



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA
DIRECCIÓN GENERAL DE INSTITUTOS TECNOLÓGICOS
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE MÉRIDA

ITM

**“OBTENCIÓN DE UN MODELO PARA EL ESTUDIO DE
LA BIOSÍNTESIS Y DEGRADACIÓN DE LA CAFEÍNA”**

**OPCIÓN I
(TESIS PROFESIONAL)**

PARA OPTAR AL TÍTULO DE:
INGENIERO BIOQUÍMICO

PRESENTA:
JORGE ALBERTO RUBIO PIÑA

**MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO
2004**

ÍNDICE

DEDICATORIAS	ii
ÍNDICE	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1.....	3
ANTECEDENTES	3
1.1 EL CAFÉ.....	3
1.2 METABOLISMO SECUNDARIO	4
1.3 ALCALOIDES	6
1.4 ALCALOIDES PURÍNICOS	6
1.5 CAFEÍNA	7
1.6. BIOSÍNTESIS DE LA CAFEINA	8
1.7 DEGRADACIÓN DE CAFEÍNA	12
1.8 CULTIVO DE TEJIDO VEGETALES	14
JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS	16
OBJETIVO.....	16
OBJETIVOS PARTICULARES.....	16
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	16
CAPÍTULO 2.....	18

MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.1 MATERIAL BIOLÓGICO.....	18
2.2 REACTIVOS.....	19
2.3 PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO.....	19
2.4 INDUCCIÓN DE LAS SUSPENSIONES CELULARES.....	21
2.5 MANTENIMIENTO DE LAS SUSPENSIONES CELULARES	22
2.6 CICLO DE CULTIVO DE LAS SUSPENSIONES CELULARES	23
2.7 CUANTIFICACIÓN DE LA VIABILIDAD EN SUSPENSIONES CELULARES UTILIZANDO LA TÉCNICA DE AZUL DE EVANS	24
2.8 EXTRACCIÓN DE CAFEÍNA DEL TEJIDO (hojas o células).....	25
2.10 DESARROLLO DE LA CROMATOGRAFÍA	26
2.11 CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA POR DENSITOMETRÍA.....	27
CAPÍTULO 3.....	30
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
3.1 DETERMINACIÓN DE LOS ALCALOIDES PURÍNICOS POR DENSITOMETRÍA EN CAPA FINA	30
3.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS LÍNEAS CELULARES.....	31
3.3 COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO ENTRE AMBAS LÍNEAS CELULARES (<i>C. arabica</i> Y <i>C. canephora</i>).....	35
3.4 CURSO TEMPORAL DEL CONTENIDO DE CAFEÍNA EN LAS SUSPENSIONES CELULARES DE <i>C. arábica</i> Y <i>C. canephora</i>	38
3.5 EFECTO DE LA LUZ SOBRE EL CONTENIDO DE CAFEÍNA EN SUSPENSIONES CELULARES DE <i>C. arabica</i>	42
3.6 EFECTO DEL AYUNO DE FOSFATOS SOBRE LA ACUMULACIÓN DE CAFEÍNA EN CTV.....	44
CAPÍTULO 4.....	50

CONCLUSIONES	50
BIBLIOGRAFÍA	51

RESUMEN

La biosíntesis de cafeína es un proceso simple en apariencia, complejo en la práctica. Los resultados obtenidos para la caracterización de todo el proceso se han obtenido de forma muy lenta, particularmente porque no se dispone de un modelo para su estudio. Hasta ahora la planta de té (*Camellia sinensis*) ha sido la más estudiada con el fin de elucidar esta importante ruta de biosíntesis. Con el fin de determinar la posibilidad de establecer un modelo para el estudio de la biosíntesis de la cafeína se establecieron diferentes líneas de cultivo de tejidos de dos especies del género *Coffea: arabica* y *canephora*. Estas diferentes líneas son capaces de crecer a diferentes velocidades y de acumular una gran cantidad de biomasa, tanto cuando son cultivadas en la luz como cuando son cultivadas en la oscuridad.

Los cultivos celulares establecidos en esta investigación son capaces de producir cafeína en la luz, y pueden ser inducidos a producir más alcaloides purínicos mediante el ayuno de fosfatos. También se pudo concluir que estos cultivos no acumulan cafeína cuando son cultivados en la oscuridad.

En suma, se puede decir sin lugar a dudas que se obtuvo un modelo para el estudio de la biosíntesis de la cafeína.