

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SÁNCHEZ CARRIÓN



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGICA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA



TESIS:

**“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
POLIFENOLES TOTALES DE LA CASCARA Y MUCÍLAGO DE LA
ESPECIE Coffea Arábica L Y SUS POSIBLES USOS, SAN IGNACIO,
CAJAMARCA – 2018”**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUIMICO**

**PRESENTADO POR EL (LA):
BACH. GREYCE YSABELA ADRIANZÉN PADILLA**

**ASESOR:
ING. ALGEMIRO JULIO MUÑOZ VILELA**

Ingeniero Químico Registro –CIP 11619
Docente Asociado T.C-Código Docente N°365

HUACHO – PERÚ

2018

**DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTE Y POLIFENOLES
TOTALES DE LA CÁSCARA Y MUCÍLAGO DE LA ESPECIE
COFFEA ARABICA L Y SUS POSIBLES USOS, SAN
IGNACIO, CAJAMARCA - 2018**

Ing. Ramos Pacheco, Ronald Luis
VOCAL

M(a). Aroni Mejía, Jaqueline Victoria
SECRETARIO

Dr. Ruiz Sánchez Berardo Beder
PRESIDENTE

Ing. Muñoz Vilela Julio Algemiro
ASESOR

HUACHO – PERÚ

2018

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo quiero dedicar a mi sobrino Luis Alexander Adrianzén Novoa quien se fue de este mundo muy joven dejando un gran vacío en nuestros corazones, gracias a él me inspiré para seguir adelante con esta tesis y me di cuenta que la vida es hermosa a pesar de todos los obstáculos, siempre estarás en nuestras vidas mi Luchito.

AGRADECIMIENTOS

A dios porque él es quien guía nuestro camino y nos ama incondicionalmente a pesar de nuestros errores.

A mis padre Luis Rogelio Adrianzén Martínez un padre dedicado y amoroso quien me ayudo a recolectar mis muestras para poder realizar esta investigación, gracias por tu paciencia, eres un excelente ser humano, te amo.

A mi madre Otilia Isabel Padilla una mujer excepcional a quien admiro por su entrega y dedicación en su trabajo, por siempre luchar y nunca darse por vencida, gracias por confiar en mi cuando todo se veía perdido. Te amo.

A mis hermanos, somos tan distintos el uno del otro, pero aun así hemos sabido estar unidos, gracias por su apoyo.

Al ing. Macavilca por haberme brindado el laboratorio de industrias alimentarias para poder realizar mi investigación.

A mi enamorado por tenerme paciencia y estar ahí en los momentos más difíciles de mi vida.

Determinación de La Capacidad Antioxidante y Polifenoles Totales de la Cáscara Y Mucílago de la Especie Coffea Arábica L y sus Posibles Usos, San Ignacio, Cajamarca – 2018

RESUMEN

Objetivo: Determinar los Polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L” procedente de la provincia de San Ignacio, Cajamarca. **Métodos:** se trabajó con dos muestras (cáscara y mucílago de café) a las cuales se le realizó análisis fisicoquímicos (Brix, pH y humedad); para la extracción de antioxidantes de ambas muestras frescas se emplearon dos solventes (metanol y Yonque), la extracción de antioxidantes de la cáscara seca se utilizó una solución de Metanol- Acetona. En cuanto a la determinación de capacidad antioxidante se emplearon dos métodos (DPPH y ORAC) y la determinación de polifenoles se realizó mediante el Método de Polifenoles totales por reactivo de Folin-Ciocalteu.

Resultados: La cáscara de café presenta como características iniciales: 13% humedad y pH=5,23; el mucílago tiene 89,5% de humedad, 93,9 ° Brix y pH= 4,96. La muestra que presenta mayor capacidad antioxidante es el mucílago de café con un valor de IC50 de 1,366 mL/L. En cuanto a los polifenoles totales, los resultados obtenidos son: 15,182 mg EAG/g (cáscara- Yonque), 17,213 mg EAG/g (cáscara- Metanol), 19,368 mg EAG/g (mucílago- Yonque), 17,213 mg EAG/g (mucílago - Metanol) y 8,292 mg EAG/g (cáscara seca- Metanol/ Acetona). **Conclusión:** la cáscara y mucílago de café procedentes de la provincia de San Ignacio – Cajamarca son una fuente natural de compuestos fenólicos y tienen una excelente actividad antioxidante, podría convertirse en una posible alternativa en la aplicación en la industria farmacéutica y de alimentaria. Entre los posibles usos que se le puede dar están: como suplemento nutricional, colorante natural, ingrediente de cosméticos y lociones para la piel, bebidas funcionales, bebidas alcohólicas, también pueden utilizarse como preservante.

Palabras clave: Cáscara de café, mucílago de café, capacidad antioxidante, polifenoles totales

Determination of Antioxidant capacity and Total Polyphenols of the Shell and Mucilage of the *Coffea Arabica L* Species and its Possible Uses, San Ignacio, Cajamarca - 2018

ABSTRACT

Objective: To determine the total polyphenols and the antioxidant capacity of the husk and mucilage of the "*Coffea Arabica L*" species from the province of San Ignacio, Cajamarca.

Methods: we worked with two samples (coffee husk and mucilage) to which physicochemical analyzes were carried out (Brix, pH and humidity); for the extraction of antioxidants from both fresh samples, two solvents (methanol and Yonque) were used; extraction of antioxidants from the dry shell was carried out using a Methanol-Acetone solution. Regarding the determination of antioxidant capacity, two methods were used (DPPH and ORAC) and the determination of polyphenols was carried out using the Total Polyphenol Method per Folin-Ciocalteu reagent.

Results: The coffee husk presents as initial characteristics: 13% humidity and pH = 5,23; the mucilage has 89,5% humidity, 93,9 ° Brix and pH = 4,96. The sample with the highest antioxidant capacity is the coffee mucilage with an IC 50 value of 1,366 mL / L. As for the total polyphenols, the results obtained are: 15,182 mg EAG / g (husk-Yonque), 17,213 mg EAG / g (husk-methanol), 19,368 mg EAG / g (mucilage-Yonque), 17,213 mg EAG / g (mucilage - methanol) and 8,292 mg EAG / g (dry peel - methanol / acetone). **Conclusion:** the coffee husk and mucilage from the province of San Ignacio - Cajamarca are a natural source of phenolic compounds and have an excellent antioxidant activity could become a possible alternative in the application in the pharmaceutical and food industry. Among the possible uses that can be given are: as a nutritional supplement, natural dye, ingredient of cosmetics and lotions for the skin, functional drinks, alcoholic beverages, can also be used as a preservative.

Key words: Coffee husk, coffee mucilage, antioxidant capacity, total polyphenols

INDICE

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
INDICE DE TABLAS	10
INDICE DE FIGURAS	11
INTRODUCCIÓN	12

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática	16
1.2. Problemas de la Investigación	17
1.2.1. Problema General.....	17
1.2.2. Problemas Específicos	17
1.3. Objetivos de la Investigación.....	18
1.3.1. Objetivos General	18
1.3.2. Objetivos Específicos.....	18

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación	19
2.2. Bases teóricas	23
2.2.1. Antioxidantes	23
2.2.1.1. Clasificación	24
2.2.2. Polifenoles.....	25
2.2.2.1. Beneficios	26
2.2.2.2. Usos.....	26
2.2.2.3. Clasificación de los Polifenoles	26
2.2.2.4. Determinación de polifenoles con el reactivo de folin-ciocalteu.....	27
2.2.3. Capacidad Antioxidante.....	28
2.2.3.1. Métodos para determinar la capacidad antioxidantes	29
2.2.4. Café	32
2.2.4.1. Aspectos generales.....	32
2.2.4.2. Clasificación taxonómica.....	33

2.2.4.3. Principales especies de café cultivadas.....	33
2.2.4.4. La producción cafetalera en Perú.....	34
2.2.4.5. Estacionalidad.....	37
2.2.4.6. Beneficio húmedo del café.....	38
2.2.4.7. Subproductos del Café.....	39
2.2.4.8. Utilización de la pulpa del café.....	42
2.2.4.9. Antioxidantes en el café.....	43
2.3. Definiciones conceptuales.....	43
2.4. Formulación de Hipótesis.....	44
2.4.1. Hipótesis General.....	44
2.4.2. Hipótesis Específicos.....	44

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño Metodológico.....	45
3.1.1. Tipo de Investigación.....	45
3.1.2. Enfoque.....	45
3.2. Población y Muestra.....	47
3.2.1. Población.....	47
3.2.2. Muestra.....	47
3.3. Operacionalización de Variables e indicadores.....	48
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	49
3.4.1. Técnicas a emplear.....	49
3.4.1.1. Obtención de muestras.....	49
3.4.1.2. Obtención de extractos.....	50
3.4.1.3. Métodos a emplear.....	55
3.4.2. Descripción de instrumentos.....	63
3.4.2.1. Muestras.....	63
3.4.2.2. Reactivos y/o solventes.....	63
3.4.2.3. Equipos de laboratorio.....	64
3.4.2.4. Materiales de laboratorio.....	64
3.5. Técnicas para el procesamiento de la información.....	65

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. Caracterización fisicoquímica.....	66
4.2. Evaluación de la capacidad antioxidante.....	67
4.2.1. Método DPPH	67
4.2.1.1. Cáscara húmeda	67
4.2.1.2. Mucílago	70
4.2.2. Método ORAC	72
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1. Discusión	76
5.2. Conclusiones	77
5.3. Recomendaciones	79
CAPÍTULO VI: FUENTES DE INFORMACIÓN	
6.1. Fuentes Bibliográficas	80
6.2. Fuentes Documentales	81
6.3. Fuentes Electrónicas.....	87
ANEXOS.....	88

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación y propiedades de los compuestos fenólicos	27
Tabla 2. Composición proximal de la cascarilla de café.....	40
Tabla 3. Composición proximal de la cascarilla de café.....	41
Tabla 4. Operacionalización de variables e indicadores	48
Tabla 5. Codificación de extractos.....	54
Tabla 6. Características fisicoquímica de la cáscara de café.....	66
Tabla 7. Características fisicoquímica del mucílago de café	66
Tabla 8. Lecturas de absorbancia y porcentaje de inhibición de los extractos de cáscara de café.....	68
Tabla 9. Lecturas de absorbancia y porcentaje de inhibición de los extractos de mucílago de café.....	70
Tabla 10. Capacidad antioxidante de cáscara y mucílago de café por método ORAC	72
Tabla 11. Resultados de polifenoles totales de cáscara y mucílago de café	74

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante	31
Figura 2. Regiones productoras de café en el Perú	35
Figura 3. Producción de Café, Enero – Abril 2000 – 2018.....	36
Figura 4. Ciclo del café.....	37
Figura 5. Diagrama de Flujo Beneficio Húmedo de café.....	39
Figura 6. Diseño metodológico de la investigación	46
Figura 7. Obtención de muestras.....	50
Figura 8. Extracción de cáscara húmeda con Metanol.....	51
Figura 9. Extracción de cáscara húmeda con Yonque.	51
Figura 10. Extracción de cáscara seca con Metanol / Acetona.	52
Figura 11. Extracción de mucílago con Metanol	53
Figura 12. Extracción de mucílago con Yonque.....	54
Figura 13. Curva Estándar de Ácido Gálico.	56
Figura 14. Método de Polifenoles totales por reactivo de Folin-Ciocalteu.....	57
Figura 15. Curva Estándar de Trolox.....	58
Figura 16. Método ORAC, para determinar Capacidad antioxidante	60
Figura 17. Diluciones seriadas de los extractos de cáscara y mucílago de café.	61
Figura 18. Método DPPH, para determinar Capacidad antioxidante.....	62
Figura 19. Curvas de inhibición del DPPH frente a diferentes concentraciones de los extractos de cáscara de café.....	69
Figura 20. Curvas de inhibición del DPPH frente a diferentes concentraciones de los extractos de Mucilago de café.....	71
Figura 21. Capacidad Antioxidante (método ORAC), de extractos de Cáscara y Mucílago de café.....	73
Figura 22. Polifenoles totales del mucílago, cáscara húmeda y seca de café.	75

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes sintéticos son muy utilizados en la industria alimentaria y la industria farmacéutica por a su alto grado de estabilidad, eficacia y bajo costo. A pesar de ello en los últimos años se ha incrementado el interés por los antioxidantes naturales, debido a la preocupación por los efectos tóxicos de los antioxidantes provenientes de fuentes sintéticas. Estudios toxicológicos han demostrado la posibilidad de que antioxidantes sintéticos presentan efectos tóxicos y son promotores de algunos tipos de cáncer, entre otros efectos fisiológicos (Marques, 2010).

Por otro lado, Mincetur menciona que Cajamarca se posiciona como la principal región exportadora de café del Perú en el primer semestre del 2018 (Andina Agencia Peruana de Noticias, 2018). En la industrialización del café se genera gran cantidad de desechos que pueden ocasionar contaminación en agua, aire y suelo, por ello se busca usos alternativos de los subproductos del café, con el fin de minimizar el impacto ambiental. Entre los usos que se le dan a los subproductos del café tenemos: como fertilizante y compost, sustituto en los concentrados para ganado lechero, producción de biogás y bioetanol. Y en la actualidad se ha sugerido su uso como fuente de sustancias químicas funcionales y bioactivas para la industria alimenticia y farmacéutica, como los polifenoles y la cafeína (Fonseca-García, Calderón- Jaimes, & Rivera, 2014)

El presente proyecto propone un análisis de la cáscara y mucílago del café (*Coffea arabica* L.) Obteniendo extractos del residuo, por medio de dos solventes (Yunque y Metanol), para determinar su capacidad antioxidante por los métodos DPPH y ORAC; y sus polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu, esto para establecer el posible aprovechamiento del residuo como fuente de

antioxidantes, la cáscara y mucílago de café (*Coffea arabica* L.) proveniente de la producción del grano, en la provincia de San Ignacio - Cajamarca.

RESUMEN

Objetivo: Determinar los Polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L” procedente de la provincia de San Ignacio, Cajamarca. **Métodos:** se trabajó con dos muestras (cáscara y mucílago de café) a las cuales se le realizó análisis fisicoquímicos (Brix, pH y humedad); para la extracción de antioxidantes de ambas muestras frescas se emplearon dos solventes (metanol y Yonque), la extracción de antioxidantes de la cáscara seca se utilizó una solución de Metanol- Acetona. En cuanto a la determinación de capacidad antioxidante se emplearon dos métodos (DPPH y ORAC) y la determinación de polifenoles se realizó mediante el Método de Polifenoles totales por reactivo de Folin-Ciocalteu.

Resultados: La cáscara de café presenta como características iniciales: 13% humedad y pH=5,23; el mucílago tiene 89,5% de humedad, 93,9 ° Brix y pH= 4,96. La muestra que presenta mayor capacidad antioxidante es el mucílago de café con un valor de IC50 de 1,366 mL/L. En cuanto a los polifenoles totales, los resultados obtenidos son: 15,182 mg EAG/g (cáscara- Yonque), 17,213 mg EAG/g (cáscara- Metanol), 19,368 mg EAG/g (mucílago- Yonque), 17,213 mg EAG/g (mucílago - Metanol) y 8,292 mg EAG/g (cáscara seca- Metanol/ Acetona). **Conclusión:** la cáscara y mucílago de café procedentes de la provincia de San Ignacio – Cajamarca son una fuente natural de compuestos fenólicos y tienen una excelente actividad antioxidante, podría convertirse en una posible alternativa en la aplicación en la industria farmacéutica y de alimentaria. Entre los posibles usos que se le puede dar están: como suplemento nutricional, colorante natural, ingrediente de cosméticos y lociones para la piel, bebidas funcionales, bebidas alcohólicas, también pueden utilizarse como preservante.

Palabras clave: Cáscara de café, mucílago de café, capacidad antioxidante, polifenoles totales

ABSTRACT

Objective: To determine the total polyphenols and the antioxidant capacity of the husk and mucilage of the "Coffea Arabica L" species from the province of San Ignacio, Cajamarca.

Methods: we worked with two samples (coffee husk and mucilage) to which physicochemical analyzes were carried out (Brix, pH and humidity); for the extraction of antioxidants from both fresh samples, two solvents (methanol and Yonque) were used; extraction of antioxidants from the dry shell was carried out using a Methanol-Acetone solution. Regarding the determination of antioxidant capacity, two methods were used (DPPH and ORAC) and the determination of polyphenols was carried out using the Total Polyphenol Method per Folin-Ciocalteu reagent.

Results: The coffee husk presents as initial characteristics: 13% humidity and pH = 5,23; the mucilage has 89,5% humidity, 93,9 ° Brix and pH = 4,96. The sample with the highest antioxidant capacity is the coffee mucilage with an IC 50 value of 1,366 mL / L. As for the total polyphenols, the results obtained are: 15,182 mg EAG / g (husk-Yonque), 17,213 mg EAG / g (husk-methanol), 19,368 mg EAG / g (mucilage-Yonque), 17,213 mg EAG / g (mucilage - methanol) and 8,292 mg EAG / g (dry peel - methanol / acetone). **Conclusion:** the coffee husk and mucilage from the province of San Ignacio - Cajamarca are a natural source of phenolic compounds and have an excellent antioxidant activity could become a possible alternative in the application in the pharmaceutical and food industry. Among the possible uses that can be given are: as a nutritional supplement, natural dye, ingredient of cosmetics and lotions for the skin, functional drinks, alcoholic beverages, can also be used as a preservative.

Key words: Coffee husk, coffee mucilage, antioxidant capacity, total polyphenols

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.Descripción de la realidad problemática

En la actualidad se ha incrementado el interés por los antioxidantes naturales, por la mínima seguridad que ofrece el consumo de antioxidantes sintéticos, también por la eficacia antioxidante de una variedad de agentes fitoquímicos, y la idea de que el consumo de agentes fitoquímicos afecta positivamente el proceso de envejecimiento y enfermedades crónicas. (Tovar, 2013)

Los antioxidantes derivados de las plantas desde el punto de vista fitoquímico pueden ser taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales tienen propiedades redox y podrían actuar como donadores de hidrógenos, por tal motivo previenen o retrasan el desarrollo de enfermedades degenerativas. (Marwah, y otros, 2007)

El café es cultivado en 210 distritos rurales ubicados en 47 provincias de 10 departamentos de un total de veinticuatro que conforman el Perú. La zona norte compuesta por 98 000 hectáreas cafetaleras ocupa el 43% del área total y agrupa los departamentos de Piura, Cajamarca, Amazonas y San Martín (Canet, y otros, 2016). Es uno de los productos más importantes en la provincia de san Ignacio, departamento de Cajamarca. La actividad cafetera trae consigo una problemática ambiental asociada a la generación de residuos constituidos mayormente por el epicarpio del café, los cuales son desperdiciados.

Considerando la antes mencionado, es conveniente aprovechar los residuos generados por la actividad cafetera y darles valor agregado. Por esta razón, se pretende determinar

antioxidantes naturales en la cascara y mucilago de café (*Coffea arabica* L.) de la provincia de San Ignacio.

1.2.Problemas de la Investigación

1.2.1.Problema General

¿Existe presencia de Polifenoles totales y capacidad antioxidante en la cáscara y mucílago de la especie “*Coffea Arabica* L”?

1.2.2.Problemas Específicos

- ¿Se podrá evaluar las características fisicoquímicas de la cáscara y mucílago de la especie “*Coffea Arabica* L”?
- ¿Será posible determinar la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “*Coffea Arabica* L” por los métodos DPPH y ORAC?
- ¿Existe presencia de Polifenoles totales en la cáscara y mucílago de la especie “*Coffea Arabica* L”?

1.3.Objetivos de la Investigación

1.3.1.Objetivos General

Determinar los Polifenoles totales y la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L”

1.3.2.Objetivos Específicos

- Evaluar las características fisicoquímicas de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L”
- Determinar la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L” por los métodos DPPH y ORAC
- Determinar Polifenoles totales en la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L”

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

Herrera (2016), en su proyecto Obtención de Antioxidantes a partir del Epicarpio de Café (*Coffea Arabica L.*) empleando Fluidos Presurizados, una alternativa de aprovechamiento para este residuo agroindustrial. Analizo el epicarpio del café (*Coffea arabica L.*), obtuvo extractos del residuo, por medio de fluidos presurizados, y determinando tanto su actividad antioxidante como de fenoles totales por los métodos DPPH y Folin-Ciocalteu, esto para establecer si puede ser una posible alternativa en el aprovechamiento del residuo, epicarpio del café (*Coffea arabica L.*) Proveniente de la producción del grano, en la industria. Obtuvo los siguientes resultados: los extractos obtenidos, el que presentó un mayor porcentaje de rendimiento fue el extracto etanólico, siendo un cosolvente con propiedades polares permitió una mayor solubilidad en la muestra, dando a entender una mayor proporción de compuestos polares en el epicarpio de café. El extracto obtenido que presento una mayor actividad antioxidante fue el extracto realizado con acetato de etilo, debido a que siendo este un cosolvente con propiedades polares aproticas, logro la mejor concentración de antioxidantes en la muestra. En los análisis realizados en la obtención de fenoles totales, se presentó la mayor concentración en el extracto etanólico. Esto se debe a que el etanol siendo un cosolvente con propiedades polares proticas ayudo a que la concentración de estos fuera mayor con el tipo de cosolvente utilizado en la muestra. Concluye que puede existir un aprovechamiento del epicarpio del café teniendo en cuenta su actividad antioxidante, siendo así una posible alternativa en la aplicación en las industrias que puedan reaprovechar este residuo agroindustrial.

Vega , De León, & Reyes (2017), desarrollo la investigación Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá, el objetivo de esta investigación fue determinar el contenido de polifenoles totales, flavonoides y la actividad antioxidante de 34 cafés comerciales de Panamá. El café es una de las bebidas más populares en el mundo y por su contenido de sustancias bioactivas se le considera que tiene propiedades nutraceuticas. Los parámetros indicados fueron determinados espectrofotométricamente. El contenido de polifenoles totales de las muestras de cafés puros y mezclados estuvo en el rango de 28.60 a 46.82 y 11.17 a 16.10 mg GAE/g, respectivamente. El contenido de flavonoides fue de 22.16 a 38.29 y 9.36 a 14.92 mg equivalentes de catequina/g, respectivamente y la actividad antioxidante estuvo en el rango de 0.11 a 0.20 y 0.025 a 0.061 mmol trolox (TE)/g, respectivamente. Se encontró una correlación de $R^2 = 0.69$ entre actividad antioxidante y polifenoles totales para cafés puros y un $R^2 = 0.04$ para cafés mezclados. Estos resultados permiten concluir que los de polifenoles totales son componentes que aportan un porcentaje importante de la capacidad antioxidante del café.

Fonseca, Calderón, & Rivera (2014), en su investigación Capacidad Antioxidante y Contenido de Fenoles Totales en Café y Subproductos del Café Producido y Comercializado en Norte de Santander (Colombia) su objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante y determinar el contenido de fenoles totales en el café producido y en sus residuos o subproductos. Las muestras comerciales se seleccionaron mediante una encuesta aplicada en 12 municipios de Norte de Santander. Las almendras y los residuos de café provinieron de los municipios de Toledo y Lourdes. La capacidad antioxidante se evaluó por los métodos FRAP y ABTS y el contenido de fenoles totales se determinó por Folin Ciocalteu (FC). Sus resultados fueron el contenido de fenoles totales se encontró entre $1129 \pm 0,000$ y $2582 \pm$

0,000 mg EAG/ g café, y entre $52,57 \pm 4,767$ y $1904 \pm 8,288$ mg EAG/ g café, para las muestras comerciales y sin tostar, respectivamente. La capacidad antioxidante en las muestras comerciales varió entre $3095 \pm 0,000$ y $6857 \pm 8,115$ para FRAP, y entre $224,0 \pm 0,245$ y $245,0 \pm 0,000$ $\mu\text{mol Etrolox/ g café}$ para ABTS. En el caso de las almendras y los residuos, la capacidad antioxidante varió entre $2,265 \pm 0,000$ y $1894 \pm 1,627$ por FRAP, y entre $71,78 \pm 0,000$ y $233,0 \pm 0,000$ $\mu\text{mol Etrolox/ g café}$ por ABTS. Concluyo que todas las muestras presentaron capacidad antioxidante y fenoles totales, incluidos los residuos del procesamiento del café tales como el pergamino, la cáscara y la pulpa de la cereza. Por lo tanto, se confirma el potencial de los residuos de café como fuentes naturales de antioxidantes. Esta investigación reporta por primera vez propiedades antioxidantes en el pergamino y en cafés especiales.

Tovar (2013), en su trabajo Determinación De La Actividad Antioxidante Por DPPH Y ABTS De 30 Plantas Recolectadas En La Ecoregión Cafetera se evaluó la actividad antioxidante in vitro de los extractos crudos de metanol y diclorometano de 30 plantas pertenecientes a 8 diferentes familias y caracterizar por medio de un perfil cromatográfico el tipo de flavonoides presentes en dichos extractos. Las plantas fueron recolectadas en la Ecorregión Cafetera Colombiana (ECC); se les realizó una extracción a la parte aérea por maceración pasiva y se evaluó su actividad antioxidante por medio de dos modelos in vitro, DPPH y ABTS; usando como estándar o control positivo Hidroquinona. Además, se determinó el perfil cromatográfico de flavonoides por HPLC. El 50% de los extractos de metanol evaluados presentaron un porcentaje de actividad antioxidante superior al 25%; por el contrario los extractos de diclorometano solo fue del 18.5%. Para ambos ensayos DPPH• y ABTS•+ los extractos de metanol mostraron un porcentaje de actividad antioxidante mayor que los de diclorometano. Las especies más sobresalientes con su extracto de metanol fueron

Topobea cf discolor (40,80%) y Alchornea grandis (39,27%) pertenecientes a las familias Melastomataceae y Euphorbiaceae respectivamente. Los resultados obtenidos soportan el planteamiento de que algunas plantas medicinales prometen ser fuentes de antioxidantes naturales y que la actividad antioxidante de dichos extractos está relacionada con la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en la composición fitoquímica de la planta, que se pudo evidenciar en los espectros UV de los extractos. Los mejores resultados fueron obtenidos por Tovomita guianensis (Clusiaceae) con una actividad antioxidante de 54,97% y una abundancia alta de flavonoides lo cual es muy prometedor y podría analizarse con más detalle como alternativa natural.

Días (2011), en su investigación “Pulpa de Café: Coffea arabica L: como fuente alternativa de antioxidantes” se trabajó con residuos de café Coffea arabica L (pulpa fresca) procedente de la localidad de Vilcabamba seleccionada así por su disponibilidad y condiciones geográficas. Para la extracción de compuestos antioxidantes la muestra de café fue tratada con tres solventes de extracción: metanol, etanol y mezcla de solventes: metanol/acetona. La medición de actividad antioxidante se realizó bajo cuatro métodos diferentes: ABTS, DPPH, FRAP y Fenoles Totales. Los resultados mostraron que la extracción con mezcla de solventes (metanol/acetona) extrajo mayor cantidad de compuestos antioxidantes: DPPH $22,85 \pm 1,14$; ABTS $17,93 \pm 1,66$; FRAP $25,58 \pm 0,02$ $\mu\text{Mol eq. Trolox /g PF}$ respectivamente y Fenoles totales $135,16 \pm 5,51$ mg eq. Ac. Gálico /100g PF. La pulpa fresca de café tiene una capacidad antioxidante considerable en comparación con frutas reconocidas como fuente de antioxidantes.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Antioxidantes

En la actualidad los consumidores se preocupan por una dieta saludable, y los términos “radicales libres” y “antioxidantes” están de moda, va más allá de una dieta adecuada en el sentido de aportar nutrientes para satisfacer necesidades metabólicas y saciar su sensación de hambre. Hoy en día se acentúa la potencialidad de los alimentos para la promoción de la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de enfermedades. El concepto de “nutrición adecuada”, tiende a ser sustituido por el de “nutrición óptima”, en este ámbito aparecen los alimentos “funcionales” si su aporte es beneficioso para las funciones del organismo. (Murcia, Vera, & Martínez-Tomé, 2003, pág. 99)

Los antioxidantes son sustancias cuya acción consiste en inhibir la oxidación provocada por la acción de radicales libres (disminuyen las defensas, producen daño celular con la posibilidad de producir cáncer, arteriosclerosis y envejecimiento). El antioxidante al chocar con un radical libre cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil no tóxico descrito por Cárdenas (2001), citado por Durand (2015).

Un antioxidante se puede definir como una sustancia capaz de retrasar o prevenir la oxidación de sustrato, (Murcia, et al., 2003). Entre estos componentes antioxidantes están los carotenos, flavonoides, vitamina C y E, y otros fitoquímicos (Medrano, 2005).

Ejercen propiedades protectoras, previniendo la producción de radicales libres o neutralizando los producidos en el cuerpo en sus funciones habituales, como la respiración o la digestión. (Serrano, 2010, pág. 8)

2.2.1.1. Clasificación

Cömert & Gökmen (2017), Los antioxidantes se puede clasificar en 2 grupos por solubilidad: compuestos antioxidantes solubles (en agua y en lípidos) y compuestos antioxidantes insolubles. Los carotenoides y tocoferoles se encuentran entre los antioxidantes liposolubles, mientras que los compuestos fenólicos y el ácido ascórbico son antioxidantes hidrosolubles. Su solubilidad depende de su ubicación en los alimentos y las macromoléculas con las que están vinculados en la matriz alimentaria.

Los antioxidantes en los alimentos se pueden encontrar generalmente en 2 formas: libre (I) y formas ligadas (II, III y IV). Además, el mismo antioxidante puede estar presente en forma libre o ligada en distintos alimentos, (Gökmen, Serpen, & Fogliano, 2009; Yeo & Shahidi, 2015)

Según Moharram & Youssef (2014), los antioxidantes pueden clasificarse de acuerdo a su función como: Antioxidantes primarios y Antioxidantes secundarios. Los antioxidantes primarios son los que rompen la cadena que reaccionan con los radicales lipídicos y los convierten en productos más estables. Son principalmente fenólicos, en estructura: minerales antioxidantes, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos.

Los antioxidantes secundarios son compuestos fenólicos que realizan la función de capturar radicales libres y detener las reacciones en cadena. Los

compuestos incluyen: hidroxil anisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT) y galato de propilo (PG) (Moharram & Youssef, 2014).

También se pueden dividir en dos clases: los antioxidantes enzimáticos y los antioxidantes no enzimáticos: Algunos de estos antioxidantes se producen endógenamente, que incluyen enzimas, moléculas de bajo peso molecular y cofactores enzimáticos. De acuerdo con lo descrito por Ratnam, et al. (2006), citado por Moharram & Youssef, (2014); entre los antioxidantes no enzimáticos, muchos se obtienen de fuentes dietéticas. Los antioxidantes dietéticos se clasifican en varias clases, siendo los polifenoles la clase más grande. Los cuales consisten en ácidos fenólicos y flavonoides. Las otras clases de antioxidantes dietéticos incluyen vitaminas, carotenoides, organosulfural y minerales.

2.2.2. Polifenoles.

Los compuestos bioactivos provenientes de las plantas como los compuestos polifenólicos han ganado un interés sustancial en los recientes años debido a sus funciones y valor nutricional, incluyendo actividades antioxidantes, antimicrobianas, antimutagénicos y antitumorales (Nsor-atindana, Zhong, Kebitsamang, Bangoura, & Lagnika, 2012)

Rebolo (2007), refiere que estudios in vitro han concluido que los polifenoles naturales poseen una mayor actividad antioxidante que las vitaminas E y C. En el grupo de los ácidos fenólicos encontramos al ácido gálico, el cual se emplea como estándar en la medición de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu, debido a su adecuada estabilidad, alta solubilidad en agua y bajo costo.

Los polifenoles son principales contribuyentes al sistema antioxidante químico de los frutos y su actividad antioxidante ha sido asociada a sus características químicas estructurales como la capacidad de donación de protones hidroxilos, la capacidad de deslocalizar y estabilizar electrones desapareados (Espinal & Restrepo, 2010).

2.2.2.1. Beneficios

Según Ordoñez-Gómez, Reátegui-Díaz, & Villanueva-Tiburcio (2018), diversas publicaciones, hacen referencia a los efectos benéficos de los polifenoles obtenidos de plantas y frutas, por sus efectos anticancerígenos, cardioprotector, antidiabético, neuroprotector, efectos antiperoxidación lipídica, antialérgico, antiaterogénico, antiinflamatorio, antimicrobiano, anticancerígena, antitrombótica, y efectos vasodiladores, así como la capacidad para neutralizar las especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno.

2.2.2.2. Usos

Los polifenoles presentan varias aplicaciones industriales, como la producción de pinturas, papel, cosméticos, como agentes curtientes de pieles, fármacos y como alelopáticos (Flores, 2015).

2.2.2.3. Clasificación de los Polifenoles

En la tabla 1 se presenta la clasificación de los compuestos fenólicos y sus propiedades biológicas asignadas.

Tabla 1

Clasificación y propiedades de los compuestos fenólicos

Grupo	Subgrupo	Propiedades
Fenoles y ácidos fenólicos	Fenoles sencillos, estilbenos, ácidos fenólicos	Antioxidante frente a desordenes cardiovasculares, antiinflamatorias y anticancerígenas.
Cumarinas	Sencillas, C-prednilada, dicumarinas	Antiinflamatorios, antiespasmódicos, y anticoagulantes.
Lignanós	Simple, ciclolignanós, flavanolignanós, lignina	Efecto antimitótico, antimicótico, antivírico, laxante hepatoprotector, antirradicales libres, diurético, antiinflamatorio
Flavonoides y compuestos relacionados	Flavonoles, flavanololes, flavonas, flavanonas, chalconas, isoflavonoides, antocianidinas, catequinas, leucoantocianidinas	Actividad antioxidante
Taninos	Taninos hidrolizables, taninos condensados	Agentes quelantes
Quinonas y antracénósidos	Benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas, antraciclina, oxantronas, antronas, dihidroantranoles	Antitúxico, antisépticas, laxantes, antibióticas.

Nota. Tomado de Murcia, et al. (2003)

2.2.2.4. Determinación de polifenoles con el reactivo de folin-ciocalteu

Flores (2015), menciona que este método ha sido utilizado durante muchos años como una medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos naturales. Sin embargo, el mecanismo básico del método es una reacción redox por lo que puede considerarse como otro método de medida de la actividad antioxidante total. El método que se utiliza actualmente es una modificación efectuada por Singleton y Rossi (1965).

Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio y molibdeno. La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm y se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico Singleton y Rossi (1965) (citado por Flores , 2015).

Se trata de un método simple, preciso y sensible pero que sin embargo sufre de numerosas variaciones cuando es aplicado por diferentes grupos de investigación, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes empleados de muestra, concentraciones de reactivos, y tiempos y temperaturas de incubación. Además, se producen variaciones en el modo de expresar los resultados de modo que el patrón recomendado de ácido gálico se ha sustituido en ocasiones por los ácidos ferúlico, tánico, cafeico, clorogénico, protocatéuico, vanílico o por catequina (Flores, 2015).

2.2.3. Capacidad Antioxidante

Bioquímicamente los compuestos antioxidantes tienen la capacidad de catalizar el transporte de electrones y capturar radicales libres, estas propiedades solo han podido ser puestos de manifiesto en ensayos in vitro sobre la inhibición de enzimas, efectos antiinflamatorios, acción antibacteriana-antiviral, secuestro de metales, actividad vascular, envejecimiento, anticancerígeno; las sustancias antioxidantes de las bebidas reaccionan con el DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazil) y la reducción del reactivo es

seguido midiendo la disminución de la absorbancia (descrito por Cao (1966) citado por Durand (2015)).

Para combatir los radicales libres, nuestro organismo desarrolla como defensa un sistema basado en agentes antioxidantes como las vitaminas C, A, E, polifenoles, carotenoides, minerales tales como zinc, selenio y magnesio que se obtienen a partir de la dieta. (Velázquez, Prieto, & Contreras, 2004).

2.2.3.1. Métodos para determinar la capacidad antioxidantes

Los métodos para ensayar la actividad antioxidante de una muestra pueden ser clasificados, en principio, en dos categorías: 1) Aquellos métodos que miden la capacidad para ceder un electrón (o un átomo de hidrógeno) a una EAO específica o a cualquier otro aceptor electrónico; y 2) métodos que determinan la capacidad para eliminar la fuente de inicio del proceso oxidativo, por ejemplo, inhibición de enzimas, quelatación de metales de transición, absorción de luz UV, etc. Citado por (Barahona, 2013, pág. 50)

Dentro de los métodos se enumeran los siguientes (Serrano, 2010, pág. 16):

- Capacidad de absorbancia del radical oxígeno (ORAC).
- Método de blanqueamiento de Crocina.
- Parámetro total del atrapamiento de radicales por antioxidantes.
- Fenoles totales por reactivo Folin-Ciocalteu.
- Poder reductor
- Potencial antioxidante total usando Cu(II)

- Capacidad de reducción del radical 2,2-difenol-1-picrilhidrazil (DPPH●)
- Inhibición de la Polifeniloxidasa (PPO)

Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity).

El fundamento del método ORAC se basa en la habilidad que tienen los compuestos antioxidantes para bloquear radicales libres por donación de un átomo de hidrógeno:



En este método, el radical artificial AAPH (2,2'-Azobis-(2-aminopropano)-dihidrocloruro) oxida a la fluoresceína de forma que esta pierde su fluorescencia. De esta forma, las sustancias antioxidantes presentes en el extracto obtenido a partir del alimento disminuirían dicha pérdida de fluorescencia (Ou, Huagn, Hampsch-Woodill, Flanagan, & Deemer, 2002).

Método DPPH

Se conoce así a la técnica que emplea el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo como radical. El DPPH es un radical libre que se puede obtener directamente disolviendo el reactivo en un medio orgánico. La reducción del DPPH se monitorea por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda

característica. En su forma de radical libre, el DPPH absorbe a 515 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorción desaparece (Herrera, 2016).

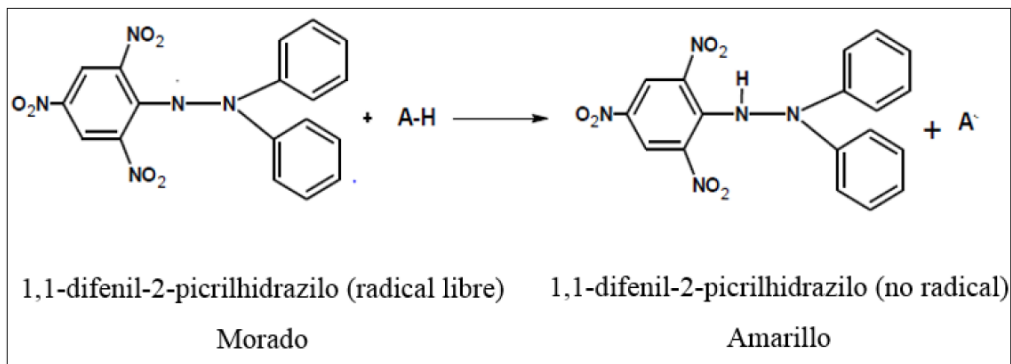


Figura 1. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante. Tomado de Alam, Bristi, & Rafiquzzaman (2012).

Donde AH es un antioxidante que actúa como anti radical donando átomos de hidrogeno, dando como resultado radicales con estructuras moleculares estables que detendrán la reacción en cadena, el nuevo radical formado (A) puede interactuar con otro radical para formar moléculas estables (DPPH-A, A-A) (figura 1). La reacción entre DPPH y un compuesto depende de la conformación estructural del mismo, por lo que las comparaciones cuantitativas no siempre son apropiadas (Herrera, 2016).

Los resultados del ensayo DPPH se han presentado de diferentes maneras. La mayoría de los estudios expresan los resultados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC₅₀), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto. Para extractos de plantas o compuestos puros el valor

IC50 cambia de acuerdo a la concentración final del DPPH usado. El empleo del radical DPPH en el método espectrofotométrico posee ventajas en cuando a simplicidad, confiabilidad, reproducibilidad y rapidez para la determinación de actividad antioxidante. (Deng, Cheng, & Yang, 2011)

2.2.4. Café

2.2.4.1. Aspectos generales

El cafeto (*Coffea arabica* L.) es la planta estimulante más difundida en el mundo, es oriunda de Abisinia (actual Republica de Etiopía), situado en la parte nororiental del continente africano (Barrenechea, 1986). La introducción al continente americano se hizo en 1717, con semillas provenientes principalmente de Surinam. Primero llegó a las islas del Caribe (principalmente Haití), luego a Cuba (León, 1968, pág. 487) de donde pasó a Sudamérica. Al Perú se introdujo a mediados del siglo XVII, pues algunos estudios señalan que ya en 1760 se encontraban plantas silvestres de café en el valle de Chinchao, en el departamento de Huánuco (Barrenechea, 1986).

Borjas (2008), refiere que el tallo tiene una altura que va desde 3.0m a 8.0m, las ramas son largas, delgadas y horizontales. Las hojas son enteras, persistentes, opuestas, de superficie lisa y lustrosa; con una longitud de 10cm a 15cm de largo y de 3cm a 5cm de ancho. Las flores son de color blanca, muy olorosas y están agrupadas de 3 a 18 en las axilas de las hojas (Utimenko-Bakumovski, 1980). El fruto, es una drupa esférica, carnosa, de matiz rojo, negruzco o amarillento; la

parte exterior es jugosa y de sabor dulce (Guharay et al, 2000; Utimenko-Bakumovski, 1980) (pág.11).

2.2.4.2. Clasificación taxonómica

El café pertenece a la familia de las Rubiaceas que tiene 500 géneros y 8000 especies. Uno de los 500 géneros de esta familia es Coffea, constituido por árboles, arbustos y bejucos; comprende unas 10 especies cultivadas y 50 especies silvestres descrito por Chalarca (1987) citado por (Borjas, 2008, pág. 10)

2.2.4.3. Principales especies de café cultivadas

El café tiene alrededor de 60 especies en el mundo, de las cuales las más cultivadas son dos, arábica y robusta. (Ministerio de Agricultura, 2007):

Arábica o Coffea arábica, originaria de Etiopía, es la especie más apreciada y cultivada en el mundo, especialmente en las zonas altas de América Latina y parte de África, representando el 70% de la producción mundial, porque produce un café fino con cualidades aromáticas y sabores más exquisitos. Entre los países productores de café arabica destacan: Brasil, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, Haití, Jamaica, Kenia, México, Perú, Puerto Rico, República Dominicana, Salvador, Tanzania y Venezuela.

Robusta o Coffea canephora, especie con posible origen en África o Indonesia, tiene un precio más bajo y puede ser cultivada en zonas bajas hasta una altura de 600 m., resiste mejor a las enfermedades y sus rendimiento es más elevado. Esta especie posee sabor más fuerte, suele ser empleada para mezclarse

con otros cafés, es utilizada generalmente para la elaboración de cafés solubles y descafeinados, debido a que contiene más cafeínas, es más fuerte y más ácido.

2.2.4.4. La producción cafetalera en Perú

En Perú el café se cultiva en elevaciones desde los 600 hasta los 1 800 metros sobre el nivel del mar en casi todas sus regiones geográficas. Sin embargo, el 75% de los cafetales está sobre los 1 000 metros sobre el nivel del mar. La variedad de climas, suelos, precipitación y de luz solar conforman un ambiente ideal para la producción del café. Las variedades cultivadas son: típica (70%), caturra (20%) y otras (10%). (Canet, et al., 2016)

El café es cultivado en 210 distritos rurales ubicados en 47 provincias de 10 departamentos de un total de veinticuatro que conforman el Perú. La superficie cultivada es de aproximadamente 230 000 hectáreas distribuidas en tres zonas y la región más apropiada y que produce café de alta calidad está localizada al extremo central oriental de la Cordillera de los Andes, conocida como zona de la selva con clima de región tropical (Navarro, 2015).

La zona norte compuesta por 98 000 hectáreas cafetaleras ocupa el 43% del área total y agrupa los departamentos de Piura, Cajamarca, Amazonas y San Martín. La zona central comprende 79 000 hectáreas, que es aproximadamente el 34% de los cafetales del Perú, y reúne Junín, Pasco y Huánuco (Canet, et al., 2016).

En la cosecha 2014-2015 la producción de café de Perú ascendió a 2 883 millones de sacos de 60 kilos y para la cosecha 2015-2016 el volumen producido fue de 3 200 unidades (Canet, et al., 2016). En la Figura 2, se muestran las regiones productoras de café en el Perú.



Figura 2. Regiones productoras de café en el Perú. Tomado de García & Barreto (2007).

Finalmente los departamentos de Apurímac, Ayacucho, Cusco y Puno y abarcan 53000 hectáreas que comprenden el 23% del área total. Los pequeños caficultores con fincas de dimensiones menores a 10 hectáreas son el 62,5%, el 30% tiene fincas de tamaño entre 10 y 30 hectáreas y el 7,5% con fincas mayores a 30 hectáreas. En procura de alinearse a las tendencias de mercado, los caficultores peruanos cultivan café orgánico y otros tipos de calidades especiales, reconocidos por sus características refinadas de calidad de taza, su acidez y sabor balanceado que se apega a los microclimas definidos como “estricta altura” (entre 1400 y 1800 metros sobre el nivel del mar) (Navarro, 2015). En la figura 3, se muestra el volumen de producción nacional mil toneladas, de los últimos 18 años.

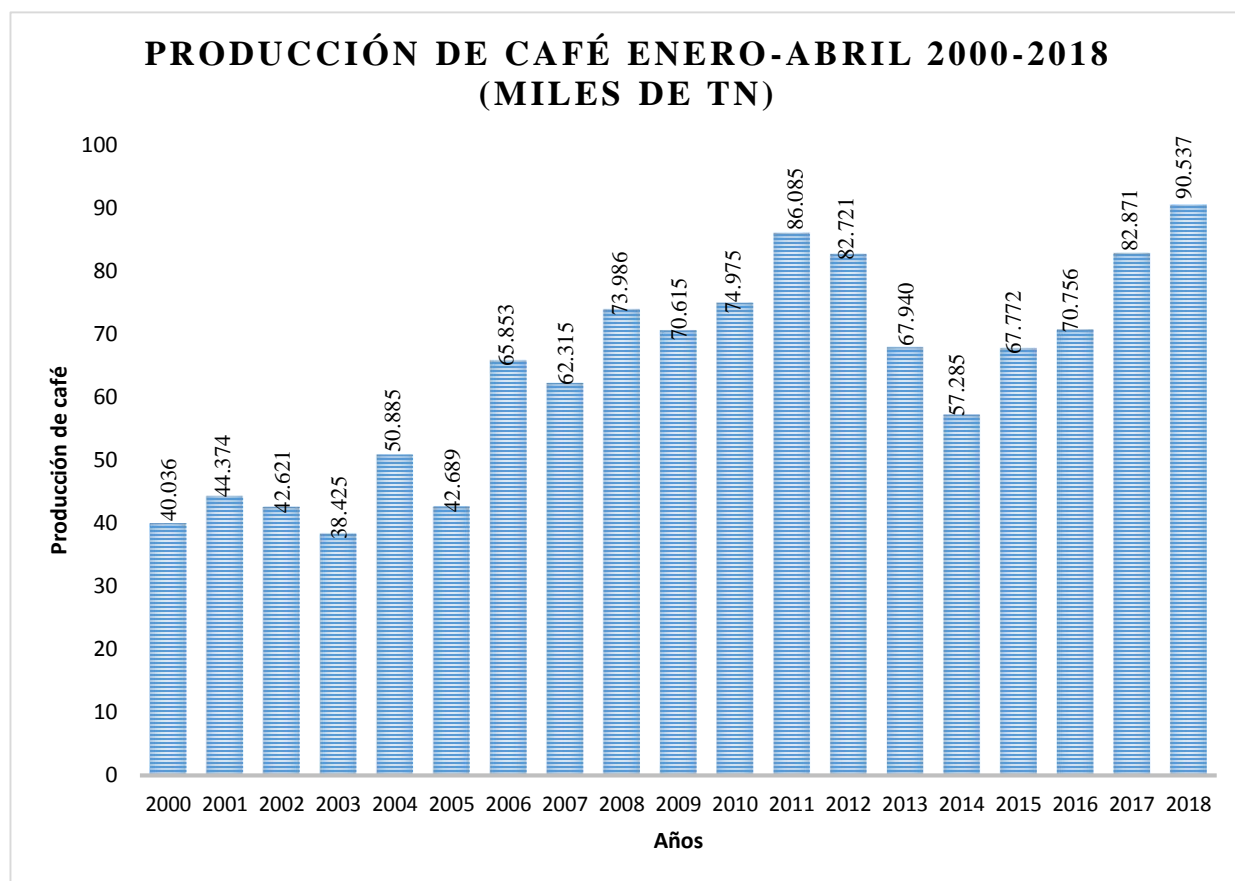


Figura 3. Producción de Café, Enero – Abril 2000 – 2018. Adaptado de Ministerio de Agricultura y Riego (2018)

En el Perú, la producción de café en el periodo Enero – Abril, ha ido en aumento gradualmente, en el año 2000 la producción nacional alcanzo las 40,036 mil toneladas, en el 2006 la producción alcanzó un volumen de 65,853 mil toneladas, el año 2011 aumento a 86,085 mil toneladas y este año alcanzó un volumen de producción de 90,537 mil toneladas.

2.2.4.5. Estacionalidad

La campaña cafetalera tiene un ciclo anual que se divide en cuatro etapas bien definidas, como se observa en la figura 4. El inicio de la campaña está determinado por el inicio de la temporada de lluvias, en la cual se inicia el periodo de floración de los cafetales. (Castañeda, 2000)

Ciclo del café											
Etapas	Jul	<u>Ago</u>	Set	Oct	Nov	Dic	Ene	Mar	Abr	<u>May</u>	Jun
Descanso											
Floración											
Llenado de grano											
Cosecha											

Figura 4. Ciclo del café. Tomado de García & Barreto (2007).

Castañeda (2000), Describe:

- En la etapa de descanso el cafeto suele recibir un tratamiento especial, es época de verano por lo que no llueve, no crecen los tallos, ni las ramas, se suele aprovechar para abonar, retirar las malezas y fumigar.
- En la etapa de floración, se inicia la absorción de agua y sustancias minerales debido al inicio del periodo de lluvias, comprendiendo en los meses de setiembre a diciembre.

- En el llenado del grano, los frutos alcanzan su máximo tamaño, esto ocurre en la época más lluviosa, entre diciembre y marzo.
- En la época de cosecha, culmina el desarrollo de la cascara y la pulpa, ocurre entre abril y junio.

2.2.4.6. Beneficio húmedo del café

El beneficio húmedo es un proceso para transformar los frutos del cafeto de su estado cerezo a café pergamino, (Coronel & Marín, 2010) este es un factor determinante en la calidad de taza.

Según Urquijo (2016), en la primera etapa del Beneficio de café se debe recolectar los frutos maduros del árbol, luego se lleva el café recolectado a la tolva de recibo, después es llevado a la despulpadora donde se remueve la pulpa del café el mismo día de su recolección para evitar una descomposición del grano utilizando un gran volumen de agua en esta operación, después se deja fermentar un día para luego remover el mucilago que es la capa superior que cubre el grano de café, una vez removido el mucilago se procede al lavado del café con agua limpia para disminuir los posibles residuos que hayan quedado sin ser expulsados por el tratamiento mecánico, y para finalizar se extrae el café lavado para su secado tradicional con energía solar.

En la figura 5 se presenta el diagrama de flujo del beneficio húmedo de café y los subproductos generados durante este proceso.



Figura 5. Diagrama de Flujo Beneficio Húmedo de café. Tomado de Urquijo (2016).

2.2.4.7. Subproductos del Café

En la industria del café, solamente se utiliza el 9,5% del peso del fruto fresco en la preparación de la bebida, el 90,5% queda en forma de residuos. (Rodríguez, Manejo de residuos en la agroindustria cafetera, 2002) La pulpa es la parte más voluminosa, representa entre el 40 - 56% en peso de este, además de contener

agua (20%), pulpa (41%), cascarilla (4,5%), mucílago (16%). (Coronel & Marín, 2010)

La pulpa de café es utilizada en el mundo para la producción de biogás, obtención de abono orgánico, producción de hongos comestibles, obtención de alcohol, vinos, alimentación animal y obtención de carbón activado.

Cascara de café

En relación al carácter nutricional de la cascara de café, se puede resaltar su alto porcentaje de fibra cruda, a pesar de no cumplir funciones metabólicas aporta en los procesos fisiológicos como regulador del tránsito gastrointestinal. (Franco & Suárez, 2014). En la tabla 2 se muestra la composición proximal de la cascara de café.

Tabla 2

Composición proximal de la cascarilla de café

Parámetro	%
Materia seca	88,4 ± 3,2
Proteína cruda	9,3 ± 1,0
Fibra cruda	37,2 ± 7,6
Cenizas	6,5 ± 2,1

Nota. Tomado de Bouafou, Konan, Zannou-Tchoko, & Kati-Coulibally (2011).

Usos

La cascarilla de café es un subproducto que se lo emplea principalmente para la alimentación animal (ganado, ovejas y cerdos) como constituyente de

balanceados, utilizada también como fuentes potenciales de antocianinas para aplicaciones como colorantes de alimentos naturales; y, como sustrato en cultivo para hortalizas (Bouafou, et al. , 2007; García J. , 2008).

El mucílago

El mucílago o mesocarpio es una parte constitutiva de café, que queda expuesto cuando este es despulpado, cuando se separa el epicarpio o cascara del resto. El mesocarpio o mucilago queda expuesto adherido al endocarpio. Este compuesto es un coloide con fuerte capacidad de retención de agua (Oliveros & Gunasekaran, 1994), por esto su contenido de húmeda es muy variable de acuerdo a las condiciones climáticas que prevalezcan durante su recolección (Álvarez, 1991).

El mucílago está compuesto por sustancias pépticas, azúcares, celulosa y cenizas entre otros y representa cerca del 14,85% del peso fresco del fruto (Rodríguez, 2009). En la tabla 3 se presenta la composición del mucílago.

Tabla 3

Composición de mucílago

	Min	Promedio	Max
Humedad (%)	89,4	92,2	95,8
Azúcares reductores	49,14	63,74	84,47
Azúcares totales	60,24	79,74	99,81
Contenido de pectina	4,6	10,975	19,08
Totales (ppm)	37,708	79,984	104,460

Nota. Tomado de Rodríguez (1999).

De acuerdo con Oliveros & Gunasekaran (1994), la caracterización reológica del mucílago lo clasifica como un fluido no newtoniano con comportamiento altamente pseudoplastico ya que contiene sustancias de alto peso molecular y su viscosidad aparente depende de la velocidad de deformación por cizalladura pero no del tiempo al que están sometidos a la tensión cizallante, es decir es menos viscoso a medida que aumenta la velocidad de deformación.

Al mucílago del café se lo utiliza en la alimentación de porcinos, producción de alcohol etílico y la borra para la producción de manitol, los trabajos que se están desarrollando para el aprovechamiento de los subproductos, son la obtención de pectinas a partir de la pulpa y el mucílago del café, y el cultivo de hongos tropicales sobre residuos agroindustriales presentes en la zona cafetera. (Rodríguez, 2002)

2.2.4.8.Utilización de la pulpa del café

A través de investigaciones se ha podido establecer que la pulpa de café posee factores anti-nutricionales o tóxicos que limitan su uso en la alimentación animal, identificando que dentro de tales factores los más nocivos son cafeína, taninos, polifenoles y el alto contenido de fibra de la pulpa. (Moreau, Arredondo, Gaime, & Roussos, 2003)

El ensilaje de la pulpa de café es una alternativa válida para manipular y almacenar las enormes cantidades de pulpa de café que se producen en las fábricas de todo el mundo que procesan el fruto del café. (Moreau, et al., 2003)

2.2.4.9. Antioxidantes en el café

El café es una fuente considerable de polifenoles y compuestos fenólicos, que puede aportar antioxidantes a la dieta, particularmente en el caso de nuestro país, donde no se consumen de forma regular otras bebidas como el vino o el té, también abundantes en compuestos de esta naturaleza. El grano de café contiene diferentes sustancias bioactivas, y las cantidades de estas sustancias en el extracto de café, variarán dependiendo de la técnica de extracción utilizada descrito por (Kreicbergs y Dimins, 2011; Kocadagli y Gökmen, 2016; Shang et al., 2017) citado por (Vega , De León, & Reyes, 2017).

2.3. Definiciones conceptuales

- **Arábica:** especie de café que se caracteriza por tener bastante cuerpo y un aroma afrutado. Se cultivan principalmente en América y África.
- **Beneficio:** proceso que comprende la descerezada, fermentación, lavado y secado del café.
- **Calidad:** clasificación de los cafés de acuerdo a la altitud, variedad botánica, tipo de beneficiado, densidad, tamaño del grano, calidad de taza, color, imperfecciones del grano y la presencia de materia extraña.
- **Café orgánico:** café producida sin productos sintéticos ni químicos.
- **Descascarado:** acción de quitar las cubiertas del café seco.
- **Desmucilaginado:** desprendimiento del mucílago o baba del grano de café despulpado.
- **Despulpado:** eliminación o remoción de la pulpa o cáscara (epicarpio) del café maduro.

- **Mucílago:** sustancia azucarada, de consistencia gelatinosa, y de color cremoso que cubre los granos de café.
- **Pergamino:** cáscara dura de color crema a marrón que recubre al café. / Café que todavía no ha perdido la cáscara.

2.4. Formulación de Hipótesis

2.4.1. Hipótesis General

Si existe presencia de Polifenoles totales y capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L”

2.4.2. Hipótesis Específicos

- Si se puede evaluar las características fisicoquímicas de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L”
- Es posible determinar la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L” por los métodos DPPH y ORAC
- Existe presencia de Polifenoles totales en la cáscara y mucílago de la especie “Coffea Arabica L”

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1.Diseño Metodológico

En la figura 6 se muestra el diseño metodológico de esta investigación. Se realizara la preparación de muestras, seguido de una extracción con dos solventes (Metanol, Yonque y Metanol /Acetona) y finalmente se realizara análisis de polifenoles y capacidad antioxidante por dos métodos (ORAC y DPPH).

3.1.1. Tipo de Investigación

El tipo de investigación aplicado y experimental.

3.1.2. Enfoque

La investigación se realizará para obtener información acerca de la actividad antioxidante y Polifenoles de la cascara y mucilago de café, por lo cual se desarrollará bajo un enfoque aplicado – cuantitativo.

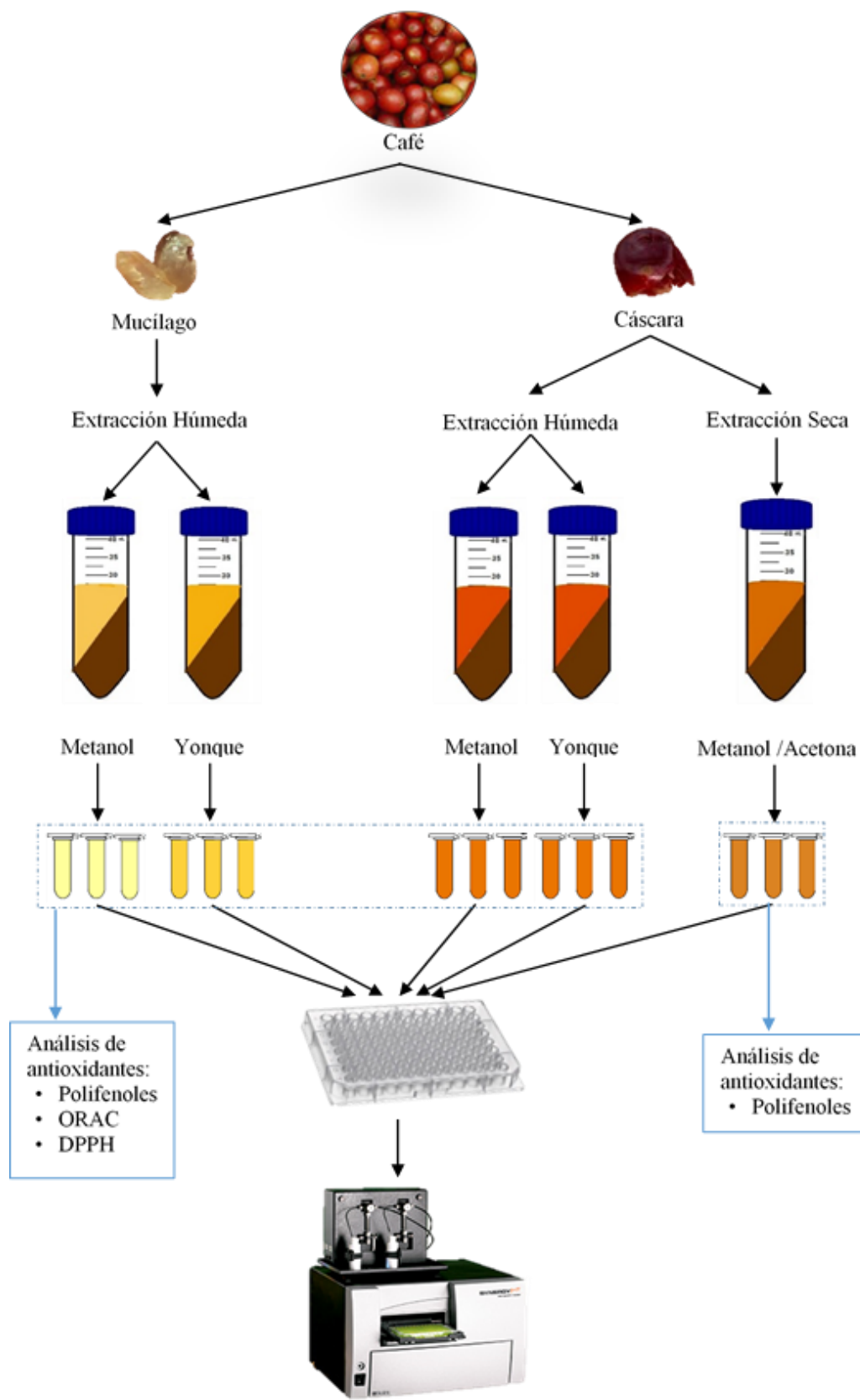


Figura 6. Diseño metodológico de la investigación (fuente: Propia)

3.2.Población y Muestra

3.2.1.Población

La población está conformada por granos de café “Coffea arabica L.” proveniente de la provincia de San Ignacio (Latitud: 05°06’09” Sur; Longitud: 78°54’50” Oeste; Altitud: 1092 msnm) conocida como la tierra del Café, la Miel de Abeja y Bosques Naturales. Su población tiene por actividad económica la agricultura la cual se basa exclusivamente al cultivo del café, San Ignacio pertenece al departamento de Cajamarca, considerada la segunda región cafetalera del Perú, con el mejor café del Perú según Taza de Excelencia, una competencia internacional que premia a los mejores cafés de calidad y que por primera vez se ha realizado en el país. (Cafelab, 2017)

3.2.2.Muestra

La unidad de análisis está conformada por: 500 g de cascara de café “Coffea arabica L.” (Desechada) y 200 g de café maduro entero. “Coffea arabica L.” (Obtención de mucilago).

La cáscara desechada y el café entero (obtención de mucilago) fueron transportados desde el lugar de cultivo, las muestras se almacenaron en recipientes de plástico, se congelaron y se colocaron en un tecnopor para mantener la temperatura, luego se enviaron como encomienda en la agencia CIVIA con destino a la provincia de Huaura, se recogieron y se trasladaron al laboratorio de industrias alimentarias de la Universidad Nacional “José Faustino Sánchez Carrión” para realizar los respectivos análisis

3.3.Operacionalización de Variables e indicadores

Tabla 4

Operacionalización de variables e indicadores

Variables	Definición conceptual	Dimensión	Indicadores	Metodología
Variable independiente: Cascara y mucilago de café de la especie Coffea Arabica L.	El grano del café es como una cereza roja. Llamémosle cáscara a la capa que lo recubre. Entre la cáscara y el grano, radica el mucílago, una película transparente y gelatinosa, la pulpa en el interior de la fruta.	Características fisicoquímicas	Humedad	Gravimetría
			Brix	Brixímetro
			pH	Potenciómetro
Variable dependiente: Determinación de la capacidad antioxidante y polifenoles totales.	Capacidad antioxidante: Es el número de moles de un radical libre determinado o secuestrado por la solución de prueba de forma independiente por un antioxidante en la mezcla.	Métodos para determinar antioxidantes	DPPH	Lector de microplacas
			ORAC	Lector de microplacas
		Método para determinar polifenoles totales	Folin- Ciocalteu	Lector de microplacas

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Para obtener datos de se realizaran tratamiento sobre las muestras de la siguiente manera:

3.4.1. Técnicas a emplear

3.4.1.1. Obtención de muestras

En la figura 7, se muestra un diagrama de flujo donde podemos observar el procedimiento para la obtención de muestras.

Cáscara de café: Muestra húmeda

a) Dilución

Se realizó una dilución de la cáscara de café, con agua destilada.

Se pesó 310 g de cáscara y se diluyo con 200 mL de agua destilada.

b) Licuado

La dilución anterior de cáscara de café y agua destilada, se licuó hasta obtener una mezcla marrón pastosa, la cual envasamos en bolsas transparentes herméticas y congelamos (en caso de no realizar la extracción).

Cáscara de café: Muestra seca

a) Secado

Colocamos la cáscara de café en el horno de secado durante 24 horas.

Transcurrido el tiempo verificamos que la cáscara de café estaba crujiente.

b) Molido

Para realizar la molienda de la cáscara de café, pesamos 5 g de cáscara seca y procedimos a molerla en un mortero hasta obtener partículas pequeñas. La cáscara molida se colocó en bolsas herméticas para evitar que se humedezcan.

Granos de café

Exprimido

Descongelamos los granos de café maduros, colocándoles en un recipiente con agua. Luego exprimimos cada grano de café, separamos el jugo (mucílago) y lo colocamos en un vaso precipitado.

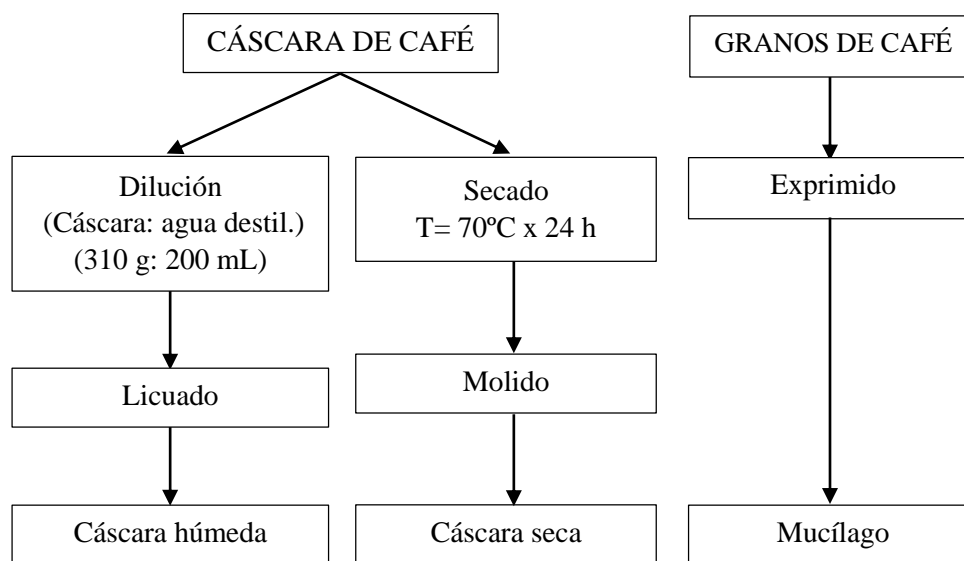


Figura 7. Obtención de muestras (fuente: Propia)

3.4.1.2. Obtención de extractos

Para la obtención de extractos se emplearon dos solventes: Metanol y Yunque. La preparación de los extractos se realizó según el procedimiento

descrito a continuación para los ensayos de capacidad antioxidante (ORAC y DPPH) y polifenoles.

Cáscara húmeda

Se pesó 10 g de cáscara húmeda, se le añadió 10 mL de solvente (Metanol o Yonque), se agito durante 60 minutos en el agitador orbital SHAKER; seguidamente se centrifugó durante 15 minutos a 5000 revoluciones por minuto. Retirar el líquido sobrenadante y colocarlo en tubos esferon de 2mL; almacenar en refrigeración para su posterior análisis. En la figura 8 y 9 se describe el procedimiento para cada solvente.

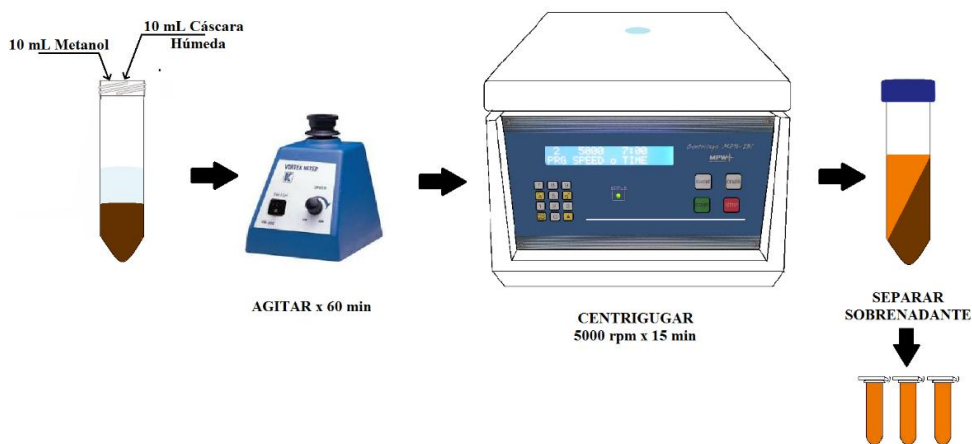


Figura 8. Extracción de cáscara húmeda con Metanol. (Fuente: Propia)

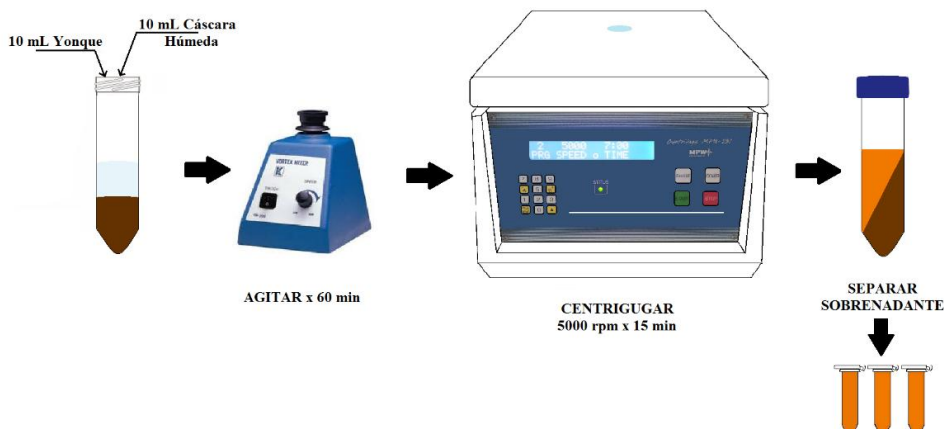


Figura 9. Extracción de cáscara húmeda con Yonque. (Fuente: Propia)

Cáscara seca

Se pesó 0.2g de cáscara de café molido en un tubo esferfon de 2mL, se añadió 1mL de solución Metanol/ agua (1:1 v/v pH 2.0) (Anexo 1), se agitó la solución en el homogeneizador de tubos VORTEX durante 5 minutos, centrifugar durante 15 minutos a velocidad máxima.

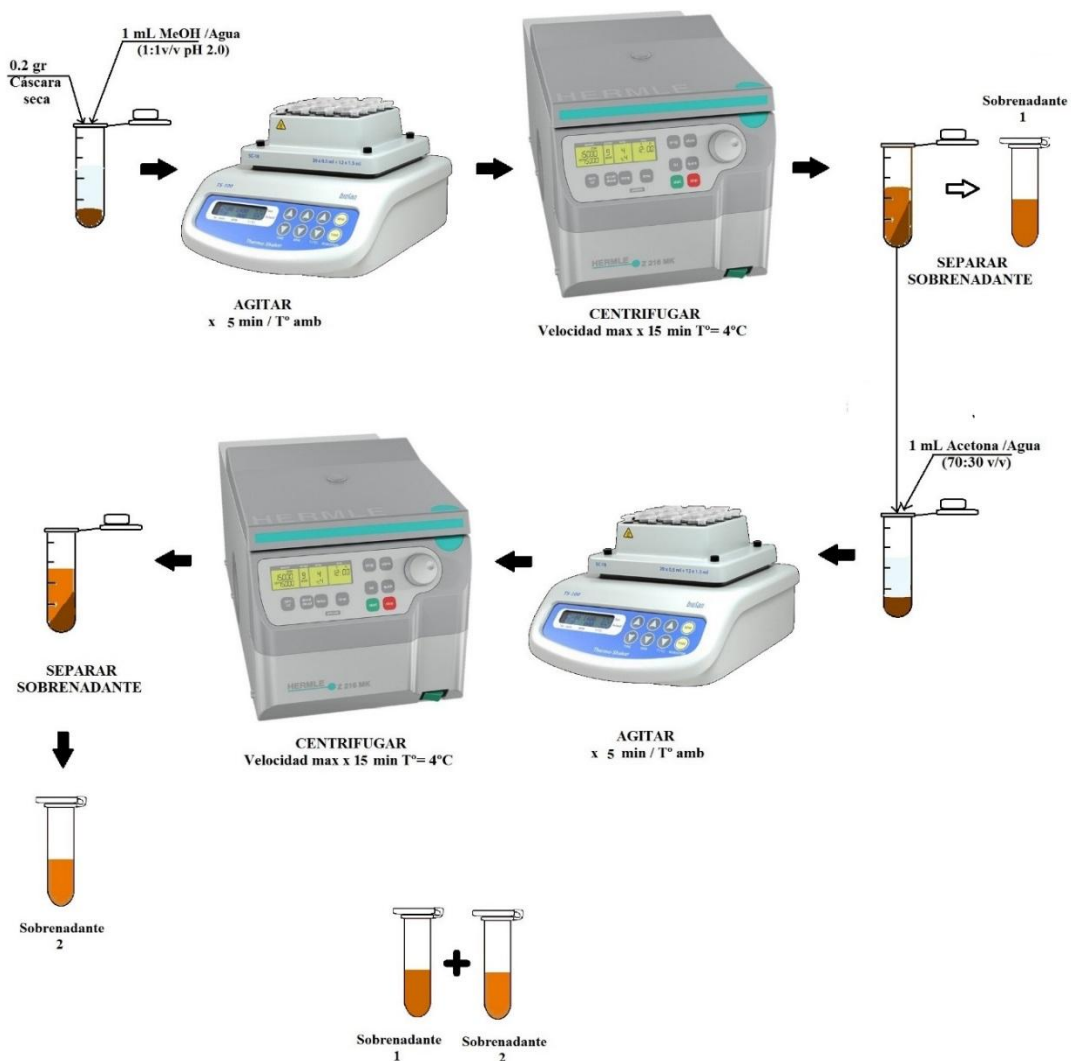


Figura 10. Extracción de cáscara seca con Metanol / Acetona

(Fuente: Propia)

Dejamos reposar la solución centrifugada durante 30 minutos, separar el sobrenadante (sobrenadante 1) en otro microtubo y reservar el precipitado. Al

cual se le añadió 1 mL de solución Acetona /Agua (70:30 v/v) (Anexo1). Se agitó la solución en el homogeneizador de tubos VORTEX durante 5 minutos más, se centrifugó durante 15 minutos a velocidad máxima. Reposar la solución centrifugada durante 30 minutos, separar el sobrenadante (sobrenadante 2) en otro microtubo y desechar el precipitado.

Finalmente mezclar los dos líquidos sobrenadantes (1 y 2), conservar en refrigeración hasta si posterior análisis. Tal como se muestra en la figura 10

Mucílago

Se pesó 10 g de Mucílago, se le añadió 10 mL de solvente (Metanol o Yonque). Se agito durante 60 minutos en el agitador orbital SHAKER; seguidamente se centrifugó durante 15 minutos a 5000 revoluciones por minuto. Retirar el líquido sobrenadante y colocarlo en tubos esperfon de 2mL; almacenar en refrigeración para su posterior análisis. En la figura 11 y figura 12 se describe el procedimiento para cada solvente.

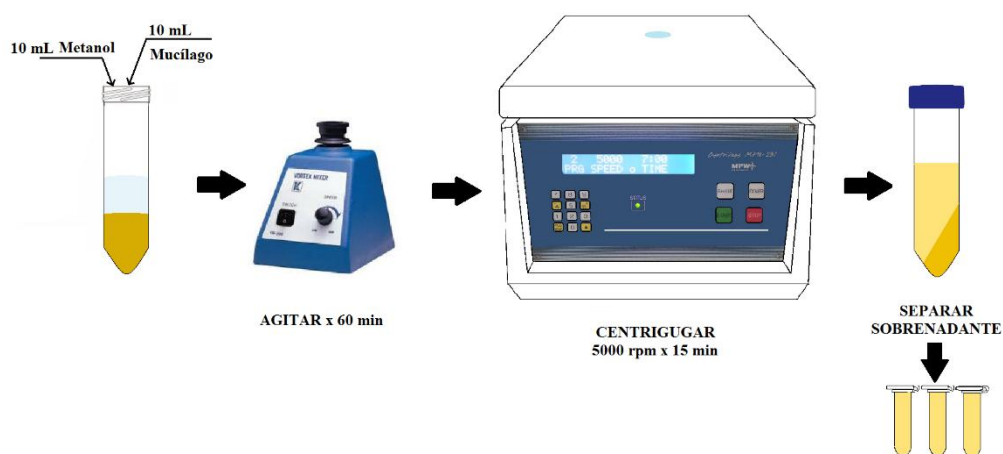


Figura 11. Extracción de mucílago con Metanol

(Fuente: Propia)

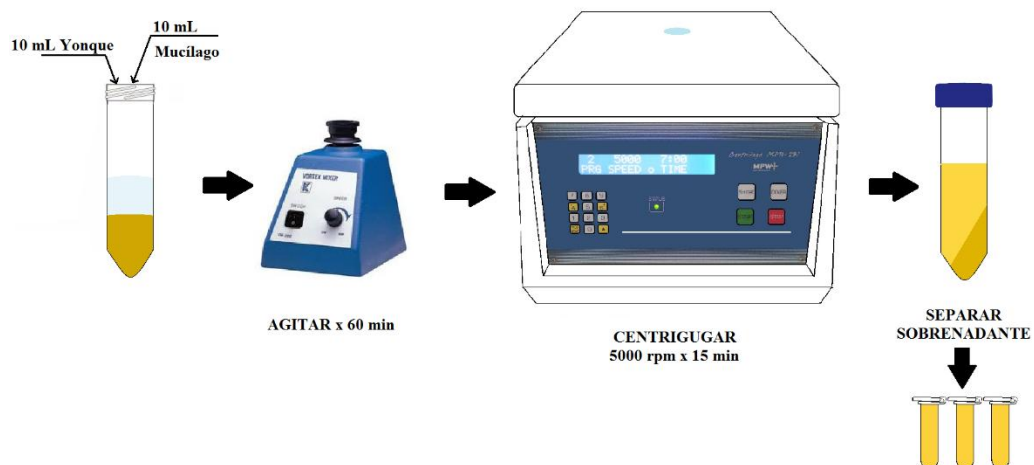


Figura 12. Extracción de mucílago con Yonque.

(Fuente: Propia)

Codificación de muestras

Los extractos de cada muestra: mucílago y cáscara (húmeda y seca), se le asignó un código de acuerdo al solvente empleado, como se muestra en la siguiente tabla (Tabla 5)

Tabla 5

Codificación de extractos

Código	Nombre de la muestra	Dilución
1.0	Extracto de cáscara húmeda con Metanol	1 / 100
1.1	Extracto de cáscara húmeda con Yonque	1 / 100
2.0	Extracto de mucílago con Metanol	1 / 100
2.1	Extracto de mucílago con Yonque	1 / 100
3.0	Extracto de cáscara seca con Metanol /Acetona	1 / 100

3.4.1.3. Métodos a emplear

Determinación de Humedad: Método de la estufa de aire (AOAC, 1990)

Fundamento: El método se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida de masa, de la muestra desecada hasta masa constante en estufa de aire.

Determinación de grados Brix: Método Indirecto por refractometría recomendado por la (AOAC, 2005)

Fundamento: Indirecto refractometría (AOA, 2005). Se procedió a medir el grado Brix respectivo a cada muestra.

Determinación de pH: Método potenciométrico recomendado por la (AOAC, 2005).

Fundamento: Evaluación de las diferencias de potencial entre un electrodo estándar de Calomel previamente calibrado usando sus sales amortiguadoras. Se procedió a medir el pH respectivo a cada muestra.

Método de Polifenoles totales por reactivo de Folin-Ciocalteu.

Según Swain y Hillis (1959). Los resultados se expresaron en mEq. Ácido gálico/mi de extracto. La ecuación de la curva estándar obtenida a partir del ácido gálico miliequivalente.

Para la preparación de la curva estándar, se realizó una dilución seriada de Ácido Gálico de concentración inicial de 35 mg/L con agua destilada hasta 0,2734 mg/L, tal como se muestra en la figura 13.

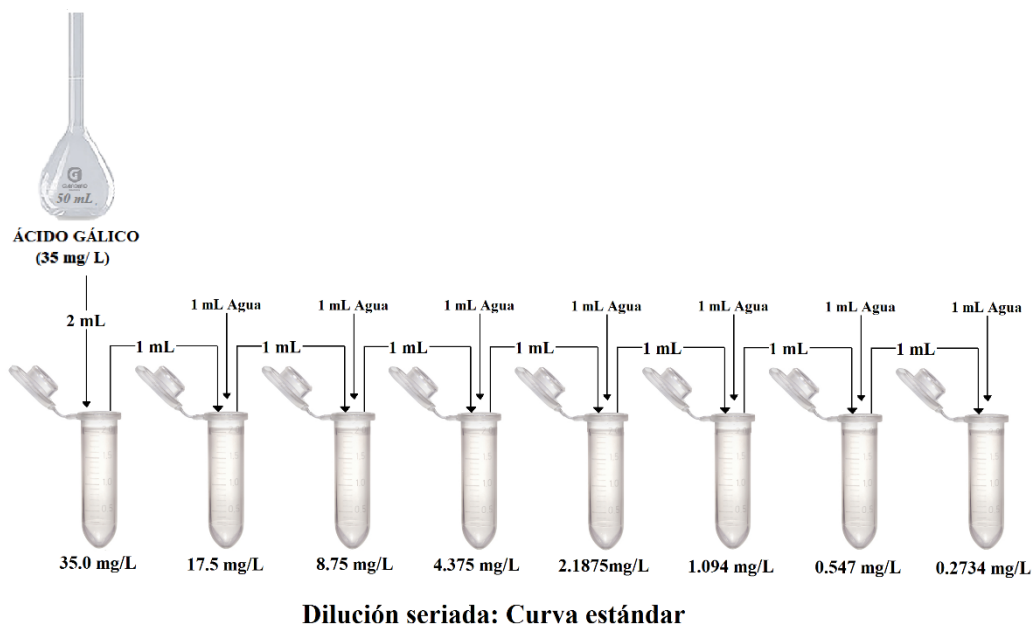


Figura 13. Curva Estándar de Ácido Gálico.

(Fuente: Propia)

Para determinar polifenoles, se colocó 50 μ L de muestra o curva estándar en un microtubo, se añadió 50 μ L de Reactivo de Folin – Ciocalteau, se agitó e incubó a temperatura ambiente por 2 minutos, luego se transfirió el contenido de cada microtubo (5 muestras y 8 diluciones de la curva) a los pocillos de la microplaca transparente, a cada pocillo se le añadió 100 μ L de Hidroxido de Sodio 0,35M; incubamos la microplaca a temperatura ambiente de 3 a 5 minutos y finalmente realizar la lectura a una absorbancia de 760 nm en la lectora de microplaca (Figura 14).

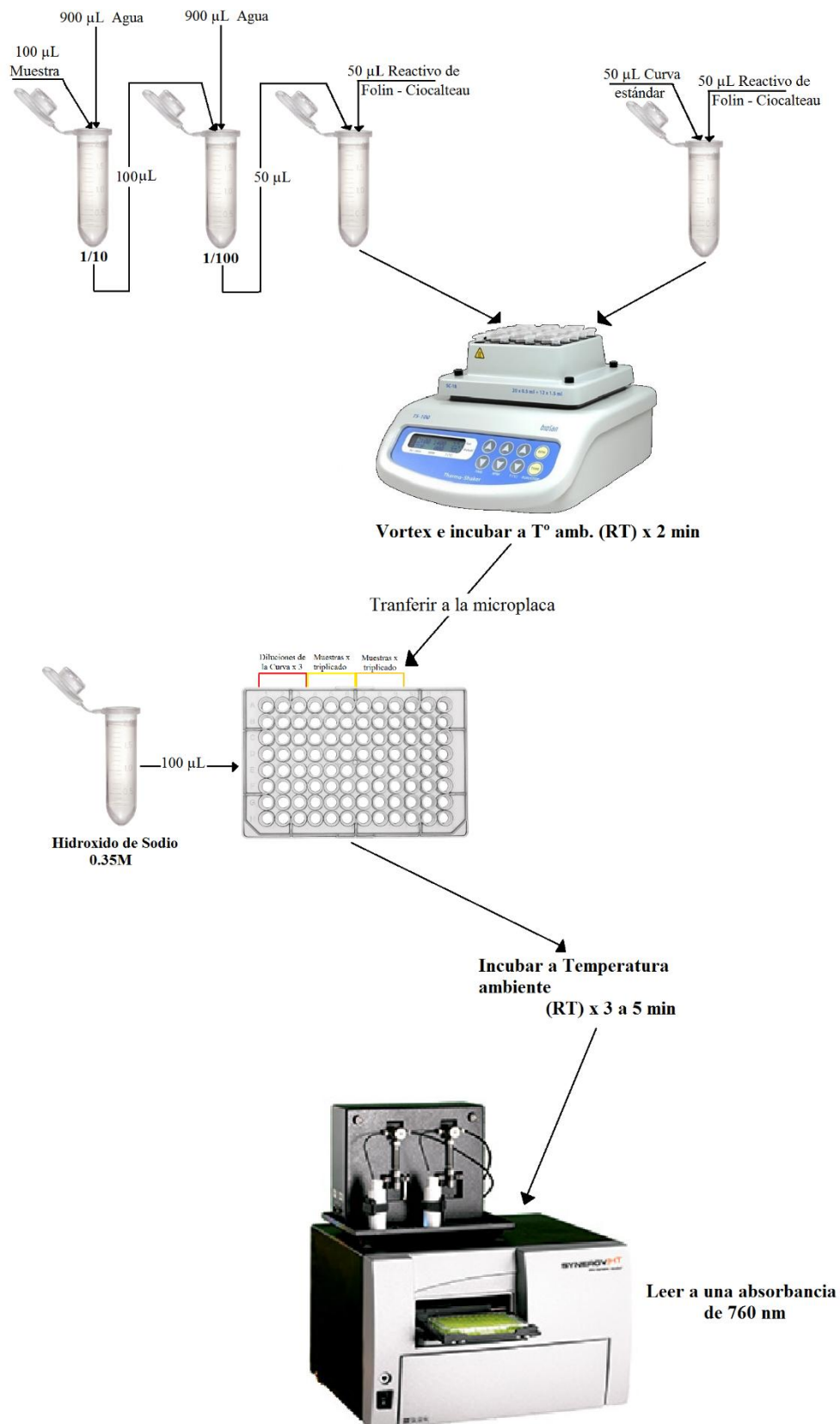


Figura 14. Método de Polifenoles totales por reactivo de Folin-Ciocalteu. (Fuente: Propia)

Método ORAC

El método ORAC es un método fluorescente donde se mide el retraso, en presencia de compuestos antioxidantes, de la disminución de la fluorescencia de la fluoresceína debida a la acción de agentes oxidantes. El agente oxidante utilizado fue el AAPH (2,2'-Azobis-(2-aminopropano)-dihidrocloruro), y la actividad antioxidante de las muestras fue medida en relación al Trolox, utilizado como sustancia antioxidante de referencia, expresando los resultados en $\mu\text{mol EqTrolox/L}$.

Se preparó la Curva estándar, apartir de una solución Trolox 10 mM. Las 6 diluciones de Trolox (300 μM , 240 μM , 180 μM , 120 μM , 60 μM , 0 μM) se realizaron con Buffer Fosfato 75 mM. En la figura 15 se observa la preparacion de las diluciones de Trolox.

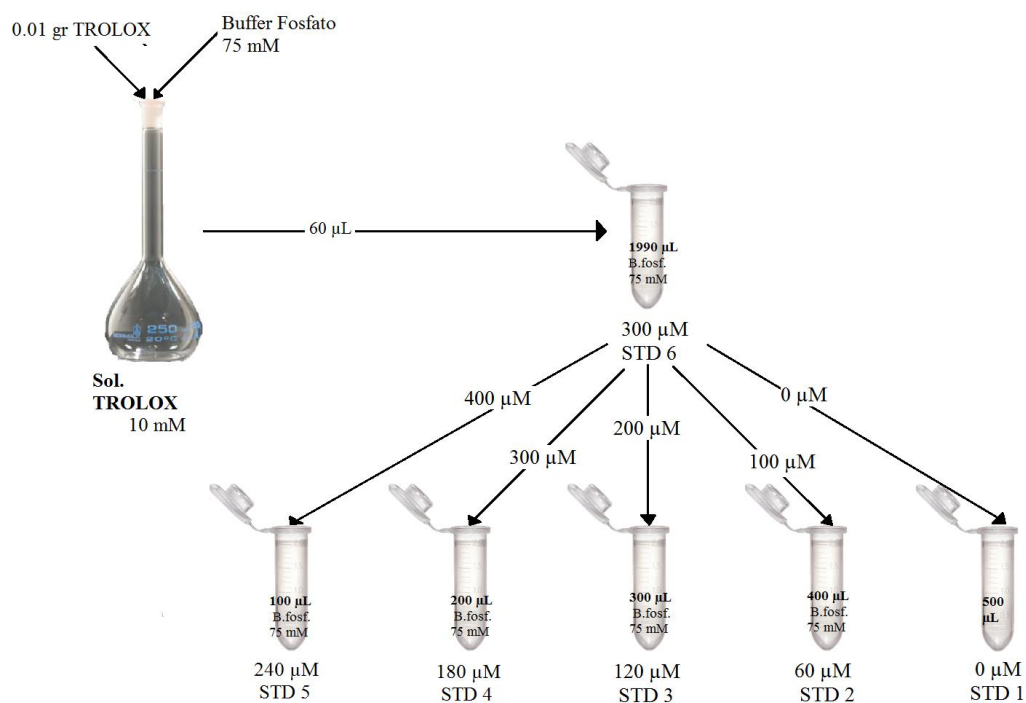


Figura 15. Curva Estándar de Trolox (Fuente: Propia)

Para la determinación de capacidad antioxidante total por el método ORAC, se agitó los microtubos de: las diluciones de la curva estándar (300 μM , 240 μM , 180 μM , 120 μM , 60 μM , 0 μM) y las muestras (1.0 ,1.1, 2.0, 2.1), durante 2 min a temperatura ambiente.

En la microplaca negra, se inyecta las muestras (SPL) , dilucionde de la curva (STD), agua destilada, control (CTL) y blanco (BLK), de acuerdo a la siguiente distribución:

- Los pozos del borde deben contener 250 μL de agua destilada
- B11 - G11: 25 μL Sol. Buffer Fosfato 75 Mm (BLK)
- B2 - G4: 25 μL Diluciones de Trolox (STD)
- B5 – D11: 25 μL de muestras (SPL)
- E10 - G10: 25 μL de Buffer Fosfato 75 Mm (CTL)
- B2 - G11: 150 μL Sol. Fluoresceína

Lectura de la microplaca

- Fijar temperatura 37 °C por 15 min.
- Programar para inyectar 25 μL de AAPH (B2-G11)
- La lectura es cada 2 min durante 90 min con longitud de onda de excitación y emisión 485 y 520 nm respectivamente.

En la figura 16, grafica el procedimiento antes descrito para determinar capacidad antioxidante por el método ORAC.

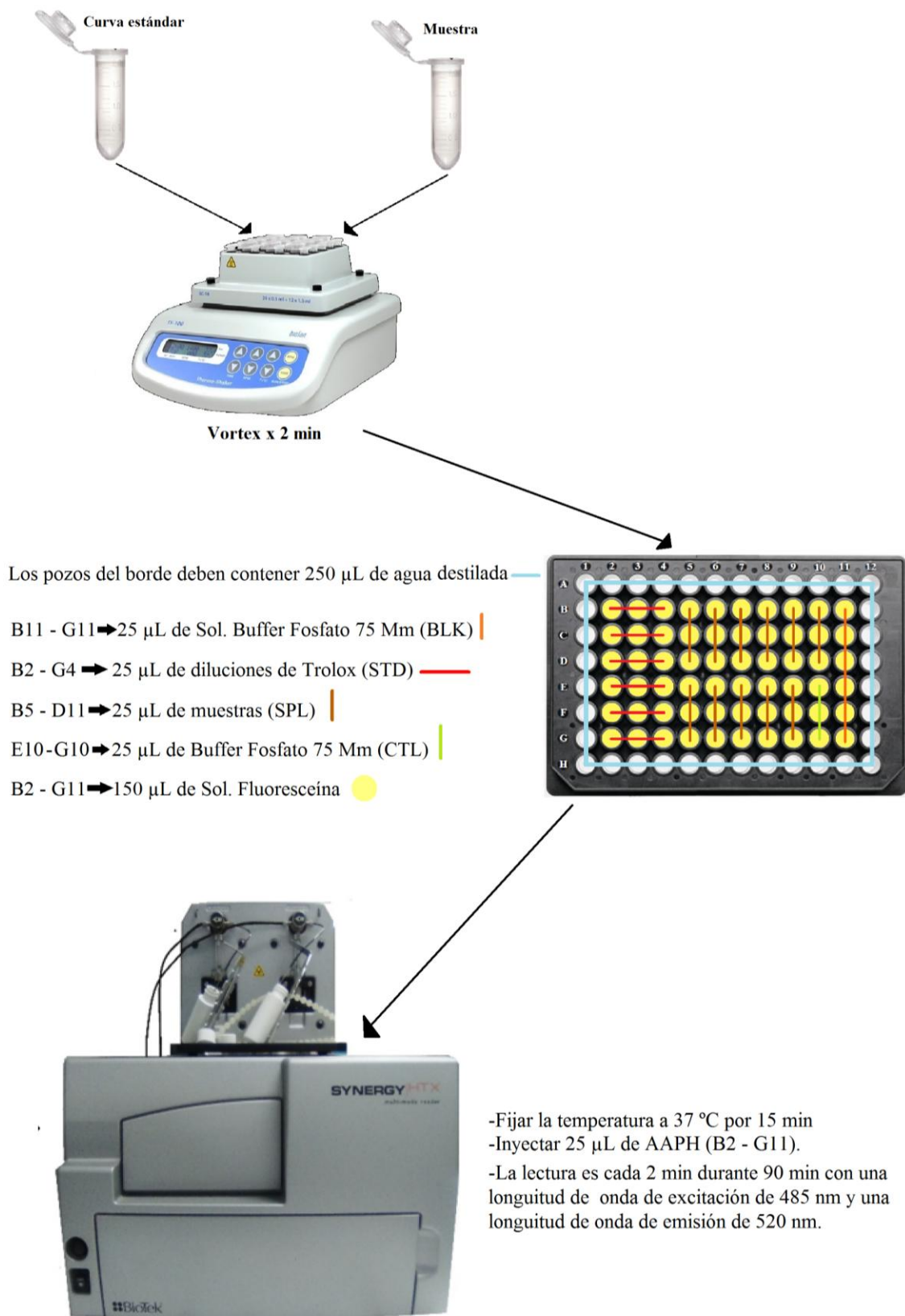


Figura 16. Método ORAC, para determinar Capacidad antioxidante
(Fuente: Propia)

Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

El método DPPH propuesto por Brand *et al.*, (1995) permite evaluar la actividad de sustancias frente al radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en una solución metanólica que tiene un color violeta intenso que se pierde progresivamente cuando se añade la muestra que contiene antioxidantes.

Para realizar este método, se realizaron diluciones de los extractos con una solución buffer tris y metanol; para el mucílago (1/160; 1/320; 1/640; 1/1280; 1/2560) y cáscara de café (1/320; 1/640; 1/1280; 1/2560). En la figura 17 se muestra la preparación de las diluciones seriadas para los extractos, el cual se realizara para las 4 muestras.

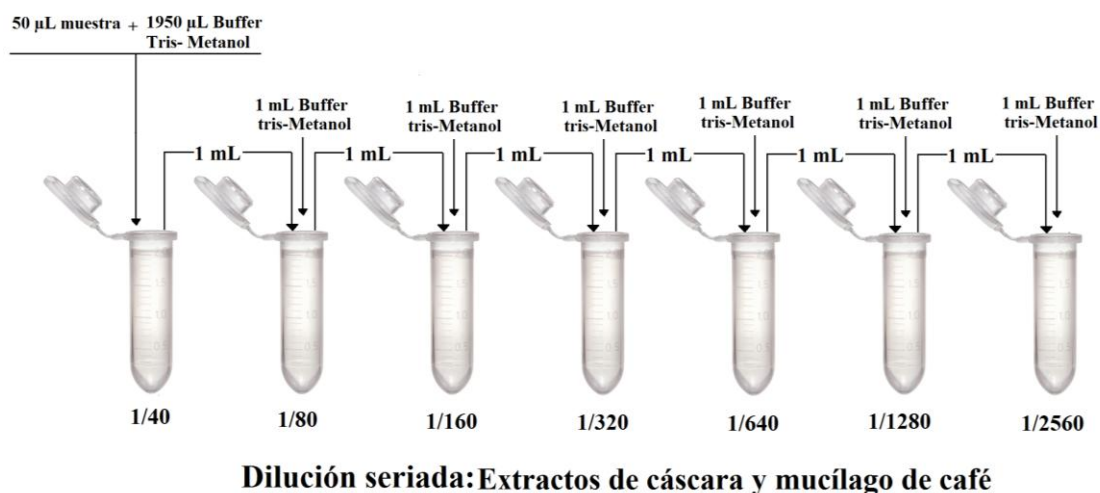


Figura 17. Diluciones seriadas de los extractos de cáscara y mucílago de café. (Fuente: Propia)

En cada pocillo de la microplaca transparente, se inyectaron 10 µL de cada dilución por triplicado y 200 µL de DPPH 60 µM sobre cada muestra, agitar y

dejar reposar por 10 minutos. Finalmente realizar la lectura de la microplaca a una longitud de onda de 520 nm. Los resultados se expresaron en μmol DPPH inhibido /g de muestra. Tal como se muestra en la figura 18.

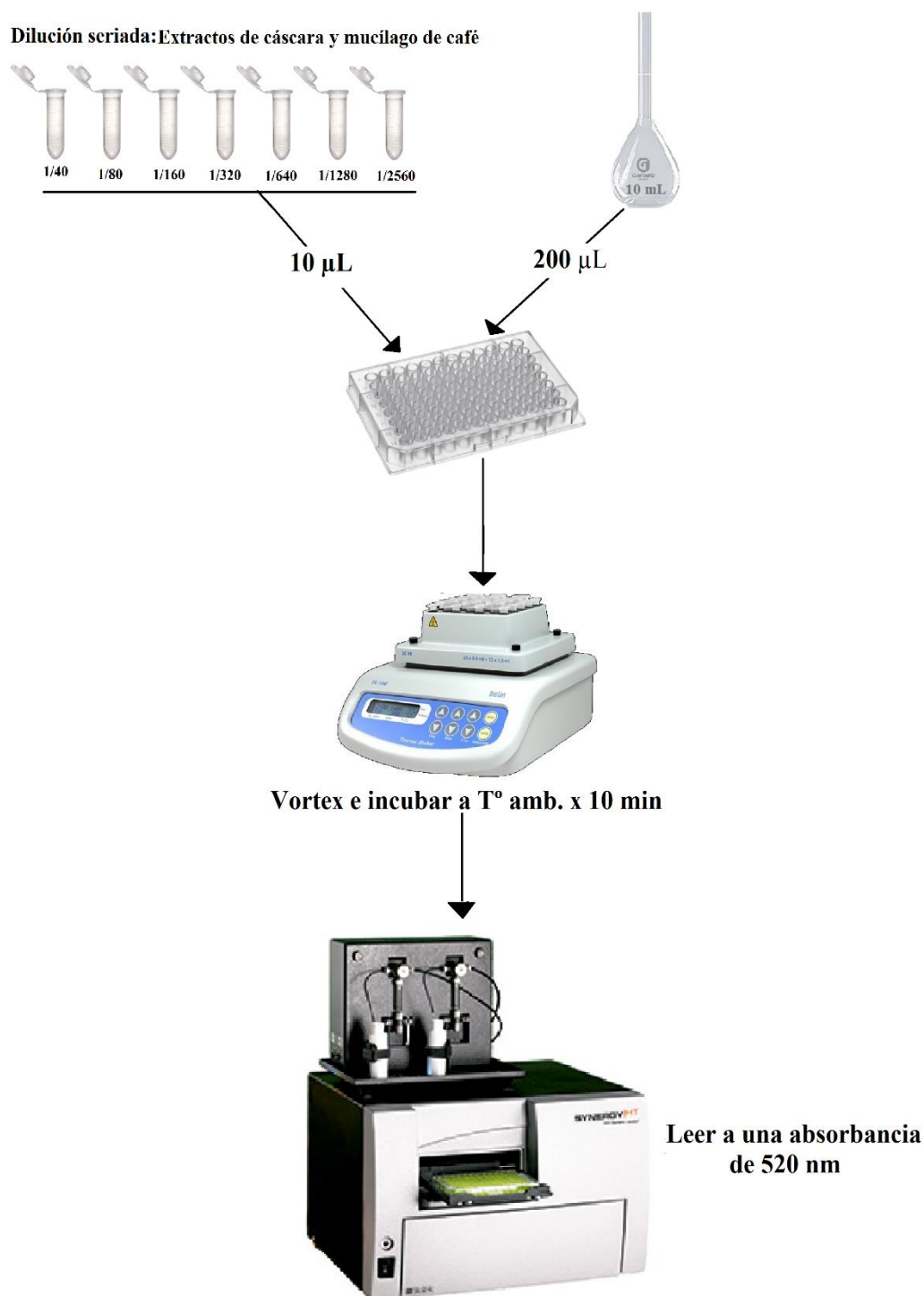


Figura 18. Método DPPH, para determinar Capacidad antioxidante. (Fuente: Propia)

3.4.2.Descripción de instrumentos

Elementos que sirven de apoyo para la recolección de datos:

3.4.2.1.Muestras

- Cascara de café “Coffea Arabica L.”
- Mucilago de café “Coffea Arabica L.”

3.4.2.2.Reactivos y/o solventes

- Metanol 100%
- Etanol 100%
- Yunque
- Ácido Gálico
- Reactivo de Folin Ciocalteau
- Hidróxido de Sodio
- Ácido clorhídrico
- Reactivo de Trizma
- Fluoresceína
- Buffer fosfato
- Reactivo de AAPH
- Agua destilada
- Agua desionizada
- Reactivo de DPPH
- Reactivo de Trolox
- Acetona

3.4.2.3.Equipos de laboratorio

- Licuadora BOXA (double circuit)
- Balanza analítica OHAUS de 0,0001g
- Peachimetro HANNA
- Lector de microplacas SYNERGY HTX.
- Homogeneizador de tubos VORTEX MIXER
- Horno esterilizador de secado ODHG-9070B
- Centrifuga universal MPW-251
- Agitador orbital (SHAKER)
- Refrigeradora ELECTROLUX

3.4.2.4.Materiales de laboratorio

- Micropipeta RAININ –rango (100-1200 μ L LTS)
- Micropipeta RAININ –rango (20-200 μ L LTS)
- Vaso de precipitado 10 mL -20mL -50mL
- Vagueta
- Fiola 20 mL -1mL
- Mortero
- Tips de pipeteador
- Microplacas transparentes de 96 pocillos
- Microplacas negras de 96 pocillos
- Tubos falcon
- Tubos esperfon 2mL
- Porta tips

- Porta tubos esperfon
- Papel aluminio
- Bolsas ziploc

3.5. Técnicas para el procesamiento de la información

Para el procesamiento de datos generados por el lector de microplacas, se utiliza el programa Gen 5, (software diseñado para usuarios de tecnologías e instrumentación para microplacas, con el fin de asistir en la recolección de datos, análisis) y Excel.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

2.1. Caracterización fisicoquímica

Las características iniciales de la materia prima se realizaron para conocer las condiciones fisicoquímicas del mucílago y cáscara de. En la tabla 6 y tabla 7 se muestran los valores tomados y el promedio de pH y humedad de la cáscara y mucílago de café respectivamente.

Tabla 6

Características fisicoquímica de la cáscara de café

Parámetro	1	2	3	Promedio
Humedad (%)	12,2	14,02	12,89	13,0366667
pH	5,49	5,27	4,95	5,23666667

Los valores promedio respecto al contenido de pH de la cáscara de café es 5,23 y mucílago de café es 4,96, los cuales son considerados de acidez media. En cuanto al porcentaje de humedad de ambas muestras, se observa que difieren significativamente, la cáscara tiene 13,04%, la cual es considerada como humedad baja; mientras que el mucílago posee un alto porcentaje de humedad de 89,5%.

Tabla 7

Características fisicoquímica del mucílago de café

Parámetro	1	2	3	Promedio
Humedad (%)	90,6	88,8	89,1	89,5
Brix	9,8	10,2	9,7	9,9
pH	5,03	4,96	4,89	4,96

2.2.Evaluación de la capacidad antioxidante

La evaluación de la capacidad antioxidante fue realizada en ambas muestras (cáscara y mucílago de café), se emplearon dos métodos (DPPH y ORAC) y para la extracción de los antioxidantes se empleó dos solventes (Yonque y Metanol).

2.2.1. Método DPPH

Para la determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH, se realizaron diluciones de los extractos con una solución metanol-triz, luego se realizó las lecturas a 515 nm frente al DPPH, se calculó el porcentaje de inhibición en cada dilución y a partir de ello se realiza un análisis de regresión lineal para cada extracto, la pendiente obtenida es reportada como el valor ICI (Índice de capacidad inhibitoria; mg de DPPH inhibido/ mL de muestra).

2.2.1.1.Cáscara húmeda

A los dos extractos de cáscara de café se le realizaron diluciones entre 1/2560 a 1/320 con una solución de metanol-triz.

En la tabla 8, se muestran los resultados de las lecturas de absorbancia 515 nm y sus respectivos porcentajes de inhibición de los extractos de cascara de café.

Tabla 8

Lecturas de absorbancia y porcentaje de inhibición de los extractos de cáscara de café

Diluciones	Lectura de absorbancia	
	Metanol	Yonque
Control	0,216	0,216
1/2560	0,147	0,162
1/1280	0,124	0,141
1/640	0,109	0,095
1/320	0,067	0,011
Porcentaje de inhibición		
0	0,00	0,00
0,391	32,019	24,826
0,781	42,691	34,478
1,563	49,513	55,916
3,125	68,956	94,896
ICI	12,705	25,705
IC50	1,599	1,366

ICI: μM de DPPH inhibido / mL de muestra

IC50: mL de extracto / L diluyente (metanol- triz)

En la figura 19 se presentan las curvas de inhibición del DPPH frente a diferentes concentraciones de los extractos de cáscara de café.

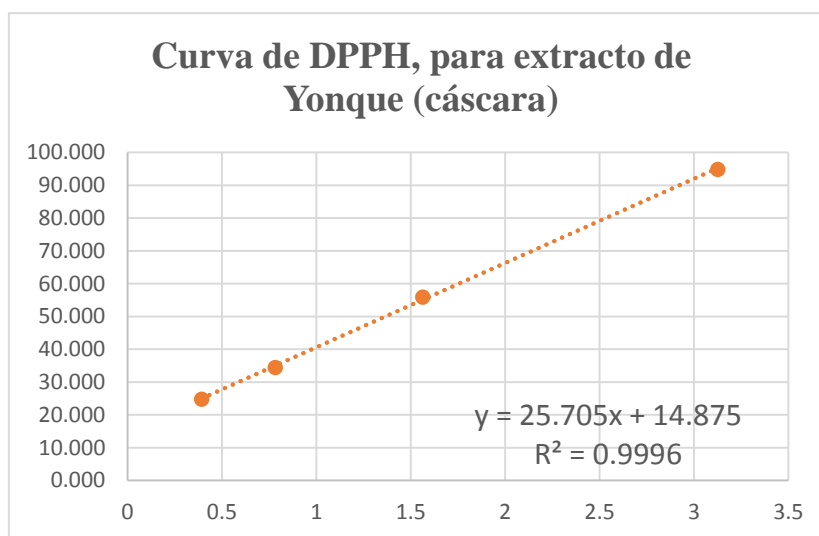
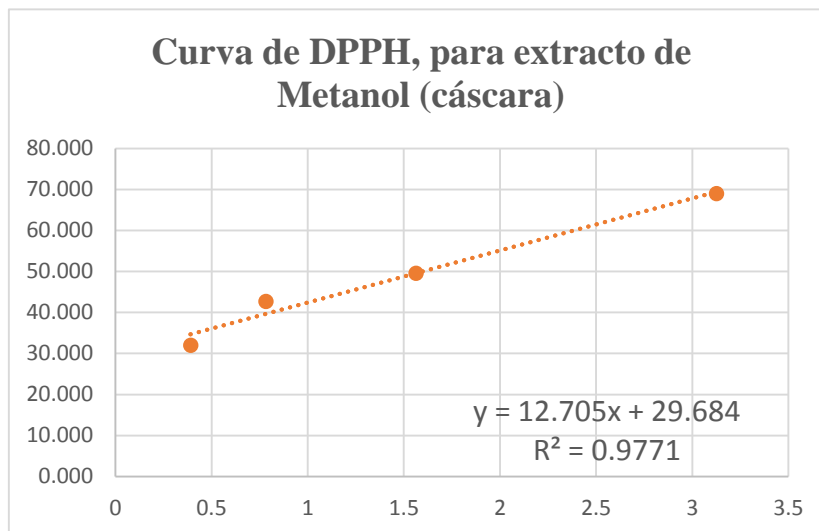


Figura 19. Curvas de inhibición del DPPH frente a diferentes concentraciones de los extractos de cáscara de café.

De acuerdo a lo expuesto se puede mencionar que el extracto con mayor poder antioxidante es el que se realizó con Yonque con un valor de ICI de 25,7 (μM de DPPH inhibido / mL de muestra) por tanto exhibe un IC₅₀ de 1,366 (mL de extracto / L diluyente)

2.2.1.2. Mucílago

A los extractos de Mucílago de café se le realizaron diluciones entre 1/2560 a 1/160 con metanol-triz. En la tabla 9, se muestran las lecturas de absorbancia 515 nm y sus respectivos porcentajes de inhibición de los extractos.

Tabla 9

Lecturas de absorbancia y porcentaje de inhibición de los extractos de mucílago de café

Diluciones	Lectura de absorbancia	
	Metanol	Yonque
Control	0,216	0,216
1/2560	0,161	0,215
1/1280	0,131	0,200
1/640	0,117	0,179
1/320	0,073	0,145
1/160	0,011	0,098
Porcentaje de inhibición		
0	0,00	0,00
0,391	25,522	0,39
0,781	39,443	7,193
1,563	45,568	16,937
3,125	66,357	32,715
6,250	94,826	54,756
ICI	11,185	9,049
IC50	2,033	5,472

ICI: μM de DPPH inhibido / mL de muestra

IC50: mL de extracto / L diluyente (metanol- triz)

En la figura 20 se presentan las curvas de inhibición del DPPH frente a diferentes concentraciones de los extractos de mucílago de café.

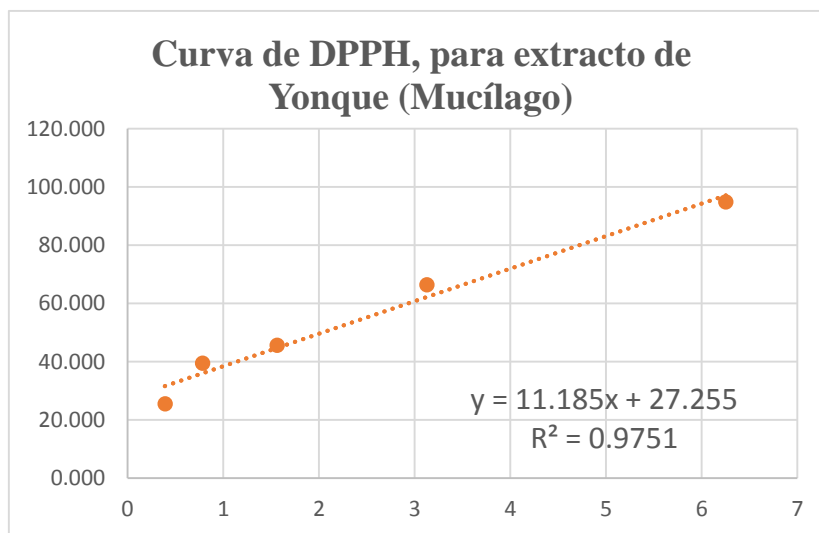
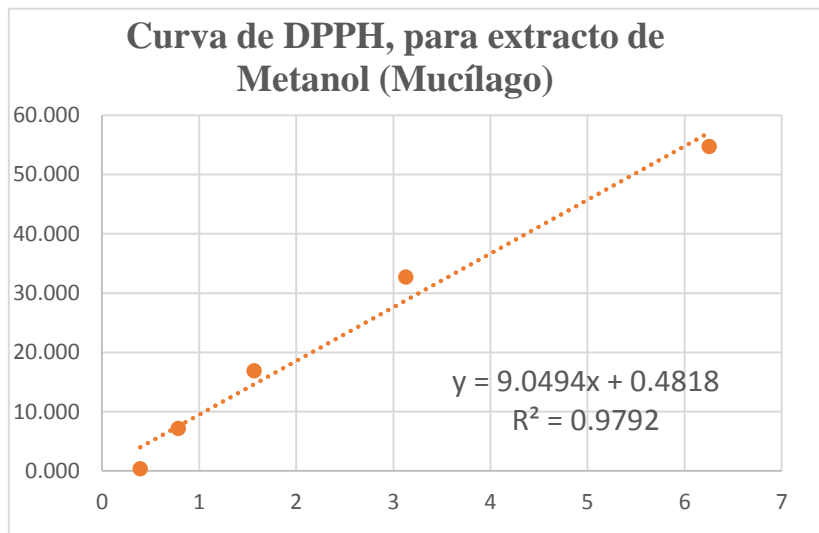


Figura 20. Curvas de inhibición del DPPH frente a diferentes concentraciones de los extractos de Mucílago de café.

De acuerdo con lo expuesto se puede mencionar que el extracto con mayor poder antioxidante es el que se realizó con metanol con un valor de ICI de 11,185

(μM de DPPH inhibido / mL de muestra) por tanto exhibe un IC_{50} de 2,033 (mL de extracto / L diluyente).

2.2.2. Método ORAC

Los resultados para la determinación de capacidad antioxidante por el método ORAC se expresaron como promedio. A continuación en la tabla 10 se presentan los resultados en μM Trolox/g muestra, del blanco, cáscara y mucílago de café.

Tabla 10

Capacidad antioxidante de cáscara y mucílago de café por método ORAC

Muestras	Solvente	Lectura promedio (μM Trolox/L)	Resultado (μM Trolox/g muestra)
Cáscara de café	Yonque	202,804	0,2028
	Metanol	191,363	0,1914
Mucílago de café	Yonque	62,478	0,0625
	Metanol	41,238	0,0412

En la figura 21, se puede observar que la capacidad antioxidante del extracto de mucílago es inferior a la de la cáscara de café con valores de 0,0412- 0,0625 μM Trolox/g muestra y 0,1914 – 0,2028 μM Trolox/g muestra respectivamente. Así mismo se observa que los extractos realizados con Metanol y Yonque presentan una variación mínima

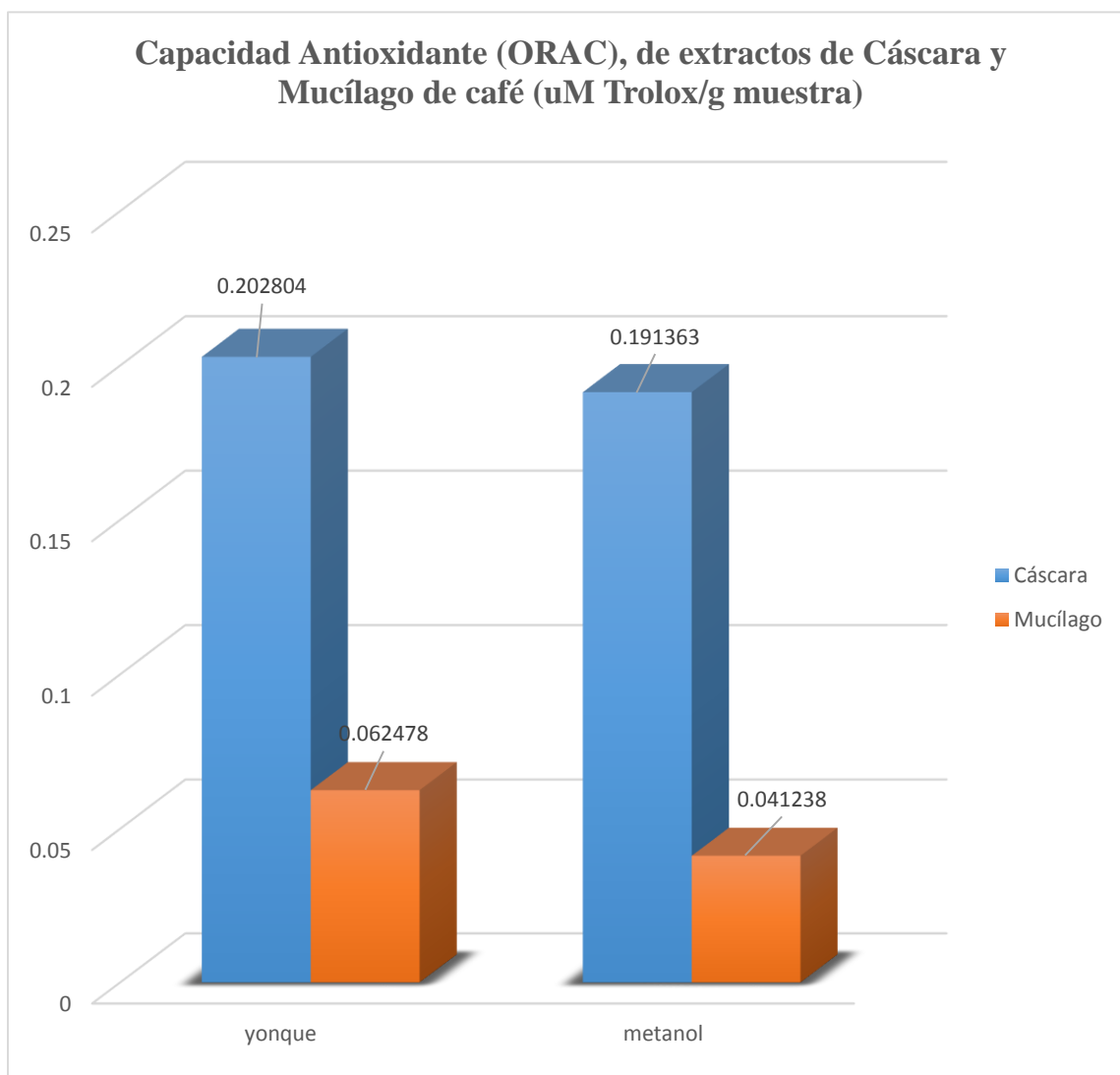


Figura 21. Capacidad Antioxidante (método ORAC), de extractos de Cáscara y Mucílago de café.

2.3. Polifenoles totales

En la tabla 11, se presentan los resultados de la determinación de polifenoles totales de la cáscara húmeda y mucílago de café (extractos de Metanol y Yonque), también se presentan el resultado de los polifenoles totales de la cáscara seca de café (extracto metanol- acetona). los resultados se expresaron en mg EAG/g muestra.

Tabla 11

Resultados de polifenoles totales de cáscara y mucílago de café

Muestras	Solvente	Fenoles:740	Resultado (mg EAG/g muestra)
Cáscara de café	Yonque	0,881	15,819
	Metanol	0,996	17,213
Mucílago de café	Yonque	1,102	19,368
	Metanol	1,011	18,755
Cáscara de café seca	Metanol- Acetona	0,184	8,292

En la figura 22, se aprecia que el contenido de polifenoles totales del mucílago de café es superior al de la cáscara, también se observamos que la cascara húmeda presenta mayor contenido de polifenoles totales comparado con las cáscara seca. Respecto a los solventes empleados para cada extracto, tenemos que el contenido de polifenoles de los extractos de metanol y Yonque presenta una mínima variación.

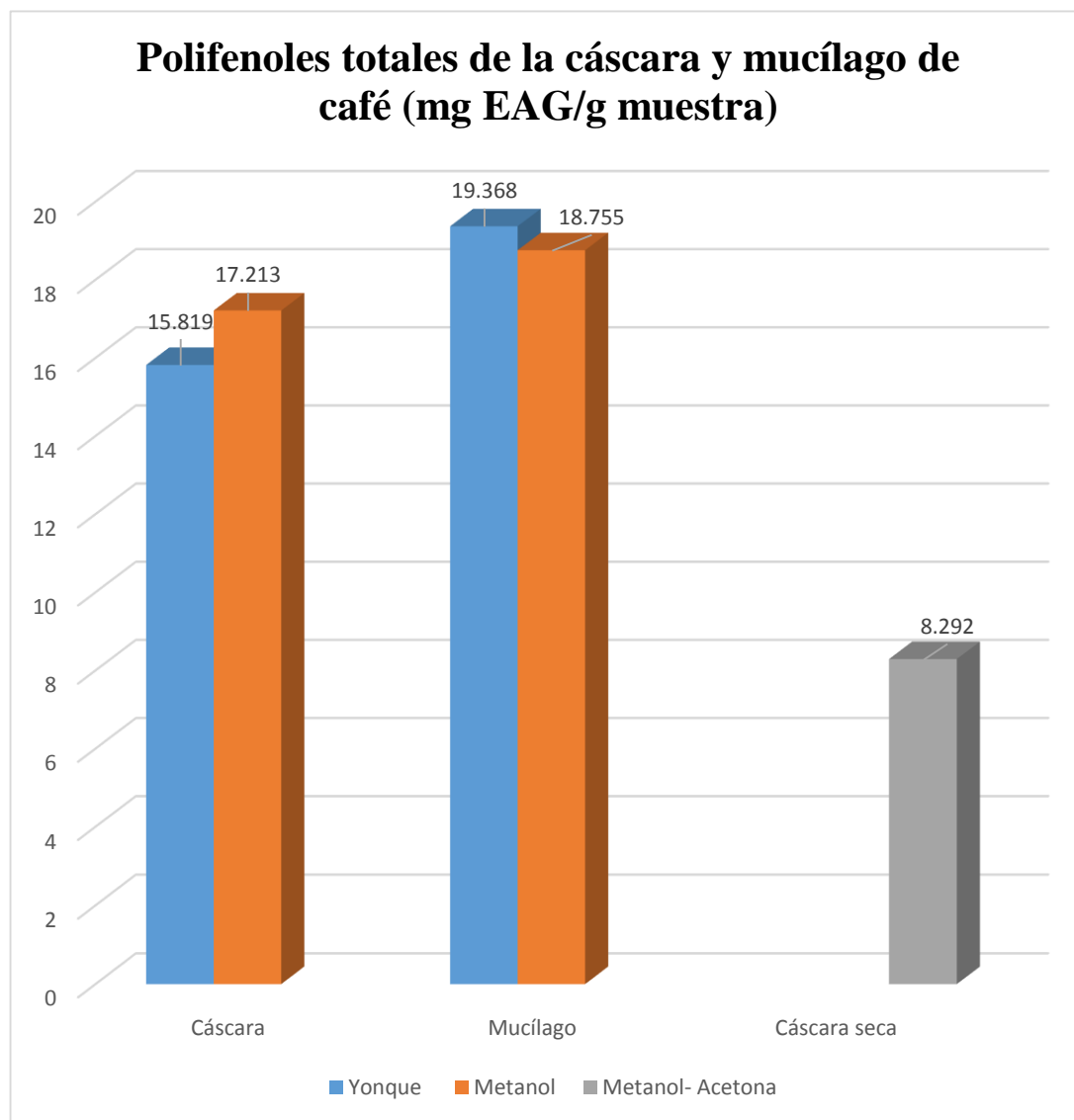


Figura 22. Polifenoles totales del mucílago, cáscara húmeda y seca de café.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1.Discusión

- Respecto a las características fisicoquímicas de la cáscara de Coffe Arabica L, se obtuvo 13,03% de humedad el cual se acerca a lo reportado por el autor De la Cruz, Cerón, & Gracés (2015), con $12,2 \pm 0,15\%$. En esta investigación se obtuvo que el pH de la cáscara de café es 5,23, valor que se encuentra dentro del rango que reporta López & Ramírez (2013), con valores desde 3,71 a 7,25.
- En cuanto al porcentaje de humedad del mucílago el valor obtenido es 89,5 % el cual se encuentra dentro del rango reportado por Rodríguez (1999) con valores que van de 89,4% a 95,8 %, así mismo coincide con lo reportado por Puerta & Ríos (2011), quienes mencionan que el contenido de agua del mucílago varía entre el 85 y 90%. Los Brix y el pH que se obtuvimos del mucílago fueron 9,9 y 4,96 respectivamente, los cuales son muy cercanos a 9,66 ° Brix y 4,84 de pH reportados por Rodríguez & Zambrano (2011).
- En la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH, para la cáscara de café se obtuvo un IC50 de 1,599 mL/L para el extracto de Metanol y 1,366 mL/ L para el extracto de Yonque, siendo ambas concentraciones más eficientes que la reportada por Ordoñez-Gómez, Reátegui-Díaz, & Villanueva-Tiburcio (2018) con una concentración de 3,39 gr/ L en la cáscara de Naranja valencia. En el caso del Mucílago de café, se obtuvo un IC50 de 2,033 mL/L para el extracto de Metanol y 5,472 mL/ L para el extracto de Yonque,

siendo ambas concentraciones menos eficientes que la reportada por Sánchez, Murillo, & Méndez (2010) con una concentración de 117 gr/ L en la cáscara de tomate de árbol.

- Se determinó la capacidad antioxidante por el método ORAC, los valores obtenidos fueron 0,191363 – 0,202804 uM Trolox/g muestra (cáscara) y 0,041238 – 0,062478 uM Trolox/g muestra (mucílago), valores que son significativamente inferiores a los reportados por Mertz, et al. (2009), con 8,1 uM Trolox/g en la muestra de la pulpa de tomate de árbol variedad amarilla.
- En lo que respecta a la cuantificación de polifenoles totales, los valores obtenidos para la cáscara son 15,819 mg EAG/g (extracción con Yonque) y 17,213 mg EAG/g (extracción con metanol), los valores son superiores a los reportados por Sánchez, et al. (2010), con valores de 14,51 mg EAG/g en la cáscara de Tomate de árbol. En la cáscara seca de obtuvo 8,292 mg EAG/g en cual es similar al reportado por Sánchez, et al. (2010) con 8,646 mg EAG/g en la cáscara de maracuyá. En el caso del mucílago se obtuvieron valores de 19,368 mg EAG/g (extracción con Yonque) y 18.755 mg EAG/g (extracción con metanol), los cuales son superiores a los reportados por Córtes (2017), con valores de 6,78 a 10,54 mg EAG/g en la pulpa de café.

3.2.Conclusiones

- Las características fisicoquímicas de la cáscara y mucílago de café fueron las siguientes: "para la cáscara se obtuvo un pH de 5,23 y humedad 13,037%; en cuanto al mucílago <el ° Brix es 9,9; pH de 4,96 y humedad de 89,5%. estos resultados al ser comparados con otras fuentes bibliográficas nos permiten concluir que el mucilago y

la cascara de café presentan valores similares a las de otras investigaciones procedentes de diversas zonas latinoamericanas.

- Se concluye que sí es posible determinar la capacidad antioxidante de la cáscara y mucílago de la especie *Coffea Arabica L*, por los métodos DPPH y ORAC, siendo el método DPPH el que expresa resultados más fáciles de comparar con otros autores. En ambos métodos, se comprueba que la cascara de café posee mayor capacidad antioxidante que el mucilago.
- Respecto a los solventes empleados en la investigación, se observó que para el método ORAC el solvente que presentó mejores valores de capacidad antioxidante fue el Yonque. En cuanto al método DPPH, la eficiencia del solvente difiere en ambas muestras, en el caso de la cascara de café el mejor solvente fue el metanol y para el mucilago fue el yonque.
- Se logró determinar con éxito la presencia de Polifenoles totales en la cáscara húmeda y mucílago de café. El contenido de polifenoles totales extraído con Yonque en la cáscara húmeda fue de 15,819 mg EAG/g muestra y en el mucílago fue de 19,368 mg EAG/g muestra; en la extracción con metanol en la cáscara húmeda se obtuvo 17,213 mg EAG/g muestra y en el mucílago 18,755 mg EAG/g muestra. Concluyendo que los dos solventes empleados en la extracción de antioxidantes, proporcionan resultados sin diferencia significativa. En la cáscara seca se obtuvo 8.292 mg EAG/g muestra, la extracción de polifenoles se realizó una solución Metanol – Acetona.

- Se concluye que se podría aprovechar la cáscara y mucílago del café teniendo en consideración su capacidad antioxidante, ya que podría convertirse en una posible alternativa para realizar diferentes productos como: suplementos nutricionales, colorante natural, té filtrante, bebidas funcionales, bebidas alcohólicas, también pueden utilizarse en la industria cosmética en cremas para el cuerpo y rostro, shampoos, mascarillas faciales, etc.

3.3.Recomendaciones

- Se recomienda continuar con la investigación dándole seguimiento a la cascara y mucilago de café ya que se sabe que contienen compuestos importantes y beneficiosos, que pueden ser identificados mediante HPLC o también mediante otras pruebas de determinación de antioxidantes como FRAP Y ABTS.
- Obtener muestras de otras especies de café (cascara y mucilago) que se cultivan en diferentes regiones de nuestro país, para realizar pruebas experimentales de antioxidantes, y así conocer que propiedades ofrece cada una de ellas.
- Realizar productos y/o alimentos que contengan como componente principal la cascara y mucilago de café, realizando diferentes pruebas de estabilidad, con la finalidad de que sean factibles para el uso y consumo humano.
- Proponer la realización de una planta despulpadora de café que contenga en sus procedimientos la separación del mucilago y la cascara de este fruto, para luego poder darle un uso en la industria.

CAPÍTULO VI: FUENTES DE INFORMACIÓN

3.4.Fuentes Bibliográficas

Álvarez, J. (1991). Remoción de mucílago. En *Fundamentos de beneficio* (págs. 46 - 55). Bogotá, Colombia: Centro Nacional de investigación de café - Cenicafé.

Barrenechea, C. (1986). *Café: Problemática y Alternativa*. Lima. Perú: Centro Peruano de Estudios Sociales.

Castañeda, E. (2000). *El ABC del Café: Cultivando Calidad*. Perú: Tecnatrop S.R.L.

León, J. (1968). *Fundamentos botánicos de los cultivos tropicales*. San José, Costa Rica.: IICA.

Martínez, J. R., Arpe, C., Urrialde, R., Fontecha, J., Murcia, M. A., Gómez, C., & Antonio, V. (2003). *Nuevos alimentos para nuevas necesidades*. Madrid, España: Editorial Nueva Imprenta S.A.

Murcia, M. A., Parras, P., Jiménez, A. M., Vera, A. M., Martínez-Tomé, M., & Ruggieri, S. (2003). Polifenoles y flavonoides: su importancia en la prevención de enfermedades. In J. R. Martínez, C. Arpe, R. Urrialde, J. Fontecha, M. A. Murcia, C. Gómez, & V. Antonio, *Nuevos alimentos para nuevas necesidades* (pp. 121-129). Madrid, España: Editorial Nueva Imprenta S.A.

Murcia, M. A., Vera, A. M., & Martínez-Tomé, M. (2003). Sustancias antioxidantes presentes en los alimentos. Acción, dosis y su eficacia en la promoción de la salud. En J. R. Martínez, C. Arpe, R. Urrialde, J. Fontecha, M. A. Murcia, C. Gómez, & V. Antonio, *Nuevos alimentos para nuevas necesidades* (págs. 97 - 120). Madrid, España: Editorial Nueva Imprenta S.A.

3.5.Fuentes Documentales

- Alam, M. N., Bristi, N., & Rafiquzzaman, M. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21, 143-152.
- Barahona, V. C. (2013). *Evaluación de la Capacidad Antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de la guanábana(Annona muricata)*. Riobamba - Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Recuperado el 02 de Junio de 2018, de <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2453/1/56T00321.pdf>
- Borjas, R. R. (2008). *U so de fuentes naturales en la fertilización del café (Coffea arabica) var. Caturra en vivero como base para la producción orgánica en la selva central del Perú*. Lima, Perú: Universidad Agraria La Molina.
- Bouafou, G. M., Konan, A., Zannou-Tchoko, V., & Kati-Coulibally, S. (2011). Potential Food Waste and By-products of Coffee in Animal Feed. *Electronic Journal of Biology*, 7(4), 74 - 80.
- Canet, G., Soto, C., Ocampo, P., Rivera, J., Navarro, A., Guatemala, G. M., & Villanueva, S. (2016). La situación y tendencias de la producción de café en América Latina y el Caribe. *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)*. Retrieved Mayo 25, 2018, from <http://www.iica.int/sites/default/files/publications/files/2017/BVE17048805e.pdf>
- Cömert, E., & Gökmen, V. (2017). Antioxidants bound to an insoluble food matrix: Their analysis, regeneration behavior, and physiological importance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(3), 382 - 399. doi:10.1111/1541-4337.12263
- Coronel, M., & Marín, A. (2010). *Estudio del café especial Ecuatoriano*. Proyecto para la obtención del título de Máster Internacional en Nutrición y Dietética., Quito-Ecuador.

- Córtés, S. (2017). *Determinación de antioxidante en subproductos de café producido y comercializado en Risaralda (Colombia)*. Tesis para obtener el Título profesional de Ingeniero Químico Industrial. Universidad Tecnológica de Pereira, Risaralda, Colombia.
- De la Cruz, N., Cerón, A., & Gracés, L. (2015). Análisis y modelamiento de la granulometría en la cáscara del café (*Coffea arabica* L.) variedad Castillo. *Producción + Limpia*, 10(2), 80 - 91.
- Deng, J., Cheng, W., & Yang, G. (2011). A novel antioxidant activity index (AAU) for natural products using the DPPH assay. *Food Chemistry*, 125, 1430–1435.
- Días, A. T. (2011). *Pulpa de café: Coffea arabica L: como fuente alternativa de antioxidantes*. Loja - Ecuador: Universidad Técnica Particular de Loja.
- Durand, M. d. (2015). *Evaluación de la capacidad antioxidante en pulpa fresca y pasteurizada de Guanábana (Annona Muricata L.) produccioda en la provincia de Chanchamayo*. Para optar el Título profesional de Ingeniero Agroindustrial, Universidad Nacional del Centro del Perú, Tarma. Recuperado el 03 de Junio de 2018, de <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1944/Durand%20Placencia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Espinal, M., & Restrepo, L. (2010). *Capacidad antioxidante y ablandamiento de la guayaba Palmira Ica I (Psidium guajava)*. Tesis presentada como requisito para optar al título de Magister en Ciencias Química, Bogotá, Colombia.
- Flores, N. (2015). *Evaluación de la aceptabilidad organoléptica y capacidad antioxidante de una bebida alcohólica no fermentada, formulado con extracto fenólico de mashua (Tropaelum tuberosum) Púrpura*. Tesis Para optar el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Del Centro Del Perú, Huancayo, Perú.
- Fonseca, L., Calderón, L. S., & Rivera, M. E. (2014). Capacidad antioxidante y contenido de Fenoles totales en Café y subproductos del Café producido y comercializado en el

- Norte de Santander (Colombia). *Vitae, revista de la Facultad de Química y Farmacéutica*, 21(3), 228-236.
- Fonseca-García, L., Calderón- Jaimes, L. S., & Rivera, M. E. (2014). Capacidad antioxidantes y contenido de fenoles totales en café sus productos del café producido y comercializado en norte de Santander (Colombia). *Vitae*, 21(3), 228-236.
- Franco, G. L., & Suárez, K. B. (2014). *Determinación del Contenido de Polifenoles y Actividad Antioxidante de una Bebida Láctea Elaborada a Base de Residuos Agroindustriales de Cacao, Café y Naranja*. Guayaquil, Ecuador: Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- García, J. (2008). *Evaluación de la Cascarilla de Café para utilizarse como Sustrato en Cultivo Sin Suelo de Hortalizas*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, Oaxaca de Juárez, México.
- García, P., & Barreto, D. (2007). *Propuesta para el incremento de consumo de café tostado de los asociados de la Junta Nacional del Café*. Lima, Perú: Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. doi:10.13140/RG.2.1.2324.7522
- Gökmen, V., Serpen, A., & Fogliano, V. (2009). Direct measurement of the total antioxidant capacity of foods: the “QUENCHER” approach. *Trends Food Science Technology*, 20, 278–288.
- Herrera, F. R. (2016). *Obtención de antioxidantes a partir del Epicarpio de Café (Coffea arabica L.) empenado fluidos presurizados, una alternativa de aprovechamiento para este residuo agroindustrial*. Bogotá, Colombia: Universidad Libre. Recuperado el 10 de Mayo de 2018, de <http://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/10362/OBTENCI%C3%93N%20DE%20ANTIOXIDANTES%20A%20PARTIR%20DEL%20EPICARPIO%20DE%20CAF%C3%89.pdf?sequence=1>
- López, E. O., & Ramírez, W. H. (2013). *Evaluación de la cáscara de café (coffea arabica) como agente regulador en la elaboración de panela granulada, piura - 2013*.

Universidad Señor de Sipán. Tesis para Optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial y Comercio Exterior, Pimentel, Perú.

- Martínez, J. B. (2007). *Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de Helicarpus Terebinthinaceus*. Tesis para obtener el Título de Ingeniero en Alimentos. Universidad Tecnológica De La Mixteca, Huajuapán De León, Oaxaca.
- Marwah, R. G., Fatope, M. O., Mahrooqi, R. A., Varma, G. B., Abadi, H. A., Khamis, S., & Burtamani-Al. (2007). Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. *Food chemistry*, 101, 465- 470.
- Medrano, K. (2005). *Capacidad antioxidante, contenido de Vitamina "C" y carotenos en plantas comestibles silvestres del Departamento de Chiquimula*. Capacidad antioxidante, contenido de Vitamina "C" y carotenos en plantas comestibles silvestres del Departamento de Chiquimula, Guatemala.
- Mertz, C., Gancel, A., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., . . . Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 381-387.
- Ministerio de Agricultura. (2007). *Cultivos de Importancia nacional: Café*. Lima, Perú. Obtenido de (http://www.minag.gob.pe/agricola/cafe_ficha.shtml)
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2018). *El Agro en Cifras. Mes de Abril 2018*. Boletín estadístico mensual, Lima, Perú.
- Moharram, H., & Youssef, M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Alex. J. Fd. Sci. & Technol.*, 11(1), 31-42. Recuperado el 09 de Junio de 2018, de <https://www.researchgate.net/publication/274669600>
- Moreau, Y., Arredondo, J., Gaime, I., & Roussos, S. (2003). Dietary Utilisation of Protein and Energy from Fresh and Ensiled Coffee Pulp by the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Brazilian Archives of Biology and technology.*, 46.
- Navarro, L. (2015). *El cambio climático y la caficultura: La caficultura peruana, ayer y hoy*. Lima, Perú: Cámara Peruana de Café y Cacao.

- Nsor-atindana, J., Zhong, F., Kebitsamang, J. M., Bangoura, M. L., & Lagnika, C. (2012). Quantification of Total Polyphenolic Content and Antimicrobial Activity of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean Shells. *Pakistan Journal of Nutrition*, *11*(7), 574-579.
- Oliveros, C., & Gunasekaran, C. (1994). Caracterización reológica del mucílago de café y sus supenciones mucílago-café pergamino húmedo. *Cenicafé*, *45*(4), 125 - 136.
- Ordoñez-Gómez, E., Reátegui-Díaz, D., & Villanueva-Tiburcio, J. (2018). Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos. *Scientia Agropecuaria*, *9*(1), 113 - 121. doi:10.17268/sci.agropecu.2018.01.12
- Ordoñez-Gómez, E., Reátegui-Díaz, D., & Villanueva-Tiburcio, J. (2018). Polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y hojas de doce cítricos. *Scientia Agropecuaria*, *9*(1), 113 - 121. doi:10.17268/sci.agropecu.2018.01.12
- Ou, B., Huagn, D., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J., & Deemer, E. (2002). Analisis of antioxidant in common vegetable employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. *J.Agric. Foo. J.Agric. Food Chemistry*, *50*, 3122-3128.
- Prata, E., & Oliveira, L. (2007). Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. *Food Science and Technology*, *40*(9), 1555- 1560.
- Puerta, G. I., & Ríos, S. (2011). Composición química del mucílago de café, según el tiempo de fermentación. *Cenicafé*, *62*(2), 23 -40.
- Rebolo, S. (2007). *Estudio de la composición polifenólica de vinos tintos gallegos con D.O.: Ribeiros, Valdeorras y Riberira Sacra*. Lugo: Universidad Santiago de Compostela.
- Rodríguez, N. (1999). Avances del experimento QIN-08-02. Obtención de pectinas a partir de la pulpa y mucílago del café. En *Informe anual de actividades* (pág. 90). Chinchiná, Colombia: CENICAFÉ.
- Rodríguez, N. (2002). Manejo de residuos en la agroindustria cafetera. *Seminario Internacional: Gestión Integral de Residuos sólidos y Peligrosos, Siglo XXI*.

- Rodríguez, N. (2009). *Estudio de un biosistema integrado para el postratamiento de las aguas residuales del café utilizando macrófitas acuáticas*. Tesis para obtener el grado de Doctor. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Rodríguez, N., & Zambrano, D. (2011). Producción de alcohol a partir del mucílago de café. *Revista Cenicafé*, 62(1), 56 - 69.
- Sánchez, W. F., Murillo, E., & Méndez, J. J. (2010). Potencial antioxidante de residuos agroindustriales de tres frutas de alto consumo en Tolima. *Scientia et Technica*, XVII(46), 138 - 143.
- Serrano, M. (2010). *Evaluación de la actividad antioxidante para el aprovechamiento del muérdago que infesta la zona chinampera de Xochimilco*. México Df- México: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Unidad Iztapalapa.
- Tovar, J. (2013). *Determinación de la Actividad Antioxidante por DPPH y ABTS de 13 plantas recolectadas en la Ecoregión Cafetera*. Pereira, Colombia: Universidad Tecnológica de Pereira.
- Urquijo, E. (2016). *Identificación de impactos ambientales relacionados con el proceso de beneficio húmedo del café en la vereda de tres esquinas - Huila - Colombia*. Tesis para obtener el título de especialista en Planeación Ambiental y Manejo Integral de los Recursos Naturales. Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.
- Vega , A., De León, J. A., & Reyes, S. M. (2017). Determinación del Contenido de Polifenoles Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante de 34 Cafés Comerciales de Panamá. *Información Tecnológica*, 28(4), 29-38. doi:10.4067/S0718-07642017000400005
- Velázquez, M., Prieto, B., & Contreras, R. (2004). El envejecimiento y los radicales libres. *Ciencias* 75, 36-43.
- Yeo, J., & Shahidi, F. (2015). Critical evaluation of changes in the ratio of insoluble bound to soluble phenolics on antioxidant activity of lentils during germination. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 63, 379–81.

3.6.Fuentes Electrónicas

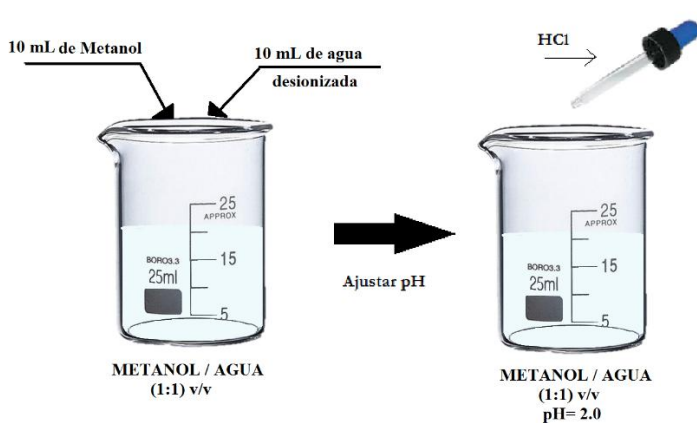
- Albújar, E. (Julio de 2018). *Boletín Estadístico Mensual "El Agro en Cifras" Abril 2018*. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Riego: http://siea.minag.gob.pe/siea/sites/default/files/boletin-estadistico-mensual-el-agro-en-cifras-abr2018_110718.pdf
- Andina Agencia Peruana de Noticias. (27 de Agosto de 2018). *Cajamarca se posiciona como principal región exportadora de café*. Obtenido de <https://andina.pe/agencia/noticia-cajamarca-se-posiciona-como-principal-region-exportadora-cafe-723307.aspx>
- Cafelab. (15 de Septiembre de 2017). *Los tres mejores cafés del Perú son de Cajamarca*. Obtenido de <https://cafelab.pe/2017/09/15/los-3-mejores-cafes-del-peru-son-de-cajamarca/>
- Marques, A. H. (15 de Octubre de 2010). *Antioxidante natural vs antioxidante sintético*. Obtenido de Revista Énfasis Alimentación: <http://www.alimentacion.enfasis.com/articulos/17845-antioxidante-natural-vs-antioxidante-sintetico>

ANEXOS

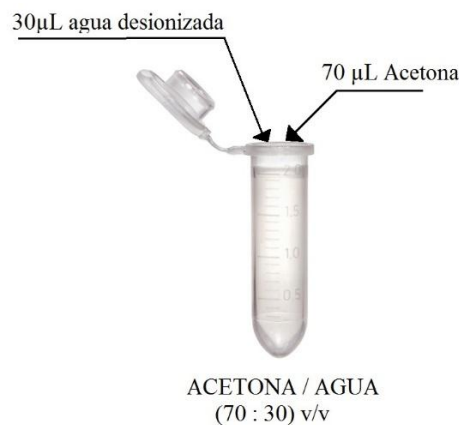
ANEXO 1

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES – DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

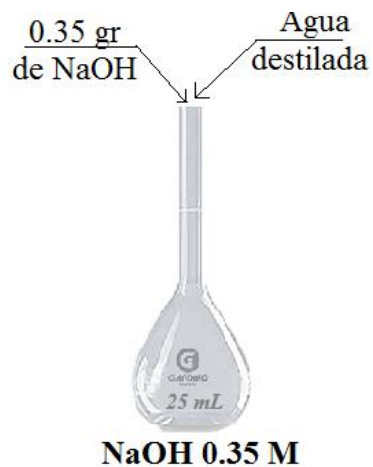
Metanol / agua



Acetona / agua



Hidróxido de sodio 0.35 M



Ácido gálico stock (35 mg/L)



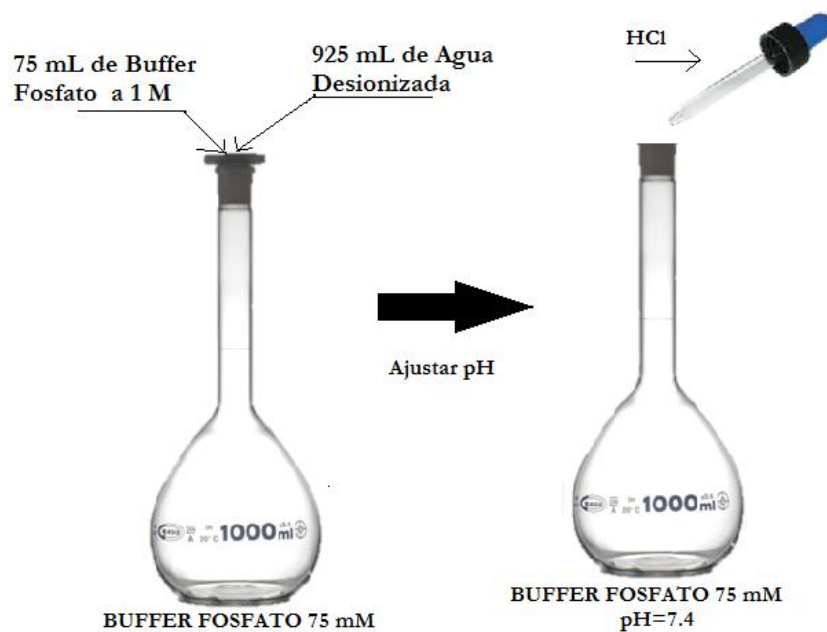
Folin (dilución)



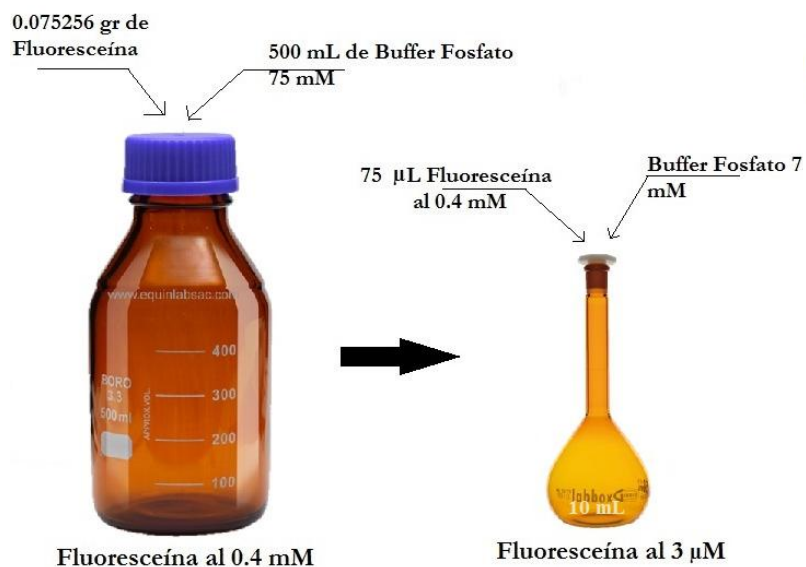
ANEXO 2

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES – MÉTODO ORAC

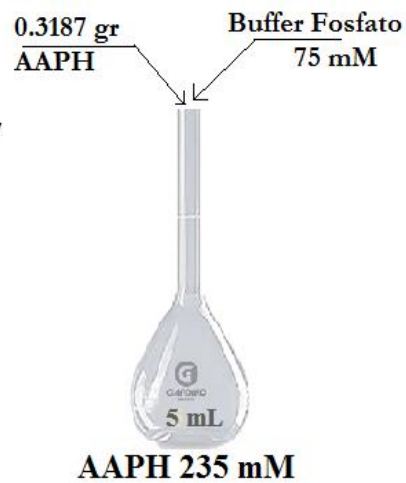
Buffer fosfato 75 mM

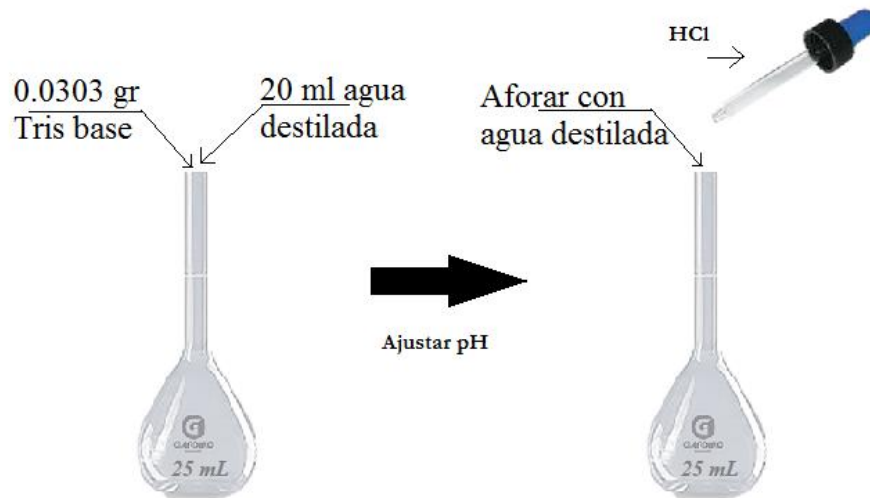
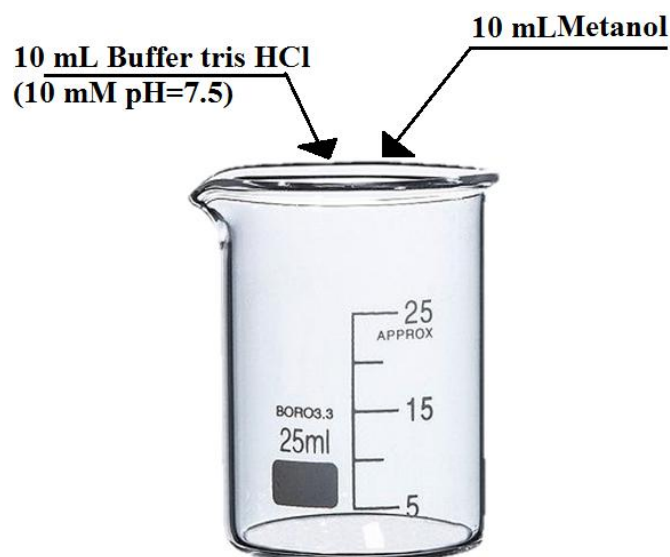


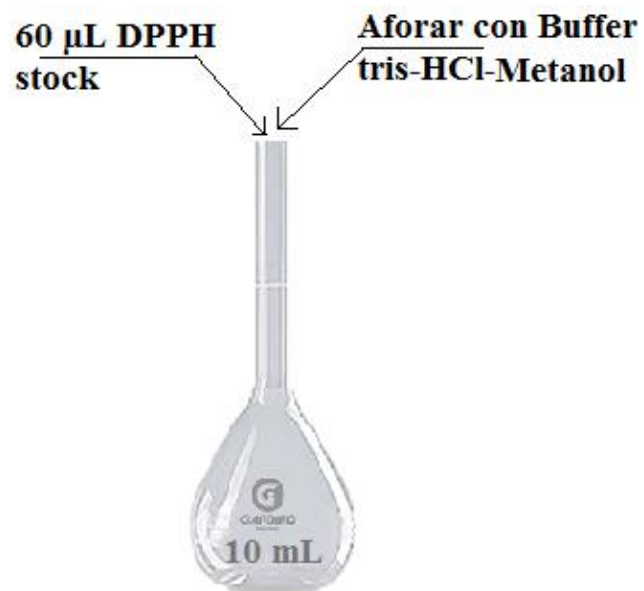
Fluoresceína



Radical AAPH



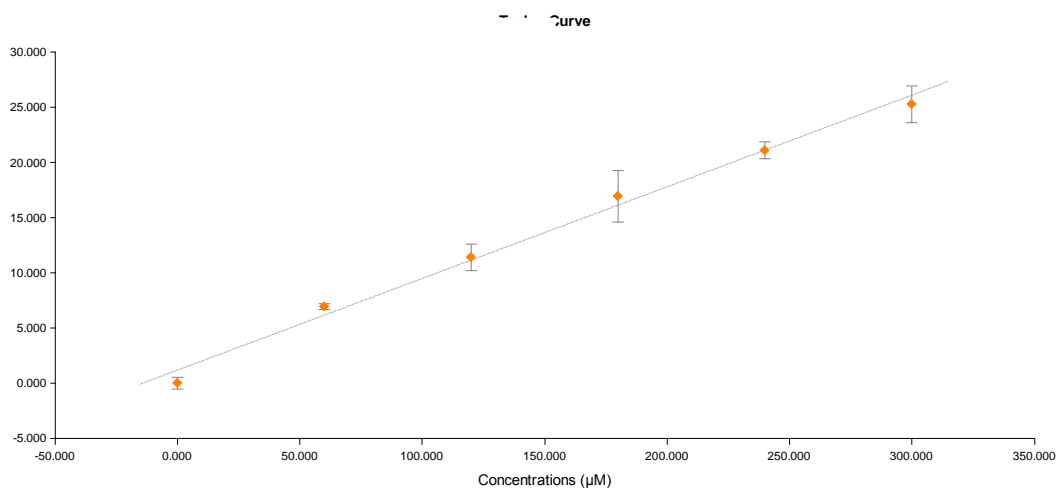
ANEXO 3**PREPARACIÓN DE SOLUCIONES – MÉTODO DPPH****Buffer tris 10 mM (pH=7.5)****BUFFER TRIS - HCL 10 mM (pH =7.5)****Dilución de Buffer tris 10 mM (pH=7.5) –Metanol (1:1 V/V)****DILUCIÓN BUFFER TRIS-HCL / METANOL
(1:1 V/V)**

DPPH stock 10 mM**DPPH stock 10 mM****DPPH 60 μ M****DPPH 60 μ M**

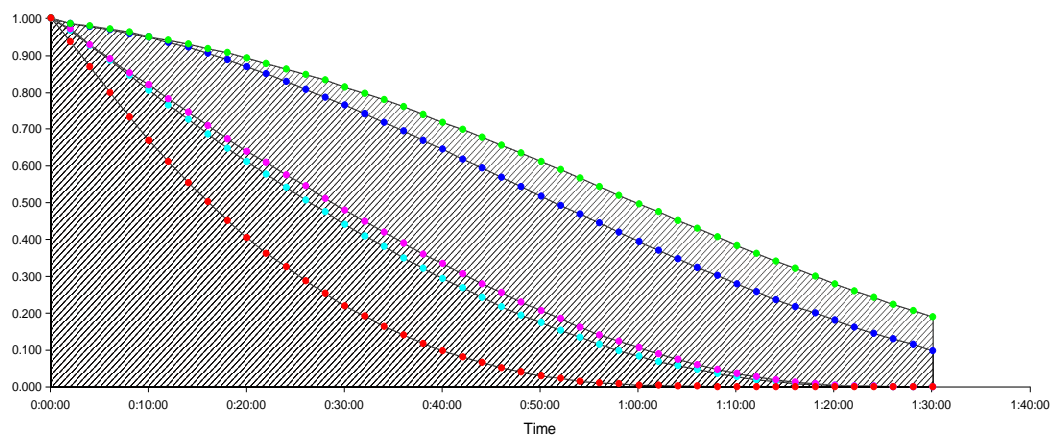
ANEXO 4

CURVAS DE CALIBRACIÓN Y LECTURA DE MUESTRAS – MÉTODO ORAC

Curva de calibración

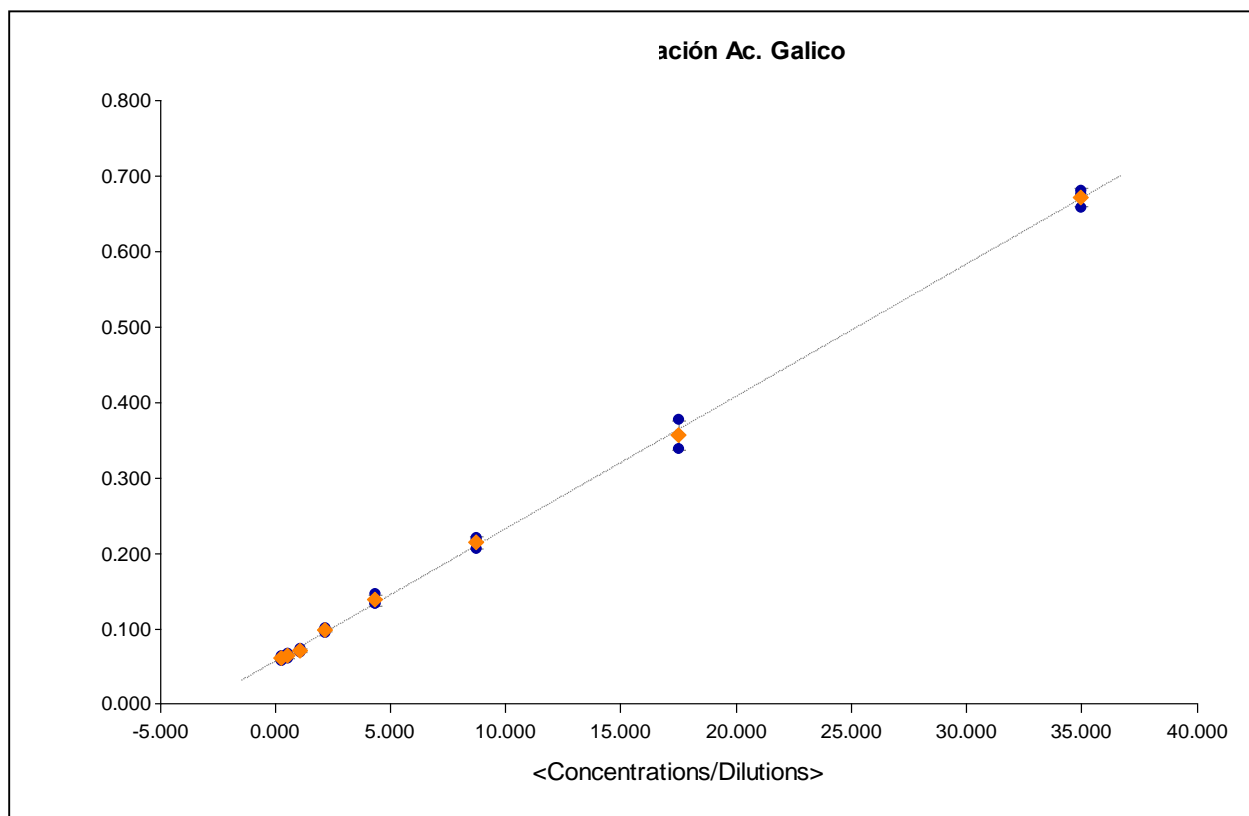


Curve Name	Curve Formula	A	B	R2	Fit F Prob
Trolox Curve	$Y=A*X+B$	0.0831	1.17	0.992	?????



ANEXO 5

CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁC. GÁLICO – DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES



Curve Name	Curve Formula	A	B	R2	Fit F Prob
Curva calibración Ac. Galico	$Y=A*X+B$	0.0175	0.0564	1	?????

Anexo 6**LECTURAS DE MUESTRAS – MÉTODO DPPH**

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	0.219	0.218	0.214	0.217	0.214	0.211	0.215	0.214
B	0.146	0.148	0.143	0.181	0.167	0.155	0.214	0.216
C	0.123	0.125	0.134	0.148	0.124	0.138	0.209	0.191
D	0.107	0.111	0.09	0.1	0.115	0.119	0.176	0.182
E	0.067	0.067	0.01	0.012	0.074	0.072	0.143	0.147
F	0.05	0.045	0.005	0.004	0.01	0.012	0.093	0.103

Anexo 7

MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS



Tubos EPERFON



Tubos falcon



Tips de micropipeta



Microplacas transparentes

Microplaca negra



Balanza analítica



Vortex



Lector de microplacas



Potenciómetro



Microplacas negras



Potenciómetro

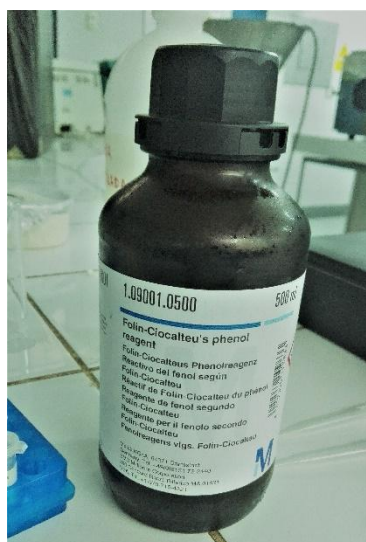
Micropipeta (100 a 1200 μ L)Micropipeta (20 a 200 μ L)



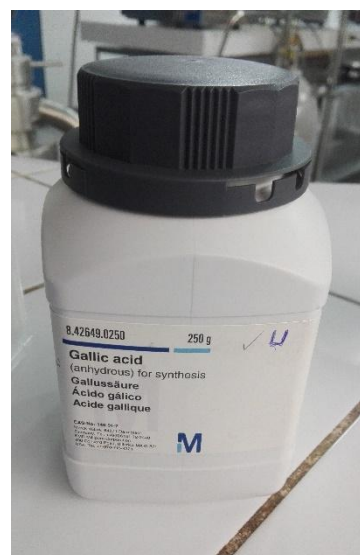
Licuadora BOXA



Horno de secado



Reactivo de Folin Ciocalteu



Ácido Gálico

ANEXO 8

OBTENCION DE LA MUESTRA



Cosecha del fruto



Lavado



Despulpado



Separación de la cascara



Frutos de café enteros para obtención de mucilago

ANEXO 9

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO



Proceso de obtención de mucilago (se exprimió grano por grano)



Cascara de café húmeda



Cascara de café seca



Licuada de la cascara húmeda



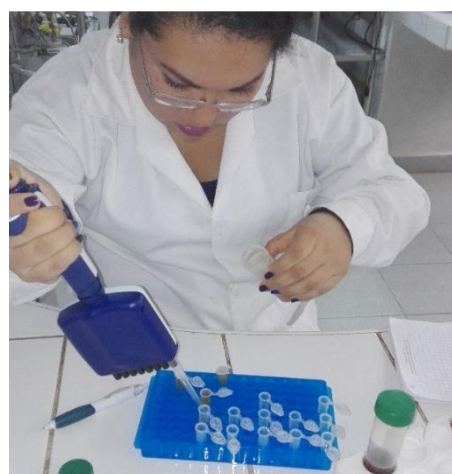
Triturado de la cascara seca



Adición de solventes

Agitación de tubos para homogeneizar
La solución

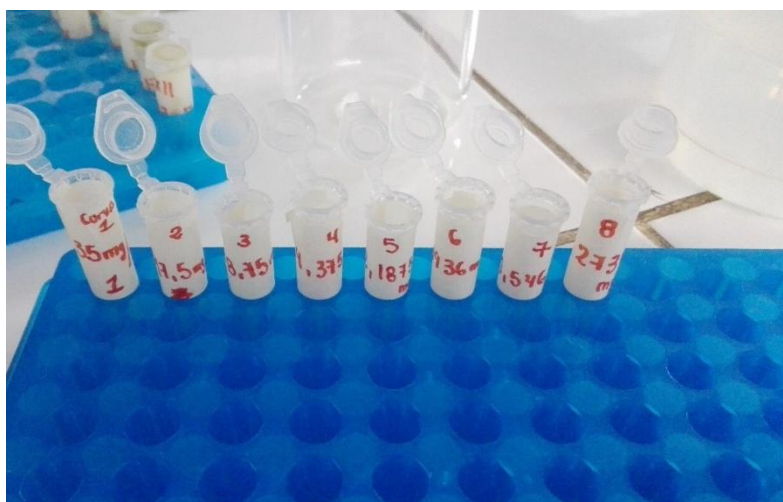
Mezcla después del centrifugado

Adición del líquido sobrenadante en los
tubos esferfonLíquidos sobrenadantes del licuado de
la cascara con yonque y metanol

Líquido sobrenadante cascara seca

ANEXO 10

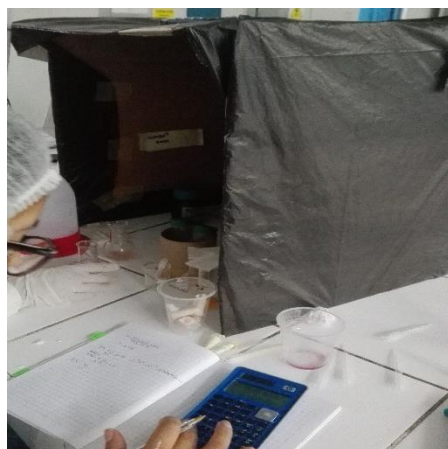
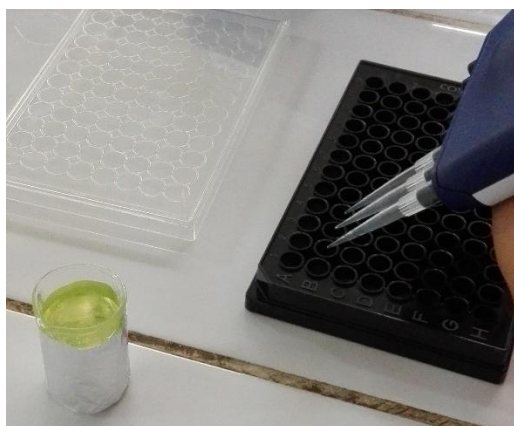
PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA REALIZAR LOS ANÁLISIS DE LABORATORIO



Preparación de la curva estándar – Método de polifenoles totales



Lectura de las muestras –Lector de microplacas



Llenado de la microplaca – Método ORAC