

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE



FACULTAD DE INGENIERÍAS EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**“EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL PROCESO
DE TOSTADO DE CAFÉ *Coffea arabica* L EN LAS VARIEDADES
CASTILLO, CATURRA AMARILLO Y SL-28”**

**TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

AUTORES:

Paola Alejandra Benavides Venegas

Liliana Maricela De La Cruz Morillo

DIRECTOR:

Ing. Luis Armando Manosalvas Msc.

Ibarra – Ecuador

2021

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

“EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN EL PROCESO DE TOSTADO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L) EN LAS VARIEDADES CASTILLO, CATURRA AMARILLO Y SL-28”

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su presentación
como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

APROBADA

Ing. Luis Armando Manosalvas Quiroz



FIRMA

DIRECTOR DE TESIS

Ing. Ángel Edmundo Satama Tene



FIRMA

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Nicolás Sebastián Pinto Mosquera



FIRMA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la ley de educación superior, hago la entrega del presente documento a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1003547054		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Benavides Venegas Paola Alejandra		
DIRECCIÓN:	Caranqui		
EMAIL:	pabenavidesv@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:	062510460	TELÉFONO MÓVIL:	0968000801
DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	040184519-3		
APELLIDOS Y NOMBRES:	De La Cruz Morillo Liliana Maricela		
DIRECCIÓN:	Ibarra		
EMAIL:	Imdelacruz@utn.edu.ec		
TELÉFONO FIJO:		TELÉFONO MÓVIL:	0979441142

DATOS DE LA OBRA			
TÍTULO	“Evaluación de actividad antioxidante en el proceso de tostado de café <i>coffea arabica</i> l en las variedades Castillo, Caturra amarillo y SL-28”		
AUTORES:	Benavides Venegas Paola Alejandra De La Cruz Morillo Liliana Maricela		
FECHA:	20 de mayo del 2021		
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO			
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO	<input type="checkbox"/> POSTGRADO	
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniero Agroindustrial		
ASESOR / DIRECTOR:	Ing. Luis Armando Manosalvas Quiroz		

2. CONSTANCIAS

Las autoras manifiestan que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asumen la responsabilidad sobre el contenido de esta y saldrá en defensa de Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los veinte y cuatro días del mes de mayo del 2021

AUTORES:



Paola Alejandra Benavides Venegas

C.I.: 100354705-4

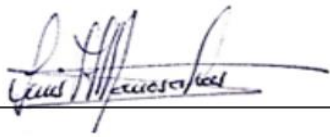


Liliana Maricela De La Cruz Morillo

C.I.: 040184519-3

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por las señoritas, Benavides Venegas Paola Alejandra y De La Cruz Morillo Liliana Maricela bajo mi supervisión.



Ing. Luis Armando Manosalvas Quiroz
DIRECTOR DE TESIS

DEDICATORIA

Esta investigación va dedicada a Dios en primer lugar, porque es quien ha acompañado mi camino y ha guiado todos mis pasos para la toma de buenas decisiones a lo largo de la vida.

A continuación, dedico mis logros a mis padres por el esfuerzo realizado, por ser las personas que me han guiado y aconsejado en cada etapa de mi vida.

Paola

Esta investigación va dedicada a mi familia que ha estado ahí presente siempre dándome fuerzas para seguir adelante pese a todos los obstáculos que se han presentado en esta etapa.

A mi hijo Estefano, su afecto y su cariño son los detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo, de mis ganas de buscar lo mejor para él. Mi hijo fue mi motivación más grande para concluir con éxito este proyecto de tesis.

Liliana

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios y a mis padres, por haberme dado la vida y guiarme todos los días por el camino correcto.

A mi familia y amigos, que estuvieron apoyándome durante toda la carrera universitaria para lograr cumplir mi sueño anhelado.

A mis maestras, por todos los conocimientos que me han otorgado día tras día, ayudándome a llegar al punto en el que me encuentro.

Liliana

Agradezco a Dios por permitirme estudiar, esforzarme y fortalecerme en los momentos que más lo necesite.

Agradezco a Alejandro por ser mi motivación para mejorar y superarme cada día, a mi papa por aconsejarme en los momentos precisos, a mi mama por darme la confianza y libertad a lo largo de mi vida y a mi familia en general por acompañarme en cada paso.

Finalmente, a mis compañeros y maestros por forjar mi vida estudiantil y un futuro profesional.

Paola

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
PORTADA	i
AUTORIZACIÓN DE USO.....	iii
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE CONTENIDO	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
RESUMEN	18
ABSTRACT	19
Capítulo I INTRODUCCIÓN.....	20
1.1 Problema	20
1.2 Justificación	21
1.3 Objetivos.....	22
1.3.1 Objetivo general	22
1.3.2 Objetivos específicos.....	22
1.4 Hipótesis de trabajo.....	22
1.4.1 Hipótesis nula	22
1.4.2 Hipótesis alternativa	22
II Capítulo II MARCO TEÓRICO.....	23
2.1 El café	23
2.1.1 Taxonomía del café	23
2.1.1.1 Flor del café.....	24
2.1.1.2 Fruto del café.....	25

2.1.1.3	Desarrollo fisiológico del café	26
2.1.2	Variedades de Café.....	27
2.1.2.1	Café arábico.....	28
2.1.3	Subespecies del café arábica	29
2.1.3.1	Caturra amarilla.....	29
2.1.3.2	Castillo	30
2.1.3.3	SL28	31
2.1.3.4	Composición química del café verde	32
2.1.4	Cosecha de café	33
2.1.5	Beneficio del café	33
2.1.6	Secado de café	34
2.2	Tostado de café	35
2.2.1	Cambios fisicoquímicos del grano de café durante el tostado.....	36
2.2.2	Factores que afectan el tostado.....	38
2.3	Composición química del café tostado	39
2.3.1	Componentes bioactivos del café tostado.....	40
2.3.1.1	Actividad antioxidante del café.....	40
2.3.1.2	Compuestos fenólicos o polifenoles.....	42
2.3.1.3	Flavonoides	42
2.3.1.4	Melanoidinas	43
2.3.1.5	Acidos clorogenicos	44
2.4	Evaluación sensorial del café.....	45
2.4.1	Métodos utilizados en la evaluación sensorial	46
2.4.1.1	Pruebas discriminatorias	47
2.4.1.2	Pruebas descriptivas	48
2.4.1.3	Pruebas subjetivas	48

III	Capítulo III MATERIALES Y MÉTODOS	49
3.1	Caracterización del estudio	49
3.1.1	Fase de campo	49
3.1.2	Fase de laboratorio.....	49
3.2	Materiales y Equipos	50
3.2.1	Materiales	50
3.2.2	Equipos de beneficio húmedo.....	51
3.2.3	Equipos de tostado.....	51
3.2.4	Equipos de laboratorio.....	51
3.2.5	Reactivos	52
3.3	Descripción de la metodología	53
3.3.1	Evaluación de intensidad del proceso de tostado sobre los contenidos de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en las tres variedades arábicas.....	53
3.3.2	Análisis de Varianza.....	54
3.3.3	Variables por evaluarse	55
3.3.4	Identificación de los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante en variedades de café arábico (Castillo, Caturra amarillo y sl-28).....	55
3.3.5	Evaluación de la aceptabilidad del café tostado en bebida sobre la preferencia del consumidor.	56
3.4	Manejo Especifico del Experimento.....	57
IV	CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
4.1	Evaluación de los parámetros del tostado sobre los componentes bioactivos del café	59
4.1.1	Polifenoles totales.....	59
4.1.2	Flavonoides totales	63
4.1.3	Capacidad Antioxidante	68

4.1.3.1	Actividad antioxidante por el método ABTS +	68
4.1.3.2	Actividad antioxidante por el método FRAP	73
4.2	Caracterización de los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante en las variedades de café arábica	79
4.3	Análisis de aceptabilidad	81
4.3.1	Aceptabilidad sensorial del aroma y sabor del café en taza	81
V	CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	86
	Conclusiones:.....	86
	Recomendaciones:	87
VI	Bibliografía.....	88
	ANEXOS	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Flor de café.....	25
Figura 2.	Características morfológicas del fruto del café.....	25
Figura 3.	Desarrollo fisiológico del fruto de café.....	26
Figura 4.	Variedades de café	28
Figura 5.	Grano de café arábica	28
Figura 6.	Grano de café robusta	29
Figura 7.	Café Caturra Amarillo.....	30
Figura 8.	Café Castillo.....	31
Figura 9.	Café SL-28	31
Figura 10.	Cosecha del café.....	33
Figura 11.	Beneficio del café por vía húmeda y seca.....	34
Figura 12.	Secado del café al sol	35
Figura 13.	Fases que sufre el grano de café en el proceso de tostado	36
Figura 14.	Variables que determinan la calidad del café	39

Figura 15. Contenidos de ácidos clorogénicos en café según la variedad y la madurez....	45
Figura 16. Contenido de Polifenoles totales del café tostado.....	59
Figura 17. Interacción de los factores A (Variedades de café) y C (Tiempos de tostado) sobre el contenido de polifenoles totales.....	62
Figura 18. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre el contenido de polifenoles totales.....	63
Figura 19. Contenido de Flavonoides totales del café tostado.....	64
Figura 20. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y B (temperatura de tueste) sobre el contenido de flavonoides totales.....	66
Figura 21. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre el contenido de flavonoides totales.....	67
Figura 22. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y C (tiempo de tostado) sobre el contenido de flavonoides totales.....	67
Figura 23. Actividad antioxidante mediante el método ABTS +	68
Figura 24. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y B (temperatura de tueste) sobre la actividad antioxidante ABTS +	71
Figura 25. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre la actividad antioxidante ABTS +	72
Figura 26. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y C (tiempo de tostado) sobre sobre la actividad antioxidante ABTS +	73
Figura 27. Actividad antioxidante mediante el método FRAP.....	74
Figura 28. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y B (temperatura de tueste) sobre la actividad antioxidante FRAP.....	76
Figura 29. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre la actividad antioxidante FRAP.....	77
Figura 30. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y C (tiempo de tostado) sobre sobre la actividad antioxidante FRAP.....	78
Figura 31. Perfil de aceptación sensorial del café respecto al aroma.....	82

Figura 32. Análisis post hoc en la aceptabilidad del sabor del café por preferencia del consumidor	84
Figura 33. Perfil de aceptación sensorial del café respecto al sabor	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del café	24
Tabla 2. Variedades de Café	27
Tabla 3. Composición química de Coffea arabica y canephora	32
Tabla 4. Composición química de café tostado por especie, Coffea arábica y canephora .	40
Tabla 5. Actividades de evaluación sensorial dentro de una industria alimentaria	46
Tabla 6. Condiciones climatológicas de las áreas de estudio.	50
Tabla 7. Factores de estudio	54
Tabla 8. Tratamientos	54
Tabla 9. Esquema del análisis de la varianza	55
Tabla 10. Variables-Actividad antioxidante	55
Tabla 11. Variables - compuestos con actividad antioxidante	56
Tabla 12. Escala hedónica empleada para la prueba de aceptabilidad	57
Tabla 13. Análisis de varianza para polifenoles totales del café tostado	60
Tabla 14. Prueba de Tukey al 5% para polifenoles totales en café tostado	61
Tabla 15. Análisis de varianza para flavonoides totales del café tostado.....	64
Tabla 16. Prueba de Tukey al 5% para flavonoides totales en café tostado.....	65
Tabla 17. Análisis de varianza de la actividad antioxidante del café tostado mediante el método ABTS +	69
Tabla 18. Prueba de Tukey al 5% de actividad antioxidante en café tostado mediante ABTS +.....	70

Tabla 19. Análisis de varianza para la actividad antioxidante del café tostado mediante el método FRAP	75
Tabla 20. Prueba de Tukey al 5% para actividad antioxidante en café tostado mediante FRAP	75
Tabla 21. Matriz de correlación para las variedades de café arábica	79
Tabla 22. Análisis no paramétrico de Friedman en aceptabilidad sensorial de aroma y sabor para café en taza	81
Tabla 23. Análisis post hoc en la aceptabilidad del aroma del café por preferencia del consumidor	83
Tabla 24. Concentraciones para curva de calibración de polifenoles.....	108
Tabla 25. Concentraciones para la curva de calibración Frap	117
Tabla 26. Curva promedio de calibración para Frap	117
Tabla 27. Condiciones cromatográficas	119
Tabla 28. Concentraciones de la curva de calibración para ácidos cafeicos	119

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados del grado de aceptabilidad de las muestras de café con 25 jueces ..	106
Anexo 2. Análisis proximal del café verde	106
Anexo 3. Análisis proximal del café tostado.....	107
Anexo 4. Extracción de café.....	107
Anexo 5. Determinación de polifenoles en café según (Cross, Villeneuve, & Vincent, 1982)	108
Anexo 6. Determinación de flavonoides totales según (Zhishen, Tang, & Jianming, 1998)	110
Anexo 7. Determinación de capacidad antioxidante por método de decoloración de catión radical ABTS + (Henriquez, Aliaga, & Lissi)	113

Anexo 8. Capacidad antioxidante por método de Frap	116
Anexo 9. Determinación de ácidos por Hplc	118
Anexo 10. Registro fotográfico	120

RESUMEN

La presente investigación tuvo como fin analizar, caracterizar y medir la actividad antioxidante en el proceso de tostado de café *arábica L.* La evaluación se la realizó antes y después del tostado del café, para poder evaluar actividad antioxidante y compuestos fenólicos en el grano verde y al final en el grano tostado. Las variables evaluadas fueron: la variedad de café (castillo, caturra amarillo y sl-28), dos temperaturas de tostado (190 °C y 210 °C) y dos tiempos de tostado (12 y 18 minutos).

Se aplicó un diseño (DCA) diseño completamente al azar con arreglo factorial AxBxC, con doce tratamientos y tres repeticiones. Las variables de estudio registradas en el presente trabajo tuvieron relación con las actividades planteadas en los objetivos, esto se realizó a través de tres análisis determinados de tal manera que se dio cumplimiento a los dos primeros objetivos. Se evaluó la capacidad antioxidante por el método radical libre (FRAP) poder antioxidante de la reducción férrica y Acido2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolina) -6-sulfónico (ABTS) bajo el procedimiento de cromatografía líquida (HPLC). Con relación al tiempo de tostado en las muestras de café, al igual que la temperatura de tueste, se encontró una disminución del contenido de polifenoles y flavonoides en las tres variedades de café, producto del aumento del tiempo de residencia del proceso. Por otro lado, se observó una correlación significativa entre los componentes bioactivos (CGA) ácidos clorogénicos, flavonoides, polifenoles y la capacidad antioxidante (ABTS⁺ y FRAP) para las tres variedades de café *arábica* (Castillo, Caturra amarillo y SL-28). También se presencié un comportamiento independiente para cada una de estas en relación con la composición bioquímica y su dependencia a otros factores (tipo de tostado, nivel de tueste, otros).

Se realizó también la aceptabilidad del café tostado en bebida para dar cumplimiento al tercer objetivo planteado. Las variables evaluadas en bebida de café fueron: aroma y sabor mediante el método de calificación hedónica bajo la prueba subjetiva y tipo de prueba afectiva de aceptación.

Palabras clave:

Antioxidante: molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.

Correlación: vinculo recíproco o correspondiente que existe entre dos o más elementos

ABSTRACT

The purpose of this research was to analyze, characterize and measure the antioxidant activity in the Arabica L coffee roasting process. The evaluation was carried out before and after the coffee roasting process to be able to evaluate antioxidant activity and phenolic compounds in the green bean, and finally in the roasted grain. The variables evaluated were the coffee variety (Castillo, Caturra Amarillo and SL-28), two roasting temperatures (190 °C and 210 °C) and two roasting times (12 and 18 minutes).

A design (DCA) with factorial arrangement $A \times B \times C$ was applied, with twelve treatments and three repetitions. The study variables recorded in the present work were related to the activities proposed in the objectives, this was carried out through three analyzes determined in such a way that the first two objectives were met. The antioxidant capacity was evaluated by the free radical method (FRAP) and 2,2'-azino-bis- (3-ethylbenzothiazoline) -6-sulfonic acid (ABTS) under the liquid chromatography (HPLC) procedure. In relation to the roasting time in the coffee samples, as well as the roasting temperature, a decrease in the content of polyphenols and flavonoids was found in the three varieties of coffee, due to the increase in the residence time of the process. Moreover, a significant correlation was observed between the bioactive components (CGA) chlorogenic acids, flavonoids and polyphenols and the antioxidant capacity (ABTS and FRAP) for the three varieties of Arabica coffee (Castillo, Caturra Amarillo and SL-28). Also, an independent behavior was witnessed for each of these in relation to the biochemical composition and its dependence on other factors (type of roasting, level of roasting, others).

The acceptability of roasted coffee as a drink was also carried out to fulfill the third objective set. The variables evaluated in coffee drink were aroma and flavor by the hedonic qualification method under the subjective test and type of affective acceptance test.

Keywords:

Antioxidant: molecule capable of delaying or preventing the oxidation of other molecules.

Correlation: reciprocal or corresponding link that exists between two or more elements

Capítulo I

INTRODUCCIÓN

1.1 Problema

El cultivo de café (arábigo y robusta) se encuentra dentro de las principales actividades agrícolas que se realiza en Ecuador, debido a su importancia económica en la generación de divisas y empleo. En la provincia del Carchi varios caficultores desde hace años se dedican a esta actividad, poniendo en marcha la producción de café arábigo como es el ejemplo de la Asociación “Bosque Nublado Golondrinas”.

No obstante, la falta de investigaciones hace que este café, como producto terminado no tenga buena acogida en el mercado a nivel nacional como internacional. Por esta razón es importante realizar una caracterización y los debidos análisis químicos para conocer su composición, destacando sus propiedades beneficiosas para la salud.

Por tal motivo el café, deberá pasar por algunos procesos ejemplo el tostado, siendo el más importante que sufre, en este se producen diferentes cambios físicos-químicos. Además, provoca la degradación de compuestos bioactivos, responsables de la actividad antioxidante ya que a diferentes tiempos y temperaturas de tostado disminuye los compuestos antioxidantes. Como resultado, las principales funcionalidades de las bebidas de café pueden verse afectadas, obteniendo un producto final de mala calidad.

La relación entre el mecanismo y grado de tostado con las características en taza no ha sido establecida ni tomada como una oportunidad. Se debe ofrecer al mercado diferentes variedades de café con características definidas a nivel sensorial y funcional, pero al no tener un estudio enfocado específicamente sobre las condiciones óptimas de tostado en cada variedad de café, se suprime esa potencialidad.

Así también, la falta de incentivos desde los Ministerios hacia los caficultores de la zona 1 y muchas veces los precios bajos del café, como producto terminado hace que la gente joven salga hacia la ciudad. Esto en busca de mejores condiciones de vida, provocando la disminución de mano de obra, misma que es muy necesaria para sacar adelante la economía de su propio pueblo.

1.2 Justificación

El desarrollo tecnológico y científico en el sector alimentario se basa en las exigencias del consumidor, que cada día se preocupa y conoce más acerca del producto que va a adquirir. En consecuencia, los estándares deben mantenerse cada día más altos y completos; el mercado demanda alimentos de excelente calidad nutritiva y sensorial.

Las tendencias actuales en alimentación, se espera que los productos alimenticios contribuyan en el desarrollo adecuado de las funciones biológicas o sirvan para prevenir o tratar algún tipo de enfermedad. Por tal motivo es importante generar información en cuanto a los procesos que sufre el café.

El trabajo de investigación propuesto pretende dar a conocer, a todos los caficultores de la Asociación “Bosque Nublado Golondrinas” de la zona del Carchi una visión más profunda de lo importante que es realizar un adecuado proceso de tostado de café. Esto de acuerdo con cada variedad (castillo, caturra amarillo y sl-28), con el fin de reducir la pérdida de antioxidantes y así obtener un producto de mejor calidad y precio de comercialización.

Se aportará con los tiempos y temperaturas que son adecuados para realizar el proceso de tostado, con los cuales los mismos productores tendrán la capacidad de realizarlo y obtener un producto final óptimo. Mismo que, cumpla las exigencias del mercado, y tenga competitividad en los mercados nacionales e internacionales.

Con esto se tendrá una mayor demanda en los mercados, y la población de la zona tendrá una fuente de empleo segura, y se garantiza la dinamización de la economía rural. Con lo cual, la población disminuirá la migración hacia la ciudad, debido a que desde el momento de la cosecha es indispensable la mano de obra intensiva.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Evaluar los efectos de los parámetros del proceso de tostado sobre la actividad antioxidante en las variedades de café (Castillo, Caturra Amarillo y SI-28)

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar la intensidad del proceso de tostado sobre los contenidos de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en las tres variedades de café arábica.
- Identificar los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante en las variedades de café arábica (Castillo, Caturra amarillo y SI-28).
- Evaluar la aceptabilidad del café tostado en bebida sobre la preferencia del consumidor

1.4 Hipótesis de trabajo

1.4.1 Hipótesis nula

H₀ = La variedad de café, temperatura y tiempo de tostado no influyen en la actividad antioxidante, contenido de compuestos bioactivos y calidad sensorial del café.

1.4.2 Hipótesis alternativa

H_a = La variedad de café, temperatura y tiempo de tostado influyen en la actividad antioxidante, contenido de compuestos bioactivos y calidad sensorial del café.

Capítulo II

MARCO TEÓRICO

2.1 El café

Es uno de los productos más consumidos del mundo. Este es producido como un bien genérico o universal, específicamente para venta en mercado. Vincula la rutina diaria en millones de consumidores y productores que viven a miles de kilómetros entre estos y experimentan vidas muy diferentes.

La mercantilización del café, su procesamiento, transporte, tostado, envasado, marca y venta genera una inmensa riqueza año a año. En Ecuador de acuerdo con las condiciones climáticas se desarrollan diferentes variedades de cafés, con características genéticas diferentes como: altura, forma, tamaño y color de fruto, también resistencia a plagas y enfermedades, sabor de bebida, adaptabilidad y productividad (Santistevan, Julca, Borjas, & Tuesta, 2015).

En términos de superficie se cultiva en Ecuador esto se traduciría en: costa 58,82%, sierra 25,87% y oriente el 15,30%, siendo la provincia con más producción Manabí, seguida de Los Ríos, Pichincha y finalmente Sucumbíos entre las más importantes, lo que se traduce en 159,987 personas vinculadas, es decir; el 4,1% de la población económicamente activa total (Pozo, 2017).

2.1.1 Taxonomía del café

En el mundo existe gran número de especies; sin embargo, dos se cultivan en mayor proporción, el caso de *Coffea arabica* y *Coffea canephora* o más conocidas vulgarmente como café arábica y robusta, mismas que han dado origen a otras plantas por medio de cruzamientos espontáneos e inducidos (Vargas, 2016). A continuación, en la tabla 1 se muestra la clasificación taxonómica para este cultivo de acuerdo con criterio de Monroig (2015) y Escobar (2017):

Tabla 1. Clasificación taxonómica del café

Reino	Plantae
Tipo	Espermatofitas
Subtipo	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Subclase	Gamopétalas
Orden	<i>Rubiáceas</i>
Género	<i>Coffea</i>
Subgénero	<i>Eucoffea</i>

Fuente: (Monroig M. , 2013)

En cuanto a su morfología, el café es un árbol frondoso con hojas oscuras y brillantes que crecen en pares a lo largo de las ramas, los frutos, generalmente son rojos cuando están maduros, aunque existen colores amarillos, rosa y naranja en algunas variedades (Puerta-Quintero G. , 2014).

El café es una planta tropical, por lo que sobrevive en un rango de temperatura bastante estrecho (ni demasiado caliente ni demasiado frío) (Rojo & Pérez-Urria, 2018). Sin embargo, necesita de un temperatura para su perfecto desarrollo entre 22 y 26 °C indispensable para sus funciones vegetativas, como: absorción de los nutrientes a través de las raíces, la transpiración por las hojas acelera la floración, fecundación y maduración de los frutos (Perez, 2016).

Aparte de los requisitos de temperatura, no es demasiado exigente. Crece en una variedad de tipos de suelo, prefiriendo suelos ligeramente ácidos que drenan lo suficientemente bien para que la planta no se ahogue después de fuertes lluvias (Thurston, Morris, & Steiman, 2014).

2.1.1.1 Flor del café

Son de gran tamaño blancas y olorosas, localizadas en la axila de las hojas, se ven influenciadas por factores genéticos y ambientales (véase, Figura 1); dentro de éstos se incluyen la radiación solar, la temperatura y la disponibilidad de agua en el suelo (Belitz, Grosch, & Schieberle, 2019).



Figura 1. Flor de café

Fuente: (Alvarado, Posada, & Cortina, 2013)

De acuerdo con Veleza et al. (2000) y confirmado por Mastrocola et al. (2018) la floración se ha dividido en las siguientes etapas:

1. Inicio y diferencia de los botones florales, se caracteriza por ensanchamiento de la axila foliar y los botones tienen forma de cúpula;
2. Inflorescencias, botones agrupados y cubiertos por mucílago;
3. Latencia, en la cual los botones se separan entre sí, son blanco verdoso y tienen entre 7 y 10mm;
4. Pre-antesis, botones florales blancos y próximos a abrir.

2.1.1.2 Fruto del café

Es una drupa carnosa compuesta por pericarpio y semilla; mimos que están compuestos por varios tejidos: el epicarpio, mesocarpio y endocarpio (Pulgarín, 2016). El epicarpio es de color verde durante la mayor parte del desarrollo, volviéndose amarillo y luego rojo en su etapa final, de acuerdo con Marín et al. (2013) este cambio de color es por la desaparición de los pigmentos de clorofila y acumulación de antocianinas durante las últimas etapas de maduración del fruto (véase, Figura 2).

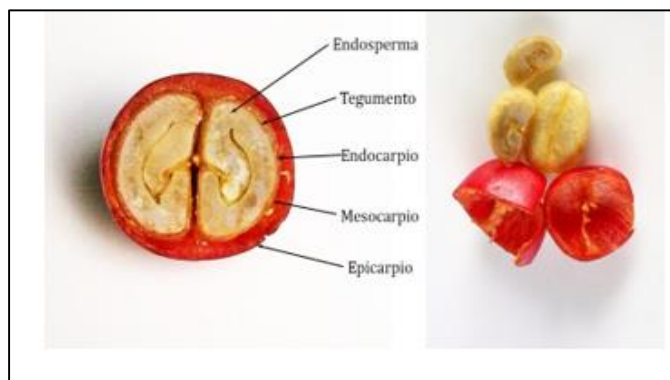


Figura 2. Características morfológicas del fruto del café.

Fuente: (Alvarado D. , 2012)

También, la comprensión de las rutas metabólicas que ocurren en el grano de café, así como a nivel de toda la planta, es de gran interés e importancia hoy por hoy, esto debido a que particularmente la búsqueda de genes vincula y mejora los rasgos de la calidad en el café final.

2.1.1.3 Desarrollo fisiológico del café

La producción de semillas se caracteriza típicamente por; floración y desarrollo de frutos asincrónicos. Por su parte, la floración ocurre en uno o algunos días, con una o más floraciones dentro del período reproductivo Flórez, y otros, (2013), sabiendo que el período de floración dura dos o tres días y va seguido de un desarrollo vegetativo. Sin embargo, es posible que los frutos no inicien el crecimiento después de la floración, pero pueden permanecer en un estado latente hasta 60 días después de la polinización (Eira, y otros, 2016).

Por su parte, de Castro et al. (2016) señalan que el desarrollo fisiológico del café se divide en tres fases explicando la metamorfosis que atraviesa el grano de café hasta su cosecha (ver, Figura 3), la cual inicia en una fase maternal (FASE I) de floración donde se produce una división celular del perispermo y endospermo, para luego pasar al desarrollo por elongación del endospermo (Fase II) y terminar en la maduración del pericarpio (Fase III), finalmente se re colecciona, seca y almacena.

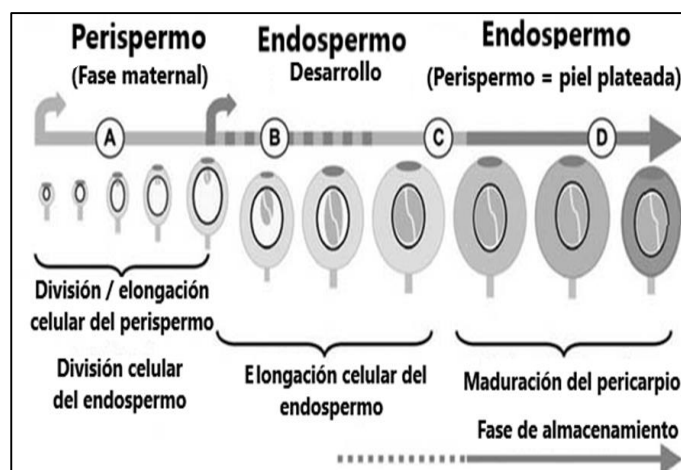


Figura 3. Desarrollo fisiológico del fruto de café
Fuente: (Castro & Marraccini, 2016)

2.1.2 Variedades de Café

Las variedades de café se dividen en dos variedades principales: Arábica y Robusta, de las cuales se fragmentan en otras y múltiples variedades con aromas y sabores completamente diferente según las condiciones de crecimiento; como se muestra en la tabla 2 y que a continuación se describen.

Tabla 2. *Variedades de Café*

Variedades de café	Descripción
Bourbon	Perteneciente a la variedad arábica, conocido por su alta calidad en taza a grandes altitudes.
Caturra	Planta compacta con buen rendimiento y calidad estándar, susceptible a la roya
SL28	Resistente a la sequía, muy buena calidad en taza, pero susceptible a enfermedades.
Típica	Variedad Arábica, con alta calidad en Centro América, alta susceptibilidad a la roya y adaptabilidad a zonas frías.
Castillo	Alta producción, Resistencia a la roya y tamaño de grano grande.

Fuente: (World Coffee Research, 2018)

Se debe mencionar que, los granos de café a menudo se venden como mezclas, contienen granos de la misma especie o diferentes subespecies, por lo que, el público final del mismo y la percepción de estos condiciona dicha selección. Los cafés suelen tener notas de sabor distintas que surgen de diferentes factores en su entorno de crecimiento, como altitud, clima y suelo. Además, de proceder de diversas formas, lo cual condiciona también las características finales del producto (Figura 4).



Figura 4. Variedades de café
Fuente: (Sepriyany, 2017)

2.1.2.1 *Café arábico*

Como se mencione anteriormente, *C. arábica* es común y el más comercializado en el mundo (Fig. 5), debido al sabor dulce y delicado, por su contenido sensorial (menos ácido). Generalmente arábica se cultiva en áreas con elevaciones, particularmente donde la lluvia es abundante. Las plantas son bastante delicadas y requieren de poda y atención a los factores ambientales y nutricionales. La especie Café arábica es particularmente propensa a las enfermedades, por lo que el cultivo en grandes cantidades es un desafío para el agricultor (Monteros, 2017).

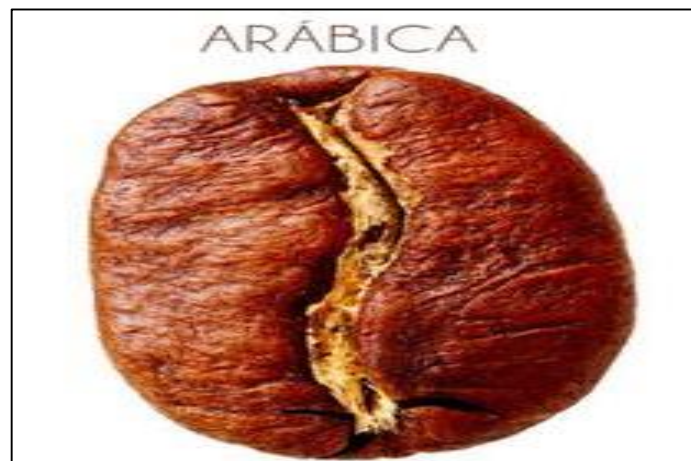


Figura 5. Grano de café arábica
Fuente: (Herrera & Lambot, 2017)

2.1.2.2 *Café robusta*

Cuando se trata de la producción global, los granos de café Robusta ocupan el segundo lugar en la lista (Figura 6). Su nombre hace justicia a este cultivo, ya que es conocido por su perfil de sabor fuerte y, a menudo, áspero. Los cafés robusta tienen niveles extremadamente altos de cafeína, lo que hace que la planta sea mucho más resistente a plagas que la especie Arábica (Enríquez, 2014). La especie de *C. caniphora* también es tolerante con su entorno, por lo que puede cultivarse en cualquier cantidad de altitudes y climas (Monteros, 2017).



Figura 6. Grano de café robusta
Fuente: (Herrera & Lambot, 2017)

2.1.3 Subespecies del café arábica

C. arábica es la especie comercial más importante del mercado cafetero, por lo que su estudio ha sido más profundo en las últimas décadas en comparación a su homólogo *C. robusta*. Además, entre el café Arábica, algunos cultivares se consideran cafés especiales con características organolépticas peculiares y un valor comercial muy alto. Por lo que, existen serias razones económicas para pretender garantías sobre la autenticidad de las variedades de café y que a continuación se describen.

2.1.3.1 *Caturra amarilla*

De acuerdo con el catálogo de variedades de café World Coffee Research (2018), la variedad caturra es variación de la línea pura de Bourbon rojo que tiene entrenudos cortos (Figura 7). Se caracteriza por hojas grandes y anchas, de color verde oscuro y textura áspera, con bordes ondulados. El color de los frutos en el cerezo maduro, se clasifica en: Caturra Rojo y Caturra Amarillo, siendo comparable a las de Bourbon, pudiendo producir cerezas rojas o amarillas.

Al igual que el Bourbon, se sabe que es susceptible a las principales enfermedades y plagas (López-García, Escamilla-Prado, Zamarripa-Colmenero, & Cruz-Castillo, 2016). En Ecuador esta fue introducida en los cincuenta; sin embargo, por su buen rendimiento productivo, es considerado un cultivo competitivo de acuerdo con los caficultores ecuatorianos.



Figura 7. Café Caturra Amarillo
Fuente: (Anacafé, 2017)

2.1.3.2 Castillo

Este proviene de Colombia y desarrollada por el Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé) con el fin de obtener una variedad con resistencia a la roya (*Hemileia vastatrix*) y la enfermedad de los frutos de café (*Colletotrichum kahawae*), es una alternativa para las zonas donde estas plagas son un factor limitante para su producción (Alvarado, Posada, & Cortina, 2013).

Su morfología indica que, es una planta de porte bajo, y con ramas más largas que la variedad Caturra, vigorosa y de alta productividad (Figura 8). La bebida presenta cuerpo y amargor suaves, aroma y acidez pronunciadas para grados medios de tostación y preparación en bebida (López-García, Escamilla-Prado, Zamarripa-Colmenero, & Cruz-Castillo, 2016)



Figura 8. Café Castillo
Fuente: (Herrera & Lambot, 2017)

2.1.3.3 SL28

Esta variedad fue creada en Kenia en los años cincuenta por los laboratorios Scott, de ahí su nombre. Se crearon mutaciones y a generar híbridos entre el Mokka y principalmente Bourbon. Se trata de un cultivo alto con bebida de calidad, susceptible a las principales enfermedades y plagas, pero de gran producción con un rendimiento moderado (World Coffee Research, 2018).

Se menciona que este se destaca por su fina acidez, con gran intensidad cítrica, dulzura, equilibrio y cuerpo medio. Sus hojas anchas de color verde claro y unidas al tronco en ángulo agudo se diferencian de las demás variedades (Figura 9). Como se muestra en la figura 5 es una planta con frutos grandes de tonalidad rojo en su estado de madurez óptimo.



Figura 9. Café SL-28
Fuente: (Herrera & Lambot, 2017)

2.1.3.4 Composición química del café verde

El grano de café verde está compuesto principalmente de carbohidratos, proteínas, aminoácidos libres, lípidos, minerales, ácidos orgánicos, ácidos clorogénicos, trigonelina, celulosa, agua, materia seca, alcaloides y de ácidos hidroxycinámicos (Rojo & Pérez-Urria, 2018). A continuación, en la tabla 3 se describen las concentraciones para cada uno de los compuestos que constituyen a la baya del cafeto:

Tabla 3. Composición química de *Coffea arabica* y *canephora*

Componentes	Concentración %	
	<i>C. arábica</i>	<i>C. canephora</i>
Carbohidratos		
Sacarosa	6,0 - 9,0	0,9-4,0
Azúcares reductores	0,1	0,4
Lignina	3,0	3,0
Pectina	2,0	2,0
Polisacáridos	34-44	48-55
Compuestos nitrogenados		
Cafeína	0,9 - 1,3	1,5-2,5
Trigonelina	0,6-2,0	0,6-0,7
Proteínas / péptidos	10-11	11-15
aminoácidos libres	0,50	0,8-1,0
Lípidos		
Aceite de café (triglicéridos con insaponificables, esteroides, tocoferoles)	15-17	7,0-10,0
Diterpenos	0,5-1,2	0,2-0,8
Minerales	3,0-4,2	4,4-4,5
Ácidos y ésteres		
Ácidos Clorogénicos	4,1-7,9	6,1-11,3
Ácidos alifáticos	1,00	1,00
Ácido químico	0,40	0.40

Fuente: (Farah A. , 2018).

También se menciona que, el contenido de humedad del café debe ser aproximadamente del 67%, en base húmeda; esto significa que la calidad de agua del cafeto es aproximadamente igual a las dos terceras partes de la masa total: la tercera parte restante la constituyen los sólidos.

Por otra parte, el fruto por lo general es perecedero y presenta una intensa actividad fisiológica inmediatamente después de la cosecha. Para evitar la disminución de su peso seco y lo que es mucho peor, la pérdida de su calidad, que comienza a ocurrir después del primer

día, se debe secar inmediatamente, después de cosechado (Valarezo & Darío, 2017)

2.1.4 Cosecha de café

De acuerdo con Rosero et al. (2015) la recolección se debe hacer minuciosamente, seleccionando frutos sanos y con madurez fisiológica (cereza) adecuada para los procesos posteriores (Figura 10). El grano, debe ser de tamaño deseable de acuerdo con la variedad seleccionada; sea este de color rojo o amarillo, la recolección puede ser manual o mecánica donde se seleccionan uno a uno los cerezos maduros. Sin embargo, si el estado de maduración no es el correcto este genera granos secos con adheridos de pergamino, por lo que el producto obtenido resultará de baja calidad.



Figura 10. Cosecha del café
Fuente: (Herrera & Lambot, 2017)

2.1.5 Beneficio del café

Posteriormente de la cosecha se procede a realizar el beneficio del café, este consiste en retirar todo el café que no cumpla con el estado de madurez óptimo, para luego someterlo a los métodos (vía húmeda o seca) de transformación (ver, Figura 11), durante ese tiempo las bacterias y levaduras empiezan a descomponer el mucílago produciendo una miel fluida que separa fácilmente al grano de la pulpa, tiempo en el cual se le atribuirán sabor y olor característico al café, posterior a esto se procede a lavar las almendras con agua limpia para eliminar las mieles (Puerta G. , Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio

del café, 2013), finalmente, se procede a lavar los granos y subsecuentemente secar al sol o en silos para obtener el café pergamino seco (Gómez G. , 2018).

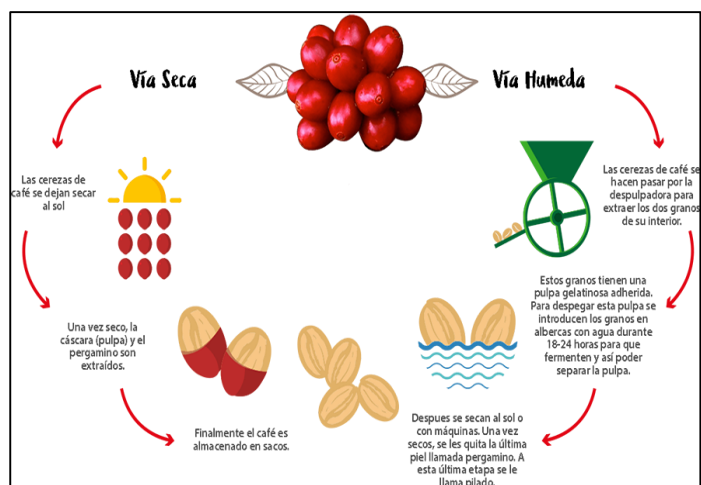


Figura 11. Beneficio del café por vía húmeda y seca

Fuente: (Alvarado, Posada, & Cortina, 2013)

2.1.6 Secado de café

Luego del lavado del café se procede a secar el grano para reducir la humedad a un porcentaje que oscila entre el 10 a 12 %, norma vigente para su comercialización (Castillo, Muñoz, & Engler, 2016). Si existe exceso de humedad podría perjudicar la producción de café dando paso a la formación de hongos y microorganismos deteriorando así la calidad en taza y produciendo un sabor a moho.

Secarlo demasiado también es un inconveniente ya que puede tornarse quebradizo y dañarse fácilmente en la trilla generando gran cantidad de defectos por grano partido (Cárdenas & Pardo, 2014).

El secado del café es una parte importante en el proceso de beneficio. Se realiza para evitar la germinación de la semilla, reducir el contenido de humedad, inhibir el desarrollo de hongos, evitar que el grano sufra daños en su aspecto físico, composición química y para obtener un producto estable que conserve sus características por un periodo prolongado (Galeano, 2016).

A lo largo del tiempo se han desarrollado diferentes tecnologías para el secado del café; sin embargo, los más empleados son los siguientes, siendo el más utilizado el secado solar (Figura 12):

- Secado al sol

- Secado en patio
- Secado en carros de madera
- Secador solar parabólico
- Secado en camas africanas
- Secado mecánico



Figura 12. Secado del café al sol
Fuente: (CasaDranguet, 2018)

2.2 Tostado de café

Es un proceso mediante el cual se destacan características fisicoquímicas y sensoriales importantes, las cuales están relacionadas directamente con tiempos, temperatura del tostador y cantidad de café que se emplee (Bertone, Venturello, Giraud, Pellegrino, & Geobaldo, 2016). La calidad sensorial del café afecta directamente a la materia prima ya que en dicho proceso se optimizan la acidez, los aromas, dulzura y color homogéneo de los granos de café (Revi, 2019).

A su vez, el proceso de torrefacción o tostado es un proceso complejo que implica la aplicación cuidadosa de calor al café verde en un esfuerzo por transformar la materia básica de la vida contenida en cada semilla (azúcares, proteínas, ácidos, etc.) en deliciosos aromas, sabores y colores característicos (Farah A. , Coffee constituents, 2018).

Podemos manifestar que, un calentamiento controlado por tiempo y temperatura que generalmente tiene lugar en condiciones atmosféricas y emplea aire caliente como agente de calentamiento, es ahí donde se producen diversas reacciones y cambios fisicoquímicos importantes para las características del producto final (Schenker & Rothgeb, 2017). Al

respecto, Dutra et al. (2001), Oliveira et al. (2015) y Ledezma et al. (2017) mencionan que el proceso se puede caracterizar por tres etapas consecutivas, donde:

- Durante la primera etapa, caracterizada por una liberación lenta de agua y sustancias volátiles, los granos se secan y su color cambia de verde a amarillo.
- Las reacciones exotérmicas de pirolisis reales se llevarán a cabo durante la segunda etapa, con la liberación de cantidades de CO_2 , agua y sustancias volátiles, produciendo que los granos se vuelvan marrones-claros, debido a la caramelización del azúcar y las reacciones de Maillard.
- Finalmente, se requiere una tercera etapa de enfriamiento para evitar quemar o carbonizar el café.

Para una mejor ilustración del proceso, la Figura 13 muestra el proceso y fases que sufre el grano de café verde hasta llegar al nivel de tostado adecuado.

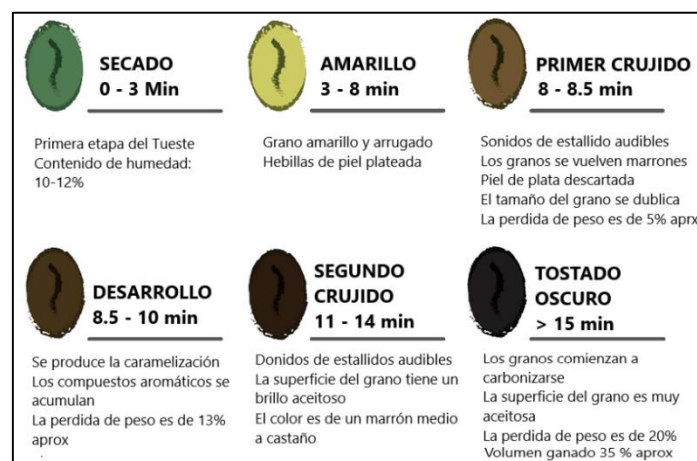


Figura 13.Fases que sufre el grano de café en el proceso de tostado
Fuente: (Herrera & Lambot, 2017)

2.2.1 Cambios fisicoquímicos del grano de café durante el tostado

El tostado, uno de los pasos más importantes en el procesamiento del café, causa cambios químicos y físicos en los granos de café verde que están relacionados con su característico sabor y aroma. El tueste puede considerarse como una sucesión de diferentes etapas. Durante los primeros minutos de procesamiento, la eliminación de la humedad de los granos de café verde es el efecto principal (Pittia, Dalla, & Lerici, 2018).

Seguido provoca una pérdida neta de materia en forma de CO_2 , vapor de agua y compuestos volátiles (Geiger, Perren, Kuenzli, & Escher, 2015). Además, también se produce la

degradación de polisacáridos, azúcares, aminoácidos y ácidos clorogénicos, lo que resulta en la formación de productos de caramelización y condensación (Wang & Lim, 2015).

En general, hay un aumento en los ácidos y lípidos orgánicos, mientras que los contenidos de cafeína y triglicéridos permanecen casi sin cambios (Farah, de Paulis, Trugo, & Martin, 2015; Speer & Kölling-Speer, 2006; Mazzafera & Silvarolla, 2019). Los principales ácidos presentes en café verde son los ácidos: cítrico, málico, clorogénico y químic.

Durante el tostado, los primeros tres ácidos disminuyen mientras que el ácido químic aumenta como resultado de la degradación de los ácidos clorogénicos (Ginz, Balzer, Bradbury, & Maier, 2011). Por otro lado, el proceso hace que su color cambie progresivamente de un gris verdoso inicial a marrón, marrón-oscuro y negro, según el grado de tostado deseado (Wang, Fu, & Lim, 2017).

Además, los cambios en la densidad se notan durante el tostado. Estos cambios son causados por el aumento simultáneo del volumen y la formación interna de gas, productos de las reacciones inducidas por el calor (principalmente vapor de agua y dióxido de carbono, y productos de la reacción de pirólisis) y la disminución de la masa (debido a la pérdida de volátiles) (Pittia, Nicoli, & Sacchetti, 2014).

Las reacciones químicas que ocurren durante el tostado del café son muy complejas y no se han entendido completamente. Sin embargo, de acuerdo con Schenker et al. (2017) y Wang et al. (2015) en síntesis se podría decir que los cambios fisicoquímicos identificados son:

Físicos:

- Cambios de color
- Contenido de humedad, pérdida de tostado y densidad
- Estructura de poros y CO_2
- Aumento de volumen y cambios estructurales
- Deshidratación y exudación

Químicos:

- Efectos endotérmicos y exotérmicos
- Formación de gas
- Formación de compuestos aromáticos

- Relación acidez / amargura
- Reacciones de Maillard y pirolisis

2.2.2 Factores que afectan el tostado

El tostado de café genera cambios fisicoquímicos y sensoriales en los cuales se ven influenciados directamente factores como la temperatura del tostador, tiempo y cantidad de café, además otros factores que influyen de acuerdo con (Madrid et al. 2019) son:

- La humedad y temperatura ambiente.
- El tamaño y densidad del grano.
- La intensidad de la flama del tostador.
- El incremento de la temperatura con respecto al tiempo.

En el café, el color, aroma y sabor característicos se desarrollan durante el tostado, por lo que es necesario adaptar el proceso de tostado al tipo de café que se está tostando. Esto implica controlar el tiempo y la temperatura de tueste para que sean suficientes para que ocurran las reacciones químicas requeridas, sin quemar los granos y comprometer el sabor de la bebida (Mendes, de Menezes, Aparecida, & da Silva, 2011).

Durante el tostado, debido a las reacciones de pirólisis y pardeamiento no enzimáticas, se producen cambios en el color del grano de café. Así, además de pérdida de masa y cambios químicos de ciertos componentes que podrían servir como herramientas en el control del proceso, los efectos del calentamiento y grado de tostado también pueden ser monitoreados por el color de los granos (Hernández, Heyd, Irlés, Valdovinos, & Trystram, 2017). El color amarillo verdoso del grano crudo cambia a un color tostado marrón negro (Pittia, Dalla, & Lerici, 2018).

Sin embargo, para Castillo et al. (2016) existen otros factores más amplios a considerar, los cuales los han denominado extrínsecos e intrínsecos y que hablan específicamente de los elementos que se deben considerar en toda la cadena productiva del café (Figura 14).

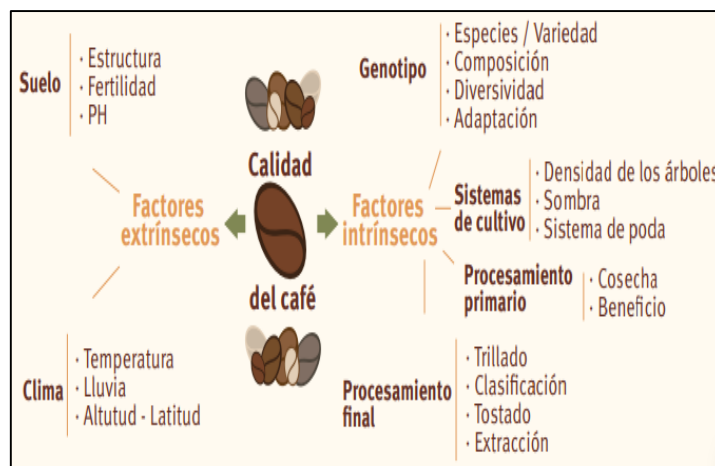


Figura 14. Variables que determinan la calidad del café

Fuente: (Castillo, Muñoz, & Engler, 2016)

2.3 Composición química del café tostado

Los granos tostados del café contienen varios de los compuestos químicos que se encuentran en el grano verde, aunque en diferentes concentraciones; además se detectan otras sustancias que producen diversas reacciones, mediante el calor o durante la torrefacción. En este sentido, se podría decir que dependiendo de la variedad, madurez, fermentación, el secado, almacenamiento y tipo de tostado influyen o condicionan la composición química de café y por ende su calidad final (Puerta G. , Composición química de una taza de café, 2011). Es así, que en la Tabla 4 se muestra los componentes químicos característicos de los granos de café tostados tanto para *Coffea arabica L* como para *canephora P*.

Tabla 4. Composición química de café tostado por especie, *Coffea arabica* y *canephora*

Componente	Concentración (%)	
	C. arabica	C. canephora
Carbohidratos/fibra		
Sacarosa	4,2 – trazas	1,6 – trazas
Azucares reductores	0,3	0,3
Polisacáridos (arabinogalactano, manano y glucano)	31 - 33	37,0
Lignina	3,0	3,0
Pectina	2,0	2,0
Compuestos nitrogenados		
Proteínas/peptidos	7,5 – 10,0	7,5 – 10,0
Aminoácidos libres	ND	ND
Cafeína	1,1 – 1,3	2,4 – 2,5
Trigonoleína	1,2 – 0,2	0,7 – 0,3
Acido nicotínico	0,016 – 0,026	0,014 – 0,025
Lípidos		
Triglicéridos con esteroides/ tocoferoles insaponificables	17,0	11,0
Diterpenos (esterificados)	0,9	0,2
Minerales	4,5	4,7
Acidos y esteroides		
Acidos clorogénicos	1,9 - 2,5	3,3 – 3,8
Acidos alifáticos	1,6	1,6
Acido quínico	0,8	1,0
Melanoidinas	25	25

Fuente: (Farah A. , 2018).

2.3.1 Componentes bioactivos del café tostado

El café, una de las bebidas más populares del mundo, contiene muchos compuestos bioactivos, especialmente cafeína, estimulantes naturales y los ácidos clorogénicos con propiedades antioxidantes (Jeszka-Skowron, Zgoła-Grześkowiak, & Grześkowiak, 2015).

Sin embargo, dentro de los compuestos bioactivos más importantes del café se incluyen los siguientes: compuestos fenólicos como: ácidos y derivados clorogénicos, metilxantinas adjunto a la cafeína, teofilina y teobromina, diterpenos incluidos el cafestol y kahweol, ácido nicotínico (vitamina B3) y sus precursores: trigonelina, magnesio y potasio (Gómez-Ruiz, Leake, & Ames, 2017).

2.3.1.1 Actividad antioxidante del café

Todos los alimentos (especialmente vegetales) que consumimos diariamente contienen antioxidantes (sustancias que impiden la formación de radicales libres). Los antioxidantes ayudan a disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, inflamatorias,

neurodegenerativas, hepáticas, diabetes tipo dos e incluso el cáncer (Alemán, Castillo, González, & Herrera, 2019).

En el café esto se traduce a sus diferentes sustancias bioactivas, y a las cantidades de estas en la bebida, las mismas que variarán dependiendo de las técnicas de extracción utilizadas, variedad y proceso de tostado (Vega, de León, & Reyes, 2017).

Varios estudios indicaron que un alto contenido de polifenoles en el café juega un papel importante en su fuerte acción antioxidante (Cho, Park, Kim, Kim, & Han, 2014). La concentración de polifenoles altamente activa en los granos de café verdes está influenciada por la especie y su origen, mientras en las bebidas esta depende del procedimiento de preparación, tipo de tostado o proceso (Sanchez-Gonzalez, Jimenez-Escrig, & Saura-Calixto, 2015).

La actividad antioxidante (AA) de los granos de café y las bebidas de café se conoce desde hace mucho tiempo y se ha evaluado utilizando diferentes métodos de detección (Aazza, Lyoussi, Antunes, & Miguel, 2014). Los métodos principales para las mediciones de AA son: ORAC: capacidad de absorbanza de radicales de oxígeno; TRAP: parámetro antioxidante de captura total de radicales; FRAP: poder antioxidante reductor férrico; TEAC (Randox): capacidad antioxidante equivalente a Trolox; ABTS: ácido-2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico; TBARS: sustancia reactiva con ácido tiobarbitúrico (Yashin, Yashin, Wang, & Nemzer, 2013); sin embargo, Pisoschi et al. (2011) considera que estas pueden dividirse en tres principios metodológicos que son:

- La espectrometría (ABTS, FRAP, DPPH, ORAC, TRAP, otras)
- Las Técnicas electroquímicas (Voltametría cíclica, Amperometría, y otras)
- La Cromatografía (Cromatografía de gases y Cromatografía líquida de alto rendimiento)

Considerando que todos esos métodos se basan en la mayoría de los casos en la medición directa o indirecta de la velocidad de reacción o de completitud. En todos estos métodos, el AA depende de múltiples parámetros, incluido el tiempo, la temperatura, la naturaleza de la sustancia, la concentración de antioxidantes y otros compuestos, (Opitz, Smrke, Goodman, & Yeretizian, 2014).

Debido a que los polifenoles y otros compuestos antioxidantes desempeñan papeles tan importantes, como se mencionó anteriormente, se requiere elegir las condiciones de

procesamiento más deseables para mantener el mayor contenido posible de estos valiosos ingredientes, mientras se mantiene una alta actividad antioxidante del café.

2.3.1.2 Compuestos fenólicos o polifenoles

Las plantas sintetizan metabolitos secundarios, mejor conocidos como compuestos polifenólicos, la estructura general de éstos está dada por un anillo aromático unido a uno o más grupos hidroxilo (Mercado-Mercado, Carrillo, Wall-Medrano, López, & Álvarez-Parrilla, 2013). Estos compuestos están relacionados con la calidad sensorial de todos los alimentos vegetales, tanto frescos como procesados (Martínez-Valverde, Periago, & Ros, 2012). Estos contribuyen a la pigmentación de los vegetales, a través de las antocianinas, responsables de las coloraciones: roja, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos (Garzon G. , 2010).

Por su parte, el café contiene ácidos poli fenólicos en gran proporción, los mismos que depende de ciertos factores como: la especie (arábica contiene más ácidos que robusta); el tipo de beneficio (el beneficio húmedo obtiene mayor cantidad de ácidos); la frescura, la prevalencia de cafés viejos; el grado de tostación considerando que para tostaciones medias la acidez es más agradable y balanceada que en las oscuras (Puerta G. , Composición química de una taza de café, 2011).

Por otro lado, los principales ácidos poli fenólicos del café tostado son: clorogénico, caféico, ferúlico, quínico, cítrico, acético, málico, fórmico, fosfórico, glicólico, láctico, cumárico y otros 33 ácidos (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019).

Los estudios han encontrado que los polifenoles del café, como los ácidos clorogénicos, tienen muchas propiedades que promueven la salud, como propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, antidiabéticas y antihipertensivas (Yamagata, 2018).

Los ácidos clorogénicos, miembros del grupo de los ácidos hidroxicinámicos, son los principales tipos de polifenoles que se encuentran en el café y constituyen entre el 7 y 9% del peso del café (George, Ramalakshmi, & Mohan Rao, 2008; Tajik, Tajik, Mack, & Enck, 2017). Los ácidos clorogénicos se degradan con el calor, de modo que los niveles de polifenoles en los granos de café tostado son más bajos que en el café verde.

2.3.1.3 Flavonoides

Los flavonoides representan el grupo más importante, dividiéndose en varias subclases; estos son los responsables del color natural de los alimentos, entre ellos las antocianinas, las cuales

dan tonalidades de colores rosa, escarlata, rojo, malva, azul y violeta a los vegetales y bebidas. Todas estas sustancias encontradas en los vegetales, consideradas como no nutritivas se comportan como antioxidantes efectivos en estudios in vitro y ex vitro (Porras-Loaiza & López-Malo, 2020).

En el café estos compuestos son los responsables del sabor amargo (por su relación con los fenoles); sin embargo, dependiendo de la especie este puede variar (Cuesta & Correa, 2018). Por su parte, Díaz et al. (2018) añaden que otro factor que se debe de considerar en el contenido de flavonoides es el proceso de tostado, ya que dependiendo de este la cuantificación puede ser benéfica o mínima en taza.

2.3.1.4 Melanoidinas

Las melanoidinas se forman al final de la Reacción de Maillard originada durante la tostación del café. Químicamente, se las define como sustancias nitrogenadas, solubles en el agua, y de peso molecular alto. Las melanoidinas están presentes en alimentos como: el café, la cerveza, pan, cereales para el desayuno, malta tostada, pasta de tomate etcétera. (Guevara D., 2012).

Las melanoidinas son compuestos poliméricos heterogéneos de color marrón que se forman en la etapa final de las reacciones de Maillard, que representan aproximadamente el 23% de la materia seca en el café tostado (Wang, Fu, & Lim, 2017). La estructura química de las melanoidinas del café es extremadamente compleja y aún se desconoce en gran medida. Pero se ha propuesto que las melanoidinas del café contienen fragmentos de proteínas y que los CGA se incorporan en las subunidades de proteínas. Además, los polisacáridos o fragmentos de polisacáridos también están muy involucrados en la formación de melanoidinas (Bekedam, 2015).

Las melanoidinas tienen una serie de funciones importantes en la química del café, como la unión del sabor, capacidad antioxidante y propiedad de quelación de metales (Bekedam, 2015). El potencial de las melanoidinas de la preparación del café para unirse a tioles aromatizantes, como el 2-furfuriltiol (FFT), 3-metil-2-buteno-1-tiol y formiato de 3-mercapto-3-metilbutilo, que pueden contribuir al envejecimiento de las infusiones de café (Hofmann, Czerny, Calligaris, & Schieberle, 2010). La formación de melanoidinas compensa la pérdida de CGA y se encontró que es el principal contribuyente a la actividad antioxidante del café tostado oscuro (Liu & Kitts, 2011).

2.3.1.5 Ácidos clorogénicos

El café contiene varios ésteres fenólicos denominados ácidos clorogénicos, que derivan de la unión éster entre el ácido caféico y el ácido quínico. Se denomina ácido clorogénico al ácido que está presente en mayor cantidad (5-O-cafeoilquínico), junto a los también presentes ácidos feruloilquínicos, ésteres del ácido caféico y el ácido ferúlico son importantes en la dieta diaria. El contenido de ácidos clorogénicos es del 7% en el café verde y se descomponen parcialmente (30 a 70%) durante el tostado, alcanzando niveles del orden de 4.0% (Gotteland & de Pablo, Algunas verdades sobre el café, 2018).

Los granos de café verde poseen las mayores cantidades de CGA en comparación con otras plantas, aproximadamente del 6 al 12% (base seca) (Farah, de Paulis, Trugo, & Martin, 2015). Los CGA son ésteres fenólicos de ácido quínico con ácidos transcinámicos (principalmente ácidos caféico, ferúlico y p-cumárico en granos de café verde), de los cuales los ácidos cafeoilquínicos constituyen la fracción de CGA más abundante, representando alrededor del 80% y 76% del CGA total en los cerezos verdes del cafeto (arábica y robusta), respectivamente (Wang & Lim, 2015).

En las plantas, el CGA es uno de los metabolitos secundarios que proporcionan defensa celular (por ejemplo, antioxidante, eliminador de radicales libres, absorbente de luz ultravioleta) (Marín & Puerta, 2018). Además, son agentes antimicrobianos que protegen a las plantas contra la proliferación de bacterias, hongos y virus (Farah & Donangelo, 2016). En general, los contenidos de CGA en los granos de robusta tienden a ser más altos que los de arábica. Además, las investigaciones han demostrado que existen correlaciones positivas entre la cafeína y el contenido de CGA en muchas especies de café, lo que puede estar relacionado con la presencia de complejos cafeína-clorogenato (D'Amelio, Fontanive, Uggeri, Suggi-Liverani, & Navarini, 2019).

Por otro lado, cuando los granos de café se procesan a niveles de tostado medio-ligero, aproximadamente el 60% de los CGA iniciales en los granos verdes se degradan (Wang & Lim, 2015). A diferencia de los cafés tostados oscuros, donde la mayoría de los CGA se agotan. Además, de la degradación térmica, se ha sugerido que la incorporación de CGA en las melanoidinas es otra razón que causa el agotamiento de los CGA en el café tostado (Perrone, Farah, & Donangelo, 2012).

En cuanto al contenido de CGA por variedad Puerta-Quintero (2011) añade que otro factor que condiciona el contenido es el estado de madurez de los frutos y la variedad (Figura 15), produciendo una variación de este a medida que se desarrolla:

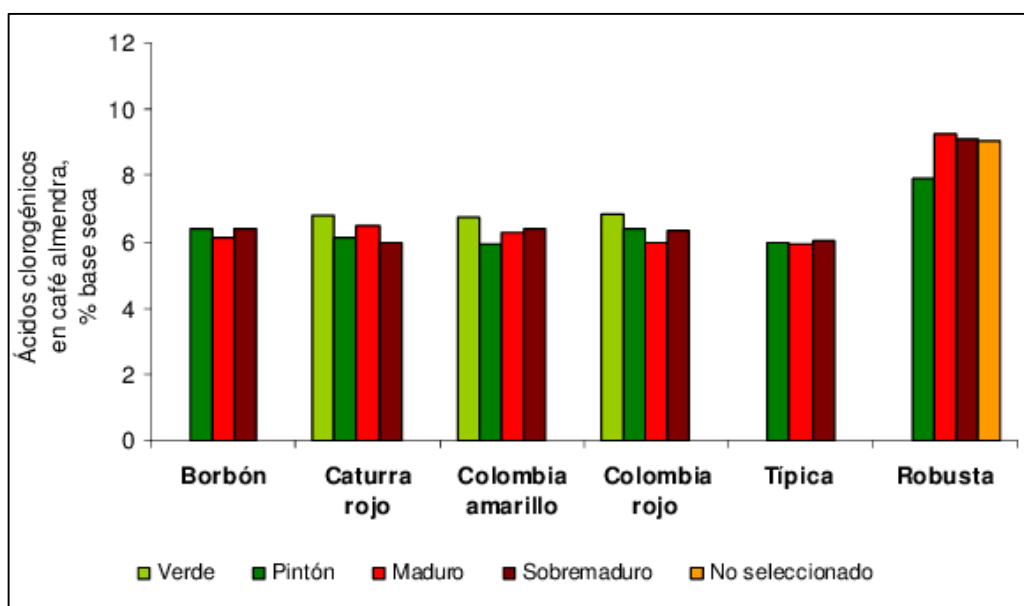


Figura 15. Contenidos de ácidos clorogénicos en café según la variedad y la madurez
Fuente: (Marín & Puerta, 2018)

2.4 Evaluación sensorial del café

La cata de café es un análisis sensorial de un producto alimenticio muy complejo de evaluar. El objetivo de esta es valorar de la manera más imparcial posible y tomar decisiones basadas en los resultados de la evaluación. Al practicar constantemente un método de evaluación del café, los catadores perfeccionan sus habilidades, sabiendo que las evaluaciones pueden determinar si su empresa compra un café verde o no, lo que en última instancia determina si aterriza en su taza de la mañana o no (Farah A. , 2019).

Con respecto al café, el término calidad puede definirse como un conjunto de atributos físicos, químicos y sensoriales que satisfacen las necesidades del consumidor (Mori, y otros, 2013).

La calidad sensorial de un producto está relacionada con los niveles adecuados de atributos sensoriales en todos los aspectos (apariencia, aroma, sabor, textura y gusto) y desde varias perspectivas (Stone & Sidel, 2014), siendo muy importante el punto de vista del consumidor. Se sabe que los consumidores crean impresiones subjetivas sobre la calidad de un producto en base a procesos psicológicos (Rodríguez-Rabadán, 2014). Estos procesos están

influenciados por muchos factores como el nivel de conocimiento previo y las competencias cognitivas de cada consumidor individual (Bredahl, 2018). Así, desde la perspectiva del consumidor, la calidad se refiere a la calidad percibida y no a la calidad de forma objetiva.

2.4.1 Métodos utilizados en la evaluación sensorial

Los métodos de evaluación sensorial se usan principalmente en la industria de los alimentos para determinar la calidad de las materias primas y del producto terminado, en el control del proceso de fabricación y para estudiar las preferencias que tiene el consumidor (Puerta G. , 2013).

Como se mencionó anteriormente, los factores que afectan la elección e ingesta de alimentos son multidimensionales y complejos, pero no hay duda de que las propiedades físicas y sensoriales de un alimento deben estar entre los principales. Por lo tanto, es muy importante que los métodos utilizados para medir las propiedades sean precisos, no sesgados y tengan en cuenta los requisitos especiales involucrados cuando los seres humanos se utilizan como instrumentos científicos de medición (Thomas, Puget, Valentin, & Songer, 2017).

La evaluación sensorial se puede utilizar para varios propósitos en una empresa. En la Tabla 5 hay una lista de actividades a las que la evaluación sensorial puede contribuir, directa o indirectamente.

Tabla 5. *Actividades de evaluación sensorial dentro de una industria alimentaria*

Actividades relacionadas con la evaluación sensorial
Desarrollo de productos
Reformulación de productos y reducción de costes
Seguimiento de la competencia
Control de calidad
Seguro de calidad
Especificación sensorial del producto
Especificación de materia prima
Estabilidad en almacenamiento: estudios de vida útil
Proceso, ingrediente, relación analítica, sensorial
Reclamos publicitarios

Fuente: (Stone & Sidel, 2014)

Cada actividad es importante para una empresa y su uso dependerá del tipo de empresa, así como del propósito del estudio. Para algunas empresas, el énfasis puede estar en el mercado,

nuevos productos, reducción y reformulación de costos, extensión de línea, etc. Para otras, el control de calidad es un enfoque principal.

Las propiedades físicas y químicas se miden con instrumentos, mientras que las propiedades sensoriales se miden con un panel sensorial. El panel consta de individuos seleccionados de acuerdo con la agudeza sensorial y la capacidad para articular las sensaciones experimentadas al ver, oler y comer o beber. Las personas están capacitadas para describir productos en términos de características sensoriales y la intensidad de los atributos percibidos del producto (Alvarado D. , 2012).

Normalmente se utiliza un panel entrenado para pruebas discriminatorias y descriptivas. Sin embargo, cuando el objetivo del estudio es investigar si el consumidor percibe la diferencia entre las muestras o un atributo específico de la muestra, se pueden reclutar personas a las que les gusta y consumen el producto (Saint-Denis, Consumer and Sensory Evaluation Techniques: How to Sense Successful Products, 2018). Además, se observa en todo el mundo que, más recientemente, la descripción sensorial la realizan evaluadores no capacitados, es decir, consumidores.

La hipótesis es que el consumidor es capaz de realizar la caracterización sensorial de las muestras (Varela & Ares, 2014). Las pruebas de preferencia y aceptabilidad las realizan los consumidores, que son los usuarios o usuarios potenciales del producto. A continuación, se presentan comentarios sobre los tres tipos principales de pruebas sensoriales.

2.4.1.1 Pruebas discriminatorias

Centrándose primero en los métodos discriminativos (una clase de pruebas que se utilizan para investigar si existe una diferencia sensorial entre las muestras), se pueden encontrar una variedad de métodos específicos. Las más comunes son la prueba del triángulo, la prueba dúo-trío y la prueba de comparación por pares (Lawless & Heymann, Sensory evaluation of food: principles and practices, 2013). Las pruebas de triángulo y dúo-trío se utilizan cuando el objetivo es determinar si existe una diferencia sensorial entre dos productos (Rogers, 2017). La comparación por pares se utiliza para determinar de qué manera una característica sensorial particular difiere entre dos muestras (por ejemplo, más o menos amarga) (Revi, 2019).

2.4.1.2 Pruebas descriptivas

Las pruebas sensoriales descriptivas se encuentran entre las herramientas más sofisticadas disponibles para el profesional sensorial e implican la detección y descripción de componentes sensoriales tanto cualitativos como cuantitativos de un producto por paneles capacitados (Kemp, Hort, & Hollowood, *Descriptive analysis in sensory evaluation*, 2018).

Un punto relevante de las pruebas descriptivas es su capacidad para permitir el establecimiento de relaciones entre las medidas descriptivas sensoriales e instrumentales o de preferencia del consumidor (Lawless & Heymann, 2010). También se pueden utilizar para investigar los cambios del producto durante su vida útil y para evaluar los efectos de los ingredientes o las variables de procesamiento en las propiedades sensoriales finales de un producto (Farah A. , *Coffee: Production, Quality and Chemistry*, 2019).

Hay varios métodos diferentes de análisis descriptivo, como el perfil de sabor, textura, el análisis descriptivo cuantitativo (QDA™), el Spectrum™ y el perfil de libre elección (Saint-Denis, *Consumer and Sensory Evaluation Techniques: How to Sense Successful Products*, 2018). Todos ellos requieren un panel con algún grado de formación y, en la mayoría de ellos (excepto en el perfil de libre elección), los panelistas también deben tener un nivel razonable de agudeza sensorial.

2.4.1.3 Pruebas subjetivas

Las pruebas subjetivas que se realizan con paneles de consumidores permiten adquirir información en cuanto a la aceptabilidad y preferencia de un producto determinado, evaluar la actividad sensorial (en cuanto a preferencia del consumidor) de un producto frente a otro producto que ya está en el mercado nos permite: recoger satisfacciones o quejas del consumidor, medir la preferencia entre dos opciones de un producto que se está llevando a cabo y evaluar o contrastar la aceptación del mismo en diferentes fases de su proceso de formulación (Alvarado D. , 2012).

A diferencia de las otras pruebas estas se realizan con un panel no entrenado. Las pruebas más empleadas son las de preferencia y aceptabilidad (Saint-Denis, *Consumer and Sensory Evaluation Techniques: How to Sense Successful Products*, John Wiley & Sons Ltd, 2018).

Capítulo III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Caracterización del estudio

El estudio de lo realizado en dos fases; fase de campo y laboratorio.

3.1.1 Fase de campo

La fase de campo fue en la comunidad Río Blanco, parroquia Jacinto Jijón y Caamaño, perteneciente al cantón Mira, sitio que cuenta con las siguientes características;

- ✓ Temperatura: 18 – 26 °C
- ✓ Altitud: 1200 m.s.n.m.
- ✓ Humedad Relativa: 89%
- ✓ Precipitación Media Anual: 1537,5 mm

3.1.2 Fase de laboratorio

La presente investigación se llevó a cabo en las Unidades Edu-productivas, localizadas en la parroquia El Sagrario, cantón Ibarra, provincia de Imbabura y en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias ubicado en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha. A continuación, en la tabla 6 se exponen las condiciones climatológicas de los lugares de experimentación.

Tabla 6. *Condiciones climatológicas de las áreas de estudio.*

Condiciones climatológicas	U. Eduproductivas	INIAP
Temperatura:	17.7 °C	18.0 °C
Altitud:	2256 m.s.n.m.	3050 m.s.n.m.
HR promedio:	72%	76%
Latitud:	00°19'47" Sur	00° 22' 00" Sur
Longitud:	78°07'56" Oeste	78° 33' 00" Oeste
Precipitación Anual Promedio:	541.6 mm	1127.5 mm

Fuente: (INAMHI, 2020)

3.2 Materiales y Equipos

Para el análisis de la investigación se utilizaron los siguientes materiales, equipos y reactivos que se detallan a continuación:

3.2.1 Materiales

- ✓ Probetas 50, 100, 500 y 1000 ml
- ✓ Vasos de precipitación 50, 100, 250 y 500 ml
- ✓ Balones de digestión 100 ml
- ✓ Pipetas graduadas 1 y 10 ml
- ✓ Micropipetas 10-1000 µl
- ✓ Matraces Erlenmeyer 25 ml
- ✓ Desecador
- ✓ Crisoles de porcelana
- ✓ Celdas
- ✓ Tubos de plástico 15 ml con tapa
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Jeringas con filtro
- ✓ Viales ámbar de 1,5 ml

- ✓ Peras de succión
- ✓ Pinzas de metal
- ✓ Espátulas
- ✓ Gradillas
- ✓ Frascos ámbar 25 y 100mL
- ✓ Cronómetro
- ✓ Bolsas de polietileno
- ✓ Frascos de vidrio con tapa
- ✓ Bolsas de papel

3.2.2 Equipos de beneficio húmedo

- ✓ Despulpadora
- ✓ Balanza electrónica
- ✓ Balanza de plataforma
- ✓ Medidor de humedad
- ✓ Tanque de fermentación
- ✓ Tendales de mallas

3.2.3 Equipos de tostado

- ✓ Trilladora
- ✓ Clasificadora de granos
- ✓ Tostadora de laboratorio
- ✓ Balanza electrónica.
- ✓ Medidor de humedad electrónico

3.2.4 Equipos de laboratorio

- ✓ Balanza analítica digital
- ✓ Balanza electrónica
- ✓ Espectrofotómetro UV-VIS
- ✓ Cromatografía líquida de alta resolución HPLC
- ✓ Centrífuga
- ✓ Baño María
- ✓ Mufla
- ✓ Equipo de proteína Kjeldahl

- ✓ Extractor de grasa Soxhlet
- ✓ Equipo de extracción de fibra cruda GERHARDT
- ✓ Refrigerador
- ✓ Baño ultrasonido
- ✓ Agitador magnético VORTEX
- ✓ Campana extractora
- ✓ Molino

3.2.5 Reactivos

- ✓ Cloruro de aluminio hexahidratado
- ✓ Nitrito de sodio
- ✓ Hidróxido de sodio
- ✓ Catequina hidratante 98%
- ✓ Metanol
- ✓ Grado reactivo al 99.5%
- ✓ Ácido gálico monohidratado
- ✓ Reactivo de Folin & Ciocalteu
- ✓ Carbonato de sodio al 99.5%
- ✓ Agua destilada
- ✓ Trolox
- ✓ ABTS
- ✓ Persulfato de Potasio
- ✓ Fosfato de sodio monobásico
- ✓ fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 grado reactivo
- ✓ fosfato de sodio dibásico $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$
- ✓ ferrocianida de potasio
- ✓ ácido tricloroacético
- ✓ cloruro férrico
- ✓ Metanol grado P.A
- ✓ Ácido fórmico grado P.A 98-100%
- ✓ Acetonitrilo grado HPLC
- ✓ Agua biodestillada
- ✓ Metanol grado HPLC

3.3 Descripción de la metodología

En la investigación se empleó granos verdes de café arábica, de las variedades Castilla, Caturra amarillo y SI-28, con humedad del 10 al 12%.

Si bien los objetivos de investigación se dividieron progresivamente para analizar la objetividad del estudio, previamente se realizó una caracterización fisicoquímica proximal de algunos tratamientos de café verde y tostado; esto con el fin de caracterizar si los componentes contienen las características iguales o diferentes reportadas en investigaciones anteriores.

Con el fin de lograr los objetivos específicos definidos, la investigación se efectuó según la siguiente secuencia de actividades:

3.3.1 Evaluación de intensidad del proceso de tostado sobre los contenidos de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante en las tres variedades arábicas.

Para dar cumplimiento al primer objetivo se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial A x B x C, debido a que mayores tiempos y temperaturas durante el tostado hace que capacidad antioxidante cambie se hace el estudio de tres factores principales los cuales se detallan a continuación en la tabla 7.

Tabla 7. Factores de estudio

FACTORES DE ESTUDIO	
FACTOR A Variedad de Café	A1: Castillo A2: Caturra amarillo A3: SL-28
FACTOR B Temperatura de tostado	B1: 190°C. B2: 210°C.
FACTOR C Tiempo de tostado	C1: 12 minutos C2: 18 minutos

Fuente: Autoría propia

De la combinación de los factores A, B y C (Variedad de café, temperatura y tiempo de tostado) se estructuraron 12 tratamientos que se detallan a continuación en la tabla 8.

Tabla 8. Tratamientos

TRATAMIENTOS	FACTORES			COMBINACIONES
T1	A1	B1	C1	A1B1C1
T2	A1	B2	C1	A1B1C2
T3	A1	B1	C2	A1B2C1
T4	A1	B2	C2	A1B2C2
T5	A2	B1	C1	A2B1C1
T6	A2	B2	C1	A2B1C2
T7	A2	B1	C2	A2B2C1
T8	A2	B2	C2	A2B2C2
T9	A3	B1	C1	A3B1C1
T10	A3	B2	C1	A3B1C2
T11	A3	B1	C2	A3B2C1
T12	A3	B2	C2	A3B2C2

Fuente: Autoría propia

3.3.2 Análisis de Varianza

Para cuantificar la interacción entre los factores de estudio se realizó el análisis de la varianza. El análisis de varianza se detalla a continuación en la tabla 9.

Tabla 9. Esquema del análisis de la varianza

F de V	GL
Total	35
Tratamientos	11
Variedad de café (A)	2
Temperaturas (B)	1
Tiempo (C)	1
I A x B	2
I A x C	2
I B x C	2
I A x B x C	2
ERROR	24

Fuente: Autoría propia

Al detectarse diferencias significativas entre los tratamientos se empleó la prueba de Tukey al 5%.

3.3.3 Variables por evaluarse

En la tabla 10 se indica las variables cuantitativas (FRAP y ABTS) que nos ayudaron a determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contiene el café para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini, & Fett, 2015).

Tabla 10. Variables-Actividad antioxidante

VARIABLES	MÉTODO DE ANÁLISIS
Actividad antioxidante	Método FRAP usado por Oyaizu, (1986)
	Método ABTS usado por Kuskoski, (1999)

Fuente: Autoría propia

3.3.4 Identificación de los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante en variedades de café arábico (Castillo, Caturra amarillo y sl-28).

Para este objetivo se realizó un análisis de correlación de Pearson para poder identificar la relación de los compuestos bioactivos frente a la actividad antioxidante; es decir que se identificó la incidencia de los factores de estudio sobre la actividad antioxidante. En la tabla 11 se muestran los compuestos con actividad antioxidante:

Tabla 11. Variables - compuestos con actividad antioxidante

VARIABLES	MÉTODO DE ANÁLISIS
Actividad antioxidante	Método FRAP Método ABTS
Contenido de Flavonoides totales.	Espectrofotometría (Zhishen, Tang, & Jianming, 1998)
Contenido de Polifenoles totales.	Método Folin-Ciocalteu (Cross, Villeneuve, & Vincent, 1982)
Ácido cafeico Ácido clorogénico Ácido siringico Ácido ferúlico	Cromatografía Líquida – HPLC

Fuente: Autoría propia

3.3.5 Evaluación de la aceptabilidad del café tostado en bebida sobre la preferencia del consumidor.

Para este objetivo se va evaluó la aceptabilidad de las muestras de café tostado bajo el método de calificación hedónica desde la prueba subjetiva (dirigida al consumidor), aplicando la prueba afectiva de aceptación. El cuestionario se realizó bajo el criterio (Kemp, Hollowood, & Hort, Sensory evaluation: a practical handbook. John Wiley & Sons., 2011) expuesto en el Anexo 1, así como la escala hedónica empleada por (Saint-Denis, Consumer and Sensory Evaluation Techniques: How to Sense Successful Products, John Wiley & Sons Ltd, 2018) descrita en la Tabla 12. Los resultados se contrastaron bajo la prueba de Friedman (con prueba posthoc) al 5 % que es una alternativa no paramétrica a la prueba ANOVA. Se empleó un panel no entrenado de 25 consumidores, dentro de la selección se consideró que los mismos, hayan consumido, aunque sea una vez café.

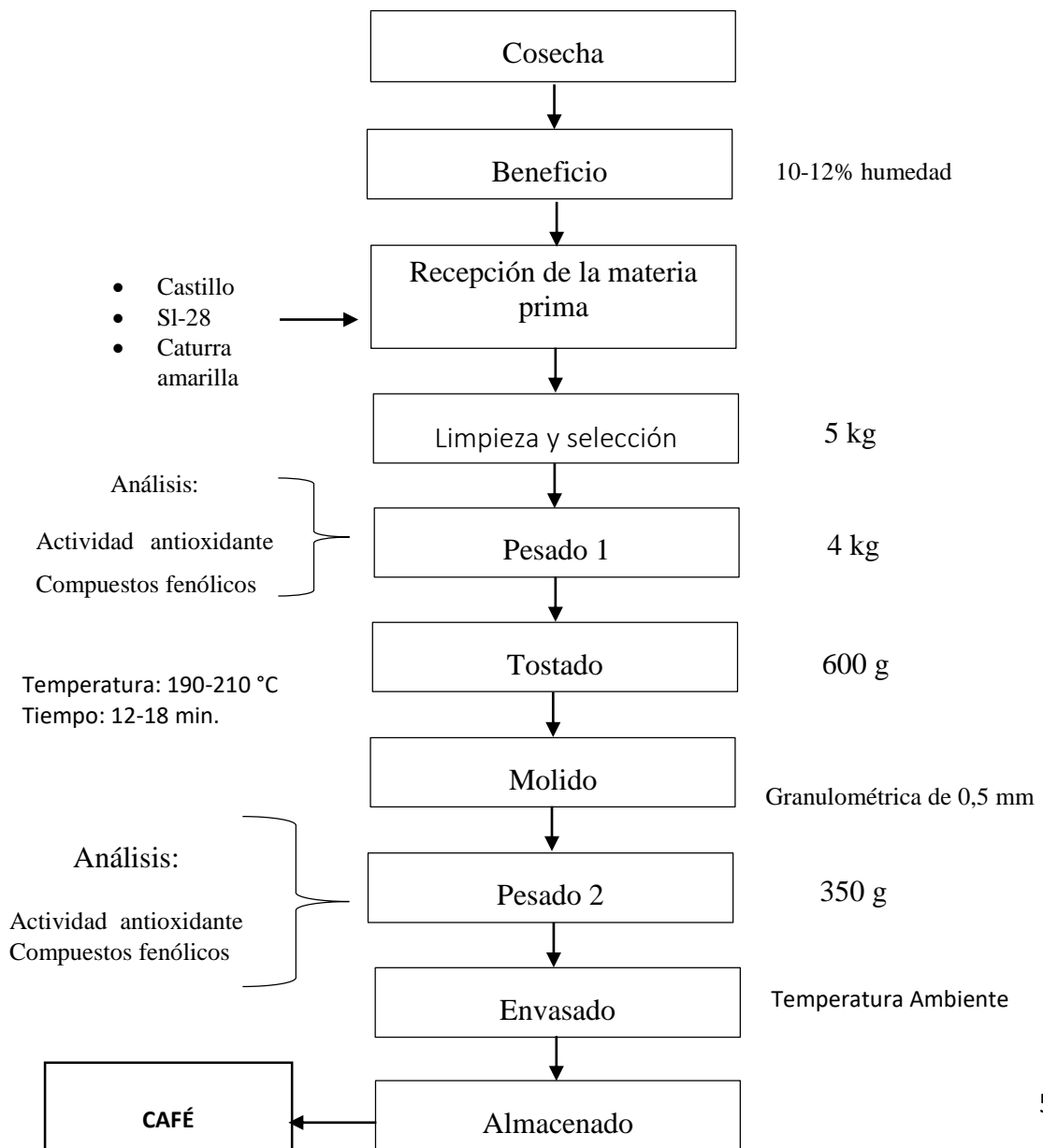
Tabla 12. Escala hedónica empleada para la prueba de aceptabilidad

Escala de aceptabilidad	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12	T13
Me gusta mucho													
Me gustó													
No me gustó ni me disgustó													
No me gustó													
No me gustó mucho													

Fuente: Autoría propia

3.4 Manejo Especifico del Experimento

DIAGRAMA DE FLUJO PARA EL TOSTADO DEL CAFÉ



Descripción del proceso de tostado de café para medir la capacidad antioxidante.

-Cosecha: Se inició con el proceso de recolección de los frutos de café de las diferentes variedades de café arábigo.

-Beneficio: El proceso de beneficio será el mismo usado en la Asociación “las Golondrinas” el cual consiste en la clasificación del fruto, despulpado, remoción del mucilago (fermentación natural), lavado del café fermentado, secamiento y almacenamiento hasta su posterior uso.

-Recepción de Materia Prima: La materia prima con la que se inicia serán los granos de café verde de las distintas variedades mencionadas, las cuales ya hayan pasado por el proceso de beneficio. La humedad de los granos de café verde será del 10 al 12% para todos los tratamientos con sus respectivas repeticiones.

- **Limpieza y selección:** Se procedió a retirar material extraño ajeno tales como: hojas, piedras, ramas, etc.; seguidamente el grano de café será clasificado con la criba con aberturas circular del No. 20, la longitud de la abertura es de 19 mm (INEN-290, 1978).
- **Pesado 1:** Se procedió a pesar la cantidad de 600 g para cada tratamiento y sus respectivas repeticiones.
- **Tostado:** A continuación, se tostó el café en el equipo tostador de acuerdo a las temperaturas y tiempos antes mencionados (190°C - 210°C x 12 - 18min).
- **Molienda:** Se procedió a moler el café con el fin de obtener partículas más finas, este proceso se lo realizará en un molino apto para café.
- **Pesado 2:** El segundo pesado se realizó con la finalidad de conocer la pérdida de peso en el proceso de tostado. Para cada tratamiento y sus repeticiones se hizo un pesaje aproximado de 350 gr. En esta etapa del proceso se realizó la determinación de polifenoles, flavonoides y su actividad antioxidante con la finalidad de conocer el contenido de cada uno de ellos.
- **Envasado:** El producto obtenido se empacará en fundas plásticas aptas para el contacto del café.
- **Almacenado:** El producto terminado se almaceno en un lugar fresco y seco libre de humedad a temperatura ambiente que permita mantener el producto en condiciones óptimas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente capítulo expone, analiza, evalúa y contrasta los resultados obtenidos de la presente investigación titulada “Evaluación de Actividad Antioxidante en el Proceso de Tostado de Café *Coffea arabica* L. en las Variedades Castillo, Caturra amarillo Y SL-28”, con el fin de identificar la incidencia de los factores de estudio sobre el cerezo de café verde y tostado dentro del proceso de tostado.

4.1 Evaluación de los parámetros del tostado sobre los componentes bioactivos del café

Las muestras de café de las variedades Castillo, Caturra amarillo y SL-28 obtenidas de la comunidad de Rio Blanco, parroquia Jacinto Jijón y Caamaño, cantón Mira, provincia del Carchi fueron sometidas a condiciones definidas de temperatura y tiempo de tostado, se obtuvo doce tratamientos los cuales fueron evaluados bajo las características específicas (componentes bioactivos) determinadas como: polifenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante (por el método FRAP y ABTS) respectivamente. A continuación, se describen los resultados y análisis referentes a los componentes antes mencionados y su efecto dentro del proceso de tostado.

4.1.1 Polifenoles totales

En la figura 16 se muestran los resultados obtenidos del análisis químico de polifenoles totales para los doce tratamientos, expresados como (mg GAE/g).

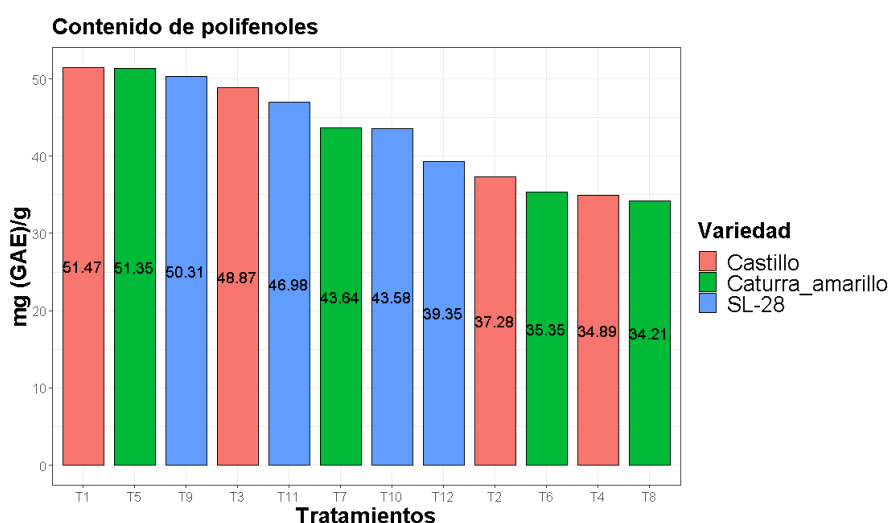


Figura 16. Contenido de Polifenoles totales del café tostado

Las cantidades más altas de ácido gálico se encontraron en los tratamientos T1, T5 y T9, mientras que los tratamientos T6, T4 y T8 mostraron un descenso significativo en su contenido de GAE. Por otro lado, las diferencias de los datos experimentales fueron contrastados en el análisis de la varianza (Tabla 13) contrastado bajo el criterio de supuestos (normalidad y homocedasticidad), determinado normalidad ($n=0.80$, bajo la prueba Shapiro-Wilks) y homogeneidad de varianzas ($p=0.22$, por test de Levene) respectivamente.

Tabla 13. *Análisis de varianza para polifenoles totales del café tostado*

F. V.	G. L	S. C	C. M	F. cal.		F. T 5%	F. T 1%
Total	35	1495,36					
Tratamiento	11	1479,22	134,47	200,01	**	2,22	3,09
Factor A (Variedad café)	2	91,99	45,99	68,41	**	3,40	5,61
Factor B (Temperatura)	1	91,31	91,31	135,81	**	4,26	7,82
Factor C (Tiempo)	1	1153,69	1153,69	1715,92	**	4,26	7,82
A x B	2	2,53	1,26	1,88	NS	3,40	5,61
A x C	2	80,27	40,13	59,69	**	3,40	5,61
B x C	1	16,70	16,70	24,84	**	4,26	7,82
A x B x C	2	42,74	21,37	31,78	**	3,40	5,61
Error Expo.	2	16,14	0,6723				

*: Significativo

** : Altamente significativo

NS: No significativo

CV: 1.90%

El análisis de varianza presentado en la tabla 13, muestra que los factores principales y las interacciones influyeron de manera altamente significativamente ($\alpha < 0.05$) en el contenido de polifenoles del café tostado. Así también, al existir diferencias significancia entre los tratamientos se procedió a realizar la prueba Tukey al 5% (véase, Tabla 14).

Tabla 14. Prueba de Tukey al 5% para polifenoles totales en café tostado

Tratamientos	Medias	Rangos				
T1	51,47	a				
T5	51,35	a				
T9	50,31	a	b			
T3	48,87		b	c		
T11	46,98			c		
T7	43,64				d	
T10	43,58				d	
T12	39,36					e
T2	37,28					e
T6	35,35					f
T4	34,89					f
T8	34,21					f

Fuente: Autoría propia

De acuerdo con la prueba de Tukey se identificó siete grupos con diferentes comportamientos, se eligió al grupo **a** (T1: A1B1C1, T5: A2B1C1 y T9: A3B1C1) como el mejor tratamiento en base al criterio de Navarro *et al*, (2017), ya que si bien no existe un rango optimo establecido (en normas) para el contenido de polifenoles en café tostado, la elección del mejor tratamiento se lo realizó sustentado en la ingesta diaria recomendada de polifenoles. Por otro lado, para Katsube *et al*, (2009) las diferencias en el contenido de polifenoles se deben intrínsecamente a que los compuestos poli fenólicos son compuestos altamente termolábiles que se descomponen fácilmente bajo el efecto de altas temperaturas (superiores a 80°C) y prolongados tiempos de residencia en el tostado, lo cual se vio reflejado en los tratamientos T12, T2, T4, T6 y T8, siendo los más afectados los T6, T4 y T8.

Sin embargo, varios estudios que midieron el contenido de polifenoles en el café han encontrado que las diferencias en el contenido de polifenoles pueden estar relacionadas con la región de origen y las condiciones de cultivo del café, así como con otros factores (Hallmann, Ożga, & Rembiałkowska, 2010). Nuestras mediciones presentadas de contenido de polifenoles son consistentes con otros estudios (Hecimovic, Belscak-Cvitanovic, Horzic, & Komes, 2011; Szymanowska & Wołosiak, 2014; Dybkowska, 2017), que también demostraron dichos niveles en café tostado. Infiriendo de esta manera que los grados de tostado, afectan directamente el contenido de polifenoles, reduciendo considerablemente los mismos (Szymanowska & Wołosiak, 2014).

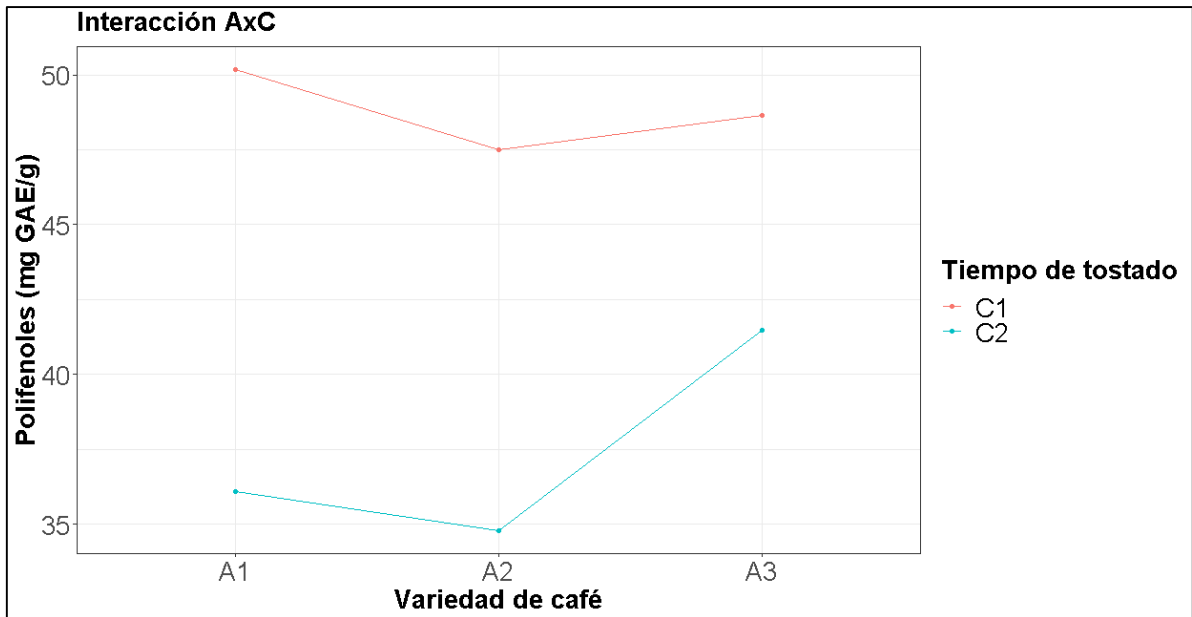


Figura 17. Interacción de los factores A (Variedades de café) y C (Tiempos de tostado) sobre el contenido de polifenoles totales.

Con relación al tiempo de tostado en las muestras de café, al igual que la temperatura de tueste, se encontró una disminución del contenido de polifenoles en las tres variedades de café, producto del aumento del tiempo de residencia del proceso (véase, Figura 17). La variedad que presentó una mejor resistencia a la temperatura (por efecto del tiempo de tostado) y por ende una mejor conservación de ácidos poli fenólicos fue SL-28, mientras que sus congéneres presentan una influencia mayor (son más susceptibles) a los largos tiempos de tostado; sin embargo, en tostados ligeros (12 min) C. Castillo mostro mayores niveles de GAE, en este sentido, Kwak *et al*, (2017) argumenta que estas diferencias se deben intrínsecamente al tratamiento térmico debido a que este causa principalmente una pérdida de compuestos fenólicos en el café por el incremento gradual de la temperatura y tiempo de tostado, produciendo una disminución considerable en el contenido de polifenoles, esto de igual forma es corroborado por Somporn *et al*, (2011) quienes señalan que el contenido de polifenoles decrece al variar el grado de tostado (de ligero a oscuro) en el café.

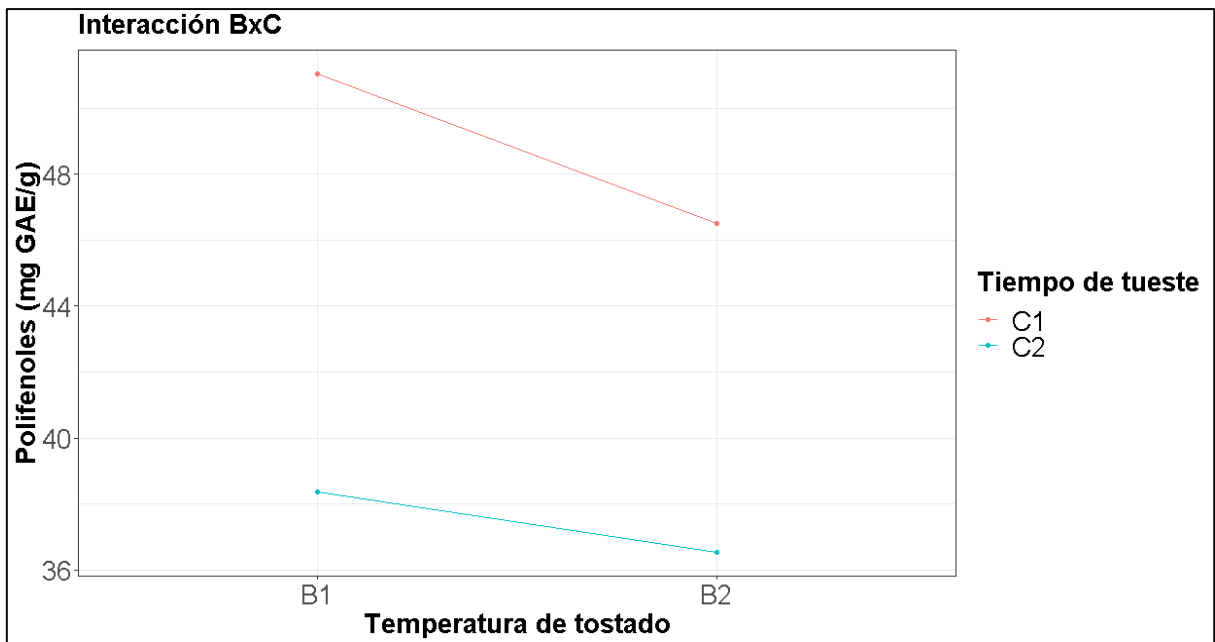


Figura 18. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre el contenido de polifenoles totales

La temperatura y el tiempo de tueste tienen un efecto directo dentro del proceso de tostado (ver, Figura 18), esta relación entre los factores produce una disminución significativa en el contenido de polifenoles esto de acuerdo con Díaz *et al.*, (2018), para los investigadores esto se debe al efecto producto del aumento de temperatura en correlación al tiempo de tostón, lo cual provocara una disminución en los compuestos del café. Sin embargo, al evaluarse diferentes variedades este fenómeno tendera a comportarse indistintamente, por lo que las curvas siempre conservaran su distancia, es decir, no se producirá una interacción entre factores, este comportamiento se puede observar en todas sus interacciones (AB y AC).

4.1.2 Flavonoides totales

Los resultados obtenidos de la caracterización del contenido de flavonoides totales en las muestras de café tostado se muestran en la Figura 19. Se observó una variación de flavonoides en cuanto a los tratamientos para cada variedad, se identificó que los tratamientos T1 y T5 presentaron mayor concentración de catequina que todos los tratamientos, mientras que los T2, T3, T4, T8, T10 y T12 mostraron un descenso significativo en su contenido de flavonoides que todos los casos.

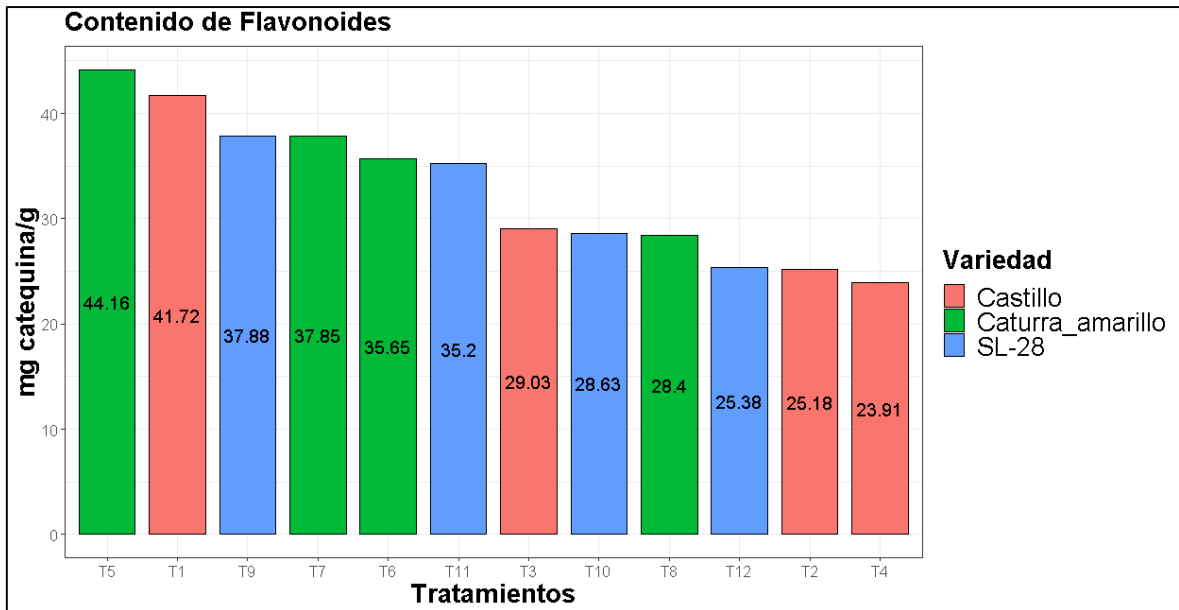


Figura 19. Contenido de Flavonoides totales del café tostado

Al existir una fluctuación significativa en los datos experimentales, estos fueron contrastados en el análisis de la varianza como se muestra en la Tabla 15, el modelo estadístico se evaluó bajo los supuestos del diseño, presentando normalidad ($n=0.19$, bajo la prueba Shapiro-Wilks) y homocedasticidad ($p=0.16$, por test de Levene) respectivamente.

Tabla 15. Análisis de varianza para flavonoides totales del café tostado

F. V.	G. L	S. C	C. M	F. cal.		F. T 5%	F. T 1%
Total	35,00	1557,75					
Tratamiento	11,00	1550,75	140,98	483,34	**	2,22	3,09
Factor A (Variedad café)	2,00	275,08	137,54	471,55	**	3,40	5,61
Factor B (Temperatura)	1,00	279,58	279,58	958,53	**	4,26	7,82
Factor C (Tiempo)	1,00	861,35	861,35	2953,10	**	4,26	7,82
A x B	2,00	30,65	15,32	52,54	**	3,40	5,61
A x C	2,00	5,45	2,72	9,34	**	3,40	5,61
B x C	1,00	24,50	24,50	83,98	**	4,26	7,82
A x B x C	2,00	74,15	37,07	127,11	**	3,40	5,61
Error Expo.	24,00	7,00	0,2917				

*: Significativo
 **: Altamente significativo
 NS: No significativo
 CV: 1.65%

En la tabla 15, se muestra el análisis de varianza para los factores principales y las interacciones, se encontró diferencias altamente significativas ($p < 0.05$) en el contenido de flavonoides totales en todas las muestras de café tostado (para los factores e interacción). Por lo que, se procedió a realizar la prueba Tukey al 5% (Tabla 16).

Tabla 16. Prueba de Tukey al 5% para flavonoides totales en café tostado

Tratamientos	Medias	Rangos
T5	44,16	a
T1	41,72	b
T9	37,88	c
T7	37,85	c
T6	35,65	d
T11	35,20	d
T3	29,04	e
T10	28,63	e
T8	28,40	e
T12	25,37	f
T2	25,18	f
T4	23,91	f

Fuente: Autoría propia

Dentro de la prueba de Tukey se encontró seis grupos diferentes, donde el grupo **a** y **b** se consideraron como los mejores tratamientos por su mayor contenido de catequina que los otros. Por otro lado, estas diferencias de acuerdo con Díaz *et al*, (2018), se debe específicamente al grado de tostón, en este sentido, los investigadores argumentan que las tostaciones medias permiten una alta retención de flavonoides en el café tostado. Sin embargo, existe un efecto significativo en el tiempo de tratamiento térmico sobre la retención de flavonoides, siendo más bajos cuanto el tiempo de tostón aumenta o sobrepasa de los 8 min. Por su parte, Ariga, *et al*, (2018) corroboran el análisis antes descrito expresando que los componentes químicos en el café se ven afectados por el nivel de tostado y aluden que esta variación en el proceso de tostado afecta directamente la calidad del café producido a partir de cada nivel de tostado.

No obstante, Cho *et al*, (2014) señalan que, en particular, los flavonoides son fácilmente destruidos por el procesamiento térmico; y consideran que solo el 23% de los flavonoides permanecen en las muestras de café tostado muy oscuro, mientras que los polifenoles (73%) son altamente retenidos; sin embargo, estos podrían verse alterados por otros factores

propios del proceso o variedad del café. Por otro lado, estos datos sugieren que un proceso de tostado ligero es crítico para mejorar el contenido antioxidante de los granos de café, y que el contenido antioxidante del café es inversamente proporcional al tiempo de tostado.

Según nuestros resultados, es probable que un proceso de tostado ligero ayude a liberar más polifenoles y flavonoides, ya sea por interrupción física o por catálisis de la formación de estos compuestos. Sin embargo, durante el proceso de tostado, los granos tostados muy oscuros mostraron la mayor degradación térmica de los polifenoles y los flavonoides (interacción AB y BC). Sin embargo, nuestras mediciones presentadas de contenido de flavonoides son consistentes con otros estudios (Cho, Park, Kim, Kim, & Han, 2014; Abdeltaif, SirElkhatim, & Hassan, 2018).

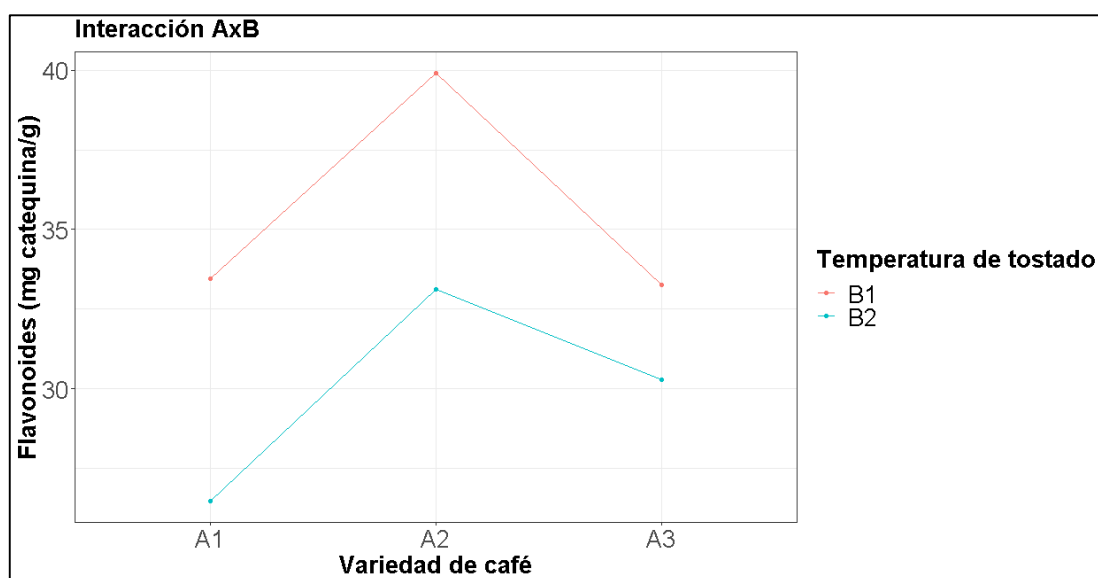


Figura 20. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y B (temperatura de tueste) sobre el contenido de flavonoides totales

En la figura 20 se puede observar que el contenido de flavonoides totales de cada variedad es susceptible a la temperatura de tueste, la catequina como otros componentes resultan ser más vulnerables a las altas temperaturas (Lianga, Xueb, Kennepohl, & Kittsa, 2016), se identificó que la variedad Caturra amarillo resiste las altas temperaturas de tostado y conserva en mayor proporción los flavonoides que sus congéneres (Castillo y DL-28), la variedad castillo resultó ser más sensible a la temperatura y por ende poseer menor cantidad de flavonoides, varias son las causas que justifiquen estas diferencias, ya que diversos son los factores que influyen en la cuantificación de los componente bioactivos del café, no solo para los flavonoides sino para la mayoría de ellos, como por ejemplo: el origen, la variedad,

el grado de tostado, el tipo de tostado, el método, el color, el descenso de la densidad o pérdida de peso (Sacchetti, Di Mattia, Pittia, & Mastrocola, 2009; del Pino, 2011; Sunarharum, Yuwono, & Aziza, 2019)

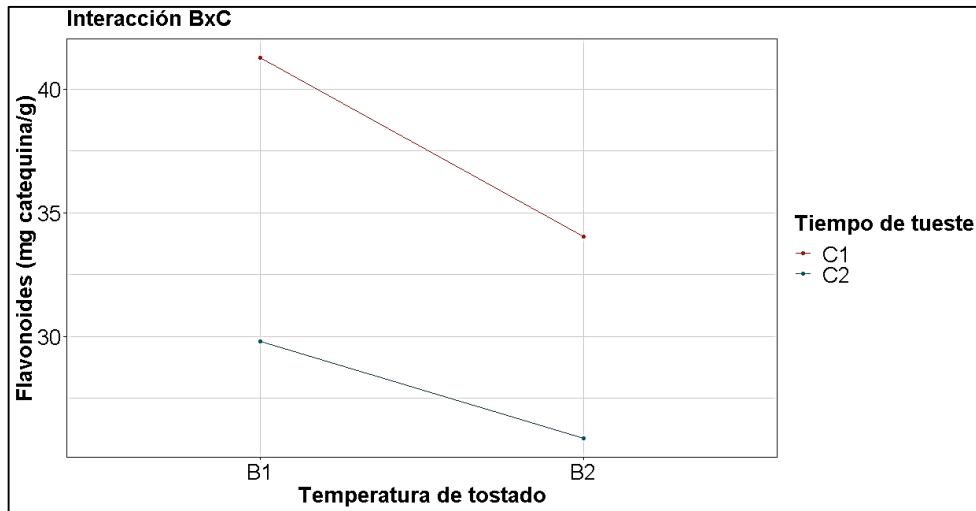


Figura 21. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre el contenido de flavonoides totales

La concentración de flavonoides totales en los granos de diferentes tipos de café disminuyó linealmente al aumentar la intensidad del proceso térmico como se describe en la figura 21. Las muestras de café experimentaron una tasa de pérdida considerable de catequina al tostar, ya que la tasa de reacciones químicas depende de la concentración de reactivos (Sacchetti, Di Mattia, Pittia, & Mastrocola, 2009).

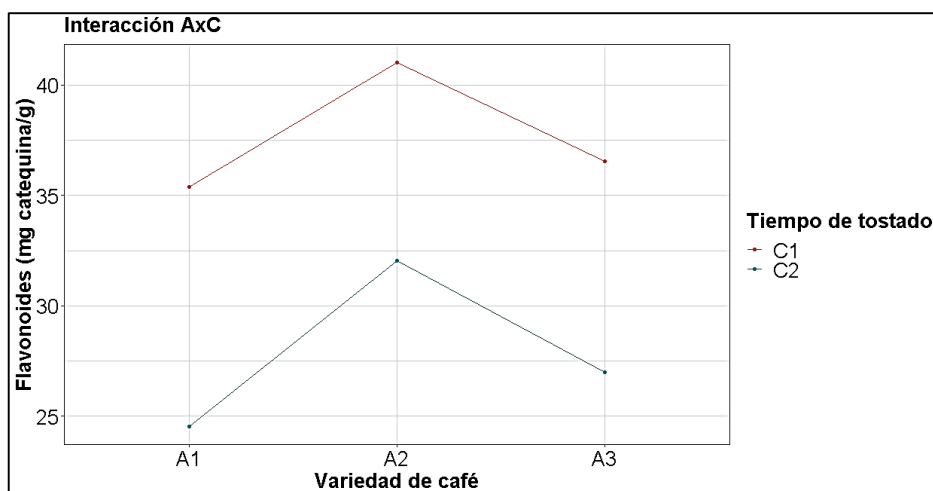


Figura 22. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y C (tiempo de tostado) sobre el contenido de flavonoides totales

En cuanto al tiempo de tostado en relación con las variedades de estudio, se encontró una disminución del contenido de flavonoides producto del aumento de las diferencias en el tiempo de tostado (véase, Figura 22). La variedad que presenta una mejor resistencia al tratamiento térmico y conserva en mayor proporción de catequina es Caturra amarillo, mientras que sus congéneres presentan una influencia mayor (son más susceptibles) a las altas temperaturas y largos tiempos de tostado, aunque en mayor proporción en la variedad Castillo.

4.1.3 Capacidad Antioxidante

Respecto a la evaluación de la actividad antioxidante en las muestras de café tostado se evaluaron bajo dos métodos: *ABTS*⁺ y FRAP, los resultados y el análisis estadístico (Análisis de la varianza) se muestran a continuación para cada uno respectivamente.

4.1.3.1 Actividad antioxidante por el método *ABTS*⁺

En la figura 23 se describen los resultados obtenidos mediante el método *ABTS*⁺ (2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin -6- sulfonato de amonio). Los resultados se expresaron como valores TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox, por sus siglas en inglés), Trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco).

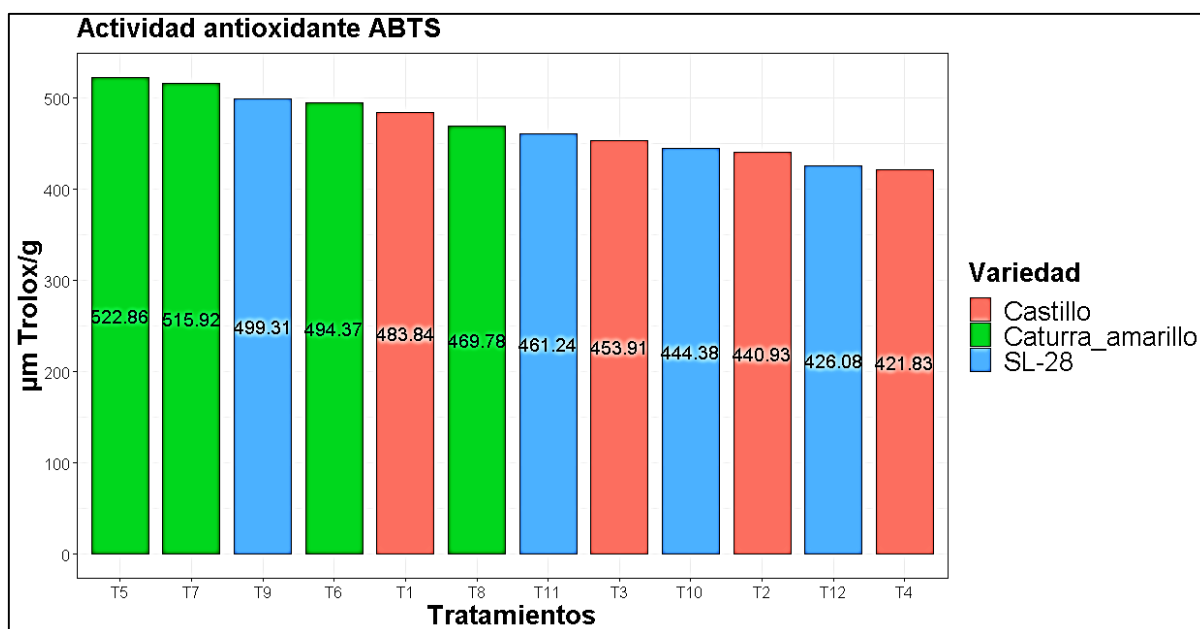


Figura 23. Actividad antioxidante mediante el método *ABTS*⁺

Los tratamientos T5 y T7 presentaron alta actividad captadora de radicales libre que todos los tratamientos, mientras que los T4 y T12 mostraron un descenso significativo en su

capacidad antioxidante que las otras muestras. Los datos experimentales presentaron una variación significativa en sus valores, los cuales fueron contrastados y analizados estadísticamente como se muestra en la Tabla 17, el análisis de varianza presento normalidad ($n=0.09$, bajo la prueba Shapiro-Wilks) y homogeneidad de varianzas ($p=0.41$, por test de Levene) respectivamente.

Tabla 17. Análisis de varianza de la actividad antioxidante del café tostado mediante el método ABTS⁺

F. V.	G. L	S. C	C. M	F. cal.		F. T 5%	F. T 1%
Total	35,00	37915,25					
Tratamiento	11,00	37893,45	3444,86	3791,42	**	2,22	3,09
Factor A (Variedad café)	2,00	17865,72	8932,86	9831,52	**	3,40	5,61
Factor B (Temperatura)	1,00	4687,08	4687,08	5158,61	**	4,26	7,82
Factor C (Tiempo)	1,00	14364,60	14364,60	15809,69	**	4,26	7,82
A x B	2,00	244,16	122,08	134,36	**	3,40	5,61
A x C	2,00	116,72	58,36	64,23	**	3,40	5,61
B x C	1,00	42,00	42,00	46,23	**	4,26	7,82
A x B x C	2,00	573,17	286,59	315,42	**	3,40	5,61
Error Expo.	24,00	21,81	0,91				

*: Significativo
 **: Altamente significativo
 NS: No significativo
 CV: 0.20%

Se encontró diferencias altamente significativas ($p<0.05$) en la actividad antioxidante para las muestras de café tostado tanto para los factores principales; como para las interacciones. Por lo que, se procedió a realizar la prueba Tukey al 5% (Tabla 18).

Tabla 18. Prueba de Tukey al 5% de actividad antioxidante en café tostado mediante ABTS⁺

Tratamientos	Medias	Rangos
T5	522,86	A
T7	515,92	B
T9	499,31	C
T6	494,37	D
T1	483,84	e
T8	469,78	f
T11	461,24	g
T3	453,91	h
T10	444,38	i
T2	440,93	j
T12	426,08	k
T4	421,83	l

Fuente: Autoría propia

Se encontró doce grupos diferentes dentro de la prueba de Tukey, donde el grupo **a** y **b** se consideraron como los mejores tratamientos por su mayor actividad captadora de radicales libre (ABTS⁺). Los resultados de este ensayo fueron similares a los de Guevara (2012) y Cho *et al*, (2014).

Sin embargo, para Pino (2011) estas diferencias se deben principalmente a la pérdida de ácidos fenólicos de bajo peso molecular durante el proceso del tostado, Priftis *et al*, (2015) confirma dicho análisis al argumentar que la actividad antioxidante es inversamente proporcional a la temperatura y tiempo de tostado, es decir, la actividad antioxidante disminuye al aumentar el grado de tostado, por su parte, Guevara (2012) alude que esto se debe principalmente a las diferentes composiciones químicas de las variedades de café, pero no niega que estas diferencias guardan una relación directa con la descomposición de los compuestos fenólicos presentes en las estructuras de las melanoidinas. No obstante, otros factores, como los productos de la reacción de Maillard, también pueden contribuir a las propiedades de eliminación de radicales del café (Cho, Park, Kim, Kim, & Han, 2014).

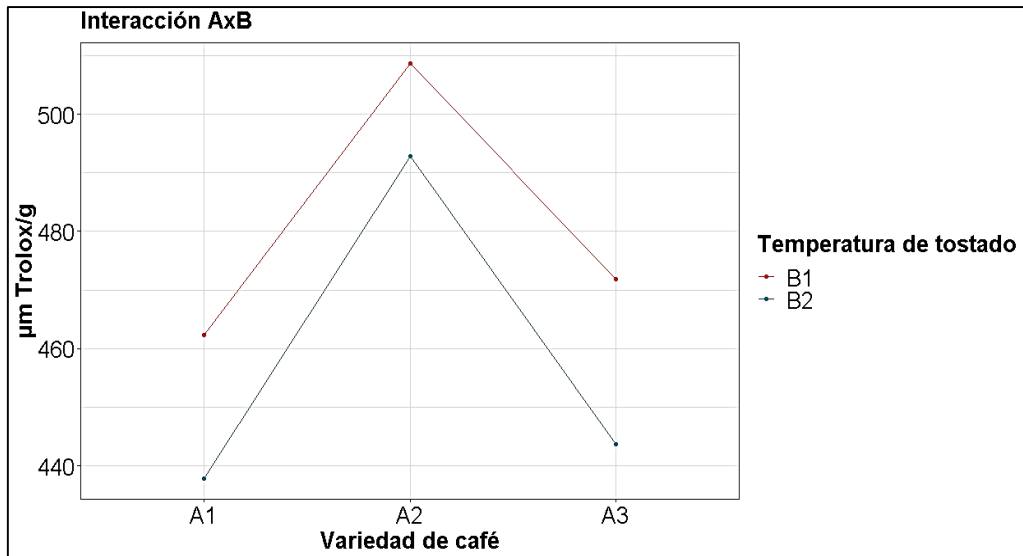


Figura 24. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y B (temperatura de tueste) sobre la actividad antioxidante $ABTS^+$

Por otro lado, en la figura 24 se puede observar que la actividad captadora de radicales libre ($ABTS^+$) es susceptible a la temperatura de tueste y cada variedad tiende a portarse de manera indistinta, es decir, la actividad antioxidante disminuye a medida que se aumenta la intensidad del tostado. Sin embargo, la variedad Caturra amarillo fue la que conservó en mayor proporción la actividad antioxidante con relación a sus congéneres (Catillo y SL-28), las variedades Catillo y SL-28 resultaron ser más sensibles a la temperatura y por ende poseer menor cantidad de polifenoles. Por su parte, Nunes *et al*, (2017) añaden que si bien el proceso de tostado posee una relación directa en la reducción de los componentes bioactivos del café, otros factores influyentes en gran medida en la actividad antioxidante total del café y están sujetos principalmente al origen, la cosecha, el procesamiento posterior a la cosecha y el estilo de preparación de la bebida de café, por lo que este parámetro podría variar de variedad en variedad o por especie (arábica o robusta).

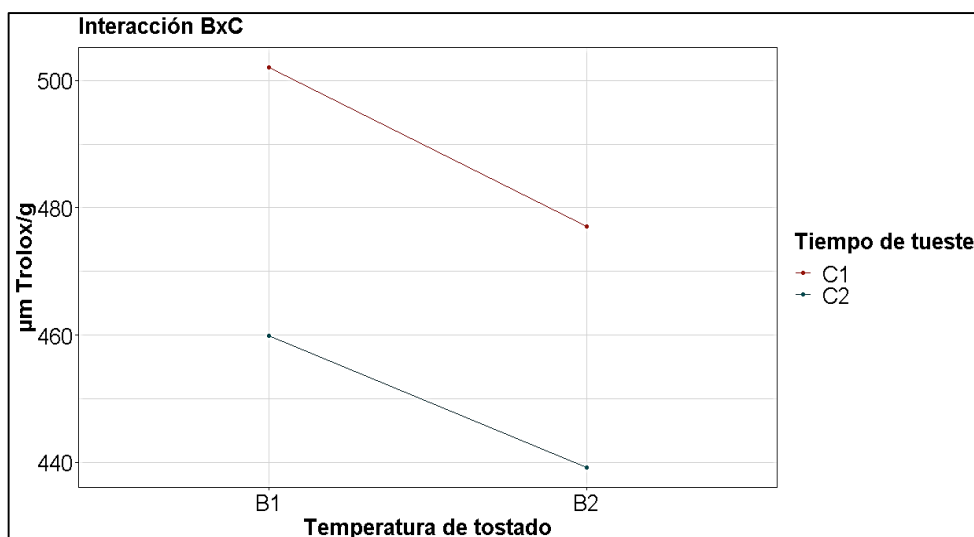


Figura 25. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre la actividad antioxidante $ABTS^+$

La temperatura y el tiempo de tueste tienen un efecto directo dentro del proceso de tostado (ver, Figura 25), esta relación entre los factores produce una disminución significativa en la actividad captadora de radicales libre ($ABTS^+$). Esto se puede atribuir a su polimerización, autooxidación o degradación durante el tostado, lo que lleva a una disminución del nivel de polifenoles presente y por ende una disminución de la capacidad antioxidante (Cheong, y otros, 2013). Sin embargo, Vignoli *et al*, (2011) encontraron que ambos compuestos, los ácidos clorogénicos y las melanoidinas, contribuyeron igualmente a la actividad antioxidante del café soluble, ya que la degradación de uno se equilibró con la formación del otro durante el proceso de tostado. Por lo tanto, concluyeron que la actividad antioxidante depende más de la composición inicial del café (concentración de compuestos fenólicos, cafeína y melanoidinas en las materias primas) que del grado de tostado.

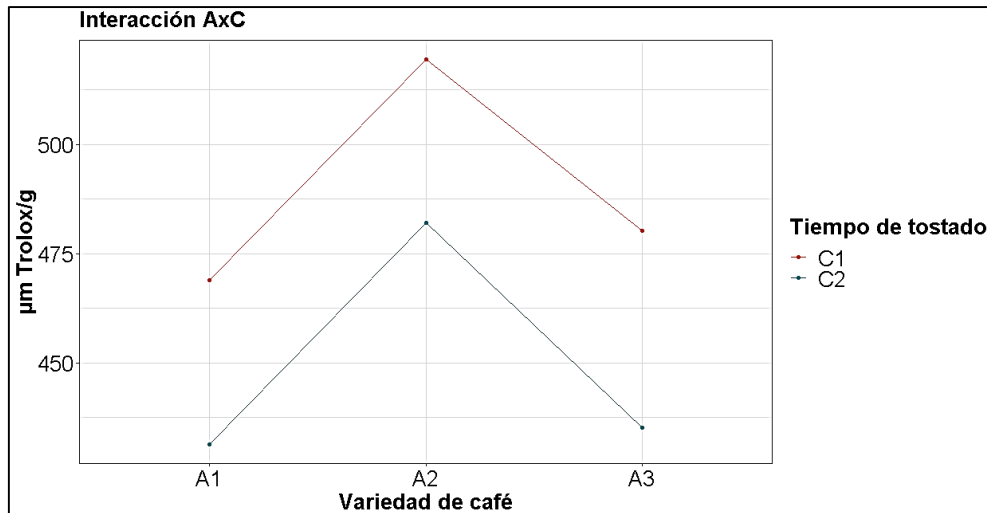


Figura 26. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y C (tiempo de tostado) sobre la actividad antioxidante $ABTS^+$

Respecto al tiempo de tostado en las muestras de café al igual que la temperatura de tueste, se encontró una disminución del contenido de antioxidantes ($ABTS^+$) en las tres variedades de café producto del incremento de tiempo en el proceso de tostado (Figura 26).

La variedad que presenta una mejor resistencia a la temperatura y conserva en mayor proporción la actividad antioxidante es Caturra amarillo, mientras que sus congéneres presentan una influencia mayor (son más susceptibles) a las altas temperaturas y largos tiempos de tostado.

4.1.3.2 Actividad antioxidante por el método FRAP

La capacidad de reducción férrica de cada muestra de café se expresó en términos de equivalentes de Trolox y se tabuló en la Figura 27.

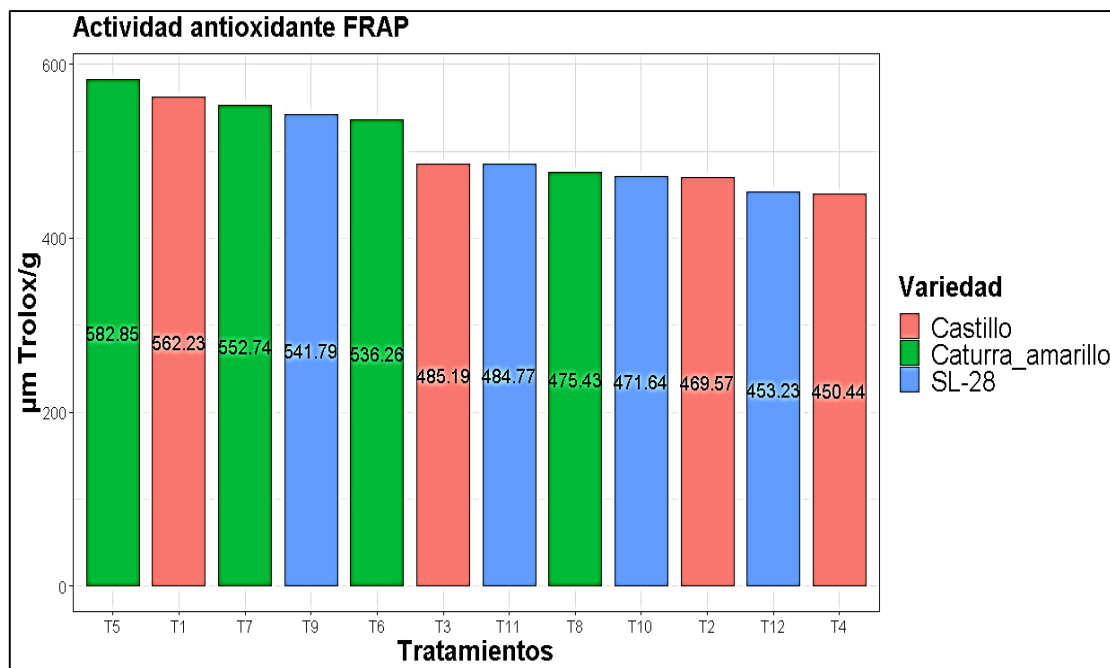


Figura 27. Actividad antioxidante mediante el método *FRAP*

Los tratamientos T1 y T5 presentaron mayor actividad antioxidante que todos los tratamientos, a diferencia de los T4 y T12 que mostraron un descenso significativo en su capacidad antioxidante que las otras muestras.

Los datos presentaron una variación entre ellos, el análisis de varianza contrastó los valores obtenidos frente a los factores de estudio (Tabla 19), la varianza presentó normalidad ($n=0.62$, bajo la prueba Shapiro-Wilks) y homogeneidad de varianzas ($p=0.07$, por test de Levene) respectivamente.

Tabla 19. Análisis de varianza para la actividad antioxidante del café tostado mediante el método FRAP

F. V.	G. L	S. C	C. M	F. cal.		F. T 5%	F. T 1%
Total	35,00	71116,46					
Tratamiento	11,00	70931,27	6448,30	835,66	**	2,22	3,09
Factor A (Variedad café)	2,00	17741,12	8870,56	1149,57	**	3,40	5,61
Factor B (Temperatura)	1,00	17230,54	17230,54	2232,98	**	4,26	7,82
Factor C (Tiempo)	1,00	31152,95	31152,95	4037,24	**	4,26	7,82
A x B	2,00	174,62	87,31	11,32	**	3,40	5,61
A x C	2,00	291,87	145,93	18,91	**	3,40	5,61
B x C	1,00	1082,13	1082,13	140,24	**	4,26	7,82
A x B x C	2,00	3258,04	1629,02	211,11	**	3,40	5,61
Error Expo.	24,00	185,19	7,7164				

*: Significativo

** : Altamente significativo

NS: No significativo

CV: 0.55%

En la tabla 20, se muestra el análisis de varianza para los factores principales y las interacciones, encontrando diferencias significativas ($\alpha < 0.05$) en la actividad antioxidante (FRAP) para todos los casos, por lo que, se procedió a realizar la prueba Tukey al 5%, los resultados se describen en la Tabla 20.

Tabla 20. Prueba de Tukey al 5% para actividad antioxidante en café tostado mediante FRAP

Tratamientos	Medias	Rangos					
T5	582,85	a					
T1	562,23		b				
T7	552,74			c			
T9	541,79				d		
T6	536,26				d		
T3	485,19					e	
T11	484,77					e	
T8	475,43						f
T10	471,64						f
T2	469,57						f
T12	453,23						g
T4	450,44						g

Fuente: Autoría propia

Se obtuvo un rango de siete grupos para las muestras de café tostado, donde el rango **a** mostró la mayor capacidad de reducción férrica entre las muestras. Con respecto al efecto del tostado sobre la capacidad antioxidante determinada con el ensayo FRAP, los cafés verdes en relación con los tostados presentaron un efecto negativo intensificado, de acuerdo con del Pino (2011) además del origen y variedad del café (Brezová, Šlebodová, & Staško, 2009), varios serían los factores que expliquen estas diferencias entre tratamientos, como: el grado de tostado (Sacchetti *et al*, 2009), el tipo de tostado y molienda (López-Galilea, de Pena, & Cid, 2008).

Esto se ratificó con los resultados del análisis estadístico, los cuales identificaron una fluctuación en la capacidad antioxidante producto del efecto del tostado (altos y prolongados tratamientos térmicos), produciendo una disminución en la capacidad antioxidante. Sin embargo, en relación con los resultados obtenidos estos fueron contundentes con otros estudios previos, que observaron que la capacidad antioxidante del café tostado excedía la de los granos de café verde, encontrando un óptimo de acción antioxidante para muestras tostadas medianas (Hecimovic, Belscak-Cvitanovic, Horzic, & Komes, 2011).

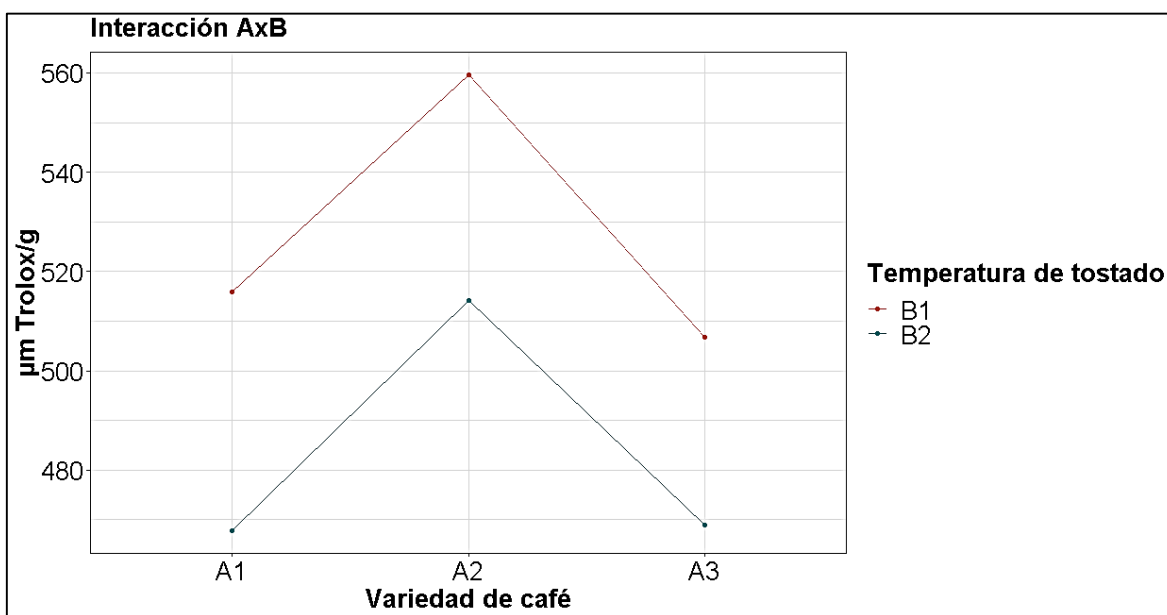


Figura 28. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y B (temperatura de tueste) sobre la actividad antioxidante *FRAP*

En la figura 28 se puede observar que el contenido de antioxidantes de cada variedad es susceptible a la temperatura de tueste, los antioxidantes resultan ser vulnerables a las altas

temperaturas como los otros compuestos que los conforman (Kamiyama, Moon, Jang, & Shibamoto, 2015).

Se identificó que la variedad Caturra amarillo resiste las altas temperaturas de tostado y conserva en mayor proporción los antioxidantes que sus congéneres (Castillo y SL-28), varias son las causas que justifiquen estas diferencias, ya que diversos son los factores que influyen en la cuantificación de los componentes bioactivos del café, como ya se explicó anteriormente como por ejemplo: el origen, la variedad, el grado de tostado, el tipo de tostado, el método, el color, el descenso de la densidad o pérdida de peso (Sunarharum, Yuwono, & Aziza, 2019; Tripathi, Srivastava, Agarwal, Shrimali, & Mishra, 2019).

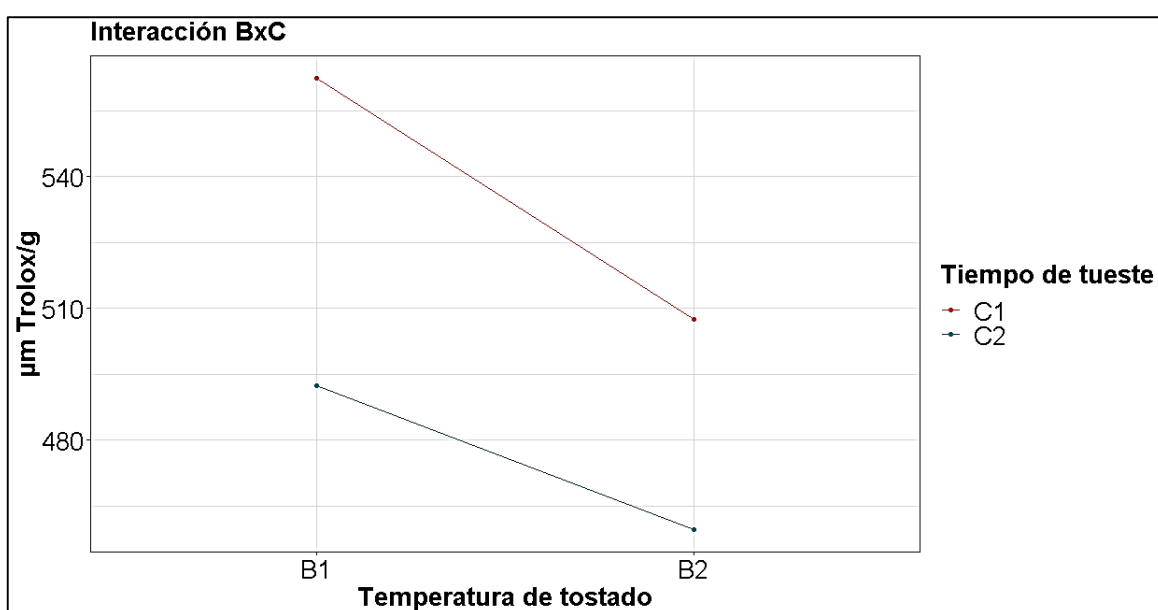


Figura 29. Interacción de los Factores B (temperatura de tueste) y C (tiempo de tostado) sobre la actividad antioxidante *FRAP*

Las muestras de café experimentaron una tasa de pérdida considerable de antioxidantes al tostar, es decir, la concentración de reducción férrica en los granos de diferentes tipos de café disminuyó linealmente al aumentar la intensidad del proceso térmico como se describe en la figura 29.

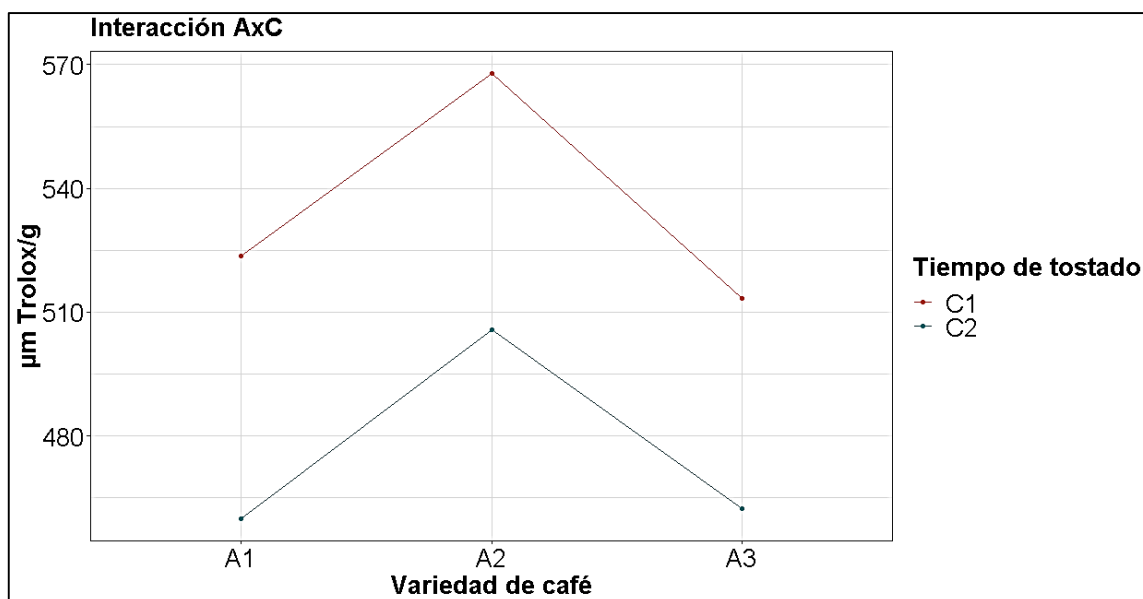


Figura 30. Interacción de los Factores A (Variedades de café) y C (tiempo de tostado) sobre sobre la actividad antioxidante *FRAP*

En cuanto al tiempo de tostado en relación con las variedades de estudio, se encontró una disminución del contenido de antioxidantes producto del aumento de las diferencias en el tiempo de tostado (véase, Figura 30). La variedad que presenta una mejor resistencia al tratamiento térmico y conserva en mayor proporción de antioxidantes es Caturra amarillo, mientras que sus congéneres presentaron una mayor susceptibilidad a las altas temperaturas y largos tiempos de tostado.

Por otro lado, aunque se usaron los ensayos FRAP y ABTS para determinar la actividad antioxidante de las muestras de café, se obtuvieron resultados diferentes para cada uno, de acuerdo con Opitz *et al* , (2014) esto se debe a la naturaleza de cada ensayo, ya que cada técnica se basa en un mecanismo de reacción diferente, donde el ensayo FRAP mide solo antioxidantes que transfieren un solo electrón, mientras que ABTS antioxidantes que transfieren un solo electrón y un átomo de hidrógeno. Por lo tanto, es difícil obtener buenos acuerdos entre los resultados obtenidos de ambos ensayos (Prior, Wu, & Schaich, 2005).

Sin embargo, no se puede utilizar una prueba estandarizada para determinar las capacidades antioxidantes de una sustancia y se debe realizar más de una prueba para tener en cuenta los diferentes modos de acción de los antioxidantes presentes en una matriz alimentaria (Dudonne, Vitrac, Coutiere, Woillez, & Mérillon, 2009).

4.2 Caracterización de los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante en las variedades de café arábica

Se observó una correlación significativa entre los componentes bioactivos (CGA, flavonoides y polifenoles) y la capacidad antioxidante (ABTS⁺ y FRAP) para las tres variedades de café arábica (Castillo, Caturra amarillo y SL-28) (Tabla 21), asimismo, se presentó un comportamiento independiente para cada una de estas en relación con la composición bioquímica y su dependencia a otros factores (tipo de tostado, nivel de tueste, otros). En cuanto a la variabilidad obtenida, esta estuvo de acuerdo con otros hallazgos (López-Galilea, Paz, & Cid, 2007; Gichimu, Gichuru, Mamati, & Nyende, 2014; Vega A. , De León, Reyes, & Miranda, 2018) que informaron variaciones significativas entre los genotipos de café Arábica y las composiciones bioquímicas.

Tabla 21. Matriz de correlación para las variedades de café arábica

Componentes	C. Castillo		C. Caturra amarillo		C. SL-28	
	ABTS ⁺	FRAP	ABTS ⁺	FRAP	ABTS ⁺	FRAP
Ác. Cafeico	0,9592	0,9806	0,6126	0,6164	0,9664	0,9270
Ác. Clorogénico	0,9529	0,9867	0,7247	0,7766	0,9650	0,9317
Ác. Ferúlico	0,9492	0,9831	0,7361	0,7616	0,9950	0,9829
Ác. Siringico	-0,9980	-0,9790	-0,2121	-0,1782	-0,8334	-0,7682
Flavonoides	0,9563	0,9952	0,9555	0,9878	0,9451	0,8941
Polifenoles	0,9138	0,8401	0,8480	0,8003	0,9688	0,9276

Fuente: Autoría propia

Se identificó en todos los casos que los responsables de la actividad antioxidante (método ABTS⁺ y FRAP) son los ácidos clorogénicos (específicamente el ácido cafeico y ferúlico), flavonoides y polifenoles en todos los casos (pero con distinta incidencia). Sin embargo, se apreció que el ácido siringico posee una relación inversamente proporcional a la actividad antioxidante (ABTS⁺ y FRAP), es decir, que al existir un incremento de la capacidad antioxidante existirá una disminución del Ác. Siringico y viceversa.

Por otro lado, las correlaciones resultaron ser significativas ($\alpha < 0.05$) y excelentes ($r > 0,6126$) entre los parámetros de capacidad antioxidante y el contenido de CGA en todas las variedades, excepto el Ác. Siringico que presentó una dependencia negativa al contenido ($r < -0,1782$). En este sentido, este resultado indica que los ácidos clorogénicos aportan significativamente a la capacidad antioxidante del café, ya que son los compuestos más abundantes en el mismo (Vega *et al*, 2018). Aunque la variabilidad también dependería de las reacciones bioquímicas que se producen en el tostado (Camacho & Merino, 2018).

Asimismo, se identificaron correlaciones significativas ($\alpha < 0.05$) y muy buenas entre el contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante para todas las variedades, lo que sugiere que la catequina (flavonoides) es un contribuyente significativo a la capacidad antioxidante en el café tostado. Varios estudios sugieren que los flavonoides son responsables de la fuerte capacidad antioxidante del café (Vega, de León, & Reyes, Determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá, 2017; Brenes & García, 2012), ya que corresponden al grupo más grande de polifenoles. Sin embargo, en el caso de los polifenoles, los coeficientes de correlación en todas las variedades fueron altos (tabla 21). Lo que significa que existen otros factores a considerar en la relación de los componentes bioactivos y la capacidad antioxidante, como es el caso de las melanoidinas y otros compuestos que se generan a partir del tratamiento térmico y que estaría inmerso dentro de esta correlación (del Pino, 2011).

Sin embargo, se ha destacado que los factores ambientales, como la altitud y las precipitaciones, contribuyen a la actividad antioxidante del café (Rodrigues, y otros, 2009; Hecimovic, Belscak-Cvitanovic, Horzic, & Komes, 2011). Las variaciones observadas en los componentes bioquímicos indicaron que el entorno del cultivo tiene un fuerte efecto sobre la composición bioquímica y por ende la relación de estos.

Las diferencias se atribuyeron a las condiciones edáficas y climáticas del lugar de procedencia de los cultivares, lo cual concuerda con otros hallazgos que informaron que los efectos de los factores ambientales y agrícolas son importantes en el control del contenido bioquímico y de calidad en los granos de café (Farah A. , Coffee: Production, Quality and Chemistry, 2019).

Estos resultados confirman la conclusión obtenida por Vega *et al*, (2017) y Vega *et al*, (2018) los cuales aluden que la actividad antioxidante y los componentes bioactivos del café poseen

una correlación significativa entre estos, demostrando de esta manera que estos compuestos aportan un porcentaje importante a la capacidad antioxidante del café.

4.3 Análisis de aceptabilidad

Se evaluó las características del café tostado bajo el análisis de aceptabilidad por preferencial del consumidor (25 catadores), las puntuaciones se fijaron en contorno al aroma y sabor del producto en taza, así como en el contraste con el café comercial (testigo). El análisis de aceptabilidad fue realizado a la población de la ciudad de Ibarra, provincia de Imbabura. A continuación, se describen cada una de las apreciaciones dadas por el consumidor y su relación frente a las diferencias encontradas para cada uno de los atributos analizados.

4.3.1 Aceptabilidad sensorial del aroma y sabor del café en taza

Los resultados obtenidos (porcentuales) del análisis organoléptico para las muestras de café se describen en el anexo 1. La prueba de Friedman (no paramétrica) expuesta en la Tabla 22, muestra los valores estadísticos (hedónicos) conseguidos de la percepción de los consumidores hacia los aspectos sensoriales (de aroma y sabor) del café en taza. Se identificó diferencias significativas ($p < 0.05$) en la aceptación sensorial del café en cuanto al aroma y sabor en bebida.

Tabla 22. Análisis no paramétrico de Friedman en aceptabilidad sensorial de aroma y sabor para café en taza

F. V	GL	χ^2	F	P- χ^2
Aroma	12	24.772	2.160	0.0159 **
Sabor	12	42.171	3.926	3.12e-05 **
Error	288			

χ^2 : Chi-cuadrado

** : altamente significativo

Identificada la variabilidad en los atributos de sabor y aroma en el café, se procedió a realizar comparaciones no paramétricas (análisis post hoc) y descriptivas (perfil sensorial) con el fin de contrastar las diferencias encontradas en las muestras de café.

Los resultados de los atributos evaluados mediante el análisis de preferencia sensorial ilustrados en la Figura 31, reveló que el aroma mostrado por los tratamientos del grupo “a” (Tabla 23) tiene un mayor grado de aceptación por parte de los consumidores que los demás

grupos, a diferencia de las muestras T5 y T9 que presentaron una baja aceptación (rechazo o desagrado) por parte de los catadores.

Esto de acuerdo con Fisk *et al*, (2012) se debería a varias fuentes, como por ejemplo: los granos de café y la procedencia (diferentes cultivares) de las plantas de café (por ejemplo, Arábica, Robusta), el abastecimiento de diferentes ubicaciones geográficas y las condiciones climatológicas a las cuales se someten los diferentes cultivares (Risticovic, Carasek, & Pawliszyn, 2008), las diferencias en el procesamiento (beneficio húmedo frente al seco) y el envejecimiento antes del tostado también contribuyen significativamente al perfil final del aroma.

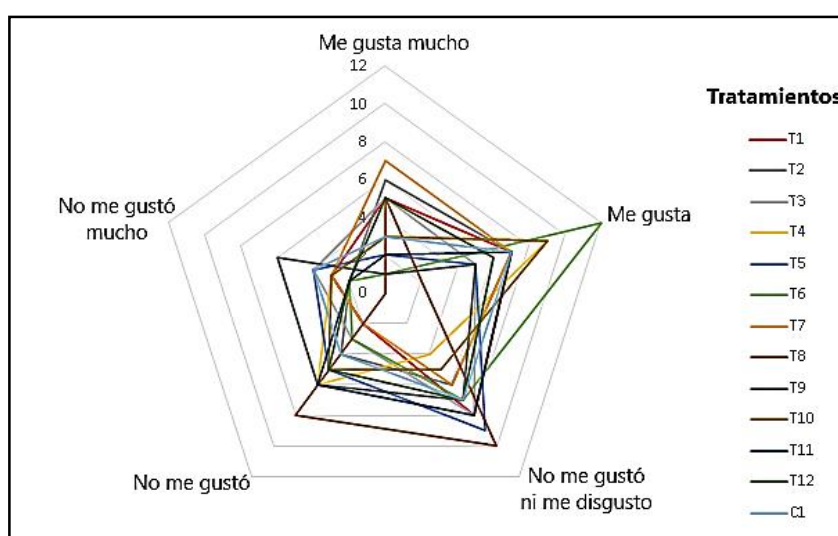


Figura 31. Perfil de aceptación sensorial del café respecto al aroma

Además, el perfil de tiempo – temperatura de tostado y el tipo de tostador (equipo) también influirán en la diferenciación de los diferentes cafés y por ende a sus características (Bhumiratana, Adhikari, & Chambers IV, 2011). Sin embargo, aunque hay una gran cantidad de variables que podrían condicionar este atributo y otros, a menudo los principales se definen como: genotipo (cultivar), fenotipo (lugar de cultivo, ambiente), procesamiento primario (húmedo versus seco) (Gonzalez-Rios, y otros, 2017), proceso secundario (intensidad y perfil térmico de tueste) y almacenamiento de postproducción (manipulación por el consumidor en taza) (Bröhan, Huybrighs, Wouters, & Van der Bruggen, 2019).

Las variables adicionales pueden incluir un procesamiento alternativo (BudryN, Nebesny, Kula, MaJda, & KrySiaK, 2011) que modifica los precursores o la presencia de defectos o regímenes de procesamiento ineficaces (Cantergiani, y otros, 2011), y por lo tal una alteración a la percepción sensorial por el consumidor al producto final en bebida

Tabla 23. Análisis post hoc en la aceptabilidad del aroma del café por preferencia del consumidor

Tratamientos	Suma de rangos	Grupos
T3	211.5	a
T6	209.0	a
T1	195.0	a
T7	190.5	a
T12	183.5	ab
T4	174.0	ab
T11	172.5	ab
T2	171.5	ab
T8	170.0	ab
C1	168.5	ab
T10	168.5	ab
T5	139.5	bc
T9	121.0	c

Fuente: Autoría propia

Por su parte, Gaytán-Andrade *et al*, (2019) señalan que también estas diferencias estarían atribuidas intrínsecamente a la preferencia del consumidor y a las características sensoriales retenidas (presencia de intensidad residual) por percepción del producto (memoria cognitiva). Sin embargo, no descarta que ciertas condiciones del proceso y la materia prima pudieran interferir en el grado de preferencia de este. En cuanto a los resultados estos fueron contundentes a los descrito por Stokes *et al*, (2017).

A partir de estos resultados, también queda claro que existe una amplia variación en cafés disponibles en el mercado, pero que también hay una falta de buena calidad de estos. Los evaluadores idealmente quieren el aroma y los sabores asociados con el café recién hecho (ya que lo reconocen sensorialmente) combinado con el método de preparación fácil, pero que también consuma menos tiempo posible.

Por otro lado, la aceptabilidad de los consumidores respecto al sabor del café y las puntuaciones medias del análisis post hoc para la intensidad sensorial percibida para este atributo se muestran en la Figura 32 y 33. Se identificaron puntuaciones diferentes en todas las categorías de preferencia al sabor ($p > 0,05$). Evidentemente esto indicó una predilección por las muestras de café del grupo “a” y un rechazo a las bebidas del nivel “f”, cabe

mencionar que al comparar las evaluaciones de los consumidores de dos sesiones (tratamientos vs testigo) diferentes resultó significativo, ya que se identificó una inclinación mayor (aceptabilidad) por las muestras de café tratadas en este estudio que por el café comercial, esto probablemente se debe a la calidad del producto y a los atributos adquiridos en el proceso de tostado (Schenker, y otros, 2012), variedad del cultivo (Malau, Sihotang, & Simanjuntak, 2019), color de la bebida (Van Doorn, Wullemin, & Spence, Does the colour of the mug influence the taste of the coffee?, 2014), forma de la taza (Van Doorn, y otros, 2017; Carvalho & Spence, 2018) y otros factores influyentes.

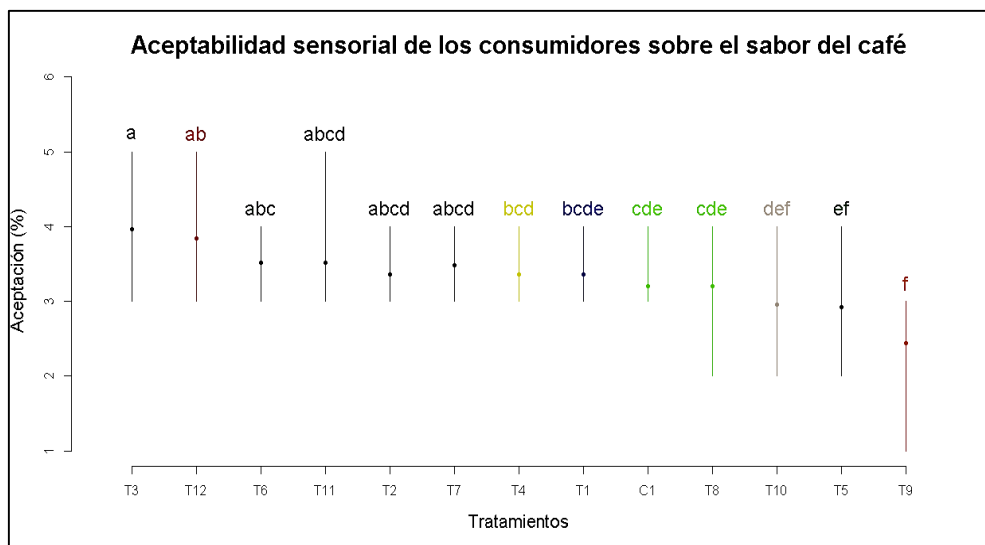


Figura 32. Análisis post hoc en la aceptabilidad del sabor del café por preferencia del consumidor

A partir de estos resultados, es evidente que las características de aroma y sabor del café evaluado son mucho más aceptables que las muestras de café comercial. Sanz *et al*, (2012) también informó que las características de aroma y sabor asociadas con el café difieren de bebida en bebida (instantáneo y destilado). Concluyendo que, dependiendo de la variedad, tipo de tostado y forma de preparación las diferencias en los atributos (sabor) podría verse afectada.

Por otro lado, al seleccionar el café, los consumidores tienden a preocuparse más por el sabor del café. Un 90% se preocupaba por su sabor y un 77% por su aroma. El grado de amargura, curiosidad de la marca, aditivos (azúcar, leche, otros) y el precio también fueron factores importantes. Finalmente, la mayoría de los consumidores (alrededor del 87%) mostraron una preferencia y aceptación del café.

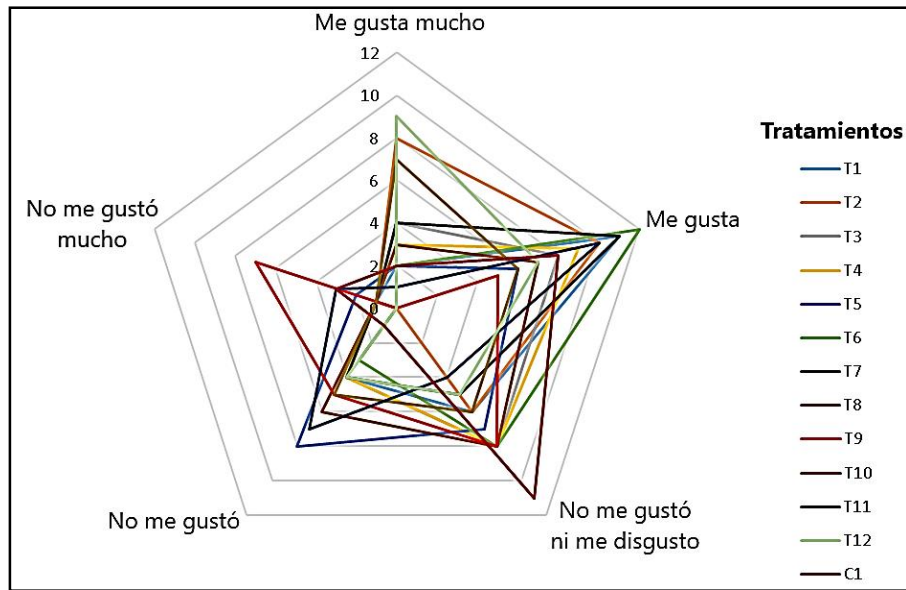


Figura 33. Perfil de aceptación sensorial del café respecto al sabor

Así mismo, se pidió a los consumidores que expresaran libremente sus opiniones sobre las muestras de café como un comentario abierto. Las palabras más utilizadas fueron acidez y amargura, con olor característico a café recién hecho, lo que demuestra que estos atributos eran características dominantes de las muestras de café.

Finalmente, se identificó que el desarrollo de las propiedades sensoriales del café durante el tostado dependió en gran medida de la temperatura aplicada y el tiempo de tostado. Sin embargo, no se descarta la influencia de la variedad del cultivo y las condiciones de origen de este (climatológicas). El tostado a alta temperatura conduce a una menor densidad, mayor volumen de grano y menor contenido de humedad en comparación con los procesos de tostado a menor tiempo y temperatura, lo que contribuyó a un aumento en la aceptación del aroma y sabor. En el caso de la variable tiempo se estableció que el aumento no controlado de este parámetro es perjudicial dentro de las características sensoriales del producto en tasa, lo que indica que un tiempo de tueste excesivo podría disminuir la aceptación del aroma y sabor.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

- Luego del proceso de tostado los contenidos de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante, en las variedades estudiadas se ven menos afectados a temperaturas bajas, sin embargo, la variedad que se ve menos afectada y más resistente es Caturra amarillo correspondiendo al tratamiento T5.
- La variedad de café Castillo es mucho más sensible a altas temperaturas y tiempos de tostado, por ende, pierde fácilmente sus propiedades antioxidantes, y claramente se puede observar una disminución significativa de flavonoides totales y capacidad antioxidante total a partir de los dos métodos estandarizados FRAP y ABTS.
- Los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante en las variedades de café arábica son los ácidos: cafeicos, siríngico, clorogénico, ferúlico y melanoidinas; por ende, la actividad antioxidante y estos componentes poseen una correlación significativa, demostrando de esta manera que estos compuestos aportan un porcentaje importante a la capacidad antioxidante total del café.
- El beneficio del café por vía húmeda influye directamente en el sabor final del café tostado, ya que se obtuvo una bebida afrutada y de sabor ácido. En cuanto al sabor, aroma y capacidad antioxidante el tratamiento T7 fue el mejor manteniendo un equilibrio. Así también, la aceptabilidad del café tostado en bebida, el consumidor se inclinó por el café tostado a temperatura alta, sin tener preferencia por alguna variedad en específico.
- Los resultados obtenidos permiten aceptar la hipótesis alternativa, ya que el tiempo y temperatura durante el proceso de tostado influyen significativamente sobre la actividad antioxidante, contenido de compuestos bioactivos y calidad sensorial del café.

Recomendaciones:

- Se debe tener mucho cuidado con las muestras de café debido a que los antioxidantes son sensibles a la luz, por lo tanto, conservarlos en un lugar fresco y alejado de la luz solar ayuda a conservar sus componentes químicos, físicos y organolépticos.
- Se aconseja tener cuidado a la hora de pesar los reactivos debido a que cualquier exceso o falta de este podría perjudicar los resultados, igualmente la forma como se manejan los mismos ya que muchos de ellos son sensibles a la luz y a la temperatura como es el caso de la solución activada de ABTS para determinación de actividad antioxidante.
- Se recomienda realizar tostados de café medio ya que en este tipo de tostado no se pierden en gran cantidad los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante y además va a expresar los sabores deseados en la taza final lo cual es muy importante para los consumidores.
- Se sugiere aplicar tiempos y temperaturas diferentes en el tostado de la variedad Castillo, con el fin obtener un café con alta capacidad antioxidante, y por ende un café de mejor calidad.

Bibliografía

- Aazza, S., Lyoussi, B., Antunes, D., & Miguel, M. (2014). Physicochemical characterization and antioxidant activity of 17 commercial Moroccan honeys. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 65(4), 449-457.
- Abarca., R. (2017). “Estudio del proceso de torrefacción del café (*Coffea arabica*) en tostador convencional” Tesis de Licenciatura. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica,.
- Abdeltatif, S., SirElkhatim, K., & Hassan, A. (2018). Estimation of phenolic and flavonoid compounds and antioxidant activity of spent coffee and black tea (processing) waste for potential recovery and reuse in Sudan. *Recycling*, 3(2), 27.
- Alemán, S., Castillo, F., González, C., & Herrera, R. (2019). Extractos de pulpa de café: Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana. *Investigación y Ciencia: de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, (77), 73-79. Obtenido de Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana:
<https://www.redalyc.org/jatsRepo/674/67459697009/html/index.html>
- Alvarado, D. (2012). Panel de consumidores en la industria de alimentos. *Alimentos hoy*, 1-4.
- Alvarado, D. (2012). Panel de consumidores en la industria de alimentos. *Alimentos hoy*, 2(2), 16-19.
- Alvarado, G., Posada, H., & Cortina, H. (2013). Castillo: Nueva variedad de café con resistencia a la roya. *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*.
- Anacafé. (2017).
- Ariga, S., Aisyah, Y., Patria, A., Arpi, N., & Yunita, D. (2018). Physicochemical characterization of oil from roasted coffee. *Proceeding of AIC: Health and Life Sciences*, 8(1).
- Bekedam, E. (2015). *offee brew melanoidins structural and functional properties of brown-colored coffee compounds*. Obtenido de Repositorio de Wageningen University:
<https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/fulltext/122022>

- Belitz, H., Grosch, W., & Schieberle, P. (2019). *Coffee, tea, cocoa* (4 ed.). Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Bertone, E., Venturello, A., Giraud, A., Pellegrino, G., & Geobaldo, F. (2016). Simultaneous determination by NIR spectroscopy of the roasting degree and Arabica/Robusta ratio in roasted and ground coffee. *Food Control*, 59, 683-689.
- Bhumiratana, N., Adhikari, K., & Chambers IV, E. (2011). Evolution of sensory aroma attributes from coffee beans to brewed coffee. *LWT-Food Science and Technology*, 44(10), 2185-2192.
- Bredahl, L. (2018). Cue utilisation and quality perception with regard to branded beef. *Food quality and preference*, 15(1), 65-75.
- Brenes, K., & García, G. (2012). *orrelación entre la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles de tres variedades de albahaca Ocimum basilicum, por el método de Folin-ciocalteu y de radical DPPH en el laboratorio de Biociencia de la UNAN-Managua. Octubre 2011-Marzo-2012*. Obtenido de Repositorio de la Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua: <https://repositorio.unan.edu.ni/17/1/22783.pdf>
- Brezová, V., Šlebodová, A., & Staško, A. (2009). Coffee as a source of antioxidants: An EPR study. *Food Chemistry*, 114(3), 859-868.
- Bröhan, M., Huybrighs, T., Wouters, C., & Van der Bruggen, B. (2019). Influence of storage conditions on aroma compounds in coffee pads using static headspace GC–MS. *Food Chemistry*, 116(2), 480-483.
- BudryN, G., Nebesny, E., Kula, J., MaJda, T., & KrySiaK, W. (2011). HS-SPME/GC/MS profiles of convectively and microwave roasted Ivory Coast Robusta coffee brews. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 151-160.
- café, I. H. (2004).
- Cahuapaza, J. (2016). *Café orgánico, historia, contexto y perspectivas*.
- Camacho, A., & Merino, M. (2018). *Estimación del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del café arábigo (Coffea arabica) orgánico y convencional en el proceso de elaboración de yogur aromatizado con café*. Obtenido de Repositorio de la Universidad Peruana de Ciencias aplicadas (UPC):

https://repositorioacademico.upc.edu.pe/bitstream/handle/10757/623034/Merino_GM.pdf?sequence=5

- Cantergiani, E., Brevard, H., Krebs, Y., Feria-Morales, A., Amado, R., & Yeretian, C. (2011). Characterisation of the aroma of green Mexican coffee and identification of mouldy/earthy defect. *European Food Research and Technology*, 212(6), 648-657.
- Cañas, P. (2011.). *Análisis de los factores que inciden en la producción de café en el Ecuador*.
- Cárdenas, J., & Pardo, J. (2014). *Caracterización de las etapas de fermentación y secado del café la primavera*. Obtenido de <http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2017/02/CARACTERIZACI%C3%93N-DE-LAS-ETAPAS-DE-FERMENTACI%C3%93N-Y-SECADO-DEL-CAF%C3%89-LA-PRIMAVERA-1.pdf>
- Carvalho, F., & Spence, C. (2018). The shape of the cup influences aroma, taste, and hedonic judgements of specialty coffee. *Food Quality and Preference*, 68, 315-321.
- CasaDranguet. (2018). *Café cubano desde Contramaestre para el mundo*. Obtenido de Casa Dranguet: <https://casadranguet.wordpress.com/2018/12/11/cafe-cubano-desde-contramaestre-para-el-mundo/>
- Castillo, M., Muñoz, M., & Engler, F. (2016). *Manual básico de buenas prácticas para el tostado del café*. Obtenido de https://www.swisscontact.org/fileadmin/user_upload/COUNTRIES
- Cenicafe*. (s.f.).
- Chaves-Ulate, E., & Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Acidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 30(1), 299-311.
- Cheong, M., Tong, K., Ong, J., Liu, S., Curran, P., & Yu, B. (2013). Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. *Food Research International*, 51(1), 388-396.
- Cho, A., Park, K., Kim, K., Kim, S., & Han, J. (2014). Influence of roasting conditions on the antioxidant characteristics of colombian coffee (*Coffea Arabica* L.) beans. *Journal of Food Biochemistry*, 8(3), 271-280.

- Cho, A., Park, K., Kim, K., Kim, S., & Han, J. (2014). Influence of Roasting Conditions on the Antioxidant Characteristics of Colombian Coffee (*Coffea arabica* L.) Beans. *Journal of food biochemistry*, 38(3), 271-280.
- Cross, E., Villeneuve, F., & Vincent, J. (1982). *Recherche d'un indice de fermentation du cacao*. Obtenido de Evolution des tanins et des phenols totaux de la feve.
- Cuesta, D., & Correa, F. (2018). Obtención de fenoles a partir de granos verdes de café. *rev.ion*, 31(1):31-35.
- D'Amelio, N., Fontanive, L., Uggeri, F., Suggi-Liverani, F., & Navarini, L. (2019). NMR reinvestigation of the caffeine–chlorogenate complex in aqueous solution and in coffee brews. *Food Biophysics*, 4(4), 321-330.
- de Castro, R., & Marraccini, P. (2016). Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 175-199.
- del Pino, R. (2011). *Influencia del grado de tostado sobre la capacidad antioxidante y el efecto genoprotector del café soluble: contribución de la fracción de melanoidinas*. Obtenido de Repositorio de la Universidad de Burgos: https://riubu.ubu.es/bitstream/handle/10259.1/128/Pino_Garc%C3%ADa.pdf?sequence=1
- Díaz, F., Ormaza, A., & Rojano, B. (2018). Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza, Contenido de Compuestos Antioxidantes y la Actividad Antioxidante. *Información tecnológica*, 29(4), 31-42.
- Díaz, F., Ormaza, A., & Rojano, B. (2018). Efecto de la Tostión del Café (*Coffea arabica* L. var. Castillo) sobre el Perfil de Taza, Contenido de Compuestos Antioxidantes y la Actividad Antioxidante. *Información tecnológica*, 29(4), 31-42. doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000400031>
- Dudonne, S., Vitrac, X., Coutiere, P., Woillez, M., & Mérillon, J. (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *ournal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1768-1774.

- Dutra, E., Oliveira, L., Franca, A., F. V., & Afonso, R. (2001). A preliminary study on the feasibility of using the composition of coffee roasting exhaust gas for the determination of the degree of roast. *Journal of Food Engineering*, 47(3), 241-246.
- Dybkowska, E., Sadowska, A., Rakowska, R., Debowska, M., Swiderski, F., & Swiader, K. (2017). Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(4).
- Dybkowska, E., Sadowska, A., Rakowska, R., Debowska, M., Swiderski, F., & Swiader, K. (2017). Assessing polyphenols content and antioxidant activity in coffee beans according to origin and the degree of roasting. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 68(4).
- Eira, M., Silva, E., de Castro, R., Dussert, S., Walters, C., Bewley, J., & Hilhorst, H. (2016). Coffee seed physiology. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 149-163.
- Enríquez, G. (2014). Guía técnica para la producción y poscosecha del café robusta (No. F01-59). *Consejo Cafetalero Nacional; Solubles Instantáneos CA*.
- Escobar, M. (2017). *Selección de cultivares promisorios de café Coffea arabica L. basado en resistencia a roya del café Hemileia vastatrix Berk. & Br. in vitro y en condiciones de campo en zonas cafetaleras de Guatemala CA*. Obtenido de Repositorio de la Universidad de San Carlos de Guatemala: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/6890/1/EscobarMolinaMyriamConsuelo.pdf>
- Farah. (2012). *Coffee constituents*. In: *Coffee: Emerging Health Effects and Disease*.
- Farah, A. (2018). Coffee constituents. En Y. Chu, J. Wiley, & Sons (Edits.), *Coffee: emerging health effects and disease prevention* (págs. 27-43). Iowa, USA: Yi - Fang Chu.
- Farah, A. (2019). *Coffee: Production, Quality and Chemistry*. Royal society of chemistry.
- Farah, A., & Donangelo, C. (2016). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian journal of plant physiology*, 18(1), 23-36.
- Farah, A., de Paulis, T., Trugo, L., & Martin, P. (2015). Effect of roasting on the formation of chlorogenic acid lactones in coffee. *ournal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1505-1513.

- Fisk, I., Kettle, A., Hofmeister, S., Viridie, A., & Kenny, J. (2012). Discrimination of roast and ground coffee aroma. *Flavour*, 1(1), 14.
- Flórez, R., Ibarra, R., Gómez, G., Carmona, G., Castaño, M., & Ortiz, A. (2013). *Estructura y funcionamiento de la planta de café. Manual del cafetero Colombiano Tomo I*. Chinchiná, Colombia: Cenicafé.
- Galeano Tobón, T. A. (2016). *Estandarización del proceso de secado del café pergamino en la empresa "Cafe mi pueblo-Buriticá SAS"*.
- Galeano, T. (2016). *Estandarización del proceso de secado del café pergamino en la empresa "Cafe mi pueblo-Buriticá SAS"*. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad Cooperativa de Colombia: <https://repository.ucc.edu.co/handle/20.500.12494/3751>
- Garzon, G. (2008). Acta biológica colombiana. *Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds. A Review*. Bogota, Colombia.
- Garzon, G. (2010). Anthocyanins as natural colorants and bioactive compounds: A review. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36.
- Gaytán-Andrade, J., Solís, L., López, L., Cobos, L., & S, S. (2019). Desarrollo y Evaluación Sensorial De Un Postre de Gelatina Funcional Del Fruto Rojo de *Stenocereus queretaroensis* (F.A.C. Weber) Buxbaum. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 576 - 580.
- Geiger, R., Perren, R., Kuenzli, R., & Escher, F. (2015). Carbon dioxide evolution and moisture evaporation during roasting of coffee beans. *ournal of food science*, 70(2), E124-E130.
- George, S., Ramalakshmi, K., & Mohan Rao, L. (2008). A perception on health benefits of coffee. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(5), 464-486.
- Gichimu, B., Gichuru, E., Mamati, G., & Nyende, A. (2014). Biochemical composition within *Coffea arabica* cv. Ruiru 11 and its relationship with cup quality. *Journal of Food Research*, 31 - 44.
- Ginz, M., Balzer, H., Bradbury, A., & Maier, H. (2011). Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. *European Food Research and Technology*, 211(6), 404-410.

- Gómez, G. (. (2010). *Cultivo y beneficio del café. Revista de Geografía Agrícola, (45), 103-193.*
- Gómez, G. (2018). Cultivo y beneficio del café. *Revista de Geografía Agrícola, (45), 103-193.*
- Gómez-Ruiz, J., Leake, D., & Ames, J. (2017). In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *Journal of agricultural and food chemistry, 55(17), 6962-6969.*
- Gonzalez, C. A. (2014). "Control de caudal y temperatura de aire en el secado mecánico de café." .
- Gonzalez-Rios, O., Suarez-Quiroz, M., Boulanger, R., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J., & Schorr-Galindo, S. (2017). Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. *ournal of Food Composition and Analysis, 20(3-4), 297-307.*
- Gotteland, M., & De Pablo, S. (2007). Algunas verdades sobre el café. *Revista chilena de nutrición., 105-115.*
- Gotteland, M., & de Pablo, S. (2018). Algunas verdades sobre el café. *Revista chilena de nutrición, 34(2), 105-115.*
- Guevara, D. (2012). Estudio de la actividad antioxidante de los extractos de melanoidinas - polifenoles del café (*Coffea sp.*) ecuatoriano a través de los métodos: Método ABTS (*) y Método FRAP (**). 2-46.
- Guevara, D. (2012). *Estudio de la actividad antioxidante de los extractos de melanoidinas-polifenoles del café (Coffea sp.) ecuatoriano a través de los métodos método ABTS (*) y método FRAP .* Obtenido de Repositorio de la Universidad San Francisco de Quito: <http://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1518/1/104280.pdf>
- Hallmann, E., Ożga, M., & Rembiałkowska, E. (2010). The content of bioactive compounds in selected kind of coffee from organic and conventional production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 55(3):99-104.*
- Hecimovic, I., Belscak-Cvitanovic, A., Horzic, 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.*

- Henriquez, C., Aliaga, C., & Lissi, E. (s.f.). *Formation and Decay of the ABTS derived radical cation: A Comparison of Different*.
- Hernández, J., Heyd, B., Irlés, C., Valdovinos, B., & Trystram, G. (2017). Analysis of the heat and mass transfer during coffee batch roasting. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1141-1148.
- Herrera, J., & Lambot, C. (2017). The Coffee Tree-Genetic Diversity and Origin. En B. Folmer, *The Craft and Science of Coffee* (págs. 1-12). San Diego, United States: Elsevier Inc.
- Hofmann, T., Czerny, M., Calligaris, S., & Schieberle, P. (2010). Model studies on the influence of coffee melanoidins on flavor volatiles of coffee beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5), 2382-2386.
- Ibáñez, E. C. (2001). *La aceptabilidad de los alimentos: nutrición y placer*. *Arbor*, 168(661), 65-85.
- Illy, A., & Viani, R. (2005). Espresso Coffee. The science of quality. En A. Illy, & R. Viani, *Espresso Coffee. The science of quality* (págs. 1-212). Italy: Elsevier academic press.
- INAMHI. (2020). *Servicio Meteorológico del Ecuador*. Obtenido de Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología: <https://inamhi.wixsite.com/inamhi/novedades>
- INEN-290, N. T. (1978). *Café en grano, determinacion de tamaño*.
- Jeszka-Skowron, M., Zgoła-Grześkowiak, A., & Grześkowiak, T. (2015). Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *European Food Research and Technology*, 240(1), 19-31.
- Kamiyama, M., Moon, J., Jang, H., & Shibamoto, T. (2015). Role of degradation products of chlorogenic acid in the antioxidant activity of roasted coffee. *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(7), 1996-2005.
- Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T., & Yamasaki, Y. (2009). Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Food Chemistry*, 113(4), 964-969.
- Kemp, S., Hollowood, T., & Hort, J. (2011). *Sensory evaluation: a practical handbook*. John Wiley & Sons.

- Kemp, S., Hort, J., & Hollowood, T. (2018). *Descriptive analysis in sensory evaluation*. John Wiley & Sons.
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini, J., & Fett, R. (2015). *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos*. Obtenido de <https://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
- Kwak, H., Ji, S., & Jeong, Y. (2017). The effect of air flow in coffee roasting for antioxidant activity and total polyphenol content. *Food Control*, 71, 210-216.
- Lawless, H., & Heymann, H. (2010). *Descriptive analysis. In Sensory evaluation of food*. New York: Springer.
- Lawless, H., & Heymann, H. (2013). *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer Science & Business Media.
- Ledezma, D., Vargas-Elías, G., & Abarca-Mora, R. (2017). Infrared Sensor used for the capture of data from cooling process in roasted coffee. *Central America and Panama Student Conference (CONESCAPAN)* (págs. 1 -3). IEEE.
- Liang, N., Xue, W., Kennepohl, P., & Kitts, D. (2016). Interactions between major chlorogenic acid isomers and chemical changes in coffee. *Food Chemistry*. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.041>
- Liu, Y., & Kitts, 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.
- López-Galilea, I., de Pena, M., & Cid, C. (2008). Application of multivariate analysis to investigate potential antioxidants in conventional and torrefacto roasted coffee. *European Food Research and Technology*, 227(1), 141-149.
- López-Galilea, I., Paz, M., & Cid, C. (2007). Correlation of selected constituents with the total antioxidant capacity of coffee beverages: influence of the brewing procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 6110-6117.
- López-García, F. J. (2016). *Producción y calidad en variedades de café (Coffea arabica L.)*. en Veracruz, México.: " Revista fitotecnia mexicana 39.3 (2016): 297-304.

- López-García, F., Escamilla-Prado, E., Zamarripa-Colmenero, A., & Cruz-Castillo, J. (2016). Producción y calidad en variedades de café (*Coffea arabica* L.) en Veracruz, México. *Revista fitotecnia mexicana*, 39(3), 297-304.
- Madrid, L. A. (2019). "Efecto de la temperatura en la rapidez del tostado de café." *Tecnología en Marcha*.
- Madrid, L., Alpizar, Y., Zúñiga, M., & Elías, G. (2019). Efecto de la temperatura en la rapidez del tostado de café. *Tecnología en Marcha*, 32(2), 20-27.
- Malau, S., Sihotang, M., & Simanjuntak, R. (2019). Effect of genotype and storage duration on taste and ecovalence of roasted beans of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (págs. 1 -6). IOP Publishing.
- Marín, C., & Puerta, G. (2018). Contenido de ácidos clorogénicos en granos de *coffea arabica* L. y *C. canephora* según el desarrollo del fruto. *Cenicafé*, 59(1), 7-28.
- Marín, S., Arcila, J., Montoya, E., & Oliveros, C. (2013). Cambios físicos y químicos durante la maduración del fruto de café (*Coffea arabica* L. var. Colombia). *Cenicafé*, 54(3):208-225.
- Martínez, I., Periago, M., & Ros, G. (2000). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. *Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta*. Caracas.
- Martinez, S., Hernandez, F., Aguilar, C., & Rodriguez, R. (2019). *Extractos de pulpa de café*. Obtenido de Una revisión sobre antioxidantes polifenólicos y su actividad antimicrobiana:
<https://www.redalyc.org/jatsRepo/674/67459697009/html/index.html>
- Martínez-Valverde, I., Periago, M., & Ros, G. (2012). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 50(1), 5-18.
- Mastrocola, N., & Quiliguango, R. (2018). *Influencia de cuatro métodos de beneficio sobre la calidad física y organoléptica del café arábigo (Coffea arabica L.) en dos pisos altitudinales del noroccidente de Pichincha*. Obtenido de Repositorio de la Universidad Central del Ecuador: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1042>
- Mazzafera, P., & Silvarolla, M. (2019). Caffeine content variation in single green Arabica coffee seeds. *Seed Science Research*, 20(3), 163.

- Mendes, L., de Menezes, H., Aparecida, M., & da Silva, A. (2011). Optimization of the roasting of robusta coffee (*C. canephora conillon*) using acceptability tests and RSM. *Food quality and preference*, 12(2), 153-162.
- Mercado, G., De La Rosa, L., Medrano, A., J, L., & Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas. *Nutrición hospitalaria*, 36-46.
- Mercado-Mercado, G., Carrillo, L., Wall-Medrano, A., López, J., & Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición hospitalaria*, 28(1), 36-46.
- Monroig, M. (2013). *Ecos del café*. Obtenido de <https://academic.uprm.edu/mmonroig/>
- Monroig, M. (2015). *Descripción botánica del cafeto*. Obtenido de https://academic.uprm.edu/mmonroig/HTMLobj-1850/BOT_NICA_DEL_CAFETO.pdf
- Monteros, A. (2017). Rendimientos De Café Grano Seco En El Ecuador. *Sinagap*, 1 - 11.
- Mori, E., Bragagnolo, N., Morgano, M., Anjos, V., Yotsuyanagi, K., Faria, E., & J, I. (2013). Brazil coffee growing regions and quality of natural, pulped natural and washed coffees. *ood Foods Ingredients J. Jpn. Food*, 208(1):416-423.
- Myhrvold, N. E. (2020). *Encyclopædia Britannica, Inc., ed. «Coffee. Beverage».*
National Research and Development Institute for Chemistry and Petrochemistry, ICECHIM Bucharest . (s.f).
- Navarro, I., Periago, M., & García, F. (2017). Estimación de la ingesta diaria de compuestos fenólicos en la población española. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 21(4), 320-326. doi:<https://dx.doi.org/10.14306/renhyd.21.4.357>
- Nunes, F., & Coimbra, M. (2017). Melanoidins from coffee infusions. Fractionation, chemical characterization, and effect of the degree of roast. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 3967-3977.
- Oliveira, S., Franca, A., Glória, M., & Borges, M. (2015). The effect of roasting on the presence of bioactive amines in coffees of different qualities. *Food Chemistry*, 90(1-2), 287-291.

- Opitz, S., Smrke, S., Goodman, B., & Yeretian, C. (2014). Methodology for the measurement of antioxidant capacity of coffee: A validated platform composed of three complementary antioxidant assays. En V. Preedy, *Processing and impact on antioxidants in beverages* (págs. 253-264). Academic Press.
- Ortega, S. (2015). *aracterización Preliminar de Genotipos de Café*. .
- Perez, M. (2016). *Compuestos fenólicos y perfil de ácidos grasos en granos de café (Coffea arabica L.) verde y tostado de variedades e híbridos cultivados en Coatepec, Veracruz*. Obtenido de <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/I.-en-A.-Monica-Lilian-Perez-Ochoa.pdf>
- Perrone, D., Farah, A., & Donangelo, C. (2012). Influence of coffee roasting on the incorporation of phenolic compounds into melanoidins and their relationship with antioxidant activity of the brew. *ournal of agricultural and food chemistry*, 60(17), 4265-4275.
- Pisoschi, A., & Negulescu, G. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: a review. *Biochem Anal Biochem*, 1(1), 106.
- Pittia, P., Dalla, M., & Lerici, C. (2018). Textural changes of coffee beans as affected by roasting conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 34(3), 168-175.
- Pittia, P., Nicoli, M., & Sacchetti, G. (2014). Effect of moisture and water activity on textural properties of raw and roasted coffee beans. *Journal of texture studies*, 38(1), 116-134.
- Porras, A., & Lopez, A. (2009). Temas selectos de ingeniería en alimentos. *Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos*. Puebla, Mexico.
- Porras-Loaiza, A., & López-Malo, A. (2020). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *emas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121-134.
- Pozo, M. (2017). *Análisis de los factores que inciden en la producción de café en el Ecuador 2000-2011*. Obtenido de Repositorio de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador:
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/6848/7.36.001425.pdf?sequence=4>

- Priftis, A., Stagos, D., Konstantinopoulos, K., Tsitsimpikou, C., Spandidos, D., Tsatsakis, A., . . . Kouretas, D. (2015). Comparison of antioxidant activity between green and roasted coffee beans using molecular methods. *Molecular medicine reports*, 12(5), 7293-7302.
- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *ournal of agricultural and food chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Puerta, G. (2011). Composición química de una taza de café. *Avances técnicos. Cenicafé*, 2-12.
- Puerta, G. (2011). Composición química de una taza de café. *Avances técnicos. Cenicafé*, 2-12.
- Puerta, G. (2013). Composición química de una taza de café. *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*, 2 - 12.
- Puerta, G. (2013). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*, 2 -12.
- Puerta, G. (2013). Los catadores de cafe. *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*, 12.
- PUERTA, G. B. (2017). *Composición química de elementos minerales en café verde y tostado con relación a suelos y altitud*.
- Puerta-Quintero, G. (2011). Factores de origen y proceso en la calidad y la química del café Origin and process factors on the quality and chemistry of coffee. *Simposio Agroalimentario*, (págs. 1 -7).
- Puerta-Quintero, G. (2014). Especificaciones de origen y buena calidad del café de Colombia. *Centro Nacional de Investigaciones de Café (Cenicafé)*.
- Pulgarín, J. (2016). Crecimiento y desarrollo de la planta de café. *Sistemas de Producción de Café En Colombia*, 22 - 58.
- Revi, I. (2019). Coffee Cupping: Evaluation of Green Coffee Quality. En A. Farah, *Coffee: Production, Quality and Chemistry* (págs. 337-360). Royal society of chemistry.

- Risticovic, S., Carasek, E., & Pawliszyn, J. (2008). Headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic–time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. *Analytica Chimica Acta*, 617(1-2), 72-84.
- Rodrigues, C., Maia, R., Miranda, M., Ribeirinho, M., Nogueira, M., & Maguas, C. (2009). Stable isotope analysis for green coffee bean: a possible method for geographic origin discrimination. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 463-471.
- Rodríguez-Rabadán, B. (2014). *Proceso de decisión del consumidor: factores explicativos del visionado de películas en sala de cine de los jóvenes universitarios españoles*. Obtenido de Respositorio de la Universitat Internacional de Catalunya: https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/146251/David_Rodriguez_Rabad%C3%A1n%20Benito.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rogers, L. (2017). *Discrimination testing in sensory science: A practical handbook*. Woodhead Publishing.
- Rojo, E., & Pérez-Urria, C. (2018). Café I (G. Coffea). *Reduca Biología*, 7(2), 113-132.
- Rosero, P. Y. (2015). *Caracterización física de café especial (Coffea Arabica) en el municipio de Chachagüí (Nariño , Colombia)*. *Revista Lasallista de Investigación*, 12, 90–98.
- Rosero, P., Sánchez, S., & Narváez, I. (2015). *Caracterización física de café especial (Coffea Arabica) en el municipio de Chachagüí (Nariño , Colombia)*. *Revista Lasallista de Investigación*, 12, 90–98.
- Sacchetti, G., Di Mattia, C., Pittia, P., & Mastrocola, D. (2009). Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee brews and their phenolic fraction. *Journal of Food Engineering*, 90(1), 74-80.
- Saint-Denis, C. (2018). *Consumer and Sensory Evaluation Techniques: How to Sense Successful Products*. John Wiley & Sons Ltd.
- Saint-Denis, C. (2018). *Consumer and Sensory Evaluation Techniques: How to Sense Successful Products*, John Wiley & Sons Ltd.
- Sanchez-Gonzalez, I., Jimenez-Escrig, A., & Saura-Calixto, F. (2015). *vitro antioxidant activity of coffees brewed using different procedures (Italian, espresso and filter)*. *Food chemistry*, 90(1), 2.

- Santistevan, M., Julca, A., Borjas, R., & Tuesta, O. (2015). Caracterización de fincas cafetaleras en la localidad de Jipijapa (Manabí, Ecuador). *Ecología Aplicada*, 13(2), 187-192.
- Sanz, C., Czerny, M., Cid, C., & Schieberle, P. (2012). Sanz, C., Czerny, M., Cid, C., & Schieberle, P. (2002). Comparison of potent odorants in a filtered coffee brew and in an instant coffee beverage by aroma extract dilution analysis (AEDA). *European food research and technology*, 214(4), 299-302.
- Schenker, S., & Rothgeb, T. (2017). The Roast-Creating the Beans' Signature. En B. Folmer, *The Craft and Science of Coffe* (págs. 245 -270). San Diego, United States: Elsevier Inc.
- Schenker, S., Heinemann, C., Huber, M., Pompizzi, R., Perren, R., & Escher, F. (2012). Impact of roasting conditions on the formation of aroma compounds in coffee beans. *Journal of Food Science*, 67 (1).
- Sepriyany. (2017). *Anatomy of a coffee bean*. Obtenido de Red Berry Coffee: <http://redberrycoffee.co.id/anatomy-of-a-coffee-bean/>
- Somporn, C., Kamtuo, A., Theerakulpisut, P., & Siriamornpun, S. (2011). Effects of roasting degree on radical scavenging activity, phenolics and volatile compounds of Arabica coffee beans (*Coffea arabica* L. cv. Catimor). *International journal of food science & technology*, 46(11), 2287-2296.
- Speer, K., & Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 201-216.
- Stokes, C., O'Sullivan, M., & Kerry, J. (2017). Hedonic and descriptive sensory evaluation of instant and fresh coffee products. *European Food Research and Technology*, 243(2), 331-340.
- Stone, H., & Sidel, J. (2014). *Sensory Evaluation Practices*. Redwood City: Academic Press.
- Sunarharum, W., Yuwono, S., & Aziza, O. (2019). Study on the effect of roasting temperature on antioxidant activity of early-roasted Java coffee powder (Arabica and Robusta). *International Conference on Green Agro-industry and Bioeconomy*. 230, pág. 012045. IOP Conference Series Earth and Environmental Science. doi:doi:10.1088/1755-1315/230/1/012045

- Szymanowska, K., & Wołosiak, R. (2014). Wpływ prażenia kawy na wybrane parametry jej jakości. *Aparatura badawcza i dydaktyczna*, 19(1), 77-83.
- Tajik, N., Tajik, M., Mack, I., & Enck, P. (2017). The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. *European Journal of Nutrition*, 56(7), 2215-2244.
- Thomas, E., Puget, S., Valentin, D., & Songer, P. (2017). Sensory Evaluation-Profiling and Preferences. En B. Folmer, *The Craft and Science of Coffee* (págs. 419 - 456). London, United Kingdom: Academic Press.
- Thurston, R., Morris, J., & Steiman, S. (2014). *Coffee: A comprehensive guide to the bean, the beverage, and the industry*. New York: Rowman & Littlefield Publishers.
- Tripathi, S., Srivastava, R., Agarwal, S., Shrimali, S., & Mishra, N. (2019). Effect of roasting on antioxidants and related compounds in green coffee beans. En R. Sen, S. Mukherjee, R. Paul, & R. Narula, *Biotechnology and Biological Sciences: Proceedings of the 3rd International Conference of Biotechnology and Biological Sciences* (pág. 74). Kolkata, India : CRC Press.
- Valarezo, F. &. (2017). *Efecto del proceso de beneficiado húmedo en características físico-químicas y sensoriales de café verde especial*.
- Valarezo, F., & Darío, X. (2017). *Efecto del proceso de beneficiado húmedo en características físico-químicas y sensoriales de café verde especial*. Obtenido de Escuela Agrícola Panamericana: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6075/1/AGI-2017-053.pdf>
- Van Doorn, G., Woods, A., Levitan, C., Wan, X., Velasco, C., Bernal-Torres, C., & Spence, C. (2017). Does the shape of a cup influence coffee taste expectations? A cross-cultural, online study. *Food Quality and Preference*, 56, 201-211.
- Van Doorn, G., Willemin, D., & Spence, C. (2014). Does the colour of the mug influence the taste of the coffee? *Flavour*, 3(1), 10.
- Varela, P., & Ares, G. (2014). *Novel techniques in sensory characterization and consumer profiling*. CRC Press.
- Vargas, C. (2016). *Generación de un protocolo para inducir variantes genéticas en café (Coffea arabica L.) mediante inducción de mutaciones con el uso de agentes*

- químicos*. Obtenido de Repositorio de la Universidad de Costa Rica: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3896/1/40163.pdf>
- Vega, A., de León, J., & Reyes, S. (2017). Determinación del contenido de polifenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá. *Información tecnológica*, 28(4), 29-38.
- Vega, A., De León, J., & Reyes, S. (2017). *Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá*. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642017000400005
- Vega, A., De León, J., Reyes, S., & Miranda, S. (2018). Componentes Bioactivos de Diferentes Marcas de Café Comerciales de Panamá. Relación entre Ácidos Clorogénicos y Cafeína. *Información tecnológica*, 29(4), 43-54. doi:<https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642018000400043>
- Velez. (2000.). *Desarrollo floral del cafeto Coffea arabica L. en tres altitudes. Chinchiná*.
- Veleza, B., Jaramillo, R., & Chavés, C. (2000). Desarrollo floral del cafeto Coffea arabica L. en tres altitudes. Chinchiná. *Cenicafé*.
- Vignoli, J., Bassoli, D., & Benassi, M. (2011). Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chemistry*, 124(3), 863-868.
- Wang, N., Fu, Y., & Lim, L. (2017). Feasibility study on chemometric discrimination of roasted Arabica coffees by solvent extraction and Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 3220-3226.
- Wang, X., & Lim, L. (2015). Physicochemical characteristics of roasted coffee. En V. Preedy, *Coffee in health and disease prevention* (págs. 247-254). San Diego, USA: Academic Press.
- World Coffee Research. (2018). *Las variedades del Café Arábica*. Obtenido de World Coffee Research: https://worldcoffeeresearch.org/media/documents/las_variedades_del_cafe_arabica_v2_feb_2018.pdf

- Yamagata, K. (2018). Do coffee polyphenols have a preventive action on metabolic syndrome associated endothelial dysfunctions? An assessment of the current evidence. *Antioxidants*, 7(2), 26.
- Yashin, A., Yashin, Y., Wang, J., & Nemzer, B. (2013). Antioxidant and antiradical activity of coffee. *Antioxidants*, 2(4), 230-245.
- Zenan, .: (. (s.f.). 2011.
- Zhishen, J., Tang, M., & Jianming, W. (1998). *The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals*. Obtenido de Analytical, Nutritional and Clinical methods.

ANEXOS

Anexo 1. Resultados del grado de aceptabilidad de las muestras de café con 25 jueces

Grado de aceptación	T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9		T10		T11		T12		C1	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Me gusta mucho	5	20	6	24	5	20	3	12	2	8	1	4	7	28	5	20	1	4	3	12	2	8	5	20	3	12
Me gusta	7	28	7	28	5	20	9	36	5	20	12	48	7	28	2	8	5	20	9	36	7	28	6	24	7	28
no me gustó ni me disgustó	8	32	6	24	8	32	4	16	9	36	7	28	6	24	10	40	7	28	5	20	8	32	7	28	7	28
no me gustó	2	8	4	16	3	12	6	24	5	20	3	12	2	8	8	32	6	24	5	20	6	24	5	20	4	16
no me gustó mucho	3	12	2	8	4	16	3	12	4	16	2	8	3	12	0	0	6	24	3	12	2	8	2	8	4	16
Total	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100	25	100

Anexo 2. Análisis proximal del café verde

	A1 (Castillo)	A2 (Caturra Amarillo)	A3 (SL-28)
Fibra (%)	32,33	31,45	30,65
Humedad (%)	11,30	11,34	10,60
Proteína (%)	11,25	11,63	12,58
Cenizas (%)	3,47	3,31	3,07
Grasa (%)	8,75	8,94	10,06
Ca (%)	0,11	0,11	0,11
P (%)	0,13	0,11	0,12
Mg (%)	0,2	0,16	0,17
Na (%)	0,002	0,002	0,003
K (%)	1,02	1,03	1,05
Cu (ppm)	15	12	11
Fe (ppm)	33	30	32
Mn (ppm)	19	21	24

Anexo 3. Análisis proximal del café tostado

	A1B2C2 (Castillo)	A2B2C2 (Caturra Amarillo)	A3B2C2 (SL-28)
Fibra (%)	29,39	29,49	29,84
Humedad (%)	1,15	2,03	1,87
Proteína (%)	15,14	14,17	14,92
Cenizas (%)	4,00	3,85	3,90
Grasa (%)	14,02	15,41	14,25
Ca (%)	0,12	0,11	0,12
P (%)	0,15	0,13	0,14
Mg (%)	0,21	0,19	0,21
Na (%)	0,003	0,006	0,004
K (%)	1,28	1,22	1,15
Cu (ppm)	14	12	13
Fe (ppm)	39	39	40
Mn (ppm)	20	22	28

Anexo 4. Extracción de café

Se tomó las muestras de café verde (3 muestras) y tostado (36 muestras) molidas.

Se pesó 0,3 g de cada muestra directamente en un tubo de centrifuga en la balanza analítica y se añadió 5 ml de solución extractora (70% metanol, 30% agua destilada y 0,1% ácido fórmico)

Las muestras tomadas se llevaron al agitador por 10 min, luego 5 min al ultrasonido y 10 min a la centrifuga.

Luego de la centrifugación la solución se divide en dos partes el sobrenadante y el extracto.

Se tomó el sobrenadante y se colocó en un balón de 25 ml.

En el tubo de centrifuga que quedo el extracto de la muestra se añadió 5ml de solución extractora.

Se realizó los mismos pasos 3 veces más, colocando el sobrenadante de cada tubo en el mismo balón de 25 ml obteniendo al final los 25 ml de extracto aforado.

NOTA: este extracto se utilizó en cada uno de los análisis siguientes

Métodos de análisis empleados en la investigación

Se realizó en las muestras de café verde y tostado molidos, mediante los análisis descritos a continuación:

Anexo 5. *Determinación de Polifenoles en café según (Cross, Villeneuve, & Vincent, 1982)*

Se procede a realizar de la siguiente manera

Procedimiento para obtener la curva de calibración para polifenoles

Se procede a preparar las soluciones estándar.

Preparar solución estándar primario de ácido gálico (200 ppm)

Transferir 0,020 gr de ácido gálico en un balón volumétrico de 100 ml, disolver y aforar con agua destilada.

Soluciones estándar para curva de calibración

A partir de la solución estándar primaria de 200ppm se realiza la curva de calibración diluyendo el estándar en 5 concentraciones: 0, 5, 20, 40, 80 y 100 ppm, como se observa en la tabla 24.

Para esto se utiliza la fórmula:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$200V_1 = 5(10)$$

$$V_1 = 0,25$$

Tabla 24. *Concentraciones para curva de calibración de polifenoles*

Concentraciones ppm	Volumen estándar ml	Volumen de H2O ml
0	0	10
5	0,25	9,75
20	1	9
40	2	8
80	4	6
100	5	5

Cuantificación en el espectrofotómetro UV-VIS

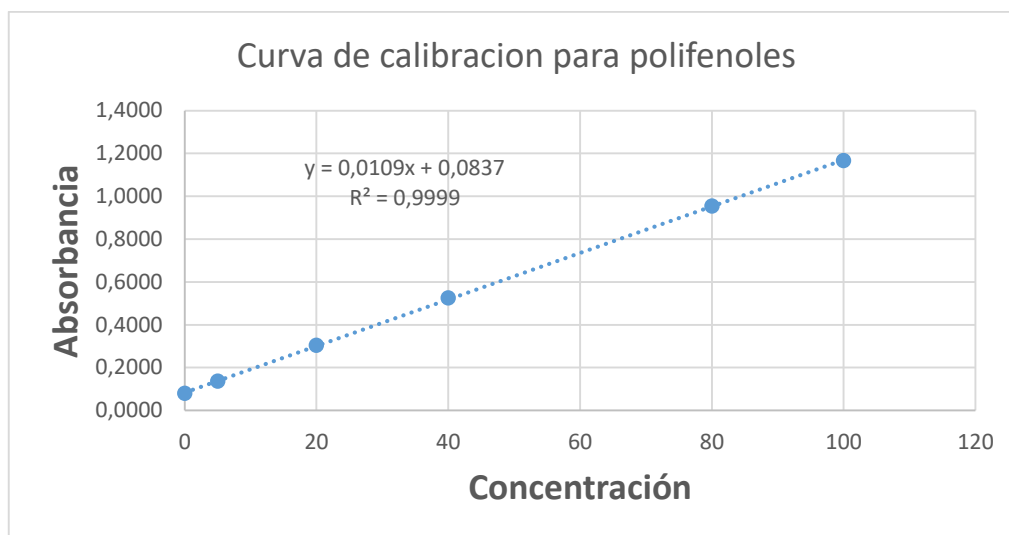
En un tubo de ensayo colocar 1 ml del extracto, añadir 6ml de agua destilada y 1 ml de reactivo de Folin & Ciocalteu, luego de 3 minutos añadir 2ml de solución de carbonato de sodio al 20%, inmediatamente agitar en un bortex y calentar a baño maría a 40 °C por dos minutos.

Realizar el mismo procedimiento para cada concentración.

Pasar la solución a una cubeta de vidrio y cuantificar en el espectrofotómetro UV-VIS bajo las siguientes condiciones:

- a) Longitud de onda: 760 nm
- b) Temperatura: ambiente

A continuación, se muestra la curva promedio de calibración para polifenoles.



En la siguiente ecuación reemplazamos la absorbancia que leímos en la curva de calibración.

$$Y = 0,0109X + 0,0865$$

$$\textit{Absorbancia} = 0,0109(\textit{Concentración}) + 0,0865$$

$$\textit{Concentración} = \frac{\textit{Absorbancia} - 0,0865}{0,0109}$$

Porcentaje de recuperación para polifenoles

Procedimiento

Se tomó 3 muestras de 0,3g de café Castilla A1B2C1 tostado y otras 3 muestras de 0,3g de café verde Castilla en un tubo de centrifuga y se añadió 5ml de solución extractora (70% de metanol, 30% H₂O, 0,1% Acido fórmico)

Las 6 muestras tomadas se llevaron al agitador por 10 minutos, 5 minutos al ultrasonido y 10 minutos a la centrifuga.

Luego de la centrifugación la solución se divide en dos partes el sobrenadante y el extracto.

Se tomó el sobrenadante y se colocó en otro tubo de ensayo.

En el tubo de centrifuga que quedo el extracto de la muestra se añadió 5ml de solución extractora.

Se realizó los mismos pasos 5 veces más.

Al final se obtuvieron 18 tubos de ensayo de extractos de café tostado y 18 tubos de ensayo de extracto de café verde.

Las 36 muestras se preparan para la cuantificación en el Espectrofotómetro UV-VIS.

A los 6 tubos de ensayo primeros que corresponden a la primera y segunda extracción del café verde y del café tostado se les realizo un factor de dilución de 50 debido a su alta concentración ya que las reacciones se mostraron con color azul intenso.

A los 9 tubos de ensayo que corresponden a la tercera, cuarta y quinta extracción del café verde y del café tostado se les realizó un factor de dilución de 10 ya que no presentaban alta concentración.

A la última extracción (3 tubos restantes tanto de verde como de tostado) no se le hizo dilución.

Cuantificación de polifenoles en el espectrofotómetro UV-VIS

En un tubo de ensayo colocar 1 ml del extracto, añadir 6ml de agua destilada y 1 ml de reactivo de Folin & Ciocalteu, luego de 3 minutos añadir 2ml de solución de carbonato de sodio al 20%, inmediatamente agitar en un bortex y calentar a baño María a 40 grados centígrados por dos minutos.

Realizar el mismo procedimiento para cada concentración.

Pasar la solución a una cubeta de vidrio y cuantificar en el espectrofotómetro UV-VIS bajo las siguientes condiciones:

*Longitud de onda: 760 nm

*Temperatura: ambiente

Anexo 6. Determinación de flavonoides totales según (Zhishen, Tang, & Jianming, 1998)

Se procede a realizar el siguiente procedimiento:

Curva de calibración para flavonoides

Preparación de la solución madre

Solución madre de (+)-Catequina (100 mg Catequina/L): Pesar 0,01 g de estándar (+)-Catequina del 98 % pureza, disolver y aforar a 100 ml con metanol.

Curva de calibración (0-100 mg Catequina/L): preparar las soluciones patrón como se indica en la tabla () y diluir con metanol hasta un aforo de 10 ml.

Determinación

Diluir convenientemente el extracto obtenido

Tomar 1 ml de la muestra o estándar y añadir 4 ml de agua destilada y homogenizar

Añadir 0,3 ml de nitrito de sodio al 5% y agitar en un vortex.

Esperar 5 minutos y añadir 0,3 ml de cloruro de aluminio al 10% y esperar 5 minutos.

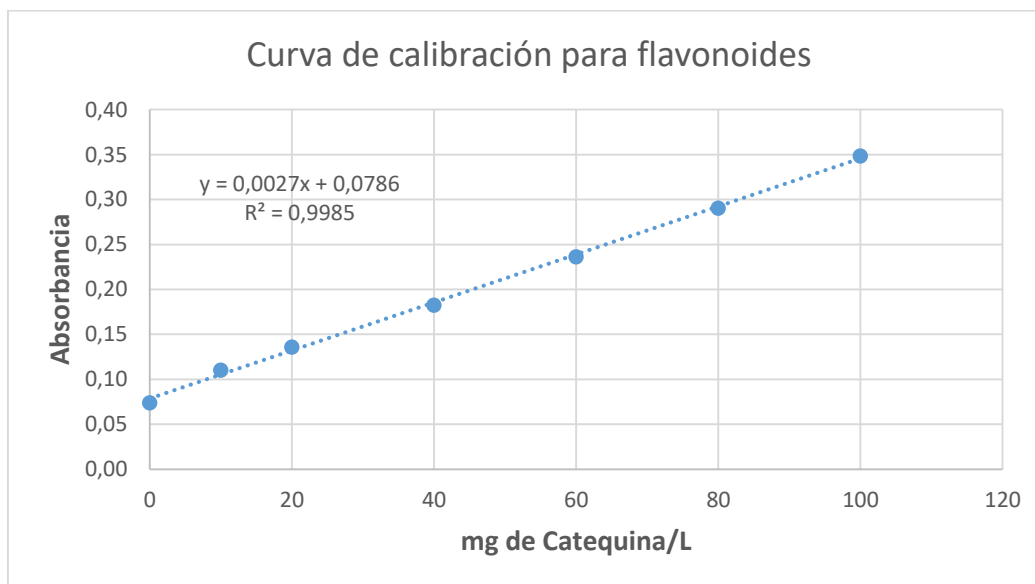
Adicionar 2 ml de NaOH 1N, reactivo con el que las soluciones pasan de color amarillo a rosado.

Aforar a 10 ml con agua destilada (2, 4 ml)

Homogenizar bien la muestra medir a una longitud de onda 490 nm.

Expresar los resultados como mg catequina, por interpolación de la absorbancia obtenida en la curva de calibración.

A continuación, se detalla la curva promedio de calibración para flavonoides.



Porcentajes de recuperación de flavonoides

Procedimiento

Se tomó 3 muestras de 0,3g de café Castilla A1B2C1 tostado y otras 3 muestras de 0,3g de café verde Castilla en un tubo de centrifuga y se añadió 5ml de solución extractora (70% de metanol, 30% H₂O, 0,1% Acido fórmico)

Las 6 muestras tomadas se llevaron al agitador por 10 minutos, 5 minutos al ultrasonido y 10 minutos a la centrifuga.

Luego de la centrifugación la solución se divide en dos partes el sobrenadante y el extracto.

Se tomó el sobrenadante y se colocó en otro tubo de ensayo.

En el tubo de centrifuga que quedo el extracto de la muestra se añadió 5ml de solución extractora. Se realizó los mismos pasos 5 veces más.

Al final se obtuvieron 18 tubos de ensayo de extractos de café tostado y 18 tubos de ensayo de extracto de café verde.

Las 36 muestras se preparan para la cuantificación en el Espectrofotómetro UV-VIS.

A los 9 tubos de ensayo primeros que corresponden a la primera, segunda y tercera extracción del café verde y del café tostado se les realizo un factor de dilución de 50 debido a su alta concentración ya que las reacciones se mostraron con color rosado intenso.

A los 3 tubos de ensayo que corresponden a la cuarta extracción del café verde y del café tostado se les realizó un factor de dilución de 10 ya que no presentaban alta concentración.

A la quinta y sexta extracción (6 tubos restantes tanto de verde como de tostado) se les hizo dilución de 2.

Cuantificación de flavonoides en espectrofotómetro UV-VIS

Diluir convenientemente el extracto obtenido (diluciones realizadas)

Tomar 1 ml de la muestra o estándar y añadir 4 ml de agua destilada y homogenizar

Añadir 0,3 ml de nitrito de sodio al 5% y agitar en un bortex.

Esperar 5 min y añadir 0,3 ml de cloruro de aluminio al 10% y esperar 5 min.

Adicionar 2ml de NaOH 1N, reactivo con el que las soluciones pasan de color amarillo a rosado.

Aforar a 10 ml con agua destilada (2, 4 ml)

Homogenizar bien la muestra medir a una longitud de onda 490 nm.

Expresar los resultados como mg catequina, por interpolación de la absorbancia obtenida en la curva de calibración a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{mg}{g} \text{ catequina} = \frac{\text{concentración interpolada} \times VT \times FD}{g \text{ de muestra}}$$

$$\text{Concentración interpolada} = \frac{0,150 - 0,0786}{0,0027}$$

Anexo 7. Determinación de capacidad antioxidante por método de decoloración de catión radical ABTS + (Henriquez, Aliaga, & Lissi)

Se procede a realizar de la siguiente manera:

Preparación de reactivos

Solución amortiguadora de fosfatos 75mmol/L (pH=7)

- ❖ **Solución A (0,2mol/L):** Pesar 1,037g de fosfato de sodio monobásico y llevar a 100ml de agua destilada en un balón aforado
- ❖ **Solución B (0,02 mol/L):** Pesar 5,33 de fosfato de sodio di básico y llevar a 500ml con agua destilada en un balón de aforo.

Mezclar 95ml de solución A con 405ml de la solución B, llevar a 900ml con agua destilada y medir el pH. Ajustar el pH con las soluciones A y B sobrantes de acuerdo con lo necesario hasta alcanzar un valor de pH = 7,0 y llevar a un litro en el balón aforado.

Envasar la disolución en una botella y almacenar a 4°C por un periodo máximo de un mes.

Solución Stock de ABTS

- ❖ **Solución de ABTS (7mM):** pesar 0,0960g de ABTS (548,68g/mol), disolver en agua ultrapura completamente y aforar a un volumen de 25ml. Almacenar a temperatura de refrigeración 4°C. La solución dura un mes a estas condiciones.
- ❖ **Solución de Per sulfato K₂S₂O₈ (2,45mM):** Pesar 0,01655g de K₂S₂O₈, disolver en agua ultrapura y aforar a 25ml. Conservar la solución en refrigeración 4°C.

Solución Activada de ABTS. +

Mezclar en proporción 1:1 la solución ABTS (7mM) con la de K₂S₂O₈ (2,45mM) y dejar reposando 16 horas antes de su uso. Filtrar la solución por un papel filtro watman 0,4 y

envasar en un frasco ámbar. La solución se mantiene estable 24h, por lo que se recomienda realizarla el día del análisis.

Solución de trabajo ABTS. +

En un frasco ámbar diluir la solución activada de ABTS. + con un buffer fosfato hasta obtener una lectura de absorbancia de 1,1-+ 0,01 a una longitud de onda de 734nm.

Preparación de la curva de calibración

Solución madre de Trolox

Solución madre (2000umol/L): Pesar 0,050g de Trolox (PM 250,32g), adicionar de 15 a 20 gotas de etanol al 95% para disolver todos los cristales y llevar a 100ml con la solución amortiguadora en un balón aforado ámbar. La preparación y manipulación del Trolox se realiza en obscuridad o con la ayuda de luz amarilla para evitar su degradación. Envasar la dilución en una botella ámbar

NOTA: Solo preparar para usar el día del análisis y luego descartarlo.

Preparar las soluciones patrón como se indica en el cuadro y diluir la solución amortiguadora hasta un aforo de 10ml

El volumen inicial se calcula a partir de la siguiente ecuación:

Solución madre Trolox 2000 umol/L

$$C1V1 = C2V2$$

$$200 \frac{\text{umol}}{\text{L}} \cdot V1 = 200 \frac{\text{umol}}{\text{L}} (10 \text{ ml})$$

$$V1 = \frac{200 \frac{\text{umol}}{\text{L}} \cdot \text{mL}}{200 \text{umol/L}}$$

$$V1 = 1 \text{ mL de trolox}$$

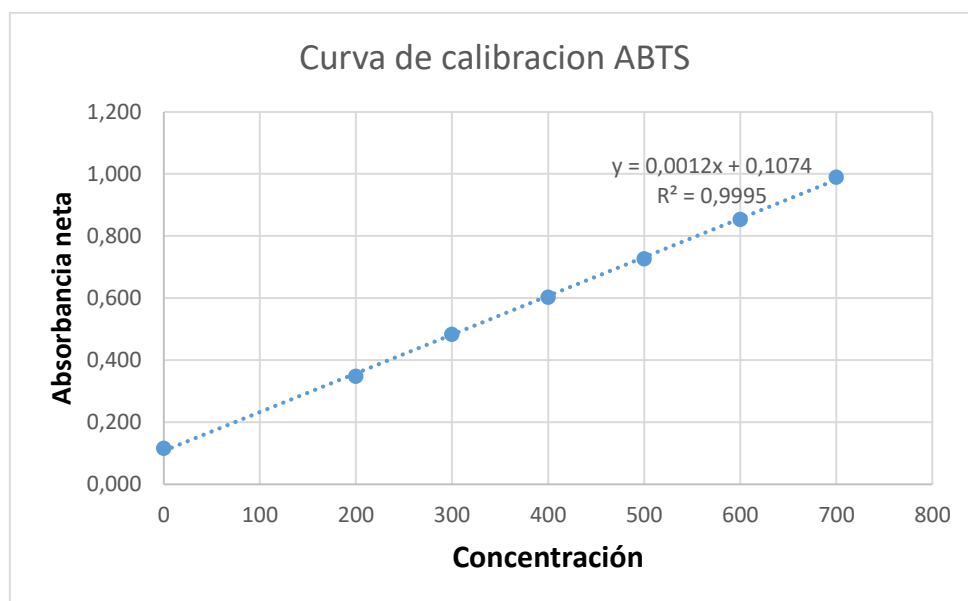
Determinación de la capacidad antioxidante

Transferir a un tubo de vidrio un volumen de 200 uL de muestra debidamente diluida en solución amortiguadora (buffer fosfato) y adicionar 3800 de la solución de trabajo de ABTS.+ ($A_{734} = 1,1 + 0,001$). Se hace tres repeticiones por cada concentración.

Agitar los tubos y dejar reposar por un tiempo de 45 min.

Medir la absorbancia final.

A continuación, se muestra la curva promedio de calibración para ABTS.



$ABS_{\text{muestra y/o patrón Trolox}} = ABS_{\text{solución de trabajo inicial}} - ABS_{\text{muestra 45 min.}}$

Procedimiento para determinación de la capacidad antioxidante por ABTS para muestra y curva

Se tomó 3 muestras de 0,3g de café castilla A1B2C1 tostado y otras 3 muestras de 0,3g de café verde Castilla en un tubo de centrifuga y se añadió 5ml de solución extractora (70% de metanol, 30% H₂O, 0,1% ácido fórmico)

Las 6 muestras tomadas se llevaron al agitador por 10 minutos, 5 minutos al ultrasonido y 10 minutos a la centrifuga. Luego de la centrifugación la solución se divide en dos partes el sobrenadante y el extracto.

Se tomó el sobrenadante y se colocó en otro tubo de ensayo.

En el tubo de centrifuga que quedo el extracto de la muestra se añadió 5ml de solución extractora. Se realizó los mismos pasos 5 veces más.

Al final se obtuvieron 18 tubos de ensayo de extractos de café tostado y 18 tubos de ensayo de extracto de café verde.

Las 36 muestras se preparan para la cuantificación en el Espectrofotómetro UV-VIS.

A los 9 tubos de ensayo primeros que corresponden a la primera, segunda y tercera extracción del café verde y del café tostado se les realizó un factor de dilución de 50 debido a su alta concentración.

A los 9 tubos de ensayo restantes que corresponden a la cuarta, quinta y sexta extracción del café verde y del café tostado se les realizó un factor de dilución de 10 ya que no presentaban alta concentración.

Determinación de ABTS. + en espectrofotómetro UV-VIS

Transferir a un tubo de vidrio un volumen de 200 uL de muestra debidamente diluida y adicionar 3800 uL de la solución de trabajo de ABTS. + ($A_{734} = 1,1 + 0,001$).

Agitar los tubos y dejar reposar por un tiempo de 45 min.

Medir la absorbancia final.

Anexo 8. Capacidad antioxidante por método de Frap

Se procede a realizar las siguientes actividades:

Preparación de buffer fosfato pH 6,6

Solución A: pesar 2,3998g de fosfato de sodio di básico NaH_2PO_4 y disolver en agua destilada y llevar a un aforo de 100ml.

Solución B: 2,8414g de fosfato de sodio monobásico NaH_2PO_4 disolver en agua destilada y llevar a un volumen de 100ml

Adicionar a la solución A 100ml de la solución B Y llevar a 220ml con agua destilada y ajustar el pH de 6,6. Aforar a 250ml.

Preparación de la solución de ferrocianida de potasio 1%

Pesar un gramo de ferrocianida de potasio protegida debidamente de la luz, disolver con agua destilada y llevar a un volumen de aforo de 100ml

Preparación de cloruro férrico FeCl_3 al 1%

Pesar un gramo de FeCl_3 disolver con agua destilada y llevar hasta un volumen de 100ml

Preparación de Ácido Tricloroacético (TCA) al 10%

Pesar 10g de TCA y disolver con agua destilada en un vaso de precipitación, adicionar a un balón aforado de 100ml y aforar con agua hasta dicho volumen.

Preparación para la curva de calibración Frap

A continuación, en la tabla 25 se visualiza las concentraciones para la curva de calibración por el método Frap.

Tabla 25. Concentraciones para la curva de calibración Frap

Concentración (umol) trolox	Solución madre (ml)	solución amortiguadora(10ml) pH 6,6
0	0	10
200	1	9
300	1.5	8.5
400	2	8
500	2.5	7.5
600	3	7
700	3.5	6.5

A continuación, en la tabla 26 se detalla la curva promedio de calibración con sus absorbancias para el método Frap.

Tabla 26. Curva promedio de calibración para Frap

Concentración	Absorbancia
0	0,0943
200	0,4027
300	0,541
400	0,657
500	0,785
600	0,924
700	1,019

Procedimiento para determinación de capacidad antioxidante para curva y muestra

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP, se basó en la metodología de Oyaizu, 1986, para la que se describe:

Tomar 1ml de la muestra o estándar en un tubo de ensayo de 10ml.

Adicionar 2,5ml de solución buffer de pH 6,6 y 2,5ml de la solución de ferrocianida de potasio 1%

Incubar en baño María a50°C por un tiempo de 20 min.

Pasado ese tiempo añadir 2,5ml de la solución de Ácido tricloroacético al 10%, 2,5ml de agua destilada y 0,5ml de FeCL₃ al 1%.

Homogenizar en un vortex las muestras y los estándares.

Reposar por 30 minutos en la oscuridad.

Determinar espectrofotométricamente a 700 nm en base a lo reportado Yen & Chen (1995).

Cálculos: Los resultados se determinan mediante la interpolación del resultado de la muestra con la ecuación de la curva de calibración y se expresa en micro moles de Trolox.

Anexo 9. Determinación de ácidos por HPLC

Se procede a realizar los siguientes pasos:

Preparación de reactivos:

- **Fase móvil:** Agua, acetonitrilo, ácido fórmico. Transferir cuantitativamente 8ml de acetonitrilo grado HPLC y 2ml de 3 ácido fórmico grado P.A en un balón aforado de 1000ml. Aforar con agua bidestilada y filtrar al vacío utilizando membrana HV de 0,45um de poro.
- **Solución estándar de ácido clorogénico.** Preparar una solución estándar de 100ppm, pesando aproximadamente 0,01g de estándar de ácido clorogénico en un balón de 100ml y aforar con metanol grado HPLC.
- **Solución estándar de Ácido Siringico.** Preparar una solución estándar de 100ppm, pesando aproximadamente 0,01g de estándar de ácido siringico en un balón de 100ml y aforar con metanol grado HPLC.
- **Solución estándar de ácido cafeico.** Preparar una solución estándar de 100 ppm, pesando aproximadamente 0,01g de estándar de ácido cafeico en un balón de 100 ml y aforar con metanol grado HPLC.

A continuación, en la tabla 27 se describen las condiciones cromatográficas del HPLC

Tabla 27. Condiciones cromatográficas

COLUMNA	AGILENT Eclipse XDB-C18 4,6x 250mm
Temperatura de la columna	35°C
Flujo	0,8 ml/minutos
Volumen de inyección	20 ul
Detección	DAD, longitud de onda 280nm
Tiempo de cromatografía	75 minutos
Fase móvil	Eluyente A: agua, acetonitrilo, ácido fórmico (99:0,8:0,2) volumen. Eluyente B: acetonitrilo.

En la siguiente tabla 28, se muestra las concentraciones para preparar la curva de calibración de los ácidos cafeicos.

Tabla 28. Concentraciones de la curva de calibración para ácidos cafeicos

Concentración ppm	Volumen de solución madre 100ppm	Volumen de Metanol ml
5	0,5	9,5
20	2	8
40	4	6
80	8	2
100	10	0

El volumen de la solución madre se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$C1V1=C2V2$$

$$100\text{ppm}\cdot V= 5\text{ppm}(10\text{ml})$$

$$V=0,5\text{ml}$$

Procedimiento:

Colocar 1,5ml de extracto de café verde y tostado en los viales previamente filtrado.

Poner los viales en la columna cromatográfica.

Hacer la lectura de 4 ácidos presentes en el café: ácido siringico, clorogenico, cafeico y ferulico.

Anexo 10. Registro fotográfico



Recolección de muestras



Recolección de muestras



Variedad castillo



Variedad amarillo



Lavado de cerezos de café



Despulpado del café



Tostadora



Molido de granos de café



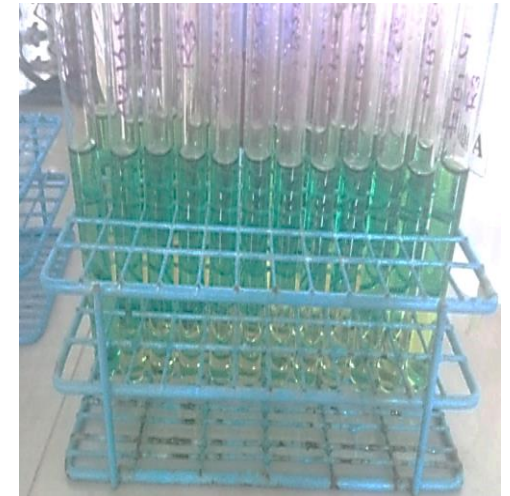
Extractos de café



Pesaje de muestras



Viales para lectura en HPLC



Polifenoles



Análisis de Proteína



Análisis de Fibra



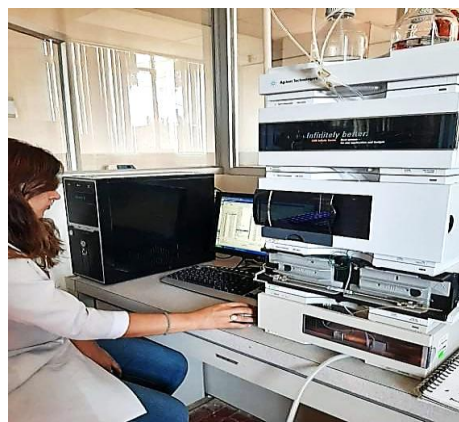
Análisis de Cenizas



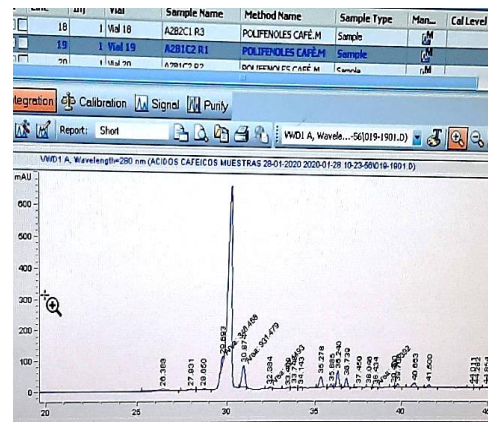
Flavonoides



Determinacion de humedad



Lectura en HPLC



Acidos cafeicos



Determinacion de grasa



Muestras de café



Trillado de café



Ttrillado de café



Tostado de café



Tostado de café



Enfriamiento de café