



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS

INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de frutos maduros de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. cultivados en la Provincia de Loja, Ecuador.

Vinueza Pulloasig, Mónica Yessenia

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Trabajo de integración curricular previo a la obtención del título de Ingeniera Biotecnóloga

Mihai, Raluca Alexandra Ph.D.

25 de agosto de 2023



Plagiarism report

Vinueza Mónica_Proyecto UIC.docx



vinueza_monica@uic.edu.ec
BALUCA ALEXANDRA
MIHAI

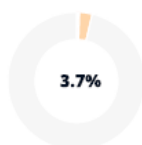
Scan details

Scan time:
August 28th, 2023 at 0:21 UTC

Total Pages:
32

Total Words:
7819

Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	0.5%	36
Minor Changes	0.3%	20
Paraphrased	3%	236
Omitted Words	0%	0

AI Content Detection



Text coverage

- AI text
- Human text

Plagiarism Results: (4)

SciELO - Brazil - Aplicación de diversos métodos quí... 2.7%
<https://www.scielo.br/fj/cta/a/b58t9s5zllxjbl5pvzzxhcf/>
 Accessibility / Report Error ...

2.4 MÉTODOS PARA DETERMINAR ACTIVIDAD ANTIO... 1.7%
<https://1library.co/article/m%3a9todos-para-determinar-a-...>
 ...

T-EPEL-IPE-0028.pdf 1.6%
<http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/20658/1/t-es...>
 Mauricio Bedón
 DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA ENERGÍA Y MECÁNICA CARRERA DE
 INGENIERÍA EN PETROQUÍMICA TRABAJO DE TITULACIÓN, PREVIO A LA...



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 frutos maduros de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. cultivados en la Provincia de Loja, Ecuador.”** fue realizado por la señorita **Vinueza Pullotasig, Mónica Yessenia** 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, 19 de septiembre de 2023



Firmado electrónicamente por:
RALUCA ALEXANDRA
MIHAI .

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

C.C. 1757487507



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Vinueza Pullozasig Mónica Yessenia**, con cédula de ciudadanía N° 1724075229, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de frutos maduros de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. cultivados en la Provincia de Loja, 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, 25 de septiembre de 2023

Vinueza Pullozasig Mónica Yessenia

C.C.: 1724075229



Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Vinueza Pullotasig Mónica Yessenia**, con cédula de ciudadanía N° 1724075229, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Evaluación de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de frutos maduros de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. cultivados en la Provincia de Loja, Ecuador** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 25 de septiembre de 2023


.....
Mónica Yessenia Vinueza Pullotasig

Vinueza Pullotasig Mónica Yessenia

C.C.: 1724075229

Dedicatoria

El presente trabajo está dedicado a mis padres, María y Ricardo, por siempre estar para mí y brindarme su apoyo en cada etapa de mi vida, por los valores inculcados y por no dejarme desfallecer ante las vicisitudes que se han presentado a lo largo de mi vida.

A mi esposo Fernando y a mis hijos Ariadne y Emanuel, juntos empezamos esta gran aventura y ahora por fin la verán cristalizarse, ustedes siempre fueron y serán el motor por el cual seguiré persiguiendo mis sueños y metas. Son mi fortaleza y los pilares fundamentales de mi vida.

A mis hermanos Marcelo y Scarlett que siempre han estado para mí y creen fielmente en mis capacidades. Han estado apoyándome y alentándome para alcanzar las metas que me he propuesto.

con amor, Mónica.

Agradecimientos

Primeramente, quiero agradecer a Dios, por mantenerme con salud y permitirme llegar a este momento; culminar una etapa más, pero a su vez el inicio de nuevos sueños y metas.

Agradezco a mis padres por acompañarme durante este proceso, por su preocupación en cada etapa de mi vida, por los valores que me inculcaron y cada día los pongo en práctica. Gracias por siempre estar para mí y enseñarme a nunca darme por vencida, a ser enfocada y lograr lo que me propongo. Gracias por su amor incondicional y por nunca por dejarme sola a pesar de no completar las metas en el tiempo establecido y haberles fallado en ciertos momentos de mi vida. Gracias por estar siempre para mis hijos, para cuidarlos y amarlos como solo ustedes lo saben hacer y estar al pendiente de ellos y brindarles su amor incondicional.

A mi esposo por siempre estar apoyándome, por su amor incondicional y por ser mi pilar y sostén durante toda esta travesía universitaria, gracias a tu preocupación y esfuerzo diario hoy puedo cumplir una de las metas que me he propuesto y gracias infinitas por siempre estar pendiente de mí. Gracias al carácter que tienes, no dejaste que abandone todo y siempre me impulsaste a seguir. Gracias por permitirme llegar a este momento y por haber llegado conmigo, espero no defraudarte y ser el complemento perfecto para ayudarte a construir los sueños pendientes.

A mis hijos hermosos porque ellos han sido unos niños tan fuertes, que en ocasiones por las ocupaciones y tiempo que conlleva una carrera universitaria han sentido que he estado ausente, pero nunca he sentido reproche de su parte y siempre me han recibido con los brazos abiertos y han estado dispuestos a llenarme de besos y abrazos. Siempre serán el motor de mi vida y cada una de mis victorias serán para ustedes y por ustedes, aunque ustedes por su edad aun no lo comprendan.

A mi suegra porque siempre tuvo la predisposición de cuidar a mis hijos mientras yo seguía estudiando, gracias por sus años de entrega, por su tiempo y por el amor que siempre brinda a mis hijos.

A mi hermano porque siempre cree en mí y en mis capacidades, por sus palabras de aliento y por darme su apoyo en todo este tiempo. Por todo su amor a sus sobrinos y por afianzar cada día más los lazos de sangre.

A mi hermana por aguantarme y por siempre estar para tus sobrinos, a pesar de las peleas y enojos. Gracias por ayudarme con ellos y aunque también eres pequeña, espero enseñarte que, a pesar del tiempo, los sueños se pueden cumplir y cada día te exigiré mucho, porque no dudo de tus capacidades.

A los amigos que me han acompañado durante todos estos semestres, por las risas y alegrías compartidas durante todo este tiempo. Gracias por su tiempo y compañerismo.

A la Doctora Raluca Mihai por permitirme ser parte de este proyecto para poder culminar mi carrera universitaria. Por su tiempo para ayudarme y despejar cualquier interrogante que se presentaba durante la realización de esta investigación. Gracias a los chicos del laboratorio por crear un entorno ameno y por su guía y predisposición para impartir todos sus conocimientos durante este tiempo y ayudarme en cada proceso del mismo.

Gracias a todas las personas que formaron directa e indirectamente parte de esta aventura, profesores, compañeros y familiares.

Gracias a todos ustedes, Mónica.

Índice de Contenido

Índice de abreviaturas.....	15
Resumen	16
Abstract.....	17
Capítulo I: Introducción	18
Antecedentes	18
Justificación del problema	20
Objetivos del proyecto	21
Objetivo general.....	21
Objetivos específicos	21
Hipótesis	21
Capítulo II: Marco teórico	22
Café	22
Tipos de café.....	23
<i>Coffea arabica</i> L.....	23
<i>Coffea canephora</i> L.	24
Características del café	25
Composición química	26
Cafeína	27
Diterpenos: Cafestol y Kahweol	27
Ácidos clorogénicos	28
Actividad antioxidante.....	28

	10
Factores edafoclimáticos que afectan al café	30
Clima	30
Temperatura	30
Precipitaciones	30
Exposición solar.....	30
Sombra	31
Café en Ecuador	31
Importancia	32
Principales enfermedades del café.....	33
<i>Mycena citricolor</i> (Ojo de gallo).....	33
<i>Hemileia vastratix</i> (Roya)	33
<i>Pellicularia koleroga</i> (Mal de hilachas)	34
<i>Cercospora coffeicola</i> (Mancha de hierro).....	34
Capítulo III: Metodología	35
Obtención del material vegetal	35
Extracción de metabolitos secundarios.....	35
Métodos de determinación de actividad antioxidante total (TAC).....	35
Método del catión radical 2,2'-azino-bis-ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)	35
Método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).....	36
Método del poder antioxidante reductor férrico (FRAP).....	37
Métodos para determinar la composición de compuestos fenólicos	38

	11
Determinación de fenoles totales (FT)	38
Determinación de flavonoides totales (TFC)	39
Determinación de cafeína por H.P.L.C.	39
HPLC-DAD	39
Análisis estadístico	40
Diseño de análisis de varianza.....	42
Capítulo IV: Resultados	43
Obtención de las muestras	43
Propiedades organolépticas	44
Evaluación de la Actividad antioxidante.....	44
Análisis de varianza para Actividad Antioxidante	46
Supuesto de Normalidad.....	47
Supuesto de Homocedasticidad.....	47
Porcentaje de inhibición obtenido mediante el empleo del método DPPH	48
Porcentaje de inhibición obtenido mediante el empleo del método ABTS	49
Determinación mediante el método de FRAP	50
Detección de Compuestos fenólicos.....	51
Análisis de varianza	53
Supuesto de Normalidad.....	54
Supuesto de Homocedasticidad.....	54
Cuantificación de Cafeína.....	55

Capítulo V: Discusión.....	58
Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones.....	62
Conclusiones.....	62
Recomendaciones.....	62
Capítulo VII: Bibliografía	63
Capítulo VIII: Apéndices.....	76

Índice de tablas

Tabla 1 Clasificación taxonómica	23
Tabla 2 Diseño experimental para el análisis de la composición fitoquímica	41
Tabla 3 Diseño experimental para la determinación del carácter antioxidante	41
Tabla 4 Prueba de ANOVA para ambos diseños factoriales propuestos 2x2 y 3x2.	42
Tabla 5 Características organolépticas de las variedades de café.....	44
Tabla 6 Tabla de contingencia de respuestas experimentales para determinar la Actividad Antioxidante	44
Tabla 7 Tabla de contingencia de promedios para determinar la Actividad Antioxidante	45
Tabla 8 Análisis de varianza de la actividad antioxidante	47
Tabla 9 Tabla de contingencia de respuestas experimentales para determinar compuestos fenólicos	51
Tabla 10 Tabla de contingencia de promedios para determinar compuestos fenólicos.....	52
Tabla 11 Análisis de varianza para compuestos fenólicos	54
Tabla 12 Concentración de cafeína en las variedades de café	56

Índice de figuras

Figura 1 Composición del fruto del café	23
Figura 2 Diferencias entre café arábico y robusto	25
Figura 3 Principales zonas cafetales del Ecuador	32
Figura 4 Muestras obtenidas de <i>Coffea arabica</i> L. y <i>Coffea canephora</i> L.....	43
Figura 5 Comparación de semillas <i>Coffea arabica</i> L. y <i>Coffea canephora</i> L.....	43
Figura 6 Variedad de café vs Métodos para determinar la actividad antioxidante.....	45
Figura 7 Métodos para determinar la actividad antioxidante vs Variedad de café.....	46
Figura 8 Métodos para determinar la actividad antioxidante vs Variedad de café.....	48
Figura 9 Variedad de café vs % de inhibición para prueba DPPH	49
Figura 10 Variedad de café vs % de inhibición para prueba ABTS.....	50
Figura 11 Variedad de café vs Capacidad antioxidante en $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g fw}$	51
Figura 12 Variedad de café vs Métodos para determinar compuestos fenólicos	52
Figura 13 Métodos para determinar compuestos fenólicos vs Variedad de café	53
Figura 14 Métodos para determinar la concentración de fenoles vs Variedad de café	55
Figura 15 Cromatograma de <i>Coffea arabica</i> L.....	56
Figura 16 Cromatograma de <i>Coffea canephora</i> L.	57

Índice de abreviaturas

DPPH: radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

ABTS: catión radical 2,2'-azino-bis-ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico

FRAP: poder antioxidante reductor férrico

TPC: Contenido de fenoles totales

TFC: Contenido de flavonoides totales

GAE: equivalentes de ácido gálico

QE: equivalentes de quercetina

TRX: trolox

Fw: fresh weight - peso fresco

Dw: Dry weight – peso seco

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

Resumen

El café es uno de los productos más cotizados y su cultivo se ha distribuido a lo largo del territorio nacional, se destaca las variedades *Coffea arabica* L. (Arábica) y *Coffea canephora* L. (Robusta). Una diferencia en el grano es la presencia de una incisión de forma sigmoidea en *Coffea arabica* L. y una incisión recta en *Coffea canephora* L.

Entre los compuestos fitoquímicos que contiene están cafeína, Cafestol, Kahweol y Ácidos clorogénicos, siendo los últimos los responsables de su amplia actividad antioxidante.

La actividad antioxidante se analizó por el método de ABTS reportando 8,819 y 12,479 $\mu\text{molTRX/g fw}$; para el método de DPPH se obtuvieron 63,012 y 85,869 $\mu\text{molTRX/g fw}$ para *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. respectivamente, mientras para el método de FRAP se reportan los siguientes resultados 25,183 $\mu\text{molFeSO}_4/\text{g fw}$ para *Coffea arabica* L. y 36,567 $\mu\text{molFeSO}_4/\text{g fw}$ en *Coffea canephora* L.

En el contenido de fenoles totales, se obtuvo en *Coffea arabica* L. una concentración de 1,298 mg GAE/g dw y en *Coffea canephora* L. 1,992 mg GAE/g dw, y para detección de flavonoides se reportó en *Coffea arabica* L. 0,076 mg QE/g, mientras en *Coffea canephora* L. 0,179 mg QE/g.

Para la determinación de cafeína *Coffea canephora* L. reportó 18,0491 mg/g de fruto seco, representando 1,80%, mientras en *Coffea arabica* L. se obtuvo 9,2860 mg/g de fruto seco representado el 0,92%.

Los mejores resultados se reportaron en *Coffea canephora* L. para todos los parámetros analizados.

Palabras clave: *Coffea arabica* L., *Coffea canephora* L., actividad antioxidante, contenido fenólico, cafeína.

Abstract

Coffee is one of the most valued products and its cultivation has been distributed throughout the national territory, the varieties *Coffea arabica* L. (Arabica) and *Coffea canephora* L. (Robusta) stand out. A difference in the grain is the presence of a sigmoid-shaped incision in *Coffea arabica* L. and a straight incision in *Coffea canephora* L.

Among the phytochemical compounds it contains are caffeine, Cafestol, Kahweol and chlorogenic acids, the latter being responsible for its broad antioxidant activity.

The antioxidant activity was analyzed by the ABTS method, reporting 8,819 and 12,479 $\mu\text{molTRX/g fw}$; For the DPPH method, 63,012 and 85,869 $\mu\text{molTRX/g fw}$ were obtained for *Coffea arabica* L. and *Coffea canephora* L. respectively, while for the FRAP method the following results are reported: 25,183 $\mu\text{molFeSO}_4/\text{g fw}$ for *Coffea arabica* L. and 36,567 $\mu\text{molFeSO}_4/\text{g fw}$ in *Coffea canephora* L.

In the content of total phenols, a concentration of 1.298 mg GAE/g dw was obtained in *Coffea arabica* L. and in *Coffea canephora* L. 1.992 mg GAE/g dw, and for detection of flavonoids 0.076 mg was reported in *Coffea arabica* L. QE/g, while in *Coffea canephora* L. 0.179 mg QE/g.

For the determination of caffeine, *Coffea canephora* L. reported 18.0491 mg/g of nuts, representing 1.80%, while in *Coffea arabica* L. 9.2860 mg/g of nuts, representing 0.92%, was obtained.

The best results were reported in *Coffea canephora* L. for all the parameters analyzed.

Keywords: Coffea arabica L., Coffea canephora L., antioxidant activity, phenolic content, caffeine.

Capítulo I: Introducción

Antecedentes

Coffea arabica L. (Arábica) representa el 70% de la producción y *Coffea canephora* L. (Robusta) son las especies más importantes en la economía, ambas presentan diferencias debido a condiciones edafoclimáticas, composición fitoquímica y post-tostado (Gobbi et al., 2023).

Para Ramos et al. (2016), es fundamental tener un conocimiento profundo de la calidad del café producido para su comercialización. La calidad sensorial, basada en el sabor y el aroma del café tostado, se relaciona con otros factores como el genotipo, el ambiente de cultivo y la poscosecha.

Ecuador es considerado uno de los mayores productores de banano, café y cacao (León-Serrano et al., 2020). El café se destaca por ser uno de sus principales productos agrícolas, pero el rendimiento productivo es muy bajo, ya que no alcanza los 200 kilogramos por hectárea, impidiendo compararla con países exportadores como Brasil, que genera 1.140 kilos por hectárea, o Colombia 1.897 kilogramos por hectárea (UTPL, 2015).

Alrededor de 50 mil familias se benefician de este cultivo, destacando la participación de agricultores que cultivan especies forestales y agronómicas fortaleciendo así los sistemas agroforestales (CEFA, s.f.).

En la actualidad, diariamente se consumen alrededor de dos mil millones de tazas de café. Una característica organoléptica propia de esta bebida es su sabor, destacado por la relación existente entre su aroma y gusto, un aspecto importante es que su composición química depende de varios factores, como la cosecha, poscosecha y el método de preparación (Pereira et al., 2023).

Según el estudio realizado por Ramos et al. (2016), el ambiente de cultivo está directamente relacionado a la calidad sensorial del café, este hecho se evidencia por la creciente tendencia de cultivos en la altitud y el aumento de su puntuación en el protocolo de la Asociación de Cafés Especiales de América (con sus siglas en inglés SCAA).

Según CEFA (s.f.) su procedencia es del oriente de África, del norte de Etiopía. Se popularizó en el siglo XIII como bebida estimulante. Su primera descripción la realizó el botánico alemán Leonhard Rauwolf en 1583. En 1650 llegó a la India, poco después, en el siglo XVIII los europeos la difundieron en América para suplir su demanda (Castilla-Valdés, 2022).

El café debe consumirse moderadamente, porque estimula el sistema nervioso y mejora la concentración mental; una taza aporta muy pocos nutrientes y calorías, por eso su consumo no debe ser excesivo debido a la cantidad de sustancias antioxidantes con efecto protector o de disminución de riesgo frente a enfermedades cardiovasculares (CEFA, s.f.).

El café se destaca como una valiosa fuente de antioxidantes tanto en Noruega, España e Italia, donde se ha investigado su contenido antioxidante en bebidas (Sakhi et al., 2004). En un estudio realizado por Halvorsen et al. (2006) en Estados Unidos, el café se posicionó entre los 50 alimentos más ricos en antioxidantes, ocupando el sexto lugar cuando se analizó su aporte por porción (250 ml), demostrando así su alto contenido antioxidante.

Además, se ha observado que tanto el fruto de café como el café tostado, las bebidas derivadas y sus subproductos contienen cantidades significativas de compuestos antioxidantes, lo que proporciona beneficios a quienes los consumen (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019).

Justificación del problema

Realizar una investigación referente a la calidad de café que se produce en Ecuador es de vital importancia para poder analizar la competitividad frente a otros países productores, permitiendo así mejorar su proceso productivo, perfeccionar su siembra, cosecha, poscosecha, tostado, incluyendo las condiciones ambientales donde se realiza su cultivo.

Compilando toda esta información permitirá al país tener un mejor panorama sobre cual región o provincia posee las condiciones óptimas para obtener un café de excelente calidad, aroma, sabor que pueda hacerse acreedor a un puntaje alto dentro de la Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA) para catalogarse como café de especialidad.

Se debe considerar que alrededor de 46 mil productores ecuatorianos dependen del café, utilizando para su cultivo aproximadamente 96.312 hectáreas. Un aspecto importante es que la mayoría no puede ofrecer al mercado café de especialidad, limitándose a su vez por el método de producción y pos-cosecha empleado (Rikolto, s.f.)

El promedio de vida de las plantas es un tema de gran relevancia porque en el sur del Ecuador se mantienen plantas durante medio siglo, mientras que productores brasileños o colombianos alrededor de diez años. Juan Ignacio Burneo Valdivieso, menciona que ese es el motivo por lo que países vecinos triplican su producción; pero los productores ecuatorianos no talan sus árboles por el tiempo que demoran en producir nuevamente disminuyendo así su productividad en relaciona a productores de otros países (UTPL, 2015).

Por ese motivo se necesita más investigaciones que relacionen su contenido fitoquímico con el valor y el origen de cada café, obligando al mercado interno a producir un café de mejor calidad, proyectando el café ecuatoriano en los mercados internacionales (Chiriboga et al., 2022)

Otro punto relevante es informar a los productores de la existencia de diferentes asociaciones, porque solo un 19% de productores pertenece a organizaciones limitando así las oportunidades y beneficios a los cuales puedan acceder (Rikolto, s.f.).

Objetivos del proyecto

Objetivo general

Evaluar de las propiedades biológicas y el contenido fitoquímico de frutos maduros de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. cultivados en la Provincia de Loja, Ecuador.

Objetivos específicos

- Cosechar manualmente granos maduros de café, *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. en la provincia de Loja de Ecuador para la extracción de metabolitos secundarios.
- Cuantificar a través de extracción de metabolitos secundarios la concentración de fenoles, flavonoides y cafeína mediante el ensayo de Folin Ciocalteu Ciocalteu, método colorimétrico del cloruro de aluminio ($AlCl_3$) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), respectivamente presentes en *Coffea arabica* L y *Coffea canephora* L. cultivada en la provincia de Loja de Ecuador.
- Determinar el carácter antioxidante del extracto de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. mediante reactivos químicos como DPPH, FRAP y ABTS cultivadas en la provincia de Loja de Ecuador.

Hipótesis

Los frutos maduros de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. cultivados en la Provincia de Loja presentan carácter antioxidante y metabolitos secundarios.

Capítulo II: Marco teórico

Café

El cafeto (*Coffea spp.*) representa un importante rol económico a nivel mundial, siendo fuente de ingreso de unos 80 países. Mundialmente se produce dos especies: *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. (Castilla-Valdés, 2022).

Hay un total de 124 variedades de *Coffea spp.* que se encuentran distribuidas mundialmente, y todas comparten una morfología de granos similar. Estas especies pueden ser objeto de mejoras genéticas, gracias a atributos como su capacidad para resistir diferentes condiciones climáticas, enfrentar plagas y enfermedades, tener un bajo contenido de cafeína y mejorar su calidad sensorial, como se señaló en un estudio realizado por Castilla-Valdés (2022).

Se trata de un arbusto que puede alcanzar de 10 a 15 metros de altura, pero en las plantaciones se podan entre 2 y 4 metros para facilitar su recolección (Bonka, s.f).

Una de las cualidades más destacadas es la habilidad de generar al mismo tiempo tanto flores como frutos en diversos niveles de madurez. La disposición de las semillas se encuentra uno contra el otro con los lados planos, están envueltas en el mucílago, una capa de pergamino y rodeadas por la pulpa (Dethlefsen-balk, 2018).

El café recogido es de color rojizo cuando está maduro denominándose “cereza” o “drupa”. Su maduración inicia con un color verde intenso, luego hacia el amarillo, hasta llegar a un rojo carmesí cuando alcanzan la madurez, similar al de las cerezas.

Tabla 1*Clasificación taxonómica*

Nombre científico del café	<i>Coffea</i>
Dominio	Eukaryota
Reino	Plantae
División (Filo)	Antofita o Magnoliofita
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rubiales
Familia	Rubiáceas
Género	<i>Coffea</i> L.
Especie	<i>Coffea arabica</i> , <i>Coffea canephora</i>

Tomado de (Kuauka, 2023) <https://forexproscafe.com/taxonomia-del-cafe/>

El fruto del café se compone de dos partes principales: el pericarpio y la semilla. El pericarpio consta de tres capas distintas: el exocarpio, que es la capa más externa y se conoce como cáscara, seguido del mesocarpio o mucílago, y finalmente el endocarpio, también llamado pergamino (Se habla café, 2019).

Figura 1*Composición del fruto del café*

Nota. Corte transversal del grano de café. Tomado de (Vanegas, 2017)

Tipos de café***Coffea arabica* L.**

Es la variedad más antigua y se la considera la más fina. Entre las características que destacan se encuentra que es más aromático, menos amargo y tiene menos cafeína. La

morfología de su grano se caracteriza por ser alargado y con una incisión curvada. Madura de nueve a once meses (Dethlefsen & Balk, 2018).

En relación al modo de fertilización, el cafeto arábico puede auto-fertilizarse. Dentro de su fruto posee menos cafeína que la especie robusta (Bonka, s.f.).

Es de gran relevancia debido a su calidad, su valor en los mercados nacionales e internacionales, y su amplia presencia geográfica. Este tipo de café se distingue por su alto contenido de azúcares, un sistema de raíces profundamente arraigado, un rango de crecimiento entre 1500 y 2000 metros sobre el nivel del mar, y su semilla que presenta una forma plana (Pérez, 2016).

***Coffea canephora* L.**

Comparado con el café arábica, el café mencionado posee el doble de cafeína, pero es menos fragante. Además, se destaca por su resistencia superior al calor, las enfermedades y los parásitos. Su grano es redondo y con incisión recta. Madura de seis a ocho meses (Dethlefsen & Balk, 2018).

Para fertilizarse el árbol de café robusta necesita de la polinización con insectos. Su savia contiene tres o cuatro veces más cafeína que en el de la variedad arábica, utilizándola para defenderse de plagas, enfermedades o estrés por falta de agua (Pérez, 2022).

Destaca por su concentración superior de cafeína (1.5-2.5%), su rango óptimo de cultivo se encuentra en altitudes de 0-700 metros sobre el nivel del mar, y su semilla tiene una forma ovalada (Clifford y Willson, 1985).

Ambas especies poseen diferencias en el interior del fruto.

Figura 2

Diferencias entre café arábica y robusta



Nota. Algunas características sobresalientes que diferencian cada variedad. Tomado de (Pérez, 2022). COFFEE TANK

Características del café

Las características que se percibe con los sentidos depende de su procedencia.

Gusto: con matices que van desde cítricos y terrosos hasta caramelizados y afrutados, con notas de acidez y amargura, así como una sensación aterciopelada en el paladar.

Fragancia: de carácter suave, delicado y distintivo, con un aroma intenso y exclusivo.

Fuerza: varía desde suave y ligera hasta media e intensa, logrando un equilibrio en su conjunto.

Cuerpo: se relaciona con la percepción en boca, determinado por su grosor, densidad, viscosidad o nivel de cremosidad.

Persistencia: duración en el paladar y aroma.

(Isidro Evaristo, 2014)

Las características se relacionan con el lugar de siembra y subespecie genética o variedad. De acuerdo a su composición y rareza pueden llegar a tener precios elevados.

Composición química

El café contiene una amplia variedad de más de mil sustancias químicas diversas, que incluyen aminoácidos, compuestos nitrogenados, polisacáridos, azúcares, triglicéridos, ácido linoleico, diterpenos como el cafestol y kahweol, ácidos volátiles como el fórmico y acético, y no volátiles como el láctico, tartárico, pirúvico, cítrico. Entre estos componentes se destacan los compuestos fenólicos especialmente el ácido clorogénico, así como la cafeína, y sustancias volátiles que contribuyen a su aroma característico. Además, el café contiene vitaminas y minerales. Durante el proceso de tostado, se generan otros compuestos como las melanoidinas, a través de reacciones de pardeamiento no enzimático o caramelización de carbohidratos (Gotteland & De Pablo V, 2007).

La cantidad de cafeína en el café, una sustancia presente en varias plantas, varía dependiendo de la calidad del grano y de cómo se prepare y el tiempo que se le dedique a la preparación (Regalado Mogollón, 2014).

Cafeína

La cafeína (1,3,7-trimetilxantina), teofilina y teobromina pertenece al grupo de las metilxantinas. Estimula el sistema nervioso central. Comercialmente se ha añadido a bebidas como gaseosas y energizantes (Gotteland & De Pablo V, 2007).

Los granos de café Arábica y Robusta en su forma cruda contienen alrededor del 1.16% (con un rango de 0.6% a 1.7%) y 2.15% (con un rango de 1.16% a 3.27%) de cafeína, respectivamente (Gotteland & De Pablo V, 2007).

La cafeína es rápidamente absorbida en el tracto digestivo, alcanzando su concentración máxima de 50 μM , con una vida media que oscila entre 2.5 y 10 horas. El proceso de metabolismo tiene lugar en el hígado, donde aproximadamente el 95% de la cafeína es transformada, mientras que el 5% restante se excreta a través de la orina (Van Dam et al., 2020).

Diterpenos: Cafestol y Kahweol

Estos compuestos pueden presentarse en su forma libre o como ésteres. La cantidad total de diterpenos en el café varía, siendo aproximadamente del 1.3% al 1.9% en granos de café verde Arábica y del 0.2% al 1.5% en granos de café verde Robusta, en relación peso/peso. Los diterpenos en el café, específicamente el cafestol y el kahweol, han sido asociados con un aumento en los niveles de colesterol en la sangre, generando implicaciones para la salud humana. Sin embargo, también se les atribuyen efectos positivos para la salud, como la mejora de las enzimas hepáticas, propiedades antioxidantes, actividad

anticancerígena, propiedades antiinflamatorias y antiangiogénicas, así como un posible papel protector contra la aflatoxina B1 (Moeenfard et al., 2015).

Ácidos clorogénicos

Los compuestos fenólicos esterificados conocidos como ácidos clorogénicos, forman parte de la composición del café; los cuales se forman a través de la combinación del ácido cafeico y el ácido quínico. En el café Robusta, se han identificado un total de 11 ácidos clorogénicos, destacando el ácido clorogénico (5-O-cafeoilquínico) como el más abundante. Los ácidos feruloilquínicos, que son ésteres del ácido cafeico y el ácido ferúlico, contribuyen en gran medida al contenido de fenoles dietéticos (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019).

En el café verde, los ácidos clorogénicos representan aproximadamente el 7% de su composición, pero durante el proceso de tostado, este porcentaje disminuye significativamente al 4% del contenido total de compuestos (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019). Según una medición realizada por Trejo-Márquez et al., (2015) en comparación con otras bebidas consumidas como el jugo de manzana y el vino tinto, el café se destaca como la fuente más rica en ácidos fenólicos.

Actividad antioxidante

Los ácidos clorogénicos son ampliamente reconocidos por sus propiedades antioxidantes. La capacidad de neutralizar radicales hidroxilos (OH) en el café verde y tostado está influenciada principalmente por el ácido 5-O-cafeoilquínico. Ha sido documentado que la combinación de ácido cafeico con diversos ácidos clorogénicos puede servir como una alternativa a los antioxidantes sintéticos. Además, se ha constatado que el café instantáneo puede actuar de manera dual, actuando como promotor de la oxidación para el ácido ascórbico y, al mismo tiempo, como capturador de radicales libres superóxido (Gotteland & De Pablo V, 2007).

Los radicales libres son moléculas que tienen la capacidad de existir de manera autónoma y están caracterizadas por poseer uno o varios electrones solitarios en un orbital atómico externo o molecular. La presencia de este electrón solitario en un radical libre se suele representar mediante un punto en el átomo o grupo donde se encuentra principalmente (Martemucci et al., 2022).

El proceso de daño oxidativo es facilitado por sustancias químicas altamente reactivas del oxígeno denominadas ROS (especies reactivas de oxígeno), que incluyen al peróxido de hidrógeno, al ion superóxido y al radical hidroxilo (Viada Pupo et al., 2017). El peróxido de hidrógeno tiene la capacidad de generar radicales hidroxilo, lo que puede resultar en daños al ADN, incluyendo a proteínas, lípidos, mitocondrias, entre otros (Chaves-Ulate & Esquivel-Rodríguez, 2019).

Los compuestos antioxidantes actúan al detener la generación de radicales libres, previniendo así la oxidación y descomposición de los productos resultantes de la oxidación de lípidos. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos, en su mayoría, se basa en gran medida en mecanismos de reducción-oxidación (Naveed et al., 2018).

La acción antioxidante se atribuye a la presencia de compuestos polifenólicos y productos generados durante el proceso de tostado. La cafeína, por ejemplo, puede inhibir la lipoperoxidación, lo que la convierte en un antioxidante poderoso, equiparable al glutatión y con mayor eficacia que el ácido ascórbico. Además, el proceso de tostado del café da lugar a la formación de compuestos de alto peso molecular, como las melanoidinas, así como compuestos de bajo peso molecular que también poseen propiedades antioxidantes (Daglia et al., 2004).

Según Palomino García & Del Bianchi, (2015), los compuestos fenólicos son principales antioxidantes que se encuentran en hojas, semillas, granos, raíces y corteza. Además de la

actividad antioxidante como aplicación tecnológica, la presencia de estos compuestos se ha atribuido a beneficios en la salud humana al retrasar o prevenir la aparición de enfermedades debido a la acción antioxidante en el organismo, así como acciones antiinflamatorias, antimicrobianas y antialérgicas (Silva et al., 2020).

Factores edafoclimáticos que afectan al café

Este cultivo crece óptimamente en la franja entre los trópicos de Cáncer y Capricornio o también llamado el cinturón del café, a altitudes que oscilan entre 800 y 2.000 metros (Carranco, 2022).

Clima

Predomina un clima tropical y ecuatorial con una humedad constante con niveles que oscilan entre el 60% y el 80%. Esta humedad enriquece el suelo donde se cultiva el café (Carranco, 2022).

Temperatura

La franja óptima para el cultivo del café arábica se encuentra entre los 18 y 22°C, mientras que, para el café robusta, se sitúa entre los 22 y 26°C. A temperatura inferior a 18°C, disminuye su desarrollo y producción. A temperaturas superiores a 25°C se vuelve susceptible a plagas (Carranco, 2022).

Precipitaciones

La cantidad adecuada de lluvia para el cultivo se encuentra entre 1.500 y 2.000 milímetros anuales, 125 milímetros al mes. El exceso de lluvia perjudica la floración del cafetal (Carranco, 2022).

Exposición solar

El exceso afecta al desarrollo de los cafetos y acelera la maduración del fruto, afectando la calidad del café (Carranco, 2022).

Sombra

Proteger de la radiación solar durante la temporada seca, enriquece el suelo con materia orgánica, mejorando la vida microbiana (Carranco, 2022).

Café en Ecuador

La llegada del café a Ecuador es un hecho histórico rodeado de incertidumbre en cuanto a su origen exacto, aunque la mayoría de los historiadores coinciden en que su introducción en el país ocurrió poco después de 1800. Los primeros registros de cultivo de café se remontan a alrededor de 1830, cuando se llevaron a cabo las primeras plantaciones de la variedad Típica, perteneciente al café Arábica, en las zonas de Las Maravillas y El Mamey, ubicadas en el cantón de Jipijapa, en la provincia de Manabí (Acosta García, 2017; FórumCafé, 2020; Vaca et al., 2022).

Fue aproximadamente un siglo después, en 1951, cuando el café Robusta hizo su entrada en Ecuador. Esta introducción se materializó con la iniciación de su cultivo en la Estación Experimental Tropical Pichilingue, localizada en Quevedo, en la provincia de Los Ríos (Acosta García, 2017; FórumCafé, 2020; Vaca et al., 2022).

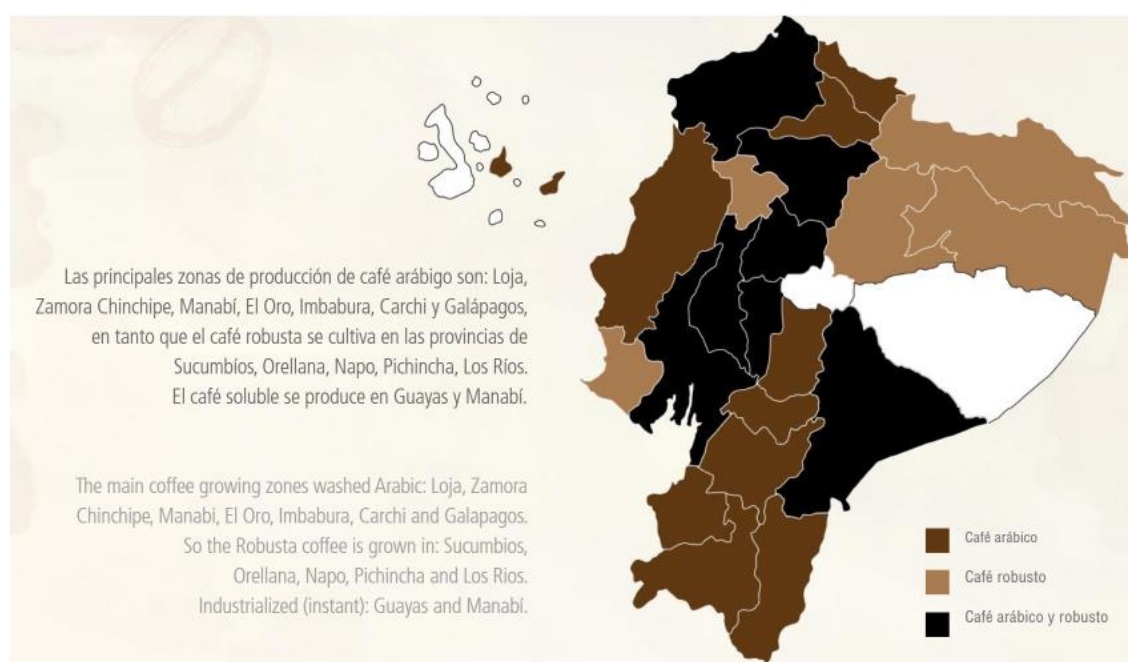
En Ecuador, el café ha adquirido gran importancia económica. Se cultivan las especies *Coffea arábica* y *Coffea canephora*, representando el 68% y 32%, respectivamente, de 199.215 ha cultivadas y se extiende a lo largo del territorio nacional. *C. arábica* posee mejor calidad se produce en Manabí, Loja y en la Cordillera Occidental de los Andes. En cambio, *Coffea canephora*, en Sucumbíos y Orellana (Venegas Sánchez et al., 2018).

En Ecuador, la especie robusta es cultivada en la amazonia y costa, en cambio la especie arábica se cultiva a altitudes mayores a 1.000 y 1.800 msnm, en la Sierra. Manabí, gracias a sus condiciones ambientales favorece al cultivo de esta especie casi al nivel del mar (CEFA, s.f.).

En el país los cultivos presentan bajos rendimientos, obteniendo 5 qq/ha para el arábigo y 10 qq/ha para el robusta. Actualmente la demanda de cafés de especialidad o gourmet está incrementándose tanto a nivel nacional como internacional, pero toda la producción se ve afectada debido a los altos costos de producción y a la ineficiente capacidad de fortalecer procesos asociativos (CEFA, s.f.).

Figura 3

Principales zonas cafetales del Ecuador



Nota. Distribución de las variedades de café en el territorio ecuatoriano. Obtenido de (proecuador, 2018)

Importancia

La producción de café en Ecuador desempeña un papel de gran relevancia en términos económicos, sociales y medioambientales. Desde una perspectiva económica, el cultivo de café genera ingresos para una amplia gama de actores, que incluyen a los productores de café, los intermediarios, los transportistas y los comerciantes, además de contribuir a la entrada de divisas que impulsan la economía rural en las zonas productoras del país (FórumCafé, 2020).

Asimismo, el café desempeña un rol social crucial en Ecuador al involucrar a diversas comunidades, personas de diferentes edades y niveles de educación, tanto hombres como mujeres, en todas las etapas de producción, procesamiento y comercialización, así como en la creación de empleo, especialmente durante la temporada de cosecha (FórumCafé, 2020).

Principales enfermedades del café

El café es afectado por varias enfermedades, pero entre las más importantes tenemos: *Mycena citricolor* (ojo de gallo), *Hemileia vastratix* (roya), *Cercospora coffeicola* (mancha de hierro) y *Pellicularia koleroga* (mal de hilachas) (Leyva Mir, 2018).

***Mycena citricolor* (Ojo de gallo)**

Según Villacreses (2017), esta enfermedad se encuentra principalmente en zonas de cultivo en altitudes elevadas y se ve favorecida por condiciones de precipitaciones constantes. Entre los síntomas visibles presenta la aparición de manchas circulares de color café grisáceo en las hojas, tallos tiernos y frutos del café. Este hongo afecta al café en todas las etapas de su desarrollo. Las manchas al inicio son de color amarillento, pero conforme van madurando, se vuelven de color gris blanquecino. En casos graves provoca perforaciones y la caída rápida de hojas y frutos (Mantuano et al., 2022).

***Hemileia vastratix* (Roya)**

Según Villacreses, (2017) y Saltos Chica, (2021), esta enfermedad se encuentra en todo el país, es más frecuente en zonas de altitudes medias y bajas. Prospera en climas cálidos y húmedos. Entre su sintomatología se encuentra: manchas amarillentas y formación de un polvo anaranjado en la parte superior e inferior de la hoja, respectivamente. Las lesiones viejas pueden tornarse negras con bordes amarillos. Cuando es atacada severamente provoca la caída masiva de hojas, debilita la planta, maduración irregular de la cosecha y reduce la producción.

***Pellicularia koleroga* (Mal de hilachas)**

Producida por el hongo *Pellicularia koleroga*, esta enfermedad conduce a la formación de hilos de micelio de tono blanco que se extienden a lo largo de los tallos y las hojas del cafeto. Los hilos más gruesos crean una especie de telaraña al envés de las hojas. A medida que la enfermedad progresa, las hojas se marchitan y caen, aunque permanecen colgadas de las ramas debido a la presencia del micelio (Mantuano et al., 2022).

***Cercospora coffeicola* (Mancha de hierro)**

De acuerdo con Bermúdez, (2021), esta enfermedad impacta al cafeto en todas las fases de su crecimiento, desde las hojas primordiales hasta los frutos. Se caracteriza por la manifestación de pequeñas manchas circulares de tonos pardos claros o marrones rojizos. Esta afección resulta en una constante pérdida de hojas y una mayor producción de granos de café de calidad inferior, impactando negativamente en su calidad.

Capítulo III: Metodología

Obtención del material vegetal

Se recolectaron aproximadamente 454g de frutos maduros de café (*Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L.), en la provincia de Loja. Las muestras fueron trasladadas a los laboratorios del CICTE, para su procesamiento, manteniendo la cadena fría.

Extracción de metabolitos secundarios

Se retiró la pulpa de los granos maduros de café hasta obtener únicamente la semilla. Posteriormente se colocó en un molidor de café hasta triturarlos. Durante la fase de extracción, se empleó una cantidad de 1 gramo de muestra en una solución de 10 ml de solvente. Para ello, se tomó aproximadamente 1 gramo del grano y se molió utilizando un mortero con 5 ml de etanol absoluto (96%). Seguidamente se colocó en tubos Falcon de 15ml con los 5ml faltantes de solvente. Se dejó reposar por 24h en el refrigerador a 5°C.

Si el extracto resulta muy oscuro será necesario realizar diluciones, se utilizará 1:2 o 1:3, dependiendo de la coloración obtenida.

Métodos de determinación de actividad antioxidante total (TAC)

Las pruebas para medir la actividad antioxidante se llevan a cabo utilizando los sobrenadantes y siguiendo protocolos estandarizados como los métodos colorimétricos ABTS, FRAP y DPPH. Estos enfoques se prefieren debido a su rapidez cinética en la medición, lo que ahorra tiempo en comparación con otros métodos utilizados para determinar la Actividad Antioxidante Total (Rioja Antezana et al., 2018).

Método del catión radical 2,2'-azino-bis-ácido 3-etilbenzotiazolona-6-sulfónico (ABTS)

Se utilizó la metodología propuesta por Kuskoski et al., (2005), con ligeras modificaciones; el radical ABTS⁺ se genera mediante la preparación de una solución stock compuesta por la reacción de ABTS a una concentración de 7 mM con persulfato potásico a

una concentración de 2.45 mM. La solución resultante se incubaba a temperatura ambiente en la oscuridad durante un período que va de 12 a 72 horas. Una vez que el radical ABTS⁺ se ha formado, se diluye con etanol hasta alcanzar un valor de absorbancia en el rango de 0.7 ±0.05 y es leído a una longitud de onda de 734 nm.

La determinación se realizó empleando 20µL de la muestra y añadiendo 2mL del radical ABTS⁺ diluido. Se deja reposar por 7 minutos y se mide a 734nm.

Se utilizaron dos blancos, que siguieron el mismo procedimiento antes mencionado, pero se colocó en lugar de la muestra el solvente de extracción, que en la investigación propuesta es etanol absoluto.

Se realiza un ensayo con el antioxidante sintético de referencia, Trolox, a una concentración que varía de 0 a 15 µM en una solución de etanol. Los resultados se cuantifican en términos de TEAC (Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox), siguiendo el método descrito por Kuskoski et al., (2005).

Los resultados que se obtuvieron se analizaron con la curva de referencia empleando Trolox con una concentración de 0 a 2,5 mM generando la ecuación $y = 34,102x + 9,2946$ ($R^2 = 0,9612$) con unidades expresadas en µmol Trolox/g dw.

Para determinar el porcentaje de inhibición, se emplea la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{Abs_{blanco} - Abs_{muestra}}{Abs_{blanco}} * 100$$

Método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

Se utiliza el método desarrollado por Brand-Williams et al., (1995), fundamentado en la capacidad de los antioxidantes presentes en un extracto para reducir el radical DPPH⁺. La reducción del DPPH⁺ se cuantifica midiendo su absorbancia a 517 nm.

En el ensayo se siguió el procedimiento descrito por Kim et al., (2002) con ligeras modificaciones. En tubos Falcon de 15mL, se preparó una solución de 2,9 mL de radical DPPH⁺ a una concentración de 100 µM, previamente disuelto en etanol al 96%, con una medida de absorbancia inicial de aproximadamente 0,7±0,05 medida a 517 nm. Luego, se añadió 0,1 mL de la muestra al tubo, se homogeneizó cuidadosamente y se incubó en la oscuridad durante 30 minutos. Para los blancos o control se empleó etanol en lugar de la muestra analizada. Pasados los 30 minutos, se mide la absorbancia a 517 nm.

La concentración de DPPH⁺ en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal del Trolox cuya concentración varía de 0 a 0,625 mM, obteniendo $y = -0,9979x + 0,7211$ ($R^2 = 0,993$). Los resultados se expresan en términos de TEAC, es decir, actividad equivalente a Trolox (µM/g de muestra peso fresco). Para calcular el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{Abs_{blanco} - Abs_{muestra}}{Abs_{blanco}} * 100$$

Método del poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

Según Rioja Antezana et al., (2018) en este método evalúa la reducción del hierro férrico (Fe³⁺) presente en el complejo hierro-2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (Fe³⁺-TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe²⁺-TPTZ) gracias a la presencia de compuestos antioxidantes, en un medio ácido pH=3,6.

Reactivo FRAP: se compone por 100mL de la solución tampón de ácido acético-acetato de sodio a una concentración de 0,3 M a un pH 3,6; 10 ml de solución TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina) a 10 mM previamente diluida en ácido clorhídrico (HCl) de 40 mM y 10 mL de cloruro férrico (FeCl₃) a 20mM. Se genera una coloración azul, gracias a la formación del complejo ferroso-TPTZ que se cuantifica por colorimetría a 593nm en base a un patrón de sulfato ferroso (Rioja Antezana et al., 2018).

Para la lectura de las muestras se utilizaron 3 mL de solución FRAP, 0,1 mL de muestra y 0,3 mL de agua destilada, se colocó en la oscuridad durante 4 minutos y se procedió con la medición. Se usaron muestras control que poseían etanol en lugar de la muestra estudiada.

Se empleó una longitud de onda de 593 nm para la medición de las absorbancias. La curva de calibración fue construida mediante las absorbancias de concentraciones variables de sulfato férrico ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), entre 0 - 5 mM, obteniendo $y = 0,5981x - 0,0082$ ($R^2=0,9868$), cuyos resultados fueron expresados en mg $\text{Fe}_2\text{SO}_4/100$ g fw.

Métodos para determinar la composición de compuestos fenólicos

Determinación de fenoles totales (FT)

El método más comúnmente empleado se basa en el principio desarrollado por Folin Ciocalteu, el cual se fundamenta en la capacidad reductora de los compuestos. Este método implica el uso de una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en un entorno alcalino. Estos ácidos se reducen al entrar en contacto con compuestos fenólicos, lo que da lugar a la formación de óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La intensidad del color azul generado se cuantifica a una longitud de onda de 765 nm. Los resultados se expresan en miligramos de ácido gálico por cada 100 gramos de pulpa de frutos (Kuskoski et al., 2005).

Se utilizó la metodología descrita por Arroyo, (2019), aplicando unas ligeras modificaciones. En un tubo Falcon de 15 ml se agregó 0,4 mL de muestra, 0,4 mL de Folin Ciocalteu (1N), 2 ml de agua destilada y se dejó reposar por 5 minutos en oscuridad. Posteriormente se añadió 2 ml de Na_2CO_3 al 20%, 0,8 mL de agua destilada y se incubó en la oscuridad por 1 hora. La lectura se realizó a 765 nanómetros.

La curva de calibración se construyó en base a ácido gálico, obteniendo $y = 0,0061x + 0,1393$ ($R^2= 0,9941$) y los resultados se expresaron en unidades de mg GAE/g muestra.

Determinación de flavonoides totales (TFC)

El método empleado fue el descrito por Ammar et al., (2022).

En tubos Falcon de 15 ml, se colocó 1 mL de la muestra, 1,5 mL de etanol, 0,1 mL de acetato de sodio (CH₃COONa) a concentración 1 M, 0,1 mL de AlCl₃ al 10% y 2,3 mL de H₂O destilada. La solución reposó en oscuridad por 35 minutos y a temperatura ambiente. Concluido el tiempo de espera se procedió con la lectura de su absorbancia a 435 nm en el espectrofotómetro.

Se generó la curva de calibración utilizando quercetina como patrón de referencia a una concentración de 300 µg/ml en etanol obteniendo la recta $y=0,029x+0,067$ ($R^2=0,9879$). La cantidad total de flavonoides se representó en términos de miligramos equivalentes de quercetina (mg QE/g de muestra).

Determinación de cafeína por H.P.L.C.

Este método permite determinar el contenido de cafeína en bebidas energéticas carbonatadas. La disolución que contiene la cafeína es sometida al HPLC en una columna C-18, octadecilo comercial con una longitud de 10 cm con detector de ultravioleta. La cafeína contenida es cuantificada por comparación con una solución estándar tratada similarmente (Fuentes et al., 2018).

HPLC-DAD

Se siguió la metodología descrita por De Luca et al., (2018). Cada extracto se filtró a través de un filtro de PTFE (politetrafluoroetileno) (tamaño de poro 0,45 µm) y se inyectó en el HPLC para el análisis cromatográfico. Los extractos fueron analizados por HPLC-DAD con un Thermo Quest Spectrasystem LC (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) equipado con una bomba P4000, un detector de matriz de diodos UV6000 UV-Vis y una interfaz SN4000 para operar a través de una computadora personal. Los compuestos extraídos se separaron

utilizando una columna Kinetex C18 100A (partículas de 5 μm , 4,6 mm de diámetro interno y 25 cm de longitud; Phenomenex, Torrance, CA) protegida por una guardacolumna de 4 mm con las mismas características (Phenomenex, Torrance, CA). Las muestras se inyectaron usando una válvula de seis vías a bucle completo (20 μL), y los cromatogramas correspondientes se adquirieron registrando, en cada tiempo de retención, el espectro completo en el rango de 250 a 400 nm (a intervalos de 2 nm). La elución se realizó en gradiente utilizando agua Milli-Q acidificada con ácido fórmico al 0,1% como fase débil (fase A) y metanol acidificado con ácido fórmico al 0,1% como fase fuerte (fase B). El caudal fue de 1 ml/min.

Para cada corrida cromatográfica se realizó la detección registrando el espectro UV entre 220 y 360 nm cada 2 nm. Toda la información espectrocromatográfica se usó para construir los modelos MCR de conjuntos múltiples, mientras que el análisis de clasificación se llevó a cabo solo en los perfiles registrados a 280 nm.

Análisis estadístico

Las muestras analizadas son granos de frutos maduros de café (*Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L.), especie arábica y robusta respectivamente de la provincia de Loja.

Para analizar su composición fitoquímica se plantea un diseño factorial 2x2, mediante los ensayos de: Determinación de fenoles totales (TPC) y Determinación de flavonoides totales (TFC), donde se considera las 2 pruebas a realizarse ($a=2$) y las 2 especies de café obtenidas ($b=2$) y 3 repeticiones ($n=3$).

Tabla 2*Diseño experimental para el análisis de la composición fitoquímica*

	<i>Coffea arabica</i> L.	<i>Coffea canephora</i> L.
TPC	3	3
TFC	3	3

Para la determinación del carácter antioxidante se plantea un diseño factorial 3x2, empleando los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP, donde (a=3) debido a los 3 ensayos a realizarse y b=2 por las muestras a analizarse con 3 repeticiones (n=3).

Tabla 3*Diseño experimental para la determinación del carácter antioxidante*

	<i>Coffea arabica</i> L.	<i>Coffea canephora</i> L.
DPPH	3	3
ABTS	3	3
FRAP	3	3

Los análisis siguieron un diseño completamente al azar (DCA) y se realizará un análisis de varianza para determinar la veracidad o nulidad de la hipótesis, en los diseños antes mencionados. Las medias se compararán a través de la prueba de Duncan, considerando como significativas aquellas diferencias con un valor de $p < 0,05$.

Diseño de análisis de varianza

Tabla 4

Prueba de ANOVA para ambos diseños factoriales propuestos 2x2 y 3x2.

Fuente	Grado de libertad (GL)	Composición fitoquímica	Carácter antioxidante
A	a-1	1	2
B	b-1	1	1
AB	(a-1)(b-1)	1	2
Error	a.b.(n-1)	8	12
Total	a.b.n-1	11	17

Capítulo IV: Resultados

Obtención de las muestras

Las muestras se recolectaron en la provincia de Loja, como se muestra en la figura 4 las variedades analizadas fueron *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L., poseen diferencias en la morfología de la semilla como se puede observar en la figura 5. De cada muestra se trituró 1g y se colocó en 10ml de etanol para la extracción de sus metabolitos.

Figura 4

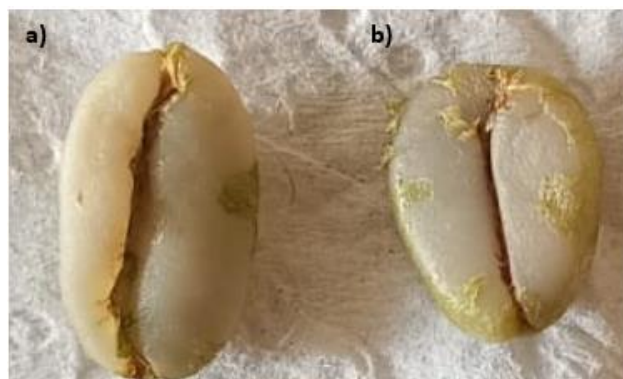
Muestras obtenidas de Coffea arabica L. y Coffea canephora L.



Nota. Se presentan las variedades utilizadas provenientes de la provincia de Loja. a) *Coffea arabica* L. y b) *Coffea canephora* L. (Vinueza, 2023)

Figura 5

Comparación de semillas Coffea arabica L. y Coffea canephora L.



Nota. Diferencias morfológicas de los granos de café. a) *Coffea arabica* L. y b) *Coffea canephora* L. (Vinueza, 2023)

Propiedades organolépticas

Las propiedades analizadas para las variedades de café se muestran en la tabla 5.

Tabla 5

Características organolépticas de las variedades de café

Variedad	Características organolépticas				
	Olor	Sabor	Color	Forma de semilla	Incisión
<i>Coffea arabica</i> L.	Hierba o humedad	Ácido	Verdoso	Ovalada	Sigmoidea
<i>Coffea canephora</i> L.	Hierba o humedad	Amargo	Verdoso	Redonda	Recta

Nota. Se analizó características que presentaban los granos de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. de la provincia de Loja.

Evaluación de la Actividad antioxidante

Para medir la capacidad antioxidante se emplearon 3 métodos de determinación: DPPH, ABTS y FRAP. En la tabla 6 se observa los resultados obtenidos, realizando 3 repeticiones para cada una. En la tabla 7 se observa el promedio obtenido relacionando cada variedad y el método de determinación.

Tabla 6

Tabla de contingencia de respuestas experimentales para determinar la Actividad Antioxidante

		Métodos para evaluar la actividad antioxidante								
		DPPH			ABTS			FRAP		
Variedad de café	<i>Coffea arabica</i> L.	57,437	66,729	64,870	7,116	10,195	9,147	24,217	25,967	25,365
	<i>Coffea canephora</i> L.	86,014	87,907	83,685	13,595	10,192	13,650	35,753	38,161	35,787

Nota. Se realizaron tres repeticiones de cada variedad analizada, estos valores están en unidades de $\mu\text{molTRX/g fw}$ para DPPH y ABTS, mientras FRAP se encuentra en $\mu\text{molFeSO}_4/\text{g fw}$.

Tabla 7

Tabla de contingencia de promedios para determinar la Actividad Antioxidante

		Métodos para evaluar la actividad antioxidante		
		DPPH	ABTS	FRAP
Variedad de café	<i>Coffea arabica</i> L.	63,012	8,819	25,183
	<i>Coffea canephora</i> L.	85,869	12,479	36,567

Nota. Se realizó el promedio de las tres repeticiones de cada variedad, los valores obtenidos están en unidades de $\mu\text{molTRX/g fw}$ para DPPH y ABTS, mientras FRAP se encuentra en $\mu\text{molFeSO}_4/\text{g fw}$.

En la figura 6 se evidencia que en la variedad *Coffea canephora* L. presentó valores más elevados que *Coffea arabica* L. en los 3 métodos de determinación de actividad antioxidante, destacándose el método DPPH en *Coffea canephora* L. con un valor de 85,869 $\mu\text{molTRX/g fw}$, como se observa en la tabla 7.

Figura 6

Variedad de café vs Métodos para determinar la actividad antioxidante

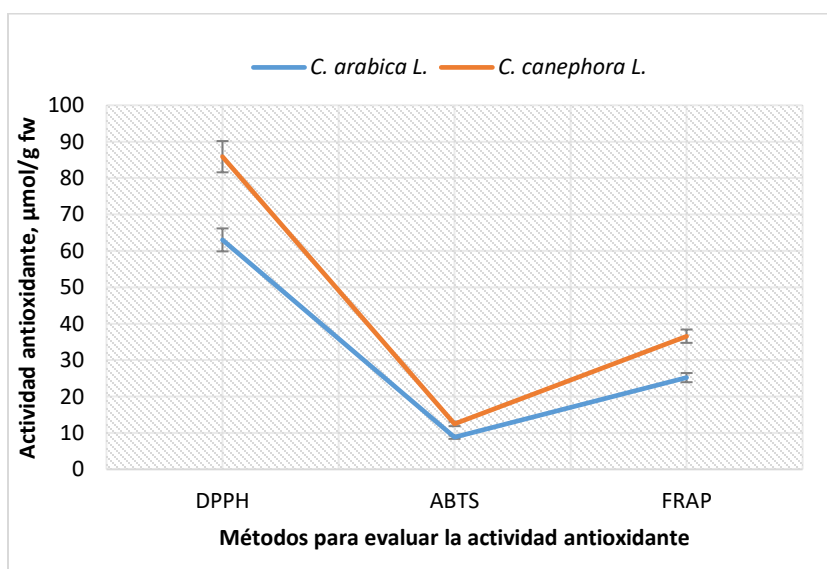
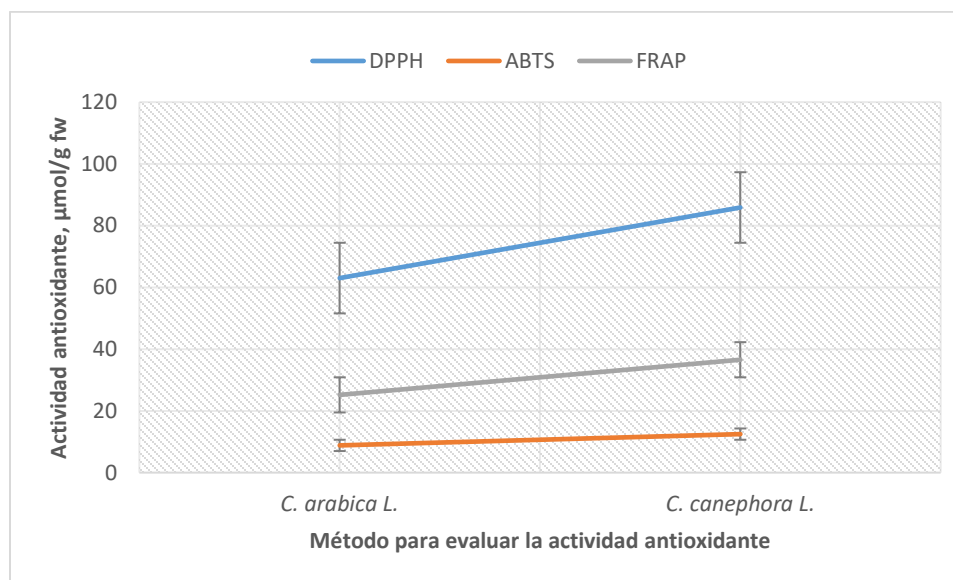


Figura 7

Métodos para determinar la actividad antioxidante vs Variedad de café



Análisis de varianza para Actividad Antioxidante

Se utilizó el programa INFOSTAT para analizar los datos obtenidos, arrojando los siguientes resultados:

La actividad antioxidante obtenida en el café es completamente dependiente ($R^2_{AJ}=99\%$) de la variedad y el método empleado como se observa en la tabla 8, mencionando que la precisión del modelo es del 99% para el análisis con un $F_{(5,12)}=437,49$ y $p < 0,0001$; $p \approx 3,84 \cdot 10^{-13}$, valor obtenido utilizando el programa RStudio.

Como se observa en la figura 6, el coeficiente de variación CV obtenido es 6,49, al ser un valor menor a 12, eleva las posibilidades de cumplir el supuesto de homocedasticidad.

Los datos analizados a continuación se encuentran en la tabla 8.

Analizando las variedades de café empleadas *Coffea arabica L.* y *Coffea canephora L.* estas reportan diferencias significativas al evaluar la actividad antioxidante con un $F_{(1,12)}=114,25$ y $p < 0,0001$; $p \approx 1,74 \cdot 10^{-7}$, valor obtenido utilizando el programa RStudio.

Analizando los métodos empleados para evaluar la actividad antioxidante, ABTS, DPPH y FRAP; mostraron diferencias significativas al evaluar la actividad antioxidante con un $F_{(2,12)} = 1014,34$ y $p < 0,0001$; $p \approx 4,13 \cdot 10^{-14}$, valor obtenido utilizando el programa RStudio.

Analizando la interacción producida entre las variedades de café y los métodos empleados; revelaron diferencias significativas al evaluar la actividad antioxidante con un $F_{(2,12)} = 22,26$ y $p = 0,0001$; $p \approx 9,16 \cdot 10^{-5}$, valor obtenido utilizando el programa RStudio.

Tabla 8

Análisis de varianza de la actividad antioxidante

Análisis de la varianza					
Variable	N	R²	R² Aj	CV	
Oxidación	18	0,99	0,99	6,49	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	13750,79	5	2750,16	437,49	<0,0001
Variedad	718,22	1	718,22	114,25	<0,0001
Método	12752,67	2	6376,34	1014,34	<0,0001
Variedad*Método	279,91	2	139,95	22,26	0,0001
Error	75,43	12	6,29		
Total	13826,23	17			

Supuesto de Normalidad

Para comprobar el supuesto de normalidad es necesario relacionar el diagrama de dispersión, Q-Q plot y la prueba de Shapiro Wilks (ver apéndice A; 1,2,3), se comprueba la normalidad mediante la prueba antes mencionada obteniendo resultado que cumple el supuesto de normalidad con un $p = 0,7728$.

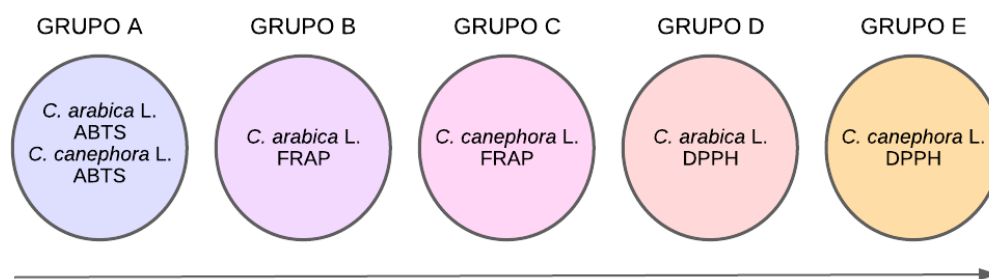
Supuesto de Homocedasticidad

Esta prueba se comprobó mediante el método de Levene (ver apéndice 4A), obteniéndose un $p_{\text{valor}} > 0,05$.

Mediante el Test de Duncan se realizó una comparación de la variedad y el método empleado para determinación de la actividad antioxidante concluyendo que el método ABTS no permite discriminar la diferencia existente entre la variedad de café con su actividad antioxidante, pero a su vez se indica que el mejor método empleado es DPPH con la variedad *Coffea canephora* L. $F_{(2,12)} = 22,26$ y $p = 0,0001$; $p \approx 9,16 \cdot 10^{-5}$. Todas las comparaciones realizadas pueden observarse en el apéndice 5A, recordando que las letras diferentes presentan diferencias significativas. Toda la información antes mencionada se encuentra resumida en la figura 8.

Figura 8

Métodos para determinar la actividad antioxidante vs Variedad de café



Nota. El mejor resultado obtenido en relación a la actividad antioxidante y la variedad analizada, fue en *Coffea canephora* L. con la prueba DPPH, mientras que los resultados más bajos se determinaron en ambas variedades con la prueba ABTS.

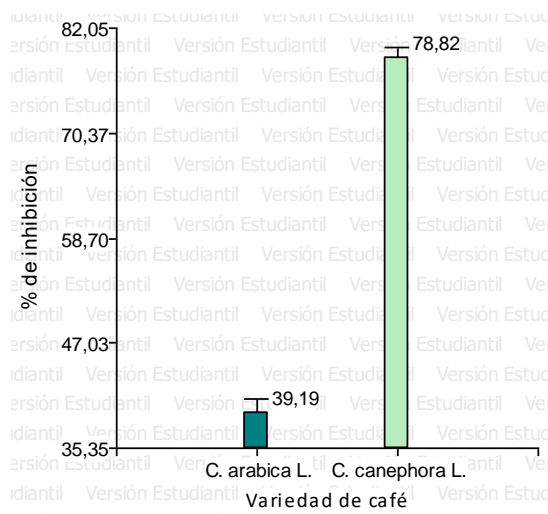
Porcentaje de inhibición obtenido mediante el empleo del método DPPH

Como se observa en la figura 9, *Coffea canephora* L. presentó un mayor porcentaje de inhibición que *Coffea arabica* L. arrojando valores de 78,82% y 39,19%, respectivamente.

A su vez se puede corroborar esa información en la tabla 7, donde la concentración obtenida fue de 63,012 y 85,869 $\mu\text{molTRX/g fw}$ para *Coffea arabica* L y *Coffea canephora* L. respectivamente.

Figura 9

Variedad de café vs % de inhibición para prueba DPPH



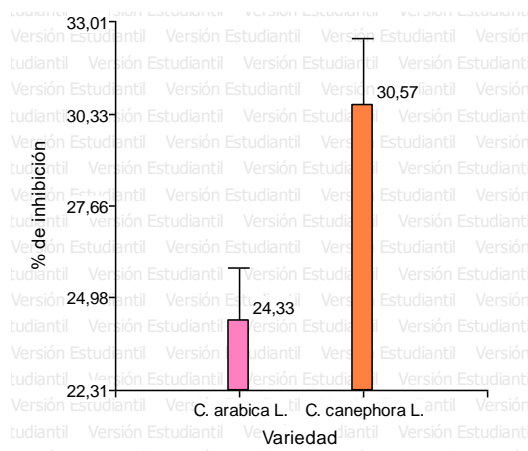
Nota. De la figura presentada se concluye que *Coffea canephora* L. posee mayor actividad antioxidante con un 78,82%, mientras que *Coffea arabica* L. presentó 39,19%. Valor de confianza al 95%.

Porcentaje de inhibición obtenido mediante el empleo del método ABTS

Como se observa en la figura 10, *Coffea canephora* L. presentó un mayor porcentaje de inhibición que *Coffea arabica* L. arrojando valores de 30,57% y 24,33%, respectivamente. Estos datos se corroboran en la tabla 7, donde la concentración obtenida fue de 8,819 y 12,479 $\mu\text{molTRX/g fw}$ para *Coffea arabica* L y *Coffea canephora* L. respectivamente.

Figura 10

Variedad de café vs % de inhibición para prueba ABTS



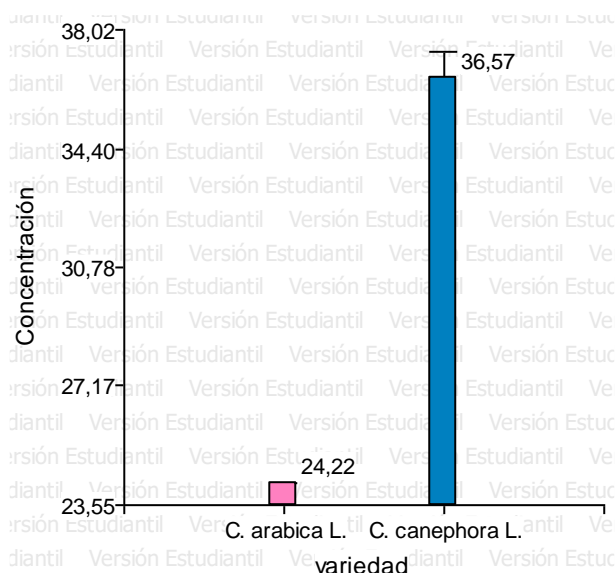
Nota. De la figura presentada se concluye que *Coffea canephora* L. posee mayor actividad antioxidante con un 30,57%, mientras que *Coffea arabica* L. presentó 24,33%. Valor de confianza al 95%.

Determinación mediante el método de FRAP

Los valores de las concentraciones se pueden observar en la tabla 7, obteniéndose los siguientes resultados 25,183 y 36,567 $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g fw}$ para *Coffea arabica* L y *Coffea canephora* L. respectivamente, como se observa en la figura 11.

Figura 11

Variedad de café vs Capacidad antioxidante en $\mu\text{mol FeSO}_4/\text{g fw}$



Nota. Valor de confianza al 95%.

Detección de Compuestos fenólicos

Para medir la concentración de compuestos fenólicos se emplearon 2 métodos de determinación: Folin Ciocalteu y Flavonoides. En la tabla 8 se observa los resultados obtenidos, realizando 3 repeticiones para cada una. En la tabla 9 se observa el promedio obtenido relacionando cada variedad y el método de determinación.

Tabla 9

Tabla de contingencia de respuestas experimentales para determinar compuestos fenólicos

Variedad de café		Métodos para determinar compuestos fenólicos					
		Folin Ciocalteu			Flavonoides		
	<i>Coffea arabica</i> L.	1,172	1,419	1,303	0,084	0,075	0,069
	<i>Coffea canephora</i> L.	1,620	2,195	2,162	0,197	0,202	0,138

Nota. La concentración por el método de Folin Ciocalteu se encuentra expresada en mg GAE/g dw, mientras la de flavonoides en mg QE/g dw.

Tabla 10

Tabla de contingencia de promedios para determinar compuestos fenólicos

		Métodos para determinar compuestos fenólicos	
		Folin Ciocalteu	Flavonoides
Variedad de café	<i>Coffea arabica</i> L.	1,298	0,076
	<i>Coffea canephora</i> L.	1,992	0,179

Nota. Se presenta un promedio de la concentración por el método de Folin Ciocalteu expresada en mg GAE/g dw, mientras la de flavonoides en mg QE/g dw.

En la figura 12 se evidencia que en la variedad *Coffea canephora* L. presento valores más elevados que *Coffea arabica* L. en los 2 métodos de determinación de compuestos fenólicos, destacándose el método Folin Ciocalteu en *Coffea canephora* L. con un valor de 1,992 mg GAE/g dw como se observa en la tabla 10.

Figura 12

Variedad de café vs Métodos para determinar compuestos fenólicos

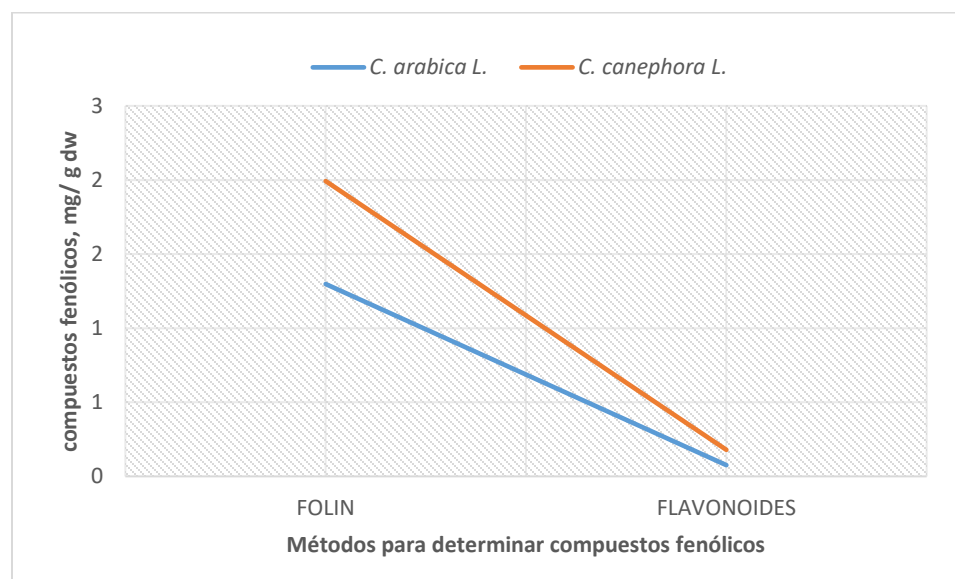
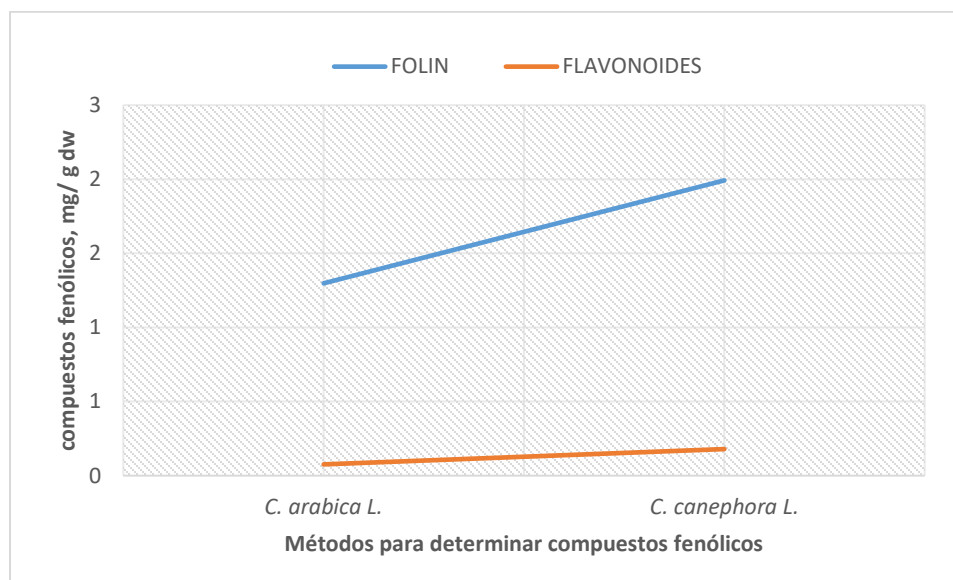


Figura 13

Métodos para determinar compuestos fenólicos vs Variedad de café



Análisis de varianza

Se utilizó el programa INFOSTAT para analizar los datos obtenidos, arrojando los siguientes resultados:

La concentración de compuestos fenólicos obtenida en el café es completamente dependiente ($R^2=97\%$) de la variedad y el método empleado como se observa en la tabla 11, mencionando que la precisión del modelo es del 97% para el análisis con un $F_{(3,8)}=84,40$ y $p < 0,0001$; $p \approx 3,84 \cdot 10^{-13}$, valor obtenido utilizando el programa RStudio.

Como se observa en la tabla 11, el coeficiente de variación CV obtenido es 19,61, al ser un valor mayor a 12, disminuye las posibilidades de cumplir el supuesto de homocedasticidad.

Dos datos analizados a continuación corresponden a la tabla 11.

Analizando las variedades de café empleadas *Coffea arabica L.* y *Coffea canephora L.* estas mostraron diferencias significativas al evaluar la concentración de compuestos fenólicos con un $F_{(1,8)}=15,78$ y $p=4,1 \cdot 10^{-3}$.

Analizando los métodos empleados para evaluar la concentración de compuestos fenólicos, Folin Ciocalteu y Flavonoides; mostraron diferencias significativas con un $F_{(1,8)} = 228,73$ y $p < 0,0001$; $p \approx 3,61 \cdot 10^{-7}$; valor obtenido utilizando el programa RStudio.

Analizando la interacción producida entre las variedades de café y los métodos empleados; mostraron diferencias significativas al evaluar la concentración de compuestos fenólicos con un $F_{(1,8)} = 8,68$ y $p = 0,0185$.

Tabla 11

Análisis de varianza para compuestos fenólicos

Análisis de la varianza					
Variable	N	R²	R² Aj	CV	
Compuestos fenólicos	12	0,97	0,96	19,61	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	7,65	3	2,55	84,4	<0,0001
Variedad	0,48	1	0,48	15,78	0,0041
Método	6,91	1	6,91	228,73	<0,0001
Variedad*Método	0,26	1	0,26	8,68	0,0185
Error	0,24	8	0,03		
Total	7,89	11			

Supuesto de Normalidad

Como se observa en el apéndice B (1,2,3) se comprueba la normalidad relacionando el diagrama de dispersión, Q-Q plot y la prueba de Shapiro Wilks obteniendo resultados que cumplen el supuesto de normalidad con un $p = 0,1844$.

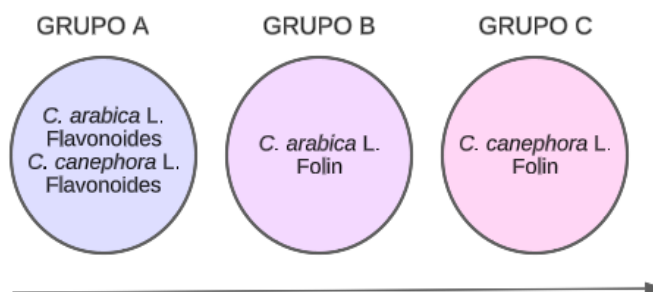
Supuesto de Homocedasticidad

Esta prueba se comprobó mediante el método de Levene (ver apéndice 4B), obteniéndose un $p_{valor} > 0,05$ en la interacción.

Mediante el Test de Duncan se realizó una comparación de la variedad y el método empleado para determinación de la concentración de fenoles concluyendo que el método Flavonoides no permite discriminar la diferencia existente entre la variedad de café con el contenido fenólico, pero a su vez se indica que el mejor método empleado es Folin con la variedad *Coffea canephora* L. $F_{(1,8)} = 8,68$ y $p = 0,0185$. Todas las comparaciones realizadas pueden observarse en el apéndice 5B, recordando que las letras diferentes presentan diferencias significativas. Toda la información antes mencionada se encuentra resumida en la figura 14.

Figura 14

Métodos para determinar la concentración de fenoles vs Variedad de café



Nota. El mejor resultado obtenido en relación a la concentración de fenoles y la variedad analizada, fue en *Coffea canephora* L. con la prueba de Folin Ciocalteu, mientras que los resultados más bajos se determinaron en ambas variedades con la prueba de Flavonoides.

Cuantificación de Cafeína

Como se observa en la tabla 12, la mayor concentración de cafeína se obtuvo en la variedad *Coffea canephora* L. con 18,0491 mg/g de fruto seco, representando 1,80%, mientras en *Coffea arabica* L. se obtuvo 9,2860 mg/g de fruto seco representado el 0,92%.

Tabla 12

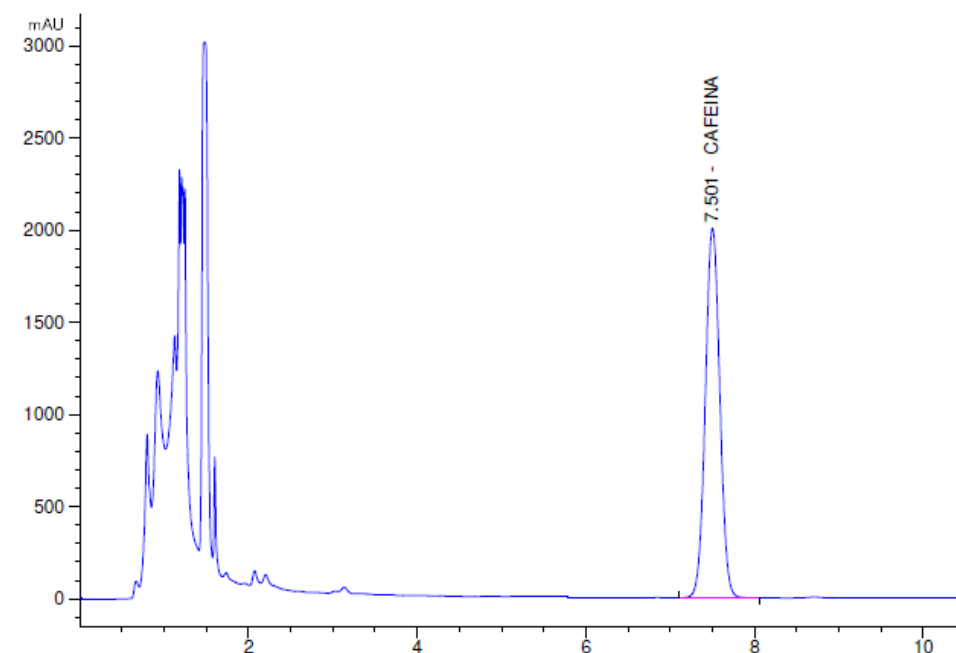
Concentración de cafeína en las variedades de café

		Cafeína (mg/g de fruto seco)	Porcentaje (%)
Variedad de café	<i>Coffea arabica</i> L.	9,2860	0,92
	<i>Coffea canephora</i> L.	18,0491	1,80

Nota. Los valores fueron obtenidos mediante HPLC-DAD y están expresados en términos de concentración.

Figura 15

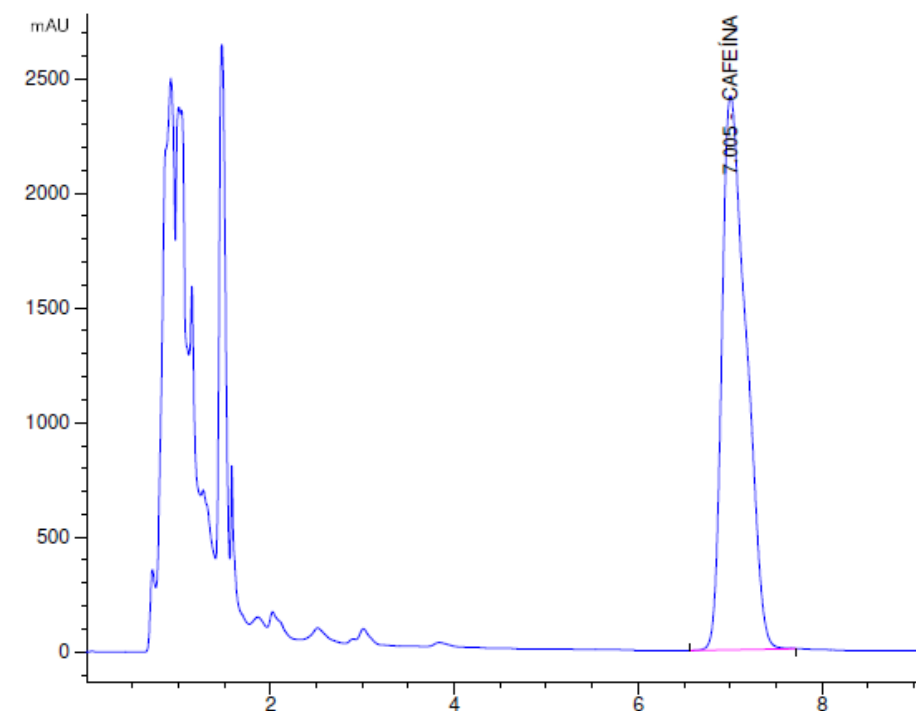
Cromatograma de Coffea arabica L.



Nota. En un tiempo de 7,501 min se detectó la presencia de cafeína.

Figura 16

Cromatograma de Coffea canephora L.



Nota. En un tiempo de 7,005 min se detectó la presencia de cafeína.

Capítulo V: Discusión

Los compuestos bioactivos específicamente los compuestos fenólicos comprenden una gran fuente de antioxidantes de origen vegetal, ubicándose en hojas, semillas, granos, raíces y corteza (Silva et al., 2020).

Según Carvalho Neto et al. (2021) las semillas contienen altas concentraciones de cafeína, polifenoles, flavonoides y triacilgliceroles, compuestos bioactivos con alta actividad antioxidante y antimicrobiana, es por ese motivo que se ha utilizado los granos para la presente investigación.

Según Thouri et al. (2017), la polaridad del disolvente favorece a la extracción de polifenoles, cuya extracción óptima se obtiene en disolventes polares porque genera una mayor eficiencia en el proceso de solvatación como resultado de la interacción entre los compuestos antioxidantes y el solvente, corroborando la correcta utilización de etanol como solvente de extracción contribuyendo a la captación de compuestos fenólicos y antioxidantes.

La composición química del café depende de las técnicas de procesamiento en la etapa de cosecha y los procesos industriales del café verde como el pre-tostado y tostado (Gobbi et al., 2023).

Un aspecto importante que se debe considerar según lo expuesto por Mitraka et al. (2021) es que *Coffea arabica* L. a pesar de poseer una superior calidad y aroma; en su composición no están presentes isómeros menores de ácidos clorogénicos y diterpenos, haciéndole susceptible a plagas como lo menciona Dethlefsen & Balk (2018).

Según Jiménez (2014) la localidad de Cariamanga se encuentra a 1932 msnm, posee una humedad del 66% y temperaturas que van desde los 2 hasta los 22°C, este fue el lugar de donde se obtuvo la muestra de *Coffea arabica* L. y según lo expuesto por Pérez (2022) y Carranco (2022), se cumple las condiciones de altitud de cultivo, porque su altura de siembra

esta entre 800 a 2000 msnm, mientras que la muestra de *Coffea canephora* L. se obtuvo de la parroquia de Yamana ubicada a una altitud entre 956 msnm y 1640 msnm, una temperatura de 17 a 29°C y una humedad máxima de 65%; Pérez (2022) y Carranco (2022) mencionan que el cultivo de esta variedad se encuentra entre 500 y 1200 msnm validando el cumplimiento de las condiciones de cultivo. Ambas variedades se encuentran en la temperatura establecida por café arábica se encuentra entre los 18 y 22°C, mientras que, para el café robusta, se sitúa entre los 22 y 26°C, así como su humedad ya que se encuentre entre el rango de 60 a 80%, según lo explicado por Carranco (2022).

En la investigación realizada por Bobková et al. (2020), analizaron el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante por el método de DPPH, obteniendo para *Coffea arabica* L. $62.28 \pm 0.78\%$ y *Coffea canephora* L. $70.57 \pm 0.70\%$, en la presente investigación se obtuvieron valores de *Coffea canephora* L. de 78,82%, mientras que *Coffea arabica* L. presentó 39,19%, solo en *Coffea canephora* L. se obtuvo un valor cercano, pero ocurrió todo lo contrario con *Coffea arabica* L. ya que el porcentaje obtenido fue de casi la mitad del realizado en el estudio, esto puede deberse a errores técnicos, condiciones y distribución geográfica de los cultivos o a la utilización de un diferente solvente para la extracción.

Madhava Naidu et al. (2008), realizaron un estudio utilizando diferentes concentraciones de isopropanol más agua para verificar el porcentaje de actividad antioxidante con la metodología del DPPH, en muestras de café arábica se obtuvo del 76% al 92% de actividad antioxidante, mientras en café robusta del 78 al 88%, con este análisis podemos afirmar que la concentración dependerá de los solventes que se utilizan durante el proceso de extracción siendo unos más polares y por ende atraerán más compuestos fenólicos.

Al analizar la actividad antioxidante y los métodos empleados para su determinación, en la prueba de ABTS se obtuvo para *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L. 8,819 y 12,479 $\mu\text{molTRX/g fw}$ respectivamente como se observa en la tabla 7, Muñoz et al. (2020) establece

que la actividad antioxidante en ABTS en grano verde debe encontrarse en un rango de 7,41–31,44 $\mu\text{molTRX/g fw}$, en su investigación se reportó el valor de 21,87 $\mu\text{molTRX/g fw}$, aunque el valor es lejano al obtenido en la presente investigación, mediante el rango de valores presentado, estos son correctos ya que se encuentran en el rango antes mencionado.

Como se puede observar en la tabla 7, en el caso de la prueba de FRAP los valores obtenidos fueron 25,183 y 36,567 $\mu\text{molTRX/g fw}$ para *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L., respectivamente. En la investigación realizada por Muñoz et al. (2020) indica que los valores deben encontrarse entre 6,26–43,66 $\mu\text{molTRX/g fw}$, en su investigación reportó el valor de 21,04 $\mu\text{molTRX/g fw}$ en granos verdes, valor cercano al que se obtuvo en la investigación, permitiendo concluir que los valores obtenidos son correctos al encontrarse en el rango analizado.

Para la determinación de compuestos fenólicos se utilizó el método de Folin Ciocalteu, cuyos valores de concentración encontramos en la tabla 9, obteniendo para *Coffea arabica* L. una concentración de 1,298 mg GAE/g dw y en *Coffea canephora* L. 1,992 mg GAE/g dw, estos valores son muy distantes a los que obtuvo Muñoz et al. (2020), pues en su investigación plantea un rango de 9,90 a 35,27 mg GAE/g dw y su valor obtenido fue de 24,73 mg GAE/g dw, estas variaciones pueden deberse a las condiciones edafoclimáticas y a la región de cultivo del café y un posterior proceso de tostado como lo menciona Dybkowska et al. (2017).

En otro estudio realizado por Mannino et al. (2023) menciona que valores más altos de TPC siempre se midieron en las muestras de *Coffea canephora* obteniendo $3,88 \pm 0,22$ mg GAE/g, mientras que *Coffea arabica* tuvo $2,80 \pm 0,28$ mg GAE/g, presentando una concentración menor en un 30%, aunque estos valores también difieren en los obtenidos en el presente estudio son más cercanos y también al realizar una relación de porcentajes los valores reportados difieren en aproximadamente un 34%.

En el estudio realizado por Tripathi et al. (2019) para determinar la concentración de flavonoides hace una comparación entre los solventes utilizados en la extracción de granos verdes de café como agua, etanol y metanol, obteniendo los siguientes datos: $13,50 \pm 1,09$ mg QE/g; $68,70 \pm 1,68$ mg QE/g; $55,12 \pm 1,50$ mg QE/g respectivamente. Los valores antes mencionados son muy superiores a los obtenidos en la presente investigación como se observa en la tabla 9, indicando que para *Coffea arabica* L. se obtuvo una concentración de 0,076 mg QE/g, mientras en *Coffea canephora* L. 0,179 mg QE/g, esto puede deberse a las condiciones en las cuales se realizó el experimento o a la locación de siembra de los cultivos.

La cafeína y el ácido clorogénico brindan varios beneficios a la salud, principalmente están relacionados con las propiedades antioxidantes, brindando protección contra el daño producido por los radicales libres y el estrés oxidativo a través de la donación de átomos de hidrógeno (Mitraka et al., 2021).

Analizando la composición fitoquímica, Gobbi et al. (2023) menciona que las semillas o granos de café contienen un promedio de cafeína entre el 0,3% y 2,7%, destacando que el café Robusta contiene el doble de cafeína que el Café Arábica, poseen aproximadamente 1,5-2,5% y menos de 1,5%, respectivamente (Clifford y Willson, 1985); estos análisis e información concuerda con los resultados que se obtuvieron porque en *Coffea arabica* L. se obtuvo una concentración de 9,2860 mg/g de fruto seco representado el 0,92%, mientras que en *Coffea canephora* L. 18,0491 mg/g de fruto seco representando el 1,8%, el doble del café arábica como lo mencionó Gobbi et al. (2023).

Capítulo VI: Conclusiones y Recomendaciones

Conclusiones

- Cuando se comparó la acción de los tres métodos para determinación de la actividad antioxidante, el método DPPH para la variedad de *Coffea canephora* L. obtuvo mejor resultado 85,869 $\mu\text{molTRX/g fw}$, mientras que los resultados más bajos no se pudieron discriminar entre el método ABTS para ambas variedades.
- Entre los 2 métodos de determinación de compuestos fenólicos, se destacó el método Folin Ciocalteu en *Coffea canephora* L. con un valor de 1,992 mg GAE/g dw.
- *Coffea canephora* L. obtuvo una concentración de cafeína del 18,0491 mg/g, siendo superior a *Coffea arabica* L.
- En los 3 factores analizados *Coffea canephora* L., obtuvo mejores resultados que *Coffea arabica* L.

Recomendaciones

- Es recomendable realizar más estudios enfocada a diferentes partes de la planta de café y en diferentes estadios del fruto para obtener mayor robustez en información.
- Realizar la extracción en diferentes solventes para evidenciar la variación con los valores obtenidos en la presente investigación.
- Realizar el análisis de HPLC para identificar los compuestos presentes en los extractos mediante el valor de su factor de retención (rf).

Capítulo VII: Bibliografía

- Acosta García, D. V. (2017). *Adaptación de dos variedades de café robusta (Coffea canephora) con fuentes diferentes de fertilizantes en el primer año del cultivo* [Tesis de Grado, Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/11805/1/T-UCE-0004-24-2017.pdf>
- Bermúdez Serrano, M. I. (2021). *Incidencia de tres enfermedades foliares en 5 cultivares de café arábigo evaluado en Finca Andil de la UNESUM* [Tesis de Licenciatura, Jipijapa. UNESUM].
<http://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/3215/1/Maria%20Bermudez-TESES..pdf>
- Bonka, (s.f.) *El árbol de café o cafeto*. <https://www.bonka.es/amor-por-el-cafe/arbol-cafe-cafeto>
- Bobková, A., Hudáček, M., Jakobová, S., Belej, L., Capcarová, M., Čurlej, J., Bobko, M., Árvay, J., Jakab, I., Čapla, J., & Demianová, A. (2020). The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(5), 495-500. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1724660>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Carvalho Neto, D. P. D., Gonot-Schoupinsky, X. P., & Gonot-Schoupinsky, F. N. (2021). Coffee as a Naturally Beneficial and Sustainable Ingredient in Personal Care Products: A Systematic Scoping Review of the Evidence. *Frontiers in Sustainability*, 2, 697092. <https://doi.org/10.3389/frsus.2021.697092>
- Carranco, P. (2022). *Condiciones meteorológicas óptimas para el cultivo de café*. Mare Terra. <https://mareterracoffee.com/es/blog/condiciones-meteorologicas-optimas-para-el-cultivo-de-cafe/>

- Castilla-Valdés, Y. (2022). *Estado actual de la conservación de recursos fitogenéticos de cafeto (Coffea spp.)*. 43(1).
- Cefa, (s.f.) Café. <https://cefaecuador.org/productos/cafe/>.
- Chaves-Ulate, E. C., & Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Ácidos clorogénicos presentes en el café: Capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 299-311. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>
- Chiriboga, G., Peñaherrera, S., Londoño-Larrea, P., Castillo, L., Carvajal C, G., & Montero-Calderón, C. (2022). The effect of the chemical composition on the sensory characterization of Ecuadorian coffee. *Current Research in Food Science*, 5, 2022-2032. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.10.023>
- Clifford M. N. and Willson K. C. 1985. *Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage*. (Editors) Croom Helm. London and Sidney/Westport, CT. pp. 13-47.
- Daglia, M., Racchi, M., Papetti, A., Lanni, C., Govoni, S., & Gazzani, G. (2004). In Vitro and ex Vivo Antihydroxyl Radical Activity of Green and Roasted Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1700-1704. <https://doi.org/10.1021/jf030298n>
- De Luca, S., Ciotoli, E., Biancolillo, A., Bucci, R., Magrì, A. D., & Marini, F. (2018). Simultaneous quantification of caffeine and chlorogenic acid in coffee green beans and varietal classification of the samples by HPLC-DAD coupled with chemometrics. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(29), 28748-28759. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1379-6>
- Dethlefsen & balk, (2018). Planta, variedades y zonas de cultivo. <https://www.dethlefsen-balk.de/ESP/10889/Kaffeepflanze.html>
- 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).

- FórumCafé. (2020). El café en Ecuador. Fórum cultura del café, 22. ISSN 2696-3035.
https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-22_ecuador.pdf
- Gobbi, L., Maddaloni, L., Prencipe, S. A., & Vinci, G. (2023). Bioactive Compounds in Different Coffee Beverages for Quality and Sustainability Assessment. *Beverages*, 9(1), 3.
<https://doi.org/10.3390/beverages9010003>
- Gotteland, M., & De Pablo V, S. (2007). ALGUNAS VERDADES SOBRE EL CAFÉ. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(2). <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000200002>
- Halvorsen, B. L., Carlsen, M. H., Phillips, K. M., Bøhn, S. K., Holte, K., Jacobs, D. R., & Blomhoff, R. (2006). Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 95-135. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.95>
- Jiménez, D (2014). *Ubicación y límites*. Gob.ec. <https://www.gobiernocalvas.gob.ec/index.php/informacion-del-canton-calvas-2/fundacion-de-cariamanga/22-cariamanga/3-ubicacion-y-limites-del-gadcc>
- Kim, D.-O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713-3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>
- Kuauka, (2023). *Taxonomía del café*. <https://forexproscafe.com/taxonomia-del-cafe/>
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726-732.
<https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- León-Serrano, L. A., Matailo-Pinta, A. M., Romero-Ramón, A. A., & Portalanza-Chavarría, C. A. (2020). Ecuador: Producción de banano, café y cacao por zonas y su impacto

- económico 2013-2016. *Revista Científica UISRAEL*, 7(3), 97-114.
<https://doi.org/10.35290/rcui.v7n3.2020.324>
- Leyva Mir, G. (2018). PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL CAFÉ (*Coffea arabica*). *Agro Productividad*, 3(2). Recuperado a partir de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/590>
- Madhava Naidu, M., Sulochanamma, G., Sampathu, S. R., & Srinivas, P. (2008). Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee. *Food Chemistry*, 107(1), 377-384.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.056>
- Mannino, G., Kunz, R., & Maffei, M. E. (2023). Discrimination of Green Coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*) of Different Geographical Origin Based on Antioxidant Activity, High-Throughput Metabolomics, and DNA RFLP Fingerprinting. *Antioxidants*, 12(5), 1135. <https://doi.org/10.3390/antiox12051135>
- Mantuano, W. P., Ganchozo, B. I., Landín, A. C., Tumbaco, M. V., & Ortega, J. G. (2022). Principales enfermedades causantes de la pérdida de rendimientos de los cultivos de café arábigo (*Coffea arabica* L.) en la zona sur de Manabí, Ecuador. *UNESUM-Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria*, 6(2), 117-134.
- Martemucci, G., Costagliola, C., Mariano, M., D'andrea, L., Napolitano, P., & D'Alessandro, A. G. (2022). Free Radical Properties, Source and Targets, Antioxidant Consumption and Health. *Oxygen*, 2(2), 48-78. <https://doi.org/10.3390/oxygen2020006>
- Mitraka, G.-C., Kontogiannopoulos, K. N., Batsioulas, M., Baniyas, G. F., & Assimopoulou, A. N. (2021). Spent Coffee Grounds' Valorization towards the Recovery of Caffeine and Chlorogenic Acid: A Response Surface Methodology Approach. *Sustainability*, 13(16), 8818. <https://doi.org/10.3390/su13168818>
- Moeenfarid, M., Silva, J. A., Borges, N., Santos, A., & Alves, A. (2015). Diterpenes in espresso coffee: Impact of preparation parameters. *European Food Research and Technology*, 240(4), 763-773. <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2381-y>

- Muñoz, A. E., Hernández, S. S., Tolosa, A. R., Burillo, S. P., & Olalla Herrera, M. (2020). Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties. *LWT*, *128*, 109457. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109457>
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., & XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *97*, 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.10.064>
- Palomino García, L. R., & Del Bianchi, V. L. (2015). Capacidade antioxidante em resíduos da indústria cafeeira. *Brazilian Journal of Food Technology*, *18*(4), 307-313. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.5015>
- Pereira, L. L., Guarçoni, R. C., Da Luz, J. M. R., De Oliveira, A. C., Moreli, A. P., Filete, C. A., Paiva, G. D., Debona, D. G., Gomes, W. D. S., Cardoso, W. S., Berilli, S. D. S., & Oliveira, E. C. D. S. (2023). Impacts of brewing methods on sensory perception and organoleptic compounds of coffee. *Food Chemistry Advances*, *2*, 100185. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100185>
- Pérez, 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. [Tesis de Grado, Universidad Veracruzana]. <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/l.-en-A.-Monica-Lilian-Perez-Ochoa.pdf>
- Pérez, F. (2022). *EL CAFETO*. Coffee Tank. <https://coffee-tank.com/el-grano-de-cafe-desde-el-arbol-hasta-la-taza-todo-lo-que-ienes-que-saber/>
- Ramos, M. F., Ribeiro, D. E., Cirillo, M. Â., & Borém, F. M. (2016). Discrimination of the sensory quality of the *Coffea arabica* L. (cv. Yellow Bourbon) produced in different altitudes using decision trees obtained by the CHAID method: Discrimination of the sensory quality of

- the *Coffea arabica* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10), 3543-3551.
<https://doi.org/10.1002/jsfa.7539>
- Regalado Mogollón, J. W. (2014). *ESTUDIO DE NIVELES DE CAFEÍNA Y TAURINA EN COMPARACIÓN CON LA NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 2411:2008, PARA UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN DE BEBIDAS ENERGÉTICAS COMERCIALES DEL PAÍS*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6420/1/T-UCE-0008-097.pdf>
- Rikolto, (s.f.). *Café ecuatoriano, aromatizando la economía nacional*.
<https://latinoamerica.rikolto.org/es/project/cafe-ecuatoriano-aromatizando-la-economia-nacional>
- Rioja Antezana, Alejandra P., Vizaluque, Beatriz E, Aliaga-Rossel, Enzo, Tejeda, Leslie, Book, Olof, Mollinedo, Patricia, & Peñarrieta, J. Mauricio. (2018). *Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de chenopodium quinoa*. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168-176. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602018000500006&lng=es&tlng=es.
- Sakhi, A. K., Andersen, L. F., Jacobs, D. R., Blomhoff, R., Svilaas, A., Svilaas, T., Ström, E. C., & Ose, L. (2004). Intakes of Antioxidants in Coffee, Wine, and Vegetables Are Correlated with Plasma Carotenoids in Humans. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 562-567. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.562>
- Saltos Chica, A. L. (2021). Incidencia de Roya del cafeto *Hemileia vastatrix* en la zona sur de MANABÍ. [Tesis de grado, Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí].
<https://repositorio.ulead.edu.ec/bitstream/123456789/3345/3/ULEAM-AGRO-0099.pdf>
- Se Habla Café, (2019). *Anatomía de la fruta y semilla del café*. <https://sehablacafe.com/hablemos/anatomia-de-la-fruta-y-semilla-del-cafe/>
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., Medeiros, L. L. de, Madruga, M. S., & Bezerra, T. K. A. (2020). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using

- Different Extraction Methods. *Molecules*, 26(1), 46.
<https://doi.org/10.3390/molecules26010046>
- Thouri, A., Chahdoura, H., El Arem, A., Omri Hichri, A., Ben Hassin, R., & Achour, L. (2017). Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1751-y>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30.
[https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Carvalho Neto, D. P. D., Gonot-Schoupinsky, X. P., & Gonot-Schoupinsky, F. N. (2021). Coffee as a Naturally Beneficial and Sustainable Ingredient in Personal Care Products: A Systematic Scoping Review of the Evidence. *Frontiers in Sustainability*, 2, 697092.
<https://doi.org/10.3389/frsus.2021.697092>
- Carranco, P. (2022). *Condiciones meteorológicas óptimas para el cultivo de café*. Mare Terra. <https://mareterracoffee.com/es/blog/condiciones-meteorologicas-optimas-para-el-cultivo-de-cafe/>
- Castilla-Valdés, Y. (2022). *Estado actual de la conservación de recursos fitogenéticos de cafeto (Coffea spp.)*. 43(1).
- Cefa, (s.f.) *Café*. <https://cefaecuador.org/productos/cafe/>.
- Chaves-Ulate, E. C., & Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Ácidos clorogénicos presentes en el café: Capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*, 299-311.
<https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32974>
- Chiriboga, G., Peñaherrera, S., Londoño-Larrea, P., Castillo, L., Carvajal C, G., & Montero-Calderón, C. (2022). The effect of the chemical composition on the sensory characterization of Ecuadorian coffee. *Current Research in Food Science*, 5, 2022-2032.
<https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.10.023>

- Clifford M. N. and Willson K. C. 1985. Coffee: botany, biochemistry and production of beans and beverage. (Editors) Croom Helm. London and Sidney/Westport, CT. pp. 13-47.
- Daglia, M., Racchi, M., Papetti, A., Lanni, C., Govoni, S., & Gazzani, G. (2004). In Vitro and ex Vivo Antihydroxyl Radical Activity of Green and Roasted Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1700-1704. <https://doi.org/10.1021/jf030298n>
- De Luca, S., Ciotoli, E., Biancolillo, A., Bucci, R., Magrì, A. D., & Marini, F. (2018). Simultaneous quantification of caffeine and chlorogenic acid in coffee green beans and varietal classification of the samples by HPLC-DAD coupled with chemometrics. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(29), 28748-28759. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1379-6>
- Dethlefsen & balk, (2018). Planta, variedades y zonas de cultivo. <https://www.dethlefsen-balk.de/ESP/10889/Kaffeepflanze.html>
- 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).
- FórumCafé. (2020). El café en Ecuador. Fórum cultura del café, 22. ISSN 2696-3035. https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/f-22_ecuador.pdf
- Gobbi, L., Maddaloni, L., Prencipe, S. A., & Vinci, G. (2023). Bioactive Compounds in Different Coffee Beverages for Quality and Sustainability Assessment. *Beverages*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.3390/beverages9010003>
- Gotteland, M., & De Pablo V, S. (2007). ALGUNAS VERDADES SOBRE EL CAFÉ. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(2). <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000200002>
- Halvorsen, B. L., Carlsen, M. H., Phillips, K. M., Bøhn, S. K., Holte, K., Jacobs, D. R., & Blomhoff, R. (2006). Content of redox-active compounds (ie, antioxidants) in foods consumed in the United States. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 95-135. <https://doi.org/10.1093/ajcn/84.1.95>

Jiménez, D (2014). *Ubicación y*

límites. Gob.ec. <https://www.gobiernocalvas.gob.ec/index.php/informacion-del-canton-calvas-2/fundacion-de-cariamanga/22-cariamanga/3-ubicacion-y-limites-del-gadcc>

Kim, D.-O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VCEAC) of Phenolic Phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13), 3713-3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>

Kuauka, (2023). *Taxonomía del café*. <https://forexproscafe.com/taxonomia-del-cafe/>

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>

León-Serrano, L. A., Matailo-Pinta, A. M., Romero-Ramón, A. A., & Portalanza-Chavarría, C. A. (2020). Ecuador: Producción de banano, café y cacao por zonas y su impacto económico 2013-2016. *Revista Científica UISRAEL*, 7(3), 97-114. <https://doi.org/10.35290/rcui.v7n3.2020.324>

Leyva Mir, G. (2018). PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL CAFÉ (*Coffea arabica*). *Agro Productividad*, 3(2). Recuperado a partir de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/590>

Mantuano, W. P., Ganchozo, B. I., Landín, A. C., Tumbaco, M. V., & Ortega, J. G. (2022). Principales enfermedades causantes de la pérdida de rendimientos de los cultivos de café arábigo (*Coffea arabica* L.) en la zona sur de Manabí, Ecuador. *UNESUM-Ciencias. Revista Científica Multidisciplinaria*, 6(2), 117-134.

Mitraka, G.-C., Kontogiannopoulos, K. N., Batsioulas, M., Banias, G. F., & Assimopoulou, A. N. (2021). Spent Coffee Grounds' Valorization towards the Recovery of Caffeine and

- Chlorogenic Acid: A Response Surface Methodology Approach. *Sustainability*, 13(16), 8818. <https://doi.org/10.3390/su13168818>
- Muñoz, A. E., Hernández, S. S., Tolosa, A. R., Burillo, S. P., & Olalla Herrera, M. (2020). Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties. *LWT*, 128, 109457. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109457>
- Palomino García, L. R., & Del Bianchi, V. L. (2015). Capacidade antioxidante em resíduos da indústria cafeeira. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(4), 307-313. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.5015>
- Pereira, L. L., Guarçoni, R. C., Da Luz, J. M. R., De Oliveira, A. C., Moreli, A. P., Filete, C. A., Paiva, G. D., Debona, D. G., Gomes, W. D. S., Cardoso, W. S., Berilli, S. D. S., & Oliveira, E. C. D. S. (2023). Impacts of brewing methods on sensory perception and organoleptic compounds of coffee. *Food Chemistry Advances*, 2, 100185. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100185>
- Pérez, 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. [Tesis de Grado, Universidad Veracruzana]. <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/I.-en-A.-Monica-Lilian-Perez-Ochoa.pdf>
- Pérez, F. (2022). *EL CAFETO*. Coffee Tank. <https://coffee-tank.com/el-grano-de-cafe-desde-el-arbol-hasta-la-taza-todo-lo-que-ienes-que-saber/>
- Ramos, M. F., Ribeiro, D. E., Cirillo, M. Â., & Borém, F. M. (2016). Discrimination of the sensory quality of the *Coffea arabica* L. (cv. Yellow Bourbon) produced in different altitudes using decision trees obtained by the CHAID method: Discrimination of the sensory quality of the *Coffea arabica* L. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(10), 3543-3551. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7539>

- Regalado Mogollón, J. W. (2014). *ESTUDIO DE NIVELES DE CAFEÍNA Y TAURINA EN COMPARACIÓN CON LA NORMA TÉCNICA ECUATORIANA INEN 2411:2008, PARA UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN DE BEBIDAS ENERGÉTICAS COMERCIALES DEL PAÍS*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6420/1/T-UCE-0008-097.pdf>
- Rikolto, (s.f.). *Café ecuatoriano, aromatizando la economía nacional*.
<https://latinoamerica.rikolto.org/es/project/cafe-ecuatoriano-aromatizando-la-economia-nacional>
- Rioja Antezana, Alejandra P., Vizaluque, Beatriz E, Aliaga-Rossel, Enzo, Tejeda, Leslie, Book, Olof, Mollinedo, Patricia, & Peñarrieta, J. Mauricio. (2018). Determinación de la capacidad antioxidante total, fenoles totales, y la actividad enzimática en una bebida no láctea en base a granos de chenopodium quinoa. *Revista Boliviana de Química*, 35(5), 168-176. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602018000500006&lng=es&tlng=es.
- Sakhi, A. K., Andersen, L. F., Jacobs, D. R., Blomhoff, R., Svilaas, A., Svilaas, T., Ström, E. C., & Ose, L. (2004). Intakes of Antioxidants in Coffee, Wine, and Vegetables Are Correlated with Plasma Carotenoids in Humans. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 562-567. <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.562>
- Saltos Chica, A. L. (2021). Incidencia de Roya del cafeto *Hemileia vastatrix* en la zona sur de MANABÍ. [Tesis de grado, Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí].
<https://repositorio.ulead.edu.ec/bitstream/123456789/3345/3/ULEAM-AGRO-0099.pdf>
- Se Habla Café, (2019). *Anatomía de la fruta y semilla del café*. <https://sehablacafe.com/hablemos/anatomia-de-la-fruta-y-semilla-del-cafe/>
- Silva, M. de O., Honfoga, J. N. B., Medeiros, L. L. de, Madruga, M. S., & Bezerra, T. K. A. (2020). Obtaining Bioactive Compounds from the Coffee Husk (*Coffea arabica* L.) Using Different Extraction Methods. *Molecules*, 26(1), 46.
<https://doi.org/10.3390/molecules26010046>

- Thouri, A., Chahdoura, H., El Arem, A., Omri Hichri, A., Ben Hassin, R., & Achour, L. (2017). Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1751-y>
- Trejo-Márquez, M. A., Pascual-Bustamante, S., Vargas-Martínez, M. G., & Lazcano-Sánchez, E. (2015). Contenido de fenoles, cafeína y capacidad antioxidante de granos de café verdes y tostados de diferentes estados de México. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 16(2), 293-298. <https://www.redalyc.org/pdf/813/81343176021.pdf>
- Tripathi, S., Srivastava, R., Agarwal, S., Shrimali, S. y Mishra, N. (2019). Efecto del tostado sobre los antioxidantes y compuestos relacionados en los granos de café verde. En *Biotecnología y Ciencias Biológicas* (págs. 74-78). Prensa CRC.
- UTPL, (2015). *Calidad del café*. <https://perspectivas.utpl.edu.ec/sites/default/files/junio15/cafe-de-calidad.pdf>
- Vaca, L. A. P., Chilán, J. H. M., & Ponce, W. P. P. (2022). El café, aprendizaje continuo en los productores cafetaleros de la zona sur de Manabí. *RECIAMUC*, 6(4), 183-190. [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(4\).octubre.2022.183-190](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(4).octubre.2022.183-190)
- Van Dam, R. M., Hu, F. B., & Willett, W. C. (2020). Coffee, Caffeine, and Health. *New England Journal of Medicine*, 383(4), 369-378. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1816604>
- Vanegas, F. 2017. *Estructura del fruto del café*. Coffee Media. <https://www.yoamoelcafedecolombia.com/2017/02/26/estructura-del-fruto-del-cafe/>
- Venegas Sánchez, S., Orellana Bueno, D., & Pérez Jara, P. (2018). La realidad ecuatoriana en la producción de café. *RECIMUNDO*, 72-91. [https://doi.org/10.26820/recimundo/2.\(2\).2018.72-91](https://doi.org/10.26820/recimundo/2.(2).2018.72-91)

Viada Pupo, E., Gómez Robles, L., & Campaña Marrero, I. R. (2017). Estrés oxidativo. *CCH, Correo cient. Holguín*, 171-186. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1560-43812017000100014&script=sci_arttext&tlng=pt

Villacreses, P. J. (2017). *Estudio de las enfermedades que afectan a la producción del cultivo de café arábico (Coffea arabica)*. [Tesis, Universidad Estatal del Sur de Manabí, Jipijapa, Ecuador].
<http://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/7111/1/UNESUM.ECU-AGROPE-2017-14.pdf>

Capítulo VIII: Apéndices