

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

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

Autora: Vinueza Pullotasig Mónica Yessenia

Directora: Mihai Raluca Alexandra, Ph.D.

Sangolquí, 01 de septiembre de 2023

VERSIÓN: 1.1



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



Introducción

Metabolitos secundarios

Defensa contra patógenos y depredadores

Brinda características de sabor, color y olor.

Respuesta ante estrés

La cafeína y el ácido clorogénico

No son esenciales



Figura 2. Metabolitos secundarios del café



Figura 1. Radicales libres vs Antioxidantes

(Sepúlveda-Jiménez et al., 2003; Mitraka et al., 2021)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Generalidades del café

Rubiáceas



Figura 3. Fruto de café

Coffea arabica L.

Coffea canephora L.

Coffea arabica L.

Más fina
Más aromático
Menos amargo
Menos cafeína
Incisión curvada
Madura de 7 a 9 meses
Alturas de 800 a 2000 msnm



Figura 5. Semillas de *Coffea arabica* L. y *Coffea canephora* L.

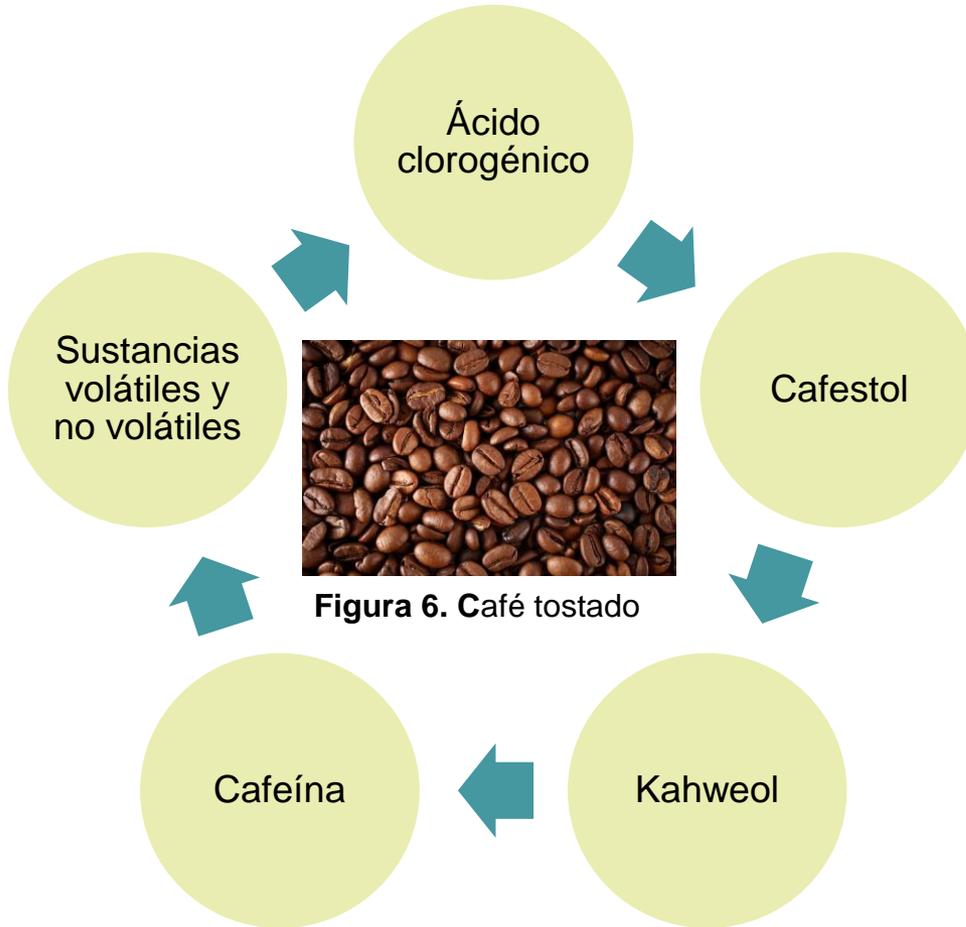
Coffea canephora L.

Fuerte y amargo
Menos fragancia
Doble de cafeína
Incisión recta
Madura de 11 meses
Alturas de 500 a 1200 msnm

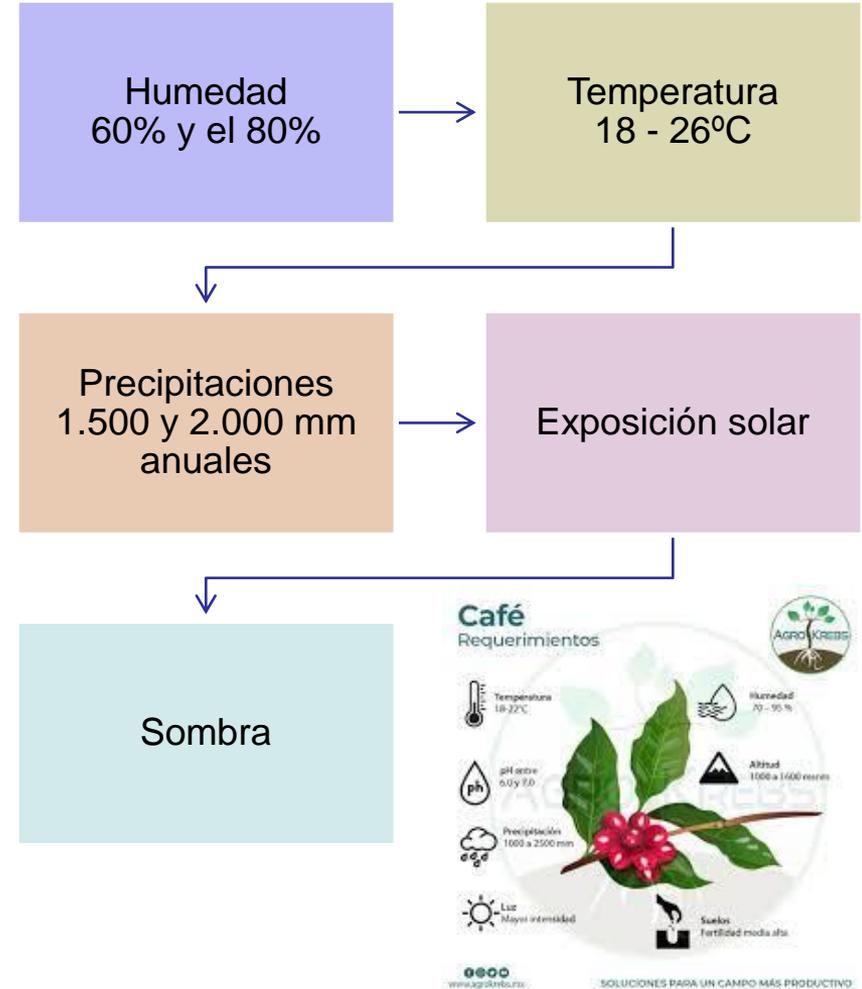


Figura 4. Composición del grano de café

Composición química



Factores edafoclimáticos



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



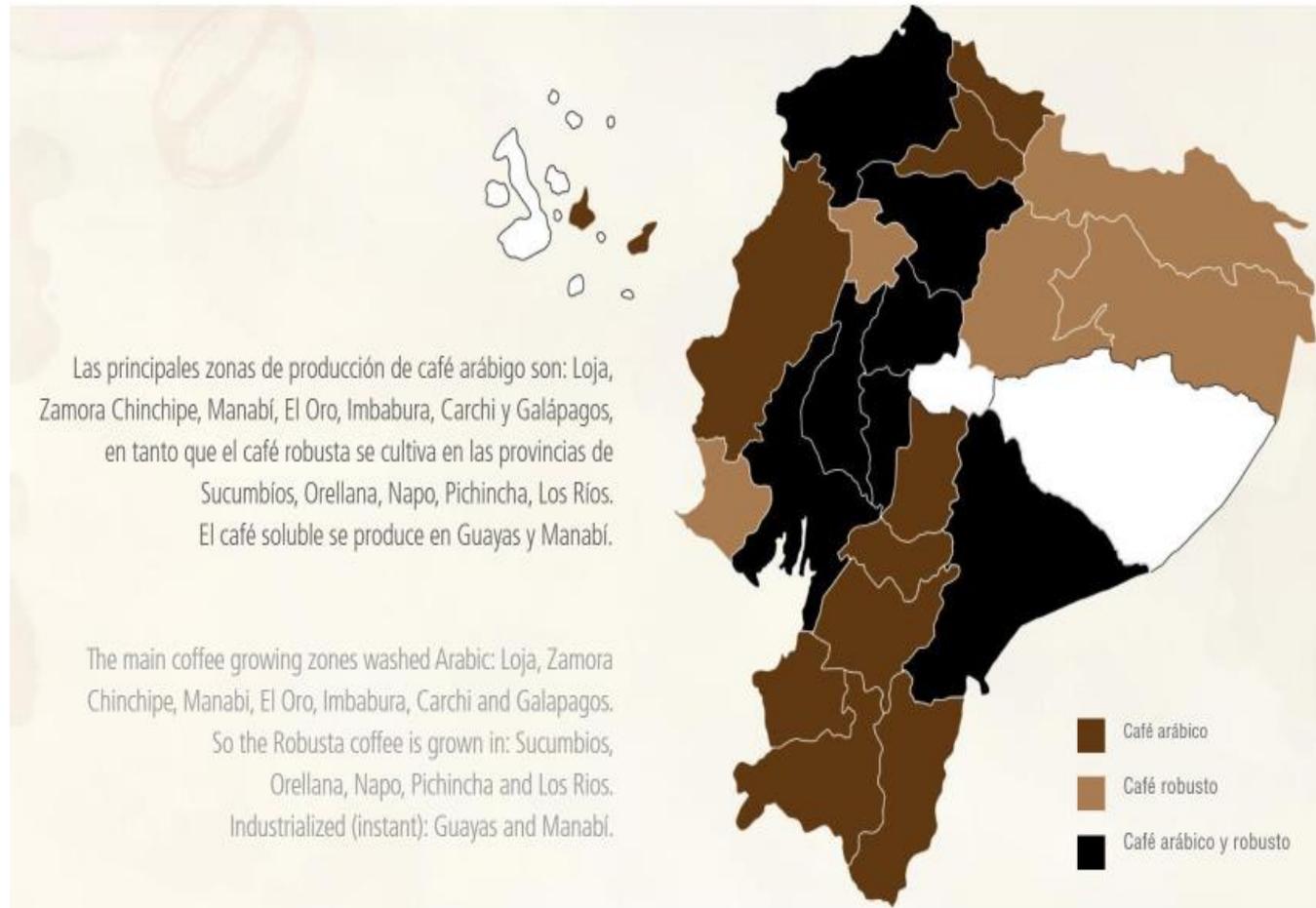


Figura 7. Provincias productoras de café

- Introducción
- Justificación
- **Objetivos e hipótesis**
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



Objetivos e hipótesis

Objetivo general

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

Objetivos específicos

- Cosechar manualmente granos maduros de café y extraer metabolitos secundarios.
- Cuantificar la concentración de fenoles, flavonoides y cafeína mediante el ensayo de Folin Ciocalteu, método colorimétrico del cloruro de aluminio ($AlCl_3$) y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), respectivamente.
- Determinar el carácter antioxidante mediante reactivos químicos como DPPH, FRAP y ABTS.



Hipótesis

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



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- **Materiales y métodos**
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



Recolección y extracción de las muestras



Actividad antioxidante



Figura 8. Extracto etanólico

Muestra

Stock

Tiempo

λ



Figura 9. Reacción DPPH

DPPH

0,1 mL

2,9 mL

30 min

517 nm

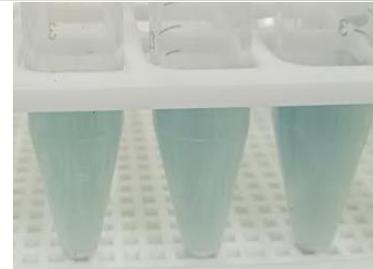


Figura 10. Reacción ABTS

ABTS

20 μ L

2 mL

7 min

734 nm

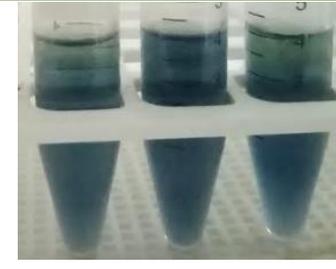


Figura 11. Reacción FRAP

FRAP

0,1 mL

3 mL

0,3 mL de agua dest.

4 min

593 nm

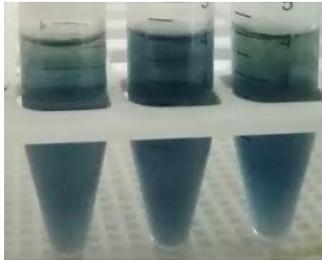


Figura 12. Reacción de Folin Ciocalteu

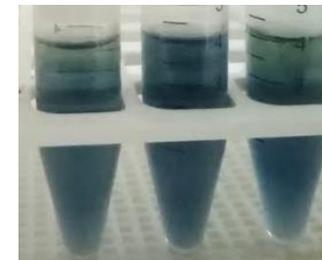
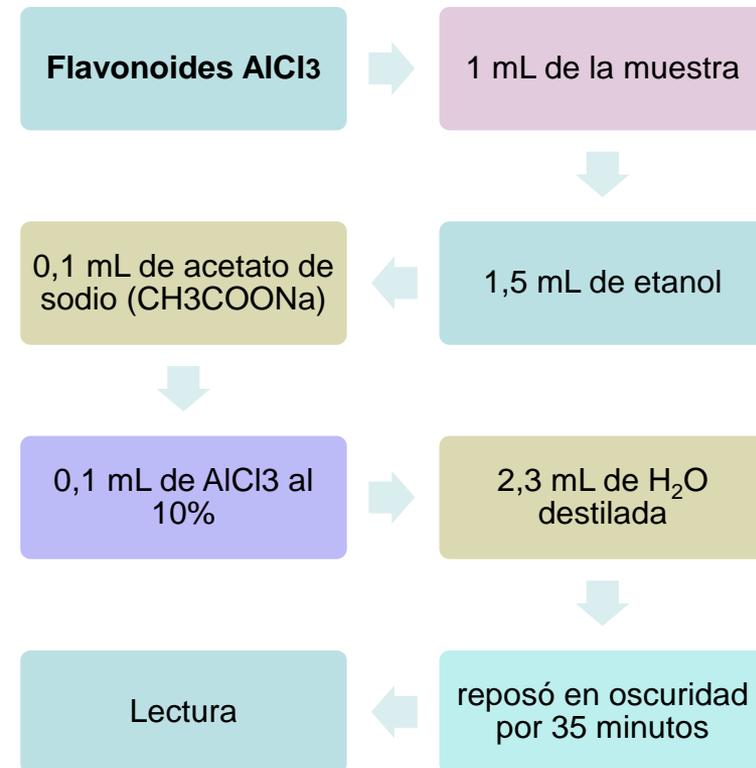


Figura 13. Reacción de Flavonoides



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



Actividad antioxidante

Tabla 1. Tabla de contingencia de promedios para determinar la Actividad Antioxidante

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

Nota: la actividad antioxidante esta en unidades de $\mu\text{molTRX/g fw}$.

DPPH

Figura 14. Variedad de café vs Métodos para determinar la actividad antioxidante

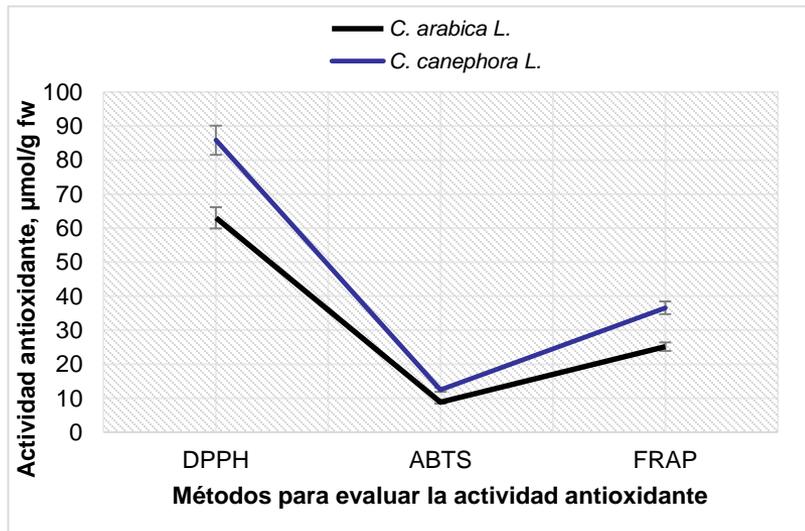
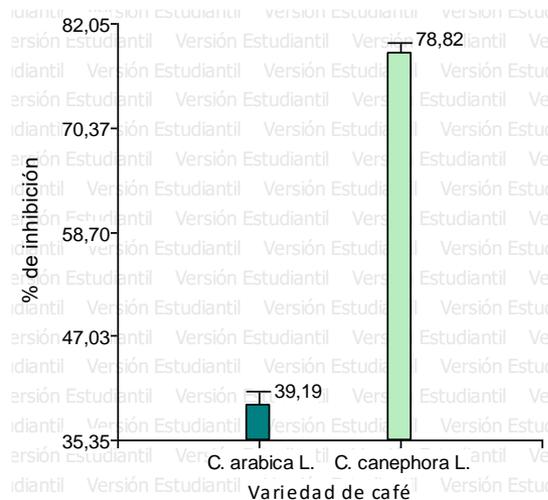


Figura 15. Variedad de café vs % de inhibición para prueba DPPH



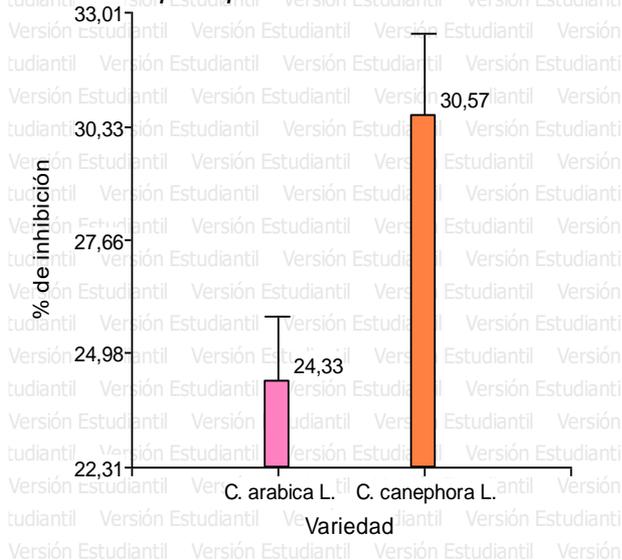
Bobková et al. (2020), analizaron el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante obteniendo para *Coffea arabica L.* $62.28 \pm 0.78\%$ y *Coffea canephora L.* $70.57 \pm 0.70\%$.

Madhava Naidu et al. (2008), analizó concentraciones de isopropanol más agua, café arábica se obtuvo del 76% al 92% de actividad antioxidante, mientras en café robusta del 78 al 88%,



ABTS

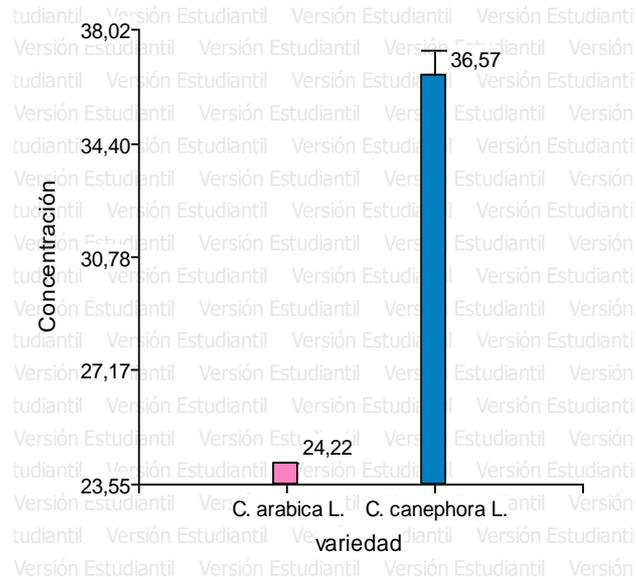
Figura 16. Variedad de café vs % de inhibición para prueba ABTS



Muñoz et al. (2020) establece que la actividad antioxidante grano verde debe encontrarse en un rango de 7,41–31,44 $\mu\text{molTRX/g fw}$, en su investigación se reportó el valor de 21,87 $\mu\text{molTRX/g fw}$.

FRAP

Figura 17. Variedad de café vs Concentración para FRAP



Muñoz et al. (2020) indica que los valores deben encontrarse entre 6,26–43,66 $\mu\text{molTRX/g fw}$, en su investigación reportó el valor de 21,04 $\mu\text{molTRX/g fw}$ en granos verdes.



Análisis estadístico

Figura 18. Test de Duncan

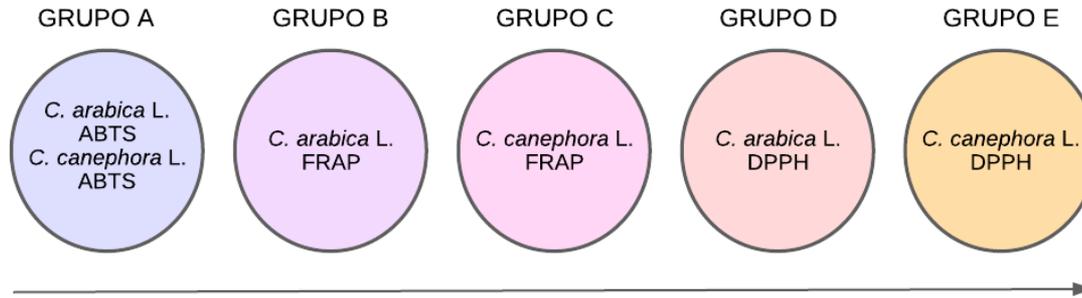


Tabla 2. Verificación de supuestos

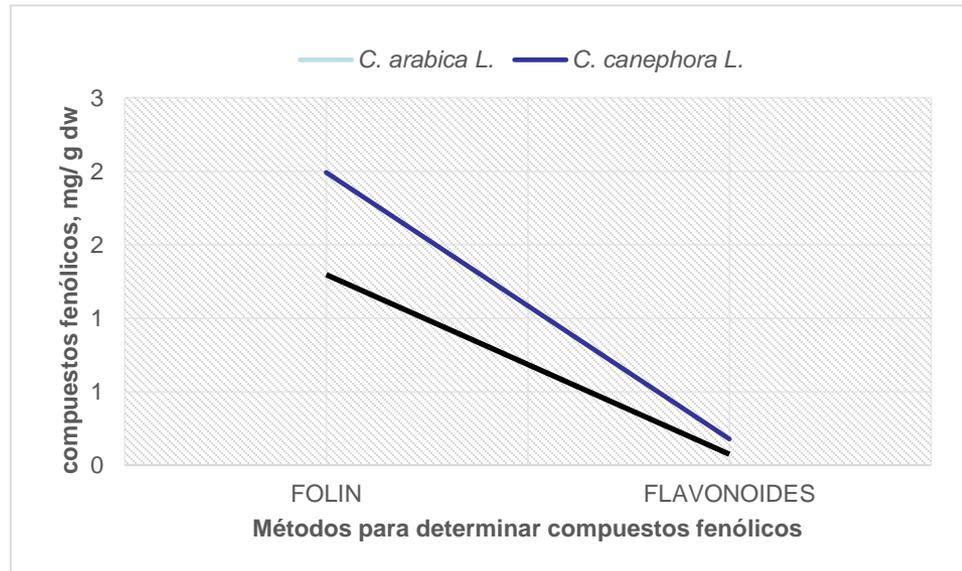
Supuesto	P valor	Condición
ANOVA	<0,0001	<0,05
NORMALIDAD	0,7728	>0,05
HOMOCEASTICIDAD	0,0633	>0,05

Tabla 3. Tabla de contingencia de promedios para determinar compuestos fenólicos

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

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

Figura 19. Variedad de café vs Métodos para determinar compuestos fenólicos



Muñoz et al. (2020), en su investigación plantea un rango de 9,90 a 35,27 mg GAE/g dw y su valor obtenido fue de 24,73 mg GAE/g dw.

Mannino et al. (2023), *Coffea canephora* obteniendo $3,88 \pm 0,22$ mg GAE/g, mientras que *Coffea arabica* tuvo $2,80 \pm 0,28$ mg GAE/g, presentando una concentración menor en un 30%. Difieren en aproximadamente un 34%.

Tripathi et al. (2019) comparó entre los solventes (agua, etanol y metanol), obteniendo $13,50 \pm 1,09$ mg QE/g; $68,70 \pm 1,68$ mg QE/g; $55,12 \pm 1,50$ mg QE/g respectivamente.



Análisis estadístico

Figura 20. Test de Duncan

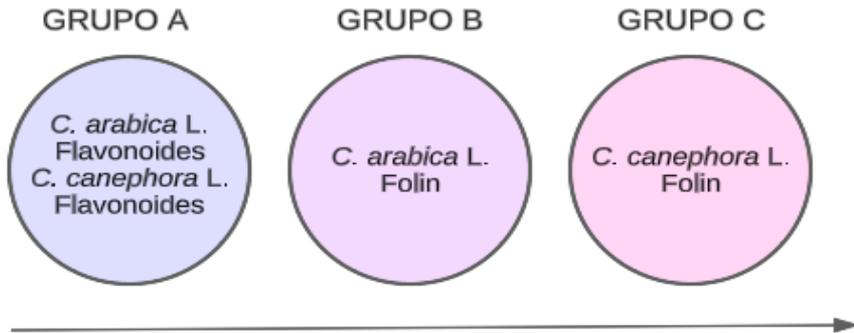


Tabla 4. Verificación de supuestos

Supuesto	P valor	Condición
ANOVA	<0,0001	<0,05
NORMALIDAD	0,1844	>0,05
HOMOEDASTICIDAD	0,0928	>0,05

Resultados y discusión

Tabla 5. Concentración de cafeína en las variedades de café

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

Gobbi et al. (2023) promedio de cafeína entre el 0,3% y 2,7%.

Clifford y Willson, (1985); café Robusta contiene 1,5-2,5% y Café Arábica menos de 1,5%.

Figura 21. Cromatograma de *Coffea arabica* L.

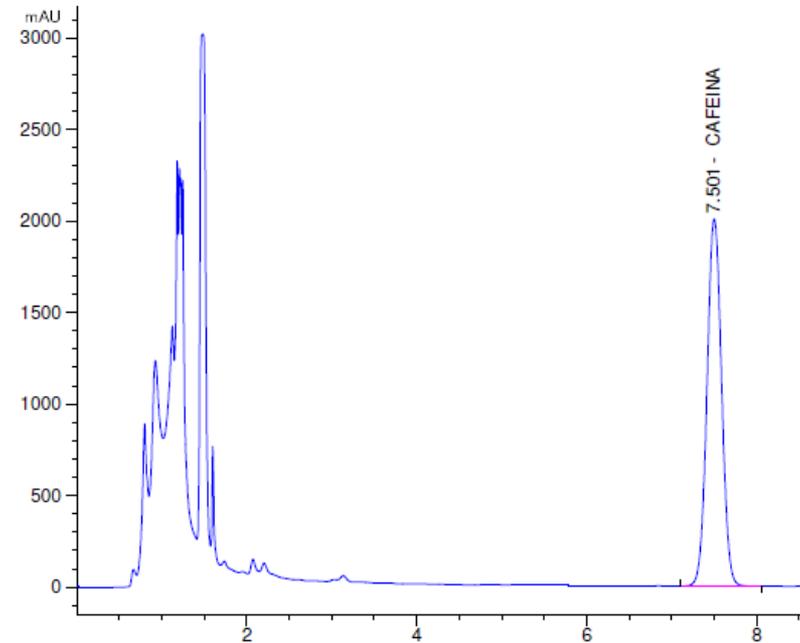
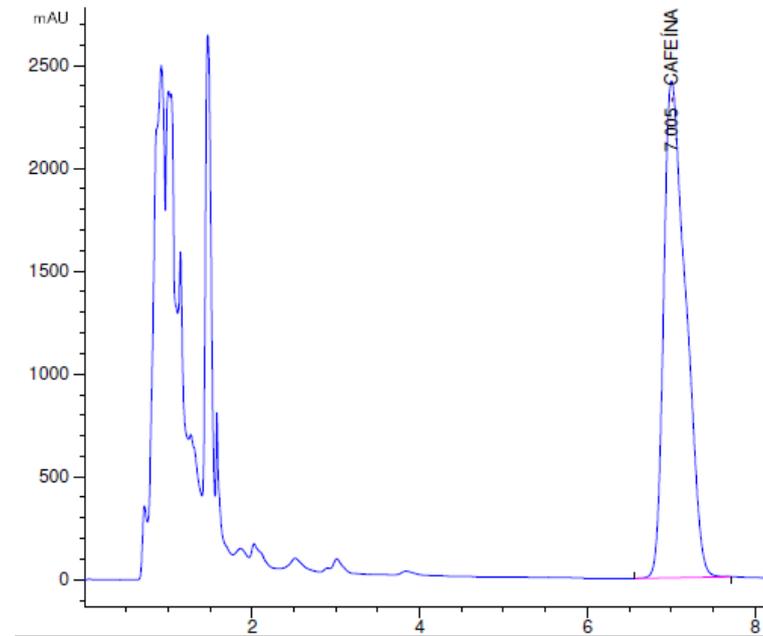


Figura 22. Cromatograma de *Coffea canephora* L.



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



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



- Introducción
- Justificación
- Objetivos e hipótesis
- Materiales y métodos
- Resultados y discusión
- Conclusiones
- Recomendaciones



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



Agradecimientos



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Raluca Alexandra Mihai, Ph. D.
Tutora del proyecto

Compañeros/as del laboratorio



Laboratorio de Biotecnología del Centro de
Investigación de Aplicaciones Militares
“CICTE – ESPE”

Familia y Amigos



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA