

ANÁLISIS DE LÍPIDOS Y ÁCIDOS GRASOS EN CAFÉ VERDE DE LÍNEAS AVANZADAS DE *Coffea arabica* CULTIVADAS EN COLOMBIA

Diana Villarreal-Peña*; Lina María Baena-Clavijo*; Huver Elías Posada-Suárez*

RESUMEN

VILLARREAL P., D.; BAENA C., L.M.; POSADA S., H. E. Análisis de lípidos y ácidos grasos en café verde de líneas avanzadas de *Coffea arabica* cultivadas en Colombia. *Cenicafé* 63 (1): 19-40. 2012

El objetivo de este estudio fue analizar la composición lipídica en muestras de café verde de diferentes genotipos de café *Coffea arabica*, con el fin de determinar el efecto del genotipo y de algunas variables climáticas sobre el contenido en lípidos y en ácidos grasos totales. Muestras provenientes de 11 líneas avanzadas derivadas del cruce entre *C. arabica* var. Caturra y el Híbrido de Timor, fueron cosechadas en cinco localidades de la región cafetera colombiana (Naranjal, Paraguaicito, El Rosario, El Tambo y Pueblo Bello), durante el año 2006. Se analizó el contenido en lípidos totales por gravimetría y la composición en ácidos grasos totales mediante cromatografía en fase gaseosa. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre genotipos y entre localidades con respecto al contenido lipídico total, a los ácidos grasos mayoritarios (Linoleico, palmítico, oleico, esteárico, araquídico, linoléico y behénico) así como a diferentes variables lipídicas. Al correlacionar los factores climáticos y las variables lipídicas, se encontró un efecto significativo de la temperatura sobre la composición en ácidos grasos mayoritarios. Los análisis de componentes principales y factorial discriminante permitieron separar las localidades y los genotipos, con base en su composición en ácidos grasos mayoritarios. Los resultados se discuten respecto a su interés potencial en estudios de discriminación quimiométrica de muestras de café y su uso inmediato en la diferenciación del café de Colombia por su origen geográfico.

Palabras clave: Líneas introgresadas, interacción genotipo x localidad, composición lipídica, temperatura, diferenciación, origen geográfico.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the lipid composition in green coffee samples of different *Coffea arabica* coffee genotypes in order to determine the effect of the genotype and of some climatic variables on the lipids content and total fatty acids. Samples from 11 advanced lines derived from a cross between *C. arabica* var. Caturra and Timor Hybrid were harvested at five locations in the Colombian coffee region (Naranjal, Paraguaicito, El Rosario, El Tambo and Pueblo Bello), in 2006. The total lipid content and the total fatty acid composition were determined by gravimetry and by gas chromatography, respectively. The results showed significant differences ($p < 0,0001$) among genotypes and among locations regarding the total lipid content, the major fatty acids (linoleic, palmitic, oleic, stearic, arachidic, linolenic and behenic) as well as different lipid variables. By correlating climatic factors and lipid variables, a significant effect of temperature on the major fatty acids composition was found. The analyses of the principal components and discriminant factorial allowed separating locations and genotypes, based on their composition, into major fatty acids. The results are discussed with respect to their potential interest in chemometric discrimination studies of coffee samples and their immediate use in differentiating Colombian Coffee by its geographical origin.

Keywords: Introgressed lines, genotype x location interaction, lipid composition, temperature, differentiation, geographical origin.

* Investigador Científico I (hasta Diciembre de 2011), Investigador Asociado (hasta Diciembre de 2008) e Investigador Científico III, respectivamente, Disciplina de Mejoramiento Genético. Centro Nacional de Investigaciones de Café-Cenicafé. Manizales, Caldas, Colombia.

La calidad del café es un aspecto muy complejo que depende de numerosos factores entre los que se encuentran: El origen genético (especie o variedad), las condiciones pedo-ecológicas inherentes al cultivo, su manejo agronómico, la recolección de los frutos, su beneficio y todos los demás procesos propios de la cadena final de producción (34).

La composición química del grano de café está determinada no solamente por el componente genético, sino por la interacción entre éste y el medio ambiente en el cual se desarrolla el grano, es decir, de la zona geográfica donde el café es cultivado (31, 34, 46).

Desde hace tiempo ha existido un interés creciente por determinar el origen del café, a partir del conocimiento de sus características químicas y organolépticas. El análisis de los compuestos químicos relacionados directa o indirectamente con la calidad del café, ha sido uno de los métodos más utilizados para verificar la autenticidad del mismo, pero también para discriminar la calidad en taza producida por las dos principales especies, *Coffea arabica* y *C. canephora*, esta última también denominada Robusta (38, 45). Es así como tanto los café Arábicas como los cafés Robustas han podido ser caracterizados con respecto al contenido de minerales (35, 37), sustancias volátiles (17), ácidos clorogénicos (22, 36), aminoácidos (10) y cafeína (9, 31). La fracción lipídica, incluyendo los ácidos grasos (38, 41, 45), esteroides (8, 54), diterpenos (30, 49, 50), tocoferoles y triglicéridos (21), igualmente ha servido como un factor discriminante de la calidad. Los análisis químicos también han sido usados para estudiar el origen geográfico del café. Para ello se cuantifican las fracciones de elementos minerales (1), así como de otros compuestos de importancia mayor para la calidad como son: Lípidos, proteínas, sacarosa,

cafeína, trigonelina, ácidos clorogénicos y ácidos orgánicos. Estos análisis se realizan utilizando técnicas como el NIRS (por *near infrared spectroscopy*), la cual está basada en métodos espectroscópicos (3, 25).

Dentro de todos los compuestos determinantes de la calidad, los lípidos y los ácidos grasos constituyen dos grupos de mayor relevancia. Actualmente se sabe que los lípidos tienen un efecto benéfico sobre el aroma y el sabor de la bebida de café, ya que durante la tostión éstos se concentran en las áreas externas del grano, protegiéndolo de las posibles pérdidas de otros compuestos durante el proceso (43). Es así como los cafés de alta acidez y buena calidad generalmente presentan mayores contenidos de lípidos en el grano (16). Tanto *C. arabica* como *C. canephora*, contienen entre el 7% y el 17% de lípidos totales en sus granos. Los valores reportados en la literatura varían entre 10,5% y 17,7% para el café Arábica y entre 8% y 10% para los Robustas (32, 33, 39, 49). La mayoría de los lípidos, se encuentran en el endospermo de los granos de café verde (62) y sólo una pequeña cantidad se encuentra en la capa externa del grano en forma de cera. Según Folstar (20), la cantidad absoluta de lípidos del grano no se ve afectada por la tostión, mientras que puede aumentar significativamente debido a la pérdida de humedad relativa en éste.

Factores como la especie, las condiciones de cultivo, el método de extracción e incluso el método utilizado para su cuantificación, pueden afectar los valores del contenido total de lípidos. Algunos estudios sugieren que las mayores acumulaciones de lípidos se presentan en cafés de altura o cultivados bajo sombra (2, 4, 16, 23). En tales condiciones, el período de maduración del fruto tiende a ser más prolongado debido a las bajas temperaturas, lo que favorece un mayor desarrollo y llenado

del grano, y en consecuencia, una mayor acumulación de compuestos precursores del aroma (53).

La composición en ácidos grasos presentes en la fracción lipídica del grano de café también ha sido objeto de varias investigaciones (13, 18, 20, 32, 48, 49). Se sabe que una gran porción de estos compuestos se encuentran combinados, una fracción no despreciable está esterificada con el glicerol en los triglicéridos, un 20% están esterificados con los diterpenos (cafestol y kahweol) y sólo un 2% se encuentra como ésteres de esterol. La fracción insaponificable es rica en diterpenos de la familia Kaurano, principalmente Cafestol, Kahweol y 16-O-Metilcafestol, los cuales reciben cada vez más atención debido a sus distintos efectos fisiológicos y a su efecto en la salud humana (7, 11, 12, 40, 52). El 16-O-Metilcafestol ha sido utilizado como un indicador fiable para determinar la presencia de café Robusta en mezclas de café (42, 50). Entre los diferentes esteroides presentes en la porción insaponificable, se han identificado compuestos como los desmetil- metil- y dimetil-esteroides (8).

A pesar del número importante de trabajos desarrollados en este tema, son pocos los reportes en los cuales se ha abordado la relación entre el contenido de lípidos y ácidos grasos con factores externos como la temperatura, la humedad, el brillo solar, o el origen genético del material cultivado (5, 29, 60). Por consiguiente, el objetivo del presente estudio fue investigar la posible influencia que tienen tanto el genotipo como algunas variables climáticas sobre el contenido de lípidos totales y ácidos grasos presentes en granos de café verde de diferentes genotipos de la especie *C. arabica*. Los resultados se discuten a la luz de su interés potencial en estudios de discriminación quimiométrica de muestras de café y su posible utilización

para analizar el origen y diferenciación del café de Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se analizaron granos de café verde provenientes de 11 líneas avanzadas (F5) de *C. arabica*, derivadas del programa de mejoramiento genético de Cenicafe y obtenidas a partir del cruce entre la variedad Caturra y el híbrido de Timor CIFC-1343, un genotipo de origen natural resultante del cruzamiento entre *C. arabica* x *C. canephora*. Las muestras de granos de café provenientes de los diferentes genotipos (BGB.1033, BGB.1040, BGB.1076, BGB.1140, BGB.1219, BGB.1253, BGB.1235, BGB.1044, BGB.1285, BGB.1352, BGB.1049) fueron recolectadas en el año 2006, en cinco localidades diferentes (Naranjal, Paraguaicito, El Rosario, El Tambo y Pueblo Bello) en la región cafetera colombiana. Como control se usaron muestras de la variedad Caturra cultivada en las mismas localidades. Las condiciones agro-climatológicas de las cinco localidades analizadas en este estudio se presentan en la Tabla 1.

Las muestras fueron recolectadas durante el pico de la cosecha principal (propio de cada localidad), seleccionando sólo frutos maduros y sanos. Para cada muestra, se benefició 1 kg de frutos por el método húmedo (despulpado, fermentación y secado), para obtener aproximadamente 250 g de café verde. Las muestras de café verde en buen estado fueron tamizadas a través de una malla de 17/64', mientras que los granos defectuosos (por ejemplo, caracoles, vanos, monstruos) fueron descartados.

Almacenamiento y preparación de las muestras. Para cada genotipo, los granos de café pergamino se secaron y almacenaron

Tabla 1. Condiciones agro-climatológicas para cinco localidades de la región cafetera Colombiana. Valores del promedio anual para cada variable en el año 2006 (24).

Localidad	Altitud (m)	Latitud	Longitud	Temperatura (°C)			Brillo solar (h)	Precipitación (mm)	Humedad relativa (%)
				Media	Mín.	Máx.			
Naranjal	1.381	4° 58' N	75° 39' W	21,4	17,3	27,3	136,9	261,4	68,0
Paraguacito	1.203	4° 24' N	75° 44' W	22,1	17,3	28,1	141,3	166,3	77,0
El Rosario	1.635	5° 58' N	75° 42' W	20,4	16,9	25,5	164,6	205,5	68,8
El Tambo	1.735	2° 24' N	76° 44' W	18,8	14,5	24,1	141,6	168,3	76,8
Pueblo Bello	1.134	10° 25' N	73° 34' W	21,1	15,9	27,1	201,9	174,4	85,6

en frascos plásticos dentro de bolsas plásticas cerradas herméticamente al vacío y conservadas en la oscuridad a -20°C. Luego, los granos de café se procesaron hasta obtener café almendra, y estos granos fueron reducidos a polvo fino usando un molino criogénico analítico (Centrifugal Grinding Mill Md Zm100, Retsch/Brink, Alemania). El polvo de café molido fue almacenado en tubos Corning de 50 mL, dentro de bolsas plásticas selladas al vacío y éstas a su vez dentro de cajas plásticas, conteniendo sílica gel, almacenadas a -20°C y en la oscuridad, hasta su utilización en las etapas posteriores.

Determinación del contenido de humedad de las muestras. El contenido de humedad de las muestras fue estimado por el método ISO-6673-2003, después del secado completo de los polvos (0,2 g) en una estufa (Dies, Colombia) a 105°C hasta obtener peso constante (27).

Extracción y determinación de los lípidos totales. Los lípidos totales fueron extraídos a partir de 2 g de muestra de polvo seco, usando el método de Folch (19) modificado con diclorometano en lugar de cloroformo (5, 60), después de la homogeneización por 30 s, en una mezcla de diclorometano:metanol 2:1 (v/v), usando un homogeneizador IKA T25 Ultra-turrax basic (IKA®-WERKE,

Alemania). El contenido en lípidos de los granos fue determinado gravimétricamente después de la evaporación completa del solvente, en un evaporador con flujo de nitrógeno a 40°C (N-EVAP, Organomation, USA), de acuerdo al protocolo establecido. El contenido en lípidos fue medido por triplicado, utilizando un diseño experimental completamente al azar. El contenido en lípidos totales se expresó como porcentaje en base seca (% bs).

Determinación de la composición en ácidos grasos totales. Los ésteres metílicos de ácidos grasos o FAMES (por *fatty acid methyl esters*) fueron preparados de acuerdo al método ISO-5509-2000 (26, 28). Los extractos lipídicos se saponificaron con 4 mL de una solución metanólica de NaOH al 0,5 M a 90°C por 10 min., y luego, se metilaron con 5 mL de una solución metanólica de BF₃ al 14% a 90°C por 3 min. Los FAMES fueron extraídos de la solución metanólica con adición de 3 mL de n-hexano y 20 mL de una solución saturada de NaCl. Las muestras se mezclaron manualmente por 30 s y el volumen se completó hasta 50 mL con una solución saturada de NaCl. Después de 2 h se realizó una separación en dos fases. La fase verde oscura superior fue recolectada y centrifugada por 20 min. a 2.500 r.p.m. (a 22°C), para separar la fracción de hexano de la emulsión (5, 60).

Análisis cromatográficos. Después de la recolección de la fracción de hexano, los FAMES (1 mL) se inyectaron directamente en un cromatógrafo de gases HP 6890, con un sistema de detección a la llama (FID, *flame ionisation detection*), y se usó una columna capilar FAMEWAX (RESTEK, Francia, Ref. 12497), de 30 m x 0,25 mm ID x 0,25 μ m df. Los análisis se desarrollaron con un programa de temperatura de 185°C a 225°C a 4°C/min. y una temperatura isotérmica por 10 min. a 225°C. El gas portador fue el Helio a 40 cm.s⁻¹ y se usó un split ratio de 1:100. Tanto el inyector como el detector estuvieron a 230°C.

Los FAMES se identificaron por comparación con estándares comerciales (Supelco) y se cuantificaron como porcentajes de los ácidos grasos totales (% w/w). Para cada genotipo, la composición en ácidos grasos se analizó por triplicado (a partir de tres diferentes extractos lipídicos). Los picos de los FAMES se integraron y analizaron usando el software ChemStation HP.

Estándares. Para la identificación de los FAMES se emplearon los siguientes estándares comerciales: Supelco™ 37 Component FAME Mix (Supelco, Ref. 47885-U), Grain Fatty Acid Methyl Ester Mix (Supelco, Ref. 47801), PUFA No. 3 from Menhaden Oil (Supelco, Ref. 47085-U), Linoleic Acid Methyl Ester Isomer Mix (Supelco, Ref. 47791) y Linolenic Acid Methyl Ester Isomer Mix (Supelco, Ref. 47792).

Variables lipídicas. Para todas las muestras se calculó el contenido de Lípidos totales, expresado como porcentaje en base seca (% bs) y el contenido en ácidos grasos, expresado como porcentaje relativo de ácidos grasos totales (%). Los ácidos grasos estudiados fueron: Palmítico (16:0, PAL), esteárico (18:0, EST), oleico (18:1, OLE), linoleico

(18:2, LINO), linolénico (18:3, LINOL), araquídico (20:0, ARA) y behénico (22:0, BEH). Adicionalmente, se calcularon las siguientes variables:

- TSFA: Suma de los valores de los porcentajes de los ácidos grasos saturados, por ejemplo, palmítico (16:0), esteárico (18:0), araquídico (20:0) y behénico (22:0).
- MUFA: Suma de los valores de los porcentajes del total de los ácidos grasos mono-insaturados por ejemplo, oleico (18:1), palmitoleico (16:1), cis-Vaccénico (18:1n-7) y gondoico (20:1n-9).
- PUFA: Suma de los valores de los porcentajes de los ácidos grasos poli-insaturados, por ejemplo, linoleico (18:2) y linolénico (18:3).
- ω -3/ ω -6 FA: Relación entre el ácido linolénico (18:3) y el ácido linoleico (18:2).

Para efectos del análisis, los ácidos grasos con contenidos superiores al 0,5% (>0,5%) fueron considerados como ácidos grasos mayoritarios y los ácidos grasos con contenidos inferiores fueron considerados como minoritarios. Los contenidos de estos últimos sólo fueron tenidos en cuenta para el cálculo del porcentaje relativo de ácidos grasos totales y para el cálculo de los MUFA.

Variables climáticas. Para cada localidad del estudio se determinaron las siguientes variables climáticas: Altitud (m), humedad relativa (%), precipitación (mm), brillo solar (h), temperatura máxima (°C), temperatura media (°C) y temperatura mínima (°C), las cuales se calcularon como valores promedio, en cuatro períodos diferentes, definidos de la siguiente forma:

El primer período correspondió al valor promedio del mes de recolección

específico en cada localidad, para cada una de las condiciones climáticas estudiadas. Posteriormente, a partir de la fecha de recolección, específica de cada localidad, se calculó del promedio de los 4, 8 y 12 meses antes de la cosecha para cada variable estudiada. El segundo período correspondió a los 4 últimos meses de desarrollo del endospermo, durante el cual se llevó a cabo la acumulación de los lípidos (15). El tercer período seleccionado correspondió a los 8 meses de desarrollo completo de los granos, y finalmente, el cuarto período seleccionado correspondió a los 12 últimos meses antes de la cosecha. Esto con el fin de estimar las condiciones climatológicas que podrían influenciar la fisiología entera de la planta de café y no sólo la fisiología de desarrollo del grano.

Diseño experimental y análisis estadísticos.

Las muestras se analizaron bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 5 x 12 (cinco localidades: Naranjal, Paraguaicito, El Rosario, El Tambo y Pueblo Bello, y 12 genotipos). Para los análisis

cromatográficos, se realizaron tres extracciones por muestra, para un total de 180 análisis, por dos inyecciones en el cromatógrafo de gases GC-FID.

Para los análisis estadísticos se utilizaron los paquetes estadísticos SAS/STAT® 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2000) y XLSTAT® versión 2009.3.02 (Addinsoft SARL, France, 1995-2009). El análisis de varianza (ANOVA) de 2-vías se utilizó para probar los efectos del genotipo, de la localidad y de su interacción, en cada variable estudiada. El test de Newman y Keuls se empleó para llevar a cabo la comparación múltiple de medias. Las correlaciones lineales, evaluadas mediante el coeficiente de correlación de Pearson, permitieron estimar la relación entre los parámetros climatológicos y las variables lipídicas. Los análisis de componentes principales (ACP) y el análisis factorial discriminante (AFD) se utilizaron para estudiar la clasificación de los genotipos y de las localidades con base en la composición lipídica de los granos de café verde.

Tabla 2. Estadística descriptiva de las variables lipídicas en muestras de café verde de 12 genotipos, recolectadas en cinco localidades de Colombia (Cosecha principal del año 2006).

Parámetros	Lípidos totales (% bs)	Ácido palmítico 16:0 (%)	Ácido esteárico 18:0 (%)	Ácido oleico 18:1 (%)	Ácido linoleico 18:2 (%)	Ácido linolénico 18:3 (%)	Ácido araquídico 20:0 (%)	Ácido behénico 22:0 (%)
Valor mínimo	11,1	30,6	5,8	6,6	31,2	1,0	2,0	0,4
Valor máximo	16,9	43,1	12,1	11,2	46,4	1,8	4,3	1,5
Media	14,1	37,0	8,1	8,7	39,0	1,4	3,2	0,8
Desviación Estándar	1,2	2,6	1,4	0,9	3,4	0,2	0,5	0,2
Desviación Estándar Experimental	0,524	0,265	0,058	0,060	0,225	0,018	0,039	0,019
Total de valores	174	174	174	174	174	174	174	174

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición lipídica de los granos de café verde. En la Tabla 2, se presenta la estadística descriptiva para el contenido de Lípidos totales y de los siete ácidos grasos mayoritarios estudiados en muestras de café verde de 12 genotipos recolectados en cinco localidades (Naranjal, Paraguaicito, El Rosario, Pueblo Bello y El Tambo) durante la cosecha principal del año 2006.

Los contenidos en Lípidos totales, encontrados en el presente estudio, estuvieron de acuerdo con aquellos reportados en la literatura para la especie *C. arabica* (31, 32, 39, 48). Se cuantificaron 24 ácidos grasos en las muestras de café verde, los cuales pueden ser separados en cinco grupos, de acuerdo con su porcentaje relativo, así:

1. Ácidos grasos >30%: ácido palmítico (16:0) y ácido linoleico (18:2).
2. Ácidos grasos >5%: ácido esteárico (18:0) y ácido oleico (18:1).
3. Ácidos grasos >1%: ácido linolénico (18:3) y ácido araquídico (20:0).
4. Ácidos grasos >0,5%: ácido behénico (22:0).
5. Ácidos grasos >0,1%: ácido *cis*-vaccénico (18:1n-7), ácido gondoico (20:1) y ácido lignocérico (24:0).

También se encontraron y cuantificaron otros ácidos grasos con contenidos menores del 0,1%, en los granos de café verde de los genotipos evaluados (datos no presentados) (57, 58).

Los porcentajes relativos de los dos principales ácidos grasos, linoleico y palmítico, fueron similares a los reportados para café verde en la especie *C. arabica*, con valores de 44,1% y 33,3%, respectivamente (38).

La composición de ácidos grasos mayoritarios (>0,5%) estuvo de acuerdo

con la reportada en la literatura para la especie *Arábica*. Por ejemplo, para los ácidos palmítico (16:0), oleico (18:1), linoleico (18:2) y Linolénico (18:3), la composición reportada varía entre 30%-35%, 7%-10%, 43%-54% y 1,0%-2,6%, respectivamente, para la fracción presente en los triglicéridos (20, 29, 32, 33, 38, 41, 47, 49). Para la fracción presente en los ácidos grasos libres, estos valores corresponden al 30%, 14%, 45% y 2%, respectivamente (41).

En un estudio anterior, se analizó el contenido en ácidos grasos en cuatro de las 11 líneas avanzadas consideradas en este trabajo, las cuales estaban sembradas en tres de las cinco localidades analizadas (Naranjal, Paraguaicito y El Rosario). En dicho estudio, el contenido en ácido palmítico (16:0) varió entre el 31,85% para el genotipo BGB.1033 en Paraguaicito y el 34,94% para el genotipo BGB.1076 en Naranjal. El porcentaje relativo en ácido oleico (18:1) varió entre el 9,19% para el genotipo BGB.1033 en El Rosario y el 10,23% para el genotipo BGB.1076 en Paraguaicito. Así mismo, para el ácido linoleico (18:2), el contenido varió entre el 41,61% para el genotipo BGB.1076 en la localidad de Naranjal y el 45,50% para el genotipo BGB.1033 en la localidad de Paraguaicito. Por último, para el ácido linolénico (18:3), el contenido varió entre el 1,37% para el genotipo BGB.1076 en la localidad de Naranjal y el 1,63% para el genotipo BGB.1033 en la localidad de Paraguaicito (5). En todos los casos, los valores obtenidos para los diferentes compuestos fueron similares a los reportados en el presente estudio.

En otro trabajo similar, Villarreal *et al.* (60) analizaron la composición en ácidos grasos en tres (BGB.1033, BGB.1076 y BGB.1040) de las 11 líneas avanzadas, sembradas en las mismas localidades (Cosecha del año 2005). Los resultados mostraron que la composición

relativa en ácidos grasos mayoritarios durante 2 años consecutivos (2005 y 2006), fue muy similar a la reportada en este trabajo. Por ejemplo, para el ácido oleico (18:1) la composición varió entre 8,7% y 11,40% para el año 2005 y entre 7,68% y 11,18% para el año 2006. Para el ácido linoléico (18:2), la composición fue muy similar entre los dos años, entre 1,4% y 1,7% y entre 1,25% y 1,7%, para los años 2005 y 2006, respectivamente. Sin embargo, cuando se analizaron otros ácidos grasos mayoritarios, la variación de un año a otro fue mayor a la observada en este estudio. Estas diferencias podrían estar asociadas con las condiciones particulares de clima registradas de un año a otro, entre las localidades estudiadas.

En general, los ácidos grasos se encontraron en todos los genotipos, independientemente de las localidades de siembra (Tabla 3). Adicionalmente, no hubo diferencias en la clase de ácido graso presente en los diferentes genotipos para alguna de las localidades estudiadas. Lo anterior sugiere que *a priori*, ninguno de los ácidos grasos identificados es capaz de diferenciar por sí solo un genotipo o una localidad particular.

Efecto del genotipo y de la localidad sobre la composición lipídica. En la Tabla 4 se presentan los resultados del análisis de varianza de 2-vías para la variable contenido en lípidos totales (% b.s.) y para el contenido de los ácidos grasos mayoritarios (composición >0,5%), considerando el genotipo, la localidad y su interacción. Dado que las muestras de la variedad Caturra no se encontraban disponibles para las localidades de Naranjal y El Tambo, se llevaron a cabo tres análisis de varianza independientes: El primer análisis se realizó para todas las localidades en las cuales estaba la variedad Caturra. El segundo análisis se realizó para las localidades donde no había plantas de la variedad Caturra,

mientras que el tercer análisis involucró sólo tres de las localidades (excepto El Tambo y Naranjal) en las cuales la variedad Caturra estuvo presente.

Los resultados para el contenido de los ácidos grasos mostraron diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los genotipos y entre las localidades, excepto para el ácido palmítico (16:0), el cual no mostró diferencias en las tres localidades donde la variedad Caturra estuvo presente.

La interacción genotipo x localidad fue significativa para todas las variables analizadas, sugiriendo una influencia clara del ambiente sobre estos compuestos químicos analizados. La variación total para el contenido en lípidos totales fue alta, ya que los valores oscilaron entre el 11,9% para el genotipo BGB.1033 en la localidad de El Tambo hasta el 16,7% para el genotipo BGB.1235 en la localidad de Paraguaicito. La variación entre las localidades para esta variable también fue alta, con valores promedio que oscilaron entre el 13,1% en la localidad de El Tambo hasta el 15% en la localidad de Paraguaicito. La comparación entre genotipos también mostró diferencias importantes en el contenido de lípidos totales cuyos valores variaron entre 13,1% para el genotipo BGB.1285 y 15,7% para la variedad Caturra.

A diferencia de los resultados reportados previamente por Bertrand *et al.* (5), en este estudio el ácido oleico (18:1) presentó diferencias significativas entre todas las localidades estudiadas (Tabla 4). El efecto localidad fue altamente significativo para todos los ácidos grasos excepto para el ácido palmítico (16:0).

La información sobre la existencia de interacción entre genotipo x localidad constituye un indicador muy útil del posible valor

Tabla 3. Contenido en Lípidos totales y en ácidos grasos totales (Porcentaje relativo promedio \pm Desviación estándar) en muestras de café verde de 12 genotipos, en cinco localidades de la región cafetera colombiana, durante la cosecha principal del año 2006.

Genotipo	Localidad	Lípidos totales (% bs)	Ácido palmítico 16:0 (%)	Ácido esteárico 18:0 (%)	Ácido oleico 18:1 (%)	Ácido linoleico 18:2 (%)	Ácido linolénico 18:3 (%)	Ácido araquídico 20:0 (%)	Ácido behénico 22:0 (%)
BGB.1033	Naranjal	13,51 \pm 0,41	36,44 \pm 0,22	8,26 \pm 0,01	8,68 \pm 0,03	38,97 \pm 0,17	1,35 \pm 0,01	3,18 \pm 0,001	0,82 \pm 0,0002
	Paraguaicito	14,38 \pm 0,49	37,20 \pm 0,30	9,39 \pm 0,03	9,44 \pm 0,11	37,30 \pm 0,23	1,30 \pm 0,01	3,26 \pm 0,01	0,85 \pm 0,004
	Pueblo Bello	12,21 \pm 0,42	33,30 \pm 0,02	6,66 \pm 0,03	8,68 \pm 0,01	44,77 \pm 0,01	1,66 \pm 0,01	2,54 \pm 0,01	0,58 \pm 0,02
	El Rosario	14,47 \pm 1,10	30,68 \pm 0,09	6,24 \pm 0,003	11,18 \pm 0,01	46,18 \pm 0,25	1,70 \pm 0,05	2,05 \pm 0,02	0,44 \pm 0,01
	El Tambo	11,87 \pm 0,80	35,18 \pm 0,08	6,32 \pm 0,01	8,00 \pm 0,060	43,36 \pm 0,09	1,55 \pm 0,01	2,89 \pm 0,01	0,67 \pm 0,02
BGB.1352	Naranjal	12,93 \pm 0,30	37,09 \pm 0,07	8,20 \pm 0,06	8,44 \pm 0,02	39,03 \pm 0,08	1,38 \pm 0,01	3,05 \pm 0,001	0,78 \pm 0,03
	Paraguaicito	13,69 \pm 0,41	34,70 \pm 0,36	12,07 \pm 0,07	9,10 \pm 0,07	35,42 \pm 0,25	1,27 \pm 0,04	4,34 \pm 0,001	1,30 \pm 0,02
	Pueblo Bello	14,05 \pm 0,46	39,54 \pm 0,03	7,80 \pm 0,03	8,62 \pm 0,01	36,76 \pm 0,04	1,38 \pm 0,01	3,51 \pm 0,01	0,71 \pm 0,01
	El Rosario	14,26 \pm 0,94	37,78 \pm 0,28	8,78 \pm 0,18	7,99 \pm 0,02	38,24 \pm 0,004	1,41 \pm 0,01	3,24 \pm 0,08	0,81 \pm 0,01
	El Tambo	12,67 \pm 0,31	37,40 \pm 0,04	6,64 \pm 0,01	7,26 \pm 0,01	42,05 \pm 0,05	1,51 \pm 0,02	2,72 \pm 0,02	0,61 \pm 0,005
BGB.1253	Naranjal	13,61 \pm 0,02	33,85 \pm 0,01	7,66 \pm 0,06	10,19 \pm 0,01	40,31 \pm 0,18	1,48 \pm 0,01	3,75 \pm 0,02	0,70 \pm 0,02
	Paraguaicito	15,54 \pm 0,41	35,68 \pm 0,07	9,69 \pm 0,09	10,3 \pm 0,02	35,95 \pm 0,05	1,23 \pm 0,002	3,60 \pm 0,05	1,54 \pm 0,01
	Pueblo Bello	12,41 \pm 0,20	36,25 \pm 0,06	6,43 \pm 0,02	8,07 \pm 0,01	42,49 \pm 0,003	1,52 \pm 0,01	2,86 \pm 0,02	0,62 \pm 0,01
	El Rosario	15,00 \pm 1,31	37,51 \pm 0,02	8,14 \pm 0,01	9,48 \pm 0,02	37,58 \pm 0,03	1,37 \pm 0,03	3,10 \pm 0,04	0,76 \pm 0,02
	El Tambo	13,58 \pm 0,85	33,61 \pm 0,004	6,02 \pm 0,05	9,08 \pm 0,01	44,79 \pm 0,03	1,57 \pm 0,01	2,38 \pm 0,02	0,56 \pm 0,02
BGB.1285	Naranjal	13,42 \pm 1,09	37,36 \pm 0,16	8,12 \pm 0,14	8,91 \pm 0,09	38,31 \pm 0,20	1,39 \pm 0,01	3,29 \pm 0,005	0,73 \pm 0,03
	Paraguaicito	14,11 \pm 0,29	41,50 \pm 0,04	10,44 \pm 0,02	8,39 \pm 0,02	31,28 \pm 0,04	1,14 \pm 0,03	4,22 \pm 0,03	1,16 \pm 0,01
	Pueblo Bello	12,33 \pm 0,53	35,57 \pm 0,27	6,40 \pm 0,06	10,00 \pm 0,12	40,42 \pm 0,04	1,70 \pm 0,02	2,88 \pm 0,02	0,64 \pm 0,001
	El Rosario	13,04 \pm 0,39	34,97 \pm 0,12	7,02 \pm 0,07	9,73 \pm 0,01	41,46 \pm 0,09	1,52 \pm 0,01	2,89 \pm 0,12	0,66 \pm 0,02
	El Tambo	12,51 \pm 0,57	33,67 \pm 0,07	5,96 \pm 0,04	9,06 \pm 0,19	44,33 \pm 0,14	1,74 \pm 0,03	2,32 \pm 0,02	0,72 \pm 0,03
BGB.1076	Naranjal	13,98 \pm 0,73	37,62 \pm 0,49	8,52 \pm 0,13	9,19 \pm 0,14	37,25 \pm 0,56	1,30 \pm 0,04	3,40 \pm 0,09	0,80 \pm 0,05
	Paraguaicito	14,98 \pm 0,27	35,44 \pm 0,44	9,41 \pm 0,06	10,35 \pm 0,12	36,59 \pm 0,42	1,25 \pm 0,02	3,42 \pm 0,01	0,93 \pm 0,02
	Pueblo Bello	14,13 \pm 0,76	37,73 \pm 0,06	7,73 \pm 0,01	8,72 \pm 0,02	37,85 \pm 0,04	1,36 \pm 0,01	3,43 \pm 0,05	1,06 \pm 0,003
	El Rosario	14,32 \pm 1,11	37,48 \pm 0,25	8,12 \pm 0,06	9,27 \pm 0,06	37,90 \pm 0,22	1,34 \pm 0,02	3,20 \pm 0,03	0,74 \pm 0,02
	El Tambo	13,49 \pm 0,93	33,81 \pm 0,06	6,12 \pm 0,01	8,76 \pm 0,01	44,42 \pm 0,02	1,60 \pm 0,03	2,43 \pm 0,01	0,62 \pm 0,01
BGB.1219	Naranjal	15,02 \pm 0,35	41,14 \pm 0,21	9,41 \pm 0,08	8,40 \pm 0,06	32,85 \pm 0,25	1,18 \pm 0,02	3,56 \pm 0,04	0,88 \pm 0,03
	Paraguaicito	15,40 \pm 0,23	39,64 \pm 0,09	10,36 \pm 0,06	9,30 \pm 0,02	33,01 \pm 0,07	1,24 \pm 0,01	3,78 \pm 0,01	0,94 \pm 0,004
	Pueblo Bello	14,28 \pm 0,14	36,46 \pm 0,12	6,67 \pm 0,03	9,37 \pm 0,03	40,87 \pm 0,10	1,56 \pm 0,02	2,67 \pm 0,01	0,54 \pm 0,02
	El Rosario	14,35 \pm 0,41	38,19 \pm 0,02	7,87 \pm 0,03	9,34 \pm 0,02	37,89 \pm 0,04	1,43 \pm 0,001	2,94 \pm 0,02	0,68 \pm 0,02
	El Tambo	13,52 \pm 0,33	43,11 \pm 0,01	7,38 \pm 0,03	7,37 \pm 0,003	35,33 \pm 0,001	1,26 \pm 0,02	3,08 \pm 0,01	0,71 \pm 0,02
BGB.1140	Naranjal	14,64 \pm 0,49	35,26 \pm 0,07	7,95 \pm 0,04	9,05 \pm 0,08	40,31 \pm 0,11	1,31 \pm 0,03	2,99 \pm 0,08	0,85 \pm 0,01
	Paraguaicito	16,00 \pm 0,17	36,44 \pm 0,04	9,77 \pm 0,001	9,12 \pm 0,06	37,61 \pm 0,05	1,23 \pm 0,02	3,27 \pm 0,02	0,84 \pm 0,01
	Pueblo Bello	14,82 \pm 0,36	37,47 \pm 0,07	7,68 \pm 0,01	8,85 \pm 0,03	38,97 \pm 0,01	1,27 \pm 0,02	3,21 \pm 0,01	0,71 \pm 0,04
	El Rosario	14,84 \pm 0,14	36,20 \pm 0,28	8,08 \pm 0,005	8,90 \pm 0,01	39,29 \pm 0,44	1,39 \pm 0,02	2,97 \pm 0,02	0,71 \pm 0,03
	El Tambo	13,84 \pm 0,18	41,28 \pm 0,17	7,96 \pm 0,01	6,62 \pm 0,02	37,05 \pm 0,28	1,20 \pm 0,01	3,41 \pm 0,01	0,80 \pm 0,03
BGB.1235	Naranjal	16,45 \pm 0,54	35,40 \pm 0,29	8,38 \pm 0,12	9,45 \pm 0,07	38,97 \pm 0,31	1,32 \pm 0,01	3,23 \pm 0,07	0,83 \pm 0,02
	Paraguaicito	16,68 \pm 0,23	36,24 \pm 0,59	9,69 \pm 0,22	9,53 \pm 0,16	38,98 \pm 0,83	1,24 \pm 0,03	3,07 \pm 0,10	0,82 \pm 0,02
	Pueblo Bello	13,74 \pm 0,99	38,50 \pm 0,04	7,35 \pm 0,01	8,84 \pm 0,03	38,47 \pm 0,06	1,29 \pm 0,004	3,16 \pm 0,05	0,69 \pm 0,04
	El Rosario	15,70 \pm 0,72	40,43 \pm 0,42	9,81 \pm 0,07	8,20 \pm 0,01	34,03 \pm 0,04	1,07 \pm 0,03	4,03 \pm 0,04	0,91 \pm 0,02
	El Tambo	14,21 \pm 0,45	37,83 \pm 1,20	8,62 \pm 0,09	7,49 \pm 0,19	40,08 \pm 0,54	1,32 \pm 0,01	2,80 \pm 0,12	0,65 \pm 0,03

Continúa...

Continuación...

Genotipo	Localidad	Lípidos totales (% bs)	Ácido palmítico 16:0 (%)	Ácido esteárico 18:0 (%)	Ácido oleico 18:1 (%)	Ácido linoleico 18:2 (%)	Ácido linolénico 18:3 (%)	Ácido araquídico 20:0 (%)	Ácido behénico 22:0 (%)
BGB.1049	Naranjal	13,68±0,88	36,02±0,88	8,15±0,16	8,04±0,17	40,50±0,94	1,49±0,05	3,10±0,09	0,79±0,02
	Paraguaicito	14,71±1,06	36,23±0,40	8,91±0,07	9,33±0,09	38,19±0,36	1,45±0,03	3,25±0,02	0,81±0,02
	Pueblo Bello	13,11±0,25	33,90±0,49	8,05±0,03	8,51±0,03	41,40±0,19	1,67±0,02	3,46±0,02	0,52±0,03
	El Rosario	13,32±0,23	35,96±0,45	7,31±0,04	8,95±0,12	40,55±0,24	1,61±0,02	2,90±0,06	0,70±0,04
	El Tambo	12,63±0,42	33,87±0,04	5,86±0,02	8,28±0,02	45,76±0,04	1,74±0,01	2,24±0,001	0,49±0,01
BGB.1044	Naranjal	13,96±1,05	33,10±0,81	8,15±0,11	8,73±0,13	42,13±0,15	1,47±0,05	3,18±0,06	0,72±0,03
	Paraguaicito	14,75±0,26	39,79±0,19	10,19±0,04	8,66±0,03	33,91±0,15	1,25±0,01	3,80±0,03	0,93±0,004
	Pueblo Bello	12,58±0,37	42,08±0,46	8,62±0,10	7,52±0,06	34,34±0,50	1,26±0,02	3,67±0,05	0,77±0,01
	El Rosario	13,74±0,85	38,10±0,08	7,79±0,02	8,45±0,02	38,84±0,09	1,38±0,01	3,00±0,03	0,72±0,01
	El Tambo	12,45±1,18	39,70±0,15	7,17±0,05	7,38±0,04	38,87±0,15	1,43±0,00	2,92±0,01	0,66±0,01
BGB.1040	Naranjal	13,68±0,76	40,17±0,29	9,84±0,08	7,92±0,09	33,60±0,04	1,19±0,01	4,16±0,06	0,87±0,04
	Paraguaicito	14,37±0,40	33,43±0,30	8,55±0,03	10,25±0,08	40,64±0,21	1,49±0,01	3,08±0,03	0,74±0,02
	Pueblo Bello	13,75±0,37	37,44±0,14	7,55±0,04	8,52±0,05	39,87±0,07	1,44±0,01	3,10±0,003	0,61±0,01
	El Rosario	14,07±0,78	40,79±0,21	8,50±0,02	7,97±0,01	35,75±0,21	1,31±0,02	3,25±0,03	0,72±0,03
	El Tambo	13,16±1,02	35,98±0,20	6,15±0,04	8,26±0,04	43,78±0,38	1,60±0,01	2,54±0,03	0,55±0,02
Catura	Naranjal	-	-	-	-	-	-	-	-
	Paraguaicito	15,71±0,24	39,42±0,26	11,62±0,05	7,57±0,07	34,31±0,35	1,18±0,03	4,10±0,10	1,14±0,03
	Pueblo Bello	15,30±0,45	37,92±0,19	7,77±0,04	7,33±0,05	39,87±0,19	1,51±0,01	3,13±0,05	0,68±0,02
	El Rosario	15,96±0,85	36,52±0,41	8,21±0,13	8,06±0,08	40,26±0,51	1,46±0,02	2,94±0,08	0,71±0,04
	El Tambo	-	-	-	-	-	-	-	-

discriminante de un compuesto lipídico particular. En este caso, sin embargo, los resultados muestran que al menos para la cosecha del año 2006, todos los ácidos grasos presentaron interacciones muy significativas entre genotipo x localidad.

Estudios recientes muestran que la proporción de ácidos poliinsaturados (PUFA), monoinsaturados (MUFA) y saturados (TSFA), analizados mediante resonancia magnética nuclear y mediante la técnica NIRS, pueden ser usados para la caracterización del origen geográfico de algunos productos alimenticios (14, 44). En la naturaleza, existen varios ácidos grasos poliinsaturados que el organismo humano no puede sintetizar, entre ellos están los ácidos linoleico (18:2) y alfa-linolénico (18:3), debido a que los mamíferos carecen de las enzimas necesarias

para insertar dobles enlaces en los átomos de carbono más allá del carbono 9 a partir del carboxilo terminal. Por lo tanto, éstos deben obtenerse en la dieta y se les conoce como ácidos grasos esenciales. Estos ácidos grasos, son conocidos también como Omega-6 (ω -6) y Omega-3 (ω -3), respectivamente; además, estos ácidos grasos son precursores de los PUFAs de cadena más larga y con mayor número de insaturaciones como son los ácidos araquidónico, eicosapentaenoico (EPA) y el docosahexaenoico (DHA), los cuales desempeñan un papel esencial en la producción de eicosanoides importantes en los procesos fisiológicos y en la salud humana (51). Las enzimas elongasas y desaturasas que participan en la síntesis de los ácidos grasos son afectadas por múltiples factores ambientales como la temperatura, por lo que la composición en ácidos grasos

Tabla 4. Resultados del análisis de varianza de 2-vías, para ocho variables lipídicas estudiadas en cinco localidades diferentes, considerando las 11 líneas (excepto la variedad Caturra) o tres localidades (excepto El Tambo y Naranjal) y los doce genotipos (incluida la variedad Caturra), en muestras de café verde recolectadas durante la cosecha principal del año 2006.

Variable		Genotipo		Localidad		Genotipo* Localidad	
		MS	p	MS	p	MS	p
Lípidos totales (% bs)	Con Caturra	8,29	0,0001	17,87	0,0001	0,87	0,0010
	Sin Caturra	7,40	0,0001	18,22	0,0001	0,86	0,0017
	Con Caturra sin T y N*	5,36	0,0001	19,61	0,0001	1,15	0,0001
Ácido palmitico (%)	Con Caturra	31,97	0,0001	1,00	0,0001	18,15	0,0001
	Sin Caturra	34,49	0,0001	1,08	0,0001	18,73	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	21,98	0,0001	0,16	0,112 n.s	16,59	0,0001
Ácido oleico (%)	Con Caturra	3,53	0,0001	51,98	0,0001	1,81	0,0001
	Sin Caturra	3,35	0,0001	46,26	0,0001	1,81	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	3,14	0,0001	67,68	0,0001	1,95	0,0001
Ácido linoleico (%)	Con Caturra	3,92	0,0001	9,62	0,0001	1,36	0,0001
	Sin Caturra	2,70	0,0001	9,68	0,0001	1,40	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	3,05	0,0001	4,34	0,0001	1,58	0,0001
Ácido linolénico (%)	Con Caturra	39,47	0,0001	146,00	0,0001	22,78	0,0001
	Sin Caturra	43,41	0,0001	133,31	0,0001	23,53	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	29,29	0,0001	129,77	0,0001	21,04	0,0001
Ácido linolénico (%)	Con Caturra	0,14	0,0001	0,29	0,0001	0,04	0,0001
	Sin Caturra	0,16	0,0001	0,26	0,0001	0,04	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	0,10	0,0001	0,36	0,0001	0,04	0,0001
Ácido araquídico (%)	Con Caturra	0,36	0,0001	3,84	0,0001	0,49	0,0001
	Sin Caturra	0,38	0,0001	3,43	0,0001	0,50	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	0,62	0,0001	3,23	0,0001	0,46	0,0001
Ácido behénico (%)	Con Caturra	0,06	0,0001	0,72	0,0001	0,06	0,0001
	Sin Caturra	0,06	0,0001	0,63	0,0001	0,06	0,0001
	Con Caturra sin T y N*	0,11	0,0001	1,13	0,0001	0,08	0,0001

*Con el genotipo Caturra, pero sin las localidades de El Tambo (T) y Naranjal (N).

MS: Cuadrado medio, p: nivel de confianza al 99,9 % y ns: no significativo.

de muchas especies vegetales puede variar grandemente (6).

En muchas semillas de especies oleaginosas la temperatura ambiente es un factor que juega un papel importante en la determinación de la composición final en ácidos grasos. En café parece suceder lo mismo, dado que las enzimas que participan en la síntesis de ácidos grasos, se comportan de manera similar a como lo hacen en otras especies

vegetales (60). Así, cuando disminuye la temperatura se observa un incremento en el contenido de los ácidos grasos poliinsaturados linoleico (18:2) y linolénico (18:3) y una disminución en el contenido del ácido monoinsaturado oleico (18:1) en granos de café verde. Por lo tanto, para el caso del café, la variación en la composición en ácidos grasos parece obedecer a diferencias en las temperaturas que prevalecen en cada medio ambiente estudiado.

En este estudio, se analizó por primera vez el efecto del genotipo, de la localidad y de su interacción, en la composición total de los ácidos grasos saturados (TSFA), mono (MUFA) y poliinsaturados (PUFA) presentes en granos verdes de café. Los resultados mostraron diferencias significativas ($p < 0,0001$) entre los genotipos y entre las localidades, así como en la interacción genotipo x localidad (Tabla 5).

En la Tabla 6, se presenta el análisis de comparación del promedio del contenido de lípidos totales y otros compuestos relacionados (TSFA, MUFA, PUFA y ω -3/ ω -6 FA), para las cinco localidades estudiadas durante la cosecha principal del año 2006. El contenido en lípidos totales osciló entre 13,08% para la localidad de El Tambo y 15,03% para la localidad de Paraguaicito. Para el contenido promedio de los ácidos grasos saturados totales (TSFA), también se encontraron diferencias significativas entre las diferentes localidades. Los contenidos para esta variable estuvieron entre 46,95% y 51,75%. Así mismo, el contenido en ácidos grasos mono-insaturados totales (MUFA) varió entre el 8,94% y el 10,08%. A diferencia de las variables anteriores, el contenido en ácidos grasos poli-insaturados totales (PUFA) presentó una mayor variación (entre 37,37% y 43,30%). Por último, para

la relación entre el ácido linolénico y el linoleico (ω -3/ ω -6 FA), el valor encontrado varió entre 0,035 y 0,037 (Tabla 6).

Para el contenido en Lípidos totales se encontraron diferencias significativas entre los genotipos estudiados, su contenido varió entre el 13,08% para el genotipo BGB.1285 y el 15,66% para el genotipo Caturra. Para los TSFAs, el contenido varió entre el 45,39% para el genotipo BGB.1033 y el 52% para el genotipo BGB.1219 (Tabla 7). Para los MUFAs, el contenido varió entre el 8,48% para Caturra y el 10,39% para el genotipo BGB.1253. Para los PUFAs, el contenido varió entre el 37,32% para el genotipo BGB.1219 y el 43,63% para el genotipo BGB.1033. En la relación entre el ácido Linolénico y el Linoleico (ω -3/ ω -6 FA), los valores oscilaron entre 0,0327 para el genotipo BGB.1235 y 0,0385 para el genotipo BGB.1049 (Tabla 7).

El conjunto de resultados presentados sugiere que las diferencias observadas entre genotipos y entre localidades para las variables TSFA, MUFA y PUFA, así como para los ácidos grasos individuales, podrían tener una aplicación directa en la construcción de curvas de calibración y de predicción de compuestos lipídicos mediante la técnica NIRS. De ser así, sería posible evaluar rápida y precisamente un elevado número

Tabla 5. Resultados del análisis de varianza de 2-vías para las variables contenido en ácidos grasos saturados totales (TSFA), mono-insaturados totales (MUFA), poli-insaturados totales (PUFA) y en la relación entre el ácido linolénico y el linoleico (ω -3/ ω -6 FA) en muestras de café verde recolectadas durante la cosecha principal del año 2006.

Variable	Genotipo		Localidad		Genotipo* Localidad	
	MS	<i>p</i>	MS	<i>p</i>	MS	<i>p</i>
TSFA (%)	60,00	0,0001	101,73	0,0001	35,01	0,0001
MUFA (%)	4,48	0,0001	7,71	0,0001	1,60	0,0001
PUFA (%)	43,14	0,0001	158,88	0,0001	24,64	0,0001
ω -3/ ω -6 FA	0,00004	0,0001	0,000001	0,0001	0,000003	0,0001

MS: Cuadrado medio; y *p*: nivel de confianza al 99,9%.

Tabla 6. Análisis de comparación del contenido promedio en lípidos totales (LIP) y en ácidos grasos saturados totales (TSFA), mono-insaturados totales (MUFA), poli-insaturados totales (PUFA) y en la relación entre el ácido linoléico y el linoleico (ω -3/ ω -6 FA), entre las cinco localidades estudiadas durante la cosecha principal del año 2006.

Localidad	LIP (% bs)	TSFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)	ω -3/ ω -6 FA
Naranjal	14,08c	49,25b	9,71c	39,74d	0,0352d
Paraguaicito	15,03a	51,75a	10,08a	37,37e	0,0353d
El Rosario	14,42b	48,80c	9,86b	40,41c	0,0362b
El Tambo	13,08e	46,95e	8,94e	43,30a	0,0359c
Pueblo Bello	13,56d	48,38d	9,51d	41,14b	0,0370a

* Los promedios seguidos por letras diferentes difieren al $p < 0,01$, de acuerdo a la prueba de Newman y Keuls.

Tabla 7. Análisis de comparación del contenido promedio en lípidos totales y en ácidos grasos saturados totales (TSFA), mono-insaturados totales (MUFA), poli-insaturados totales (PUFA) y en la relación entre el ácido linoléico y el linoleico (ω -3/ ω -6 FA), entre los 12 genotipos recolectados durante la cosecha principal del año 2006.

Genotipo	LIP (% bs)	TSFA (%)	MUFA (%)	PUFA (%)	ω -3/ ω -6 FA
Caturra	15,66a	51,39b	8,48h	39,53f	0,0362c
BGB.1040	13,81e	49,60e	9,44e	40,13e	0,0363c
BGB.1044	13,50f	51,01c	8,99g	38,98h	0,0362c
BGB.1049	13,49f	46,50i	9,55d	42,87b	0,0385a
BGB.1235	15,36a	50,49d	9,58d	39,35g	0,0327f
BGB.1140	14,83b	49,57e	9,40e	39,92e	0,0330f
BGB.1219	14,51b	52,00a	9,65c	37,32i	0,0370b
BGB.1076	14,18c	48,40f	10,20b	40,17e	0,0353e
BGB.1285	13,08f	48,10g	10,15b	40,66d	0,0382a
BGB.1253	14,03c	46,94h	10,39a	41,66c	0,0356d
BGB.1352	13,52f	50,22d	9,15f	39,69f	0,0363c
BGB.1033	13,29f	45,39j	10,13b	43,63a	0,0359d

*Los promedios seguidos por letras diferentes difieren al $p < 0,01$, de acuerdo a la prueba de Newman y Keuls.

de muestras de café verde con el fin de predecir su origen geográfico, acelerando los procesos de diferenciación que actualmente se realizan en las diferentes regiones productoras del grano en el país. Una estrategia similar ha venido siendo usada desde hace varios años en algunos productos alimenticios de importancia comercial (14, 44).

Efecto de las variables climáticas sobre la composición lipídica. Los resultados de este estudio permitieron poner en evidencia el

efecto de algunos de los factores climatológicos estudiados sobre el contenido en lípidos totales. Dado que el efecto de las diferentes variables climáticas fue similar para todos los genotipos, se realizó un análisis de correlación tomando en cuenta el conjunto de genotipos (Tabla 8).

Para el contenido en lípidos totales, las correlaciones más significativas se presentaron con las temperaturas máxima, media y mínima ($^{\circ}\text{C}$) en los cuatro períodos evaluados, al

igual que con la variable precipitación (mm) al momento de la cosecha. Sin embargo, los valores de correlación fueron menores respecto a los reportados previamente por Villarreal *et al.* (60), lo cual se debió probablemente a las diferencias de clima en cada localidad entre un experimento y otro.

La correlación entre el contenido en lípidos totales y la temperatura fue positiva, mientras que entre éste y la humedad relativa se presentó un efecto negativo cuando se consideraron tanto los cuatro períodos como el período de los últimos 5 meses, evaluados en la cosecha del año 2005 (56). En otros términos, el contenido en lípidos totales se incrementó durante el período caliente y seco que caracterizó la época de recolección. Dichos resultados son similares a los obtenidos durante la cosecha del año 2006 en todos los períodos, al igual que en los últimos 5 meses que precedieron a la cosecha (56, 59, 60). Es de anotar que durante la cosecha principal del año 2006, el ácido palmítico no presentó correlación significativa con alguna de las variables de clima analizadas, en los cuatro períodos seleccionados (Tabla 8).

Respecto a la variable precipitación, la correlación entre ésta y el contenido en lípidos totales fue negativa en tres de los cuatro períodos analizados (4, 8 y 12 meses) en las cosechas de los años 2005 y 2006 (56, 60). Joët *et al.* (29), observaron una tendencia igual al estudiar los contenidos de lípidos totales en *C. arabica* var. Laurina. A diferencia de la cosecha del año 2005 (56, 60), en el año 2006 esta misma correlación fue significativa no sólo para el período de los 8 meses sino también para el período de 4 meses y al momento de la cosecha. Sin embargo, en la cosecha del año 2006 esta última correlación fue positiva (Tabla 8).

Para la totalidad de los ácidos grasos, las correlaciones con todas las variables de temperatura (máxima, media y mínima) en los cuatro períodos evaluados fueron significativas, excepto para el ácido palmítico (Tabla 8), el cual durante la cosecha del año 2005, presentó una correlación negativa y significativa (56, 60). La temperatura máxima presentó una correlación significativa y positiva para los ácidos grasos saturados (esteárico, araquídico y behénico); la temperatura media presentó una correlación positiva sobre estos mismos ácidos grasos y sobre el ácido graso mono-insaturado (oleico), con un valor de R menor para este último; mientras que todas las variables de temperatura mostraron una correlación significativa y negativa sobre los ácidos grasos poli-insaturados (linoleico y linolénico), en los cuatro períodos evaluados. Estas mismas correlaciones también fueron encontradas por Villarreal *et al.* (56, 60).

A diferencia de este estudio, en las correlaciones encontradas por Joët *et al.* (2010) en café *C. arabica* var. Laurina cultivado en la Isla de la Reunión, en el período de los últimos 5 meses antes de la cosecha, el ácido linolénico no presentó alguna correlación significativa con las variables de clima, mientras que el ácido palmítico presentó una correlación significativa y negativa con la variable temperatura (29). Esta última correlación también fue reportada por Villarreal *et al.* (60).

Para los ácidos grasos saturados (esteárico y araquídico), el período de los últimos 4 meses proporcionó los niveles de significancia más altos de correlación con la temperatura máxima, mientras que para los poli-insaturados el período que tuvo el mayor efecto fue el período correspondiente a los 12 últimos meses antes de la cosecha en la variable temperatura mínima (Tabla 8).

Tabla 8. Coeficiente de correlación de Pearson (R) y significación entre siete factores ambientales en cuatro períodos diferentes (al momento de la cosecha, 4, 8 y 12 meses antes de la cosecha) y las ocho variables lipídicas (contenido en lípidos totales y composición en siete ácidos grasos totales), para 12 genotipos recolectados en cinco localidades diferentes (Cosecha principal del año 2006).

Factores medio ambientales	Período (meses)	Lípidos totales (% ms)	Ácido palmítico 16:0 (%)	Ácido esteárico 18:0 (%)	Ácido oleico 18:1 (%)	Ácido linoleico 18:2 (%)	Ácido linolénico 18:3 (%)	Ácido araquídico 20:0 (%)	Ácido behénico 22:0 (%)
Humedad relativa (%)	0	-0,04 n.s.	0,05 n.s.	-0,09 n.s.	-0,07 n.s.	-0,03 n.s.	0,10 n.s.	0,09 n.s.	-0,12 n.s.
	4	-0,28***	0,04 n.s.	-0,31***	-0,19*	0,17*	0,25**	-0,12 n.s.	-0,22**
	8	-0,29***	0,04 n.s.	-0,31***	-0,21**	0,19*	0,25**	-0,14*	-0,21**
	12	-0,24**	0,04 n.s.	-0,24**	-0,18*	0,15*	0,21**	-0,10 n.s.	-0,15*
Precipitación (mm)	0	0,43***	0,04 n.s.	0,64***	0,43***	-0,47***	-0,43***	0,56***	0,50***
	4	-0,19*	-0,02 n.s.	-0,26***	-0,05 n.s.	0,09 n.s.	0,13***	0,01 n.s.	-0,26***
	8	-0,15*	-0,04 n.s.	-0,24**	-0,04 n.s.	0,09 n.s.	0,09 n.s.	-0,01 n.s.	-0,26***
	12	-0,005 n.s.	-0,06 n.s.	-0,06 n.s.	0,001 n.s.	0,04 n.s.	-0,05 n.s.	-0,03 n.s.	-0,09 n.s.
Brillo solar (h)	0	-0,40***	0,03 n.s.	-0,61***	-0,31***	0,37***	0,43***	-0,39***	-0,52***
	4	-0,09 n.s.	0,04 n.s.	-0,07 n.s.	0,16*	-0,04 n.s.	0,08 n.s.	0,01 n.s.	-0,17*
	8	-0,02 n.s.	0,05 n.s.	-0,20**	0,06 n.s.	0,05 n.s.	0,18*	-0,07 n.s.	-0,25***
	12	-0,12 n.s.	0,05 n.s.	-0,28***	-0,01 n.s.	0,10 n.s.	0,22**	-0,09 n.s.	-0,30***
Temperatura máxima (°C)	0	0,36***	0,01 n.s.	0,70***	0,31***	-0,45***	-0,44***	0,56***	0,63***
	4	0,45***	0,02 n.s.	0,72***	0,43***	-0,52***	-0,46***	0,62***	0,60***
	8	0,41***	0,02 n.s.	0,67***	0,42***	-0,49***	-0,42***	0,61***	0,54***
	12	0,36***	0,02 n.s.	0,62***	0,38***	-0,46***	-0,39***	0,59***	0,51***
Temperatura media (°C)	0	0,40***	0,01 n.s.	0,71***	0,38***	-0,49***	-0,45***	0,61***	0,61***
	4	0,46***	0,02 n.s.	0,71***	0,46***	-0,52***	-0,44***	0,61***	0,56***
	8	0,43***	0,02 n.s.	0,67***	0,44***	-0,50***	-0,41***	0,60***	0,53***
	12	0,43***	0,02 n.s.	0,68***	0,44***	-0,50***	-0,42***	0,60***	0,54***
Temperatura mínima (°C)	0	0,45***	0,01 n.s.	0,63***	0,46***	-0,48***	-0,40***	0,55***	0,46***
	4	0,43***	0,02 n.s.	0,56***	0,45***	-0,45***	-0,36***	0,52***	0,40***
	8	0,43***	0,01 n.s.	0,60***	0,45***	-0,46***	-0,39***	0,54***	0,44***
	12	0,49***	0,00 n.s.	0,67***	0,46***	-0,49***	-0,44***	0,54***	0,51***
Altitud	-	-0,20**	-0,03 n.s.	-0,41***	-0,25**	0,33***	0,23**	-0,46***	-0,35***

Nota: En negrilla los valores significativos a un nivel de confianza del 99,9% (***), del 99% (**) y del 95% (*).
n.s.: No significativo.

Para los ácidos grasos de cadena larga (araquídico y behénico) se presentó una correlación positiva significativa para los tres valores de temperatura en todos los períodos evaluados, mientras que para los ácidos grasos poli-insaturados (linoleico y linolénico) la correlación fue significativamente negativa. Estos resultados confirman aquellos encontrados previamente en muestras de café verde analizadas en la cosecha principal del año 2005, en todos los períodos estudiados, así como en el período de los 5 meses antes de la cosecha (56, 60).

A diferencia de otros trabajos precedentes (4, 16), en este estudio se encontró una correlación negativa entre el contenido de lípidos totales y la altitud; sin embargo, dicha correlación sólo fue significativa para tres de los 12 genotipos estudiados (BGB.1219, BGB.1140 y BGB.1049). Estos resultados parecen estar en concordancia con estudios previos, en los cuales no existe un consenso sobre la verdadera relación entre la altitud y el contenido de lípidos totales. Así, mientras algunos afirman que estos compuestos parecen aumentar con la altitud

(23) otros lo atribuyen a la variedad (29) o simplemente estiman que no existe alguna relación particular (2).

En este estudio, la correlación entre la altitud y el contenido de los ácidos grasos fue negativa, excepto para los ácidos grasos poli-insaturados (linoleico y linolénico), para los cuales esta correlación fue positiva. En otras palabras, a mayor altitud mayor contenido de estos ácidos grasos, lo cual podría ser explicado porque los niveles de insaturación de los lípidos están determinados por la activación de las enzimas desaturasas a baja temperatura y su inactivación a altas temperaturas (61). Por lo tanto, la actividad de la desaturasa estaría inversamente relacionada con la temperatura y directamente relacionada con la altitud. Resultados similares fueron encontrados por Joët *et al.* (29), quien atribuye la variación de los ácidos grasos poli-insaturados, a las diferencias de temperatura en cada sitio de estudio durante el desarrollo de la semilla.

Análisis de la capacidad discriminante de los ácidos grasos mayoritarios y del contenido de lípidos totales. Con el fin de establecer la capacidad discriminante de las variables mencionadas, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) así como un Análisis Factorial Discriminante (AFD), tomando como base la información del contenido de ácidos grasos mayoritarios y de lípidos totales para los 12 genotipos estudiados en las cinco localidades.

El ACP para todas las variables lipídicas (contenido en lípidos totales y el contenido en siete ácidos grasos mayoritarios), reveló que los Factores 1 y 2 estaban explicando el 60,42% y el 19,96% de la varianza total, respectivamente. Sin embargo, cuando el mismo análisis se hizo incluyendo sólo los ácidos grasos mayoritarios, los Factores 1 y

2 explicaron el 65,83% y el 20,57% de la varianza total, respectivamente. En este último caso, los dos factores explicaron más del 86,40% de la varianza total. Adicionalmente, cuando fueron incluidos los ácidos grasos mayoritarios y las variables calculadas (TSFA, MUFA y PUFA), los Factores 1 y 2 explicaron el 66,20% y el 22,61% de la varianza total, respectivamente. En este último caso, los dos factores explicaron más del 88,81% de la varianza total. En la Figura 1 se presentan las coordenadas factoriales de las variables lipídicas en los dos primeros componentes principales (F1 y F2).

Teniendo en cuenta las variables que más contribuyeron a los factores (cuyos valores propios fueron mayores de 1) se encontró que aquellas que más contribuyeron al Factor 1 fueron en su orden: Los ácidos grasos saturados, tales como el ácido palmítico (eigenvector = 0,313), el ácido esteárico (eigenvector = 0,328), y el ácido araquídico (eigenvector = 0,346); igualmente la variable TSFA (eigenvector = 0,382) y los ácidos grasos poli-insaturados: Ácido linoleico (eigenvector = -0,377) y el ácido linolénico (eigenvector = -0,354) y la variable PUFA (eigenvector = -0,378).

Por su parte, las variables que más contribuyeron a explicar la varianza total en el Factor 2 fueron el ácido oleico (eigenvector = 0,611) y la variable MUFA (eigenvector = 0,591). Debido a que la variable contenido en lípidos totales nunca contribuyó de manera significativa a la varianza total en alguno de los análisis realizados, esta variable fue removida de los análisis subsiguientes.

Martín *et al.* (2001), llevaron a cabo la discriminación de muestras de café verde y tostado de las especies *C. arabica* y *C. canephora* var. Robusta, utilizando para ello la composición en ácidos grasos. En

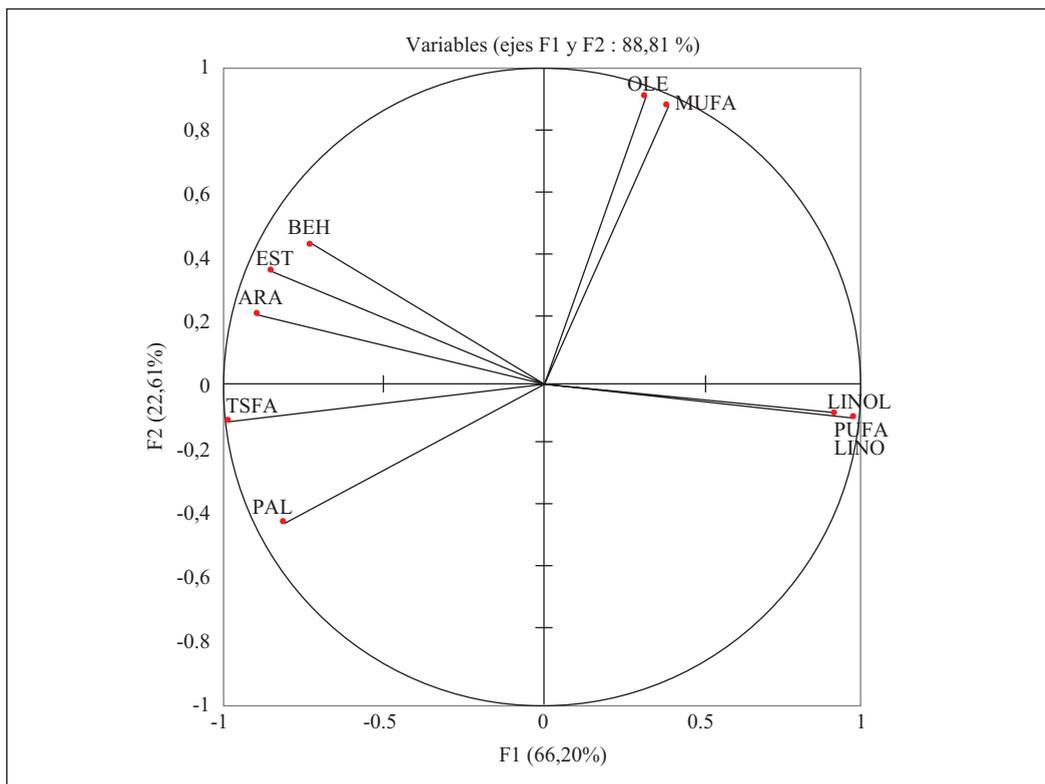


Figura 1. Análisis de Componentes Principales (ACP) de las muestras de granos de café verde de 12 genotipos diferentes, recolectados en cinco localidades (cosecha del año 2006) basado en su composición lipídica. Coordenadas factoriales de los ácidos grasos mayoritarios (PAL, ácido palmítico; EST, ácido esteárico; OLE, ácido oleico; LINO, ácido linoleico; LINOL, ácido linolénico; ARA, ácido araquídico y BEH, ácido behénico) junto con las variables calculadas (TSFA, MUFA y PUFA), en los dos primeros componentes principales (F1 y F2).

dicho estudio, los dos primeros componentes principales explicaron el 62,1% de la varianza total. Los ácidos grasos oleico, linolénico, linoleico y mirístico, fueron los que más contribuyeron al Factor 1. Estos ácidos grasos fueron considerados como descriptores químicos y fueron propuestos para diferenciar las dos especies de café, ya que permitieron su completa separación (38). En el presente estudio, la contribución de las variables estudiadas en los dos primeros factores fue mayor, ya que explicaron más del 85% de la varianza total y permitieron la separación de las muestras de

C. arabica de acuerdo a su localidad u origen geográfico. Lo que ha permitido el desarrollo de curvas de calibración y de predicción de los compuestos lipídicos (lípidos totales y siete ácidos grasos) mediante NIRS, para la diferenciación y la discriminación del café y para el Proyecto de “Denominación de Origen del Café de Colombia”.

El Análisis Factorial Discriminante (AFD) permitió una discriminación completa entre genotipos respecto a las cinco localidades estudiadas, usando como base la composición

en ácidos grasos mayoritarios en combinación con las variables calculadas (Figura 2). El primer eje factorial permitió una excelente separación de las localidades de Paraguaicito, Pueblo Bello y El Tambo del grupo de las localidades de Naranjal y El Rosario, el segundo eje no permitió la separación de estas dos últimas localidades, las cuales aparecen muy próximas entre ellas. A diferencia de los resultados encontrados en las muestras de la cosecha del año 2005 (56, 60), para las muestras de la cosecha del año 2006 se observó que los ácidos grasos mayoritarios tuvieron un menor efecto discriminante entre localidades (97,29% vs. 99,00%).

En general, los ácidos grasos mayoritarios junto con las variables calculadas, en muestras de café verde de la cosecha del año 2006,

fueron más eficaces en discriminar por localidades (97,29%) que en discriminar entre genotipos (75,44%).

Los resultados presentados en este estudio aportan nueva evidencia del efecto significativo del genotipo y de la localidad sobre el contenido de los lípidos totales y de los ácidos grasos totales en muestras de café verde de genotipos de la especie *C. arabica*. Aunque la interacción genotipo x localidad fue significativa, su efecto sobre las variables lipídicas fue menos evidente. Con relación a las variables ambientales, sólo la temperatura mostró tener un efecto sobre el contenido de compuestos lipídicos en las muestras analizadas. Se encontró una correlación significativa positiva entre ésta y el contenido de lípidos totales, así como con

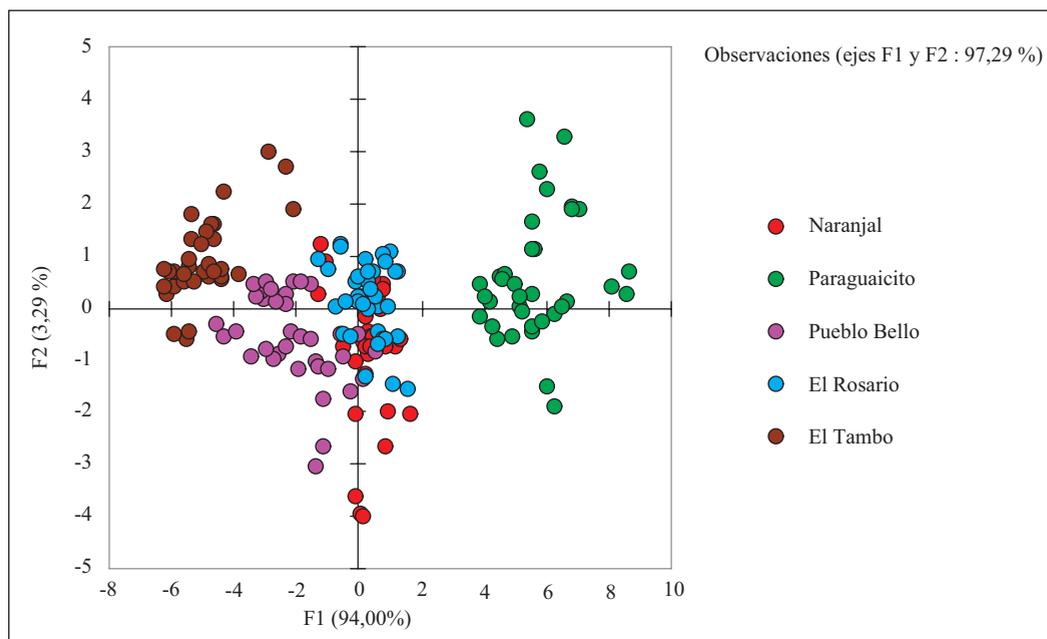


Figura 2. Análisis Factorial Discriminante (AFD) de las cinco localidades estudiadas, basada en la composición en ácidos grasos mayoritarios y en las variables calculadas, a partir de muestras de granos de café verde de 12 genotipos diferentes, recolectadas durante la cosecha principal del año 2006. Resultados en los dos primeros ejes factoriales.

los ácidos grasos esteárico, oleico, araquídico y behénico, mientras que una correlación inversa y significativa se dio para los ácidos linoleico y linolénico.

Es de resaltar que los genotipos estudiados corresponden a líneas avanzadas del programa de mejoramiento genético de Cenicafé que se caracterizan por su alta productividad, excelente calidad de grano y elevada resistencia a la roya del cafeto. Desde el punto de vista genético son genotipos muy homogéneos, ya que se derivan de cruzamientos con el híbrido de Timor (HdT), una planta genéticamente compatible con las variedades tradicionales como Caturra. Dado que no se observaron diferencias entre Caturra y las 11 líneas estudiadas con respecto a las variables analizadas, es de suponer que la carga genética derivada del HdT y presente en las líneas mejoradas no tuvo un efecto sobre los contenidos lipídicos analizados. Estas observaciones confirman la bondad de realizar una selección genética muy rigurosa, como la que ha sido aplicada para el desarrollo de las variedades producidas por Colombia (por ejemplo, Colombia, Variedad Castillo® y Tabi). Adicionalmente, confirman la posibilidad real de obtener genotipos de calidad excelente a partir de cruzamientos con el HdT (55).

Desde el punto de vista aplicado, el conjunto de resultados confirman el potencial de los ácidos grasos como herramienta de discriminación quimiométrica en muestras de café verde. Los análisis discriminantes mostraron que es posible separar muestras de café de diferentes localidades, con base en la información aportada por los ácidos grasos mayoritarios (ácidos palmítico, esteárico, oleico, linoleico, linolénico, araquídico y behénico), y las variables lipídicas calculadas: TSFA, MUFA y PUFA. El uso de esta información en proyectos de caracterización de *terroirs*

sobre la región cafetera, representa una nueva aproximación al estudio de la calidad diferencial del café de Colombia.

Los datos generados por este estudio ya fueron integrados a la base de datos del NIRS desarrollada por Cenicafé, donde están siendo usados para la construcción de curvas de calibración y de predicción de diferentes compuestos lipídicos (lípidos totales y siete ácidos grasos). Gracias a esta metodología hoy es posible evaluar de manera más rápida y eficiente un mayor número de muestras de café, contribuyendo al desarrollo de estrategias de diferenciación tanto por el origen genético como por el origen geográfico del café cultivado en las distintas regiones del país. Un ejemplo de ello es el Proyecto: “Denominación de Origen del Café de Colombia”, que actualmente lidera Cenicafé.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, a Cenicafé y al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, por su apoyo financiero a través del proyecto Genoma. Igualmente agradecen al personal de las Estaciones Experimentales de Cenicafé por su colaboración en la recolección de las muestras de café, así como a los auxiliares que colaboraron en la preparación de las muestras para los análisis.

LITERATURA CITADA

1. ANDERSON, K.A.; SMITH, B.W. Chemical profiling to differentiate geographic growing origins of coffee. *Journal of agricultural and food chemistry* 50:2068-2075. 2002.
2. AVELINO, J.; BARBOZA, B.; ARAYA, J.C.; FONSECA, C.; DAVRIEUX, F.; GUYOT, B.; CILAS, C. Effects of slope exposure, altitude and yield on coffee quality in two altitude terroirs of

- Costa Rica, Orosi and Santa María de Dota. Journal of the science of food and agriculture 85(11):1869-1876. 2005.
3. BERTRAND, B.; ETIENNE, H.; LASHERMES, P.; GUYOT, B.; DAVRIEUX, F. Can near infrared reflectance of green coffee be used to detect introgression in *Coffea arabica* cultivars?. Journal of the science of food and agriculture 85:955-962. 2005.
 4. BERTRAND, B.; VAAST, P.; ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; DAVRIEUX, F.; CHARMENTANT, P. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. Tree physiology 26(9):1239-1248. 2006.
 5. BERTRAND, B.; VILLARREAL, D.; LAFFARGUE, A.; POSADA, H.; LASHERMES, P.; DUSSERT, S. Comparison of the effectiveness of fatty Acids, chlorogenic Acids, and elements for the chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) varieties and growing origins. Journal of agricultural and food chemistry 56(6):2273-2280. 2008.
 6. CAMAS, N.; CIRAK, C.; ESENDAL, E. Seed yield, oil content and fatty acids composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown in northern turkey conditions. Journal of the faculty of agriculture OMU 22(1):98-104. 2007.
 7. CANO M., A.; TARÍN, J.J.; CANO, A. The impact of coffee on health. Maturitas 75(1):7-21. 2013.
 8. CARRERA, F.; LEÓN C., M.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G. Authentication of green coffee varieties according to their sterolic profile. Analytica chimica acta 370:31-139. 1998.
 9. CASAL, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; ALVES, M.R.; FERREIRA, M.A. Discriminate analysis of roasted coffee varieties for trigonelline, nicotinic acid and caffeine content. Journal of agricultural and food chemistry 48:3420-3424. 2000.
 10. CASAL, S.; RUI A., M.; MENDES, E.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; FERREIRA, M.A. Discrimination between Arabica and Robusta coffee species on the basis of their amino acid enantiomers. Journal of agricultural and food chemistry 51:6495-6501. 2003.
 11. CAVIN, C.; HOLZHAUSER, D.; SCHARF, G.; CONSTABLE, A.; HUBER, W.W.; SCHILTER, B. Cafestol and Kahweol, two coffee specific diterpenes with anticarcinogenic activity. Food and chemical toxicology 40(8):1155-1163. 2002.
 12. CHU, Y.F.; CHEN Y.; BLACK, R.M.; BROWN, P.H.; LYLE, B.J.; LIU, R.H.; OU, B. Type 2 diabetes-related bioactivities of coffee: Assessment of antioxidant activity, NF- κ B inhibition, and stimulation of glucose uptake. Food chemistry 124(3):914-920. 2011.
 13. CLIFFORD, M.N. Chemical and physical aspects of green coffee and coffee products. En: CLIFFORD, M.N.; WILLSON, K.C. Coffee botany, biochemistry and production of beans and beverage. Beckenham : Provident house, 1985.
 14. COPPA, M.; FERLAY, A.; LEROUX, C.; JESTIN, M.; CHILLIARD, Y.; MARTIN, B.; ANDUEZA, D. Prediction of milk fatty acid composition by near infrared reflectance spectroscopy. International dairy journal 20:182-189. 2010.
 15. DE CASTRO, R.D.; MARRACINI, P. Cytology, biochemistry and molecular changes during coffee fruit development. Brazilian journal of plant physiology 18(1):175-199. 2006.
 16. DECAZY, F.; AVELINO, J.; GUYOT, B.; PERRIOT, J.; PINEDA, C.; CILAS, C. Quality of different Honduran coffees in relation to several environments. Journal of food science 68(7):2356-2361. 2003.
 17. DIRICK, M.I.; VAN L., I.; DIRICK, J.P. Analytical flavour characterisation and classification of Arabica and Robusta coffees from different origins. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (19 : Mayo 14-18 2001 : Trieste). Italia : ASIC, 2001.
 18. FLAMENT, I. Coffee flavor chemistry. Chichester : John Wiley and Sons, 2002. 532 p.
 19. FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE S., G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. The journal of biological chemistry 226:497-509. 1957.
 20. FOLSTAR, P. Lipids. p. 203-222. En : CLARKE, R.J.; MACRAE, R. Coffee: Chemistry. London : Elsevier, 1985.
 21. GONZÁLEZ, A.G.; PABLOS, F.; MARTIN, M.J.; LEO C., M.; VALDENEBRO, M.S. HPLC analysis of tocopheroles and triglycerides in coffee and their use as authentication parameters. Food chemistry 73:93-101. 2001.
 22. GUERRERO, G.; SUÁREZ, M.; MORENO, G. Hydroxycinnamic acids as genotype discrimination criteria for green coffee beans. En: COLLOQUE

- Scientifique international sur le café. (19 : Mayo 14-18 2001 : Trieste). Italia : ASIC, 2001.
23. GUYOT, B.; GUEULE, D.; MANEZ, J.C.; PERRIOT, J.J.; GIRON, J.; VILLAIN, L. Influence de l'altitude et de l'ombrage sur la qualité des cafés Arabica. *Plantations, recherche, développement* 3(4):272-280. 1996.
 24. GUZMÁN M., O.; JARAMILLO R., A.; BALDIÓN R., J.V. Anuario meteorológico cafetero 2006. Chinchiná : FNC, 2008. 564 p.
 25. HAIDUC, A.; GANCEL, C.; LELOUP, V. NIR-based determination of differences in green coffee chemical composition due to geographical origin. p. 143-149. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (21 : Septembre 11-15 2006 : Montpellier). Paris : ASIC, 2006.
 26. ISO. Animal and vegetable fats and oils: Preparation of methyl esters of fatty acids. Ginebra : ISO, 2000. 24 p. (International standard ISO 5509).
 27. ISO. Green coffee: Determination of loss mass at 105°C. Ginebra : ISO, 2003. 4 p. (International standard ISO 6673).
 28. ISO. Préparation des esters méthyliques d'acides gras. Paris:AFNOR, 2000. 25p. (Norme NF EN ISO.5509).
 29. JOËT, T.; LAFFARGUE, A.; DESCROIX, F.; DOULBEAU, S.; BERTRAND, B.; DE KOCHKO, A.; DUSSERT, S. Influence of environmental factors, wet processing and their interactions on the biochemical composition of green Arabica coffee beans. *Food chemistry* 118:693-701. 2010.
 30. KURZROCK, T.; SPEER, K. Diterpenes and diterpene esters in coffee. *Food reviews international* 17(4):433-450. 2001.
 31. KY, C.L.; LOUARN, J.; DUSSERT, S.; GUYOT, B.; HAMON, S.; NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. *Food chemistry* 75(2):223-230. 2001.
 32. LAGO, R.C.A. Lipídios em grãos de café. B. CEPPA. Curitiba 19(2):319-340. 2001.
 33. LERCKER, G.; CABONI, M.F.; BERTACCO, G.; TURCHETTO, E.; LUCCI, A.; BORTOLOMEAZZI, R.; FREGA, N.; BOCCI, F. La frazione lipidica del café: Influenze della torrefazione e della decaffeinizzazione. *Industrie alimentari* 35:1057-1062. 1996.
 34. LEROY, T.; RIBEYRE, F.; BERTRAND, B.; CHARMETANT, P.; DUFOUR, M.; MONTAGNON, C.; MARRACCINI, P.; POT, D. Genetics of coffee quality. *Brazilian journal of plant physiology* 18(1):229-242. 2006.
 35. MARTÍN, M.J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G. Characterization of green coffee varieties according to their metal content. *Analytica chimica acta* 358(2):177-183(7). 1998.
 36. MARTÍN, M.J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G. Discrimination between Arabica and Robusta coffee varieties according to their chemical composition. *Talanta* 46(6):1259-1264. 1998.
 37. MARTÍN, M.J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G. Characterization of arabica and robusta roasted coffee varieties and mixture resolution according to their metal content. *Food chemistry* 66:365-370. 1999.
 38. MARTÍN, M.J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G.; VALDENEBRO, M.S.; LEÓN C., M. Fatty acid profiles as discriminant parameters for coffee varieties differentiation. *Talanta* 54:291-297. 2001.
 39. MAZZAFERA, P.; SOAVE, D.; TEIXEIRA, M.A.; GUERREIRO, O. Oil content of green beans from some coffee species. *Bragantia* 57(1):45-48. 1998.
 40. MURIEL, P.; ARAUZ, J. Coffee and liver diseases. *Fitoterapia* 81(5):297-305. 2010.
 41. NIKOLOVAD., B.; VELIKOVA, R.; JHAM, G.N. Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil. *Food reviews international* 31:479-486. 1998.
 42. PACETTI, D.; BOSELLI, E.; BALZANO, M.; FREGA, N.G. Authentication of italian espresso coffee blends through the GC peak ratio between Kahweol and 16-O-Methylcafestol. *Food chemistry* 135(3):1569-1574. 2012.
 43. PIMENTA, C.J. Qualidade de café. Lavras : UFPA, 2003. 297 p.
 44. RENO, J.P.; DEPONGE, C.; GACHON, P.; BONNEFOY, J.C.; COULON, J.B.; GAREL, J.P.; VERITE, R.; RITZ, P. Characterization of animal products according to geographic origin and feeding diet using nuclear magnetic resonance and isotope ratio mass spectrometry: cow milk. *Food chemistry* 85(1):63-66. 2004.

45. RUI A., M.; CASAL, S.; OLIVEIRA, M.B.P.P.; FERREIRA, M.A. Contribution of FA profile obtained by high-resolution GC/chemometric techniques to the authenticity of green and roasted coffee varieties. *Journal of the American Oil Chemists Society* 80:511-517. 2003.
46. SILVA, E.A.; MAZZAFERA, P.; BRUNINI, O.; SAKAI, E.; ARRUDA, F.B.; MATTOSO, L.H.C.; CARVALHO, C.R.L.; PIRES, R.C.M. The influence of water management and environmental conditions on the chemical composition and beverage quality of coffee beans. *Brazilian journal of plant physiology* 17(1):229-238. 2005.
47. SPEER, K.; SEHAT, N.; MONTAG, A. Fatty acids in coffee. p. 583-592. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (15 : Juin 6-11 1993 : Montpellier). Paris : ASIC, 1993.
48. SPEER, K.; KÖLLING S., I. Lipids. p. 33-49. En: CLARKE, R.J.; VITZTHUM, O.G. Coffee recent developments. Oxford : Blackwell science, 2001.
49. SPEER, K.; KÖLLING S., I. The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian journal of plant physiology* 18(1):201-216. 2006.
50. SPEER, K.; TEWIS, R.; MONTAG, A. 16-O-Methylcafesol: A quality indicator for coffee. p.237-244. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (14 : Juillet 14-19 1991 : San Francisco). Paris : ASIC, 1991.
51. SWANSON, D.; BLOCK, R.; MOUSA, S.A. Omega-3 fatty acids EPA and DHA: Health benefits throughout life. *Advances in nutrition* 3:1-7. 2012.
52. TERPSTRA, A.H.M.; KATAN, M.B.; WEUSTEN VAN D.W., M.P.M.E.; DE ROOS, B.; BEYNEN, A.C. The hypercholesterolemic effect of cafestol in coffee oil in gerbils and rats. *The journal of nutritional biochemistry* 11(6):311-317. 2000.
53. VAAST, P.; BERTRAND, B.; PERRIOT, J.J.; GUYOT, B.; GENARD, M. Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the science of food and agriculture* 86(2):197-204. 2006.
54. VALDENOBRO, M.S.; LEÓN C., M.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A.G.; MARTÍN, M.J. Determination of the arabica/robusta composition of roasted coffee according to their sterolic content. *Analyst* 124:999-1002. 1999.
55. VAN D.V., H.A.M. Disease resistance and cup quality in Arabica coffee: The persistent myths in the coffee trade versus scientific evidence. p. 1351-1360. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (22 : Septembre 14-19 2008 : Campinas). Paris : ASIC, 2008.
56. VILLARREAL, D. Análisis de lípidos en granos de café de diferentes genotipos y localidades y su relación con la calidad, el aroma y el sabor del café: Informe final "Proyecto colaborativo entre Cenicafé y el IRD. Chinchiná : CENICAFÉ, 2006. 63 p.
57. VILLARREAL, D. Informe de actividades proyecto genoma experimento GEN0211: "Establecimiento de una plataforma para la determinación del contenido total de lípidos y de la composición en ácidos grasos totales a partir de granos de café verde". Chinchiná : CENICAFÉ, 2007. 18 p.
58. VILLARREAL, D. Informe de actividades proyecto genoma experimento GEN1120: "Estudio de los lípidos del café y su relación con la calidad". Chinchiná : CENICAFÉ, 2008. 53 p.
59. VILLARREAL, D.; BERTRAND, B.; LAFFARGUE, A.; POSADA, H.; LASHERMES, P.; DUSSERT, S. Chemometric discrimination of coffee (*Coffea arabica* L.) genotypes and growing origins. p.1497-1506. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (22 : Septembre 14-19 2008 : Campinas). Paris : ASIC, 2008.
60. VILLARREAL, D.; LAFFARGUE, A.; POSADA, H.; BERTRAND, B.; LASHERMES, P.; DUSSERT, S. Genotypic and environmental effects on coffee (*Coffea arabica* L.) bean fatty acid profile: Impact on variety and origin chemometric determination. *Journal of agricultural and food chemistry* 57(23):11321-11327. 2009.
61. WILLIAMS, J.P.; KHAN, M.U.; WONG, D. Low temperature-induced fatty acid desaturation in Brassica napus: Termal deactivation and reactivation of the process. *Biochimica et biophysica acta* 1128:275-279. 1992.
62. WILSON, A.J.; PETRACCO, M.; ILLY, E. Some preliminary investigations of oil biosynthesis in the coffee fruit and its subsequent re-distribution within green and roasted beans. p.92-99. En: COLLOQUE Scientifique international sur le café. (17 : Juillet 20-25 1997 : Nairobi). Paris : ASIC, 1997.