante (BAEZA *et al.*, 2016).

Cuadro 11. Capacidad antioxidante frente radical ABTS en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	IC ₅₀ µg / g café
Padre Abad	1800	UA	2,0570 ± 0,15 ^{aa}
	1500	UM	3,4095 ± 0,60 ^{ab}
	1200	UB	4,2427 ± 0,54 ^{ab}
Monzón	1800	MA	2,5847 ± 0,16 ^{aa}
	1500	MM	2,9813 ± 0,30 ^{ab}
	1200	MB	3,2706 ± 0,30 ^{ab}
Tocache	1800	TA	2,5903 ± 0,26 ^{aa}
	1500	TM	3,4939 ± 0,30 ^{ab}
	1200	TB	3,2880 ± 0,44 ^{ab}
Rupa Rupa	1800	HVA	3,8286 ± 0,39 ^{ba}
	1500	HVM	3,9490 ± 0,91 ^{bb}
	1200	HVB	4,1168 ± 0,61 ^{bb}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 36, se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

En el Cuadro 12, se muestran los resultados de la capacidad antioxidante de muestras de blends de café oro, café tostado y molido; de

exportación (TE, MISTI, MOUNTEIN, A2C) y de venta nacional (Q80, Q85, Q90). La mayor capacidad antioxidante se encontró en el café oro Q80 con un valor de IC_{50} de 2.7921 ± 0.42 $\mu\text{g} / \text{g}$ café y en los blends A2C, MOUNTEIN, TE y Q90, como café tostado molido con valores entre 9.8825 ± 0.19 y 9.9700 ± 0.18 $\mu\text{g} / \text{g}$ café, estos valores superan estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$) a las otras muestras;

Cuadro 12. Capacidad antioxidante frente al radical ABTS en la muestras de café oro, café tostado y molido, según tipo de blends.

Muestra	Café Oro	Café Tostado Molido
	IC_{50} $\mu\text{g} / \text{g}$ café	IC_{50} $\mu\text{g} / \text{g}$ café
TE	$5,2541 \pm 0,15^b$	$9,9423 \pm 0,54^a$
A2C	$4,7819 \pm 0,06^b$	$9,8825 \pm 0,19^a$
Q90	$4,1835 \pm 1,45^{ab}$	$14,9563 \pm 0,97^b$
Q80	$2,7921 \pm 0,42^a$	$14,1097 \pm 0,30^b$
Q85	$4,7334 \pm 0,11^b$	$15,0277 \pm 0,12^b$
MISTY	$4,6826 \pm 0,19^b$	$9,9700 \pm 0,18^a$
MOUNTEIN	$4,5294 \pm 0,09^b$	$9,9009 \pm 0,29^a$

Los valores representan el promedio $\pm$ DS, $n = 21$, se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

4.1.5. Análisis por HPLC

Los compuestos estudiados mediante el análisis por HPLC, fueron el ácido cafeico, cafeína y ácido clorogénico (ACG). La bebida de café es rica en sustancias bioactivas, tales como ácido nicotínico, trigonelina, ácido quinolínico, ácido tánico, ácido pirogalánico y especialmente cafeína (Hečimović *et al.*, 2011). Los CGA son los principales compuestos fenólicos del café. Son ésteres de ácidos trans-cinámicos, como los ácidos cafeico, ferúlico y p-cumárico, con ácido (-) quinico (QA). Las principales clases de CGA en el café verde son los ácidos cafeoilquínicos (CQA), los ácidos dicaffeoylquínicos (diCQA) y los ácidos feruloylquínicos (FQA), con al menos tres isómeros por clase. Se sabe que el contenido total de CGA en los granos de café verde puede variar en gran medida según las especies y el grado de maduración. Además, las prácticas agrícolas, el clima y la composición del suelo también pueden contribuir a los cambios en el contenido y la distribución de CGA (MONTEIRO, M. C.; FARAH, A., 2012).

En el Cuadro 13, se puede apreciar que el mayor contenido de ácido cafeico se encontró en las muestras procedentes de la zona de Padre Abad y a la altura de 1200 msnm con un valor de 6.8712 ± 0.0068 g de ácido/100 g muestra (Tukey, $p \leq 0.05$). El contenido de ácido cafeico determinado es superior al encontrado en investigaciones realizadas, donde obtuvieron valores de 0.8 – 1.4 % para el café Arábica y 1.7 – 4.0 % para el café Robusta (HEČIMOVIĆ *et al.*, 2011).

Cuadro 13. Contenido de ácido cafeico en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	Ácido cafeico g / 100 g
Padre Abad	1800	UA	5,7510±0,0007 ^{bb}
	1500	UM	5,3084±0,0015 ^{bc}
	1200	UB	5,5328±0,0005 ^{ba}
Monzón	1800	MA	5,3962±0,0009 ^{bb}
	1500	MM	5,6752±0,0011 ^{bc}
	1200	MB	5,5518±0,0032 ^{ba}
Tocache	1800	TA	5,2578±0,0009 ^{cb}
	1500	TM	5,1378±0,0002 ^{cc}
	1200	TB	5,2275±0,0047 ^{ca}
Rupa Rupa	1800	HVA	6,1318±0,0058 ^{ab}
	1500	HVM	5,5799±0,0052 ^{ac}
	1200	HVB	6,8712±0,0068 ^{aa}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 24, se utilizó la prueba de Tukey (p≤ 0.05).

En el Cuadro 14, se muestran los resultados del contenido de ácido cafeico de muestras de blends de café oro, café tostado y molido; de exportación (TE, MISTI, MOUNTEIN, A2C) y de venta nacional (Q80, Q85, Q90). El mayor contenido de ácido cafeico se encontró en los blends de café oro MISTI (6.9380±0.0031 g ácido cafeico/100 g) y Q80 (3.44 ± 0.07 g ácido cafeico/100 g) y como café tostado y molido A2C, MOUNTEIN, MISTI y TE, con

valores que variaron entre 5.9546 ± 0.0112 - 5.7005 ± 0.0125 g ácido cafeico / 100 g, estos valores son iguales estadísticamente (Tukey, $p \leq 0.05$), pero superan a las otras mezclas. Estos contenidos de ácido cafeico son superiores al reportado en otra investigación (HEČIMOVIĆ *et al.*, 2011).

Cuadro 14. Contenido de ácido cafeico en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.

Muestra	Café Oro	Café Tostado Molido
	g ácido cafeico / 100 g	g ácido cafeico / 100 g
TE	$5,6577 \pm 0,0155^c$	$5,7332 \pm 0,0056^{abc}$
QA2C	$5,7482 \pm 0,0042^c$	$5,9546 \pm 0,0112^a$
Q90	$6,0243 \pm 0,0103^{bc}$	$5,5643 \pm 0,0023^{bc}$
Q80	$6,4569 \pm 0,0255^{ab}$	$5,5419 \pm 0,0049^c$
Q85	$5,9512 \pm 0,0220^{bc}$	$5,5305 \pm 0,0040^{bc}$
MISTY	$6,9380 \pm 0,0031^a$	$5,8613 \pm 0,0111^{ab}$
MOUNTEIN	$5,9660 \pm 0,0009^{bc}$	$5,7005 \pm 0,0125^{abc}$

Los valores representan el promedio $\pm$ DS, n = 14, se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

En el Cuadro 15, se puede apreciar que el mayor contenido de cafeína se encontró en las muestras procedentes de la zona de Padre Abad y a la altura de 1800 y 1200 msnm con valores de 3.7065 ± 0.18 y 3.5718 ± 0.05 g de cafeína/100 g muestra (Tukey, $p \leq 0.05$). El contenido de cafeína encontrado fue superior al encontrado en investigaciones realizadas, donde obtuvieron valores de 0.8 – 1.4 % para el café Arábica y 1.7 – 4.0 % para el café Robusta (HEČIMOVIĆ *et al.*, 2011).

Cuadro 15. Contenido de cafeína en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	Cafeína g / 100 g
Padre Abad	1800	UA	3,1393±0,02 ^{ba}
	1500	UM	3,5224±0,03 ^{ba}
	1200	UB	3,2509±0,08 ^{bb}
Monzón	1800	MA	3,3315±0,00 ^{ba}
	1500	MM	3,2385±0,03 ^{ba}
	1200	MB	3,1749±0,06 ^{bb}
Tocache	1800	TA	3,3688±0,01 ^{ca}
	1500	TM	3,1449±0,09 ^{ca}
	1200	TB	2,6119±0,04 ^{cb}
Rupa Rupa	1800	HVA	3,5718±0,05 ^{aa}
	1500	HVM	3,7065±0,18 ^{aa}
	1200	HVB	3,2956±0,02 ^{ab}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 24, se utilizó la prueba de Tukey (p≤ 0.05).

En el Cuadro 16, se muestran los resultados del contenido de cafeína de muestras de blends de café oro, café tostado y molido; TE, MISTI, MOUNTEIN, A2C, Q80, Q85, Q90. Los blends de café oro Q80, Q85, Q90 presentaron mayor cafeína, entre 3.6969±0.06 - 4.0288±0.27 g cafeína/100 g y como café tostado molido el blend Q90 con 5.3566±0.01 g cafeína/100 g,

valores iguales estadísticamente ($p \leq 0.05$), pero superan a las otras mezclas. Estos contenidos de cafeína fueron similares al reportado en otra investigación con 2.84 ± 0.00 - 5.82 ± 0.11 g cafeína / 100 g (VIGNOLI *et al.*, 2011).

Cuadro 16. Contenido de cafeína en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.

Muestra	Café Oro	Café Tostado Molido
	g cafeína / 100 g	g cafeína / 100 g
TE	$3,1832 \pm 0,00^b$	$4,76 \pm 0,01^c$
QA2C	$2,7716 \pm 0,06^{bc}$	$4,48 \pm 0,00^d$
Q90	$3,6969 \pm 0,06^a$	$5,36 \pm 0,01^a$
Q80	$3,8884 \pm 0,01^a$	$4,47 \pm 0,02^d$
Q85	$4,0288 \pm 0,27^a$	$5,06 \pm 0,03^b$
MISTY	$2,5422 \pm 0,07^c$	$4,96 \pm 0,17^{bc}$
MOUNTEIN	$3,9267 \pm 0,02^a$	$5,15 \pm 0,01^{ab}$

Los valores representan el promedio $\pm$ DS, n = 14, se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

En el Cuadro 17, se puede apreciar que el mayor contenido de ACG se encontró en las muestras procedentes de la zona de Monzón destacando la altura de siembra de 1200 msnm con un valor 8.8013 ± 0.49 g de ACG/100 g muestra (Tukey, $p \leq 0.05$). El contenido de ACG encontrado fue superior al encontrado en otra investigación realizada, donde obtuvieron valores entre 6.1 ± 0.7 to 6.6 ± 1.1 % para diversos cultivares de café Arábica (MONTEIRO, M. C.; FARAH, A., 2012).

Cuadro 17. Contenido de ácido clorogénico en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.

Zona	Altura (m)	Muestra	Ácido clorogénico g ácido / 100 g
Padre Abad	1800	UA	7,0439±0,3313 ^a
	1500	UM	7,3788±0,0840 ^a
	1200	UB	8,8013±0,490 ^{aa}
Monzón	1800	MA	6,5094±0,4131 ^{ab}
	1500	MM	6,9843±0,6251 ^{ab}
	1200	MB	8,4718±0,4226 ^{aba}
Tocache	1800	TA	8,0984±0,5297 ^b
	1500	TM	6,4232±0,5425 ^b
	1200	TB	6,1228±0,4886 ^{ba}
Rupa Rupa	1800	HVA	7,4728±0,2513 ^{ab}
	1500	HVM	5,8099±0,2716 ^{ab}
	1200	HVB	9,0937±0,9127 ^{aba}

Los valores representan el promedio ± DS, n = 24, se utilizó la prueba de Tukey (p≤ 0.05).

En el Cuadro 18, se muestran los resultados del contenido de ACG de muestras de blends de café oro, café tostado y molido; de exportación (TE, MISTI, MOUNTEIN, A2C) y de venta nacional (Q80, Q85, Q90). El mayor contenido de ACG se encontró en los blends de café oro AC2 y MOUNTEIN con contenidos de 10.8055±0.32 y 10.7588±0.40 g ACG/100 g respectivamente, estos valores fueron iguales estadísticamente (Tukey, p ≤

0.05) y en el café tostado molido destacó el blend TE con 9.6171 ± 0.10 g ACG/100 g.

Cuadro 18. Contenido de ácido clorogénico en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blends.

Muestra	Café Oro	Café Tostado Molido
	g ácido / 100 g	g ácido / 100 g
TE	10.4525 ± 0.6157^a	$9,62 \pm 0,10$
QA2C	10.8055 ± 0.3231^a	$7,84 \pm 0,03$
Q90	9.3627 ± 0.0032^{ab}	$3,80 \pm 0,04$
Q80	8.0336 ± 0.1917^b	$4,55 \pm 0,15$
Q85	9.0328 ± 0.2818^{ab}	$4,38 \pm 0,42$
MISTY	9.6169 ± 0.8621^{ab}	$6,74 \pm 0,24$
MOUNTEIN	10.7588 ± 0.4053^a	$7,34 \pm 0,11$

Los valores representan el promedio $\pm$ DS, n = 14, se utilizó la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Estos contenidos de ACG fueron menores a los obtenidos en las mezclas de café oro, debido al efecto del tostado, ya que el calor afecta la estabilidad del ACG, produciendo su disminución (TFOUNI *et al.*, 2011). Se ha demostrado que los productos de la reacción de Maillard (MRP), fueron los antioxidantes predominantes en cafés tostados, y que esta operación redujo el contenido de CGA libre (>90%). Los mecanismos de la acción antioxidante asociados con los MRP del café implicaron transferencia de átomos de hidrógeno y mecanismos de transferencia de un solo electrón (LIU, Y.; KITTS, D. D., 2011).

V. CONCLUSIONES

Los mayores contenidos de polifenoles totales se encontraron en las muestras de café oro de Padre Abad y Rupa Rupa, a 1200 y 1800 msnm, los valores encontrados fluctuaron entre 3.42 ± 0.07 a 3.91 ± 0.01 g EAG/100 g ($p \leq 0.05$). Los contenidos de antocianinas en las muestras de café oro, no presentaron diferencias estadísticas considerando zonas y altitudes de siembra ($p \leq 0.05$), variando entre 7.521 ± 0.001 a 61.4230 ± 0.011 mg de cianidin 3 glucosido / L. Los mayores contenidos de azúcares reductores se encontraron en las muestras de café de la zona de Rupa Rupa, a 1200 msnm, con un contenido de $0.66 \pm 0.02\%$ (Tukey, $p \leq 0.05$). Las mayores capacidades antioxidantes frente al radical DPPH, lo presentaron los cafés de Monzón a 1800 y 1200 msnm, con un valor IC_{50} de 3.5670 ± 0.43 y 4.7425 ± 0.37 $\mu\text{g/g}$ café. Las mayores capacidades antioxidantes frente al radical ABTS, lo presentaron los cafés de Monzón, Tocache y Padre Abad a 1800 msnm, destacando el valor IC_{50} de Padre Abad con 2.0570 ± 0.15 $\mu\text{g/g}$ café ($p \leq 0.05$) y la mezcla de café oro Q80 con un IC_{50} de 2.7921 ± 0.42 $\mu\text{g} / \text{g}$ café. Los mayores contenidos de ácido cafeico se encontraron en las muestras de café de Padre Abad a 1200 msnm con 6.8712 ± 0.0068 g de ácido/100 g muestra (Tukey, $p \leq 0.05$). Los mayores contenidos de cafeína se encontraron en las muestras de café procedentes de Padre Abad, a 1800 y 1200 msnm con valores de 3.7065 ± 0.18 y 3.5718 ± 0.05 g de cafeína/100 g de café ($p \leq 0.05$). Los mayores contenidos de ácido clorogénico (ACG) se encontraron en las muestras de café oro procedente de Monzón a 1200 msnm con 8.8013 ± 0.49 g de ACG/100 g muestra ($p \leq 0.05$).

Los mayores contenidos de polifenoles totales se encontraron en las mezclas de café TE y MOUNTEIN con valores de 3.44 ± 0.07 y 3.57 ± 0.17 g EAG/100 g café. Los contenidos de antocianinas en la mezcla de café oro que presentó mayor contenido fue Q90 con 70.198 ± 0.001 mg de cianidin 3 glucosido /L. Los mayores contenidos de azúcares reductores se encontraron en las mezclas de café oro MISTY y MOUNTEIN, con valores de $0.59 \pm 0.03\%$ y $0.59 \pm 0.02\%$, destacando la muestra A2C para café tostado molido, con un contenido de $0.94 \pm 0.01\%$. Las mayores capacidades antioxidantes frente al radical DPPH, lo presentaron ($p \leq 0.05$) y la mezcla A2C, como café oro y café tostado molido con 2.9562 ± 0.05 y 4.37 ± 0.35 ug / g café. Las mayores capacidades antioxidantes frente al radical ABTS, lo presentaron los cafés mezclas de café tostado molido A2C, MOUNTEIN, TE y Q90, con valores entre 9.8825 ± 0.19 y 9.9700 ± 0.18 ug / g café. Los mayores contenidos de ácido cafeico se encontraron en las mezclas de café oro MISTI y Q80 con 3.44 ± 0.07 y 6.9380 ± 0.0031 g ácido cafeico/100 g de café y en café tostado y molido A2C, MOUNTEIN, MISTI y TE, con valores que variaron entre 5.9546 ± 0.0112 - 5.7005 ± 0.0125 g ácido cafeico / 100 g de café. Los mayores contenidos de cafeína se encontraron en las mezclas de café oro Q80, Q85, Q90 con 3.6969 ± 0.06 a 4.0288 ± 0.27 g cafeína/100 g y como café tostado molido la mezcla Q90 con 5.3566 ± 0.01 g cafeína/100 g de café. Los mayores contenidos de ácido clorogénico (ACG) se encontraron en la mezcla de café oro AC2 y MOUNTEIN con 10.8055 ± 0.32 y 10.7588 ± 0.40 g ACG/100 g de café respectivamente y el café tostado molido TE con 9.6171 ± 0.10 g ACG/100 g de café.

VI. RECOMENDACIONES

Se pueden establecer las siguientes recomendaciones:

- Utilizar la información de las características químicas de las muestras comerciales evaluadas con el fin de que sirva de apoyo para resaltar las bondades funcionales con los que cuenta el café, que comercializa la Cooperativa.
- Se puede aprovechar las bondades químicas que resaltan por zona y altitud de siembra y las características sensoriales del café, es posible formular mezclas comerciales más estandarizadas.
- Es posible utilizar la información química conseguida con el fin de elaborar brochurs, que informen de las bondades funcionales del café comercial que produce la cooperativa, fortaleciendo de esta manera el proceso de comercialización.

VII. ABSTRACT

The Cooperativa Agraria Cafetalera Divisoria Ltda., Provided samples of gold coffee, samples of mixtures of gold, roasted and ground coffee to carry out the research. The objectives were to determine total polyphenols (PPT), anthocyanins (AA), reducing sugars (RA), Antioxidant capacity (AC) against the radicals DPPH and ABTS, caffeic acid (AC), caffeine (CF) and chlorogenic acid (ACG), considering four geographical areas and three planting altitudes.

The highest PPT contents were found in the gold coffees of Padre Abad and Rupa Rupa, at 1200 and 1800 masl, with 3.42 ± 0.07 to 3.91 ± 0.01 g EAG / 100 g ($p \leq 0.05$) and in TE and MOUNTEIN samples 3.44 ± 0.07 and 3.57 ± 0.17 g EAG / 100 g coffee. The content of AA varied from 7.521 ± 0.001 to 61.4230 ± 0.011 mg of cyanide 3 glucoside / L. The highest RA content was found in the Rupa Rupa coffee at 1200 msnm, with $0.66 \pm 0.02\%$ ($p \leq 0.05$) and in The gold samples MISTY and MOUNTEIN, with $0.59 \pm 0.03\%$ and $0.59 \pm 0.02\%$. The highest AC against the radical DPPH and ABTS, was presented by Monzón coffee at 1800 and 1200 msnm, with an IC₅₀ of 3.5670 ± 0.43 and 4.7425 ± 0.37 μg / g coffee and the Padre Abad coffee at 1800 msnm, with an IC₅₀ Of 2.0570 ± 0.15 μg / g coffee. The highest content of CA was presented by Padre Abad coffee at 1200 msnm with 6.8712 ± 0.0068 g of acid / 100 g of coffee and the highest CF content at 1800 and 1200 msnm with 3.7065 ± 0.18 and 3.5718 ± 0.05 g of caffeine / 100 g of coffee. The highest ACG content was found in the gold coffee from Monzón at 1200 msnm with 8.8013 ± 0.49 g of ACG / 100 g sample.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AMAKURA, Y.; UMINO, T.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J. Agric. Food Chem.* 48:6292-6297. 2000.
- ASCACIO-VALDÉS J. A., AGUILERA-CARBÓ A., RODRÍGUEZ-HERRERA R. AGUILAR-GONZÁLEZ C. 2013. Análisis de ácido elágico en algunas plantas del semidesierto Mexicano. *Rev Mex Cienc Farm* 44 (2).
- ANDRADE, A. S.; FONSECA, A. P. R. G.; DA SILVEIRA, D. S. M.; RIBEIRO, L. A.; JUNQUEIRA, A. D.; BATISTA, F. E. Compuestos bioactivos y actividad antioxidante del café (*Coffea arabica* L). *Ciênc. agrotec.* Vol.34 no.2 Lavras Mar./Apr. 2010.
- AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Thirteenth ed. Washington, DC. 2004 USA. 1980.
- AOAC.1995. Official methods of analysis of AOAC international; agricultural chemicals, foods, contaminants and drugs. ISED Gaithersburg Md. USA AOAC international. 1141 p.
- BAEZA, G., SARRIÁ, B., BRAVO, L., MATEOS, R. 2016. Exhaustive Qualitative LC-DAD-MSn Analysis of Arabica Green Coffee Beans: Cinnamoyl-glycosides and Cinnamoylshikimic Acids as New Polyphenols in Green Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(51), 9663–9674. doi:10.1021/acs.jafc.6b04022
- BELITZ, H. D. y GROSCH, W. Química de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza. 1997.

CASTANEDA P, E., Manual técnico Cafetalera. Edit. Grafica Libertad S.A. Lima Perú 162 pp. 1997.

CERVATO G et al. Antioxidant properties of Orégano (*Origanum vulgare*) leaf extracs. J. Food Biochem. 24:453-465. 2000.

DALY, J. W. FREDHOLM, B.B. (1998). Caffeine-an atypical drug of dependence. Drug and alcohol dependence 51, 199-206.

GUTIERREZ, M. A. 2002. Café, antioxidantes y protección a la salud. Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara “Serafín Ruiz de Zárate”. MEDISAN 2002; 6(4):72 – 81.

GOKMEN, V.; SERPEN, A., y FOGLIANO, V. Direct measurement of the total antioxidany capacity of foods : the ‘QUENCHER’ approach. Trends in Food Science & Technology 20 (2009) 278 – 288.

HIDALGO, G. Cultivo y Beneficio del Café. Edit. Aurora, Lima - Perú. 2001.

ICO. 2014. ALL EXPORTING COUNTRIES TOTAL PRODUCTION CROP YEARS 2010/11 TO 2012/13. [on line]: <http://www.ico.org/historical/2010-19/PDF/TOTPRODUCTION.pdf>.

HECKMAN, M. A., WELL, J., GONZÁLEZ DE MEJÍA, E. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: A comprehensive review on consumption, function-ality, safety, and regulatory matters. Journal of Food Science, 75, R77-R87.

Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. Food Chemistry, 129(3), 991–1000. doi:10.1016/j.foodchem.2011.05.059.

- JAQUET, M. ROCHAT, IL, MOULIN, J., CAVIN, C., BIBILONI, R. (2009). Impact of coffee consumption on the gut microbiota: A human volunteer study. *International Journal of Food Microbiology*, 130, 117-121.
- KHELIL, O., CHOUBANE, S., & CHEBA, B. A. (2016). Polyphenols content of spent coffee grounds subjected to physico-chemical pretreatments influences lignocellulolytic enzymes production by *Bacillus* sp. R2. *Bioresource Technology*, 211, 769–773. doi:10.1016/j.biortech.2016.03.112
- KLEINWÄCHTER, M.; SELMAR, D. 2010. Influence of drying on the content of sugars in wet processed green Arabica coffees. *Food Chemistry*, 119(2), 500–504. doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.048
- KÖLLING-SPEER, L., SPEER, K. 2005. The Raw Seed composition. In: Espresso Coffee, the Science of Quality. Illy, A., Viani, R., eds. Italy: Elsevier Academic Press, pp. 14/-178.
- LIU, Y., & KITTS, D. D. 2011. Confirmation that the Maillard reaction is the principle contributor to the antioxidant capacity of coffee brews. *Food Research International*, 44(8), 2418–2424. doi:10.1016/j.foodres.2010.12.037
- LUDWIG, I.A. (2013). Contribution of phenolics and Maillard reaction products to the antioxidant capacity of Coffee brews. Tesis Doctoral. Pamplona.
- LUDWIG, I. A., SANCHEZ, L., CAEMMERER, B., KROH, L. W., DE PEÑA, M. P., CID, C. (2012). Extraction of coffee antioxidants: Impact of brewing time and method. *Food Research International*, 48(1), 57-64.

- LUDWIG, I.A., BRAVO, J., DE PEÑA, M.P. Y CID, C. (2013a). Effect of sugar addition (torrefacto) during roasting process on antioxidant capacity and phenolics of Coffee. *LWT- Food Science and Technology* 51, 553-559.
- MARTINEZ-VELARDE, I.; PERIAGO, M. J.; ROS, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta. *Arch. Latinoam. Nutr.* 50:5-18. 2000.
- MANCH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79: 727 – 747. 2004
- MILLER, G. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar," *Analytical Chemistry*, vol.31, no.3, p. 426 - 428, 1959.
- MONTEIRO, M. C., FARAH, A. 2012. Chlorogenic acids in Brazilian *Coffea arabica* cultivars from various consecutive crops. *Food Chemistry*, 134(1), 611–614. doi:10.1016/j.foodchem.2012.02.118.
- NAZARUDDIN, R. 2000. HPLC Determination of Methylxanthines and Polyphenols Levels In Cocoa and Chocolate Products. *Malaysian Journal of Analytical Science*, Vol. 7, No. 2 (2001) 377-386
- NARANJO, J. 2011. Caracterización de productos tradicionales y no tradicionales derivados de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el estado de Tabasco, México. Tesis. Colegio de postgraduados – Institución de Enseñanzas e Investigación en Ciencias Agrícolas. Tabasco – México. 60 p.
- OPITZ, S. E. W., GOODMAN, B. A., KELLER, M., SMRKE, S., WELLINGER, M., SCHENKER, S., YERETZIAN, C. 2016. Understanding the Effects of

Roasting on Antioxidant Components of Coffee Brews by Coupling On-line ABTS Assay to High Performance Size Exclusion Chromatography. *Phytochemical Analysis*, 28(2), 106–114. doi:10.1002/pca.2661

PORTILLO, E.; GRAZIANI, L.; BETANCOURT, E. 2007. Análisis químico del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el Sur del lago de Maracaibo. *Revista Fac. Agron. (LUZ)*. 24:522-546.

POO, B. 2005. Concentración de Antocianinas en jugo de cranberries (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) mediante Nano filtración. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Ingeniería en alimentos. Valdivia –Chile.[Enlínea]: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uch/2005/fap821c/doc/fap821c.pdf>

PUERTAS-MEJÍA, MIGUEL A, RIVERA-ECHEVERRY, FELIX, VILLEGAS-GUZMÁN, PAOLA, ROJANO, BENJAMÍN ALBERTO, & PELAEZ-JARAMILLO, CARLOS. 2012. Comparación entre el estado de maduración del fruto de café (*Coffee arabica* L.), el contenido de antocianinas y su capacidad antioxidante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 17(4), 360-367. Recuperado en 10 de febrero de 2017, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962012000400007&lng=es&tlng=es.

QUIÑONES, M.; MIGUEL, M.; ALEIXANDRE, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.* 27 (1): 76 – 89.

- ROBARDS, K.; PRENTZLER, P. D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66:401-436. 1999.
- SANCHEZ R., C. Cultivo, Producción y Comercialización del Café. Edit. RIPALME E.I.R.L. Lima – Perú. 2005.
- SIVA, R. 2016. Assessment of antioxidant activity and total phenolic content from green coffee Robusta Sp. beans. *Malaysian Journal of Analytical Science*, 20(5), 1059–1065. doi:10.17576/mjas-2016-2005-10
- STALMACH, A., CLIFFORD, M. N., WILLIAMSON, G., CROZIER, A. (2011). Phytochemicals in Coffee and the Bioavailability of Chlorogenic Acids. In Anonymous Teas, Cocoa and Coffee (pp. 143-168). Wiley-Blackwell.
- SYMONOWICZ, M.; SYKULA-ZAJAC, A.; LODYGA - CHRUSCINSKA, E.; RUMORA, I.; STRAUKAS, M. (2012). "Evaluation of polyphenols and anthocyanins contents in black chokeberry - *Photinia melanocarpa* (Michx.) fruits extract." *Acta Pol Pharm* 69(3): 381 - 7.
- TFOUNI, S. A. V., SERRATE, C. S., CARREIRO, L. B., CAMARGO, M. C. R., TELES, C. R. A., CIPOLLI, K. M. V. A. B., FURLANI, R. P. Z. (2011). Effect of roasting on chlorogenic acids, caffeine and polycyclic aromatic hydrocarbons levels in two *Coffea* cultivars: *Coffea arabica* cv. Catuaí Amarelo IAC-62 and *Coffea canephora* cv. Apoatã IAC-2258. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(2), 406–415. doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02854.x

UMA RANI P.A, RUSHENDHIRAN KESAVANA, RAGHU GANUGULAB, AVANEESH T.A, UDAY KUMAR P.B, G. BHANUPRAKASH REDDYB, MADHULIKA DIXITA. 2013. Ellagic acid inhibits PDGF-BB-induced vascular smooth muscle cell proliferation and prevents atheroma formation in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Nutritional Biochemistry* 24 (2013) 1830–1839.

VILLANUEVA, J.; CONDEZO, L.; ASQUIERI, E. 2010. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cascara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciencia y Tecnología de Alimentos, Campinas* 30(Supl. 1): 151 – 160.

VIESTURS, K. F. D. y VELGA, M. I. C. Biologically active compounds in roasted coffee. Latvia University of Agriculture, Department of Chemistry, Liela street 2, Jelgava, LV-3001, Latvia, *FOODBALT* 2011.

VIGNOLI, J. A., BASSOLI, D. G., BENASSI, M. T. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863–868. doi:10.1016/j.foodchem.2010.07.008

YANG, A., PALMER, A. A., DE WIT, H. (2010). Genetics of caffeine consumption and responses to caffeine. *Psychopharmacology*, 211, 245-257.

Direcciones electrónicas (páginas Web).

LOPEZ, G. 2008. El café torrefacto tiene mayores propiedades antioxidantes, según una tesis de la universidad de Navarra. En:

http://www.universia.es/portada/actualidad/noticia_actualidad.jsp?noticia=95544
. 11/11/10.

ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DEL CAFÉ, 2010. Café un gran antioxidante. En: <http://www.grupocoex.com/uploaded/content/category/5.pdf>.
11/11/10.

GOTTELAND M. , SATURNINO 2007. SOME TRUES CONCERNING COFFEE
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000200002

VIGNOLI A J.A., BASSOLI D.G., BENASSI M.T., 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. Food Chemistry 124 (2011) 863–868.

IX. ANEXOS

Cuadro A1. Análisis de Varianza para polifenoles totales (PT).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Zona	2,45508	3	0,818361	50,97	0,0000
B:Altura	3,18414	2	1,59207	99,15	0,0000
INTERACCIONES					
AB	4,79013	6	0,798354	49,72	0,0000
RESIDUOS	0,385374	24	0,0160573		
TOTAL (CORREGIDO)	10,8147	35			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de PT en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.01, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre PT con un 99.0% de nivel de confianza.

Cuadro A2. Pruebas de Tukey para Polifenoles totales (PT) por Zona

Método: 99.0 porcentaje Tukey

<i>Zona</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	9	2,76692	0,0422391	X
2	9	2,98023	0,0422391	X
4	9	3,27969	0,0422391	X
1	9	3,44112	0,0422391	X

En el Cuadro A2, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 1.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Cuadro A3. Pruebas de Tukey para Polifenoles totales (PT) por Altitud

Método: 99.0 porcentaje Tukey

<i>Altura</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	12	2,69719	0,0365801	X
3	12	3,30453	0,0365801	X
1	12	3,34925	0,0365801	X

En el Cuadro A3, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 1.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Cuadro A4. Análisis de Varianza simple en blend para polifenoles totales (PT)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	7,22736	6	1,20456	121,49	0,0000
Intra grupos	0,138813	14	0,0099152		
Total (Corr.)	7,36617	20			

Cuadro A5. Pruebas de Tukey en Blend para Polifenoles totales (PT)

Método: 99.0 porcentaje Tukey			
<i>Blends</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	3	2,24965	X
2	3	2,3777	X
5	3	2,71665	X
4	3	3,42139	X
7	3	3,5733	XX
1	3	3,67342	XX
6	3	3,70104	X

Cuadro A6. Análisis de Varianza simple en blend tostado para polifenoles totales (PT)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,336412	6	0,0560686	5,18	0,0053
Intra grupos	0,151619	14	0,0108299		
Total (Corr.)	0,48803	20			

Cuadro A7. Pruebas de Tukey en Blend tostado para Polifenoles totales (PT)

Método: 99.0 porcentaje Tukey			
<i>TOSTADO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	3	0,245094	X
5	3	0,265809	XX
3	3	0,314144	XXX
2	3	0,386646	XXX
4	3	0,517841	XXX
7	3	0,542009	XX
6	3	0,569629	X

Cuadro A8. Análisis de Varianza para Antocianinas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Zona	1602,77	3	534,256	2,27	0,1324
B:Altitud	682,486	2	341,243	1,45	0,2727
INTERACCIONES					
AB	2845,7	6	474,283	2,02	0,1418
RESIDUOS	2822,13	12	235,177		
TOTAL (CORREGIDO)	7953,08	23			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Cuadro A9. Prueba de Tukey para Antocianina por Zona.

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Zona</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	6	22,9814	6,26069	X
2	6	24,2349	6,26069	X
4	6	27,9955	6,26069	X
3	6	43,4558	6,26069	X

Cuadro A10. Prueba de Tukey para Antocianinas por Altura.

<i>Altitud</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	8	27,2643	4,73889	X
1	8	28,2045	4,73889	X
3	8	35,4123	4,73889	X

Cuadro A11. Análisis de Varianza Simple en blend para Antocianinas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5825,64	6	970,939	1,12	0,4370
Intra grupos	6071,66	7	867,38		
Total (Corr.)	11897,3	13			

Cuadro A12. Prueba de Tukey en blend para Antocianina .

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tipo Blend</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
6	2	18,803	X
4	2	21,31	X
7	2	32,5918	X
5	2	56,4089	X
2	2	62,6766	X
1	2	66,4372	X
3	2	70,1978	X

Cuadro A13. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para Antocianinas.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0501745	6	0,00836241	5,18	0,0053
Intra grupos	0,0226133	14	0,00161524		
Total (Corr.)	0,0727878	20			

Cuadro A14. Prueba de Tukey en blend tostado para Antocianina.

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>TOSTADO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	3	0,812558	X
6	3	0,820558	XX
3	3	0,839224	XXX
5	3	0,867224	XXX
7	3	0,917891	XXX
1	3	0,927224	XX
2	3	0,937891	X

Cuadro A15. Análisis de Varianza para azúcares reductores (AR).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Zona	0,007512	3	0,002504	19,02	0,0000
B:Altura	0,197265	2	0,0986324	749,11	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,092344	6	0,0153907	116,89	0,0000
RESIDUOS	0,00316	24	0,000131667		
TOTAL	0,300281	35			
(CORREGIDO)					

Cuadro A16. Prueba de Tukey para azúcares reductores (AR) por Zona.

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Zona</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	9	0,458057	0,00382487	X
3	9	0,46939	0,00382487	X
2	9	0,470501	0,00382487	X
4	9	0,49739	0,00382487	X

Cuadro A17. Prueba de Tukey para azúcares reductores (AR) por Altura.

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.

<i>Altura</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	0,376946	0,00331243	X
2	12	0,487946	0,00331243	X
3	12	0,556612	0,00331243	X

Cuadro A18. Análisis de Varianza Simple en blends para azúcares reductores (AR).

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0508945	6	0,00848241	20,23	0,0000
Intra grupos	0,00586933	14	0,000419238		
Total (Corr.)	0,0567638	20			

Cuadro A19. Prueba de Tukey en blend para azúcares reductores (AR)

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.

<i>Blends</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3	0,449612	X
1	3	0,497612	XX
5	3	0,522279	XX
4	3	0,524946	XX
3	3	0,576946	XX
6	3	0,589612	X
7	3	0,592279	X

Cuadro A20. Análisis de Varianza para la capacidad antioxidante según el método DPPH.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Zona	1,36649	3	0,455495	4,11	0,0174
B:Altura	3,31071	2	1,65535	14,93	0,0001
INTERACCIONES					
AB	6,22384	6	1,03731	9,36	0,0000
RESIDUOS	2,66041	24	0,11085		
TOTAL	13,5614	35			
(CORREGIDO)					

Cuadro A21. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.

<i>Zona</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	9	4,40285	0,110981	X
3	9	4,49956	0,110981	XX
4	9	4,56796	0,110981	XX
1	9	4,91918	0,110981	X

Cuadro A22. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Altura. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.

<i>Altura</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	4,27959	0,096112	X
3	12	4,5069	0,096112	X
2	12	5,00568	0,096112	X

Cuadro A23. Análisis de Varianza Simple de blend para la capacidad antioxidante según el método DPPH.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2,65429	6	0,442382	96,08	0,0000
Intra grupos	0,0644627	14	0,00460448		
Total (Corr.)	2,71876	20			

Cuadro A24. Prueba de Tukey en blend para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Blends</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3	2,95618	X
5	3	3,76683	X
4	3	3,83269	XX
1	3	3,92909	XXX
6	3	3,95263	XXX
3	3	3,99203	XX
7	3	4,1071	X

Cuadro A25. Análisis de Varianza Simple de blend tostado para la capacidad antioxidante según el método DPPH.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,99136	6	0,331893	3,87	0,0173
Intra grupos	1,19963	14	0,0856882		
Total (Corr.)	3,19099	20			

Cuadro A26. Prueba de Tukey en blend tostado para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>TOSTADO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3	4,37799	X
3	3	4,87067	XX
1	3	5,01102	XX
4	3	5,06739	XX
7	3	5,08765	XX
6	3	5,2407	X
5	3	5,43716	X

Cuadro A27. Análisis de Varianza para la capacidad antioxidante según el método ABTS.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFECTOS					
PRINCIPALES					
A:Zona	5,4123	3	1,8041	8,41	0,0005
B:Altura	5,93627	2	2,96813	13,84	0,0001
INTERACCIONES					
AB	3,54698	6	0,591164	2,76	0,0350
RESIDUOS	5,14606	24	0,214419		
TOTAL	20,0416	35			

Cuadro A28. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método ABTS por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Zona</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	9	2,94555	0,154351	X

3	9	3,12406	0,154351	X
1	9	3,23641	0,154351	X
4	9	3,96482	0,154351	X

Cuadro A29. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método ABTS por Altura. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Altura</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	12	2,76517	0,133672	X
2	12	3,45843	0,133672	X
3	12	3,72952	0,133672	X

Cuadro A30. Análisis de Varianza Simple en blend para la capacidad antioxidante según el método ABTS.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	11,1353	6	1,85588	5,51	0,0041
Intra grupos	4,71144	14	0,336532		
Total (Corr.)	15,8467	20			

Cuadro A31. Prueba de Tukey en blend para la capacidad antioxidante según el método ABTS. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Blends</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	3	2,79215	X
3	3	4,1835	XX
7	3	4,52944	X

6	3	4,68264	X
5	3	4,73339	X
2	3	4,78195	X
1	3	5,25414	X

Cuadro A32. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la capacidad antioxidante según el método ABTS.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	118,788	6	19,7981	92,51	0,0000
Intra grupos	2,996	14	0,214		
Total (Corr.)	121,784	20			

Cuadro A33. Prueba de Tukey en blend para la capacidad antioxidante según el método ABTS. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>TOSTADO</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
2	3	9,88252	X
7	3	9,90095	X
1	3	9,94229	X

6	3	9,96996	X
4	3	14,1097	X
3	3	14,9563	X
5	3	15,0277	X

Cuadro A34. Análisis de Varianza Simple en blend para la acido cafeico según

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0144166	6	0,00240277	1,54	0,2905
Intra grupos	0,0108999	7	0,00155712		
Total (Corr.)	0,0253165	13			

Cuadro A35. Prueba de Tukey en blend para el ácido cafeico según Método:

99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tipo Blend</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	2	0,563345	X
7	2	0,5787	X
2	2	0,58646	X
3	2	0,618682	X
4	2	0,62985	X
5	2	0,646583	X
6	2	0,65115	X

Cuadro A36. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la ácido cafeico según

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,00328218	6	0,00054703	7,96	0,0075
Intra grupos	0,000481185	7	0,0000687407		
Total (Corr.)	0,00376337	13			

Cuadro A37. Prueba de Tukey en blend tostado para el ácido cafeico según

Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
5	2	0,553047	X
4	2	0,554176	XX
3	2	0,556432	XX
7	2	0,57007	XXX
1	2	0,573317	XXX
6	2	0,586134	XX
2	2	0,595459	X

Cuadro A38. Análisis de Varianza Simple en blend para la cafeína según

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4,34077	6	0,723462	58,92	0,0000
Intra grupos	0,08595	7	0,0122786		
Total (Corr.)	4,42672	13			

Cuadro A39. Prueba de Tukey en blend para la cafeína según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tipo Blend</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
6	2	2,54	X
2	2	2,775	XX
1	2	3,18	X
3	2	3,695	X
4	2	3,89	X
7	2	3,925	X
5	2	4,03	X

Cuadro A40. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la cafeina según

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,35054	6	0,22509	52,36	0,0000
Intra grupos	0,030094	7	0,00429915		
Total (Corr.)	1,38063	13			

Cuadro A41. Prueba de Tukey en blend tostado para la cafeina según Método:
99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1	2	4,47444	X
7	2	4,48418	X
4	2	4,76114	X
5	2	4,96447	XX
2	2	5,05825	X
6	2	5,15418	XX
3	2	5,3566	X

Cuadro A42. Análisis de Varianza Simple en blend para la ácido clorogénico según

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	12,4965	6	2,08274	9,67	0,0043
Intra grupos	1,50724	7	0,215319		
Total (Corr.)	14,0037	13			

Cuadro A43. Prueba de Tukey en blend para el ácido clorogenico según
Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tipo Blend</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	2	8,03362	X
5	2	9,03283	XX
3	2	9,36273	XX
6	2	9,61685	XX
1	2	10,4525	X
7	2	10,7588	X
2	2	10,8054	X

Cuadro A44. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la ácido clorogénico según

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	55,265	6	9,21084	228,05	0,0000
Intra grupos	0,282724	7	0,0403892		
Total (Corr.)	55,5477	13			

Cuadro A45. Prueba de Tukey en blend tostado para el ácido clorogénico
según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
3	2	3,79787	X
5	2	4,38197	X
4	2	4,55153	X
6	2	6,7358	X
7	2	7,34309	XX
2	2	7,83572	X
1	2	9,61712	X

INDICE

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

RESUMEN

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	MARCO TEORICO	2
2.1.	El café	2
2.1.1.	Estado físico del café	5
2.1.2.	Variedades de café cultivadas en el Perú	6
2.2.	Aspectos Químicos.....	7
2.2.1.	Ácido clorogénico.....	7
2.2.2.	Cafeína	8
2.2.3.	Ácido elágico	11
2.3.	Azúcares reductores.....	12
2.4.	Antioxidantes del café	13
2.5.	Compuestos fenólicos	14
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1.	Lugar de ejecución.....	17
3.2.	Material vegetal	17
3.3.	Equipos, materiales y reactivos	17
3.3.1.	Equipos de laboratorio	17

3.3.2.	Materiales.....	18
3.3.3.	Reactivos y solventes	19
3.4.	Métodos de análisis	20
3.5.	Metodología experimental	20
3.5.1.	Acondicionamiento de la muestra y extracción de compuestos bioactivos	20
3.5.2.	Determinación de compuestos bioactivos	22
3.5.3.	Diseño experimental.....	27
3.5.4.	Análisis estadístico	29
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	30
4.1.	Determinación de compuestos bioactivos.....	30
4.1.1.	Polifenoles totales.....	30
4.1.2.	Antocianinas	33
4.1.3.	Azucares reductores	35
4.1.4.	Capacidad antioxidante radicales DPPH y ABTS	37
4.1.5.	Análisis por HPLC.....	43
V.	CONCLUSIONES	51
VI.	RECOMENDACIONES.....	53
VII.	ABSTRACT	54
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	55
IX.	ANEXOS	63

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Composición del café cerezo	5
Cuadro 2.	Resultados de Absorbancia medidos a 765 nm, para elaborar la curva estándar de ácido gálico.....	30
Cuadro 3. Contenido	de polifenoles totales en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.....	32
Cuadro 4.	Contenido de polifenoles totales en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.	33
Cuadro 5.	Contenido de antocianinas en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.....	34
Cuadro 6.	Contenido de antocianinas en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.....	35
Cuadro 7. Contenido	de azúcares reductores en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.....	36
Cuadro 8.	Contenido de azúcares reductores en la muestras de café oro, café tostado y molido según tipo de blend.....	37
Cuadro 9.	Capacidad antioxidante frente al radical DPPH de las muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.	39
Cuadro 10.	Capacidad antioxidante frente al radical DPPH en la muestras de café oro, café tostado y molido, según tipo de blend.	40

Cuadro 11. Capacidad antioxidante frente radical ABTS en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.	41
Cuadro 12. Capacidad antioxidante frente al radical ABTS en la muestras de café oro, café tostado y molido, según tipo de blends.	42
Cuadro 13. Contenido de ácido cafeico en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.	44
Cuadro 14. Contenido de ácido cafeico en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.	45
Cuadro 15. Contenido de cafeína en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.	46
Cuadro 16. Contenido de cafeína en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blend.....	47
Cuadro 17. Contenido de ácido clorogénico en la muestras de café oro según zonas de producción y alturas de pisos ecológicos.	48
Cuadro 18. Contenido de ácido clorogénico en la muestras de café oro, café tostado y molido (CTM), según tipo de blends.	49
IX. ANEXOS	63
Cuadro A1. Análisis de Varianza para polifenoles totales (PT).	64
Cuadro A2. Pruebas de Tukey para Polifenoles totales (PT) por Zona.....	65
Cuadro A3. Pruebas de Tukey para Polifenoles totales (PT) por Altitud.....	65
Cuadro A4. Análisis de Varianza simple en blend para polifenoles totales (PT)	66
Cuadro A5. Pruebas de Tukey en Blend para Polifenoles totales (PT).....	66

Cuadro A6. Análisis de Varianza simple en blend tostado para polifenoles totales (PT)	66
Cuadro A7. Pruebas de Tukey en Blend tostado para Polifenoles totales (PT)	67
Cuadro A8. Análisis de Varianza para Antocianinas.	67
Cuadro A9. Prueba de Tukey para Antocianina por Zona.	68
Cuadro A10. Prueba de Tukey para Antocianinas por Altura.	68
Cuadro A11. Análisis de Varianza Simple en blend para Antocianinas.	68
Cuadro A12. Prueba de Tukey en blend para Antocianina	68
Cuadro A13. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para Antocianinas.	69
Cuadro A14. Prueba de Tukey en blend tostado para Antocianina.	69
Cuadro A15. Análisis de Varianza para azúcares reductores (AR).	70
Cuadro A16. Prueba de Tukey para azúcares reductores (AR) por Zona.	70
Cuadro A17. Prueba de Tukey para azúcares reductores (AR) por Altura.	71
Cuadro A18. Análisis de Varianza Simple en blends para azúcares reductores (AR).	71
Cuadro A19. Prueba de Tukey en blend para azúcares reductores (AR).	71
Cuadro A20. Análisis de Varianza para la capacidad antioxidante según el método DPPH.	72
Cuadro A21. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.	72

Cuadro A22. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Altura. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.....	73
Cuadro A23. Análisis de Varianza Simple de blend para la capacidad antioxidante según el método DPPH.....	73
Cuadro A24. Prueba de Tukey en blend para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.	73
Cuadro A25. Análisis de Varianza Simple de blend tostado para la capacidad antioxidante según el método DPPH.....	74
Cuadro A26. Prueba de Tukey en blend tostado para la capacidad antioxidante según el método DPPH por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.	74
Cuadro A27. Análisis de Varianza para la capacidad antioxidante según el método ABTS.	75
Cuadro A28. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método ABTS por Zona. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD.....	75
Cuadro A29. Prueba de Tukey para la capacidad antioxidante según el método ABTS por Altura. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	76
Cuadro A30. Análisis de Varianza Simple en blend para la capacidad antioxidante según el método ABTS.	76
Cuadro A31. Prueba de Tukey en blend para la capacidad antioxidante según el método ABTS. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	76
Cuadro A32. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la capacidad antioxidante según el método ABTS.	77

Cuadro A33. Prueba de Tukey en blend para la capacidad antioxidante según el método ABTS. Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	77
Cuadro A34. Análisis de Varianza Simple en blend para la acido cafeico según	78
Cuadro A35. Prueba de Tukey en blend para el ácido cafeico según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	79
Cuadro A36. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la ácido cafeico según	79
Cuadro A37. Prueba de Tukey en blend tostado para el acido cafeico según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	80
Cuadro A38. Análisis de Varianza Simple en blend para la cafeína según	80
Cuadro A40. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la cafeina según	81
Cuadro A41. Prueba de Tukey en blend tostado para la cafeina según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	81
Cuadro A42. Análisis de Varianza Simple en blend para la ácido clorogénico según	82
Cuadro A43. Prueba de Tukey en blend para el ácido clorogenico según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	82
Cuadro A44. Análisis de Varianza Simple en blend tostado para la ácido clorogénico según.....	82
Cuadro A45. Prueba de Tukey en blend tostado para el ácido clorogénico según Método: 99,0 porcentaje Tukey HSD	83

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de los principales ácidos clorogénicos del café (Fuente: Ludwig, 2013).....	10
Figura 2. Formula química de la cafeína.	11
Figura 3. Estructura química del ácido elágico.	12
Figura 4. Preparación de los extractos acuosos.	21
Figura 5. Determinación de compuestos bioactivos en granos de café oro.	27
Figura 6. Determinación de compuestos bioactivos en mezclas de cafés tostados y molidos.	28
Figura 7. Curva estándar de ácido gálico para determinar polifenoles totales.	31