



**Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica* L. cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.**

Ortiz Pillajo, Diana Carolina

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de Integración Curricular, previa a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Mihai, Raluca Alexandra Ph.D

01 de septiembre de 2023



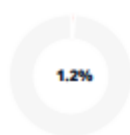
## Scan details

Scan time:  
August 26th, 2023 at 2:45 UTC

Total Pages:  
29

Total Words:  
7054

## Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	0.9%	60
Minor Changes	0%	1
Paraphrased	0.3%	21
Omitted Words	0%	0

## AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text

## Plagiarism Results: (17)

**METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓN DE CAPACIDA...** 0.4%  
<https://1library.co/document/zg9k6v2q-metodolog%ic3%ada-...>

**INDICE o TABLA DE CONTENIDOS** 0.4%  
<https://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/12259/m...>

Alejandro

V CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGÍA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES 2007 (58-0131) METODOLOGÍA PARA LA EVALUACIÓ...

**Metodología para la evaluación de capacidad antio...** 0.4%  
<https://repositorio.upct.es/handle/10317/12259>

Toggle navigation español English Toggle navigation Toggle navigation Ope...



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

#### Certificación

Certifico que el trabajo de integración curricular: "**Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica* L. cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.**" fue realizado por la señorita **Ortiz Pillajo, Diana Carolina**, el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Sangolquí, 04 de octubre 2023



.....  
RALUCA ALEXANDRA  
RUIZ

.....  
**Mihai, Raluca Alexandra Ph.D.**

C.I. 1757487507



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura  
Carrera de Biotecnología

#### Responsabilidad de Autoría

Yo, Ortiz Pillajo, Diana Carolina, con cédula de ciudadanía n° 1718081878, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Título: Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica* L. cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 04 de octubre 2023

DIANA  
CAROLINA  
ORTIZ PILLAJO

Firmado digitalmente  
por DIANA CAROLINA  
ORTIZ PILLAJO  
Fecha: 2023.10.04  
17:51:06 -05'00'

Ortiz Pillajo, Diana Carolina

C.C.: 1718081878



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura  
Carrera de Biotecnología

#### Autorización de Publicación

Yo Ortiz Pillajo, Diana Carolina, con cédula de ciudadanía n°1718081878 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Título: Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica* L. cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 04 de octubre 2023

DIANA  
CAROLINA  
ORTIZ PILLAJO

Firmado digitalmente  
por DIANA CAROLINA  
ORTIZ PILLAJO  
Fecha: 2023.10.04  
17:52:39 -05'00'

Ortiz Pillajo, Diana Carolina

C.C.: 1718081878

## Dedicatoria

A Dios por la vida y jamás soltarme la mano, aún en los valles más oscuros.

A todas las primeras generaciones, que su única opción es recorrer este camino trabajando y  
estudiando.

A Julieta e Isabella, por todo lo que pueden soñar y alcanzar.

A mis padres Wilson y Rocío por darme todo lo que estuvo en sus manos para poder crecer.

A mi compañero de vida Ménthor por todo el apoyo e inspiración.

Diana Carolina Ortiz Pillajo

## Agradecimientos

Agradezco a Dios por todo el camino recorrido, aún incluyendo las pruebas que me ha ayudado a enfrentar.

Agradezco a mi madre Rocío por enseñarme a soñar y trabajar por mis metas sin rendirme, a mi padre Wilson por enseñarme la fuerza de carácter y espíritu, a mi prometido Ménthor por creer en mí, aún cuando yo he dejado de hacerlo, por todo el amor y apoyo incondicional.

A la doctora Raluca, por compartir sus conocimientos conmigo, darme la oportunidad de realizar este trabajo, ser ejemplo e inspiración de mujer y profesional. A todos los docentes que me enseñaron con amor y paciencia que no solo fortalecieron la pasión por la ciencia, si no que me brindaron crecimiento personal más allá del profesional.

A Karoline por brindarme su amistad y compañerismo durante toda la carrera, que reforzó la idea de que entre mujeres podemos apoyarnos e inspirarnos.

A mi familia en general, compañeros de laboratorio y de carrera por su valioso aporte en mi vida, que me sostienen y van construyendo a diario.

**Índice**

<b>Dedicatoria</b>	6
<b>Agradecimientos</b>	7
<b>Capítulo I: introducción</b>	15
<b>Antecedentes</b>	15
<b>Justificación</b>	16
<b>Objetivos</b>	18
<b>Objetivo General</b>	18
<b>Objetivos específicos</b>	18
<b>Hipótesis</b>	18
<b>Hipótesis Alternativa</b>	18
<b>Hipótesis Nula</b>	18
<b>Capítulo II: marco teórico</b>	19
<b>Descripción Botánica</b>	19
<b>Taxonomía</b>	19
<b>Cultivo de Café en Ecuador</b>	20
<b>Caracterización Organoléptica</b>	21
<b>Capacidad Antioxidante</b>	22
<b>Especies Reactivas de Oxígeno</b>	23
<b>Método de DPPH</b>	23
<b>Método de FRAP</b>	23
<b>Método de ABTS</b>	24
<b>Metabolitos Secundarios</b>	24
<b>Espectrofotometría uv-uvis</b>	24
<b>Compuestos Fenólicos</b>	25
<b>Alcaloides</b>	26
<b>Capítulo III: Materiales y Métodos</b>	27
<b>Muestreo</b>	27
<b>Obtención de Extractos</b>	27
<b>Determinación de Capacidad Antioxidante</b>	28
<b>Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales ABTS</b>	28
<b>Método de Ensayo de Poder Antioxidante Reductor Férrico FRAP</b>	28



<b>Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales DPPH</b>	29
<b>Determinación del Contenido Total de Fenoles</b>	29
<b>Determinación del Contenido Total de Flavonoides</b>	30
<b>Determinación de Cafeína</b>	30
<b>Análisis Estadístico</b>	30
<b>Capítulo IV: Resultados</b>	33
<b>Tratamiento de la muestra</b>	33
<b>Carácter antioxidante</b>	33
<b>DPPH</b>	34
<b>ABTS</b>	37
<b>FRAP</b>	39
<b>Contenido de Fenoles Totales.</b>	42
<b>Flavonoides Totales.</b>	44
<b>HPLC</b>	47
<b>Análisis Sensorial.</b>	47
<b>Capítulo V: Discusión de Resultados</b>	49
<b>Capítulo VI: Conclusiones</b>	51
<b>Recomendaciones</b>	52
<b>Bibliografía</b>	52
<b>Apéndices</b>	58

## Índice de tablas

<b>Tabla 1. Distribución taxonmica para <i>Coffea arabica</i> L.</b>	20
<b>Tabla 2. Variables evaluadas para la carcaterizacióoon sensorial</b>	22
<b>Tabla 3. Variables para el diseño factorial de la determinacion de antioxidantes y contenido de metabolitos</b>	31
<b>Tabla 4. Cartilla de cata para análisis sensorial de los granos de café</b>	32
<b>Tabla 5. Nomenclatura de las muestras procesadas de <i>Coffea arabica</i> L.</b>	33
<b>Tabla 6. Medias de la concentración y porcentaje de inibición de muestras procesadas de <i>Coffea arabica</i> L. para DPPH</b>	34
<b>Tabla 7. Análisis de varianza no paramétrica de DPPH</b>	36
<b>Tabla 8. Comparación de a pares para el método DPPH</b>	36
<b>Tabla 9. Medias de la concentración y porcentaje de inibición de muestras procesadas de <i>Coffea arabica</i> L. para ABTS</b>	37
<b>Tabla 10. Análisis de la varianza no paramétrica</b>	38
<b>Tabla 11. Comparación de a pares para método de ABTS</b>	39
<b>Tabla 12. Medias de la concentración y porcentaje de inhibición de muestras de <i>Coffea arabica</i> L.para FRAP</b>	40
<b>Tabla 13. Análisis de la varianza no paramétrica para método FRAP</b>	41
<b>Tabla 14. Comparación de a pares para método de FRAP</b>	41
<b>Tabla 15. Medias de la concentración en muestras de <i>Coffea arabica</i> L.para TPC</b>	42
<b>Tabla 16. Análisis de la varianza no paramétrica</b>	43
<b>Tabla 17. Comparación de a pares para TPC</b>	44
<b>Tabla 18. Medias de la concentración de muestras de <i>Coffea arabica</i> L. para TFC</b>	44
<b>Tabla 19. Análisis de varianza no paramétrica</b>	45

	11
<b>Tabla 20. Comparación de a pares</b>	46
<b>Tabla 21. Coeficiente de Pearson</b>	46
<b>Tabla 22. Contenido de cafeína</b>	47
<b>Tabla 23. Media y desviación estándar para análisis sensorial de <i>Coffea arabica</i> L. de la provincia de Imbabura</b>	48
<b>Tabla 24. Media y desviación estándar para análisis sensorial de <i>Coffea arabica</i> L. de la provincia de Pichincha</b>	48

### Índice de figuras

<b>Figura 1. Porcentaje de inhibición para prueba de DPPH</b>	<b>35</b>
<b>Figura 2. Porcentaje de inhibición para prueba del método ABTS</b>	<b>38</b>
<b>Figura 3. Porcentaje de inhibición para método FRAP</b>	<b>40</b>
<b>Figura 4. Comparación del contenido fenólico</b>	<b>43</b>
<b>Figura 5. Comparación de flavonoides totales</b>	<b>45</b>

## Resumen

*Coffea robusta L.* es una especie ampliamente producida en Ecuador, tiene una cantidad representativa en la economía del país debido a su amplia producción, consumo y exportación ya que se cultiva en 23 de sus 24 provincias, es denominado café de altura debido a que su producción ideal hace referencia a este título, la forma de uso comercial es el fruto maduro de la planta denominado fruto verde después de un proceso de producción para ser consumido en forma de bebida debido a su alto contenido de cafeína, esta planta tanto en sus hojas como en el fruto tiene un alto contenido fitoquímico, sin embargo no existen estudios en el país de screening fitoquímico y actividad biológica, los estudios se centran en el cultivo y el proceso industrial de obtención de café bebible. El objetivo del presente trabajo fue: Evaluar las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador. Se encontró que las plantas de *Coffea arabica L.* poseen fitoquímicos con actividad biológica, para lo cual se usaron métodos colorimétricos, espectrofotometría y cromatografía líquida de alta eficacia, también se encontraron propiedades organolépticas de los frutos maduros de la planta.

*Palabras clave:* Actividad antioxidante, análisis organoléptico, cromatografía líquida de alta eficacia, screening fitoquímico.

### **Abstract**

*Coffea robusta* L. is a species widely produced in Ecuador, it has a representative quantity in the country's economy due to its extensive production, consumption and export since it is cultivated in 23 of its 24 provinces, it is called high altitude coffee because its ideal production refers to this title, the form of commercial use is the mature fruit of the plant called green fruit after a production process to be consumed in the form of a drink due to its high caffeine content, this plant both in its leaves. As the fruit has a high phytochemical content, however, there are no studies in the country on phytochemical screening and biological activity, the studies focus on the cultivation and industrial process of obtaining drinkable coffee. The objective of this work was: To evaluate the biological properties and phytochemical content of *Coffea arabica* L. plants grown in the provinces of Imbabura and Pichincha of Ecuador. It was found that *Coffea arabica* L. plants have phytochemicals with biological activity, for which colorimetric methods, spectrophotometry and high efficiency liquid chromatography were used; organoleptic properties of the ripe fruits of the coffee plant were also found..

*Keywords:* Antioxidant activity, organoleptic analysis, high performance liquid chromatography, phytochemical screening.

## Capítulo I: introducción

### Antecedentes

El Ecuador es un país rico en biodiversidad por lo tanto tiene riqueza en recursos vegetales, entre estos el género *coffea* tiene un papel protagónico en la matriz productiva del país ya que 20 del total de las provincias trabajan en el cultivo de este género , lo que en porcentaje de hectáreas representa un 20% de la tierra usada para cultivo (López et al., 2011). El país es de los pocos en la región que tiene un 78% de tipo *Coffea arabica L.*, del cultivo total de café en un total de 135 mil hectáreas de cultivo y de estas el porcentaje que se cultiva en las provincias de Pichincha e Imbabura es muy poco significativo (MAGAP, 2011)

*Coffea* es un género con aproximadamente 80 diferentes especies, las de mayor importancia económica en el mundo son *Coffea arabica L.* y *Coffea canephora*, sin embargo en el país la más relevantes económicamente es *Coffea arabica L.*, este es un cultivo con facilidad de adaptación a factores ambientales entre estas la altitud, distintos ecosistemas y también se describe como un cultivo estacional , por lo que puede ser cultivado en las cuatro regiones del Ecuador, es adaptable a las sequías, aunque para obtener una buena cosecha necesita de aproximadamente 6 y 3 meses con y sin lluvia respectivamente, entre las variedades presentes en el país se encuentran la Caturra y Bourbon (Lalangui, 2015)

El café es conocido por la capacidad antioxidante, esta propiedad es vital para combatir el estrés oxidativo en la célula y las (ROS) especies reactivas de oxígeno, así también el fruto contiene varios metabolitos secundarios. En estudios previos se ha determinado que los principales compuestos químicos presentes como metabolitos secundarios son alcaloides y compuestos fenólicos situados principalmente en la semilla del fruto del café, de los alcaloides la cafeína es la responsable de proporcionar energía, mientras que la característica de amargor

es dada por los compuestos fenólicos (Nemzer et al., 2021). La cafeína y los ácidos fenólicos de estos ácidos los ácidos clorogénico, gálico y caféico tienen carácter bioactivo diferente a la ruta enzimática, esta característica le da a este producto el atributo de ser un alimento altamente nutritivo (Cunza et al., 2020)

Existen estudios de screening fitoquímico en las hojas de la planta, donde se ha encontrado una gran cantidad de moléculas con propiedades bioactivas, en especial concentraciones altas de flavonoides y ácidos fenólicos, por lo que en este órgano vegetal tendría también propiedades de tipo antiinflamatorias, antifúngicas, antioxidantes, antibacterianas, antihipertensivas, anticancerígenas (Cangeloni et al., 2022).

La gran mayoría de estudios del café en el Ecuador se basan principalmente en las técnicas agrícolas y características organolépticas del producto comercializado, también existen, aunque no en mayoría, estudios de mejoramiento en el proceso. Los estudios realizados en el país, no están basados en la caracterización fitoquímico de los frutos y estos son importantes para la valoración de los diferentes cultivos, tampoco se encontraron estudios que valoren la ruta regulativa no enzimática de los cultivos en Ecuador, que podrían ser un precedente para diversificar el uso comercial, científico e industrial de este cultivo, por lo que se plantea la evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica* L. cultivadas en las provincias de Pichincha e Imbabura.

## **Justificación**

Los metabolitos secundarios se encuentran presentes en el reino vegetal, estos fitoquímicos cobran gran importancia en la industria sobre todo en la farmacéutica ya que de aquí se han diseñado y modelado exitosos fármacos, actualmente comercializados. Pese a



estos avances, aún existen ciertas enfermedades o características de estas, que pueden albergar alivio dentro de la gran biodiversidad vegetal existente en el mundo con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias con aplicaciones clínicas en enfermedades como el cáncer (Flores, 2007).

*Coffea arabica L.* es el género con mayor impacto comercial en el mundo entero, esto debido a que posee propiedades organolépticas que resalta entre los otros géneros, la cafeína es un fitoquímico ampliamente estudiado y comercializado ya que es utilizado en el mundo como bebida refrescante y es estudiado en amplitud por los efectos que produce en el ser humano (Kú, 2016). En el café se encuentra gran variedad de fitoquímicos donde encontramos en primer lugar la cafeína, ácido fórmico, ácido acético, ácido láctico, ácido tartárico, ácido pirúvico, ácido cítrico, ácido clorogénico, lo que comprende compuestos nitrogenados, polisacáridos, azúcares, triglicéridos, compuestos fenólicos, sustancias volátiles estas últimas contribuyen al aroma del café, también encontramos vitaminas y minerales (Gotteland & de Pablo V, 2007)

Para realizar una investigación y conocer los fitoquímicos presentes en una planta o en una parte de ella se realiza un screening, este nos permite obtener datos cualitativos de los constituyentes para lograr fraccionarlos y obtener extractos según su naturaleza química y la posterior interpretación de estos finalmente su descripción permiten llegar hasta un screening farmacológico (Sharapin, 2000)

Por este motivo es importante realizar un screening fitoquímico de *Coffea arabica L.* en las dos regiones, para entender mejor sus mecanismos y la producción de moléculas bioactivas como un precedente de conocimiento para la innovación comercial o científica.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Evaluar las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de plantas de *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.

### ***Objetivos específicos***

Recolectar mediante un muestreo aleatorio frutos maduros y hojas de las plantas de café *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.

Determinar mediante métodos espectrofotométricos la concentración de los fitoquímicos, presentes en *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.

Determinar propiedades biológicas a través de los métodos DPPH, FRAP, ABTS y análisis sensorial de *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador.

## **Hipótesis**

### ***Hipótesis Alternativa***

H1: Las plantas de *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador tienen propiedades biológicas y contenido fitoquímico.

### ***Hipótesis Nula***

H0: Las plantas de *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador no tienen propiedades biológicas ni contenido fitoquímico.

## Capítulo II: marco teórico

### Descripción Botánica

El cafeto es una angiosperma, por ello se propaga mediante semillas, este se encuentra dentro del género *coffea* y es el más importante de manera comercial, en este género existen varias especies, una de ellas es *Coffea arabica* L. Se cree que descende de la hibridación de *Coffea canephora* con *Coffea eugenioides*, llegan hasta los 6 metros de altura (Farah & Ferreira dos Santos, 2015), muestra un crecimiento adecuado en temperaturas frías, en sectores tropicales por sobre los 1000 m de altitud, crece en climas lluviosos constantes durante 7 meses y necesita una temperatura relativamente alta para obtener botones florales, para una tolerancia a las sequias, la planta desarrolla raíces muy profundas, esta condición hace que tenga un crecimiento óptimo en tierras altas tropicales (Mosquera, 2020). El fruto del café o también llamadas cerezas, se desarrollan después de la lluvia y las floraciones son constantes, aparecen de manera gradual, debido a esta característica en la misma rama hay cerezas o frutos con distintos estadios de maduración y por lo tanto coloración (Sorane et al., 2020)

### Taxonomía

A la familia *Rubiaceas* la componen 500 géneros y casi todos tienen origen tropical, el género *Coffea* ha sufrido varias clasificaciones y no se ha logrado llegar a un sistema único y para ello se han considerado principalmente sus características morfológicas, como la textura presente en las hojas, el tamaño de la planta, el color presente en el fruto y la distribución geográfica que la planta adquiere (Herrera & Cortina, 2013). El género *coffea* tiene una extensión de en promedio 70 especies y es uno de los productos agrícolas más importantes en la producción mundial, estas tienen su origen en África, y la especie con mayor importancia económica es *Coffea arabica* L.. La planta es un arbusto con brotes ortotrópicos y

plagiotrópicos, estas plantas se cultivan para la obtención de sus frutos con diferentes técnicas que se aplican desde el cultivo hasta el producto comercial (Mosquera, 2020) la distribución taxonómica se muestra en la tabla 1.

**Tabla 1**

*Distribución taxonómica para Coffea arabica L.*

<b>Taxón</b>	<b>Descripción</b>
Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Sub-división	<i>Angiosperma</i>
Clase	<i>Dicotyledonae</i>
Sub-clase	<i>Sympetalae</i>
Orden	<i>Rubiales</i>
Familia	<i>Rubiaceae</i>
Género	<i>Coffea</i>
Subgénero	<i>Eucoffea</i>
Especie	<i>Arabica</i>

*Nota: Adaptado de A scholarly investigation of the importance of coffee to Costa Rica's economy, including history, physical production, ecological impact, plantation practices, processing and economic factors. por Alvarado & Rojas, 1994, EUNED.*

### **Cultivo de Café en Ecuador**

Ecuador tiene 24 provincias de las cuales solo una no se encuentra en la lista de distribución de café, la especie *Coffea arabica L.* es el café de mejor calidad y tiene mayor

producción en las provincias de Manabí y Loja, este cultivo juega un importante papel en el sector económico-social ya que existen 700000 familiares asociadas a una actividad económica con el café y su importancia ambiental radica en su facilidad de acoplarse al ecosistema presente en las cuatro regiones del país. La calidad del grano se ve afectada por varios factores como el paso de fenómenos naturales, el ambiente, edad del cultivo, en estos parámetros para el 2016 el rendimiento promedio de la producción de *Coffea arabica L.* fue de 0.22 por hectárea(Venegas et al., s. f.)

### **Caracterización Organoléptica**

Está definida por el análisis físico y el sensorial, se realiza con la finalidad de determinar la calidad aceptada en el comercio y es realizada por personas con formación en el tema que reciben el nombre de catadores y estos están acreditados. En este caso el procedimiento empieza con una limpieza de las muestras con la finalidad de excluir defectos físicos e impurezas, a continuación se considera las variables físicas para el análisis, todas las variables reciben una calificación del cero al diez, estos parámetros están contemplados en el protocolo de SCAA (Specialty Coffee Association of America ) (Guambi et al., 2017) previamente todas las muestras deben pasar por evaluaciones de tipo sensoriales como olfativas y visuales, adicionalmente se realiza una examinación de defectos (IICA, 2010)

**Tabla 2**

*Variables evaluadas para la caracterización sensorial*

<b>Variable</b>	<b>Escala</b>
Tamaño del grano	0-10
Densidad del grano	0-10
Fragancia / Aroma	0-10
Sabor	0-10
Acidez	0-10
Balance	0-10

*Nota: Adaptado de Calidad organoléptica de café arábigo en relación a las variedades y altitudes de las zonas de cultivo en Ecuador, por Guambi et al., 2017, Iber.Tecnología Postcosecha.*

### **Capacidad Antioxidante**

Esta responde al grado en el que una molécula puede prevenir la oxidación biológica, por otro lado, la definición de oxidación es la capacidad de convertir moléculas neutras a moléculas con carga, captando electrones que originalmente se encuentran en las últimas capas, de esta manera la molécula oxidada recibe el nombre de radical libre, estas moléculas interactúan con las membranas en las células lo que puede desencadenar degeneración, envejecimiento e inclusive varias enfermedades (Calín & Carbonnell, 2011). De aquí que la definición de radical es una molécula que contiene un electrón desapareado, también cabe considerar que el oxígeno tiene una estructura electrónica susceptible a la reducción y esto lleva a la formación de radicales(Camps et al., 2010)

### ***Especies Reactivas de Oxígeno***

También denominadas ROS estos son radicales libres, ya que sufrieron un proceso oxidativo y adquieren una función biológica. Estas moléculas están ligadas a condiciones fisiológicas y patológicas en varios tejidos humanos (Camps et al., 2010) además provienen de reacciones de tipo redox y suceden dentro de la mitocondria, y son acontecimientos comunes como parte del metabolismo, la producción de las especies reactivas de oxígeno puede aumentar de manera considerada por agentes externos como la radiación y hasta alteraciones mitocondriales, llevando al organismo a un estrés oxidativo (Chau et al., 2012)

### ***Método de DPPH***

Las siglas responden a 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo y es un radical libre en forma estable, este tiene el electrón de reserva deslocalizado lo que hace que evite su dimerización, además esta característica le otorga un color púrpura y este color cambia únicamente cuando el radical reacciona con un hidrógeno y la ejecución de la reacción da lugar a la forma reducida del DPPH, La cantidad de hidrogeno reaccionado se puede cuantificar mediante espectrofotometría a una absorbancia máxima de 520 nm, para determinar la curva de calibración se usa Trolox como antioxidante estándar (Pisoschi & Negulescu, 2012).

### ***Método de FRAP***

Las siglas responden al nombre de poder antioxidante del reductor férrico, en este método ocurre una reacción entre TPTZ que son siglas de 2,4,6-Tripiridil-s-Triazina con hierro +2 esta produce un color azul violeta, lo que sucede es que el Fe+3 se reduce a Fe+2, y de esta manera se lee la cantidad de antioxidantes contenidos en una muestra, el método no solo es usado para cuantificación si no también se usa en procesos de control de calidad, para la

determinación cuantitativa se usa espectrofotometría a una longitud de onda de 593 nm (Shukla, 2020).

### ***Método de ABTS***

Es un radical catiónico y las siglas ABTS responden al nombre 2,2'-azino-bis(bis(3-ácido etilbenzotiazolina-6-sulfónico)), la principal característica de este es su color verde azulado, la reacción de este resulta de la pérdida de un electrón por acción del nitrógeno debido al TROLOX que en este caso dona un hidrógeno y es el antioxidante estándar, la lectura se trabaja a una absorbancia de 743 nm (Pisoschi & Negulescu, 2012).

### **Metabolitos Secundarios**

Las plantas tienen alto contenido de metabolitos secundarios que son considerados productos de alto valor, ya que se les han encontrado diferentes usos en varias industrias, las plantas tienen una capacidad casi ilimitada para sintetizar sustancias aromáticas, la mayoría son fenoles y sus derivados, hasta el momento se conocen 8000 compuestos fenólicos conocidos y son sintetizados a partir de la ruta del ácido shikímico o a través de la ruta del malonato acetato (Vijayakumar & Raja, 2018).

### ***Espectrofotometría uv-uvis***

Hay varios tipos de espectrometría de manera habitual estos instrumentos tienen haz doble, con una fuente de luz UV visible, y dos celdas por donde pasa la luz y un detector, con la finalidad de medir a cantidad de luz que pasa a través de las celdas, en este caso se configura la absorbancia a una longitud de onda específica. Entre los metabolitos secundarios que producen las plantas se encuentran aquellos que absorben luz ultravioleta de 195 a 380 nm entre estas las estructuras que contienen anillos aromáticos, enlaces doble denominados



grupos dieno o enona, por lo que la espectrofotometría uv uvis identifica estructuras con presencia de cromóforos (Anderson et al., 2004).

### ***Compuestos Fenólicos***

Son compuestos que llevan en su estructura funciones fenol con estructuras aromáticas o también estructuras alifáticas, también existen los mono y polifenoles, son propias del reino vegetal, actúan como fitoalexinas como mecanismo de defensa, así como también se le atribuyen varias características organolépticas a los frutos como el color, que es otorgado por las antocianinas en tonalidades azules, violáceos y rojos, en cuanto al sabor, otorga un tono amargo dado por las flavonas en frutas cítricas, también les proporciona astringencia, de las propiedades otorgadas por los fenoles, la más importante, es su carácter antioxidante ya que se oxidan de manera rápida ante agentes oxidantes y también impiden a los metales catalizar las reacciones (Gimeno, 2004)

#### ***Folin Ciocalteu.***

La prueba de Folin-Ciocalteu tiene el propósito de cuantificar el contenido fenólico total (TPC), se basa en la reacción de reducción del reactivo que recibe el mismo nombre al estar en contacto con compuestos fenólicos de carácter alcalino, el reactivo tiene un complejo fosfomolibdico/fosfotúngstico que es el que sufrirá la reducción dando como resultado un cromóforo azul medido mediante espectrofotometría con una longitud de onda de 765 nm. El molibdeno es el ion central del complejo es el que sufre una reducción de Mo 6+ a Mo5+ ya que acepta un electrón dado por el antioxidante fenólico, en esta prueba se usa como estándar al ácido gálico, y la concentración que arroja como el resultado el análisis de la prueba, se expresan como equivalentes del estándar (Munteanu & Apetrei, 2021).

### ***Método de Cloruro de Aluminio.***

El método de cloruro de aluminio para la determinación de flavonoides es un método colorimétrico en extractos con solvente en este caso el Al(III) es el agente complejante, esta forma quelatos Al(III)-flavonoides, que dan un color amarillo, la longitud de onda usada va desde 410nm a 440nm y se usa una curva de calibración con quercetina (Berker et al., 2012).

### ***Alcaloides***

El alcaloide es un metabolito secundario propio del reino vegetal, tiene cuatro características esenciales, la primera es el carácter alcalino, de ahí se origina su nombre. Contienen un heterociclo con la presencia de al menos un átomo de nitrógeno, se encuentran presentes en plantas superiores y mantienen una alta actividad biológica, que mantiene la función principalmente de protección ante plagas y depredadores naturales (Martinez, 2020).

### ***Método de HPLC***

El método cuenta con diodos y recibe las siglas DAD, estos permiten que mientras ocurre la separación de los componentes, haga una lectura con la obtención de datos para el espectro de uv-visibles(Martinez, 2020)

## **Capítulo III: Materiales y Métodos**

### **Muestreo**

Se recolectó aproximadamente un kilogramo de frutos maduros y 10 gramos de muestra de hojas maduras de plantas de café distribuidas en una propiedad ubicada en la ciudad de Ibarra, provincia Imbabura, y un kilogramo de frutos maduros con 10 gramos de muestra de hojas maduras en Nanegalito, provincia de Pichincha.

Se seleccionaron frutos de color rojizo en estadio maduro, sanos de manera aleatoria de plantas distribuidas por toda la finca y alrededor de toda la planta, también se recolectó hojas verdes oscuras maduras con gran área foliar. Las muestras de frutos maduros fueron almacenadas en fundas herméticas y trasladadas en un contenedor térmico con gel pack, mientras que las hojas fueron envueltas en papel toalla y almacenadas en fundas herméticas con sílica gel, para ser trasladadas hasta los laboratorios del Centro de Investigación Científica y Tecnológica del Ejército CIICTE en la Universidad de las Fuerzas Armadas - ESPE

### **Obtención de Extractos**

En la preparación de extractos se utilizó el método descrito por Espinoza (2023).

Se lavó los frutos y las hojas con agua destilada, se retiró el exceso de agua para la obtención de extractos obtenidos por maceración de 1 gramo de muestra triturada en 10 mL de etanol al 96%, se machacó con ayuda de un mortero y se colocó en tubos cónicos de 15 mL, en las hojas se utilizó únicamente la lámina foliar y se aplicó el procedimiento anterior.

### **Determinación de Capacidad Antioxidante**

La capacidad antioxidante total de una muestra viene determinada por interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos antioxidantes, así como por el modo de acción concreto de cada uno de ellos (Pérez & Saura, 2007), para describir esta capacidad se utilizaron tres métodos ABTS, FRAP, DPPH, la capacidad antioxidante se evalúa mediante el porcentaje de inhibición que se calcula restando la absorbancia del blanco menos la absorbancia de la muestra, todo esto dividido para a la absorbancia del blanco multiplicado por cien.

#### ***Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales ABTS***

Se utilizó el método adaptado de Mihai et al(2023).

Para la preparación de la solución de trabajo se realizó la reacción de ABTS con una concentración 7 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, con persulfato de potasio de concentración 2,45 mM con H<sub>2</sub>O, se dejó reaccionar durante 12 horas y se calibró el reactivo con espectrofotometría disolviendo la solución de trabajo en alcohol al 96% hasta obtener una absorbancia de  $0,7 \pm 0,1$  a 754 nm.

Para la determinación de la capacidad de inhibición se utilizó la lectura con espectrofotometría a una absorbancia de 754 nm en una mezcla de 2 mL de la solución ABTS previamente preparada con 20  $\mu$ L de cada uno de los extractos preparados, esta solución se dejó reaccionar previo a la lectura durante 7 min a temperatura ambiente en oscuridad, se hicieron lecturas de blancos donde se sustituyó la muestra por etanol absoluto.

#### ***Método de Ensayo de Poder Antioxidante Reductor Férrico FRAP***

Se utilizó el método adaptado de Mihai et al(2023).

Se realizó una solución en proporción 100:10:10 a temperatura de 37°C, mediante tampón de acetato a concentración de 0,3 M con un pH de 3,6 adicionando 10 mL de 2,3,5-

Triphenyltetrazolium chloride · 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine · 2,3,5-Triphenyl-tetrazolium chloride (TPTZ) en HCl con concentración 40 mM y  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  de concentración 20 Mm.

Para la lectura se preparó una mezcla con 3mL de la solución previamente obtenida con 0,1 ml de muestra y 0,3 ml de agua destilada, se dejó reaccionar durante 4 minutos, posteriormente esta mezcla se midió en un espectrofotómetro programado a una absorbancia de 593 nm.

### ***Método de Ensayo de Actividad de Eliminación de Radicales DPPH***

Se utilizó el método adaptado de Mihai et al(2023).

Se preparó una solución madre que contenía 2,2'-difeníl-1-picrilhidrazilo a concentración 0,15 mM en etanol al 96%. La sustancia se diluyó hasta que tuvo una absorbancia de 0.7 del espectrofotómetro previamente programado a una longitud de onda de 517 nm.

Para la lectura por espectrofotometría se utilizó una solución con 2.9mL del reactivo previamente calibrado y 0.1 mL del extracto la reacción se dejó reposar durante 30 minutos en la oscuridad previo a su lectura.

### **Determinación del Contenido Total de Fenoles**

Se utilizó el método adaptado de Mihai et al(2023).

Se utilizó el método colorimétrico de Folin- Ciocalteu para la cuantificación, la mezcla preparada para la lectura se realizó con 0,4 mL de extracto más 0,4 mL de reactivo de Folin con una concentración 1N más 2 mL de agua destilada, esta mezcla se dejó reaccionar durante 5 minutos para posteriormente adicionar 0,4 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  con una concentración porcentual de 20% mas 0,8 mL de agua destilada, se dejó reaccionar durante 1 hora en oscuridad, se llevó al espectrofotómetro previamente programado para lectura de onda a absorbancia de 765 nm

### **Determinación del Contenido Total de Flavonoides**

Se utilizó el método adaptado de Mihai et al(2023).

Se preparó una solución con 1 mL del extracto previamente obtenido con 1,5 mL de alcohol absoluto más 0,1 mL de CH<sub>3</sub>COONa con una concentración de 1 M más 0,1 mL de AlCl<sub>3</sub> con concentración porcentual del 10% mas 2,3 mL de agua destilada.

### **Determinación de Cafeína**

Para el análisis de cafeína se usó la lectura mediante Cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC, se adaptó el método de Wanyika et al. (2010).

Se utilizó un kilo para de fruto maduro de café, posteriormente se liofilizo y se tomó 3 gramos de muestra liofilizada por triplicado y se colocó en vasos de precipitación donde se añadió 100 mL de agua destilada previamente hervida, se agitó durante 5 minutos para dejar enfriar, y se procedió a filtrar la solución obtenida. En matraces de 50 mL se adicionó 5 mL del filtrado anterior, se aforó hasta 50 mL con la fase móvil, se corrió en el sistema HPLC los estándares y la muestra.

Las condiciones a las que fue calibrado el HPLC fueron: la columna de la fase reversa ODS, 250 x 4,6 mm, caudal 1 mL/min, el detector de fotodiodos se ajustó a 278 nm con una presión de 150 khf/cm, la fase móvil, agua, ácido acético, metanol y la muestra volumen de 10 ul.

### **Análisis Estadístico**

Se seleccionaron de manera aleatoria muestras de hojas y frutos maduros de *Coffea arabica* L. cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador mediante un

criterio escogido para seleccionar los mejores frutos maduros y garantizar una muestra homogénea y representativa para la posterior extracción de los compuestos fitoquímicos utilizando solventes orgánicos, para medir el carácter antioxidante y realizar un screening fitoquímico, en la que se planteó un análisis descriptivo y para cada prueba de carácter antioxidante y determinación de fenoles y flavonoides se realizó un diseño en bloques como se aprecia en la tabla 3. En cada análisis se usó un total de 9 réplicas, para el análisis de supuestos de normalidad y homocedasticidad se usó la prueba de Shapiro Wilks y posteriormente la prueba no paramétrica de Kruskal Willis, también se realizó un análisis con el coeficiente de correlación de Pearson para ver la relación entre las pruebas.

**Tabla 3**

*Variables para el diseño factorial de la determinación de antioxidantes y contenido de metabolitos.*

Especie	Muestra			
	Hoja		Fruto	
	Pichincha	Imbabura	Pichincha	Imbabura
<i>Coffea</i>				
<i>arabica</i>	9	9	9	9

Mientras que para el análisis organoléptico se realizó una cata observada en la tabla 4. Para un total de 10 personas, en donde las variables de puntuación recibieron una puntuación del 0 al 10 categorizado según el Apéndice 1. De estos datos se realizó estadística descriptiva.

**Tabla 4**

*Cartilla de cata para análisis sensorial de los granos de café.*

		<b>Escala</b>										
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Variable</b>	Fragancia del grano											
	Aroma del grano											
	Sabor											
	Ácidoz											
	Balance											

El diseño para cada una de las pruebas fue completamente al azar y se hizo un análisis de supuestos de homocedasticidad y normalidad, al no cumplir los supuestos se realizó una prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con un p valor < 0,05.



## Capítulo IV: Resultados

### Tratamiento de la muestra

Se obtuvieron 10g de fruto maduro y 10g de hojas verdes maduras de la planta *Coffea arabica* L. Se etiquetaron de acuerdo a la nomenclatura mostrada en la tabla 5.

### Tabla 5

*Nomenclatura de las muestras procesadas de Coffea arabica* L.

Órgano	Provincia	Nomenclatura
Hoja Madura	Pichincha	CR_h_PQ
Hoja Madura	Imbabura	CR_h_Ib
Fruto maduro	Pichincha	CR_f_PQ
Fruto maduro	Imbabura	CR_f_Ib

Para cada muestra se realizaron extractos alcohólicos en triplicado para cada una de ellas, con fuertes tonalidades verde y marrón anaranjado para hojas y fruto respectivamente, se trasvasó el contenido en tubos cónicos tras 24 horas de reposo en frío, después se procedió a los respectivos tratamientos.

### Carácter antioxidante

Para evaluar el carácter antioxidante se realizaron tres procedimientos (DPPH, ABTS, FRAP) con los extractos etanólicos obtenidos previamente para cada muestra.

**DPPH**

La curva de calibración se obtuvo usando Trolox como estándar con la curva  $y=18.073x + 1.2252$  y un  $(R^2=0.9868)$  se determinó el porcentaje de inhibición, la concentración se expresa en micromoles de trolox sobre muestra fresca como se muestra en la tabla 6. Los datos fueron obtenidos mediante el programa Infostat.

**Tabla 6**

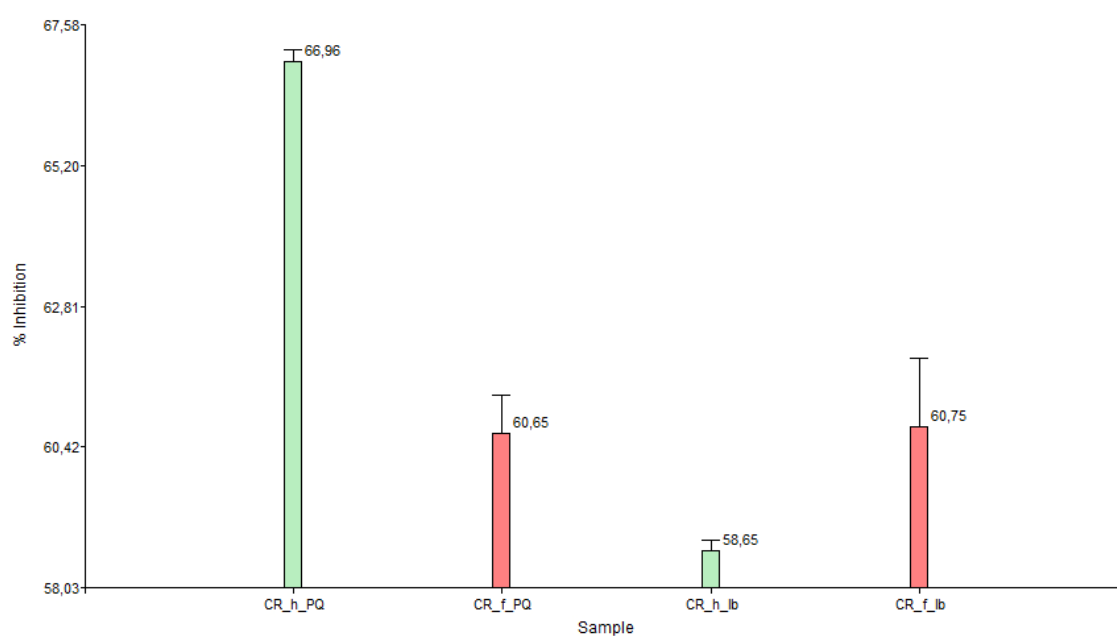
*Medias de la concentración y porcentaje de inhibición de muestras procesadas de Coffea arabica L. para DPPH*

Provincia	Muestra	Código	Concentración media umolTRX/gfw	Porcentaje de Inhibición medio %
Pichincha	Hoja	CR_h_PQ	72.748	66.964
Pichincha	Fruto	CR_f_PQ	65.763	60.652
Imbabura	Hoja	CR_h_lb	63.547	58.649
Imbabura	Fruto	CR_f_lb	65.875	60.753

El porcentaje de inhibición más alto fue el de las muestras de hoja proveniente de la provincia de Pichincha con un porcentaje de 66.964% de inhibición, mientras que el más bajo fue el de las muestras de las hojas de Imbabura con el 58.649% de inhibición como se puede observar en la Figura 1.

**Figura 1**

*Porcentaje de inhibición para prueba de DPPH.*



Se realizó un análisis de supuestos para el ANOVA, el análisis de varianza no paramétrica de Kruskal Wallis como se muestra en la tabla 7. Los datos no cumplieron la homocedasticidad para los supuestos en ANOVA (Apéndice 2).

**Tabla 7**

*Análisis de varianza no paramétrica de DPPH*

<b>Provincia</b>	<b>Muestra</b>	<b>Media de la concentración</b>	<b>Desviación estandar</b>	<b>Mediana</b>	<b>p</b>
Pichincha	Hoja	72.75	0.21	72.8	
Pichincha	Fruto	65.76	0.71	66.04	<0.0001
Imbabura	Hoja	63.55	0.2	63.51	
Imbabura	Fruto	65.88	1.3	66.21	

Los resultados se analizaron con un nivel de significancia de 0.05 y al resultado de un p valor de <0.0001, se evidencia que existe diferencia significativa. En la tabla 8 se evidencia la comparación de a pares.

**Tabla 8**

*Comparación de a pares para el método DPPH*

<b>Provincia</b>	<b>Muestra</b>	<b>Medias</b>	<b>Ranks</b>	
Pichincha	Hoja	72.75	32.00	C
Pichincha	Fruto	65.76	18.00	B
Imbabura	Hoja	63.55	5.00	A
Imbabura	Fruto	65.88	19.00	B

Se observó que el fruto de Pichincha y el fruto de Imbabura se encontraron en el mismo grupo por lo que mediante estadística tienen similar capacidad de inhibición.

## ABTS

La curva de calibración se obtuvo usando como estándar Trolox con una curva de calibración  $Y=34.02X+9.2946$  ( $R^2=0.96$ ), con lo que se obtuvieron datos mediante espectrofotometría de absorbancias que se convirtieron a concentración de micromoles de trolox sobre gramos de muestra fresca y con ello el porcentaje de inhibición como se aprecia en la tabla 9.

**Tabla 9**

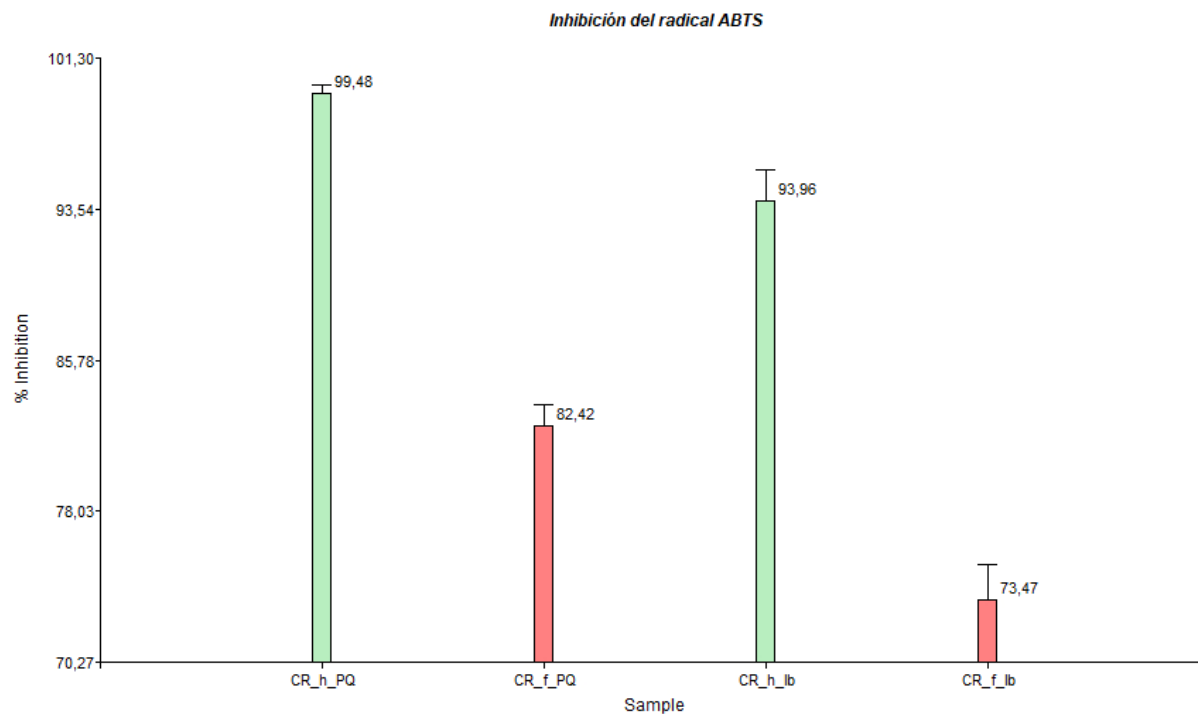
*Medias de la concentración y porcentaje de inhibición de muestras procesadas de Coffea arabica L. para ABTS*

Provincia	Muestra	Código	Concentración media umolTRX/gfw	Porcentaje de Inhibición medio %
Pichincha	Hoja	CR_h_PQ	53.02	99.48
Pichincha	Fruto	CR_f_PQ	42.99	82.42
Imbabura	Hoja	CR_h_lb	49.77	93.96
Imbabura	Fruto	CR_f_lb	37.73	73.47

El porcentaje de inhibición más alto fue encontrado en la hoja proveniente de pichincha con un 99.48% mientras que el porcentaje más bajo fue encontrado en el fruto de Imbabura con un 73.47%, como se puede contrastar en la figura 2.

**Figura 2**

Porcentaje de inhibición para la prueba del método ABTS



Posterior se realizó un análisis de varianza no paramétrica en este caso Kruskal Wallis después de comprobar que no se cumplen los supuestos de normalidad (Apéndice 3), como se puede apreciar en la tabla 10.

**Tabla 10**

*Análisis de la varianza no paramétrica*

Provincia	Muestra	Media de la concentración	Desviación estandar	Mediana	p
Pichincha	Hoja	53.02	0.24	53.15	<0.0001
Pichincha	Fruto	42.99	0.65	42.85	

Imbabura	Hoja	49.77	0.92	50.27
Imbabura	Fruto	37.73	1.05	37.12

El valor de p arrojado por los datos analizados es  $<0.0001$  esto al ser evaluado frente a una significancia de 0.05, llevo a la conclusión de que existe diferencia significativa entre las muestras en la tabla 11 se puede observar la comparación de a pares en donde se determinó que el fruto de Imbabura y la hoja de puerto Quito presentan diferencias significativas más notables.

**Tabla 11**

*Comparación de a pares para método de ABTS*

Provincia	Muestra	Medias	Ranks	
Pichincha	Hoja	53.02	32.00	C
Pichincha	Fruto	42.99	14.00	A B
Imbabura	Hoja	49.77	23.00	B C
Imbabura	Fruto	37.73	5.00	A

### **FRAP**

Las lecturas se realizaron previo a la obtención de la curva de calibración con  $\text{FeSO}_4$  como estándar dando la ecuación  $y = 0.5981x - 0.0082$  y un  $R^2 = 0.99$ , del ensayo mediante la absorbancia se obtuvo un potencial reductor en  $\text{MgFeSO}_4$  como se observa en la tabla 12.

**Tabla 12**

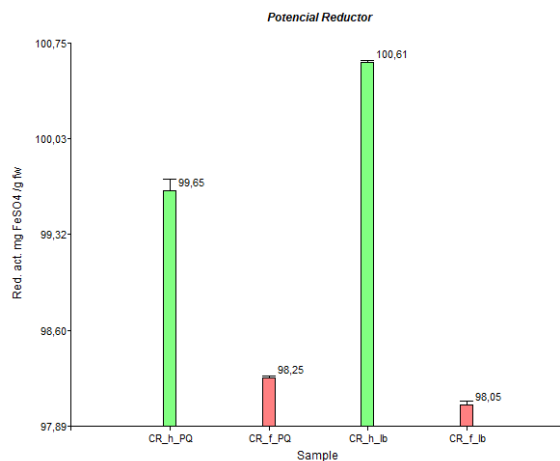
*Medias de la concentración y porcentaje d inhibición de muestras de Coffea arabica L. para FRAP*

Código	Provincia	Muestra	Concentración MgFeSO4/gfw media
CR_h_PQ	Pichincha	Hoja	99.65
CR_f_PQ	Pichincha	Fruto	98.25
CR_h_Ib	Imbabura	Hoja	100.61
CR_f_Ib	Imbabura	Fruto	98.05

El mejor potencial reductor fue expresado por la hoja de Imbabura con 100.61 MgFeSO4/gfw mientras que la menor medida se encontró en el fruto de la misma provincia con 98.05MgFeSO4/gfw, como se ilustra en la figura 3.

**Figura 3**

*Porcentaje de inhibición para método FRAP*





Se realizó un análisis de ANOVA y no cumplían con supuestos de homocedasticidad y normalidad (Apéndice 4) por lo que se realizó pruebas no paramétricas de Krustal Wallis con un nivel de significancia de 0.05 para determinar la existencia de la diferencia significativa como se observa en la tabla 13.

**Tabla 13**

*Análisis de la varianza no paramétrica para método FRAP*

<b>Provincia</b>	<b>Muestra</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>Mediana</b>	<b>p</b>
Pichincha	Hoja	99.65	0.25	98.02	<0.0001
Pichincha	Fruto	98.25	0.03	98.22	
Imbabura	Hoja	100.61	0.03	100.63	
Imbabura	Fruto	98.05	0.09	98.02	

Mediante la prueba no paramétrica se realizó una comparación a pares para verificar las diferencias con los análisis como se observa en la tabla 14. Se encontraron diferencias significativas más considerables entre en las muestras entre las muestras de la hoja de Pichincha y el fruto de Imbabura

**Tabla 14**

*Comparación de a pares para método de FRAP*

<b>Provincia</b>	<b>Muestra</b>	<b>Medias</b>	<b>Ranks</b>
Pichincha	Hoja	99.65	5.00 A
Pichincha	Fruto	98.25	14.00 A B
Imbabura	Hoja	100.61	23.00 B C

Imbabura	Fruto	98.05	32.00	C
----------	-------	-------	-------	---

**Contenido de Fenoles Totales.**

Se usó como estándar ácido gálico, con el que se obtuvo la curva de calibración y =  $0.0061x + 0.1393$  y un  $R^2=0.99$  que permitió obtener los datos expresados como mg GAE/g fw como se expresa en la tabla 15.

**Tabla 15**

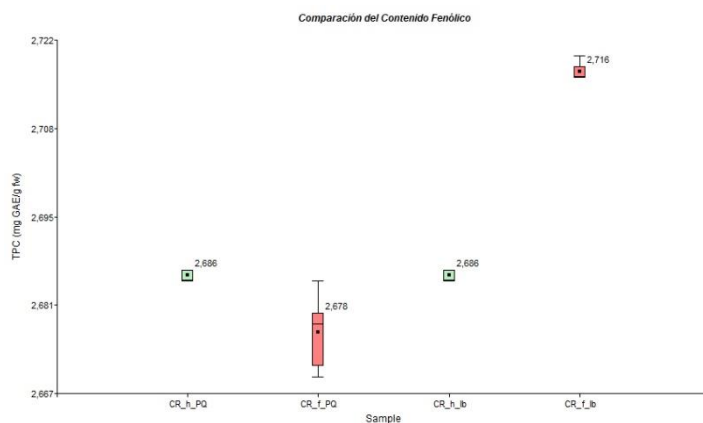
*Medias de la concentración en muestras de Coffea arabica L. para TPC*

Código	Provincia	Muestra	mg GAE/g fw	TPC(mg/L)
CR_h_PQ	Pichincha	Hoja	2.69	268.57
CR_f_PQ	Pichincha	Fruto	2.68	267.69
CR_h_Ib	Imbabura	Hoja	2.69	268.57
CR_f_Ib	Imbabura	Fruto	2.72	271.68

La concentración más alta expresada fue del fruto de Imbabura con un 2.72 MgGAE/g fw, los datos mostraron mucha similitud como se puede apreciar en la figura 4.

## Figura 4

### Comparación del contenido fenólico



Los datos no mostraron cumplir homocedasticidad (Apéndice 5) ni una distribución normal por lo que se usó un análisis no paramétrico con la prueba de Kruskal Wallis con una significancia de 0.05 y un P valor de 0.0001 como se puede ver en la tabla 16.

**Tabla 16**

### Análisis de la varianza no paramétrica

Provincia	Muestra	Media	Desviación estandar	Mediana	p
Pichincha	Hoja	2.69	8.6e-04	2.69	<0.0001
Pichincha	Fruto	2.68	4.8e-03	2.68	
Imbabura	Hoja	2.69	8.6e-04	2.69	
Imbabura	Fruto	2.72	1.2e-02	2.72	

Mediante la prueba no paramétrica se realizó una comparación a pares con las medias para verificar las diferencias con los análisis como se observa en la tabla 18 en las muestras de hoja

de las dos provincias al pertenecer al mismo grupo no existen diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 17**

*Comparación de a pares para TPC*

Provincia	Muestra	Medias	Ranks	
Pichincha	Hoja	2.69	18.28	B
Pichincha	Fruto	2.68	5.44	A
Imbabura	Hoja	2.69	18.28	B
Imbabura	Fruto	2.72	32.00	C

***Flavonoides Totales.***

Los datos obtenidos fueron analizados mediante el estándar quercetina usado en la curva de calibración  $y=0.0296x+0.067$  con un  $R^2= 0.99$ , con lo que se obtuvo datos de concentraciones expresados en mg QE/g fw como se puede observar en la tabla 18.

**Tabla 18**

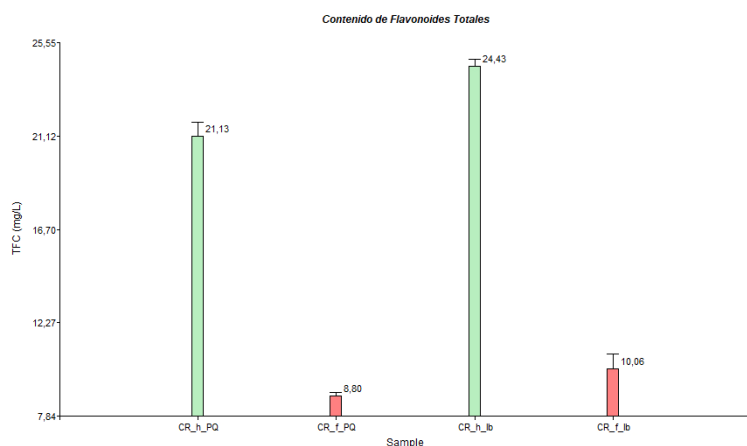
*Medias de la concentración de muestras de Coffea arabica L. para TFC*

Código	Provincia	Muestra	mg QE/g fw	TFC(mg/L)
CR_h_PQ	Pichincha	Hoja	0.22	21.13
CR_f_PQ	Pichincha	Fruto	0.09	8.8
CR_h_Ib	Imbabura	Hoja	0.24	24.43
CR_f_Ib	Imbabura	Fruto	0.1	10.06

La concentración más alta fue expresada por la hoja de Pichincha con 0.21mg QE/g fw , en la figura 5 se puede apreciar los datos transformados a mg/L

**Figura 5**

*Comparación de flavonoides totales*



Los datos no mostraron cumplir homocedasticidad (Apéndice 6) ni una distribución normal por lo que se usó un análisis no paramétrico con la prueba de Kruskal Wallis con una significancia de 0.05 y un Pvalor de 0.0001 como se puede ver en la tabla 19.

**Tabla 19**

*Análisis de varianza no paramétrica*

Provincia	Muestra	Media	Desviación estandar	Mediana	p
Pichincha	Hoja	0.21	0.01	0.22	<0.0001
Pichincha	Fruto	0.09	1.5e-03	0.09	
Imbabura	Hoja	0.24	3.2e-03	0.24	
Imbabura	Fruto	0.10	0.01	0.10	

Mediante la prueba no paramétrica se realizó una comparación a pares con las medias para verificar las diferencias con los análisis como se observa en la tabla 20 las muestras de hoja de Pichincha y fruto de Imbabura pertenece al mismo grupo.

**Tabla 20**

*Comparación de a pares*

Provincia	Muestra	Medias	Ranks		
Pichincha	Hoja	0.21	23.00	B	C
Pichincha	Fruto	0.09	5.00	A	
Imbabura	Hoja	0.24	32.00		C
Imbabura	Fruto	0.10	14.00	A	B

Se realizó un análisis con el coeficiente de correlación de Pearson, permitió medir la fuerza de la relación lineal entre una o más variables como se muestra en la tabla 21.

**Tabla 21**

*Coeficiente de Pearson*

	DPPH	ABTS	FRAP	TPC	TFC
DPPH	1	2.7E-03	0.92	0.49	0.33
ABTS	0.48	1	8.70E-10	4.50E-05	5.00E-11
FRAP	0.02	0.82	1	0.01	0.01
TPC	-0.12	-0.63	-0.4	1	1
TFC	0.17	0.85	0.97	-0.3	-0.3

ABTS tuvo una correlación positiva fuerte con TFC Y FRAP, mientras que FRAP con DPPHY  
TFC

### **HPLC**

Para determinar el contenido de cafeína se utilizó en método de cromatografía líquida y los datos se reportaron en porcentaje de masa seca como se aprecia en la tabla 22.

**Tabla 22**

*Contenido de cafeína*

PROVINCIA	MUESTRA	% DE CAFEÍNA
Pichincha	Fruto	1.76
Imbabura	Fruto	0.91

### **Análisis Sensorial.**

A un total de 10 catadores se les otorgo 5 cerezas rojas despulpadas de *Coffea arabica* L. por cada provincia y se estudió 5 variables diferentes el análisis de datos se realizó mediante estadística descriptiva de la provincia de Imbabura para la tabla 23. y la provincia de Pichincha para la tabla 24.

**Tabla 23**

*Media y desviación estándar para análisis sensorial de Coffea arabica L. de la provincia de Imbabura*

<b>VARIABLE</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>
Fragancia del grano	7.3	12.01
Aroma del grano	8	0.40
Sabor	7.7	0.20
Ácidoz	7.2	0.83
Balance	7	0.65

**Tabla 24**

*Media y desviación estándar para análisis sensorial de Coffea arabica de la provincia de Pichincha*

<b>VARIABLE</b>	<b>MEDIA</b>	<b>DESVIACIÓN ESTÁNDAR</b>
Fragancia del grano	7.5	14.00
Aroma del grano	7.3	0.95
Sabor	8.2	0.84



Ácidez	7.5	0.33
Balance	7.3	0.1

---

## Capítulo V: Discusión de Resultados

Los análisis arrojaron porcentajes de inhibición del radical ABTS Y FRAP mayores en las hojas de las dos provincias de *Coffea arabica L*, según Dziadek et al.( 2019) la capacidad antioxidante es mayor en hojas ya que en estas también se encuentra una gran concentración de fibra dietética, carotenoides, polifenoles y clorofila, esta actividad antioxidante inclusive es mayor que en fruta. Maxiselly et al. (2022) explica que las hojas de café son la única parte de la planta que contienen mangiferina, este es un polifenol con capacidad antioxidante al que se le atribuyen características antiinflamatorias

La hojas únicamente de Pichincha mostraron mayor porcentaje de inhibición para DPPH para Gebeyehu & Bikila (2015) otro factor que influye en la actividad antioxidante es la ubicación del cultivo, la hoja de la provincia de Imbabura fue la que menor porcentaje de inhibición presentó según Maxiselly et al., (2022) el contenido de compuestos fenólicos puede no presentar mayor diferencia y la capacidad antioxidante puede variar según la etapa de crecimiento de la planta debido a un cambio en los fitoquímico presentes y que estos difieren en la composición del contenido fenólico. En el contenido de fenoles totales la muestra de fruto proveniente de Imbabura tuvo una diferencia significativa frente a la hoja proveniente de la misma provincia lo que para Salgado et al. (2008) estos datos se deben a la etapa de maduración del fruto ya que en cuanto inicia el proceso de fructificación de la planta disminuye de manera paulatina el contenido total de fenoles hasta llegar a la maduración del fruto, en el caso de la hoja proveniente de Pichincha el contenido total de fenoles fue mayor que en fruto Salgado et al.( 2008) explica que esto sucede cuando la planta no tiene crecimiento abundante

del fruto por lo que la demanda de carbohidratos es menor. De la misma manera el contenido de flavonoides es mayor en hojas de las dos provincias que coincide con los datos reportados por Segheto et al. (2018) donde además se proyecta a las hojas de *Coffea arabica* L. como antiinflamatorias y antioxidantes, Salgado et al. (2008) determinó que los vegetales muestran una defensa natural frente a varios factores externos mediante la producción de metabolitos secundarios como los compuestos fenólicos y estos también muestran dependencia de la madurez y el clima.

El contenido de cafeína se encontró en mayor porcentaje en el fruto de *Coffea arabica* L. proveniente de la provincia de Pichincha, según Koshiro et al. (2006) el contenido de cafeína aumenta según la etapa de crecimiento siendo mayor cuando el fruto no está completamente enrojecido o se encuentra verde en (Perdani et al., 2019) se señala que los frutos de café tiene un gran contenido de polifenoles siendo el mayor fitoquímico encontrado es el ácido clorogénico que se encuentra en un porcentaje de alrededor del 90%, en el mismo estudio se determinó que la posición geográfica del cultivo para la planta si influye de manera en significativa en el contenido tanto de polifenoles como cafeína.

El análisis sensorial del fruto de café despulpado no mostro diferencias significativas entre las provincias para Ramos Cotacallapa et al. (2019) la calidad organoléptica del fruto depende de las prácticas de cultivo, así como también el origen genético o la similitud de las variables.

## Capítulo VI: Conclusiones

Se recolectó mediante muestreo aleatorio frutos maduros, también llamados cerezas y hojas maduras de las plantas de café *Coffea arabica L.* cultivadas en las provincias de Imbabura y Pichincha de Ecuador, de las cuales se obtuvo extractos etanólicos para el análisis.

La concentración de fenoles totales fue mayor en la muestra de frutos maduros provenientes de la provincia de Imbabura siendo 271.68 TPC (mg/L) mientras que el porcentaje de inhibición mediante el método de ABTS fue el menor de 73,47%, mientras que mediante el método de DPPH no hubo diferencia significativa con la otra muestra de fruto pero si con las hojas, mientras que mediante el método FRAP registro el menor porcentaje de inhibición de 98.05%, esto se debe a que la el contenido fenólico difiere de acuerdo a la etapa de madurez de la planta y su producción de frutos, mientras que el porcentaje de cafeína expresada en peso seco fue para la muestra proveniente de Pichincha.

La capacidad antioxidante se registra mediante el porcentaje de inhibición y el más alto lo obtuvo las muestras de hojas obtenidas de la provincia de Pichincha en el método de inhibición del radical ABTS de 99.48%y mediante el método de inhibición del radical DPPH con un 66.96% y con el método de FRAP mostro una concentración ligeramente menor a la hoja proveniente de Imbabura

El análisis sensorial de los frutos no mostro diferencia significativa en cuanto a la calidad de variables de aroma, sabor, acidez y balance entre las provincias obteniendo una calificación sobre diez el fruto de Imbabura de 7.44 y el fruto de Pichincha de 7.56

## Recomendaciones

Realizar estudios posteriores para la definición de la relación de las plantas de *Coffea arabica* L. cultivadas en el Ecuador con el suelo y las condiciones climáticas con la producción de compuestos fenólicos y así evaluar su carácter antioxidante.

Estudiar la viabilidad de la aplicación de las hojas de la planta *Coffea arabica* L. más allá del uso actual en compostaje para aprovechar su alto carácter antioxidante a niveles industriales

Hacer lecturas rápidas en el espectrofotómetro con el uso de métodos colorimétricos con DPPH ABTS Y FRAP que usan reacciones fotosensibles, por el mismo motivo cuidar la luz ambiental al preparar los reactivos finales.

## Bibliografía

Alvarado, & Rojas. (1994). *Cultivo y beneficios del café*. EUNED.

Anderson, Bendell, & Groundwater. (2004). *Organic Spectroscopic Analysis*. Royal Society of Chemistry.

Berker, Demirata, & Apak. (2012). Determination of Total Antioxidant Capacity of Lipophilic and Hydrophilic Antioxidants In the Same Solution by Using Ferric–Ferricyanide Assay. *Food Analytical Methods*, 5(5), 1150-1158. doi:<https://doi.org/10.1007/s12161-011-9358-2>

Calín, & Carbonnell. (2011). La Fruta Granada Cultivada en España Punicalagina Antioxidante del Zumo de Granada y el Extracto de Granada en la Alimentación Funcional del Futuro. *GRANATUM PLUS*.

- Camps, Ruffino, Enrique, & Joison. (2010). *Bioquímica del estrés Oxidativo*. Lulu.com.
- Cangeloni, Bonechi, Leone, Consumi, Andreassi, Magnani, . . . Tamasi. (2022). Characterization of Extracts of Coffee Leaves (*Coffea arabica* L.) by Spectroscopic and Chromatographic/Spectrometric Techniques Characterization of Extracts of Coffee Leaves (*Coffea arabica* L.) by Spectroscopic and Chromatographic/Spectrometric Techniques. *Foods*, 11(16), 2495. doi:<https://doi.org/10.3390/foods11162495>
- Chau, Roy, & Calaf. (2012). *Implicancias Del Estrés Oxidativo en El Fenotipo de Células Cancerosas*. Academica Espanola.
- Cunza, Pillihuaman, Roca, Cunza, Pillihuaman, & Roca. (2020). Actividad antioxidante, polifenoles y flavonoides de *Coffea arabica* de cinco regiones peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 86(4), 343-354. doi:<https://doi.org/10.37761/rsqp.v86i4.307>
- Dziadek, Kopeć, & Tabaszewska. (2019). Potential of sweet cherry (*Prunus avium* L.) by-products: Bioactive compounds and antioxidant activity of leaves and petioles. *European Food Research and Technology*, 245(3), 763-772. doi:<https://doi.org/10.1007/s00217-018-3198-x>
- Espinoza. (2023). Evaluación de la composición metabólica y carácter antioxidante de las hojas, flores y frutos que pertenecen a las especies de arupo rosado (*Chionanthus pubescens* Kunth) y blanco (*Chionanthus virginicus* Linneo). Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/36107/1/T-ESPE-052700.pdf>
- Farah, & Santos, F. d. (2015). The Coffee Plant and Beans: An Introduction. *Coffee in Health and Disease Prevention*, 5-10. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00001-2>
- Flores. (2007). *Metabolitos Secundarios Bioactivos de Especies del Género Piper de la Flora Boliviana*. ProQuest. Obtenido de

- <https://www.proquest.com/openview/45b5ea681d318d8320aa64f664c9ffc3/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>
- Gebeyehu, & Bikila. (2015). Determination of Caffeine Content and Antioxidant Activity of Coffee. *American Journal of Applied Chemistry*, 3(2).  
doi:<https://doi.org/10.11648/j.ajac.20150302.16>
- Gimeno. (2004). Compuestos\_fenolicos. 23. Obtenido de  
[https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35101196/Compuestos\\_fenolicos-libre.pdf?1413165699=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DAMBITO\\_FARMACEUTICO.pdf&Expires=1690677355&Signature=YKZL4iyy9FEM1yNZrJ39pZejTNd4g1jMqcVfn8VZfDtM9hMbcUohJJDQW4VcFb](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/35101196/Compuestos_fenolicos-libre.pdf?1413165699=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DAMBITO_FARMACEUTICO.pdf&Expires=1690677355&Signature=YKZL4iyy9FEM1yNZrJ39pZejTNd4g1jMqcVfn8VZfDtM9hMbcUohJJDQW4VcFb)
- Gotteland, & Pablo, d. (2007). ALGUNAS VERDADES SOBRE EL CAFÉ. *Revista chilena de nutrición*, 34(2), 105-115. doi:<https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000200002>
- Guambi, Cedeño, & Talledo. (2017). Calidad Organoléptica De Cafés Arábigos En Relación a Las Variedades Y Altitudes De Las Zonas De Cultivo, Ecuador. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 18(1), 67-77.
- Herrera, & Cortina. (2013). Taxonomía y clasificación del café (Investigación y Tecnología para la Sostenibilidad de la Caficultura. *Federación Nacional de cafeteros de Colombia*, 1.  
doi:[https://doi.org/10.38141/cenbook-0026\\_07](https://doi.org/10.38141/cenbook-0026_07)
- IICA. (2010). Programa cooperativo regional para el desarrollo tecnológico y modernización de la caficultura promecafe. *IICA*. Obtenido de  
<http://repiica.iica.int/docs/B2063e/B2063e.pdf>

- Kitzberger, Sorane, Pot, Marraccini, Pereira, & Santos, D. (2020). Flavor precursors and sensory attributes of coffee submitted to different post-harvest processing. *AIMS Agriculture and Food*, 5(4), 700-714. doi:<https://doi.org/10.3934/agrfood.2020.4.700>
- Koshiro, Zheng, Wang, Nagai, & Ashihara. (2006). Changes in content and biosynthetic activity of caffeine and trigonelline during growth and ripening of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* fruits. *Plant Science*, 171(2), 242-250.
- Kú. (2016). SUSPENSIONES CELULARES DE *Coffea arabica* L.
- Lalangui. (2016). EXPOSICION\_DEL\_CULTIVO\_DE\_. Obtenido de [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49691123/EXPOSICION\\_DEL\\_CULTIVO\\_DE\\_CAFE-libre.pdf?1476809385=&response-contentdisposition=inline%3B+filename%3DAspectos\\_generales\\_laborales\\_y\\_legales\\_d.pdf&Expires=1686110424&Signature=cIjr~7EyHzexTQeIy0tcJqflobqWX408](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/49691123/EXPOSICION_DEL_CULTIVO_DE_CAFE-libre.pdf?1476809385=&response-contentdisposition=inline%3B+filename%3DAspectos_generales_laborales_y_legales_d.pdf&Expires=1686110424&Signature=cIjr~7EyHzexTQeIy0tcJqflobqWX408)
- López, Díaz-Ambrona, & Quezada. (2011). PROYECTO FINAL . *Universidad Politécnica de Madrid*.
- MAGAP. (2011). Proyecto de Reactivación de la Caficultura Ecuatoriana. Obtenido de <https://www.agricultura.gob.ec/magap-ejecuta-proyecto-de-reactivacion-de-la-caficultura-ecuatoriana/>
- Martínez. (2020). Química de los Productos Naturales. *Universidad de Anioquia*. Obtenido de [https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/16148/1/MartinezAlejandro\\_2020\\_QuimicaProductosNaturales.pdf](https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/16148/1/MartinezAlejandro_2020_QuimicaProductosNaturales.pdf)
- Maxiselly, Anusornwanit, Rugkong, Chiarawipa, & Chanjula. (s.f.). Morpho-Physiological Traits, Phytochemical Composition, and Antioxidant Activity of *Canephora* Coffee

- Leaves at Various Stages. *International Journal of Plant Biology*, 13(2).  
doi:<https://doi.org/10.3390/ijpb13020011>
- Mihai, Espinoza, Melo, Florescu, & Catana. (2023). Comparative Assessment of Antioxidant Activity and Functional Components of *Chionanthus virginicus* and *Chionanthus pubescens* from the Andean Region of Ecuador. Obtenido de <https://www.mdpi.com/1999-4923/15/6/1676>
- Mosquera. (2020). Desarrollo de un manual parra indicación geográfica protegida de café arábigo (*Coffea arabica*) en el noroccidente de Picincha. Obtenido de <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/12166/1/UDLA-EC-TIAG-2020-03.pdf>
- Munteanu, & Apetrei. (2021). Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.  
doi:<https://doi.org/10.3390/ijms22073380>
- Nemzer, Abshiru, & Al-Taher. (2021). Identification of Phytochemical Compounds in *Coffea arabica* Whole Coffee Cherries and Their Extracts by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(11), 3430-3438.  
doi:<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05937>
- Perdani, Pranowo, & Qonitatilah. (2019). Total phenols content of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) in East Java. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 230(1), 012093. doi:<https://doi.org/10.1088/1755-1315/230/1/012093>
- Pérez, & Saura. (2007). Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas. Obtenido de <https://repositorio.upct.es/handle/10317/12259>



- Pisoschi, & Negulescu. (2012). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01(01).  
doi:<https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>
- Ramos, Lima, & Cornejo. (2019). Comparativo de calidad organoléptica de café (*Coffea arabica* L.) en Puno—Perú y La Paz—Bolivia. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 21(4), 283-292. doi:<https://doi.org/10.18271/ria.2019.505>
- Salgado, Favarin, Leandro, & Filho, L. (2008). Total phenol concentrations in coffee tree leaves during fruit development. *Scientia Agricola*, 65, 354-359.  
doi:<https://doi.org/10.1590/S0103-90162008000400005>
- Segheto, Santos, Werneck, Vilela, Sousa, & Rodarte. (2018). Antioxidant extracts of coffee leaves and its active ingredient 5-caffeoylquinic acid reduce chemically-induced inflammation in mice. *Industrial Crops and Products*, 126, 48-57.  
doi:<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.027>
- Sharapin. (2000). *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. Google Books.  
Obtenido de  
[https://www.google.com.ec/books/edition/Fundamentos\\_de\\_tecnolog%C3%ADa\\_de\\_productos/XH2HzSIJPywC?hl=es&gbpv=1&dq=tamizaje+fitoqu%C3%ADmico&pg=PA198&printsec=frontcover](https://www.google.com.ec/books/edition/Fundamentos_de_tecnolog%C3%ADa_de_productos/XH2HzSIJPywC?hl=es&gbpv=1&dq=tamizaje+fitoqu%C3%ADmico&pg=PA198&printsec=frontcover)
- Shukla. (2020). *Spectroscopic Techniques & Artificial Intelligence for Food and Beverage Analysis*. Springer Nature.
- Venegas, Orellana, & Perez. (2018). La realidad Ecuatoriana en la producción de café. *Revista Científica de Investigación actualización del mundo de las Ciencias*.

Vijayakumar, & Raja. (2018). Secondary Metabolites: Sources and Applications. *Books on Demand*.

Wanyika, Gatebe, Gitu, Ngumba, & Maritim. (2010). Determination of caffeine content of tea and instant coffee brands found in the Kenyan market. *African Journal of Food Science*, 4(6), 353-358.

## **Apéndices**