

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - “ESPE”
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

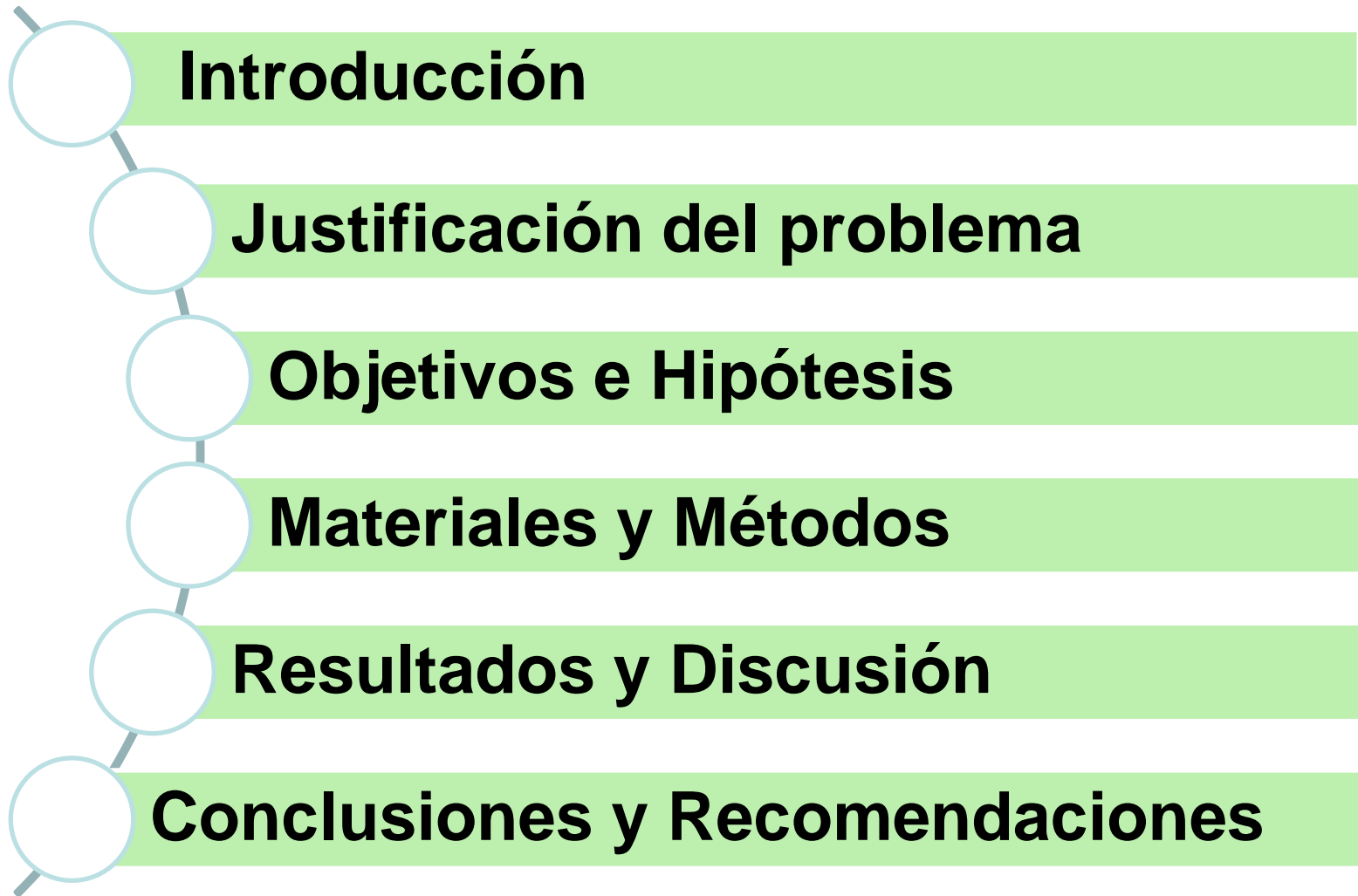
Proyecto de Integración Curricular

“Determinación del contenido fenólico y capacidad antioxidante, en plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi”

Autora: Sivizaca Flores, Nina Gabriela
Directora: Raluca Alexandra Mihai, Ph.D.

Sangolquí, 14 de marzo de 2024





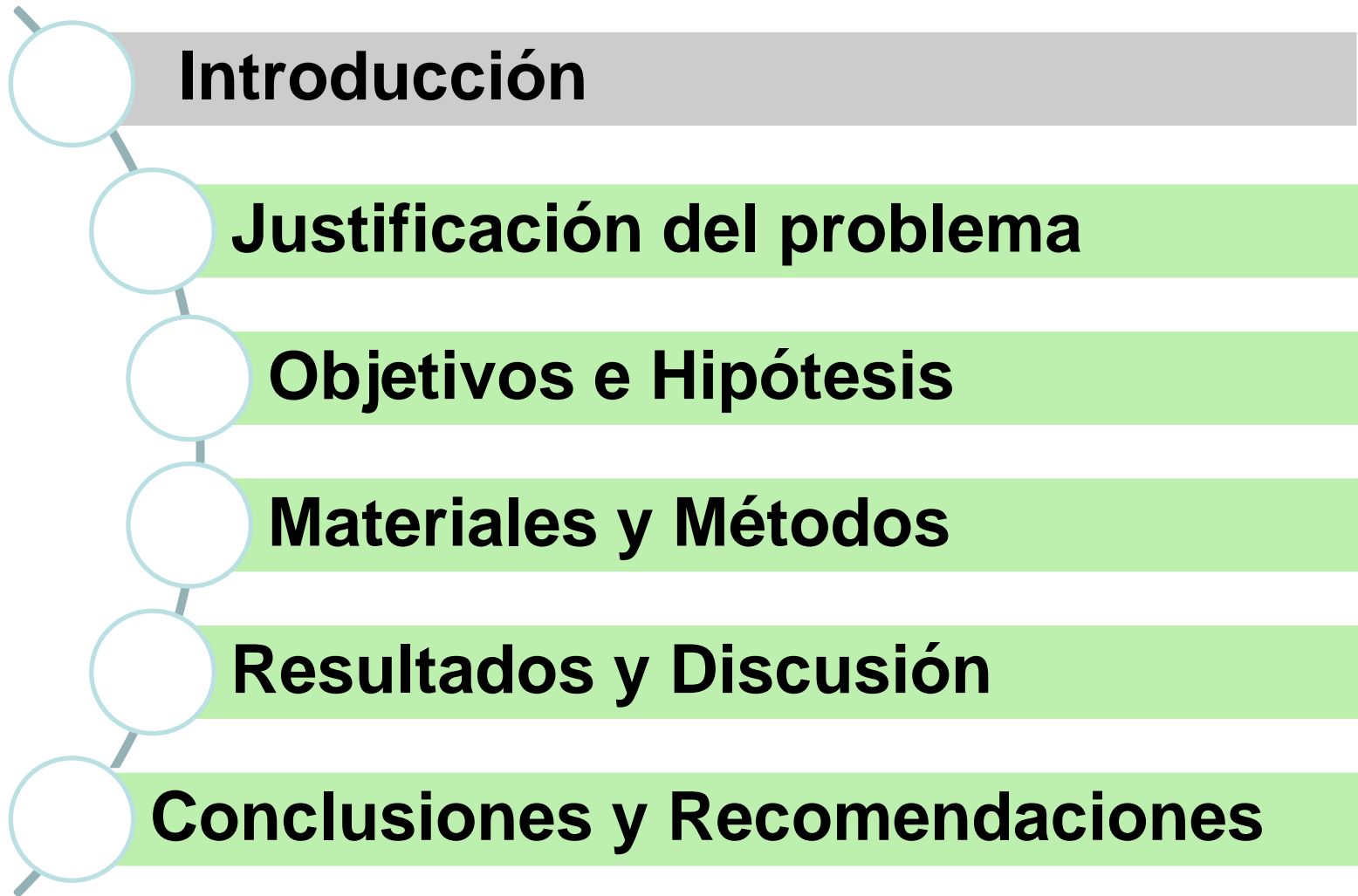




Figura 1. Semilla de frejol

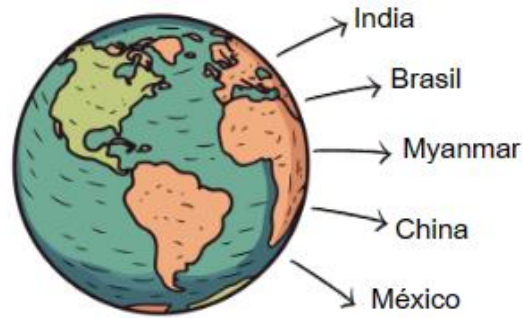


Figura 2. Zonas de producción en el mundo

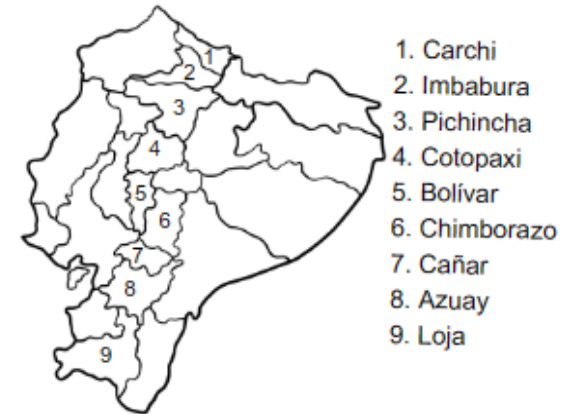


Figura 3. Zonas principales de producción en el Ecuador



Figura 4. Volcán Cotopaxi



Figura 5. Emisión de ceniza volcánica



Figura 6. Plantas expuestas a ceniza volcánica



Orden:
Fabales



Familia:
Fabaceae



Género:
Phaseolus

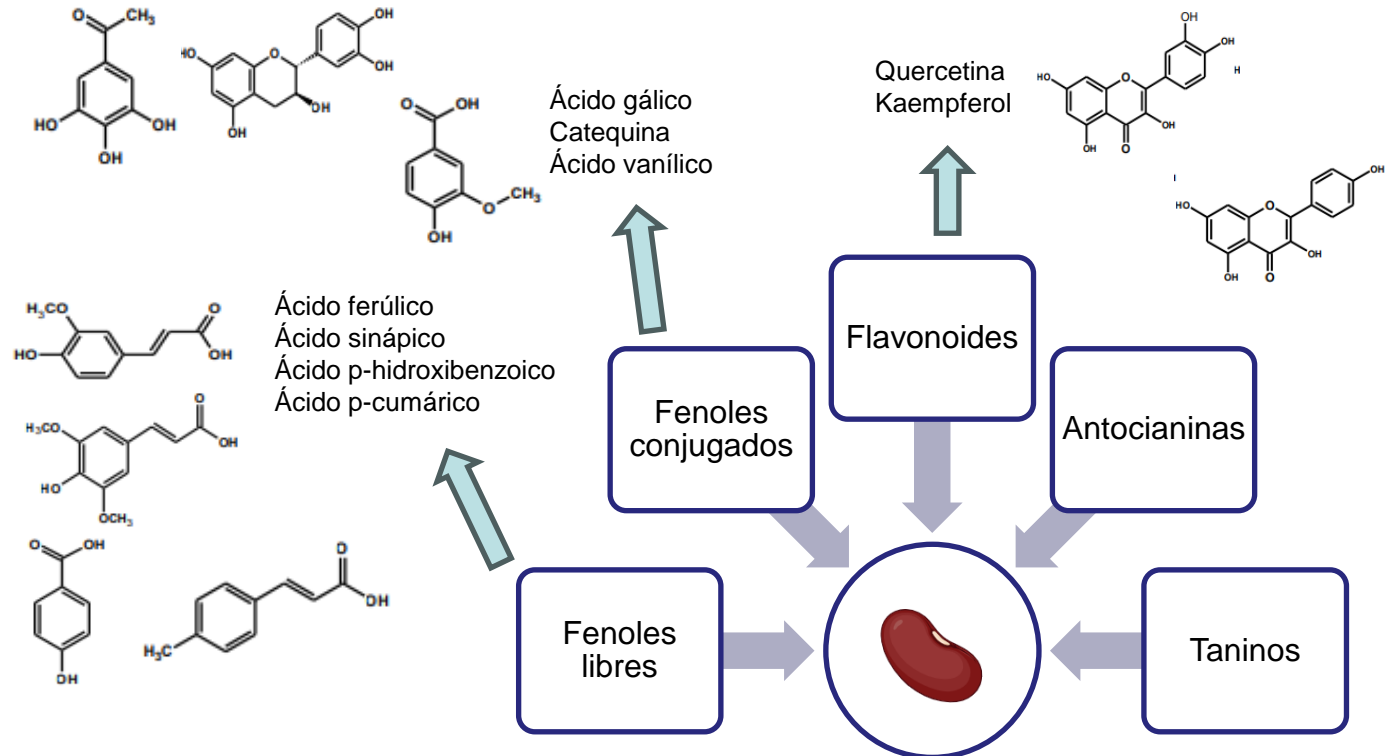


Especie:
Phaseolus vulgaris L.

Metabolitos Secundarios de la especie *Phaseolus vulgaris* L.



Figura 7. Anatomía del frejol (Capistrán, 2019).



Capacidad Antioxidante

Miden capacidad de estabilizar RL

Transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

Transferencia de un solo electrón (SET)

Miden disminución porcentual

Métodos de determinación

DPPH

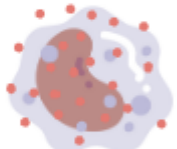
ABTS

FRAP

Célula normal



Radicales libres atacan a la célula



Células con estrés oxidativo

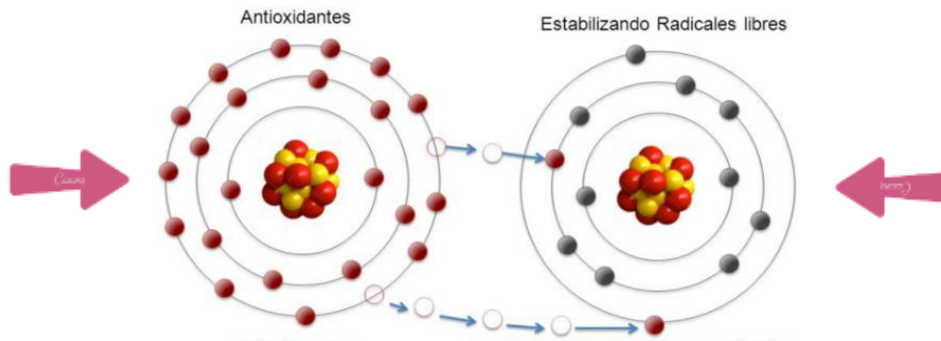
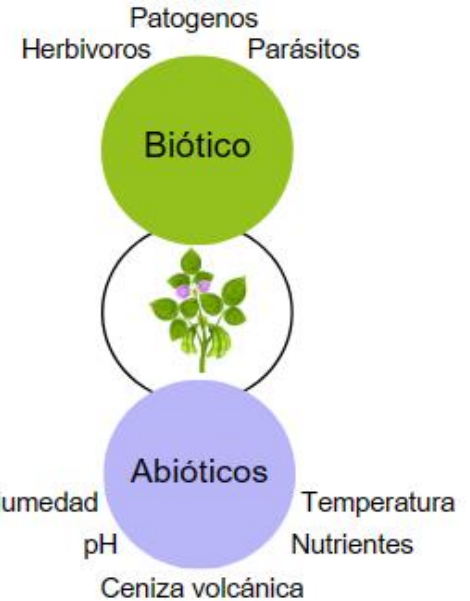
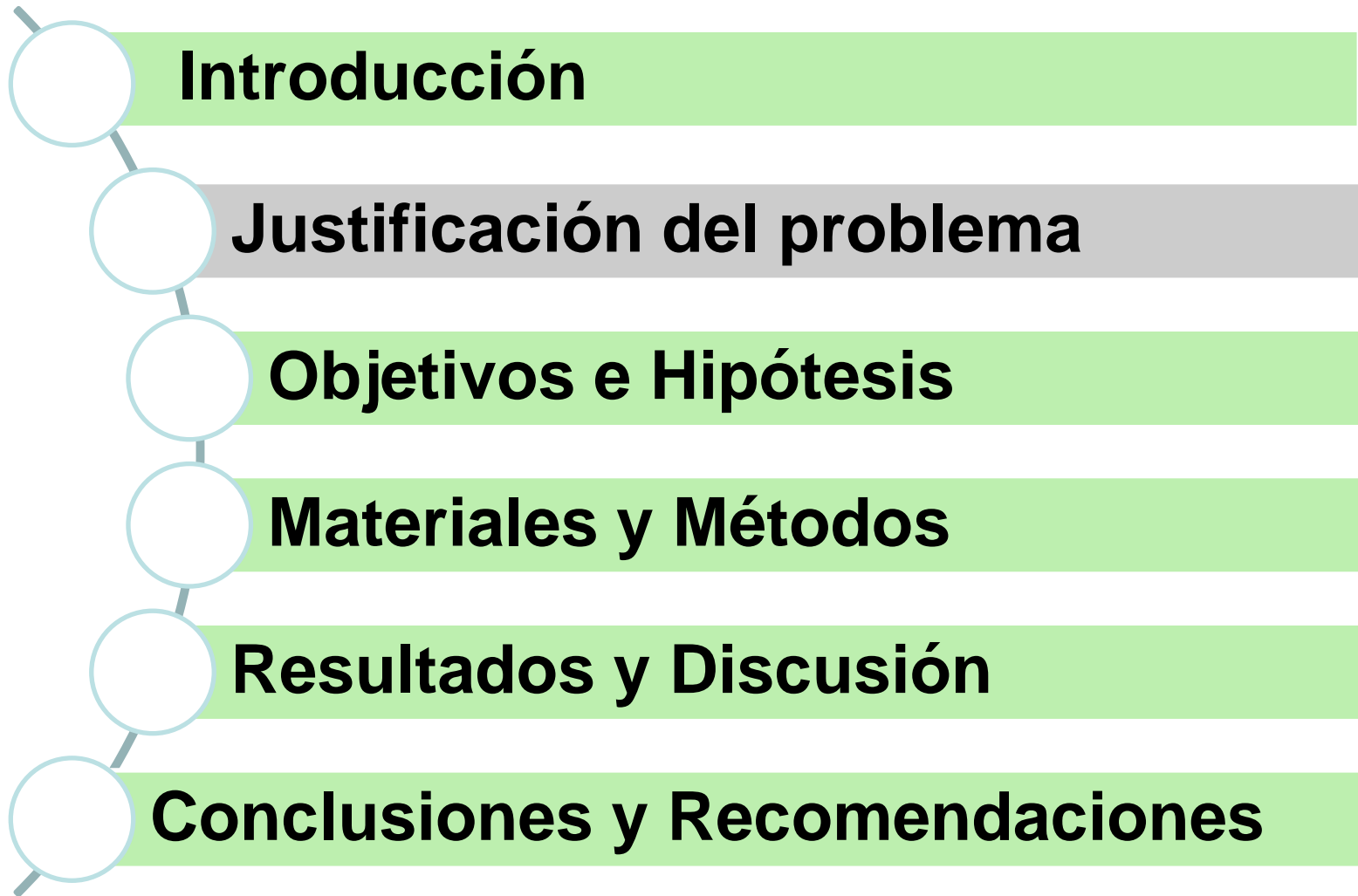


Figura 8. Reacción de antioxidante (Socías, 2015)







Área total cultivada



121 mil hectáreas



Ingreso económico de 40 a 70%



Propiedades nutritivas



Amplia distribución en los 5 continentes

Figura 9. Diferentes variedades de frejol



Figura 10. Nube de ceniza volcánica



Figura 11. Disminución de la captación de luz y CO₂

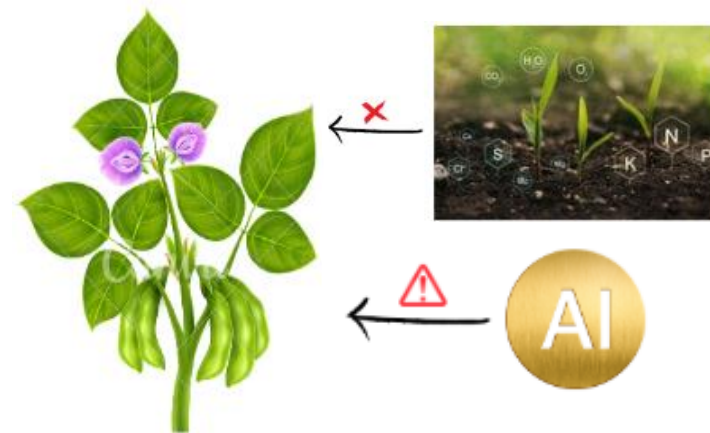
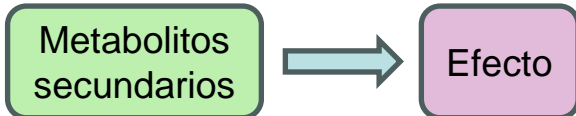
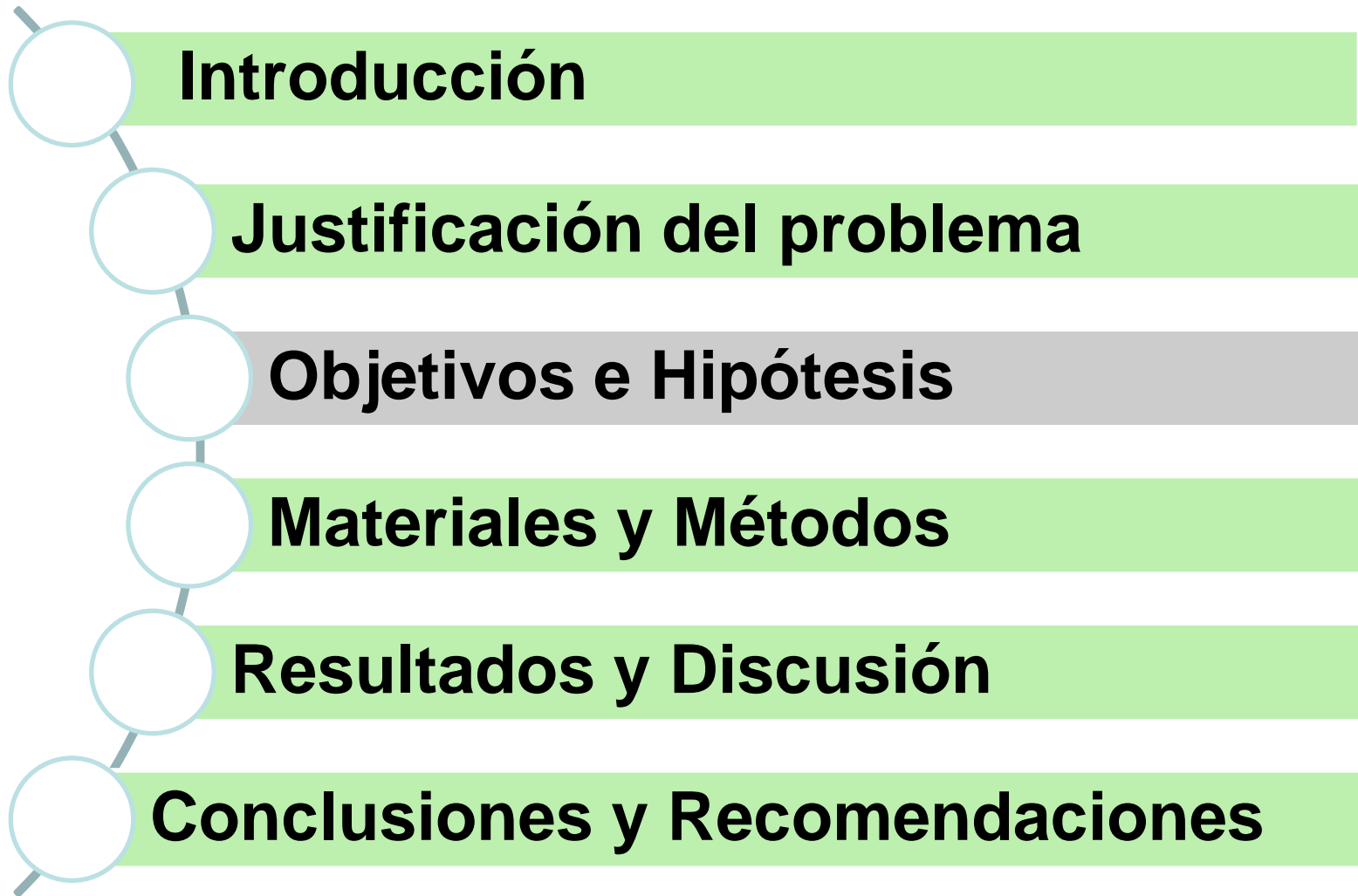


Figura 12. Efectos de la caída de ceniza volcánica





Objetivo General

Determinar el contenido fenólico y capacidad antioxidante de frutos maduros de plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi.



Objetivos específicos

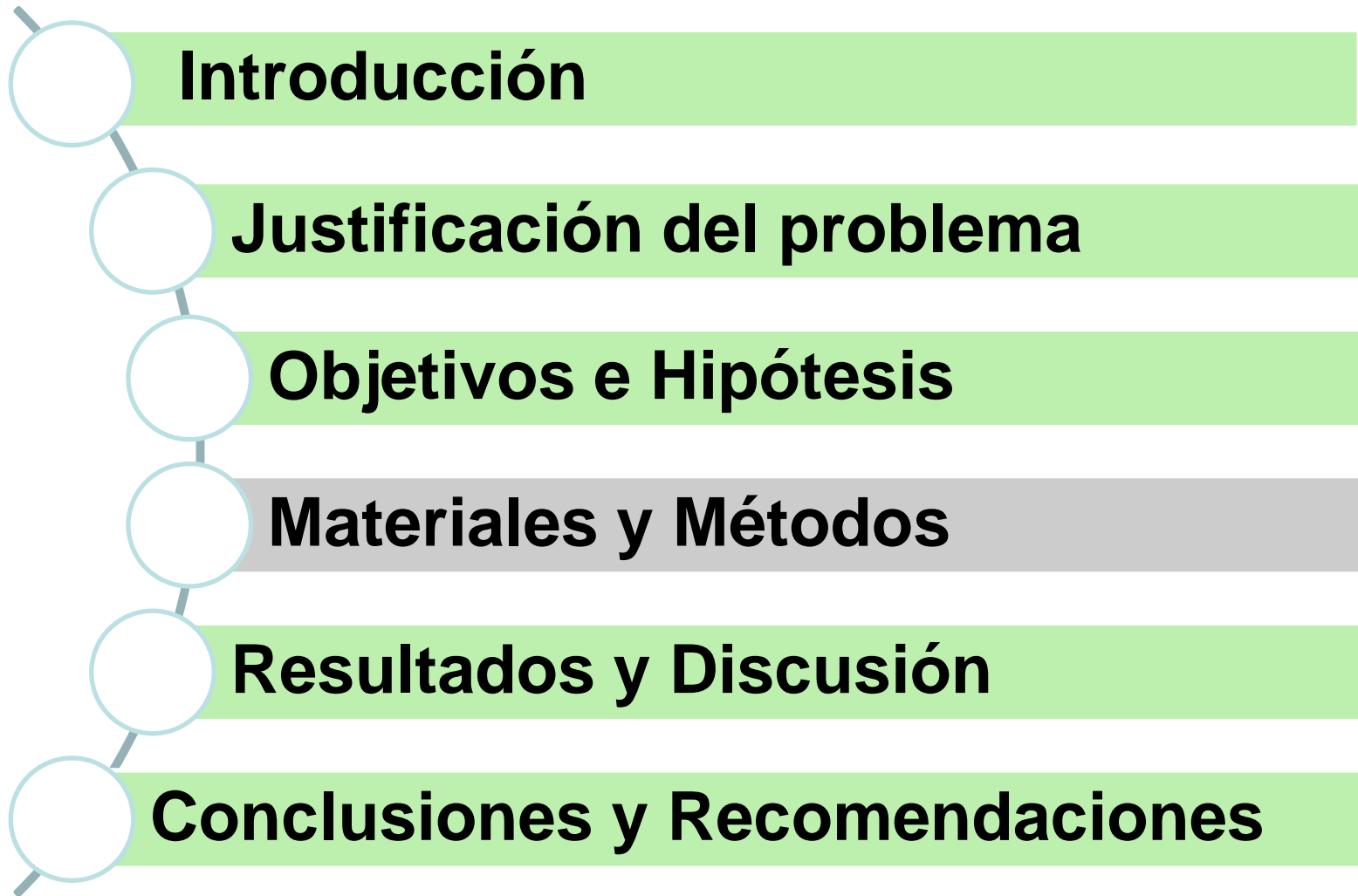
- Recolectar frutos maduros de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi para el análisis fitoquímico.
- Determinar la concentración de compuestos fenólicos presentes en *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi.
- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas por la ceniza proveniente del Volcán Cotopaxi mediante los métodos de DPPH, FRAP y ABTS.



Hipótesis

Los cultivos de plantas de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) adyacentes al Volcán Cotopaxi son perjudicados debido a la presencia de la ceniza, resultando en una alteración en la producción de contenido fenólico y su capacidad antioxidante.





Origen de las muestras

Sector:
Alaques
Altitud:
3080 msnm
Temperatura:
10 y 17°C

Sector:
Barrio Chinchil
de Robayos
Altitud:
2860 msnm
Temperatura:
15 y 20°C

Provincia: Cotopaxi
Ciudad: Latacunga

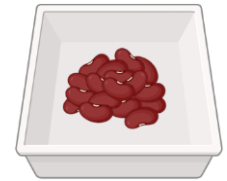


Figura 13. Lugares de procedencia de las muestras vegetales

Muestreo

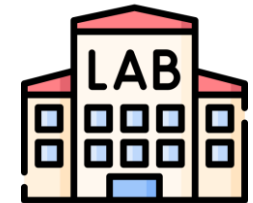
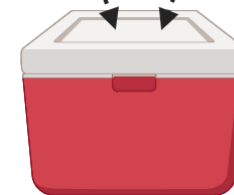
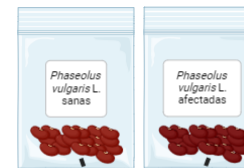


7 plantas

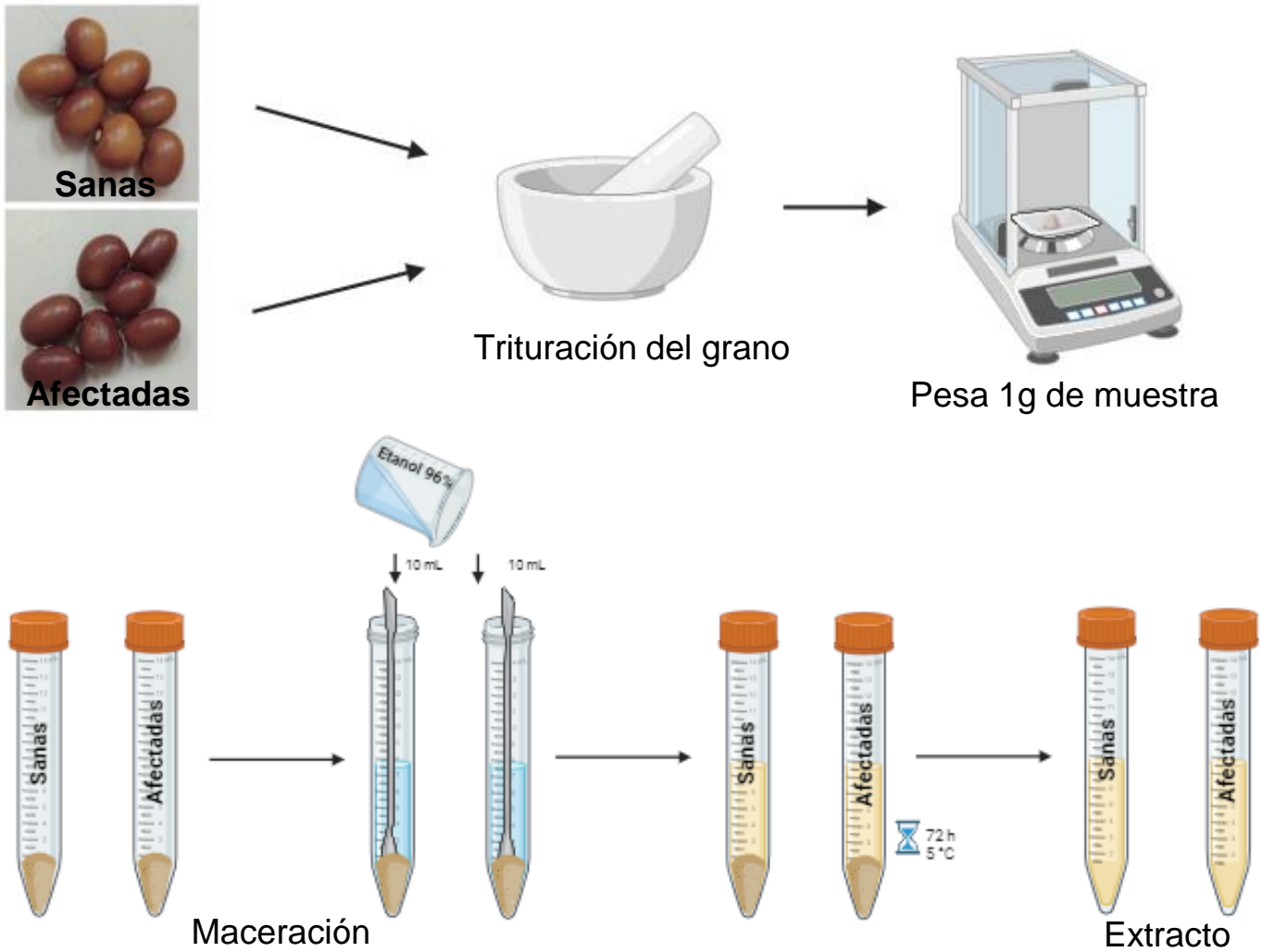


Mezcla de semillas

Sanas y afectadas

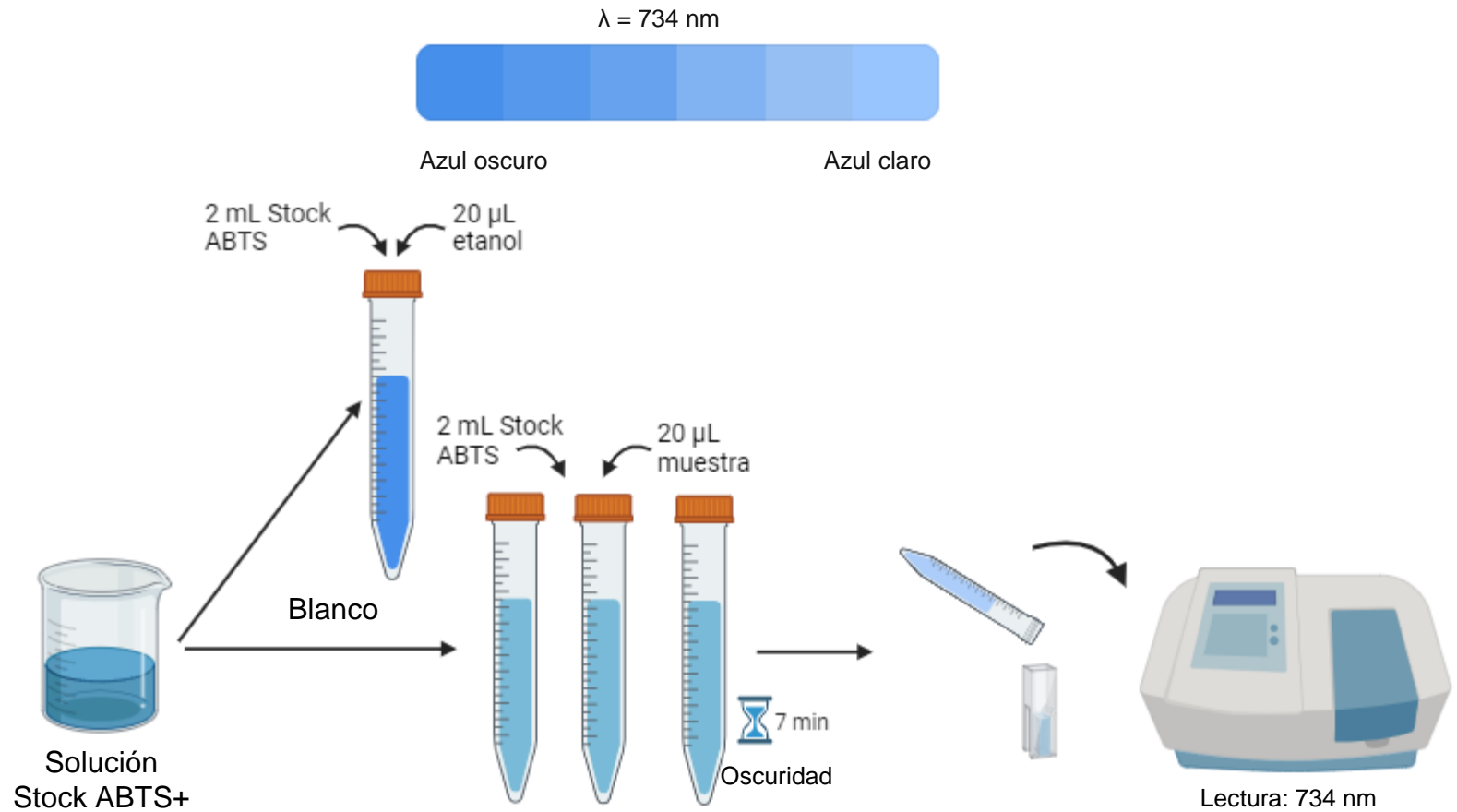


Extracción de principios activos



Determinación de la capacidad antioxidante

2,2'-azino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolin-6- sulfónico) ABTS⁺



Determinación de la capacidad antioxidante

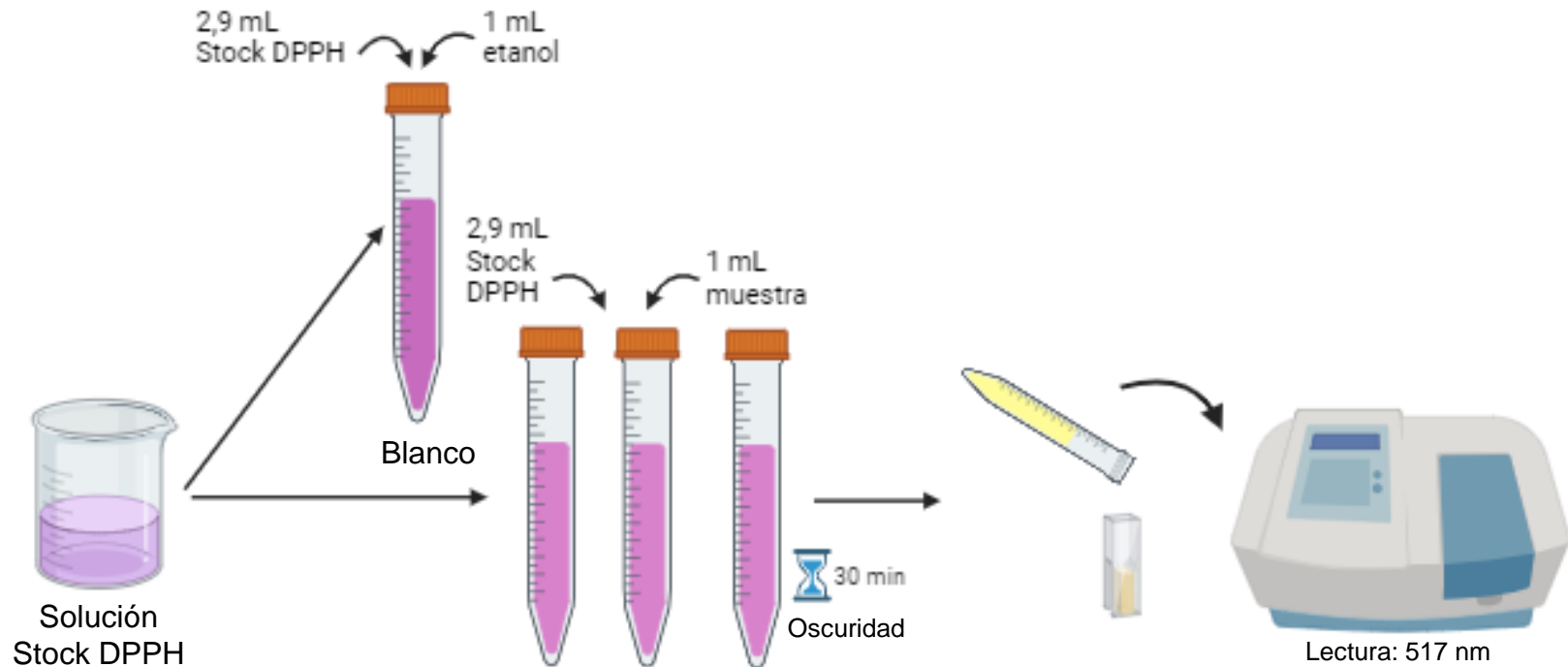
1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)

$\lambda = 517 \text{ nm}$



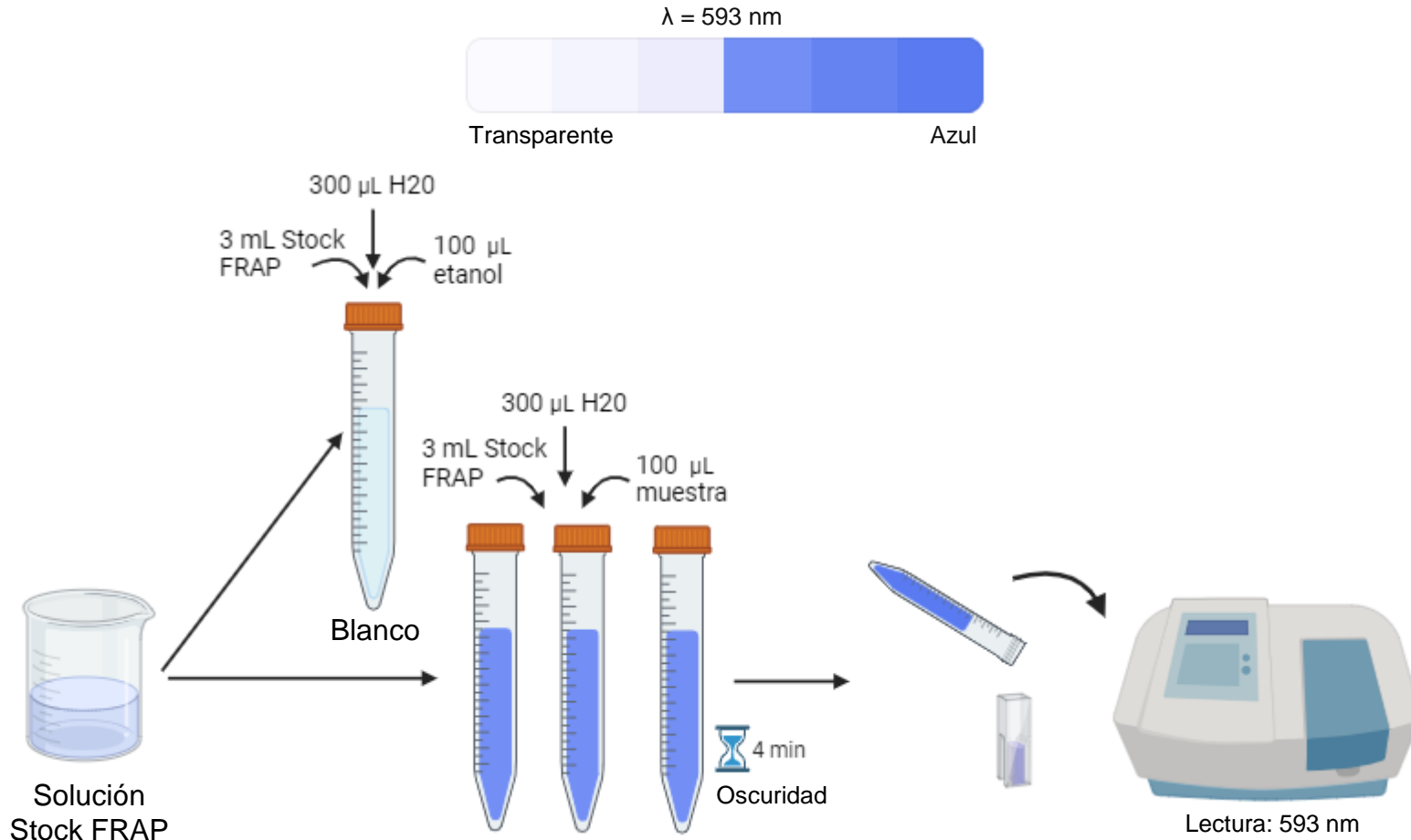
Purpura

Amarillo claro



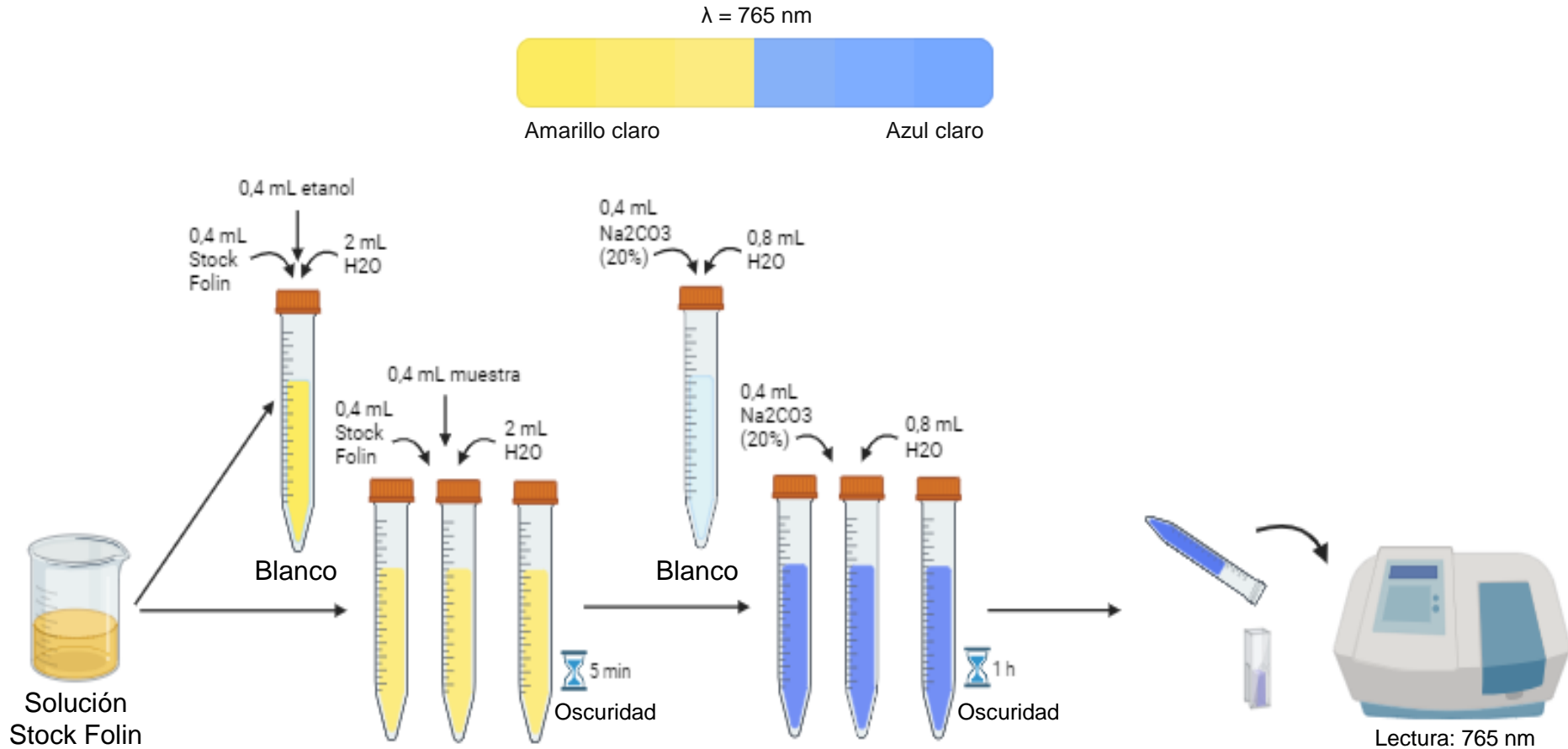
Determinación de la capacidad antioxidante

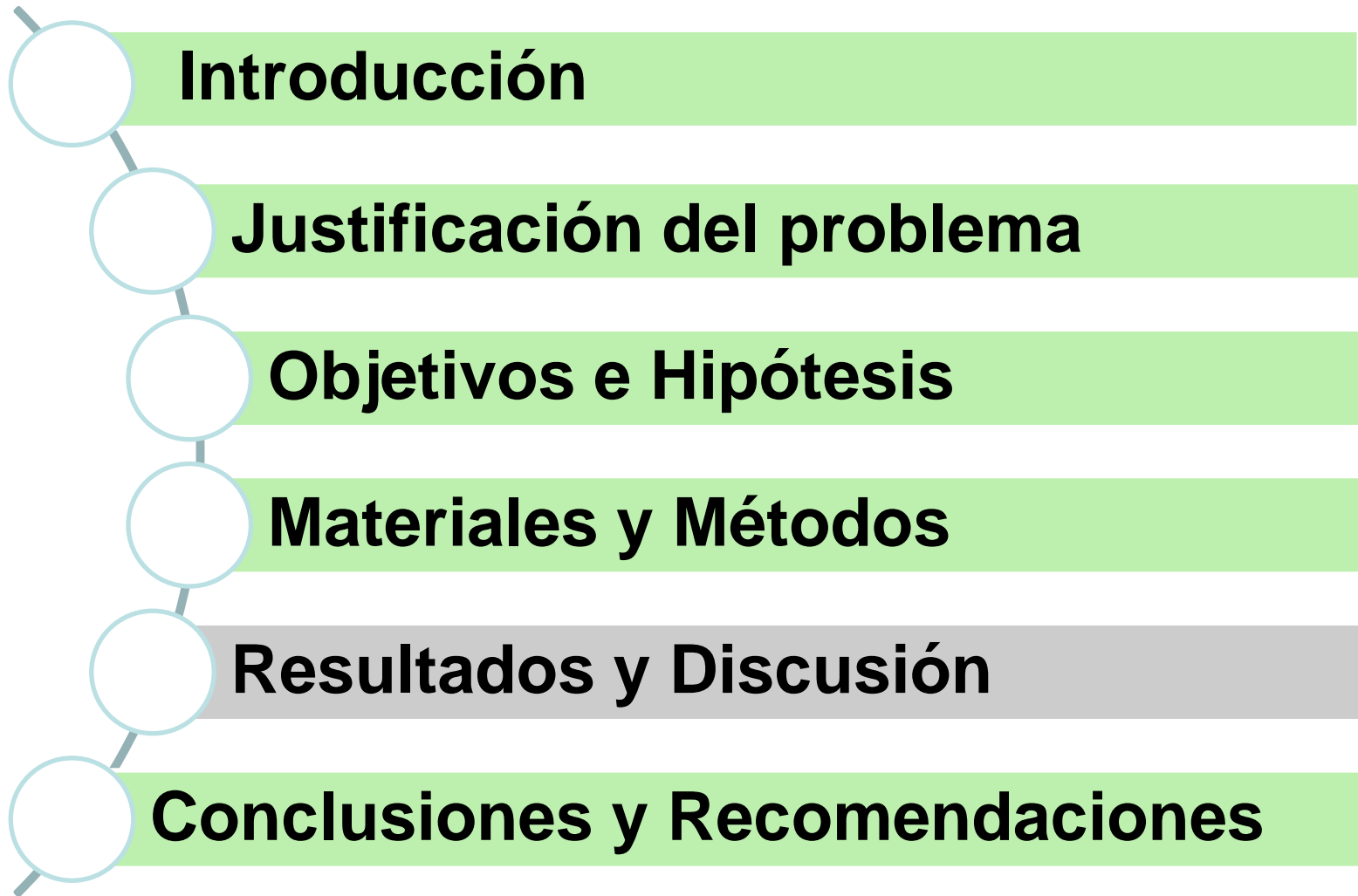
Poder Antioxidante Reductor de Iones Férricos (FRAP)



Determinación del contenido Fitoquímico

Contenido de fenoles totales (TPC)





Capacidad antioxidante - DPPH

Tabla 1. Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo DPPH

		DPPH ($\mu\text{molTRX/g fw}$)				
		R1	R2	R3	Media \pm desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	9,008	9,162	9,136	9,10 \pm 0,08	0,05
	Ausencia	5,968	5,659	6,123	5,92 \pm 0,24	0,14

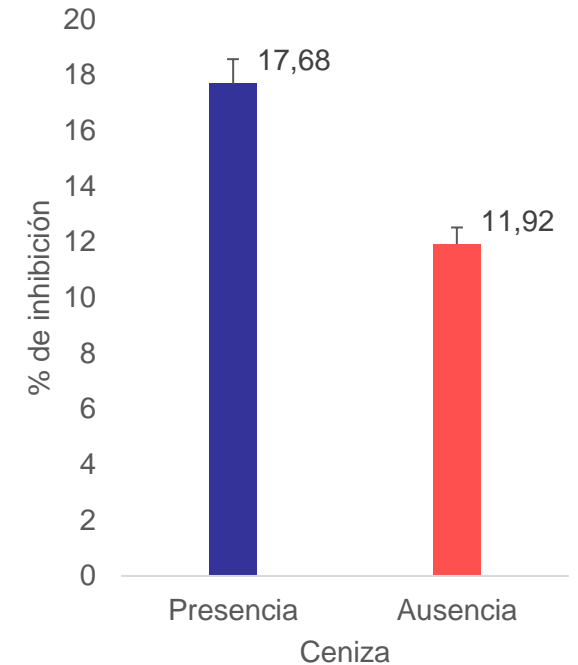
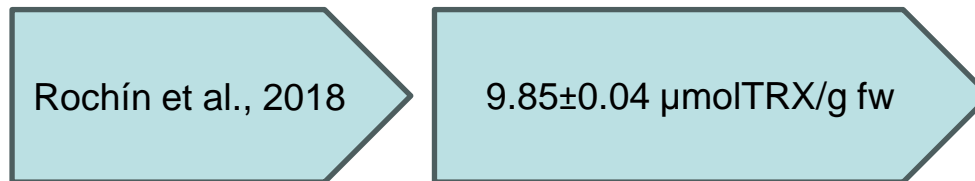
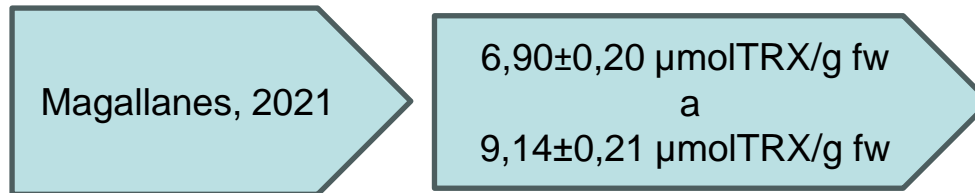


Figura 14. Porcentaje de inhibición

Capacidad antioxidante - ABTS

Tabla 2. Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo ABTS

		ABTS ($\mu\text{molTRX/g fw}$)				
		R1	R2	R3	Media \pm desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	8,002	8,324	8,514	8,28 \pm 0,26	0,15
	Ausencia	4,826	4,944	4,755	4,84 \pm 0,10	0,06

Magallanes, 2021

10,44 \pm 0,29 $\mu\text{molTRX/g fw}$
a
13,64 \pm 0,11 $\mu\text{molTRX/g fw}$

Rochín et al., 2018

5.78 \pm 0.06 $\mu\text{molTRX/g fw}$

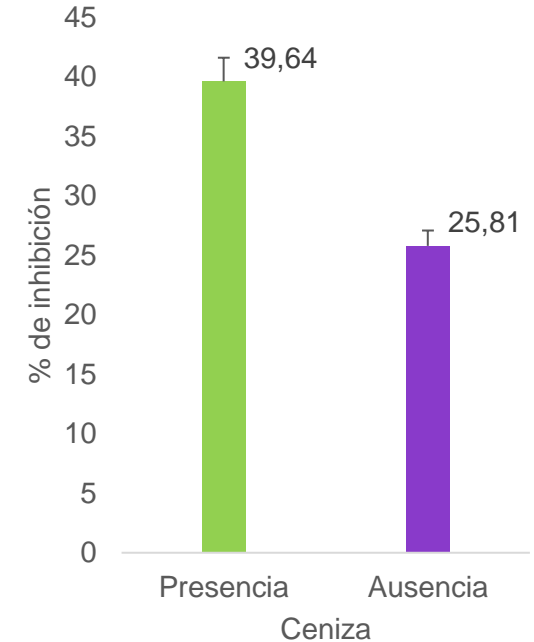
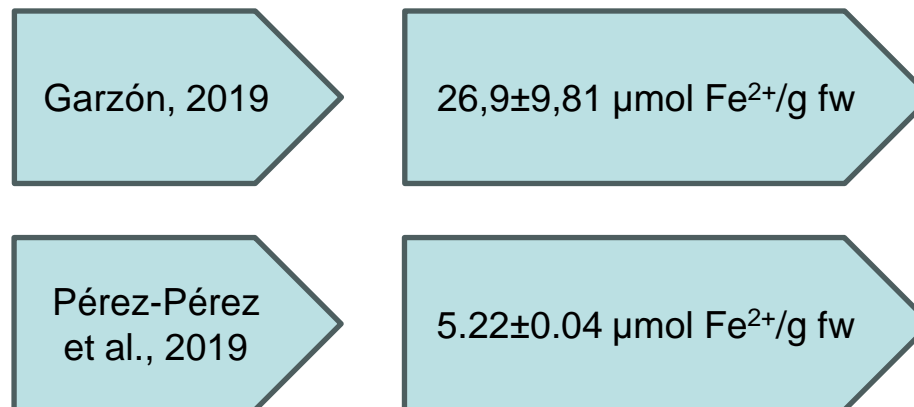


Figura 15. Porcentaje de inhibición

Capacidad antioxidante - FRAP

Tabla 3. Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo FRAP.

		FRAP ($\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g fw}$)				
		R1	R2	R3	Media \pm desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	3,704	4,094	3,420	3,74 \pm 0,34	0,20
	Ausencia	2,350	2,450	2,233	2,34 \pm 0,11	0,06



Análisis estadístico

Figura 16. Grafica de interacción métodos vs ceniza

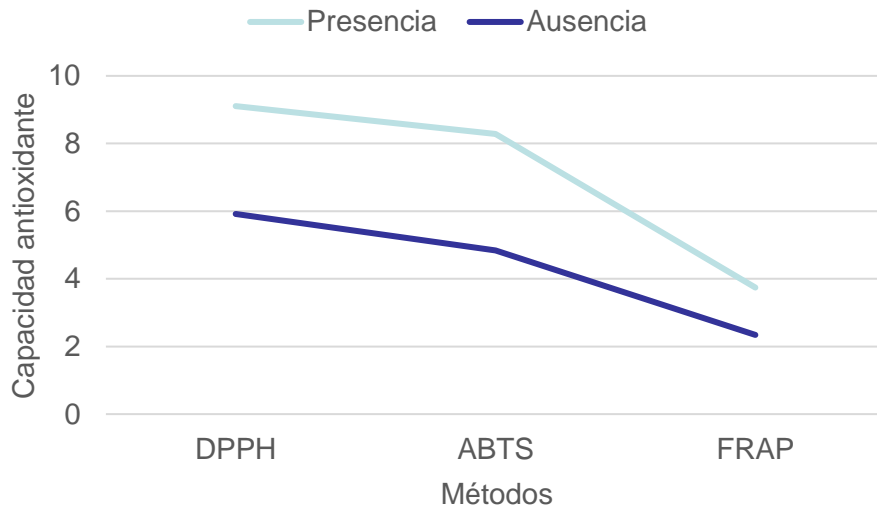


Tabla 4. Análisis estadísticos

Análisis	Pvalor Obtenido	Condición
ANOVA	>0,0001	<0,05
Normalidad (Shapiro Wilks)	0,7913	>0,05
Homocelastividad (Levene)	0,2486	>0,05

Tabla 5. Test de Duncan con un nivel de significancia del 0,05.

Ceniza	Medias	n	E.E.	
Presencia	7,04	9	0,07	A
Ausencia	4,37	9	0,07	B



Contenido Fitoquímico - Folin Ciocalteu

Tabla 6. Tabla de contingencia con la estadística descriptiva para el ensayo TPC

		TPC (mg GAE/g fw)				
		R1	R2	R3	Media ± desviación estándar	Error estándar
Ceniza	Presencia	0,936	0,968	1,015	0,97 ± 0,04	0,02
	Ausencia	0,596	0,584	0,595	0,59 ± 0,01	3,9 x 10 ⁻³

Tabla 7. Análisis estadísticos

Análisis	Pvalor Obtenido	Condición
ANOVA	>0,0001	<0,05
Normalidad (Shapiro Wilks)	0,8009	>0,05
Homocelastidad (Levene)	0,1277	>0,05

Tabla 8. Test de Duncan con un nivel de significancia del 0,05.

Método	Ceniza	Medias	n	E.E.	
TPC	Presencia	0,97	3	0,02	A
TPC	Ausencia	0,59	3	0,02	B

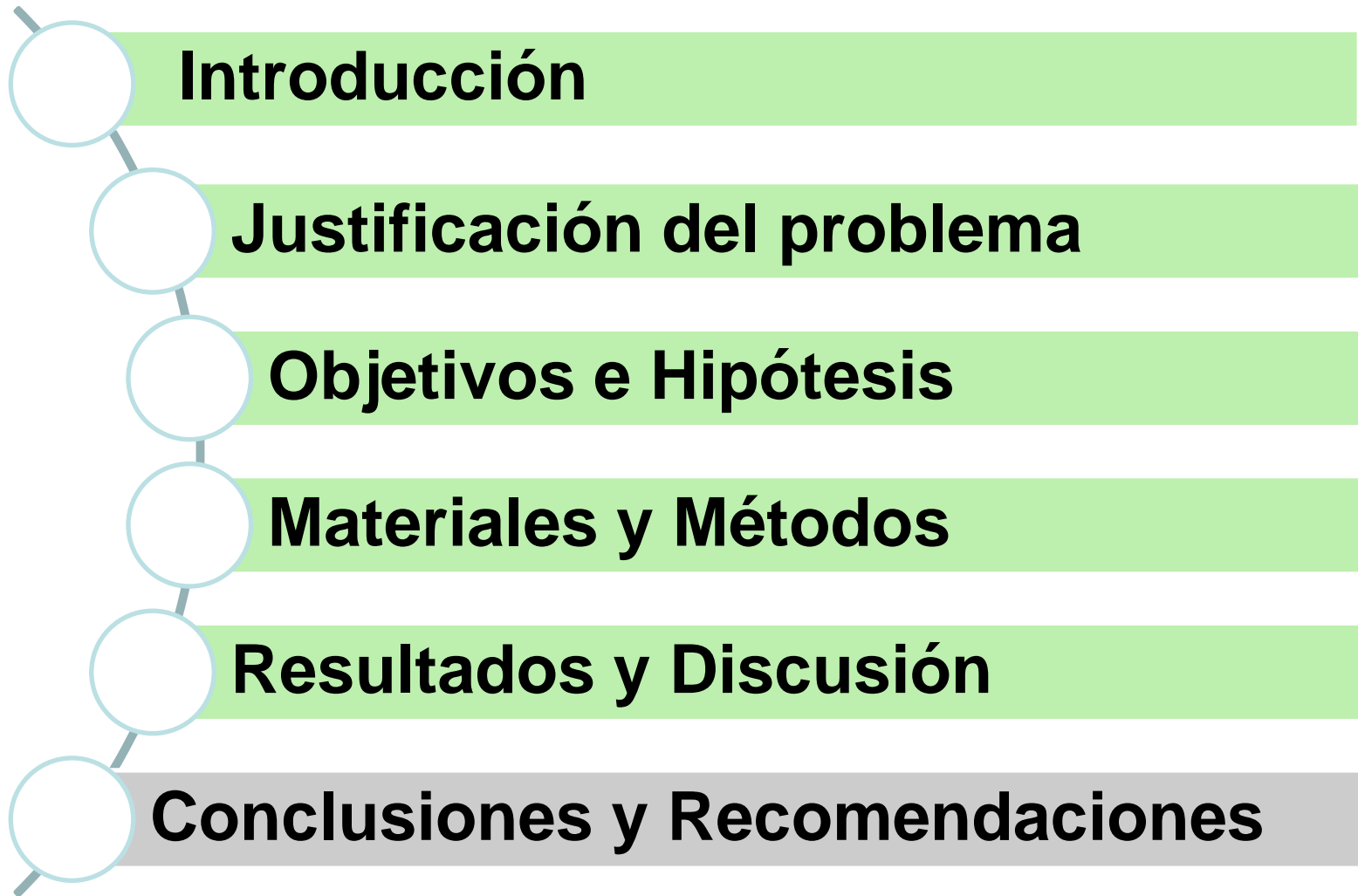
Magallanes, 2021

1,84±0,03 mg GAE/g fw
a
2,34±0,03 mg GAE/g fw

Rochín et al., 2018

0.46±0.01 mg GAE/g fw
a
0.75±0.01 mg GAE/g fw





Conclusiones

Las muestras de la planta *Phaseolus vulgaris* L. afectadas por la ceniza volcánica, presentaron un mayor contenido fenólico y capacidad antioxidante, esto se debe a que la planta utiliza los metabolitos secundarios como mecanismo de defensa frente al estrés abiótico.

El muestreo aleatorio de frutos maduros frescos de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas permitió realizar un análisis fitoquímico para la detección de antioxidantes y polifenoles. Se determinó la concentración del contenido de fenoles en muestras de la planta de *Phaseolus vulgaris* L. sanas y afectadas, siendo 0.59 ± 0.01 mg GAE/g fw y 0.97 ± 0.04 mg GAE/g fw para fenoles mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu.

Se obtuvo una mayor capacidad antioxidante en los extractos de *Phaseolus vulgaris* L. afectadas por la ceniza volcánica con una concentración de 9.10 ± 0.08 $\mu\text{mol TRX/g fw}$, 8.28 ± 0.26 $\mu\text{mol TRX/g fw}$, 3.74 ± 0.34 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g fw}$ para las pruebas DPPH, ABTS y FRAP respectivamente.

Hubo diferencias significativas en muestras de plantas de *Phaseolus vulgaris* L. afectadas en relación con las muestras sanas, por lo que se deduce que la muestra afectada tuvo un tiempo adecuado de exposición de ceniza.



Recomendaciones

Considerar la variabilidad de metabolitos secundarios que puede existir entre los diferentes estados de desarrollo de la planta como en los diferentes órganos de la planta.

Analizar los compuestos fitoquímicos y la actividad antioxidantes en diferentes temporadas de recolección.

Determinar las interferencias que se pueden presentar al momento de realizar los métodos, para reducir errores en la medición y obtener valores óptimos para la investigación.





ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



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

Raluca Alexandra Mihai, Ph.D.
Directora del proyecto

Compañeros/as del laboratorio

Familia y Amigos



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA