



UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA
La Universidad Católica de Loja

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

“RESIDUOS DEL CAFÉ TOSTADO AGOTADO: UNA FUENTE ALTERNATIVA DE ANTIOXIDANTES”

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE BIOQUÍMICA
FARMACEÚTICA.

Autora:

Paulina Elizabeth Aldeán Andrade.

Director de proyecto:

Ing. Miguel Ángel Meneses.

LOJA - ECUADOR

2011.

CESIÓN DE DERECHOS DE TESIS.

Yo, Paulina Elizabeth Aldeán Andrade, declaro conocer y aceptar la disposición del artículo 67 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textual dice: **“Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero académico o institucional (operativo) de la Universidad”**.

Paulina Elizabeth Aldeán Andrade.
1104343403

CERTIFICACIÓN.

Ing. Miguel Ángel Meneses.

Docente Investigador del Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial de la UTPL;

CERTIFICA:

Que la aspirante Paulina Elizabeth Aldeán Andrade, bajo mi dirección ha concluido a entera satisfacción su Tesis de Grado cuyo tema es: **“Residuos de café tostado agotado: una fuente alternativa de antioxidantes”** por lo que puede proseguir con su presentación y defensa ante los respectivos tribunales en el proceso de graduación.

Ing. Miguel Ángel Meneses

AUTORÍA.

Las ideas, criterios y análisis vertidos en el presente informe de investigación son responsabilidad exclusiva de la autora.

Paulina Elizabeth Aldeán Andrade.
1104343403

DEDICATORIA.

Dedicado primeramente a Dios por regalarme fuerza, amor y apoyo diario. Quiero dedicar también el presente trabajo y mi vida universitaria entera a mis queridos padres, Lucrecia y Miguel, que son el vivo ejemplo de amor, apoyo y perseverancia, por ellos he podido llegar a la culminación de una etapa más de mi vida.

A mi amado hijo y esposo, Joelito y Marlon que han llenado de amor y felicidad mi vida, siendo ellos mi motor para progresar día a día, les dedico mi esfuerzo con todo mi amor.

A mis hermanos, Miguel Ángel, Julio Alberto y Jorge Luis que han sido mi ejemplo y mi alegría para poder seguir adelante, siempre unidos. Los amo.

Paulina Elizabeth.

AGRADECIMIENTO.

Quiero agradecer en primer lugar a la Universidad Técnica Particular de Loja, de manera especial a la Escuela de Bioquímica y Farmacia por construir los cimientos de partida en mi vida profesional.

Agradezco al Ph.D Ing. Omar Malagón por el apoyo brindado y la confianza depositada en mi persona para la culminación de mi carrera profesional.

Mis infinitas gracias también a todos y cada uno de los docentes que laboran en el Centro de Transferencia de Tecnología e Investigación Agroindustrial particularmente al Ing. Miguel Ángel Meneses por la paciencia, dedicación, ayuda y conocimientos brindados para la culminación del presente trabajo.

Y a todas las personas que de una u otra forma contribuyeron para la culminación de la presente tesis, les doy mis más sinceros agradecimientos.

Paulina Elizabeth

Nomenclatura.

FAO	: Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y alimentación.
CORPEI	: Corpora de promoción de exportaciones e inversiones.
ICAFE	: Instituto de café de Costa Rica.
FAECAFES	: Federación regional de asociaciones de pequeños cafetaleros ecológicos del sur del Ecuador.
COFENAC	: Consejo cafetalero Nacional.
LDL	: Lipoproteínas de baja densidad.
EtOH	: Etanol absoluto.
MeOH	: Metanol.
MeOH/Acet	: metanol/acetona.
DPPH	: 2,2 –diphenil-1-ptycrylhydrazyl.
ABTS	: 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid).
TPTZ	: 2,4,6-tripyridyl-s-triazine.
TROLOX	: 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid.
MS	: mezcla de solventes.
AOAC	: Asociación oficial de químicos analistas.
SCAA	: Speciality coffee association of America.
GRAS	: Solvente orgánico reconocido como seguro.
μMET/g M	: Micro moles equivalentes de trolox/ gramo de muestra.
mg EAG/100gM	: miligramos equivalentes de trolox/ 100 gramos de muestra.
mL	: Mililitro
μL	: Microlitro
nm	: Nanómetro.
g	: Gramo.
mg	: Miligramo.
mM	: Milimolar.
N	: Normal.

Resumen:

El café es una bebida popular y de alto consumo debido a sus altas características sensoriales y funcionales, muchas investigaciones han evidenciado la presencia de compuestos bioactivos que le confieren propiedades beneficiosas a la salud. En esta investigación hemos analizado la capacidad antioxidante de los residuos agotados del café obtenidos mediante dos tipos de preparación: expreso y prensa francesa, cada uno preparado con café a dos niveles de tueste (claro y medio), con la finalidad de determinar si dichos residuos son una fuente alternativa de antioxidantes al compararlos con otras fuentes tradicionales. Se estudió el efecto de cada factor además del solvente de extracción (etanol absoluto y mezcla de solventes metanol-acetona) sobre la capacidad antioxidante medida a través de los métodos DPPH, ABTS, FRAP, así como la cantidad de fenoles totales, los ensayos se realizaron por triplicado y el estudio de datos se realizó mediante el análisis de varianza a nivel de confianza de 95%. Los resultados mostraron que el factor más determinante en la diferencia de respuestas ($p < 0,05$) fue el solvente de extracción tanto para café tostado como para residuos agotados, notándose interacciones con efecto significativo en las que el solvente está presente. El factor que no influye en las respuestas fue el grado de tueste. Las condiciones con las cuales se obtuvo una respuesta mayor correspondieron a mezcla de solvente y preparación expreso. Los valores de actividad antioxidante correspondientes fueron: 96,30; 53,80 y 47,85 $\mu\text{Mol Eq. Trolox/g Muestra}$ en DPPH, ABTS y FRAP, respectivamente, mientras en fenoles totales el valor fue 401 mg Eq. Ácido gálico/100g Muestra. Estos residuos contienen un remanente de actividad antioxidante entre 20, 10 y 12% en DPPH, ABTS y FRAP y de 15% en fenoles totales, respecto a los valores medios en el café tostado previo a la preparación. Al comparar estos resultados con aquellos publicados por otros estudios se determinó que la actividad antioxidante es menor que aquellas frutas reconocidas como fuentes ricas de antioxidantes sin embargo los valores encontrados fueron mayores a otras fuentes por lo que será necesario evaluar individualmente los compuestos bioactivos que se mantienen en los residuos.

Palabras claves: residuo agotado de café, actividad antioxidante,

INDICE DE CONTENIDOS.

Portada y contraportada	i
Certificación de cesión de derechos	ii
Certificación de revisión del tutor	iii
Certificación de autoría	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Nomenclatura	vii
Resumen	viii
Índice de contenidos	ix
Índice de anexos	xi
Índice de gráficas y fotografías	xii

Capítulo 1 . Introducción

1.1. Introducción	1
1.2. Objetivos	3
1.3. Hipótesis	3

Capítulo 2 . Estado del Arte.

2.1. Café	4
2.2. Características de la planta de café	4
2.3. Importancia del café en la economía	5
2.3.1. En Ecuador	5
2.4. Composición química del café	6
2.5. Antioxidantes naturales	7
2.5.1. Antioxidantes en el café	8
2.6. Beneficio del consumo del café	10
2.7. Subproductos y residuos del procesamiento de café	11
2.8. Torrefacción del café	13
2.9. Preparación de café	14

Capítulo 3 . Materiales y métodos.

3.1. Reactivos	15
3.2. Materia prima	15
3.3. Caracterización de fruto	15
3.4. Diseño experimental	16
3.5. Tratamiento de la muestra	16
3.5.1. Proceso de Beneficio Húmedo del Café	16

3.5.2. Tostado de café	16
3.5.3. Tamaño de partícula- Preparación de la bebida de café	17
3.6. Obtención de extractos	18
3.6.1. Extracción con mezcla de solventes (MS)	18
3.6.2. Extractos etanólicos	19
3.7. Determinación de actividad antioxidante	19
3.7.1. Método DPPH	19
3.7.2. Método ABTS	20
3.7.3. Método FRAP	20
3.7.4. Método FOLIN- CIOCALTEU	21
3.8. Análisis estadístico	21

Capítulo 4 . Resultados y análisis.

4.1. Caracterización de la pulpa de café	22
4.2. Tostado de café-curvas de tostado	23
4.3. Rendimiento de extracción	25
4.4. Análisis de varianza	25
4.5. Actividad antioxidante	28
4.6. Fenoles totales	30
4.7. Residuos: Fuente de antioxidantes?	32

Capítulo 5 .Conclusiones y recomendaciones.

5.1. Conclusiones	35
5.2. Recomendaciones	35

Anexos	36
---------------	-----------

Anexos.

Contenido	Pág.
Anexo 1(a, b, c): Fotografías de lote 1 (a), lote 2(b), lote 3 (c).	36
Anexo 2: Diseño experimental (ANOVA) para café tostado y residuos agotados.	36
Anexo 3: Proceso de beneficio húmedo del café.	37
Anexo 4: Proceso de tostado y medición del tamaño de partícula del café tostado.	37
Anexo 5: Preparación de café expreso.	38
Anexo 6: Preparación de café prensa francesa.	38
Anexo 7: Obtención de Extractos Mezcla de solventes MeOH/Acetona.	39
Anexo 8: Obtención de Extractos etanólicos.	39
Anexo 9: DPPH. Preparación de solución Madre, solución de trabajo y de muestras.	40
Anexo 10: ABTS. Preparación Madre, solución de trabajo y de muestras.	41
Anexo 11: FRAP. Preparación de muestras.	41
Anexo 12: FENOLES TOTALES. Preparación de muestras.	42
Anexo 13: Tablas de resultados del Anova para café tostado y para residuos agotados.	42
Anexo 14: Gráficas de efectos para DPPH, ABTS, FRAP y Fenoles totales.	47
Anexo 15: Cálculos actividad antioxidante y fenoles totales.	55

Fotografías.

Contenido	Pág.
Fotografía 1.1 Café cerezo.	4
Fotografía 4.1 Café tostado claro y medio.	24

Gráficas.

Contenido	Pág.
Gráfica 4.1 a Curva de tostado claro.	24
Gráfica 4.1 b Curva de tostado medio.	24
Gráfica 4.2 Actividad antioxidante - EtOH para café expreso.	29
Gráfica 4.3 Actividad antioxidante - EtOH para café prensa francesa.	29
Gráfica 4.4 Actividad antioxidante-MeOH/Acetona para café expreso.	30
Gráfica 4.5 Actividad antioxidante-MeOH/Acetona para café prensa francesa.	30
Gráfica 4.6 Fenoles totales- EtOH café tostado y residuos agotados de expreso.	31
Gráfica 4.7 Fenoles totales- EtOH para café prensa francesa.	31
Gráfica 4.8 Fenoles totales en extractos MeOH/Acet en café tostado y residuos agotados, para expreso.	31
Gráfica 4. 9 Fenoles totales en extractos MeOH/Acet en café tostado y residuos agotados, para expreso.	31
Gráfica 4.10 Fenoles totales- actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.	32
Gráfica 4.11 ABTS- Actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.	33
Gráfica 4.12 DPPH- Actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.	33
Gráfica 4.13 FRAP- Actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.	34

CAPITULO I

1.1. Introducción

El café es una de las bebidas más populares y comúnmente consumidas alrededor del mundo debido a su agradable sabor y aroma.¹ La planta de café pertenece al género *Coffea* de la familia Rubiaceae. De todas las especies, dos son las que tienen mayor importancia, *Coffea arabica* y *Coffea canephora* variedad *Robusta*. Por su consistencia los bebedores de café han preferido en un cien por ciento los granos de arabica en lugar del robusta. Entre los beneficios del café están promover la secreción gástrica y la producción de orina, también puede disminuir la concentración de ácido úrico en el suero, reduce el riesgo de desarrollar cálculos biliares, asma, inhibe la histamina e inmediatamente reacciones de tipo alérgicas y decrece la D-galactosamina inducida por lesiones del hígado.²

Al examinar el café, la cafeína ha tenido usualmente la mayor atención por ser el mayor compuesto presente en el café ayudando a reducir la somnolencia y la fatiga, entre otros beneficios.¹ Recientemente los datos demuestran que el café presenta alta capacidad antioxidante, lo que ha inducido profundizar en el estudio de los componentes responsables de esta actividad.² A excepción de la cafeína, la bioactividad y los efectos farmacológicos del café se deben a la presencia de compuestos fenólicos y los productos de la reacción de Maillard, desarrollados durante la torrefacción.^{1,3}

Los granos verdes de café contienen compuestos antioxidantes que en su mayoría corresponden a polifenoles tales como ácidos clorogénicos, epicatequinas, ácidos procatequicos,⁵ alcaloides y demás, notándose que su contenido depende de la especie de café y de su origen.⁸ Los ácidos clorogénicos y derivados alcanzan niveles sobre el 14% en peso de la fracción fenólica de café verde.⁶ Estos componentes

¹ Yen W. J., Wang B. S., Chang W. L., Duh D. P., **Antioxidant Properties of roasted Coffee Residues.** - *J. Agric. Food Chem.*, **2005**.

² Parras P., Martínez-Tomé M., Jiménez A., Mucia M.- **Antioxidant capacity of coffees of several origins brewed following three different procedures.** Science direct. Food Chemistry-ELSEVIER. 2006.

³ Nardini M., Cirillo E., Natella F., Scaccini C., **Absorption of Phenolic Acids in Humans after Coffee Consumption.** - *J. Agric. Food Chem.*, 2002 .

⁵ Clifford M., Ramírez-Martínez J., **Phenols and Caffeine in Wet-Processed Coffee Beans and Coffee Pulp.** 1990.

⁶ Farah A., Donangelo M.,- **Phenolic compounds in coffee.** Plant. Physiologist-Brazil. M I N I R E V I E W. 2006

tienen numerosas propiedades de beneficio para la salud relacionados a una potente actividad antioxidante con buena actividad de protección hepatoprotectora, hipoglicemiante y como antivirales.⁷

El proceso del tostado de los granos verdes del café conduce a un cambio profundo en la composición química y actividad biológica del café como resultado de la generación de compuestos derivados de la reacción de Maillard y de compuestos orgánicos resultado de la pirólisis.² Dependiendo de las condiciones del tostado, los componentes antioxidantes naturales del café, son parcialmente descompuestos o se enlazan a estructuras de polímeros.⁷

Otros estudios demuestran que el grado del tostado tiene un efecto sobre el contenido final de actividad antioxidante en el café, puesto que existe desnaturalización y formación de nuevos compuestos como el ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido caféico y catecol, siendo dos medidas de tostado (claro/light y medio/medium) las que determinaron los resultados positivos de un incremento de la actividad antioxidante, aunque el contenido del principal compuesto polifenólico, el ácido clorogénico haya disminuido en un 18.9 y 45.2% para el tostado claro y medio respectivamente, comparando con los granos verdes del café.⁸

La industrialización del café lleva consigo la producción de cantidades considerables de residuos, los mismos que han sido evaluados para su uso y aprovechamiento, es el caso de los residuos del café tostado agotado que han sido utilizados como fertilizante, comida de animales o sustitutos de materiales industriales, sin embargo el mejor uso de estos es como combustible.¹

Estudios recientes epidemiológicos han asociado el consumo de alimentos y bebidas ricos en compuestos polifenólicos con la prevención de varias enfermedades humanas, los polifenoles han demostrado tener una variedad de acciones biológicas tales como la neutralización de radicales libres, quelatización de metales, modulación de la actividad enzimática, activación de los factores de transcripción y la expresión de los genes.³

En trabajos previos, la extracción de los residuos del café tostado agotado de café soluble se ha realizado con diferentes solventes, *n*-hexano, agua, etanol y metanol, el

⁷ Brézova V, Sleboďová A., Stasko A., - **Coffee as a source of antioxidants: An EPR study.** -Food Chemistry. Contents lists available at ScienceDirect. 2009

⁸Del Castillo M., Ames J., Gordon M., **Effect of Roasting on the Antioxidant Activity of Coffee Brews-** *J. Agric. Food Chem.*, ACS publications, 2002.

análisis posterior de capacidad antioxidante demuestra que los rendimientos de extracción corresponden a la polaridad del solvente, es decir, a mayor polaridad mayor será la actividad antioxidante del extracto.¹

En el presente trabajo se pretende analizar y cuantificar la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de los residuos del café tostado agotado, evaluando el efecto de tostado (claro y medio) y la forma de preparación del café (prensa francesa y expreso), con el fin de proponer su aprovechamiento y determinar si dichos residuos pueden ser utilizados en el área farmacológica, cosmética o alimenticia. El CETTIA dentro de sus líneas de investigación a través de la extracción con Fluidos Supercríticos (FSC) tiene interés fundamental en la explotación de residuos agroindustriales como fuente de aditivos naturales.

1.2. Objetivos:

General:

- Evaluar la capacidad antioxidante en residuos de café tostado agotado.

Específicos:

- Determinar la capacidad antioxidante en extractos de residuo del café tostado.
- Determinar el porcentaje de fenoles totales presentes en residuos del café tostado agotado.
- Determinar las condiciones adecuadas de extracción de fracciones con actividad antioxidante.

1.3. Hipótesis:

H0: Los extractos metanol-acetona y etanólicos de residuos del café tostado agotado obtenido **NO** presentan actividad antioxidante mayor que la de los extractos metanol-acetona y etanólicos del café tostado.

H1: Los extractos metanol-acetona y etanólicos obtenidos de residuos del café tostado **SI** presentan actividad antioxidante mayor o igual que la de los extractos metanol-acetona y etanólicos del café tostado.

CAPITULO II

Estado del Arte.

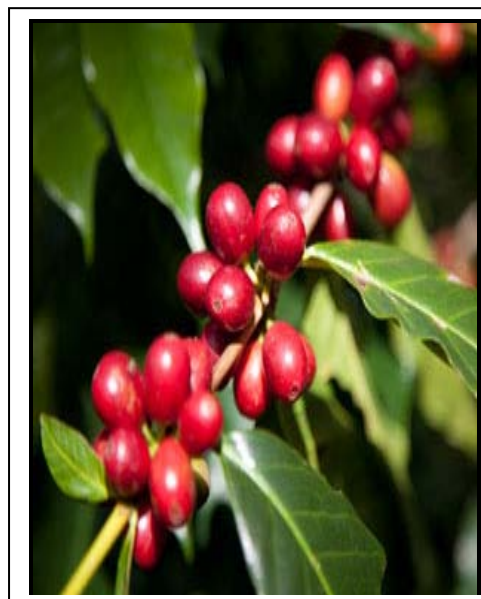
2.1. El Café.

El café arábico se originó en las tierras altas de más de 1000 m.s.n.m*. en Etiopía y Sudán. En los años 575 y 890, los persas y los árabes lo llevaron a Arabia y Yemen, en tanto que los nativos africanos lo extendieron a Mozambique y Madagascar. De allí los holandeses y los portugueses, entre los años 1600 y 1700, lo trasladaron a Ceylán, posteriormente a otras regiones de Asia y África. La introducción del café en América del Sur ocurrió en 1727 cuando fue trasladado de Sumatra a Brasil, luego pasó a Perú y Paraguay en 1825, extendiéndose a Puerto Rico y El Salvador en 1740; a Guatemala en 1750; a Bolivia, Ecuador y Panamá en 1783.⁹

2.2. Características de la planta de café

Tabla 2.1: Características de la planta de café.

GENERALES	
Especie	<i>C. arabica</i>
Contenido de cafeína (%)	1,0-1,3 Débil.
pH del grano	Medio 7,4.
MORFOLÓGICAS	
Porte	Medio hasta 7 m de la planta.
Reproducción	Autógama.
Granos	8 a 12 mm
Color endospermo	Verde oscuro.
Hojas	Forma oblonga, color verde oscuro brillante en el haz y verde pálido en el envés.
Flores	Inflorescencia de 4 a 12 flores por axila.
Fruto	Rojo vino al madurar.



Fotografía 1.1 Café cerezo

Fuente: Alvarado y Rojas, 1994.

* m.s.n.m.: metros sobre el nivel del mar.

⁹ Alvarado M., Rojas G.,- El cultivo y beneficiado del café Cap. 1, Pág. 3, Edición 2007.

2.3. Importancia del café en la economía.

El café es parte de la vida de miles de millones de personas, alrededor del mundo, que lo producen, lo industrializan, lo comercializan, y finalmente lo consumen; es un estilo de vida y la fuente de supervivencia de 20 millones de trabajadores que cada año acumulan más de 600 toneladas del grano. Más de la mitad de esta producción pertenece a los pequeños productores que en 44 países tropicales y subtropicales viven de la exportación del aromático. En el panorama económico mundial, el café es la segunda mercancía más importante después del petróleo, a nivel de comercio internacional.¹⁰

En el año 2004 la FAO¹¹ estableció un aproximado en la producción mundial de café que en el 2010 debió ascender a 7 millones de toneladas (117 millones de sacos de 60 kg). Mencionando que con toda probabilidad América Latina y el Caribe seguirían siendo la principal región productora de café en el mundo.

Las exportaciones mundiales de café y elaborados han presentado un crecimiento promedio anual del 22% en el periodo 2002-2006, pasando de USD \$ 8,8 mil millones en el 2002 a USD \$ 19 mil millones en el año 2006.¹²

2.3.1. En Ecuador:

De acuerdo al último Censo Agropecuario Nacional del 2002 (INEC, 2002), en el país se cultivan alrededor de 220.000 hectáreas de café. De estas, el 65% corresponde a café arábico y el 35% a robusta, las dos especies de café sembradas en el país. De acuerdo al COFENAC¹³ estima que la superficie cafetalera nacional es de 213.175 hectáreas, incrementándose el cultivo de café arábico a 68,3% y el robusta a 31,7%, la distribución de esta superficie cafetalera en el mismo año se concentró en las siguientes provincias: Manabí (32,9%), Loja (13,8%), Orellana (9,4%) y Sucumbíos (8,1%).

¹⁰ Morán Rangel, G. 2005.- *"Seguimos Dependiendo del Campo" El Proyecto de Café Orgánico en la Cooperativa Indígena Tosepan Titataniske de Cuetzalan*-. Tesis Licenciatura. Antropología con área en Antropología Cultural. Departamento de Antropología, Escuela de Ciencias Sociales, Universidad de las Américas Puebla. Enero. Derechos Reservados © 2005, Universidad de las Américas Puebla

¹¹ FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2004).

¹² CORPEI: Corpora de Promoción de Exportaciones e Inversiones (2008).

¹³ COFENAC: Consejo Cafetalero Nacional (2010)

Por otro lado, en los últimos 5 años las exportaciones de café y sus elaborados han tenido un repunte. Esto, debido al incremento en los precios internacionales donde el café arábigo y robusta pasaron de USD 49,50 y USD 30,25 el quintal en el año 2004 a USD 149,08 y USD 79,09 en el 2009 respectivamente. Es así que las exportaciones del café y sus elaborados, pasaron de USD 92 millones en el 2005 a USD 139 millones en el 2009.¹⁴

Las exportaciones totales de café y elaborados crecieron en promedio del 25%, en términos FOB¹⁵ entre el periodo 2002-2007, pasando de USD 41,7 millones en el 2002 a USD 120,8 millones en el 2007. En toneladas se exportaron 20 860 en el 2002 mientras que en el 2007 las exportaciones en toneladas ascendieron a 28.441, registrando así un crecimiento promedio del 8% en el periodo mencionado.¹³

En cuanto a la producción nacional para el año 2009, esta se ubicó en alrededor de 39.000 toneladas (650.000 sacos de 60 kg), de los cuales el 66% se exportó y 34% permaneció para el mercado local. No obstante, la demanda actual del café tanto en exportación y el mercado interno es de alrededor de 1,3 millones de sacos de 60 kg, lo cual representa un déficit de alrededor de 700.000 sacos que el país tiene que importar para cumplir su demanda.¹⁵

2.4. Composición química del café.

Tanto el café verde y el tostado presentan compuestos volátiles, no volátiles, lípidos y un conjunto de ácidos que le proporcionan un sabor y aroma característico, Clarke y Vitzthum¹⁶ citan dichos compuestos:

El café verde presenta un listado de más de 230 compuestos volátiles, por mencionar algunos: (2-etil-metil, 3-etilmetil, 2-metoxi-3,5-dimetilpirazona, 2-metoxi-3-isopropilpirazona, 3-isobutil-2-methoxipirazona, vainillina etc.), compuestos no volátiles que son carbohidratos de alto y bajo peso molecular (sucrosa, arabinosa, manosa, galactosa, fructosa, glucosa, manitol, celulosa), también lípidos (ácidos grasos libres, triglicéridos, ésteres, etc.) y ácidos (cítrico, oxálico, málico, clorogénico, tártrico, pirúvico, acético, láctico, glicólico y fosfórico).

¹⁴ Acosta J., **El Sector Agropecuario en Ecuador: El Café**. Fundación Libre Ecuador. 2010.

¹⁵ FOB: (free on board, puesto a bordo). Fórmula de pago o clave utilizada en el comercio internacional para indicar que el precio de venta de un determinado artículo incluye el valor de la mercancía y los gastos de transporte y maniobra.

¹⁶ Clarke R., Vitzthum O., **Coffee recent developments**, Cap. I: Acids coffee -2001.

Mientras que en el café tostado se han identificado más de 800 compuestos volátiles los mismos que se encuentran dentro de una gran variedad de grupos funcionales (hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ác. carboxílicos, pirroles, pirridinas), compuestos no volátiles (celulosa, glucosa, fructosa, manitol, arabinosa, galactosa, manosa), ácidos (caféico, quínico, clorogénico, cítrico, málico, tartárico, oxálico, pirúvico, acético, carboxílico, málico fumárico, citracónico, fórmico, glicólico, láctico y fosfórico) y lípidos.

2.5. Antioxidantes naturales:

Un antioxidante es una sustancia que, cuando está presente en concentraciones más bajas que la de un sustrato oxidable (tales como lípidos, proteínas, ácido desoxirribonucleico, y carbohidratos), es capaz de retardar o anular significativamente la oxidación¹⁷ de dicho sustrato. Los antioxidantes naturales juegan un rol decisivo en diferentes sistemas: i) en plantas, actúan como agentes protectores contra la radiación y las infecciones microbianas, ii) en alimentos, retardan o inhiben la formación de productos tóxicos provenientes de la oxidación lipídica, manteniendo sus cualidades nutricionales e incrementando su tiempo de vida útil, y iii) en sistemas biológicos, junto con las defensas endógenas (enzimas, vitaminas, proteínas y otros) los antioxidantes pueden ayudar a prevenir o disminuir el estrés oxidativo inducido por los radicales libres.¹⁸ Varios componentes de los alimentos como carotenoides, taninos, compuestos fenólicos y compuestos no fenólicos, y sus interacciones contribuyen a la actividad antioxidante de los alimentos, por lo que es difícil medir la actividad antioxidante total por compuestos activos individuales.¹⁹ Se pone en evidencia que el daño oxidativo puede contribuir al desarrollo de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y cancerígenas relacionadas con múltiples factores (edad, el estrés, radiaciones) los efectos beneficiosos protectores de los antioxidantes naturales que se encuentran en algunos alimentos (frutas, verduras) se han atribuido a su actividad antioxidante y preventiva.²⁰

¹⁷ Oxidación: reducción del oxígeno molecular, dando lugar a las especies reactivas del oxígeno, las que en su mayoría son radicales libres.

¹⁸ Díaz-Reinoso B., Moure A., Domínguez H., Parajo J., **Antioxidant Extraction by Supercritical Fluids-** Cap. 9 Pag. 275,276. Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds.

¹⁹ Rojas D., Narváez E., Restrepo L.,- **EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE VITAMINA C, ENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PULPA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) DE LAS VARIEDADES PERAN REGIONAL ROJA Y REGIONAL BLANCA.** Memoris Red-Alfa Lagrotech*COMUNIDAD EUROPEA*CARTAGENA 2008.

²⁰ Velamazán A., - Antioxidantes: Una respuesta natural.- Food Bioprocess Technology 2005.

Actualmente la demanda del consumidor por alimentos que sustituyen los antioxidantes sintéticos (butilhidroxitolueno BHT, butilhidroxianisol BHA, terbutilhidroquinona TBHQ y galatos) por antioxidantes naturales está creciendo notablemente dado el hecho que dichos productos adicionan beneficios biológicos a los beneficios de conservación.²¹ Sin embargo, aunque los antioxidantes naturales son seguros e inocuos, su falta de toxicidad debe ser confirmada en cada caso particular.¹⁸

Existe una gran variedad de antioxidantes naturales que se encuentran distribuidos ampliamente en el reino¹⁸:

- Polifenoles: pulpa de café, café tostado, frutas frescas, frutos secos.
- Terpenoides: alimentos verdes, productos de la soja y cereales.
- Carotenoides: frutos amarillos o anaranjados (guayaba), verduras
- Vitamina E: aceites vegetales (trigo, maíz, oliva), soya, margarina.
- Otros: péptidos, proteínas, productos de Maillard, oligosacáridos, azúcares y polioles y metabolitos microbiológicos.

2.5.1. Antioxidantes en el café:

Diferentes estudios demuestran que el grado del tostado tiene un efecto sobre el contenido final de actividad antioxidante en el café, puesto que existe desnaturalización y formación de nuevos compuestos como el ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido caféico y catecol.^{1,9,22} El estudio de Del Castillo *et al.*⁹ mostró que dos medidas de tostado (claro/light y medio/medium) determinaron resultados positivos con un incremento de la actividad antioxidante, aunque el contenido del ácido clorogénico (principal compuesto polifenólico), haya disminuido en un 18,9 y 45,2% para el tostado claro y medio respectivamente comparado con los granos verdes de café. Las relaciones entre el grado de tostado y la actividad antioxidante varían con el tipo de café, las condiciones del tostado, el procedimiento de extracción y el ensayo que se escoja para la determinación de la capacidad antioxidante. La variación de actividad antioxidante con la forma de preparación de la bebida se observa en el trabajo expuesto por Parras *et al.*², donde se observa que el café filtrado presenta

²¹ Pushpa S. Murthy & M. Madhava Naidu- **Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products.**- Springer Science+Business Media. Food Bioprocess Technol. 2010

²² Minamisawa M., Yoshida S., Takai N., - **Determination of Biologically Active Substances in Roasted Coffees using a Diode- Array HPLC System.**- Food Bioprocess Technol .2009

mayor capacidad antioxidante que la preparación italiana y el expreso al reaccionar con H₂O₂.

Los compuestos fenólicos presentes en el café presentan gran actividad antioxidante y una variedad de efectos biológicos incluyendo protección contra la oxidación de las proteínas LDL*, actividad antiinflamatoria, antitumoral. Por ejemplo el ácido cafeico y ferúlico proporcionan protección contra carcinomas y contra las radiaciones ultravioleta.¹⁸

Estudios epidemiológicos han asociado el consumo de alimentos y bebidas ricos en compuestos polifenólicos con la prevención de varias enfermedades humanas (cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer) desarrolladas por los productos de la oxidación.²⁰ Los polifenoles han demostrado tener una variedad de acciones biológicas tales como la neutralización de radicales libres, quelatización de metales, modulación de la actividad enzimática, activación de los factores de transcripción y la expresión de los genes.²³

Los granos verdes de café contienen compuestos antioxidantes que en su mayoría corresponden a polifenoles tales como ácidos clorogénicos, ácidos fenólicos, epicatequinas, ácidos.^{5,24} alcaloides y demás, notándose que su contenido depende de la especie de café y de su origen.⁸ Los ácidos clorogénicos y derivados alcanzan niveles sobre el 14% en peso de la fracción fenólica de café verde, tienen numerosas propiedades de beneficio para la salud relacionados a una potente actividad antioxidante con buena actividad de protección hepatoprotectora, hipoglicemiante y como antivirales.²⁵

El café es consumido como bebida una vez que es sometido a las fuertes condiciones del proceso de tostado que influyen en la composición cualitativa y cuantitativa de fracciones de los ácidos clorogénicos, determinante regulador de la concentración de dichas sustancias.²⁶

* LDL: lipoproteínas de baja densidad.

²³ Nardini M., Cirillo E., Natella F., Scaccini C., **Absorption of Phenolic Acids in Humans after Coffee Consumption-** *J. Agric. Food Chem.*, 2002.

²⁴ Dórea J., Da Costa T., **-Is coffee a functional food?** -British Journal of Nutrition (2005).

²⁵ Farah A., Marquez V.,- **Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions.**- Science direct. Food Chemistry-M I N I R E V I E W. 2006

²⁶ Del Castillo M., Ames J., Gordon M., **Effect of Roasting on the Antioxidant Activity of Coffee Brews-** *J. Agric. Food Chem.*, 2002,

Una taza de café preparado con 10 g de café, contiene de 15 - 325 mg de ácido clorogénico aproximadamente.²⁷ Dependiendo de las condiciones del tostado, los componentes antioxidantes naturales del café, son parcialmente descompuestos o se enlazan a estructuras de polímeros.⁶ En el café se encuentran 6 tipos de ácidos clorogénicos: ácido cafeoylquinic, ácido dicaffeoylquinic, ácido feroylquinic, ácido caffeoylferuoylquinic, y ácido feruloycaffeoylquinic, los tres primeros representan el 98% del contenido total de ácidos clorogénicos.²⁸ Este grupo de ácidos han mostrado tener efectos biológicamente activos en el cuerpo humano, al introducirse en la sangre el (ácido clorogénico y el ácido cafeico) inhiben la oxidación de las proteínas LDL, considerándose así protectores cardiovasculares.²⁹ Otro compuesto de importancia fundamental que se encuentra en el café es el 1,5- γ -quinolactona que ha sido estudiado no solo por su potencial efecto hipoglucemiante sino también por su acción en la función del cerebro, sobre receptores adenosin y opioides.⁶

2.6. Beneficio del consumo del café.

Al examinar el café, la cafeína ha tenido usualmente más atención, por ser el mayor compuesto presente en el café, ayudando a reducir la somnolencia y la fatiga, y más recientemente porque se dice que está presenta alta capacidad antioxidante.² A excepción de la cafeína, la bioactividad y los efectos farmacológicos del café se deben a la presencia de compuestos fenólicos y los productos de la reacción de Maillard, desarrollados durante la torrefacción.^{1,30}

Minamisawa *et al.* analizaron la bebida de café en diferentes grados de tostado sobre la presencia de sustancias biológicamente activas en la bebida como ácido nicotínico, trigonelina, ácido tánico, ácido pirogálico, ácido quinolínico, ácido clorogénico y por supuesto la cafeína. Además, el ácido nicotínico (vitamina B₃) aumenta en altas cantidades según el grado de tostado, en valores de 3,6 – 53,4 mg/g, producto de una desmetilación de la trigonelina y una descarboxilación del ácido quinolínico, llegando a niveles de 8,9 mg/200 mL. Dado que los valores necesarios para un adulto es 17 mg por día de vitamina B₃, el consumo de 2 tazas de café puede ser suficiente para obtener la cantidad adecuada en adultos.²¹

²⁷ Ramirez-Martinez J. R., -**Pulpa e café ensilada. Producción caracterización y utilización en alimento animal.** Cap. 1,1999.

²⁸ Del Castillo M., Gordon M., Ames J..- **Peroxyl radical-scavenging activity of coffee brews-** Eur Food Res Technol (2005) 221:471–477DOI 10.1007/s00217-005-1209-1

²⁹ Olthof M., Hollman P., Katan M., -**Chlorogenic Acid and Caffeic Acid Are Absorbed in Humans.-** State titute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT). The Netherlands. HUMAN NUTRITION AND METABOLISM, 2001.

³⁰ Torrefacción: Proceso de tostado de café.

Algunos estudios han relacionado el consumo del café con la reducción del nivel de glucosa en el plasma.²³ Salazar- Martinez *et al.*, demostraron que el consumo a largo plazo de café es un protector contra la diabetes en las mujeres y se asocia con un menor riesgo estadísticamente significativo de diabetes tipo 2.³¹

El café promueve la secreción gástrica y la producción de orina, también puede disminuir la concentración de ácido úrico en el suero, reduce el riesgo de desarrollar cálculos biliares, asma, inhibe la histamina e inmediatamente reacciones de tipo alérgicas y decrece la D-galactosamina inducida por lesiones del hígado.²

En cuanto al café y su relación con el sistema nervioso, el café pone al organismo en un estado de alerta mostrando también efectos positivos en resultados neuronales, ayuda a reducir el riesgo de contraer enfermedad de Parkinson, siendo también favorable en la hiperactividad de los niños, aumenta la noradrenalina y adrenalina al aumentar el nivel de catecolaminas en el cuerpo.²³

2.7. Sub productos y residuos del procesamiento del café.

En la industria del café se generan cantidades considerables de residuos, la producción mundial por año de café verde es de aproximadamente 6 millones de toneladas.¹³ Zambrano e Isaza reportaron que por cada 10 millones de sacos de 60 kg de café verde que se producen se utiliza solo el 9,5% de este quedando el 90,5% de residuo. La tabla 2.2 presenta a manera de resumen los residuos generados en el proceso de industrialización del café.³²

Tabla 2.2: Residuos obtenidos del proceso de beneficio e industrialización en 1 kg de café cerezo

Proceso	Pérdida (en gramos)	Residuo obtenido.
Despulpado	394	Pulpa fresca
Desmucilaginado	216	Mucílago
Trilla	35	Pergamino
Torrefacción	171	Agua
Secado	22	Volátiles
Preparación bebida	104	Borra
Pérdida acumulada	942	---

Fuente: Calle, 1977.

Elaboración: La Autora

³¹ Salazar- Martinez E., Willett W., Ascherio A., Manson J., Leitzmann M., Stampfer M., Hu F.,- **Coffee consumption and risk for type 2 Diabetes Mellitus.**- Annals of Internal Medicine. © 2004 American College of Physician

³² Zambrano D., Isaza H., **DEMANDA QUIMICA DE OXÍGENO Y NITRÓGENO TOTAL, DE LOS SUBPRODUCTOS DEL PROCESO TRADICIONAL DE BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ.** Cenicafé 49(4): 279-289. 1998.

Así mismo la industrialización del café instantáneo soluble en un intento por mejorar el procesamiento de café soluble (en cuanto a sus residuos), ha disminuido de 1,86 kg a 0,91 kg de residuos por un kg de café soluble procesado.¹

La pulpa de café es la mayor fuente de residuos en la industria del café,²⁹ entre los compuestos de interés que presenta se encuentran polifenoles incluyendo cafeína, fenoles de baja masa molecular, fracciones de dímeros y oligómeros de taninos condensados.³³ En la pulpa de café fresca también encontramos proantocianinas en grandes cantidades,⁵ que pueden actuar en la inhibición del crecimiento bacteriano.³⁴

En la actualidad existe una fuerte tendencia hacia la utilización de estos residuos agroindustriales. Esto incluye su uso como comida de animales o sustrato para la producción enzimática en estado sólido o en el vermicompost* obtención de proteínas, sustancias pécticas y enzimas pectinolíticas.³⁵ Otras posibilidades son la hidrólisis de la pulpa para producir melaza, la fermentación para la producción de alcohol y la obtención de una variedad de extractos para bebidas gaseosas, mermeladas y otros tipos similares de alimentos y para la producción de proteína unicelular.³⁶

Los granos de café contienen grandes cantidades de metales potencialmente quelantes, los que podrían permanecer en los desechos después de su extracción con agua caliente, los estudios de Morikawa y Saigusa , demostraron que los metales como el hierro, que permanecen en los residuos de café, puede ser útil para los agricultores en la producción de composta, la novedad de este proceso no es solo reducir la cantidad de residuos que va a los vertederos, sino que también trae beneficios hortícolas , al fermentar los terrenos de cultivo.³⁷

Los residuos del café tostado soluble procesado también han sido investigados para su aprovechamiento y valorización. Yen *et al* ¹ citan algunos usos, entre ellos el uso

³³ González N., Ramirez-Martínez J., Aldana J., Ramos- Niño M., Cliffotd M., Pekerar S., Méndez B., -**Isolation, Characterisation and Determination of Biological Activity of Coffee Proanthocyanidins** .J Sci Food Agric 1998.

³⁴ Scalbert A.,- **Antimicrobial Properties of tannins** - Phytochemistry, Vol. 30, No. 12. pp. 3875-3883, 1991.

* VERMICOMPOST: (lumbricompost, humus de lombriz o compost de lombriz).Proceso de bio-oxidación, degradación y estabilización de la materia orgánica mediada por la acción combinada de lombrices y microorganismos, mediante el cual se obtiene un producto final estabilizado homogéneo y de granulometría fina (Vargas & Dominguez, 2007)

³⁵ García N., Bermúdez R., Augur C., Roussos S., Perraud-Gaime I., - **Producción de lacasa extracelular, remoción de fenoles y cafeína por *Pleurotus spp.* cultivado en pulpa de café- tecnología química** Vol. XXVII, No. 3, 2007.

³⁶ Rodríguez N., -**Manejo de residuos en la agroindustria cafetera.-** Seminario Internacional Gestión Integral de Residuos Sólidos y Peligrosos, SIGLO XXI. CENICAFÉ.

³⁷ Morikawa C., Saigusa M., **Recycling coffee and tea wastes to increase plant available Fe in alkaline soils.** Springer Science + Business Media B.V. 2008.

como fertilizante, comida de animales o sustitutos de materiales industriales, sin embargo el mejor uso de estos es como combustible.

Entre otros usos que han sido investigados están la utilización como sustituto de polvo de madera, la producción de metanol y acetona, la extracción de petróleo, para hacer materiales microporosos, materiales de embalaje, intercambiadores de iones, en la producción de filtros para cigarrillos, resinas, lubricantes especiales, como una pulidora para la pintura y un vehículo de insecticidas y herbicidas. La biomasa generada por la industria del café instantáneo puede ser considerada como un excelente combustible, ya que tiene un poder de combustión alto.³⁸

2.8. Torrefacción del café.

La torrefacción es el procesamiento térmico del café inducido por la energía térmica de la tostadora, el calor de las superficies metálicas es transportado al grano verde. El agua empieza a evaporizarse mediante un proceso endotérmico. El análisis térmico diferencial ha demostrado que las reacciones exotérmicas comienzan a partir de 160°C y 210°C.³⁹ Productos de la reacción que salen del grano son el dióxido de carbono y vapor de agua, los mismos que quedan atrapados en el interior de las células incrementando la presión interna del grano. Cuando el grado de tueste deseado (color, sabor, aroma) se alcanza, los granos se descargan de la tostadora y se enfría rápidamente con agua y aire.⁴⁰ Los tuestes medios se ocuparán de alcanzar mayor balance en la preparación de la bebida, de modo que se encuentra cuerpo, acidez, y dulzura en una relación más armoniosa. Por otro lado, los tuestes tipo francés o altos generan extracción de los aceites del grano, acelerando el proceso de degradación de estos lípidos, obteniendo olores y sabores rancios en la infusión (oxidación), independientemente si se emplean tuestes y moliendas frescas.⁴¹

³⁸ Silva M., Nebra S., Machado M., Sanchez C.,- **The use of biomass residues in the Brazilian soluble coffee industry**- Biomass and Bioenergy Vol. 14, Nos. 5/6. Elsevier Science, 1999.

³⁹ Raemy A., y Lambelet P., -**A calorimetric study of selfheating in coffee and chicory**. F. Food Technol., 17, 451-60-1982

⁴⁰ Eggers R. y Pietsch A., **Coffee Developments Cap 4. Technology I: Roasting**, pag 90. Hamburg- Haburg. Germany.

⁴¹ ICAFE-2006. : Instituto del café de Costa Rica. Manual Básico para la Preparación del café M.P.B.01.

2.9. Preparaciones de café.

En el mundo entero existe una amplia gama de alternativas para la preparación de bebidas de café, así mismo, la gama de instrumentos es también abundante.⁴⁰ A continuación se describe algunos de los más difundidos:

Tabla 2.3: Tipos de preparaciones de café.

Preparaciones de café	Método	Equipos
Empapamiento	El procedimiento consiste en hacer pasar agua caliente a través de un filtro que contiene el café molido, o bien, la aplicación de agua caliente (90-95°C) en un recipiente que contiene café molido y que después de su empape se remueve y se procede a separar los sólidos utilizando un filtro.	Chorroador de café o filtro tradicional. Coffe Maker o cafetera. Prensa Francesa.
Filtración por vacío	Variación del método de empapamiento, lo que lo diferencian dos cámaras necesarias para la infusión	Moka o cafetera de presión
Filtración por goteo	El agua caliente (90-95°C) pasa solo una vez por la canasta que contiene el café, que lo convierte en un método muy eficiente y con pocas alteraciones del sabor.	Cafetera eléctrica de filtración por goteo
Percolador	El recipiente contiene una canasta para el café, además que continuamente bombea el líquido a través de la capa de café, generando demasiada extracción de sólidos.	Cafetera industrial
Infusión presurizada	Por efecto de la presión de vapor que genera una caldera en la parte interna de la máquina, el agua pasa a una presión aproximada de 132 libras a través de una capa de café finamente molido y compactada, dispensada en un portafiltro.	Máquinas de Expreso y capuchino

Fuente: ICAFÉ, 2006.

Elaboración: La Autora

CAPITULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Reactivos:

2,2-diphenil-1-ptycrylhydrazyl (DPPH), trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), persulfato potásico, TPTZ (2,3,5-Triphenyltetrazolium chloride) fueron de Sigma-Aldrich (Alemania). Etanol absoluto (99.9%) y metanol grado HPLC y ácido clorhídrico de JT Backer (Italia). Acetato de sodio, cloruro férrico hexahidratado, ácido gálico y carbonato de sodio de Merck (Alemania). FOLIN de Merck y Sigma-Aldrich.

3.2. Materia prima:

La materia prima analizada fue proporcionada por los productores de café, asociados a FAPECAFES, de tal manera se investigó la variedad de café *C. arabica*, proveniente de la parroquia San Pedro de Vilcabamba (1700 ms.n.m.) en el cantón Loja (Ecuador). El muestreo fue realizado según la norma NTON⁴² 17002-02 en un total de 3 lotes, recolectados en distintos días.

Día 1: 10 kg - 22 de abril del 2010 (Anexo 1a)
Día 2: 10 kg - 20 de mayo del 2010 (Anexo1b)
Día 3: 10 kg - 23 de mayo del 2010 (Anexo1c)

3.3. Caracterización de frutos:

Mediante la caracterización se busca estandarizar el grado de madurez que posee el café cerezo buscando minimizar cambios físicos, fisiológicos y químicos del café determinantes de la vida y calidad de la postcosecha.^{43,44} A través del color, pH, humedad y sólidos totales se buscó la caracterización del café y procesarlo cumpliendo con los parámetros necesarios para que el café alcance las características deseadas.

- **Color** : cartilla colorimétrica "The Royal Horticultural Society".

⁴² NTON 17002-02: Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense. "Muestreo de productos Vegetales" 2003

⁴³ Los parámetros cambiantes son el contenido proteico, contenido de carbohidratos, cambios en el sabor y color, contenido de ácidos orgánicos y polifenoles, así como la producción de aromas

⁴⁴ Marín S, Arcila J., Montoya E., Oliveros C., **Cambios físicos y químicos durante la maduración del fruto de café (*Coffea arabica* L. var. *Colombia*)**. Cenicafé 54(3): 208-225. 2003.

- **Sólidos totales** : NTE INEN⁴⁵ 380-1985. Método refractométrico
- **pH** : pH metro (Metler Toledo)
- **Humedad** : AOAC⁴⁶ 931.04. Humedad en productos de cacao.

3.4. Diseño experimental:

En este estudio se investigó el efecto del grado de tostado, tamaño de partícula-preparación, y solvente de extracción (variables independientes) sobre la actividad antioxidante y fenoles totales (variables dependientes) en los extractos de café tostado y residuos agotados de café. Se realizó un diseño experimental factorial 2x3, cada factor con dos niveles y tres repeticiones. En el anexo 2 se muestra la tabla de diseño experimental.

3.5. Tratamiento de la muestra:

El tratamiento de la muestra consistió en el beneficio húmedo, tostado y preparación de la bebida de café.

3.5.1. Proceso de beneficio húmedo del café:

El proceso de beneficio se siguió según la metodología propuesta por Renard y Espinosa.⁴⁷ Los frutos seleccionados fueron despulpados a mano, posteriormente se dejó fermentar el café por 48 horas aproximadamente, para eliminar el mucílago con agua. El café lavado se deshidrató en estufa de convección forzada (Memmert mod-SNB400) a 60°C hasta alcanzar una humedad entre 10% y 12%. La siguiente fase del proceso, consistió en quitar el pergamino en una trilladora (Penagos Clausen mod-C.200) para lograr el café verde (café oro). El café oro lavado se seleccionó por tamaño (tamices 16 – 18 mm), manchas y color (Anexo 3).

3.5.2. Tostado del café:

El tostado del café oro se realizó en tostadora de laboratorio (tostador QuantiK TC mod-300 AR/G), la metodología empleada se basó en aquellas mencionadas por

⁴⁵ NTE INEN: Norma Técnica Ecuatoriana Instituto Ecuatoriano de Normalización, ofrece conjunto de códigos, guía de prácticas manuales y especificaciones técnicas.

⁴⁶ AOAC: Asociación Oficial de Químicos Analistas. Manual de Métodos Analíticos publicado cada 5 años, es un compendio que contiene cerca de 3000 métodos y está reconocido, mundialmente, como un libro de referencia.

⁴⁷ Renard M., Espinosa T., **Fuerte, negro y dulce: el café.**- N°29 de enero 1993. Revista CIENCIAS-Revista de difusión.

Minamisawa *et al.*²¹ y Puerta⁴⁸, con variaciones en la temperatura y tiempo, adicionalmente se usaron las cartillas colorimétricas de tostado (SCAA)⁴⁹ para identificar el color correspondiente a los grados de tostado claro (light) y medio (medium).

En principio se realizaron pruebas de tostado a diferentes pesos (50 g, 75 g, 100 g), con el objetivo de determinar las condiciones adecuadas para alcanzar un tostado homogéneo de los granos de café previo a la preparación de la bebida (Anexo 4).

Tabla 3.1. Condiciones de tostado:

Grado de tueste	Temperatura °C	Tiempo min	Código de color
Claro	170 – 190	7 – 8	#95
Medio	180 – 200	10 – 12	#55

Fuente: La Investigación.

Elaboración: La autora.

3.5.3 Tamaño de partícula – preparación.

En este estudio se propuso la comparación de dos preparaciones de bebida: café expreso y café de prensa francesa.

Molienda.- La molienda se realizó en un molino eléctrico (Bunn coffee Mill mod-G2HD) en función del tipo de bebida:

- Café expreso: molido fino, 355-500 µm.
- Café de prensa francesa: molido grueso, 1000 µm

La selección y medida de partícula se realizó con tamices metálicos (ENDECOTTS LTD. Pat N° 667924) (Anexo 4).

Preparación de la bebida de café:

Las bebidas se prepararon siguiendo el procedimiento expuesto por ICAFE (2006).

- Expreso: Para una bebida de café expreso clásico se dosificó en el portafiltro 15 g de café, luego se comprimió con el tamper para formar la galleta de café molido. Se colocó el porta filtro en el área de filtrado, y a través de la máquina se fue adicionando el agua hasta que se detiene la infusión cuando se obtuvo 1 onza de café aproximadamente (Anexo 5).

⁴⁸ Puerta G., **Influencia del proceso de beneficio en la calidad del café**. Cenicafé 50(1): 78-88. 1999.

⁴⁹ Sistema de clasificación del color de tostado, desarrollado por SCAA: Specialty Coffee Association of America.

- Prensa Francesa: Para el café de prensa francesa se depositó 19,8 g de café en el fondo del envase (Bodum Press Travel). Se vertió 360 mL agua caliente, se colocó el émbolo. Se remojó de 3 a 4 minutos y removió con golpes suaves en la base del pichel, esto para mejorar el contacto del café con el agua caliente. Posteriormente con delicadeza se procedió a separar el líquido de los sólidos bajando a presión el émbolo, de modo que el café molido permaneció en el fondo del envase (Anexo 6).

Los residuos de café agotado de las bebidas se recolectaron, identificaron y se deshidrataron en una estufa a 60 °C por 24 horas hasta 3% de humedad.¹

3.6. Obtención de extractos:

En el estudio de actividad antioxidante se buscó la extracción de fracciones polifenólicas empleando dos técnicas de extracción la primera con etanol un solvente GRAS⁵⁰ de mediana polaridad y la segunda con una mezcla de solventes de alta polaridad (MeOH/ Acetona), esto con el objetivo de evaluar solo la fracción hidrofílica.

De cada lote muestreado se obtuvieron extractos del café verde (3 muestras), café tostado (6 muestras de café claro y 6 muestras de café medio) y sus respectivos residuos agotados (12 muestras), cada uno extraído con ambos solventes, en el anexo 7 se muestra una tabla con la codificación de extractos obtenidos.

3.6.1.Extracción con mezcla de solventes (MeOH/Acet):

Se siguió el procedimiento descrito por Pérez y Saura,⁵¹ se puso en contacto 0,5 g de muestra (café verde, tostado o residuo) con 20 mL de solución acuosa de metanol (MeOH 50:50 v/v) acidificados con 1 mL de ácido clorhídrico 2N. La mezcla se agitó en un mezclador horizontal (mixer-Thermolyne Mod-M73535) por 1 hora para luego centrifugar (DINAC Mod-271148) por 30 minutos, se recogió el sobrenadante colocándolo en frascos forrados con papel aluminio y oscuros siempre protegidos de la luz. Inmediatamente al residuo se le agregó 20 mL de acetona (70:30 v/v), se dejó reposar por unos minutos y luego se agitó por 1 hora antes de centrifugar por media hora. Ambos sobrenadantes se mezclaron y almacenaron en refrigeración hasta análisis (Anexo 7).⁵¹

⁵⁰ GRAS: solvente orgánico Generalmente Reconocido Como Seguro

⁵¹ Pérez J, Saura F., **Metodología para la evaluación de capacidad antioxidante en frutas y hortalizas**. V CONGRESO IBEROAMERICANO DE TECNOLOGÍA POSTCOSECHA Y AGROEXPORTACIONES 2007.

3.6.2. Extractos etanólicos (EtOH):

Los extractos se prepararon pesando 2,5 g de las muestras a los que se adicionó 50 mL de etanol absoluto (99%), se dejó en maceración con agitación por 24 h a temperatura ambiente, luego la solución se filtró (papel filtro N° 1) previo a la evaporación a vacío del solvente en un rotaevaporador (Buchi mod-R200) a temperatura de 45°C (Buchi B-490), la evaporación se realizó hasta obtener un extracto totalmente seco. Se registró el peso de cada extracto para luego ser disueltos con 10 mL de EtOH. Los extractos diluidos se conservaron en frascos limpios, cerrados, oscuros o envueltos con papel aluminio y almacenados en refrigeración hasta su análisis (Anexo 8).

3.7. Determinación de actividad antioxidante.

Como la capacidad antioxidante total de una muestra está dada por las interacciones sinérgicas entre diferentes compuestos, así como por el modo de acción concreto en cada uno de ellos, es necesario combinar más de un método para evaluar de manera correcta la capacidad antioxidante de una muestra,⁵¹ por esto se emplearon tres métodos para determinar la capacidad antioxidante de los extractos. Se utilizó el método DPPH y ABTS (que evalúan la capacidad de captación de radicales generados a partir de ciertas moléculas orgánicas), FRAP (reducción de metales). Los tres métodos han sido utilizados en análisis de actividad antioxidante de alimentos como frutas y verduras, observándose alta correlación entre DPPH, ABTS y FRAP.⁵²

3.7.1. Método DPPH:

Se siguió el método desarrollado por Brand-Williams *et al.*⁵³, con modificaciones descritas por Thaipong *et al.*⁵¹ Se preparó una solución patrón disolviendo 24 mg de 2,2-diphenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) con 100 mL de metanol, que se guardó en refrigeración hasta su uso. Se preparó una solución de trabajo mezclando 10 mL de solución patrón con 70 mL de metanol hasta obtener una lectura en absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ unidades a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotómetro UV (Jenway mod-6400). Para la cuantificación se empleó una curva estándar de trolox con concentraciones entre 8 – 320 μ Mol. Las soluciones con diferente concentración de

⁵² Thaipong K., Boonprakob U., Crosby K., Cisneros L., Hawkins B., **Comparison of abts, dpph, frap, and orac assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts.** - Journal of Food Composition and Analysis 1. ELSEVIER. 2006

⁵³ Brand-Williams W., Cuvelier M., Berset C.,- **Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity .-**) *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 28.25-30. 1995.

trolox y los extractos se evaluaron mezclando 0,15 mL con 2,85 mL de solución de trabajo de DPPH, cada uno se dejó reaccionar por 30 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 515 nm. La actividad antioxidante total se expresó en μ Moles equivalentes de Trolox por gramo de muestra (μ M ET/g M). En el anexo 9 se muestra un esquema del procedimiento descrito. La evaluación se hizo por triplicado.

3.7.2. Método-ABTS:

Se empleó el método descrito por Aranao *et al.*,⁵⁴ con modificaciones descritas por Thaipong *et al.*,⁵¹ para los extractos de los residuos y del café tostado. Se preparó una solución patrón disolviendo 10 mg de 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) con 25 mL de agua destilada; por separado se disolvieron 17,57 mg de persulfato de potasio aforándolos a 25 mL con agua destilada; ambas soluciones se mezclaron y se dejó reaccionar por 12 horas. La solución de trabajo se preparó mezclando 6 mL de solución patrón con 240 mL de metanol hasta que se obtuvo una lectura en absorbancia de $1,1 \pm 0,02$ unidades a una longitud de onda de 734 nm en un espectrofotómetro UV. Se empleó una curva estándar con trolox con concentraciones entre 8 – 320 μ Mol. Las soluciones de diferente concentración de trolox y los extractos se evaluaron mezclando 0,15 mL con 2,85 mL de solución de trabajo de ABTS, se dejó reaccionar por 7 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia en el espectrofotómetro a 734 nm. La actividad antioxidante total se expresó en μ Moles equivalentes de Trolox por gramo de muestra (μ M ET/g M). La evaluación se hizo por triplicado. El anexo 10 muestra un esquema del procedimiento descrito.

3.7.3. Método-FRAP:

Se siguió el método descrito por Benzie y Strain⁵⁵. Se prepararon por separado tres soluciones, el buffer acetato (48,437 g de acetato de sodio + 250 mL ácido acético glacial), el 2, 4, 6-tripiridyl-s-triazine (0,078 g de TPTZ + 25 mL HCl 40 mM), y el cloruro férrico hexahidratado (0,135 g + 25 mL MeOH); las tres soluciones se mezclaron y calentaron a 37 °C hasta que todos los componentes estuvieron totalmente diluidos, obteniendo una solución stock de 210 mL, que se midió a una

⁵⁴ Aranao M., Cano A., Acosta M., -**The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity.** Analytical, nutritional and clinical methods section. Food Chemistry. ELSEVIER. 2001.

⁵⁵ Benzie I., y Strain J., -**Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay.** Analytical Biochemistry 239, 70-76 1996.

longitud de onda de 593 nm en un espectrómetro (encerado con metanol) UV. Se empleó una curva estándar con Trolox con concentraciones entre 8 - 320 μM . La actividad antioxidante total se expresó en μMoles equivalentes de trolox por gramo de muestra ($\mu\text{M ET/g M}$). En el anexo 11 se muestra el mencionado proceso.

3.7.4. Método FOLIN-CIOCALTEU:

Descrito por Peschel *et al.*⁵⁶ para los extractos de los residuos y del café tostado. Se preparó una solución a 0,25 N de FOLIN (25 mL de folin 2 N + 175 mL de agua destilada) y el carbonato de sodio (5 g + 25 mL de agua destilada), a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro UV*. Se empleó una curva estándar con ácido gálico (26,88 mg aforado a 100 mL de MeOH) con concentraciones entre 20 – 200 ppm. Se prepararon las muestras colocando 150 μL del extracto más 2400 μL de agua destilada a lo que se adicionó 150 μL de FOLIN 0,25 N, se agitó por 2 minutos y se dejó reposar por 3 minutos, se agregó 300 μL de carbonato de sodio, se dejó reposar por 2 horas y luego se midió la absorbancia a 725 nm. La actividad antioxidante total se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico por cien gramos de residuo y/o café tostado o verde (mg. EAG/100g M.). El anexo 12 muestra un esquema de la experimentación descrita.

3.8. Análisis estadístico:

La variación de actividad antioxidante medida con los métodos DPPH, ABTS, FRAP y la cantidad de fenoles totales se evaluó a través de un ANOVA con un nivel de significancia de 95% ($P < 0.05$). Los datos obtenidos en los ensayos DPPH, ABTS y FRAP están expresados como micromoles equivalentes de trolox por gramo de muestra en base húmeda ($\mu\text{MET/g M}$) y para Fenoles totales los resultados fueron interpretados en miligramos equivalentes a ácido gálico/ 100 gramos de muestra en base húmeda (mg. EAG/100 g M). Las curvas de calibración se obtuvieron utilizando el programa Microsoft Excel 2010, todas tuvieron un coeficiente de correlación r^2 : sobre 0,99 (Anexo 17). El análisis estadístico y la generación de gráficas se llevó a cabo empleando el programa MINITAB 15. Se realizó la prueba de ANOVA para determinar la existencia de diferencias significativas entre los factores, con un intervalo de confianza del 95%. (Anexo 13)

⁵⁶ Peschel W., Dieckman W., Sonnenschein M., Plescher A. -**High antioxidant potential of pressing residues from evening primrose in comparison to other oilseed cakes and plant antioxidants**-. ScienceDirect. Industrial crops and products an international journal. ELSEVIER. 2006.

* En el método FENOLES TOTALES, el espectrofotómetro –UV se encera con H₂O destilada.

CAPITULO IV

RESULTADOS

4.1 Caracterización de la pulpa de café:

El café con el que se trabajó fue seleccionado según el procedimiento de PBH descrito anteriormente, desechando todos los granos amarillos y verdes, utilizando solo frutos rojos. En la tabla 4.1 se resumen los valores de la caracterización del café cerezo utilizado en cuanto a humedad, pH, sólidos solubles y color. Adicionalmente se muestra la humedad a la que se llevó el grano del café verde después del PBH, previo al tostado:

Tabla 4.1: Caracterización del café cerezo

LOTES	HUMEDAD PULPA %	pH	Sólidos solubles °BRIX	COLOR	HUMEDAD CAFÉ VERDE %	TAMAÑO CAFÉ VERDE Mm
LOTE 1	88,69 ±0,3	4,7±1	15	Red group 53 a, b, greyed-purple group 187 a	10,1%±0,01	16-18
LOTE2	88,25±0,3	6,9±1	15	Red group 53 a, b, greyed-purple group 187 a	11,4%±0,01	16-18
LOTE3	88,15±0,3	5,9±1	15	Red group 53 a, b, greyed-purple group 187 a	11,7%±0,01	16-18

n: 3, datos expresados como media ± desviación estándar.

Fuente: Investigación experimental

Elaboración: La autora.

Se menciona que la capacidad antioxidante de los alimentos (frutas, verduras etc.) se relaciona directamente con el contenido de compuestos bioactivos, debido a que estos se generan en la madurez de los frutos en procesos de biosíntesis que dan origen a mayor contenido de compuestos polifenólicos, carotenoides, taninos, etc., es por esto que para la presente investigación se utilizaron frutos de café maduros, de color rojo vino para poder evaluar la presencia de compuestos con actividad antioxidante, que al encontrarse en altas cantidades conllevan a dar una mayor capacidad antioxidante al fruto.⁵⁷

El color del café utilizado permitió identificar que correspondería de 217 a 221 días después de la floración según lo expuesto por Marín *et al.*,⁴⁴ con esta coloración de

⁵⁷ Repo R., Encina C., -DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS BIOACTIVOS DE FRUTAS NATIVAS PERUANAS. –Rev. Soc Quím Perú 2008.

fruto se tiene mayor rendimiento en peso fresco (1,88 a 1,99 g) y seco (0,60 a 0,63 g), sin embargo las condiciones ambientales y el lugar de cultivo juegan un papel no analizado.

La humedad de la pulpa fresca está en un valor promedio $88,3 \% \pm 0,3$ cuyo valor es normal según los datos reportados por Ramón *et al.*⁵⁸ de 80%, igualmente la humedad de los granos verdes se encuentra dentro de los parámetros de procesamiento entre 10 - 12%,^{59,60} el cual requiere de humedad inicial controlada a fin de asegurar una buena cantidad de polifenoles en el café tostado que se generan por el proceso de torrefacción.⁶¹

El fruto de café utilizado en los análisis posteriores tuvo como parámetros estandarizados: pH $5,87 \pm 1$, °Brix 15, humedad $11,07 \% \pm 0,85$, color: 53 A, B Red Group, Y 187 A, B, Greyed-Purple Group (anexo 11), de esta forma se minimizaron los cambios físicos, fisiológicos y químicos del café que además de afectar el sabor, color y aroma, afectan también el contenido de ácidos orgánicos y polifenoles, que son los responsables de la actividad antioxidante para la variedad *Coffea arabica* estudiada.¹

4.2 Tostado del café-curvas de tostado.

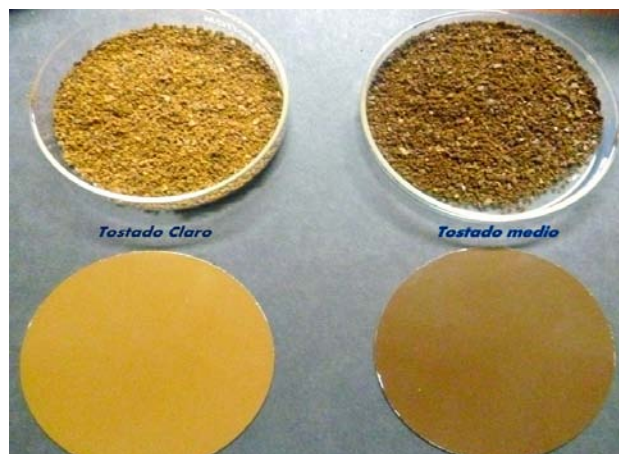
Las pruebas de tostado se realizaron a diferentes pesos 100, 75 y 50 g para las medidas de tostado claro y medio. Para 100 y 75 g de café tostado se obtuvieron el 50 y 60% de granos homogéneos mientras que con 50 g se obtuvo el 90% de granos homogéneos evaluados según el color en ambos grados de tueste, obteniéndose de esta manera un mejor resultado al tostar 50 g de café. Se debe tomar en cuenta que para una mejor observación del tostado de las muestras de café, estas se realizaron en el café molido y no en los granos recién tostados, como se observa en la figura 4.1.

⁵⁸ Ramón J., Páez G., Chirinos M., Mármol Z., **Ensilaje de la pulpa de café.** Rev. Fac. Agron. 1995.

⁵⁹ Puerta G., **Calidad en taza de algunas mezclas de variedades de café de la especie *Coffea arabica* L.** Cenicafé 51(1):5-19. 2000.

⁶⁰ Puerta G., **Influencia de los granos de café cosechados verdes, en la calidad física y organoléptica de la bebida.** Cenicafé 51(2): 136-150. 2000

⁶¹ Nebesny E., Budryn G., **Antioxidative activity of green and roasted coffee beans as influenced by convection and microwave roasting methods and content of certain compounds.** Eur Food Res Technol. Springer-Verlag 2003

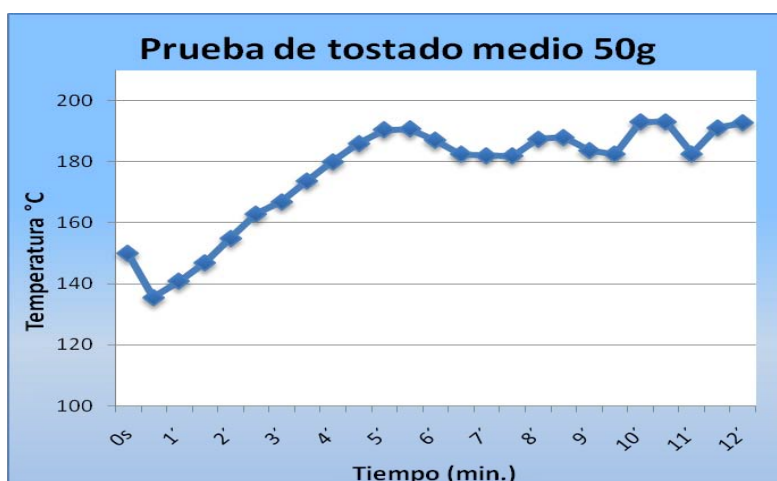


Fotografía 4.1 Tostado claro y medio

En las gráficas 4.2a y 4.2b muestra las curvas de tostado correspondientes al tostado claro y medio:



Gráfica 4.1 a) Curva de tostado claro.



Gráfica 4.1 b) Curva de tostado medio.

Todos los lotes de café tostado analizado siguieron las mismas curvas de tostado claro y medio, esto con el fin de estandarizar las muestras.

4.3 Rendimiento de extracción.

El rendimiento de extracción solo se pudo realizar en los extractos etanólicos ya que según las metodologías utilizadas son los únicos donde se pudo eliminar el solvente con facilidad, arrojando los valores que se observan en la tabla 4.2:

Tabla 4.2: Rendimiento de extracción de extractos etanólicos

Tostado	Café tostado		Residuos agotados	
	Expreso	Prensa F.	Expreso	Prensa F.
T. Claro	11%	13%	11%	18%
T. Medio	18%	21%	22%	23%

n=3 valor promedio

Fuente: La investigación.

Elaboración: La autora.

Se observa que el grado de tostado influye en el rendimiento de extracción independiente de la preparación.

Se vuelve difícil la comparación entre los dos extractos pues el extracto con mezcla de solventes trabaja con poca cantidad de muestra y con soluciones acuosas donde se dificulta su eliminación.

4.4 Análisis de Varianza.

A continuación en la tabla 4.3 se muestran los resultados del ANOVA para café tostado como para sus residuos agotados en donde se observa a través de los métodos DPPH, ABTS, FRAP y el contenido de fenoles totales, factores que tienen un efecto significativo ($p < 0.05$). Al analizar el ANOVA para cada resultado se observó lo siguiente:

Efecto de tostado (Factor A): En casi todas las respuestas se observó que el tostado no tiene un efecto significativo sobre las variables de respuesta; es decir que los grados de tueste estudiados no influyeron significativamente en la medida de actividad antioxidante ni en fenoles totales. En donde se observó un efecto significativo pequeño (10 veces menor que C, según SC) fue en ABTS y fenoles totales para los residuos estudiados. En trabajos anteriores se realizaron estudios sobre la influencia que tiene el tostado sobre la bebida de café, concluyendo que a nivel de tostado claro y medio se van a presentar valores muy significativos ($p < 0.05$), lo que no se da en café tostado oscuro, ya que a esta medida de tueste va decreciendo la actividad antioxidante de los extractos.²

Tabla 4.3: ANOVA resumen para actividad antioxidante determinada por tres métodos: DPPH, ABTS, FRAP y Fenoles totales en café tostado y residuos agotados.

Café Tostado				Residuo agotado		
Fuente	GL	SC	P	GL	SC	P
DPPH						
- A	1	277	0,657	1	19,5	0,427
- B	1	2536	0,190	1	5,5	0,671
- C	1	1417341	<0,05	1	45969,0	<0,05
- A*B	1	452	0,571	1	34,8	0,292
- A*C	1	222	0,691	1	1,8	0,807
- B*C	1	1841	0,261	1	13,7	0,505
- A*B*C	1	246	0,675	1	14,9	0,486
- Error	16	1353		16	29,4	
ABTS						
- A	1	44	0,853	1	1768,2	<0,05
- B	1	217486	<0,05	1	397,6	0,284
- C	1	546216	<0,05	1	16938,9	<0,05
- A*B	1	550	0,513	1	259,8	0,383
- A*C	1	102	0,777	1	1546,3	<0,05
- B*C	1	220137	<0,05	1	627,5	0,183
- A*B*C	1	663	0,474	1	329,7	0,328
- Error	16	1231		16	323,3	
FRAP						
- A	1	388	0,446	1	282,6	0,067
- B	1	131603	<0,05	1	66,8	0,353
- C	1	336462	<0,05	1	8827,4	<0,05
- A*B	1	4890	<0,05	1	0,9	0,912
- A*C	1	378	0,452	1	170,0	0,146
- B*C	1	128978	<0,05	1	15,3	0,653
- A*B*C	1	4373	<0,05	1	1,0	0,906
- Error	16	636		16	72,9	
Fenoles totales						
- A	1	86484	0,08	1	17664	<0,05
- B	1	5172024	<0,05	1	22149	<0,05
- C	1	14692377	<0,05	1	616674	<0,05
- A*B	1	11664	0,503	1	1682	<0,05
- A*C	1	94439	0,069	1	10876	<0,05
- B*C	1	5063048	<0,05	1	14845	<0,05
- A*B*C	1	3858	0,698	1	1753	<0,05
- Error	16	24801		16	161	

*A: Tostado; B:Preparación; C:Solvente; GL: grados de libertad; SC: suma de cuadrados.

Fuente: Análisis de varianza ANOVA (anexo 14).

Elaboración: La autora.

Efecto de la preparación o tamaño de partícula (Factor B): este factor, para el café tostado presentó efecto significativo en las variables de respuesta, excepto en DPPH donde no tiene un efecto significativo, mientras que en los residuos agotados solamente presenta diferencia significativa en fenoles totales. Parras *et al.*,² en su estudio examinaron café de distintos orígenes y preparaciones, concluyendo que el café preparado en cafeteras de filtro e Italiano presentan mayor actividad antioxidante que el café expreso ($p < 0,05$), observándose que el tamaño de partícula tiene gran influencia sobre la capacidad antioxidante.

Tabla 4.4 Resultados de la actividad antioxidante y fenoles totales de los extractos de café tostado y residuos agotados.

Café tostado.									
Métodos		DPPH		ABTS		FRAP		FENOLES TOTALES	
Preparación	Grado de tueste	EtOH (μMET/g M)	MeOH/Acet (μMET/g M)	EtOH (μMET/g M)	MeOH/Acet (μMET/g M)	EtOH (μMET/g M)	MeOH/Acet (μMET/g M)	EtOH (mgEAG/100 gM)	MeOH/Acet (mgEAG/100 gM)
Expreso	Tost. Claro	8,72a ± 0,41	489,6 a ± 68,73	10,01 a± 1,23	448,6 a± 52,83	9,36a ± 0,90	424,8 a±12,6	53 a± 6,81	2687 a± 371,22
	Tost. Medio	5,72a ± 2,40	461,6 a ± 69,40	7,65 a± 2,08	515,5 a± 83,43	7,72a ± 3,92	356 b ± 67,2	40 a± 7,81	2372 a± 237,96
Prensa Francesa	Tost. Claro	9,48a ± 3,00	512,4 a ± 24,74	10,23 a± 2,03	126,8 b± 7,43	6,36a ± 0,32	77,48 c ± 6,33	24 b± 2,15	975 b± 55,25
	Tost. Medio	11,04a ± 0,49	514,8 a ± 26,65	9,75 a± 2,59	113,56 b± 4,66	7,8a ± 2,42	117 ,0 d ±18,5	48 a± 7,14	432 c± 27,60
Residuos agotados									
Métodos		DPPH		ABTS		FRAP		FENOLES TOTALES	
Preparación	Grado de tueste	EtOH (μMET/g M)	MeOH/Acet (μMET/g M)	EtOH (μMET/g M)	MeOH/Acet (μMET/g M)	EtOH (μMET/g M)	MeOH/Acet (μMET/g M)	EtOH (mgEAG/100 gM)	MeOH/Acet (mgEAG/100 gM)
Expreso	Tost. Claro	11,04a ± 1,68	94,93 a ± 10,90	11,88 a± 0,29	63,4 a± 3,21	8,2 a± 1,45	53,92a ± 11,34	36,3 a±15,37	466,3 a± 6,43
	Tost. Medio	9,52a ± 2,19	97,67 a ± 6,74	9,92 a± 2,56	44,2 b± 7,72	7,48 a± 0,71	41,7 b ± 8,02	25,3 a± 3,46	335,6 b±19,04
Prensa Francesa	Tost. Claro	11,32a ± 2,12	101,3 a ± 3,23	8,96 a± 0,92	95,76 a±49,94	7,28 a± 1,09	48,96a ± 19,62	25,6 a± 4,51	322 b± 20,22
	Tost. Medio	8,12a ± 2,56	96,15 a ± 6,46	8,68 a± 0,67	48,56 b± 3,83	4,9 b± 0,1	36,80b ± 1,12	13,6 c± 3,56	259 c±13,86

n=3

Elaboración: La autora.

Fuente: La investigación.

Efecto del solvente (Factor C): El factor solvente presenta un efecto significativo sobre todas las variables de respuesta, para el café tostado como para los residuos agotados. La tabla 4.3 muestra los resultados de la actividad antioxidante entre los extractos etanólicos y mezcla de solventes, en esta se observa que los extractos EtOH dieron bajos resultados en comparación con los extractos MeOH/Acet, tanto para café tostado como para residuos agotados. Esta diferencia en resultados se debe a que la mezcla de solventes tiene polaridad más alta que el etanol, Del Castillo *et al.*⁸, observaron que la bebida de café presentó alta capacidad antioxidante, sobre todo en el café tostado claro y medio, determinando que la capacidad antioxidante se reduce de un 17% a un 33% en extractos en los que se utilizó EtOH como solvente frente de otros extractos acuosos, notando que algunos componentes no son solubles en EtOH.

Interacciones entre factores:

Si bien se nota que algunas interacciones tienen un efecto significativo (B*C: ABTS; A*C, B*C, A*B*C: FRAP; B*C: Fenoles totales), estas tienen una acción menor al efecto del solvente como se evidencia en el valor de la suma de cuadrados (SC ver tabla 4.3). La interacción más relevante corresponde a B*C (preparación vs solvente) (ver gráficas de interacciones de los efectos en el anexo 14), obteniendo el mejor resultado al extraer con MeOH/Acet la muestra preparada para café expresso. Este efecto se debe al tamaño de partícula para el cual se realizó la preparación obteniéndose que para un tamaño de partícula más pequeño (expreso) se va a presentar una mayor actividad antioxidante² y más si se da con un solvente de alta polaridad. Se puede decir que en todos los métodos el factor influyente significativamente sobre las medidas de actividad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP) y fenoles totales fue el solvente de extracción.

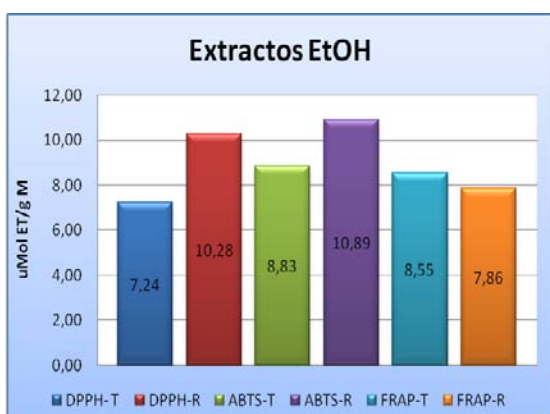
4.6. Actividad antioxidante:

Como se pudo observar en la tabla 4.4, los extractos que presentaron valores altos fueron los extractos MeOH/Acet, y en cuanto a la cantidad de fenoles totales se resalta la diferencia entre el tostado claro y medio, además se presentan diferencias de resultados entre las preparaciones expreso y prensa francesa debidas al tamaño de partícula, tanto en el café tostado como en los residuos agotados.

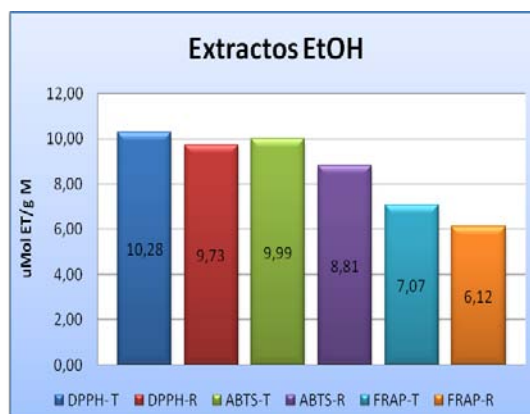
Los residuos presentaron actividad antioxidante no mayor a los extractos de café tostado como se puede apreciar en la gráficas 4.2 - 4.5, obviamente en la preparación de la bebida ocurre una extracción de los compuestos hidrofílicos¹. Debido a que el café está compuesto por una cantidad muy pequeña de compuestos lipofílicos tendrán

mayor rendimiento de extracción los solventes que sean mezclados con agua o simplemente si se utiliza el agua como disolvente.

En las gráficas 4.2 y 4.3 se puede observar una comparación de la capacidad antioxidante que presentan los extractos etanólicos del café tostado y residuos agotados (preparación: expreso y prensa francesa), en ellas no se nota diferencia marcada, esto ocurre debido a que los compuestos presentes en el café no son muy afines a este solvente,⁸ menos si no se uso diluido en agua, como también puede pensarse en la saturación del solvente pues se alcanzan los mismos valores de extracción en los residuos y en café tostado.



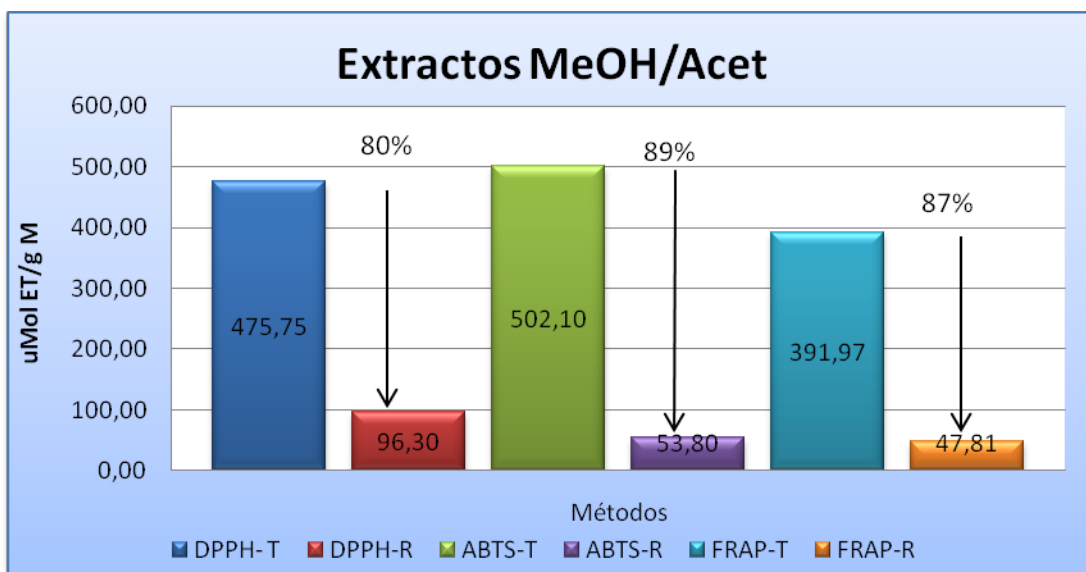
Grafica 4.2: Actividad antioxidante de los extractos etanólicos para café expreso.



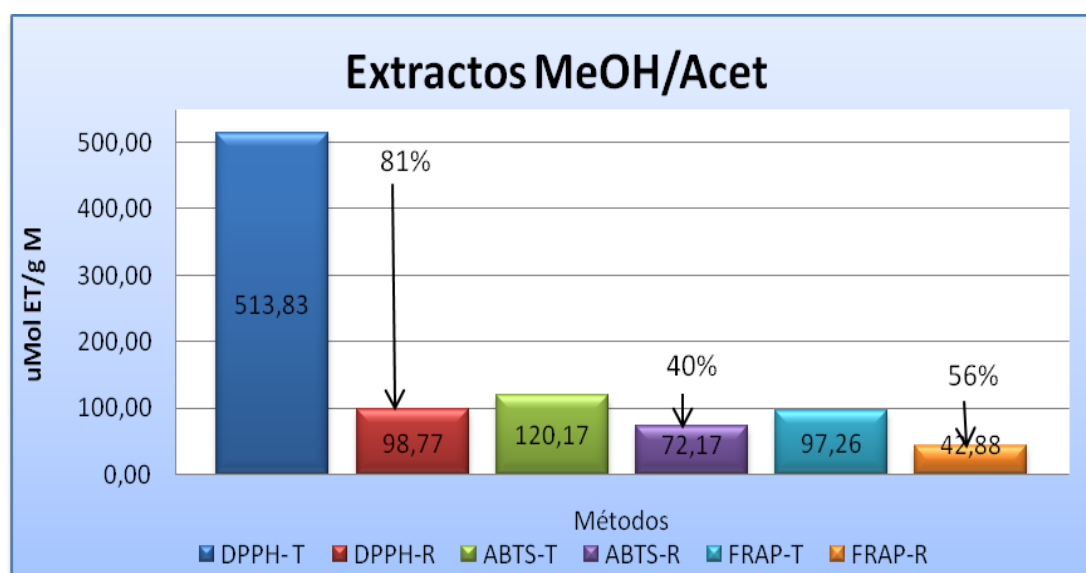
Grafica 4.3 Actividad antioxidante de extractos etanólicos para café prensa francesa

En las gráficas 4.4 y 4.5 se muestra una comparación de los resultados obtenidos con la extracción del método de mezcla de solventes (MeOH/Acet) para expreso y prensa francesa, observándose que los residuos no presentan capacidad antioxidante mayor ni igual que el café tostado antes de la preparación rechazando la hipótesis nula y aceptando la hipótesis alternativa, al igual que en los extractos EtOH, la preparación de la bebida de café agota los compuestos antioxidantes. A diferencia de los extractos EtOH aquí se observa un mayor poder de extracción en el café tostado. La actividad antioxidante de los residuos disminuye entre el 40-80% respecto al café tostado. Mussato *et al.*⁶² demostraron que el café tostado al mezclarse con el agua, extrae a la gran mayoría de compuestos presentes en el café, quedando una pequeña porción de compuestos no extraídos (aminoácidos, azúcares y otros compuestos) en el residuo sólido.

⁶² Mussatto S., Carneiro L., Silva J., Roberto I., Teixeira J., **A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds.** Carbohydrate Polymers 83 (2011) 368–374. ELSEVIER. 2010.



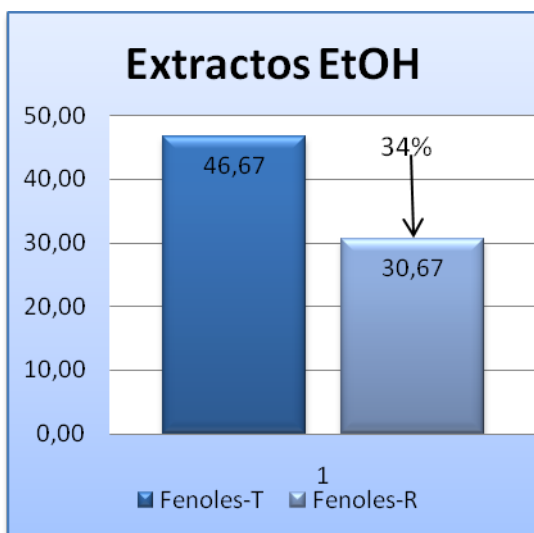
Gráfica 4.4 Actividad antioxidante para extractos MeOH/Acet para expreso.



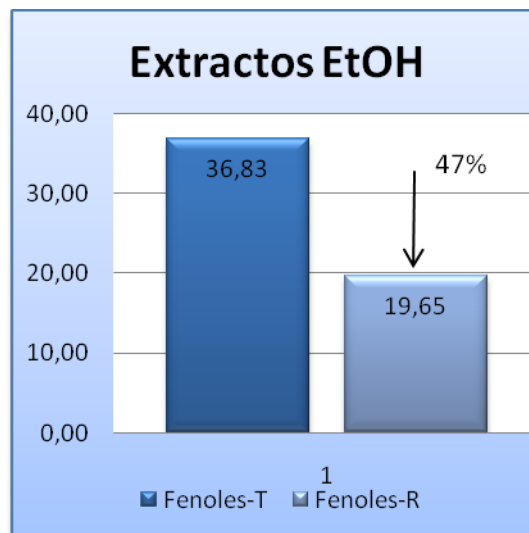
Gráfica 4.5 Actividad antioxidante para extractos MeOH/Acet para prensa francesa.

4.7. Fenoles totales.

Observando la gráfica 4.6 y 4.7 para expreso y prensa francesa en extractos etanólicos se deduce que la cantidad de fenoles totales no es mayor en los residuos agotados que el café tostado, pero tampoco se pierde por completo la capacidad antioxidante de estos residuos agotados, notándose también una mayor extracción en residuos agotados de la preparación expreso debido a su tamaño según lo explicado anteriormente.

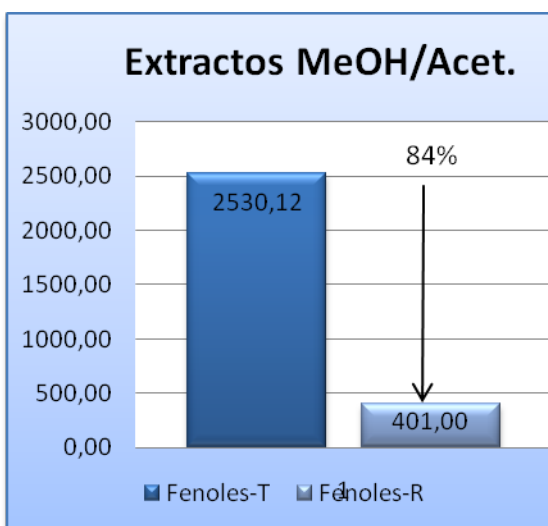


Grafica 4.6: Fenoles totales en extractos EtOH café tostado y residuos agotados de expreso.

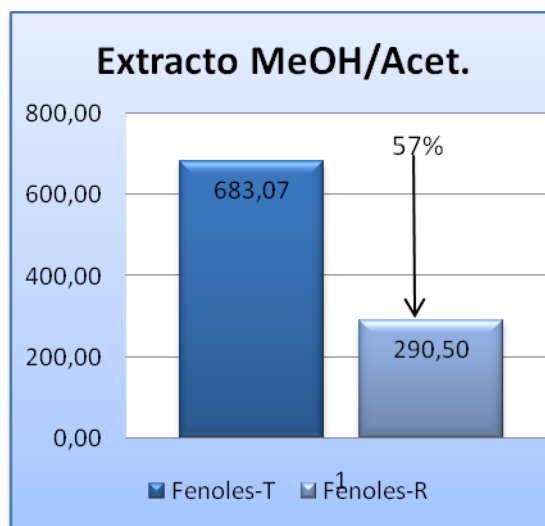


Grafica 4.7: Fenoles totales de los extractos EtOH para café tostado y residuos agotados de prensa francesa.

En la gráficas 4.8 y 4.9 se muestran las cantidades de la capacidad antioxidante tanto en el café tostado como en sus respectivos residuos agotados para las distintas preparaciones, en los que la capacidad antioxidante del café tostado se reduce en un promedio del 70%, quedando una pequeña cantidad de compuestos antioxidantes en dichos residuos, que al ser comparado con otras fuentes naturales de antioxidantes se observa q estos residuos agotados poseen una considerable cantidad de compuestos bioactivos, los mismos q podrian ser considerados como fuentes alternativas de antioxidantes naturales.



Gráfica 4.8: Fenoles totales en extractos MeOH/ Acet en café tostado y residuos agotados, para expreso.

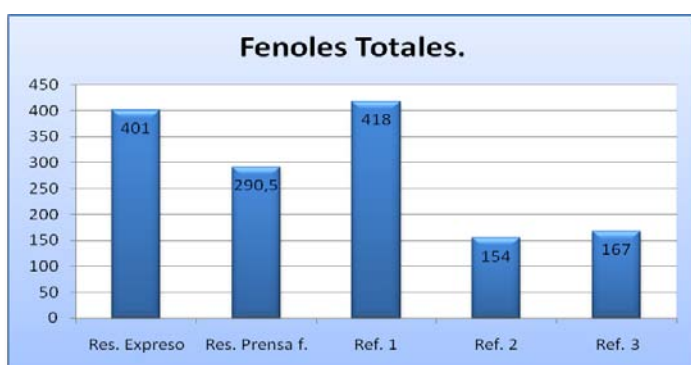


Gráfica 4.9: Fenoles totales en extractos MeOH/ Acet en café tostado y residuos agotados, para prensa francesa.

4.8. Residuos: fuente de antioxidantes?

A continuación se hace una comparación de la actividad antioxidante y fenoles totales del residuo de café agotado (MeOH/Acet - Espresso) con los resultados publicados para otras fuentes tradicionales y alternativas de antioxidantes.

Restrepo-Sanchez *et al.*,⁶³ en su trabajo presentaron resultados para el contenido de fenoles totales y ABTS en extractos MeOH/Acet que podrían ser comparables con los resultados obtenidos en el presente trabajo, pero se debe notar que existen diferencias en el tiempo y temperatura de extracción, el valor reportado para guayaba fue de 418 ± 23 mg EAG/100 gM en fenoles y en ABTS 118 ± 2 μ MET/g M, resultados comparables con los encontrados para residuos de café tostado agotado $466,33 \pm 0,1$ mg EAG/100 gM y $95,76 \pm 49,94$ μ MET/gM para fenoles totales y ABTS respectivamente para un tostado claro. En trabajos anteriores se analizaron frutos comunes de Perú presentándose valores para fenoles totales de 154 ± 3 mg EAG/100 gM para el aguaymanto, y $167 \pm 0,3$ mg EAG/100 gM para la papaya del monte utilizando como solvente extractor MeOH puro,⁶⁴ mientras que en los residuos agotados se presentaron valores de $466,33 \pm 0,1$ mg EAG/100g MF (Graf. 4.10 y 4.11). De lo cual se podría decir que al ser el contenido de fenoles alto y la capacidad antioxidante similar, los residuos de café deben ser estudiados a mayor profundidad para ser identificados como fuente industrial de antioxidantes.



Ref.1=Fenoles totales en guayaba (Restrepo-Sanchez *et al.*).

Ref. 2=Fenoles totales en aguaymanto (Repo-Carrasco y Encina)

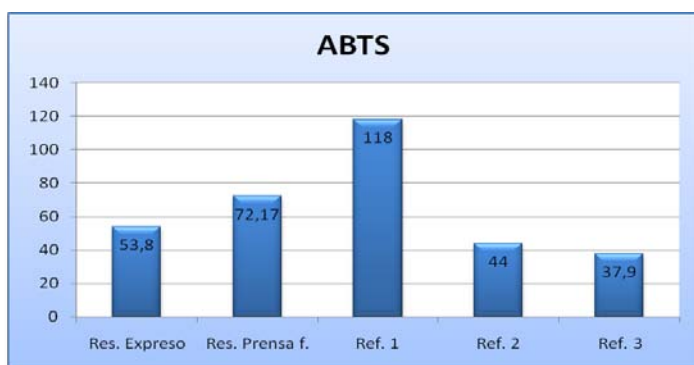
Ref. 3=Fenoles totales en papaya de monte (Repo-Carrasco y Encina)

Elaboración: La autora

Grafica 4.10: FENOLES TOTALES- actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.

⁶³ Restrepo- Sanchez D., Narváez C., Restrepo L., **Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en vélez-satander, colombia.** Quím-Nova, Vol.32, N°. 6, 1517-1522, 2009.

⁶⁴ Carrasco R. y Encina Ch.- **Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas.** Rev Soc Quím Perú, 74, N° 2 (108-124), 2008.



Ref. 1= actividad antioxidante en guayaba (ABTS). (Restrepo-Sanchez *et.al*).

Ref. 2= actividad antioxidante en residuos de mango (Iñiguez D.)

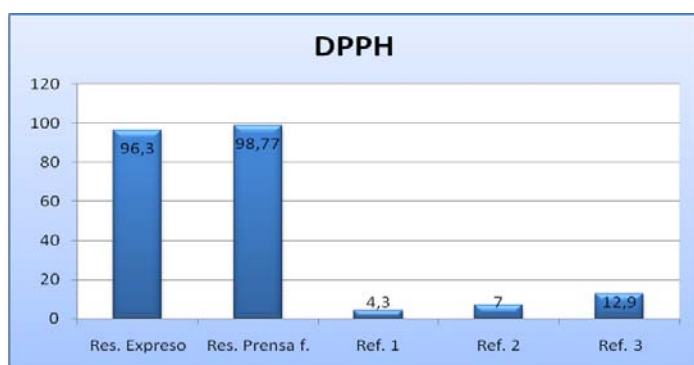
Ref. 3= actividad antioxidante en guayaba (Thaipong *et al.*)

Elaboración: La autora

Grafica 4.11: ABTS- actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.

En la gráfica 4.12 se observa la actividad antioxidante de otros extractos de frutas como la uva ($7 \pm 0,5 \mu\text{MET/gM}$), la mora ($4,3 \pm 0,3 \mu\text{MET/gM}$) y el mango ($12,9 \pm 1,5 \mu\text{MET/gM}$)⁶⁵ presentándose valores bajos en comparación con los residuos de espresso ($96,3 \pm 6,7 \mu\text{MET/gM}$) y prensa francesa ($98,77 \pm 6,4 \mu\text{MET/gM}$), obteniendo así valores altos.

Analizando la gráfica 4.13 los residuos tendrían una cantidad considerable de actividad antioxidante con valores medios, respecto a los referentes presentados en el método FRAP que han sido medidos en guayaba por distintos autores. Los valores encontrados en el presente estudio sobre la capacidad antioxidante de los residuos agotados de café tostado al ser comparados con alimentos como las frutas, que aun no han pasado por un proceso industrial, se puede considerar a estos residuos agotados como una fuente alternativa de antioxidantes que podrían ser reutilizables para la conservación de productos alimenticios, cosméticos, etc., Haciendo notar que han sido medidos a través de distintos métodos.



Ref. 1: Mora (Kukoski *et al.*)

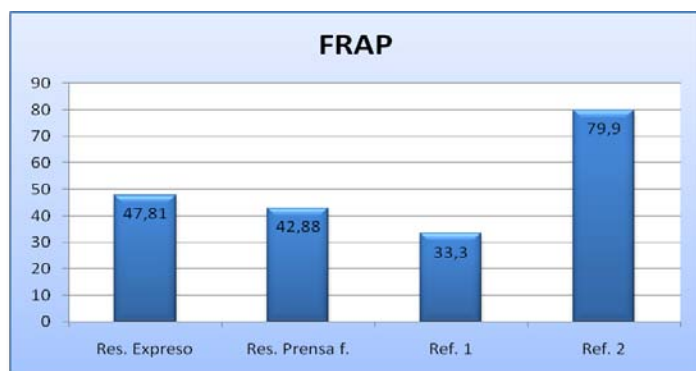
Ref. 2: Uva (Kukoski *et al.*)

Ref. 3: Mango(Kukoski *et al.*)

Elaboración: La autora

Grafica 4.12: DPPH- actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.

⁶⁵ Kukoski M., Asuero E., Troncoso A., Mancini J., -Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos -Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 726-732, out.-2005



Ref.1: Guayaba (Thaipong *et al.*)

Ref. 2: Guayaba (Rojas *et al.*)

Elaboración: La autora.

Grafica 4.13: FRAP- actividad antioxidante de residuos comparada con otros métodos de referencia.

Se ha utilizado diferentes métodos para que finalmente estos valores puedan ser comparables y confiables, resaltando así que los métodos DPPH y ABTS se basan en la captación de distintos radicales libres, mientras que el método FRAP tiene la capacidad de reducción férrica,⁵¹ por otro lado tenemos que el método FOLIN-CIOCALTEU o fenoles totales, se conoce que se encarga de medir el contenido total de fenoles presentes en las muestras estudiadas. Es así que mediante la evaluación de la actividad antioxidante proveniente de estos métodos se puede concluir que al ser comparados dichos valores con otras fuentes vegetales con alta capacidad antioxidante estos presentan una considerable actividad antioxidante como se puede observó anteriormente.

CAPITULO V

5.1. Conclusiones:

El nivel de tostado y el tipo de preparación NO alteran significativamente la medida de actividad antioxidante en los extractos estudiados, caso contrario con el efecto del solvente que SI altera significativamente la actividad antioxidante y la cantidad de fenoles totales.

Los extractos etanólicos de los residuos agotados de café no presentaron altos rendimientos de extracción de compuestos antioxidantes en comparación a los obtenidos con MeOH/Acet, los valores más representativos que se obtuvieron fueron: DPPH $96,30 \pm 1,93$, ABTS $53,80 \pm 13,60$, FRAP $47,81 \pm 8,64 \mu\text{M TE/ gM}$ y Fenoles totales $401 \pm 92,40 \text{ mg/ 100g M}$.

Las condiciones adecuadas para la extracción de compuestos antioxidantes en residuos agotados del café tostado fueron: a un tamaño de partícula fino que corresponde a la preparación del café expreso, la extracción con MeOH/Acet, independiente del grado de tueste.

5.2. Recomendaciones:

En estudios posteriores se podría considerar como solvente extractor al agua por su alta polaridad con los compuestos presentes en el café tostado o utilizar más de una técnica de extracción en la cual no se utilice solventes puros, más bien diluidos y que sean afines a los compuestos del café.

Para obtener mayor extracción de antioxidantes se podría hacer la prueba con la técnica MeOH/Acetona, a diferentes temperaturas y tiempos de extracción, y si se realizan sucesivas extracciones con acetona al 70% (v/v), con la única dificultad que en estos extractos no se podrá medir el rendimiento de extracción al no poder eliminar fácilmente el solvente sin poder recuperar el extracto.

Se puede sugerir en estudios posteriores el uso de EtOH, que como ya se dijo anteriormente se lo utiliza preferentemente por ser un solvente GRAS, se debe realizar con extracciones sucesivas pues se presume que el EtOH se satura ante la presencia de componentes antioxidantes.

ANEXOS

Anexo 1 a, 1b, 1c: fotografías de los lotes de café recién recolectado.



Anexo 1a. Fotografía de Lote 1



Anexo 1b. Fotografía de lote 2



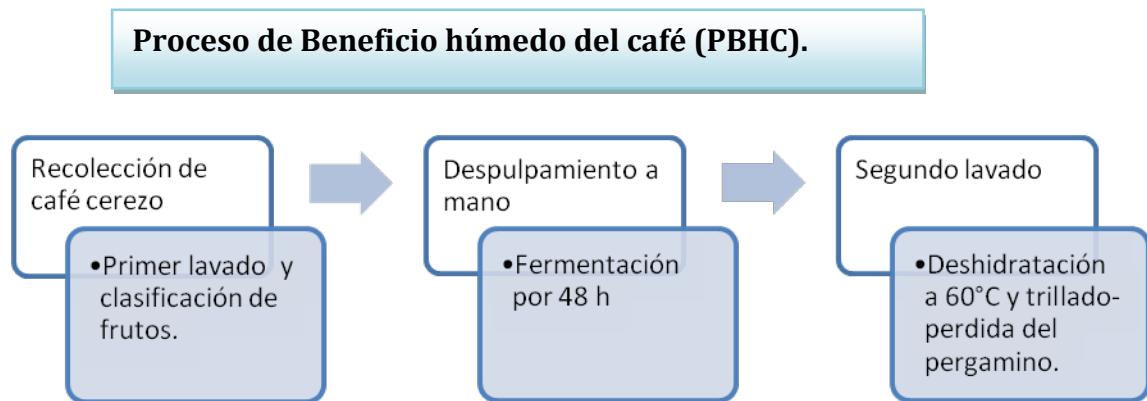
Anexo 1c. Fotografía de lote 3

Anexo 2: Diseño experimental (ANOVA) para café tostado y residuos agotados.

Anova para café tostado y residuos agotados.

A: Tostado	B: Preparación	C: Solvente
-1	-1	-1
1	-1	-1
-1	1	-1
1	1	-1
-1	-1	1
1	-1	1
-1	1	1
1	1	1

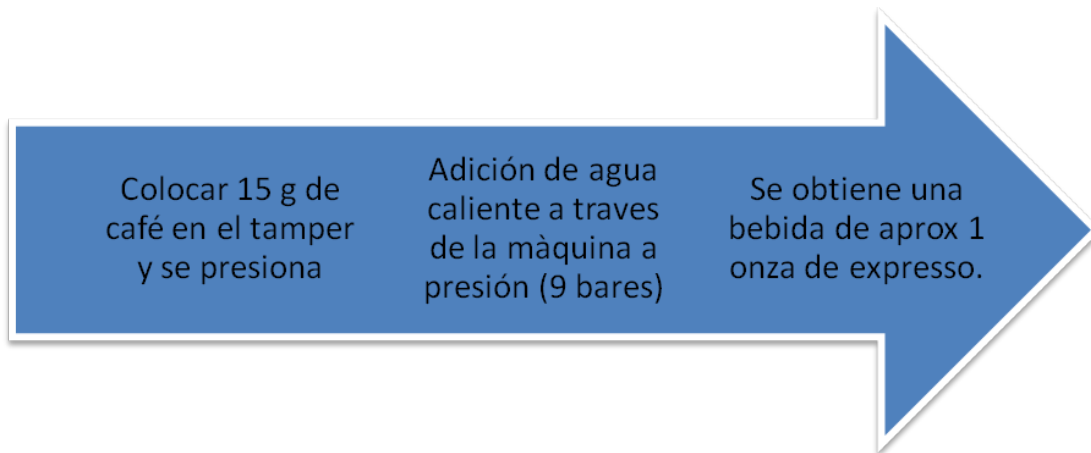
Anexo 3: Proceso de beneficio húmedo del café:



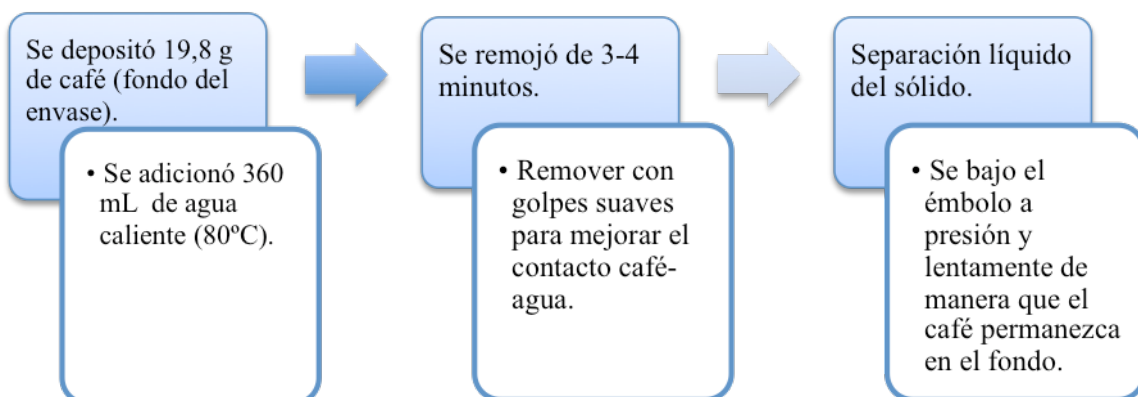
Anexo 4: Proceso de tostado y medición del tamaño de partícula del café tostado:



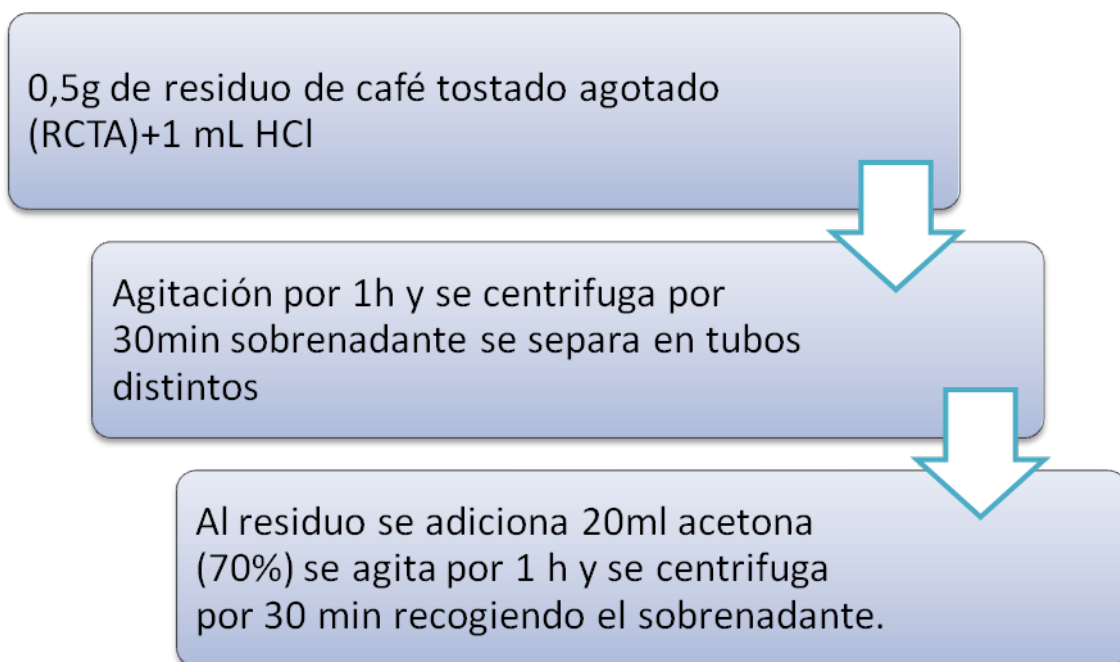
Anexo 5: Preparación de café expreso:



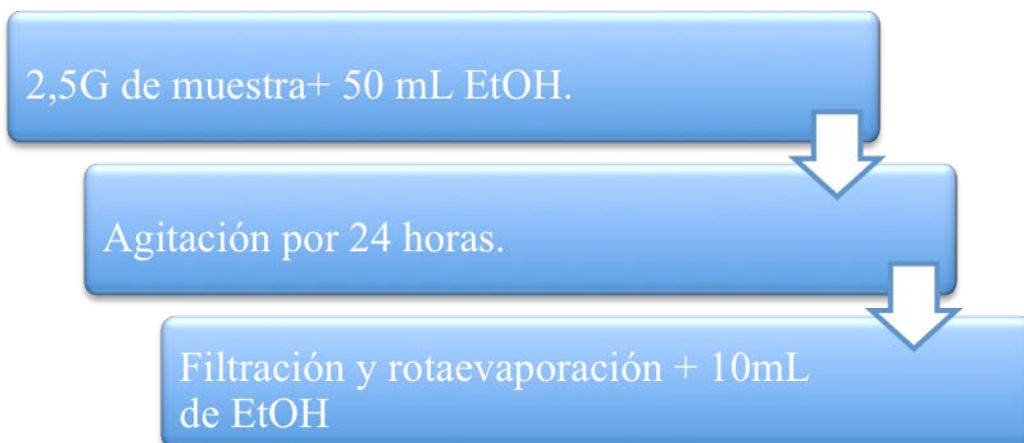
Anexo 6: Preparación de café prensa francesa:



Anexo 7: Obtención de Extractos Mezcla de solventes (MS)

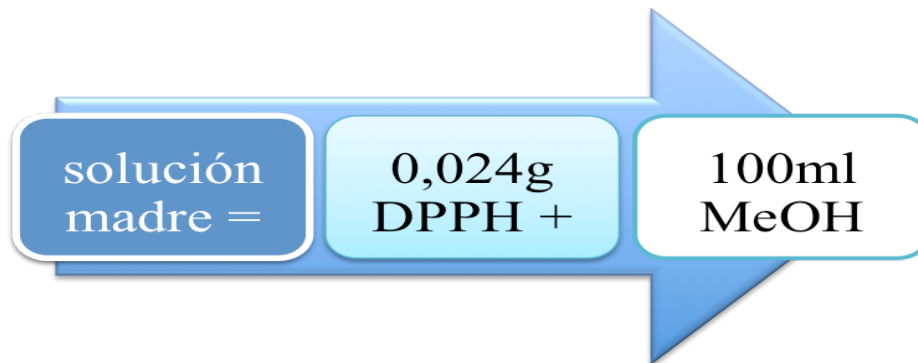


Anexo 8: Obtención de Extractos etanólicos:

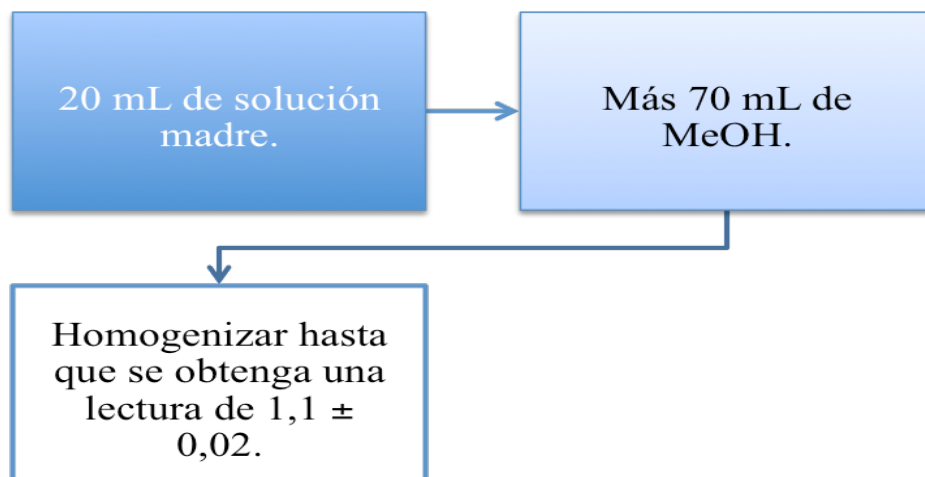


Anexo 9: DPPH:

Preparación de solución Madre:



Solución de trabajo:

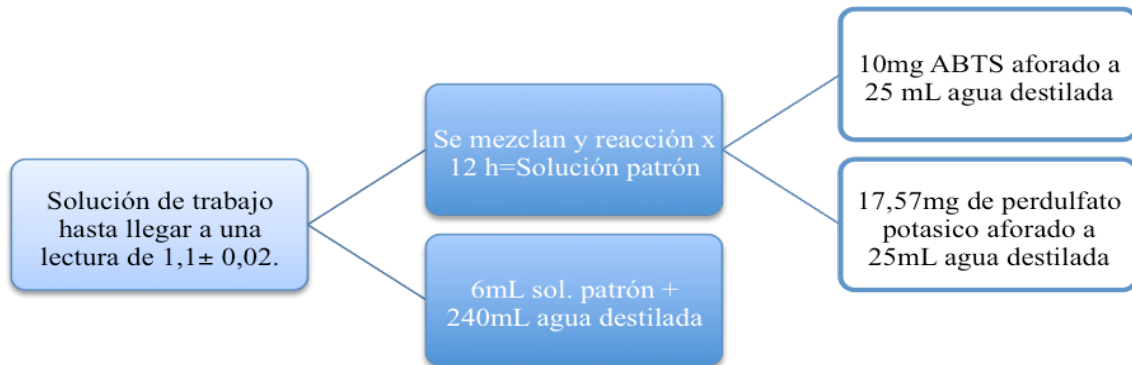


Preparación de muestras:



Anexo 10: ABTS

Preparación de solución patrón y solución de trabajo:



Preparación de muestras:



Anexo 11: FRAP- Preparación de muestras



Anexo 12: FENOLES TOTALES-Preparación de muestras:



Anexo 13: Tablas de resultados del Anova para café tostado y para residuos agotados.

Café tostado y residuos

Factorial Fit: dpvh, abts, frap, fenoles

Factorial Fit: dpvh versus A, B, C

Estimated Effects and Coefficients for dpvh (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		62.217	1.329	46.82	0.000
A	1.247	0.623	1.329	0.47	0.645
B	-0.845	-0.422	1.329	-0.32	0.755
C	119.432	59.716	1.329	44.93	0.000
A*B	-2.595	-1.298	1.329	-0.98	0.343
A*C	1.835	0.917	1.329	0.69	0.500
B*C	-0.707	-0.353	1.329	-0.27	0.794
A*B*C	-2.387	-1.193	1.329	-0.90	0.383

S = 6.51066 R-Sq = 99.21% R-Sq(adj) = 98.87%

Analysis of Variance for dpvh (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	85597.1	85597.1	28532.4	673.11	0.000
2-Way Interactions	3	63.6	63.6	21.2	0.50	0.687
3-Way Interactions	1	34.2	34.2	34.2	0.81	0.383
Residual Error	16	678.2	678.2	42.4		
Pure Error	16	678.2	678.2	42.4		
Total	23	86373.1				

Unusual Observations for dpvh

Obs	StdOrder	dpph	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
21	5	102.960	118.677	3.759	-15.717	-2.96R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: abts versus A, B, C

Estimated Effects and Coefficients for abts (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		9.104	0.9176	9.92	0.000
A	-4.292	-2.146	0.9176	-2.34	0.033
B	2.035	1.018	0.9176	1.11	0.284
C	13.283	6.642	0.9176	7.24	0.000
A*B	-1.645	-0.823	0.9176	-0.90	0.383
A*C	-4.013	-2.007	0.9176	-2.19	0.044
B*C	2.557	1.278	0.9176	1.39	0.183
A*B*C	-1.853	-0.927	0.9176	-1.01	0.328

S = 4.49513 R-Sq = 80.87% R-Sq(adj) = 72.50%

Analysis of Variance for abts (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	1194.04	1194.04	398.01	19.70	0.000
2-Way Interactions	3	152.10	152.10	50.70	2.51	0.096
3-Way Interactions	1	20.61	20.61	20.61	1.02	0.328
Residual Error	16	323.30	323.30	20.21		
Pure Error	16	323.30	323.30	20.21		
Total	23	1690.04				

Unusual Observations for abts

Obs	StdOrder	abts	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	23	38.2700	23.9433	2.5953	14.3267	3.90R
18	7	15.3900	23.9433	2.5953	-8.5533	-2.33R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: frap versus A, B, C

Estimated Effects and Coefficients for frap (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		6.5421	0.4357	15.01	0.000
A	-1.7158	-0.8579	0.4357	-1.97	0.067
B	-0.8342	-0.4171	0.4357	-0.96	0.353
C	9.5892	4.7946	0.4357	11.00	0.000
A*B	-0.0975	-0.0487	0.4357	-0.11	0.912
A*C	-1.3308	-0.6654	0.4357	-1.53	0.146
B*C	-0.3992	-0.1996	0.4357	-0.46	0.653
A*B*C	0.1042	0.0521	0.4357	0.12	0.906

S = 2.13457 R-Sq = 88.92% R-Sq(adj) = 84.08%

Analysis of Variance for frap (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	573.552	573.552	191.184	41.96	0.000
2-Way Interactions	3	11.640	11.640	3.880	0.85	0.486

3-Way Interactions	1	0.065	0.065	0.065	0.01	0.906
Residual Error	16	72.902	72.902	4.556		
Pure Error	16	72.902	72.902	4.556		
Total	23	658.159				

Unusual Observations for frap

Obs	StdOrder	frap	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	15	17.8000	12.2400	1.2324	5.5600	3.19R
18	7	8.5200	12.2400	1.2324	-3.7200	-2.13R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: fenoles versus A, B, C

Estimated Effects and Coefficients for fenoles (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		1.8545	0.02588	71.66	0.000
A	-0.5426	-0.2713	0.02588	-10.48	0.000
B	-0.6076	-0.3038	0.02588	-11.74	0.000
C	3.2059	1.6030	0.02588	61.94	0.000
A*B	0.1674	0.0837	0.02588	3.23	0.005
A*C	-0.4257	-0.2129	0.02588	-8.23	0.000
B*C	-0.4974	-0.2487	0.02588	-9.61	0.000
A*B*C	0.1709	0.0855	0.02588	3.30	0.005

S = 0.126789 R-Sq = 99.63% R-Sq(adj) = 99.46%

Analysis of Variance for fenoles (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	65.6487	65.6487	21.8829	1361.26	0.000
2-Way Interactions	3	2.7403	2.7403	0.9134	56.82	0.000
3-Way Interactions	1	0.1753	0.1753	0.1753	10.90	0.005
Residual Error	16	0.2572	0.2572	0.0161		
Pure Error	16	0.2572	0.2572	0.0161		
Total	23	68.8215				

Unusual Observations for fenoles

Obs	StdOrder	fenoles	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	15	2.99000	3.22000	0.07320	-0.23000	-2.22R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: dpvh; abts; frap; fenoles

Factorial Fit: dpvh versus A, B, C

Estimated Effects and Coefficients for dpvh (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		13,4440	0,2765	48,62	0,000
A	-0,4493	-0,2246	0,2765	-0,81	0,429
B	0,2391	0,1195	0,2765	0,43	0,671
C	21,8863	10,9431	0,2765	39,58	0,000
A*B	-0,6024	-0,3012	0,2765	-1,09	0,292

A*C	0,1391	0,0695	0,2765	0,25	0,805
B*C	0,3774	0,1887	0,2765	0,68	0,505
A*B*C	-0,3941	-0,1970	0,2765	-0,71	0,486

S = 1,35463 R-Sq = 98,99% R-Sq(adj) = 98,55%

Analysis of Variance for dpph (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	2875,60	2875,60	958,534	522,36	0,000
2-Way Interactions	3	3,15	3,15	1,049	0,57	0,642
3-Way Interactions	1	0,93	0,93	0,932	0,51	0,486
Residual Error	16	29,36	29,36	1,835		
Pure Error	16	29,36	29,36	1,835		
Total	23	2909,04				

Unusual Observations for dpph

Obs	StdOrder	dpph	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
21	5	20,5930	23,7357	0,7821	-3,1427	-2,84R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: abts versus A; B; C

Estimated Effects and Coefficients for abts (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		9,104	0,9176	9,92	0,000
A	-4,292	-2,146	0,9176	-2,34	0,033
B	2,035	1,018	0,9176	1,11	0,284
C	13,283	6,642	0,9176	7,24	0,000
A*B	-1,645	-0,823	0,9176	-0,90	0,383
A*C	-4,013	-2,007	0,9176	-2,19	0,044
B*C	2,557	1,278	0,9176	1,39	0,183
A*B*C	-1,853	-0,927	0,9176	-1,01	0,328

S = 4,49513 R-Sq = 80,87% R-Sq(adj) = 72,50%

Analysis of Variance for abts (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	1194,04	1194,04	398,01	19,70	0,000
2-Way Interactions	3	152,10	152,10	50,70	2,51	0,096
3-Way Interactions	1	20,61	20,61	20,61	1,02	0,328
Residual Error	16	323,30	323,30	20,21		
Pure Error	16	323,30	323,30	20,21		
Total	23	1690,04				

Unusual Observations for abts

Obs	StdOrder	abts	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
4	23	38,2700	23,9433	2,5953	14,3267	3,90R
18	7	15,3900	23,9433	2,5953	-8,5533	-2,33R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: frap versus A; B; C

Estimated Effects and Coefficients for frap (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		6,5421	0,4357	15,01	0,000
A	-1,7158	-0,8579	0,4357	-1,97	0,067
B	-0,8342	-0,4171	0,4357	-0,96	0,353
C	9,5892	4,7946	0,4357	11,00	0,000
A*B	-0,0975	-0,0487	0,4357	-0,11	0,912
A*C	-1,3308	-0,6654	0,4357	-1,53	0,146
B*C	-0,3992	-0,1996	0,4357	-0,46	0,653
A*B*C	0,1042	0,0521	0,4357	0,12	0,906

S = 2,13457 R-Sq = 88,92% R-Sq(adj) = 84,08%

Analysis of Variance for frap (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	573,552	573,552	191,184	41,96	0,000
2-Way Interactions	3	11,640	11,640	3,880	0,85	0,486
3-Way Interactions	1	0,065	0,065	0,065	0,01	0,906
Residual Error	16	72,902	72,902	4,556		
Pure Error	16	72,902	72,902	4,556		
Total	23	658,159				

Unusual Observations for frap

Obs	StdOrder	frap	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	15	17,8000	12,2400	1,2324	5,5600	3,19R
18	7	8,5200	12,2400	1,2324	-3,7200	-2,13R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Factorial Fit: fenoles versus A; B; C

Estimated Effects and Coefficients for fenoles (coded units)

Term	Effect	Coef	SE Coef	T	P
Constant		1,8545	0,02588	71,66	0,000
A	-0,5426	-0,2713	0,02588	-10,48	0,000
B	-0,6076	-0,3038	0,02588	-11,74	0,000
C	3,2059	1,6030	0,02588	61,94	0,000
A*B	0,1674	0,0837	0,02588	3,23	0,005
A*C	-0,4257	-0,2129	0,02588	-8,23	0,000
B*C	-0,4974	-0,2487	0,02588	-9,61	0,000
A*B*C	0,1709	0,0855	0,02588	3,30	0,005

S = 0,126789 R-Sq = 99,63% R-Sq(adj) = 99,46%

Analysis of Variance for fenoles (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	3	65,6487	65,6487	21,8829	1361,26	0,000
2-Way Interactions	3	2,7403	2,7403	0,9134	56,82	0,000
3-Way Interactions	1	0,1753	0,1753	0,1753	10,90	0,005
Residual Error	16	0,2572	0,2572	0,0161		
Pure Error	16	0,2572	0,2572	0,0161		
Total	23	68,8215				

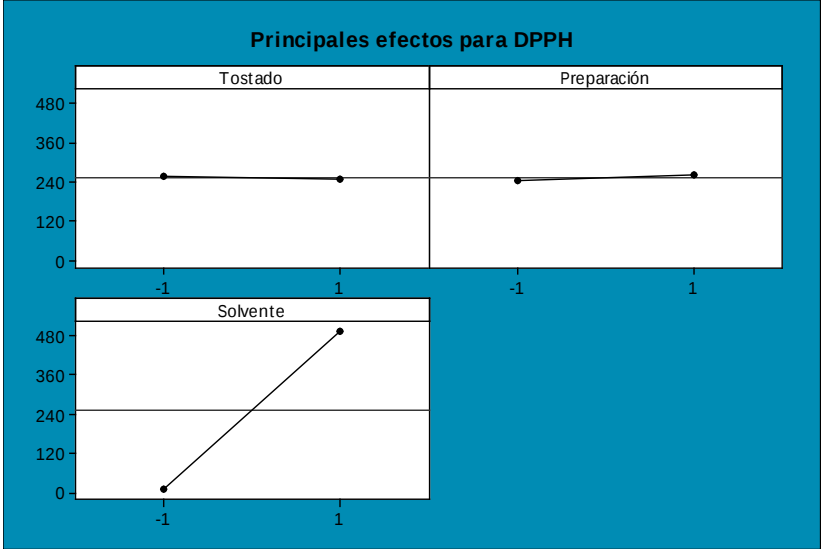
Unusual Observations for fenoles

Obs	StdOrder	fenoles	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
14	15	2,99000	3,22000	0,07320	-0,23000	-2,22R

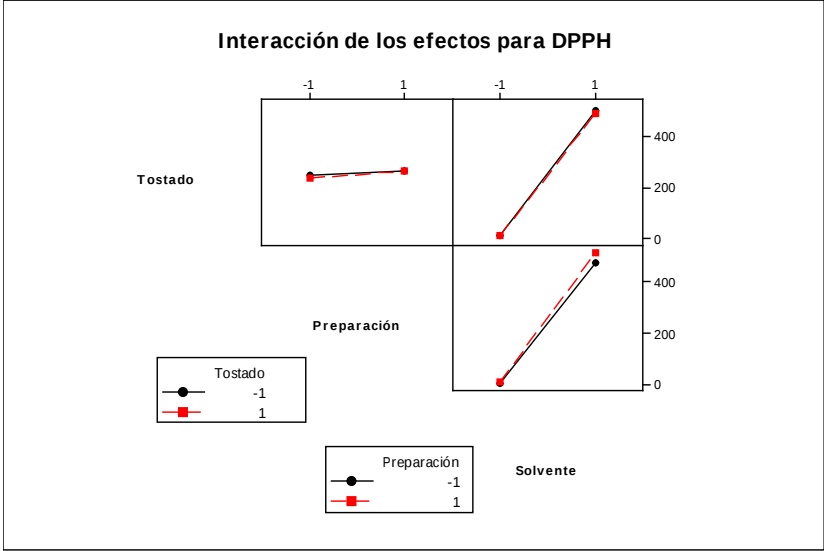
Anexo14: gráficas de efectos para DPPH, ABTS, FRAP y Fenoles totales.

CAFÉ TOSTADO DPPH

Gráfica No 1: Principales efectos para DPPH en el café tostado.

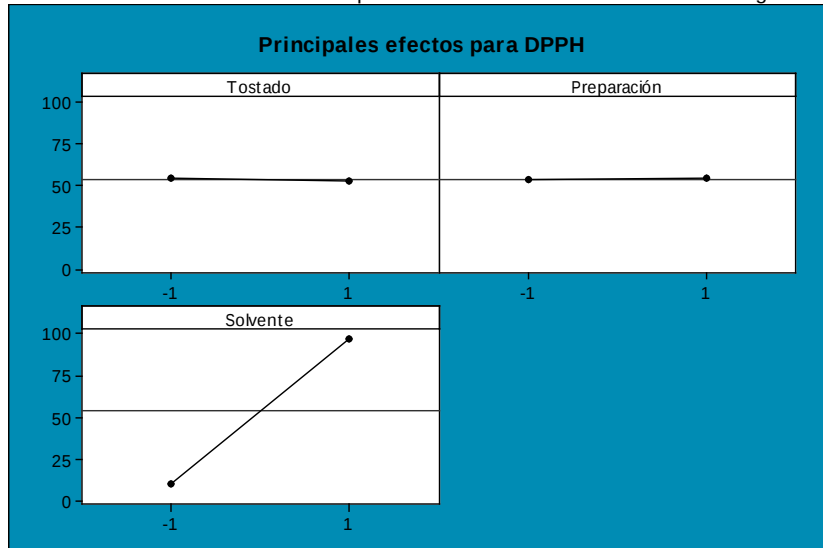


Gráfica No 2: Interacciones de los efectos para DPPH en el café tostado

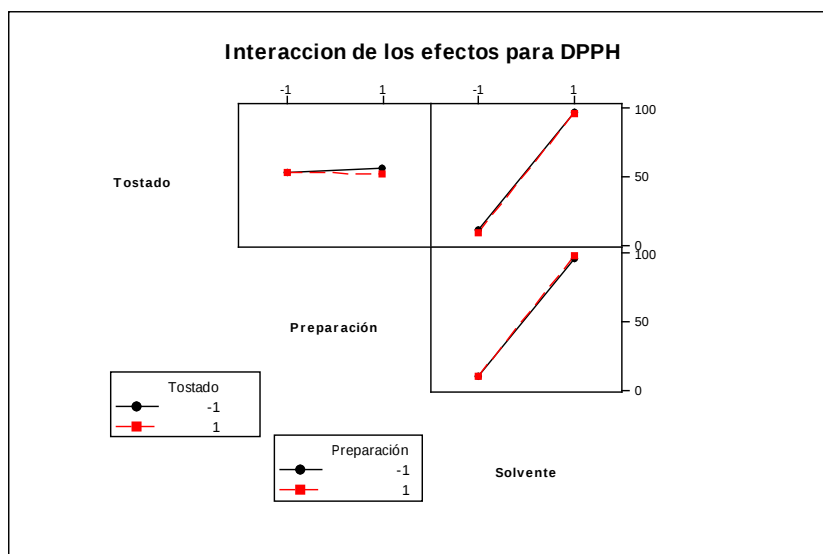


RESIDUOS AGOTADOS-DPPH

Gráfica No 3: Pareto de los efectos para DPPH en residuos del café tostado agotado.

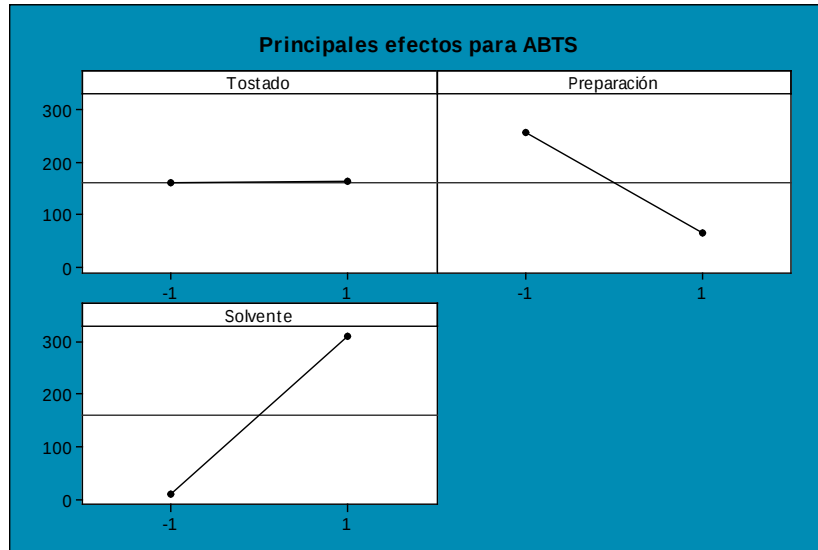


Gráfica No 4: Interacción de los efectos para DPPH en residuos del café tostado.

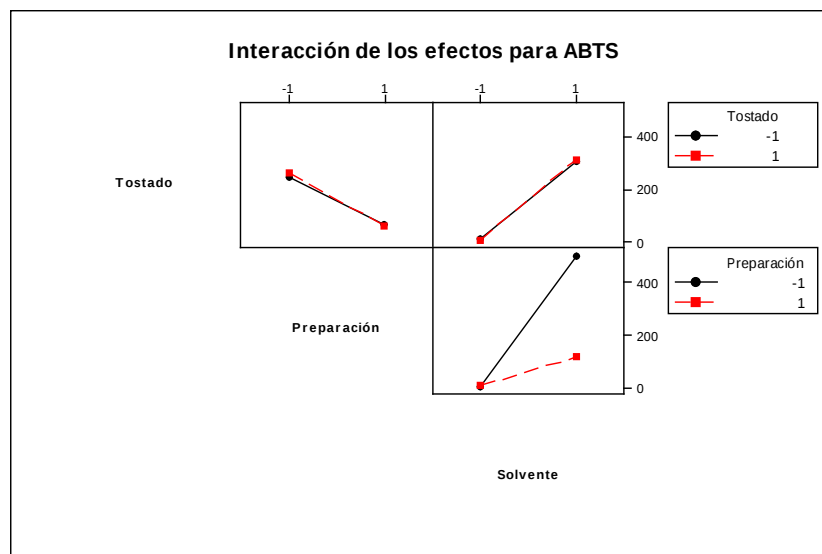


ABTS-CAFÉ TOSTADO

Gráfica No 5: Pareto de los efectos para ABTS en el café tostado.

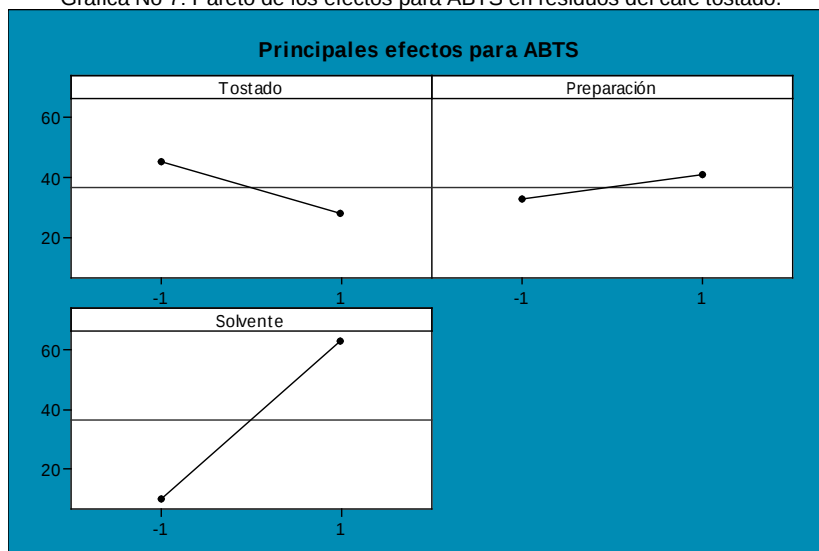


Gráfica No 6: Interacción de los efectos para ABTS en el café tostado.

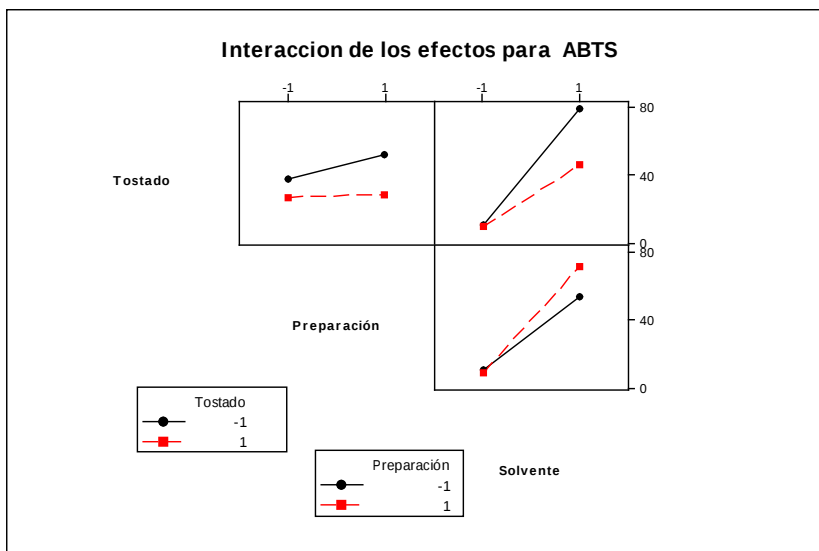


ABTS-RESIDUOS AGOTADOS

Gráfica No 7: Pareto de los efectos para ABTS en residuos del café tostado.

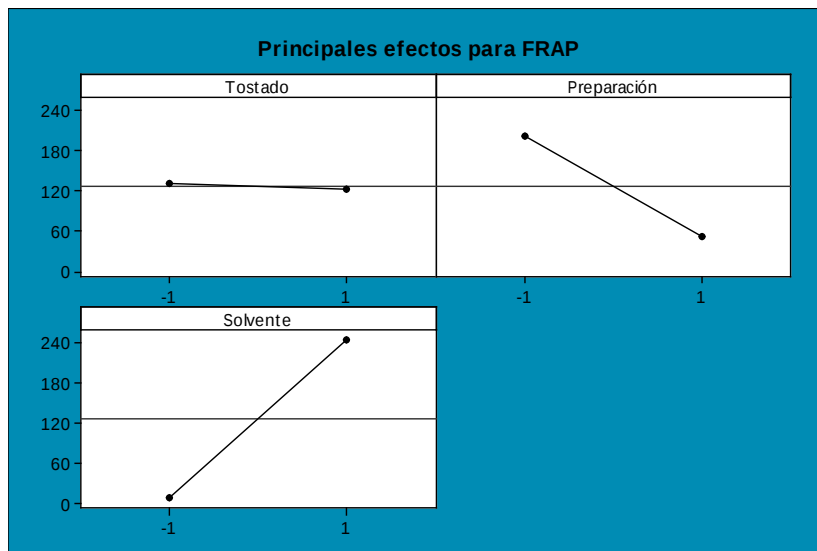


Gráfica No 8: Interacción de los efectos para ABTS residuos del café tostado.

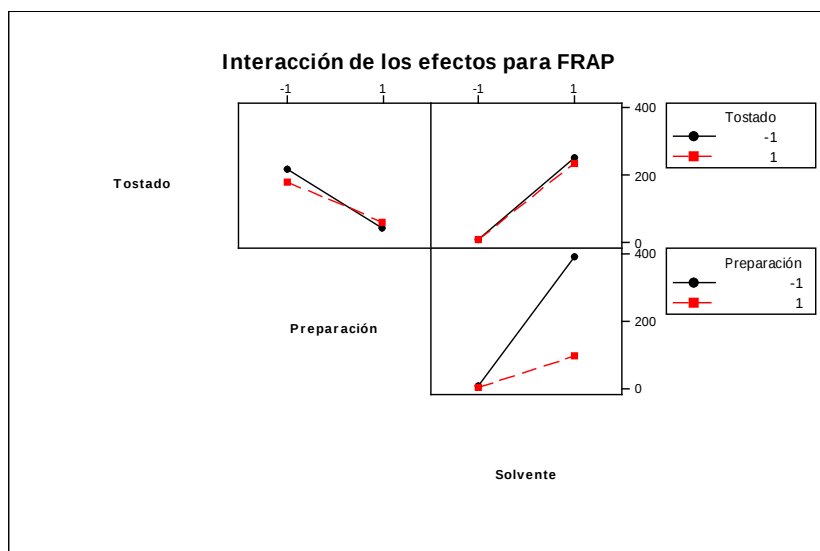


FRAP-CAFÉ TOSTADO

Gráfica No 9: Pareto de los efectos para FRAP en el café tostado.

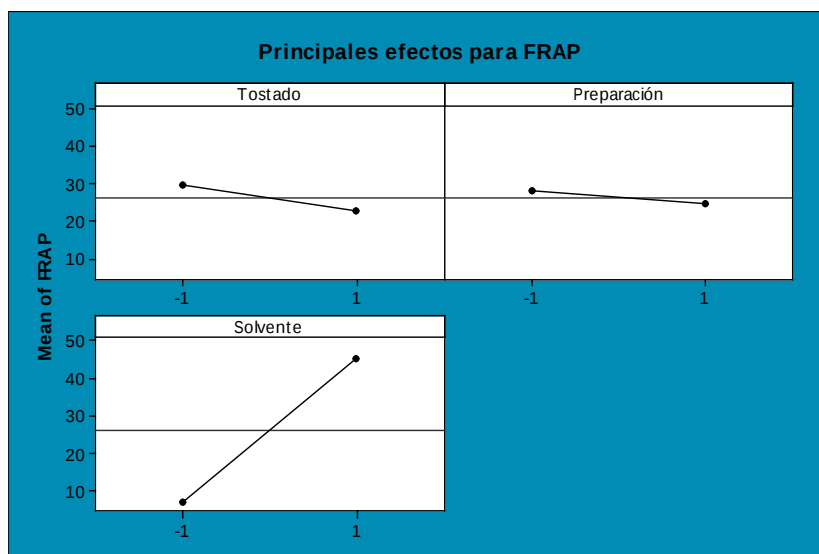


Gráfica No 10: Interacción de los efectos para FRAP en el café tostado.

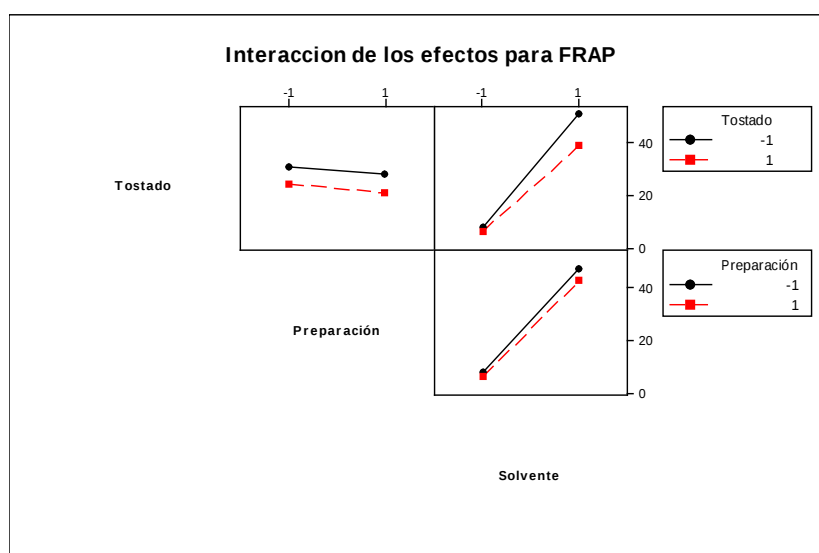


FRAP -RESIDUOS DEL CAFÉ TOSTADO AGOTADO.

Gráfica No 11: Pareto de los efectos para FRAP en residuos del café tostado.

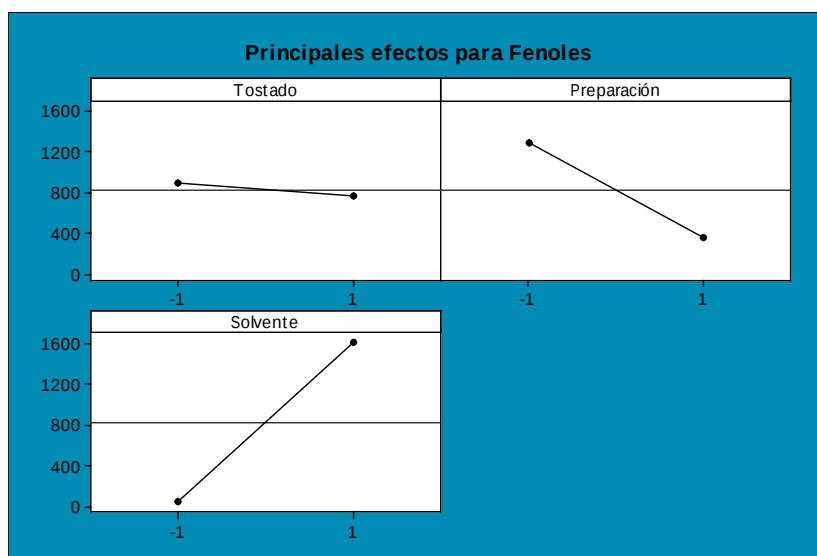


Gráfica No 12: Interacción de los efectos para FRAP en residuos del café tostado.

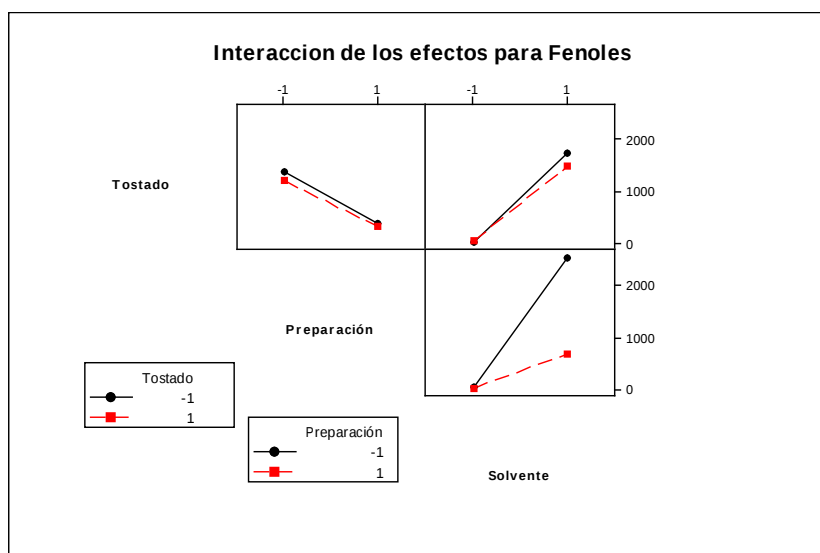


FENOLES TOTALES -CAFÉ TOSTADO

Gráfica No 13: Pareto de los efectos para FENOLES en el café tostado.

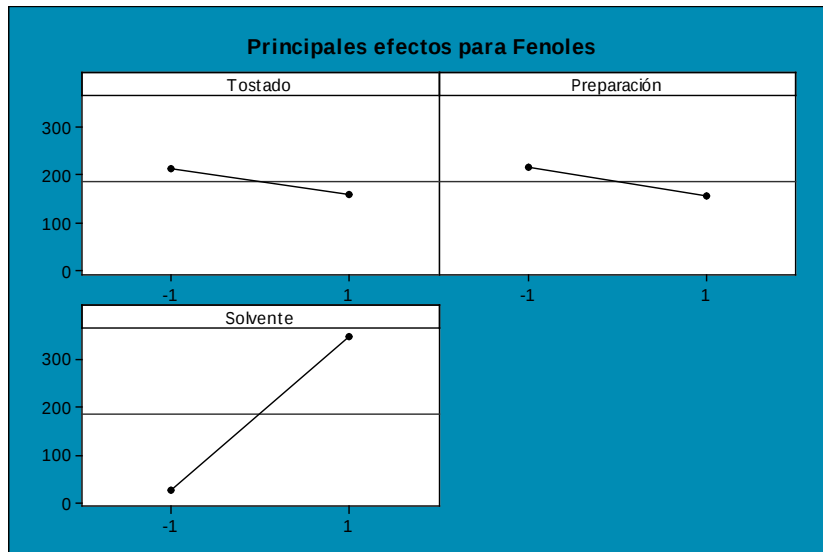


Gráfica No 15: Interacción de los efectos para FENOLES en el café tostado.

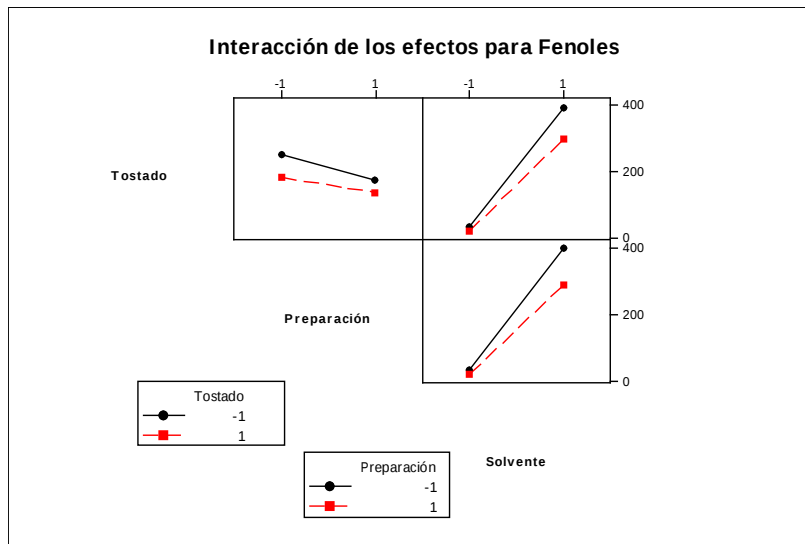


FENOLES TOTALES- RESIDUOS DE CAFÉ TOSTADO AGOTADO.

Gráfica No 15: Pareto de los efectos para FENOLES en residuos del café tostado.

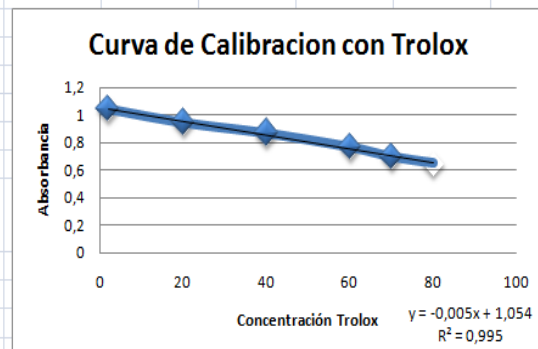


Gráfica No 16: Interacción de los efectos para FENOLES en residuos del café tostado.



DPPH-Actividad antioxidante.

DPPH									
Curva:	concentración	250		Absorbancias					
Alicuota	uM	ppm		Lect. 1	Lect. 2	Lect. 3	Promedio		
0,2	8	2		1,04	1,047	1,044	1,044		
2	80	20		0,948	0,942	0,945	0,945	a (pendiente	-0,004991399
4	160	40		0,865	0,867	0,87	0,867	b (intercepto	1,05444344
6	240	60		0,765	0,767	0,767	0,766	absorbancia del blanco	1,103
7	280	70		0,695	0,696	0,697	0,696		
8	320	80		0,647	0,652	0,653	0,651		
Absorbancias									
Café verde 2da dilución 1:5 M.P. :				Lect. 1	Lect. 2	Lect. 3	Promedio	Conc. Trolox ca	muest uMTrolox/gm
lote1				0,752	0,752	0,752	0,752	60,59	121,19 484,74
lote2				0,733	0,731	0,733	0,732	64,53	129,07 516,26
lote3				0,74	0,73	0,73	0,733	64,33	128,67 514,66
Café tost Expresso 2da dilución 1:5 M.P. :									
CLARO	abs1	abs2	abs3	promedio	conc. Trolox	muest	uMTrolox/gm		
lote1	0,721	0,722	0,721	0,721	66,74	133,47	533,89	MEDIO	abs1 abs2 abs3 Promedio conc. Trolox muest uMTrolox/g
lote2	0,798	0,798	0,798	0,798	51,38	102,75	411,02	lote1	0,792 0,791 0,79 0,791 52,78 105,56 422,24
lote3	0,728	0,727	0,727	0,727	65,53	131,07	524,28	lote2	0,791 0,792 0,792 0,792 52,65 105,29 421,17
								lote3	0,715 0,723 0,711 0,716 67,74 135,48 541,91
Residuo Expreso 2da dilución 1:10 EtOH:									
CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	conc. Trolox	muest	uMTrolox/gm		
lote1	0,654	0,658	0,664	0,659	79,29	3,17	12,69	MEDIO	abs1 abs2 abs3 Promedio conc. Trolox muest uMTrolox/g
lote2	0,765	0,762	0,763	0,763	58,32	2,33	9,33	lote1	0,679 0,684 0,679 0,681 74,88 3,00 11,98
lote3	0,705	0,709	0,706	0,707	69,68	2,79	11,15	lote2	0,77 0,774 0,785 0,776 55,72 2,23 8,91
								lote3	0,812 0,813 0,816 0,814 48,24 1,93 7,72
Residuo Pren. Francesa 2da dilución 1:10 EtOH:									
CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	conc. Trolox	muest	uMTrolox/gm		
lote1	0,65	0,66	0,664	0,658	79,43	3,18	12,71	MEDIO	abs1 abs2 abs3 Promedio conc. Trolox muest uMTrolox/g
lote2	0,775	0,777	0,78	0,777	55,52	2,22	8,88	lote1	0,826 0,825 0,825 0,825 45,90 1,84 7,34
lote3	0,669	0,666	0,667	0,667	77,56	3,10	12,41	lote2	0,863 0,866 0,864 0,864 38,09 1,52 6,09
								lote3	0,711 0,711 0,71 0,711 68,87 2,75 11,02



Café tost Expreso Extractos Etanólicos :															
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues	MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,791	0,79	0,79	0,790	57,462	2,298	9,194	Lot 1	0,928	0,925	0,924	0,926	29,234	1,169	4,677
lot2	0,815	0,813	0,812	0,813	52,665	2,107	8,426	lot2	0,946	0,947	0,947	0,947	24,853	0,994	3,977
Lot3	0,81	0,809	0,809	0,809	53,499	2,140	8,560	Lot3	0,808	0,808	0,808	0,808	53,777	2,151	8,604
Café tost Prensa Francesa Etanólicos:															
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues	MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,703	0,709	0,707	0,706	74,984	2,999	11,997	Lot 1	0,737	0,736	0,736	0,736	68,726	2,749	10,996
lot2	0,758	0,757	0,753	0,756	64,624	2,585	10,340	lot2	0,719	0,72	0,717	0,719	72,411	2,896	11,586
Lot3	0,882	0,88	0,881	0,881	38,551	1,542	6,168	Lot3	0,749	0,748	0,747	0,748	66,293	2,652	10,607
Café tost Prensa Francesa metodo patrón:															
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues	MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,77	0,763	0,794	0,776	60,522	121,043	484,173	Lot 1	0,748	0,748	0,748	0,748	66,293	132,585	530,341
lot2	0,75	0,747	0,752	0,750	65,945	131,890	527,560	lot2	0,746	0,749	0,749	0,748	66,293	132,585	530,341
Lot3	0,749	0,751	0,751	0,750	65,806	131,612	526,447	Lot3	0,774	0,778	0,775	0,776	60,522	121,043	484,173
Res. Prensa Francesa metodo patrón:															
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues	MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,794	0,794	0,793	0,794	56,767	22,707	90,827	Lot 1	0,776	0,78	0,779	0,778	59,965	23,986	95,945
lot2	0,759	0,75	0,751	0,753	65,180	26,072	104,288	lot2	0,797	0,797	0,796	0,797	56,141	22,457	89,826
Lot3	0,771	0,773	0,773	0,772	61,217	24,487	97,947	Lot3	0,76	0,759	0,755	0,758	64,207	25,683	102,731
Res. Expreso metodo patrón:															
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues	MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,819	0,819	0,819	0,819	51,483	20,593	82,373	Lot 1	0,752	0,753	0,751	0,752	65,458	26,183	104,733
lot2	0,763	0,766	0,763	0,764	62,955	25,182	100,728	lot2	0,771	0,771	0,772	0,771	61,426	24,570	98,281
Lot3	0,762	0,76	0,761	0,761	63,581	25,432	101,730	Lot3	0,762	0,763	0,763	0,763	63,233	25,293	101,173

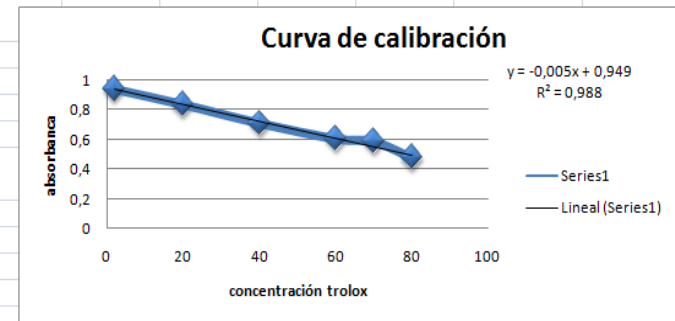
ABTS-Actividad antioxidante.

Curva:

				Absorbancias			
Alicuotas	Conc. uM	ppm	mg trolox/L	Lect. 1	Lect. 2	Lect. 3	Promedio
0,2	8	2	20	0,938	0,94	0,943	0,940
2	80	20	200	0,835	0,837	0,838	0,837
4	160	40	400	0,691	0,689	0,752	0,711
6	240	60	600	0,607	0,605	0,606	0,606
7	280	70	700	0,585	0,587	0,589	0,587
8	320	80	800	0,477	0,477	0,477	0,477

-0,005648008 Pendiente
0,948987464 Interceptor

absorbancia
del blanco 1,104



Café verde 2da dilución 1:5 M.P.:

	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/g mue	uMtrol/g mue
lote1	0,894	0,892	0,893	0,893	9,91	19,83	79,30
lote2	0,686	0,687	0,688	0,687	46,39	92,77	371,09
lote3	0,753	0,754	0,755	0,754	34,52	69,05	276,19

Café tost Espresso 2da dilución (1:5) M.P.:

CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g muestra
lote1	0,589	0,588	0,586	0,588	63,97	127,95	511,79
lote2	0,648	0,646	0,646	0,647	53,53	107,05	428,22
lote3	0,578	0,577	0,578	0,578	65,74	131,49	525,95

MEDIO

	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
lote1	0,54	0,539	0,541	0,540	72,41	144,83	579,30
lote2	0,65	0,652	0,653	0,652	52,64	105,28	421,13
lote3	0,562	0,564	0,564	0,563	68,28	136,56	546,25

Residuo tost Espresso 2da dilución 1:10 EtOH :

CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g muestra
lote1	0,534	0,533	0,531	0,533	73,71	2,95	11,79
lote2	0,518	0,518	0,518	0,518	76,31	3,05	12,21
lote3	0,539	0,535	0,538	0,537	72,88	2,92	11,66

MEDIO

	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
lote1	0,668	0,663	0,664	0,665	50,28	2,01	8,04
lote2	0,495	0,494	0,497	0,495	80,32	3,21	12,85
lote3	0,636	0,633	0,636	0,635	55,59	2,22	8,89

Residuo Pren. Francesa 2da dilución 1:10 EtOH :

CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g muestra	uMtrol/g muestra
lote1	0,615	0,615	0,614	0,615	59,19	2,37	9,47
lote2	0,502	0,5	0,5	0,501	59,19	2,37	9,47
lote3	0,669	0,672	0,67	0,670	49,34	1,97	7,89

MEDIO

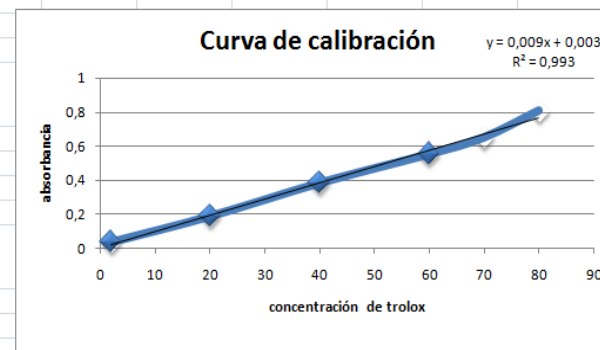
	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
lote1	0,616	0,618	0,618	0,617	58,72	2,35	9,40
lote2	0,648	0,65	0,647	0,648	53,23	2,13	8,52
lote3	0,665	0,663	0,664	0,664	50,46	2,02	8,07

Café tost Expreso Extractos Etanólicos :																	
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues			MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,791	0,79	0,79	0,790	57,462	2,298	9,194			Lot 1	0,928	0,925	0,924	0,926	29,234	1,169	4,677
lot2	0,815	0,813	0,812	0,813	52,665	2,107	8,426			lot2	0,946	0,947	0,947	0,947	24,853	0,994	3,977
Lot3	0,81	0,809	0,809	0,809	53,499	2,140	8,560			Lot3	0,808	0,808	0,808	0,808	53,777	2,151	8,604
Café tost Prensa Francesa Etanólicos:																	
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues			MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,703	0,709	0,707	0,706	74,984	2,999	11,997			Lot 1	0,737	0,736	0,736	0,736	68,726	2,749	10,996
lot2	0,758	0,757	0,753	0,756	64,624	2,585	10,340			lot2	0,719	0,72	0,717	0,719	72,411	2,896	11,586
Lot3	0,882	0,88	0,881	0,881	38,551	1,542	6,168			Lot3	0,749	0,748	0,747	0,748	66,293	2,652	10,607
Café tost Prensa Francesa metodo patrón:																	
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues			MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,77	0,763	0,794	0,776	60,522	121,043	484,173			Lot 1	0,748	0,748	0,748	0,748	66,293	132,585	530,341
lot2	0,75	0,747	0,752	0,750	65,945	131,890	527,560			lot2	0,746	0,749	0,749	0,748	66,293	132,585	530,341
Lot3	0,749	0,751	0,751	0,750	65,806	131,612	526,447			Lot3	0,774	0,778	0,775	0,776	60,522	121,043	484,173
Res. Prensa Francesa metodo patrón:																	
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues			MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,794	0,794	0,793	0,794	56,767	22,707	90,827			Lot 1	0,776	0,78	0,779	0,778	59,965	23,986	95,945
lot2	0,759	0,75	0,751	0,753	65,180	26,072	104,288			lot2	0,797	0,797	0,796	0,797	56,141	22,457	89,826
Lot3	0,771	0,773	0,773	0,772	61,217	24,487	97,947			Lot3	0,76	0,759	0,755	0,758	64,207	25,683	102,731
Res. Expreso metodo patrón:																	
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues			MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,819	0,819	0,819	0,819	51,483	20,593	82,373			Lot 1	0,752	0,753	0,751	0,752	65,458	26,183	104,733
lot2	0,763	0,766	0,763	0,764	62,955	25,182	100,728			lot2	0,771	0,771	0,772	0,771	61,426	24,570	98,281
Lot3	0,762	0,76	0,761	0,761	63,581	25,432	101,730			Lot3	0,762	0,763	0,763	0,763	63,233	25,293	101,173

FRAP-Actividad antioxidante

Curva:							
Alicuotas	ppm	Conc. uM	mg trolox/L	Absorbancias			
				Lect.1	Lect. 2	Lect. 3	Promedio
0,2	2	8	20	0,038	0,037	0,038	0,038
2	20	80	200	0,188	0,189	0,19	0,189
4	40	160	400	0,362	0,393	0,397	0,384
6	60	240	600	0,581	0,539	0,542	0,554
7	70	280	700	0,65	0,653	0,652	0,652
8	80	320	800	0,81	0,809	0,807	0,809

pendiente 0,00957
interceptor 0,00367
absorbancia del blanco 1,102



Café verde dilución 1:5 M.P.

	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal. En ppm	mg trolox/g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición
lote1	0,165	0,17	0,177	0,171	17,45	34,90	139,60	84,51300665
lote2	0,371	0,392	0,364	0,376	38,87	77,74	310,98	65,91046582
lote3	0,197	0,2	0,205	0,201	20,59	41,17	164,68	81,79068361

Café Expresso 2da dilución 1:5 M.P.

CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición	MEDIO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/100g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición
lote1	0,511	0,52	0,527	0,519	53,88	107,77	431,08	52,874	lote1	0,397	0,320	0,306	0,341	35,25	70,50	282,00	69,056
lote2	0,492	0,514	0,49	0,499	51,73	103,45	413,80	54,749	lote2	0,473	0,433	0,445	0,450	46,67	93,35	373,39	59,135
lote3	0,55	0,515	0,519	0,528	54,79	109,58	438,32	52,087	lote3	0,496	0,498	0,500	0,498	51,66	103,31	413,24	54,809

Residuo Expresso 2da dilución 1:10 ETOH

CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición	MEDIO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/100g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición
lote1	0,605	0,581	0,573	0,586	60,89	2,44	9,74	46,794	lote1	0,459	0,467	0,490	0,472	48,94	1,96	7,83	57,169
lote2	0,504	0,476	0,473	0,484	50,23	2,01	8,04	56,050	lote2	0,419	0,403	0,390	0,404	41,83	1,67	6,69	63,339
lote3	0,428	0,411	0,404	0,414	42,91	1,72	6,87	62,402	lote3	0,475	0,48	0,485	0,480	49,77	1,99	7,96	56,443

Residuo Pren. Francesa 2da dilución 1:10 ETOH

CLARO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/100g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición	MEDIO	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox cal.	mg trolox/100g mues	uMtrol/g muestra	%de inhibición
lote1	0,376	0,369	0,347	0,364	37,65	1,51	6,02	66,969	lote1	0,325	0,324	0,321	0,323	33,40	1,34	5,34	70,659
lote2	0,481	0,478	0,478	0,479	49,67	1,99	7,95	56,534	lote2	0,28	0,28	0,281	0,280	28,91	1,16	4,63	74,561
lote3	0,489	0,468	0,468	0,475	49,25	1,97	7,88	56,897	lote3	0,314	0,295	0,267	0,292	30,13	1,21	4,82	73,503

Café tostado Expresso extractos etanólicos:																			
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues					MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,647	0,649	0,645	0,647	59,9173129	2,39669252	9,587					Lot 1	0,422	0,421	0,423	0,422	33,0641001	1,322564	5,290
lot2	0,578	0,59	0,588	0,585	52,5575435	2,10230174	8,409					lot2	0,441	0,443	0,439	0,441	35,3317047	1,41326819	5,653
Lot3	0,675	0,678	0,681	0,678	63,6170889	2,54468356	10,179					Lot3	0,785	0,79	0,788	0,788	76,7055438	3,06822175	12,273
Café tost Prensa Francesa extractos etanólicos:																			
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues					MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,462	0,458	0,461	0,460	37,6390919	1,50556368	6,022					Lot 1	0,7	0,696	0,698	0,698	66,0040412	2,64016165	10,561
lot2	0,49	0,497	0,494	0,494	41,6173457	1,66469383	6,659					lot2	0,499	0,495	0,496	0,497	41,9753885	1,67901554	6,716
Lot3	0,48	0,481	0,483	0,481	40,1453918	1,60581567	6,423					Lot3	0,469	0,467	0,466	0,467	38,4745252	1,53898101	6,156
Café tost Prensa Francesa metodo patrón:																			
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues					MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,235	0,232	0,234	0,234	10,5869663	21,174	84,696					Lot 1	0,298	0,289	0,276	0,288	17,0317374	34,063	136,254
lot2	0,222	0,221	0,221	0,221	9,11501244	18,230	72,920					lot2	0,266	0,267	0,265	0,266	14,4458725	28,892	115,567
Lot3	0,223	0,223	0,224	0,223	9,35370767	18,707	74,830					Lot3	0,249	0,247	0,251	0,249	12,4169631	24,834	99,336
Res.Expresso metodo patrón:																			
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues					MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,189	0,19	0,188	0,189	5,2561063	10,512	42,049					Lot 1	0,195	0,199	0,201	0,198	6,37001735	12,740	50,960
lot2	0,201	0,203	0,204	0,203	6,88719034	13,774	55,098					lot2	0,183	0,184	0,185	0,184	4,65936823	9,319	37,275
Lot3	0,211	0,214	0,213	0,213	8,08066647	16,161	64,645					Lot3	0,185	0,185	0,181	0,184	4,6195857	9,239	36,957
Res. Prensa Francesa metodo patrón:																			
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues					MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g mues	uMtrol/g mues
Lot 1	0,18	0,183	0,179	0,181	4,26154286	8,523	34,092					Lot 1	0,182	0,183	0,183	0,183	4,50023808	9,000	36,002
lot2	0,215	0,219	0,225	0,220	8,91609975	17,832	71,329					lot2	0,183	0,184	0,182	0,183	4,54002062	9,080	36,320
Lot3	0,195	0,184	0,187	0,189	5,21632376	10,433	41,731					Lot3	0,182	0,179	0,181	0,181	4,26154286	8,523	34,092

Café expresso extractos etanólicos (dilución 1:10) :																		
						mg AG/g	mgACE/100g											
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mues	muestra				MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg trol/g	mgACE/100g
Lot 1	0,461	0,466	0,466	0,464	12,853	0,514	51,413				Lot 1	0,351	0,356	0,353	0,353	8,872	0,355	35,490
lot2	0,442	0,442	0,439	0,441	12,016	0,481	48,066				lot2	0,358	0,356	0,357	0,357	9,004	0,360	36,016
Lot3	0,53	0,533	0,533	0,532	15,280	0,611	61,120				Lot3	0,451	0,453	0,453	0,452	12,423	0,497	49,692
Café prensa francesa extractos etanólicos (dilución 1:10) :																		
						mg AG/g	mgACE/100g											
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mues	muestra				MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg AG/g	mgACE/100g
Lot 1	0,287	0,285	0,285	0,286	6,446	0,258	25,783				Lot 1	0,41	0,414	0,416	0,413	11,024	0,441	44,097
lot2	0,289	0,287	0,29	0,289	6,553	0,262	26,213				lot2	0,425	0,423	0,421	0,423	11,371	0,455	45,484
Lot3	0,261	0,262	0,261	0,261	5,573	0,223	22,292				Lot3	0,503	0,504	0,505	0,504	14,276	0,571	57,103
Café Prensa Francesa metodo patrón:																		
						mg AG/g	mgACE/100g											
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mues	muestra				MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg AG/g	mgACE/100g
Lot 1	0,292	0,294	0,298	0,295	6,769	13,537	1353,702				Lot 1	0,121	0,118	0,117	0,119	0,457	0,913	91,324
lot2	0,208	0,210	0,209	0,209	3,696	7,392	739,249				lot2	0,187	0,188	0,185	0,187	2,895	5,791	579,061
Lot3	0,221	0,222	0,224	0,222	4,174	8,349	834,884				Lot3	0,195	0,193	0,192	0,193	3,134	6,269	626,878
Res. Prensa Francesa metodo patrón:																		
						mg AG/g	mgACE/100g											
CLARO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mues	muestra				MEDIO:	abs1	abs2	abs3	Promedio	Conc. Trolox	mg AG/g	mgACE/100g
Lot 1	0,154	0,153	0,152	0,153	1,688	3,376	337,583				Lot 1	0,141	0,141	0,141	0,141	1,258	2,515	251,512
lot2	0,148	0,148	0,147	0,148	1,497	2,993	299,329				lot2	0,14	0,141	0,142	0,141	1,258	2,515	251,512
Lot3	0,151	0,153	0,152	0,152	1,652	3,304	330,411				Lot3	0,145	0,147	0,141	0,144	1,377	2,754	275,421

