



**TECNOLOGICO NACIONAL DE MÉXICO  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ**

**TRABAJO PROFESIONAL  
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERA QUÍMICA**

**QUE PRESENTA:**

**MARÍA LÓPEZ HERNÁNDEZ**

**“DESARROLLO SUSTENTABLE DE GRAN IMPACTO, REGIÓN LOS  
ALTOS DE CHIAPAS: COOPERATIVAS PRODUCTORAS DE CAFÉ  
(ORGÁNICO).”**

**OPCIÓN X**

**MEMORIA DE RESIDENCIA PROFESIONAL**

SEP

SECRETARÍA DE  
EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO  
Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez

"2015, Año del Generalísimo José María Morelos Y Pavón"

DIRECCIÓN  
SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas 01 de septiembre del 2015

OFICIO NUM. DEP-CT-651-2015

**C. MARÍA LÓPEZ HERNÁNDEZ**  
PASANTE DE LA CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
EGRESADO DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ.  
P R E S E N T E.

Habiendo recibido la comunicación de su trabajo profesional por parte de los CC. M.C. JUAN JOSÉ SOLÍS ZAVALA, ING. LEONARDO GÓMEZ GUTIERREZ, ING. AMÍN RODRÍGUEZ MENESES e ING. RENE CUESTA DÍAZ en el sentido que se encuentra satisfactorio el contenido del mismo como prueba escrita, **AUTORIZO** a Usted a que se proceda a la impresión del mencionado Trabajo denominado:

**" DESARROLLO SUSTENTABLE DE GRAN IMPACTO, REGION ALTOS DE CHIAPAS: COOPERATIVA PRODUCTORAS DE CAFÉ (ORGANICO)"**

Registrado mediante la opción:  
**X (MEMORIA DE RESIDENCIA PROFESIONAL)**

**A T E N T A M E N T E**  
**"CIENCIA Y TECNOLOGÍA CON SENTIDO HUMANO"**

ING. JUAN JOSÉ ARREOLA ORDAZ  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE LA DIVISION DE  
ESTUDIOS PROFESIONALES

C.c.p.- Departamento de Servicios Escolares  
C.c.p.- Expediente  
I'JLMN/I'JJAO/I'eeam

Vo. Bo.

M. en C. JOSÉ LUIS MÉNDEZ NAVARRO  
DIRECTOR



Secretaría de Educ. Pública  
Instituto Tecnológico  
de Tuxtla Gutiérrez,  
Div. de Est. Profesionales



Carretera Panamericana Km. 1080, C.P. 29050, Apartado Postal 599  
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas; Tels. (961) 61 54285, 61 50461  
[www.ittg.edu.mx](http://www.ittg.edu.mx)





# ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 JUSTIFICACIÓN.....	3
3 OBJETIVOS.....	3
3.1 Objetivo general.....	3
3.2 Objetivo específico.....	3
4 HIPOTESIS.....	4
5 MARCO TEORICO.....	4
5.1 Descripción del cultivo de café.....	4
5.1.1 Introducción del café a México.....	4
5.1.2 Café orgánico.....	4
5.1.3 Tipos de tratamiento.....	5
5.1.4 Tipo de sombra.....	7
5.1.5 Colecta de suelos de cuatro cafetales para la determinación de biomasa y respiración microbiana.....	8
5.1.5.1 La fertilidad del suelo.....	8
5.1.5.2 La biomasa microbiana.....	9
5.1.5.3 Factores que afectan la biomasa microbiana.....	9
5.1.6 Descripción botánica de café caturra roja y bourbon.....	10
5.1.7 Plántula de café.....	11
5.1.7.1 Parte radicular.....	11
5.1.7.2 Parte aérea.....	12
5.1.8 Extracción de fenoles.....	14
5.1.9 Colonización micorrízica.....	15

5.1.9.1 Ciclo de vida y morfología de la micorriza (vesículas, arbusculas, hifas).....	15
5.1.9.2 Factores que afectan la micorriza.....	17
5.2 Estandarización de técnicas para la cuantificación de cafeína, ácido clorogénico y fenoles totales en granos de café verde.....	17
5.2.1 Composición.....	18
5.2.2 Ácido clorogénico.....	21
<b>6 METODOLOGIA</b>	
6.1 Colecta de suelos para cuatro cafetales para la determinación de biomas y respiración microbiana.....	23
6.2 Determinación de biomasa fresca y seca de la parte aérea y radicular de plantas de café (porte alto y bajo), (variedad caturra roja y bourbon).....	26
6.1.1 Peso seco de la parte aérea y radicular de la planta de café.....	27
6.3 Preparación de las plantas para la cuantificación de fenoles totales (extracción de compuestos.....)	28
6.4 Estandarización de técnica para la cuantificación de fenoles totales en plantas de café en vivero.....	29
6.4.1 Preparación para lectura de fenoles.....	30
6.5 Porcentaje de colonización micorrízica.....	30
6.5.1 Determinación del porcentaje de colonización micorrízica en raíces de café.....	31
6.6 Estandarización de técnicas para la cuantificación de cafeína, ácido clorogenico y fenoles totales en granos de café verde .....	32
<b>7 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS</b>	
7.1 Colecta de suelos para cuatro cafetales para la determinación de biomasa y respiración microbiana.....	34
7.1.1 Niveles de biomasa microbiana.....	34
7.1.2 Efectos de sombra y la ubicación sobre los niveles de biomasa microbiana.....	36
7.1.3 Determinación de biomasa microbiana.....	36

7.2 Determinación de biomasa fresca y seca de la parte aérea y radicular de la planta de café (porte alto y bajo), (variedad caturra roja y bourbon).....	37
7.2.1 Determinación de humedad.....	38
7.3 Resultados estadísticos para extracción de fenoles en hoja de café.....	41
7.4 Porcentaje de colonización micorrízica.....	45
7.4.1 Numero de segmentos, porcentaje de colonización y promedio micorrízica en plantas de café .....	45
7.4.2 Porcentaje estadístico de colonización micorrízica.....	49
7.5 Estandarización de técnica para la cuantificación de cafeína, ácido clorogenico y fenoles totales en granos de café verde.....	53
7.5.1 Cuantificación de cafeína y ácido clorogenico.....	53
7.5.2 Fenoles totales en granos de café verde.....	54
8 CONCLUSION.....	55
9 FUENTES DE INFORMACIÓN.....	58

# **1 INTRODUCCIÓN.**

La agricultura orgánica debe sostener y promover la salud de suelo, planta, animal, persona y planeta como una sola e indivisible. Tomando en cuenta el desarrollo sustentable de gran impacto para la producción orgánica.

Hace décadas que se han venido desarrollando proyectos para producir el café de una forma más eficiente, que contribuya con la conservación ambiental y mejorar los beneficios económicos de los productores. La producción de café orgánico hace parte de las prácticas que marcan el camino de la sustentabilidad. Las cualidades generales que debe tener el café sustentable deben incluir los procesos, los beneficios ambientales, económicos y sociales.

El café sustentable debe garantizar en su proceso producción y comercialización y que contribuya a la conservación de los recursos naturales y aun desarrollo humano íntegro. La demanda de este tipo de café está en constante crecimiento y que constituyen una fuente de ingresos, para los campesinos que lo producen, Este tipo de producción es una gran alternativa. Al hablar del café orgánico nos referimos a un café libre de químicos y pesticidas que se cultiva en un estricto control de calidad y en armonía con la naturaleza. Los cultivos de café orgánico se rigen por normas internacionales de producción que son vigiladas bajo un sistema que nos garantiza que realmente es un producto que tiene la protección del entorno.

Como bien se sabe que el café orgánico ha tomado gran importancia en México, ya que dicho cultivo se generó en la década de los ochenta que en su momento ocupó el quinto sitio por superficie cosechada, antecedido por el maíz, el sorgo y el frijol. México ocupa el sexto sitio en exportaciones de café y el primer lugar a nivel mundial en producción de café orgánico. Chiapas es uno de los estados con mayor producción de café en el país con el 85% del total de la producción, por supuesto uno de los estados con mayor producción orgánica.

Durante el desarrollo de las plantas de café sus nutrientes están disponibles en el suelo. Cuando los suelos no tienen la capacidad suficiente

para suministrar los nutrimentos necesarios, entre las que se pueden encontrar, la poca producción de los cafetos, producen mayor cantidad de frutos vanos, los arboles de cafeto y fruto son susceptibles al ataque de plagas y enfermedades, esto es por cual se reduce su potencial productivo. En los cafetales con manejo orgánico los arboles de sombra aportan sobre la superficie del suelo cantidades hojarascas que mejoran la fertilidad del suelo, lo que en conjunto con la aplicación de compostas constituyen una fuente importante de materia orgánica. Esta materia orgánica al transformarse en humus, por la acción microbiana, devuelve los nutrimentos al suelo estableciéndose con ello un equilibrio nutrimental.

La estimación de biomasa microbiana en suelos tiene interés debido a que los microorganismos del suelo juegan una función importante en la retención y liberación de nutrimentos y energía. Para evaluar el flujo de nutrimentos y energía en el sistema suelo deben tomar en cuenta la función de la biomasa microbiana del suelo.

La gran importancia de la endomicorriza en café ha sido recientemente enfatizada por estudios que han demostrado incremento en el crecimiento, por su mayor utilización de nutrimentos e incrementos en la supervivencia de plántulas jóvenes.

La parte aérea de la plántulas jóvenes de café, poseen cantidades muy altas de compuestos antioxidantes, los productos sólidos fabricados con el fruto de esta planta se apoyan en sus hallazgos sobre la base de la acumulación de compuestos fenólicos.



## **2 JUSTIFICACIÓN.**

El suelo es un recurso esencial en sistemas agrícolas y naturales, el mantenimiento de su calidad es fundamental para el desarrollo sustentable de las actividades humanas.

Las aplicaciones orgánicas utilizadas pueden tener efectos diversos sobre la calidad de los suelos en que se suministre, es importante devolver la fertilidad al suelo para que permitan la reducción de la contaminación del mismo. El cultivo sustentable del café permite al productor obtener café orgánico, proteger al ambiente y alcanzar mayores tasas de incremento de producción.

## **3 OBJETIVOS.**

### **3.1 Objetivo general.**

Analizar la influencia que algunos factores de clima, suelo y manejo tienen sobre niveles de porcentaje de biomasa, cuantificación de cafeína e identificación de fenoles.

#### **3.1.1 Objetivos específicos.**

- Colectar muestras de suelos de cafetales para la determinación de biomasa y respiración microbiana (por el método de fumigación-extracción con base en Jenkinson y Powlson, 1976).
- Determinación de biomasa fresca y seca de la parte aérea y radicular de plantas de café en vivero (variedad caturra roja y bourbon).
- Preparación de las plantas para la cuantificación de fenoles totales (extracción de compuestos).
- Estandarizar la técnica para determinar el contenido de fenoles totales en plantas de café en vivero, utilizando espectrofotometría ultravioleta-visible de acuerdo a sugerido por Makkar et al. 1993.
- Estandarización de técnicas para la cuantificación de cafeína, ácido clorogénico y fenoles totales en granos de café verde (variedad caturra roja). De acuerdo a la AOAC (2000), empleando espectrofotometría ultravioleta-visible.

## **4 HIPÓTESIS.**

La producción orgánica del café tiene un impacto favorable en el fortalecimiento productivo y en el crecimiento regional de los altos.

## **5 MARCO TEÓRICO.**

### 5.1 DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE CAFÉ.

#### 5.1.1 Introducción del café a México.

El café es originario de África Oriental, de las montañas de Etiopía; su comercialización comenzó en Europa entre los siglos XV y XVI; alrededor de 1720 se trajo a América, en donde se establecieron las primeras plantaciones Guayanas Francesa y Holandesa (castillo et al., 1996).

El café llega a México a fines del siglo XVIII, se introdujo a México en tres regiones: en el año de 1796 de la isla de Cuba a la región de Córdoba, Veracruz; en 1823 proveniente de Mokka, Arabia, se introdujo a Uruapan, Michoacán, en 1847 a Guatemala y Tuxtla Chico Chiapas. La primera exportación consistió en 272 quintales, el cual se realizó en el año 1802; a partir de esa fecha, en forma ininterrumpida el país ha continuado la producción y comercialización del grano, aun con los altibajos del precio de café (Castillo et al., Claridades Agropecuarias, 1997).

#### 5.1.2 Café orgánico.

Las características de la producción de café orgánico son el rechazo de los insumos químicos para la producción. Es decir El café orgánico es un café libre de químicos y pesticidas que se cultiva con un estricto control de calidad y en armonía con la naturaleza.

El café orgánico en México se cultiva bajo sombra, es decir, las matas del cafeto se cultivan intercaladas con árboles diversos tales como naranja, plátano, limón, aguacate. También dan sombra al café árboles que no dan producto, del género Inga. Estos cafetales son sistemas agroforestales que ofrecen numerosos beneficios ecológicos y económicos tales como: la protección y conservación de la biodiversidad; protección de suelos. La agricultura orgánica se rige bajo los principios de una

producción: Ambientalmente amigable: respetar y proteger el ambiente utilizando técnicas de producción en equilibrio y armonía con la naturaleza, evitando la destrucción de los recursos naturales en las zonas tropicales y subtropicales. Se puede decir que esto es Socialmente justa: orientada a mejorar la calidad de vida de los productores y de los consumidores.

Al conservar los ciclos de nutrientes y al contribuir al mejoramiento de las características físicas y químicas del suelo (fijación de carbono atmosférico, producción de oxígeno y materia orgánica) se obtiene un café de primera calidad cien por ciento orgánico.

### 5.1.3 TIPOS DE TRATAMIENTO.

#### 5.1.3.1 Abono

##### Bocashi.

Bocashi es un abono fermentado que se obtiene procesando materiales que son producto de actividades agrícolas (rastrajo, cascarilla de café, etc.), y que pueden ser utilizados y sustituidos según la disponibilidad que exista en la región. Esto lo convierte en una actividad práctica y de gran beneficio para el agricultor que quiere aprovechar todos los recursos con los que cuenta en el campo.

Para suministrar los nutrientes necesarios y adecuados al suelo, donde son absorbidos por las raíces de los cultivos para su normal desarrollo. Se debe utilizar la mayor diversidad posible de materiales, para garantizar un mayor equilibrio nutricional del abono.

su función es engordar el suelo y los microorganismos disponibles ponen a disposición los minerales para que lo utilicen las plantas o por medio de la erosión. Los nutrientes son asimilados por las plantas y puestos a disposición de las plantas, con lo que estimula el crecimiento de sus raíces y follaje Modo de usarse: La cantidad y la forma de aplicarse son muy variadas, depende del cultivo, sus necesidades y tipo de suelo.

##### Vermicomposta.

La lombricomposta, vermicomposta o humus de lombriz es el producto resultante de la transformación digestiva y metabólica de la materia orgánica, mediante lombrices de tierra, denominada lombricultura o lombricomposteo. Se utiliza fundamentalmente como mejorador o enmienda

orgánica de suelos, inoculante microbiano, enraizador, germinador, sustrato de crecimiento, entre otros. La lombriz cava túneles en el suelo blando y húmedo, succiona o chupa el desecho orgánico y digiere de ella las partículas vegetales o animales en descomposición, expulsando los elementos no digeribles y los residuos metabólicos, que son los que forman el humus. La lombriz de tierra se alimenta de desechos orgánicos y según avanza en este deposita sus desechos, convirtiéndolos en abono fértil, mejor que el que podría lograrse usando abonos artificiales. Los excrementos de la lombriz contienen 5 veces más nitrógeno, 7 veces más fósforo, 5 veces más potasio y 2 veces más calcio que el material orgánico que ingirieron.

La vermicomposta en desarrollo de las especies vegetales se ha demostrado que la aplicación de la vermicomposta ha incrementado el crecimiento y desarrollo de las plántulas y la productividad de una amplia gama de cultivos. El incremento en el crecimiento y productividad de la planta se ha atribuido a las características físicas y químicas que presenta la vermicomposta.

Los estudios con vermicomposta han demostrado consistentemente que los residuos orgánicos vermicomposteados tienen efectos benéficos sobre el crecimiento de la planta independientemente de las transformaciones y la disponibilidad de los elementos nutritivos.

Por lo tanto, parece muy probable que las vermicompostas, las cuales consisten de una amalgama de heces de lombrices humificadas y MO, estimulan el crecimiento de la planta más allá del generado por los elementos nutritivos minerales, debido a los efectos de las sustancias húmicas presentes en las vermicompostas o debido a los reguladores de crecimiento de la planta asociados con los ácidos húmicos.

**Sin abono (testigo).**

El suelo está compuesto por minerales, materia orgánica, diminutos organismos vegetales y animales, aire y agua. Es una capa delgada que se ha formado muy lentamente, a través de los siglos, con la desintegración de las rocas superficiales por la acción del agua, los cambios de temperatura y el viento. Las plantas y animales que crecen y mueren dentro y sobre el suelo son descompuestos por los microorganismos, transformados en materia orgánica y mezclados con el suelo.

- Los *minerales* provienen de la roca madre, que se deshace lentamente. También pueden ser aportados por el viento y el agua, que los arrastran desde otras zonas erosionadas.
- La *materia orgánica* es el producto de la descomposición de vegetales y animales muertos. Puede almacenar gran cantidad de agua y es rica en minerales.
- Los *microorganismos* o pequeños organismos son de dos tipos: los que despedazan la materia orgánica (insectos y lombrices) y los que la descomponen liberando los nutrientes (hongos, bacterias). Viven dentro del suelo y, además de intervenir para que la materia orgánica sea nuevamente utilizada por las plantas, ayudan a pulverizar las rocas. Lombrices e insectos forman poros que permiten la aireación, el almacenaje del agua y el crecimiento de las raíces.
- *Agua y aire* ocupan los poros, espacios entre las partículas de suelo que se producen por las irregularidades de su forma y tamaño. La distribución y tamaño de los poros es importante. Una excesiva cantidad de poros pequeños origina suelos compactos, pesados, húmedos y un pobre crecimiento de las raíces. Demasiados poros grandes forman suelos sueltos que se secan rápidamente. Cuando más pequeño es el poro, más difícil es para la planta absorber agua de él.

**Suelo: según la cantidad de cafetales se usa la cantidad de suelo**

### **Sombra**

Al tener árboles en el cafetal se contribuye a la captura de Bióxido de Carbono y otros gases que contaminan la atmósfera, con lo cual se mitigan efectos del cambio climático. Además, se modifican ciertos factores ambientales como la temperatura, en beneficio del crecimiento de raíces, ramas, hojas y frutos de nuestros cafetos. Asimismo, los árboles de sombra pueden generar ingresos adicionales o ahorros a las familias por la producción de madera, leña y frutos. Los árboles de sombra sirven de hábitat y fuente de alimento de diversas especies animales, entre los que destacan aves e insectos que facilitan el intercambio de polen entre las plantas y su reproducción. De esta manera se incrementan el número de frutas, plantas y semillas; la cantidad de arbustos, árboles y maderas nobles para el consumo o la venta y en general, el volumen total de biomasa sobre el suelo del bosque.

Como sombra principal de nuestros cafetales se recomiendan los árboles del género Inga. Leguminas, cuyas semillas podemos consumir o comercializar y cuyas plantas

tienen la capacidad de atrapar el nitrógeno del aire y fijarlo en las raíces mediante bacterias del genero Rizobium.

### **Mono específica.**

Este tipo de sombra monoespecífica son aquellos que son sombreados con dos o tres tipos de árboles especificadas o seleccionadas básicamente para los cafetales, que servirán para cubrir de los rayos solares y para realizar su ciclo de composta o abono.

### **Diversificada.**

El tipo de sombra diversificada son aquellos que están integradas por varios tipos de árboles y plantas como (árboles de guayaba, papaya, mango, anona, robles, plantas de guineo, chalum, incluyendo los arboles de sombra específica.

## **5.15 COLECTA DE SUELOS DE CUATRO CAFETALES PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOMASA Y RESPIRACIÓN MICROBIANA.**

### **5.1.5.1 La fertilidad del suelo.**

La fertilidad del suelo se podría decir que es la capacidad del suelo para aportar nutrimentos disponibles para para las planta. Además de los factores físicos y químicos, la fertilidad de los suelos depende de los factores biológicos.

En los ecosistemas fértiles los aportes continuos de hojarascas en el suelo está relacionada con la circulación de los nutrimentos; en este proceso los ecosistemas sostienen su productividad primaria neta y su estabilidad dinámica. El aporte de materia prima orgánica es muy importante ya que tiene un papel fundamental en: 1) Las propiedades físicas del suelo y 2) en las propiedades químicas. La materia orgánica producida por la vegetación es retornada al suelo y varia su porcentaje de producción de carbono. En muchos suelos agrícolas los residuos de cosecha son removidos para el consumo humano o animal. Estos hechos afectan algunas propiedades físicas del suelo, como su estructura y retención de humedad, y por supuesto incrementando pérdidas de partículas finas atraves de la erosión. La cual esto ocasiona la disminución en la cantidad de materia orgánica, nutrimentos y de biomasa microbiana del suelo.

El interés, en la calidad ambiental y en obtener una mayor cantidad de productividad de los agrosistemas ha originado la necesidad de desarrollar e implementar estrategias de manejo que conserven y protejan

los recursos del suelo y agua. En estos tiempos ha crecido el mayor interés en conservar la fertilidad de los suelos mediante la incorporación de residuos de cosechas, estiércoles o compostas de materiales orgánicos. La incorporación de materiales orgánicos incrementa la cantidad de materia orgánica, la biomasa microbiana y su actividad en el suelo.

Los análisis que se tienen como respuesta en el crecimiento del café, puede ser explicada, a partir de las características químicas del suelo; los suelos con mayor capacidad de suministros de nutrimentos, por lo general son responsables de un crecimiento vegetativo mayor.

El café requiere de una fertilidad alta, o ya sea de propiedades físicas que puedan facilitar la corrección de deficiencias de nutrimentos mediante adiciones sucesivas.

El café resulta beneficiado por la materia orgánica que ayuda a mejorar la estructura y las condiciones físicas del suelo, así como también a la solubilización de los nutrimentos tales como el potasio y el fósforo.

#### **5.1.5.2 La biomasa microbiana.**

La biomasa microbiana está compuesto de cinco grupos de microorganismos: bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios. Estas son el medio de biodegradación de la materia orgánica que se incorpora al suelo en diferentes intervalos de tiempo.

La biomasa microbiana ha sido utilizada como indicador del funcionamiento de ecosistemas en términos de transformación y reciclaje de nutrimentos en el suelo. Los cambios de biomasa microbiana se dan en periodos relativamente cortos e indican modificaciones en el contenido total de la materia orgánica. Esto es debido a que la biomasa microbiana del suelo está estrechamente relacionada con la cantidad de materia orgánica del suelo.

La estimación de biomasa microbiana es un parámetro importante para el entendimiento y predicción de los cambios que se dan a largo plazo en las condiciones del suelo.

#### **5.1.5.3 Factores que afectan la biomasa microbiana.**

Las actividades microbianas son afectadas intensamente por las condiciones físicas, químicas y ambientales del suelo en que se desarrollan. Las principales variables ambientales que influyen sobre los microorganismos del suelo están: humedad, aireación, temperatura, materia orgánica, acidez y suministro de nutrimentos inorgánicos. El agua es uno de los principales

componentes del protoplasma, en esto se requiere de un suministro adecuado para la función metabólica y para el desarrollo. Pero el exceso de agua puede ser perjudicial, debido a que reduce el intercambio gaseoso y disminuye el suministro de  $O_2$ , creando un ambiente anaerobio restringido para los microorganismos.

En cuanto a la temperatura fluye en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos del suelo, de dos maneras: cuando la temperatura aumenta, las reacciones químicas y enzimáticas de las células el cual son aceleradas, así como el crecimiento y funciones de estas; las proteínas, ácidos nucleicos y otros componentes celulares que son sensibles a las temperaturas pueden quedar inactivos; por el contrario cuando la temperatura desciende por debajo de un valor óptimo se inhibe el crecimiento microbiano.

También cada organismo presenta un intervalo de PH dentro del cual es posible su crecimiento y generalmente existe un PH definido. La mayoría de los ambientes naturales tienen intervalos de PH entre 5 y 9, y los intervalos más comunes de los organismos caen dentro de ese margen.

Suele saber que la eficiencia de la biomasa microbiana puede ser afectada en suelos contaminados por metales pesados.

El crecimiento microbiano normalmente está limitado por bajas concentraciones de sustrato orgánico y mientras los organismos pasan su ciclo de vida en un estado restringido, con baja actividad metabólica. Se sabe que las prácticas de labranza, la rotación de cultivos, el manejo de residuos y fertilización afectan la biomasa microbiana del suelo.

#### 5.1.6 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE CAFÉ CATURRA ROJA Y BOURBON.

La planta de café es un arbusto de la familia rubacea pueden llegar a medir entre 2.0 a 2.5 m de altura.

Las especies cultivadas en México son café arábica y café canéfora, hasta ahora se produce, un 96% de café arábica y un 4% de café robusta.

##### **Caturra roja.**

Caturra, originaria de Brasil, es una mutación de la Bourbon. Es de porte bajo 8 a 10, tronco grueso y poco ramificado e inflexible. Posee entre nudos muy cortos en las ramas y en el tallo lo que lo hacen un alto productor, sus hojas son grandes, de borde ondulado, anchas, redondeadas,



gruesas y de color verde oscuro. Las hojas nuevas son de color verde claro. Es un arbusto de un aspecto general compacto y de mucho vigor. Las ramas laterales forman un ángulo bien cerrado con el tronco. Su sistema radical está bien desarrollado lo que le permite adaptarse a diferentes condiciones. Es una variedad muy precoz y de alta producción por lo que requiere un manejo adecuado. El rendimiento del grano fluctúa alrededor de las 4.25 libras. y tiene mayor tolerancia al sol y se ha usado para el mejoramiento genético y progenitor de las variedades: Garnica, Catuaí, Oro Azteca.

### **Bourbon.**

Bourbón, originaria de la Isla Bourbon en África, llegó a México procedente de Guatemala por el Soconusco. También existe el Bourbón amarillo originario de Brasil. El Bourbón es una de las variedades más cultivadas en el estado de Chiapas, México. Es de porte alto y es de alta calidad.

La variedad Bourbon es una mutación de la Típica en la isla de La Reunión. La forma del arbusto es ligeramente cónica y su parte de intermedio a alto (10 a 12 pies de altura). Los entrenudos del tallo y las ramas son más cortos que en la Típica lo que lo hace tener una capacidad de producción superior. Tiene la tendencia a producir varios troncos y su respuesta a la poda es excelente. La abundancia de ramas es mayor que en la Típica y forman un ángulo más cerrado (45 grados) con el tallo central. Las hojas son más anchas y de borde rizado. Las hojas adultas son de color verde pálido y las nuevas de color verde claro. Se recupera fácil y rápidamente de los efectos de la cosecha. El fruto es más pequeño y corto con relación a la Típica, pero aparecen en mayor número. Tiene la tendencia a la caída del fruto con lluvias abundantes durante la cosecha. La calidad de la bebida es buena.

## **5.1.7 PLÁNTULA DE CAFÉ.**

### **5.1.7.1 Parte radicular.**

Parte radicular consta de parte del tallo y la raíz.

#### **La raíz.**

Es un órgano de mucha importancia; a través de ella la planta toma el agua y los nutrientes necesarios para su crecimiento y producción. En la raíz se acumulan sustancias que más tarde van a alimentar las hojas y los

frutos, y que hacen que el árbol permanezca anclado y en su sitio. (Figura 1 de raíz de café).

El cafeto tiene una raíz principal que penetra verticalmente en suelos sin limitaciones físicas, hasta profundidades de 50 centímetros. De esta raíz salen otras raíces gruesas que se extienden horizontalmente y sirven de soporte a las raíces delgadas o absorbentes, llamadas también raicillas.

Las raíces absorbentes del cafeto son bastante superficiales y se encargan de tomar el agua y los nutrientes minerales. En los primeros diez centímetros de profundidad del suelo se encuentran un poco más de la mitad de estas raicillas y el 86% en los primeros 30 centímetros.

#### **5.1.7.3 Parte aérea.**

El crecimiento de la parte aérea del cafeto se genera a partir de las células meristemáticas ubicadas en el ápice del tallo y de las ramas (yemas apicales) y en las axilas de las hojas (yemas laterales, yemas axilares y yemas seriadas).

#### **Hoja.**

Las hojas del cafeto. Son órganos fundamentales en los cuales se realizan los tres procesos fisiológicos más importantes que soportan el crecimiento y desarrollos vegetativo y reproductivo, éstos son: fotosíntesis, transpiración y respiración.

El ápice del tallo es el responsable de la formación de nudos, hojas y del crecimiento en altura de la planta (crecimiento orto trópico). En el ápice de las ramas ocurre la formación de nudos, hojas y la expansión lateral de la planta (crecimiento plagiotrópico).

La fotosíntesis es el proceso fisiológico que permite la elaboración de toda la materia hidrocarbonada necesaria para la planta.

La respiración es la función fisiológica en la cual la planta utiliza parte de los hidratos de carbono fotosintetizados para obtener la energía necesaria para los procesos de crecimiento y desarrollo. La respiración ocurre en todos los tejidos de la planta pero es particularmente intensa en las hojas y los tejidos jóvenes. La transpiración es la función mediante la cual la planta elimina por las estomas el exceso de agua absorbida por

el sistema radical. Tiene un papel importante en la absorción de agua y nutrimentos, y es un mecanismo de refrigeración de la planta.

### **Flor del cafeto.**

La floración del cafeto es un evento asociado estrechamente con las condiciones climáticas de cada región y generalmente se registra como el momento de la anthesis, cuando se abren las flores. Sin embargo, debe considerarse que la floración es un proceso de desarrollo complejo que inicia 4 a 5 meses antes de la apertura floral.

Las flores del cafeto se forman en las yemas ubicadas en las axilas foliares, en los nudos de las ramas. El proceso puede mirarse desde dos aspectos: a) desarrollo de la inflorescencia en las axilas foliares (nudos en las ramas) y b) desarrollo de las flores en cada inflorescencia.

Inducción floral e iniciación de la inflorescencia, que ocurre a nivel molecular a una tasa muy rápida y no diferenciable externamente.

Después de la inducción se inicia la inflorescencia y en este estado el nudo está rodeado por estípulas de color verde claro. El desarrollo de la inflorescencia continúa y puede durar de 30 a 35 días aproximadamente. La segunda etapa es la de desarrollo de los botones florales en las yemas. Termina en el momento en que se observan los botones florales adheridos entre sí y todavía sin abrir emergiendo en una inflorescencia multifloral. Los botones alcanzan el tamaño de un "comino". Esta etapa tiene una duración en promedio, de 45 días.

En la tercera etapa, los botones florales alcanzan un tamaño de 4 a 6 mm, se separan y aun verdes, cesan su crecimiento entrando en una fase de reposo que puede durar alrededor de 30 días. Esta inactividad es una verdadera latencia, inducida por la exposición continua de la yema a estrés hídrico o a factores endógenos.

En una cuarta etapa, las lluvias repentinas, la reducción súbita de la temperatura y la variación de los contenidos de ácido giberélico pueden estimular el crecimiento del botón floral latente, que aumenta su longitud 3 ó 4 veces. Los botones inician la etapa de preantesis, la cual se detecta por la coloración blanquecina de los pétalos, todavía cerrados (Figuras A). Esta etapa dura de 6 a 10 días.

La última etapa es la de antesis o florescencia (apertura de la flor) propiamente dicha (Figura B). Una flor abierta dura en promedio 3 días.

### **Fruto.**

El fruto de café es una drupa en la cual los tejidos externos en la madurez se separan, por una capa mucilaginosa, del endocarpio, delgado, duro y coriáceo, llamado pergamino.

La pulpa de la cereza madura está formada por el exocarpio (epidermis), que es la capa externa del fruto y representa el 43,2% del fruto en base húmeda. El color de la epidermis varía desde verde o amarillo hasta rojo o rojo intenso y algunas veces hasta violeta o negro. El color depende de la variedad de café y del grado de madurez del fruto.

Recubierto por la epidermis se encuentra el mesocarpio, el cual está constituido por una capa gruesa de tejido esponjoso de 5 mm de espesor, rico en azúcares y mucílagos, que recubre los dos granos, los cuales se encuentran unidos por sus caras planas. El mucílago representa el 11,8% del fruto en base húmeda.

Los granos están revestidos por una doble membrana: la primera es el endocarpio, amarillo pálido y de consistencia dura y frágil, comúnmente llamado pergamino, representa del 6,1% del fruto en base húmeda; y la segunda, más fina que la anterior y adherida al grano (albumen), llamada película plateada (tegumento seminal), que representa el 0,2% del fruto en base húmeda. El endospermo, también llamado café verde, representa el 38,9 y 55,4% del fruto.

### **5.1.8 EXTRACCIÓN DE FENOLES.**

#### **Composición de las hojas de café.**

Cafetánico, caprinito, cítrico, diurético, esteárico, glutaminico, isochlorogenico, linoleico, mirístico, oleico, palmítico, cafeico.

Las hojas de café poseen cantidades muy altas de compuestos antioxidantes, las hojas de café como de los productos sólidos fabricados con el fruto de esta planta se apoyan en sus hallazgos sobre la base de la acumulación de compuestos fenólicos en estas.

Las hojas del café son elípticas, levemente coriáceas, con la lámina y las márgenes un poco onduladas, de un color verde claro cuando

jóvenes y verde oscuro cuando completan su desarrollo. El área promedio que alcanza una hoja a plena exposición solar es de 30 a 40 cm<sup>2</sup>.

## 5.1.9 COLONIZACIÓN MICORRÍZICA.

### 5.1.9.1 Ciclo de vida y morfología de la micorriza va (vesícula arbuscular).

El hongo es un componente de la rizofera y coloniza la raíz a partir de las esporas del suelo. Cuando la hifa encuentra una raíz huésped crece direccionalmente a lo largo de la superficie de ésta. Posteriormente se une a la superficie de la raíz y penetra en su interior a través de las células epidérmicas. La hifa intracelular crece de forma rápida y a lo largo de estas hifas surgen ramas que penetran en las células corticales para formar los carbúnculos.

Es posible que en los procesos de crecimiento de la hifa en el interior de la célula huésped intervengan enzimas fosfatásicas. A veces la hifa intracelular aumenta correlativamente, engloba la célula huésped y da lugar a vesículas intracelulares, las cuales están por una pared fina, y actúan como órganos de reserva (Gómez, 1995).

La decadencia del hongo se debe a una desorganización de su protoplasto. Los cuerpos grasos y mitocondrias desaparecen y el citoplasma se hace cada vez más pequeña la cavidad. Posteriormente, durante las etapas finales de la interface hongo- huésped, el plasma fúngico se desintegra, el protoplasma muere y el contenido de la hifa puede ser asimilado por la célula huésped.

La Endomicorriza posee cuatro estructuras características: Hifas, Arbúsculos, Vesículas y Esporas.

#### Hifas.

Las hifas extra radicales se extienden en el suelo a más de un centímetro de la raíz, pudiendo alcanzar hasta los 8 centímetros a partir de ésta (Ocampo,1980).Sin embargo por otro lado, las hifas pueden tener crecimiento limitado, regulado por la planta.Las hifas extraradicales varían en tamaño, forma, diámetro, y grosor de sus paredes. Hifas de pared gruesa (20-30 micras de diámetro), las cuáles se consideran la base permanente del micelio.

Hifas finas, de pared estrecha (2-7 micras de diámetro), que son temporales y efímeras. Estas hifas son aceptadas durante la etapa de su desarrollo,

aunque cuando las condiciones de crecimiento son desfavorables o envejecen forman tabiques. Tiene un citoplasma, activo que poseen los componentes normales de las células tales como mitocondrias y retículo endoplasmático. Estas son multinucleadas con los núcleos diseminados que se usan, aunque a veces aparecen formados en pares.

La hifa extrarradical penetra la raíz, partiendo desde las células epidérmicas hasta la corteza de ésta, pero no penetra en la endodermis, tejidos vasculares, meristemos, tejidos estelares, clorofílicos, las partes viejas de la raíz. La hifa puede penetrar las células, pudiendo ser uno dependiendo de las plantas huéspedes. Estas hifas pueden formar anastomosis y circunvalaciones complejas que en algunos casos se forman en el interior de la célula pudiendo llenar la luz celular, aunque en otras células pueden estar ausentes.

La hifa intrarradical tiene (2.5-6 micras de diámetro y está rodeada por una pared celular de 10 nm de grosor). (Ocampo, 1980).

#### **Arbúsculos.**

La estructura del Arbúsculos es como un árbol, y se forma intraradicalmente dentro de la célula. El arbúsculo es de vida corta, pero también puede aparecer durante periodos largos mientras que el hongo crece y produce un nuevo, también se indica que estos arbúsculos tienen como función la transferencia de nutrimentos hacia el huésped.

Los arbúsculos tienen vacuolas individuales y abundantes gránulos de polifosfato almacenado en las vacuolas. En algunas de las ramas pequeñas del arbúsculos hay cuerpos para mulars multivesiculares, los cuales contienen pequeñas vesículas de 20 micras de diámetro.

#### **Vesículas.**

Las vesículas son cuerpos que contienen lípidos y se producen intercalados dentro de la corteza de la raíz. Las vesículas pueden tener forma ovals o esféricas, son intracelulares dependiendo de la especie del huésped y de sus condiciones nutrimentales que se encuentran situadas en las diferentes capas de la corteza de la raíz, aunque también hay vesículas en las hifa externa, Tienen un tamaño variable de 30-50 por 80-100 micras y hay casos en que son lo suficientemente grandes para poder modificar las células.

Cuando estas son jóvenes suelen tener pared delgada en las capas y protoplasma homogéneo. Cuando son maduras, las paredes son más gruesas y el protoplasma se hace vacuolado, con lípidos pocas áreas citoplasmáticas, mitocondrias y gotas de grasa. En algunos casos son multinucleadas, y en otros solamente tienen un núcleo periférico.

#### **5.1.9.2 Factores que afectan a la micorriza.**

Los factores que afectan el desarrollo de la micorrización son:

El exceso de agua es perjudicial para el hongo y por tanto para la micorrización. En saturación de agua, las plantas desarrollan un tipo de raíces gruesas y carnosas (raíces de agua) que actúan como verdaderas esponjas de acumulación, y no producen raíces micorrizables; La temperatura es un factor que afecta en menor medida a la viabilidad del hongo, y por lo tanto, al proceso de micorrización en el rango de temperatura en el que pueden sobrevivir los hongos micorrícicos es amplio, oscilando entre los 0 y 38 °C, aunque esto depende evidentemente de la propia especie; El pH del suelo, salvo valores extremos, o por tratarse de especies vegetales o fúngicas determinadas, tampoco es un factor excesivamente crítico para el proceso de micorrización. Es cierto que cada hongo tiene un óptimo de crecimiento a un determinado pH, pero su viabilidad suele estar asegurada en un amplio rango del mismo; El uso de fertilizantes, muchos trabajos han evidenciado un efecto negativo en la micorrización, en condiciones de altas concentraciones de fósforo, nitrógeno y potasio, cualquier elemento contaminante de materiales pesados, fungicidas, herbicidas o cualquier otro tipo de contaminantes, suelen afectar negativamente en la viabilidad del hongo y de la planta, y por consiguiente, en el proceso de micorrización.

#### **5.2. ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA, ÁCIDO CLOROGÉNICO Y FENOLES TOTAL ES EN GRANOS DE CAFÉ VERDE.**

El café es una bebida que se obtiene de las semillas tostadas de las plantas del café o cafetos. Los cafetos son arbustos de hoja perenne de la familia de las Rubiáceas.

El café tiene múltiples componentes. Los granos de café crudos tienen una composición diferente entre la variedad Arábica y la Robusta.

### 5.2.1 Composición.

Propiedades de la semilla de café.

CONSTITUYENTE	VERDE
ÁCIDOS: Ácido Quínico	0.4(70-80%)
Ácido Clorogénico	6.5
AMINOÁCIDOS	0.5
ALCALOIDES: Cafeína	1.2
Teobromina	0.3 - 0.7
PROTEINAS	10
TERPENOS	1.4 - 3.2
HIDRATOS DE CARBONO	38
FIBRA: Grasas	0.005
Lípidos	16.2
MINERALES: Hierro	4.2
Fosforo	
VITAMINAS: Niacina	0.133
Tiamina	
Colina	
SUSTANCIA: Aromas Volátiles	0.1

**TABLA 1:** Tabla de propiedades generales de los granos de café.



### En la variedad Arábica

La cafeína comprende el 1,2% de la materia seca, 4,2% minerales, de los cuales 1,7% es potasio; 16% lípidos, 1,0% trigonelinas, 11,5% proteínas y aminoácidos, 1,4% ácidos alifáticos, 6,5% despidos (ácidos clorogénicos), 0,2% glucósidos y 58% carbohidratos.

### En la variedad Robusta

La cafeína comprende el 2,2% de la materia seca, 4,4% minerales, de los cuales 1,8% corresponden al potasio; 10% lípidos, 0,7% trigonelinas, 11,8% proteínas y aminoácidos, 1,4% ácidos alifáticos, 10% ácidos clorogénicos y 59,5% glucósidos trazas y carbohidratos. El contenido de agua de los granos de café crudo comercial varía entre 8% y 12%.

### Cafeína.

Los granos de café o semillas son la parte del fruto que contiene mas cafeína.

Entre las **mezclas**, las que son **100%** de pura **Arabica** tienen un índice medio de cafeína alrededor del 1,3%, respecto a casi el doble de las **mezclas** de **Robusta**.

La **cafeína** no tiene sabor, se percibe solo como un toque de amargo.

Propiedades químicas de la cafeína La cafeína es un alcaloide del grupo de las xantinas, concretamente pertenece a la familia de las metilxantinas. Las bases púricas, son alcaloides derivados de la purina. Concretamente, provienen del anillo de la purina que se forma a través de la condensación de una pirimidina con un imidazol.

Su fórmula química es:  $C_8H_{10}N_4O_2$

Su nombre sistemático es: 1, 3,7-trimetilxantina, 1,3-dimetilxantina o 3,7-dimetilxantina.



**Figura 1:** Estructura molecular de la cafeína

Nombre IUPAC de la cafeína.

•3,7 dihidro, 1, 3,7-trimetil-1H-purina-2,6-diona.

La cafeína es utilizada principalmente en combinación con otros fármacos para la elaboración de analgésicos, antiinflamatorios, etc. Es también utilizada en la fabricación de productos cosméticos y aromáticos. Las materias primas de la cafeína son las hojas de café y teobromina.

En estado puro es un polvo blanco muy amargo.



**FIGURA 2:** Granos de café verde en granos y partículas pequeñas.

Punto de fusión:

Teórico: 237°C Experimental: 234-236,5°C.

### 5.2.2 Ácido clorogénico.

El ácido clorogénico es un compuesto fenólico natural presente en las hojas y frutas de plantas dicotiledóneas. Este componente es el principal componente fenólico del café y de forma natural se encuentra como mezcla de varios isómeros.

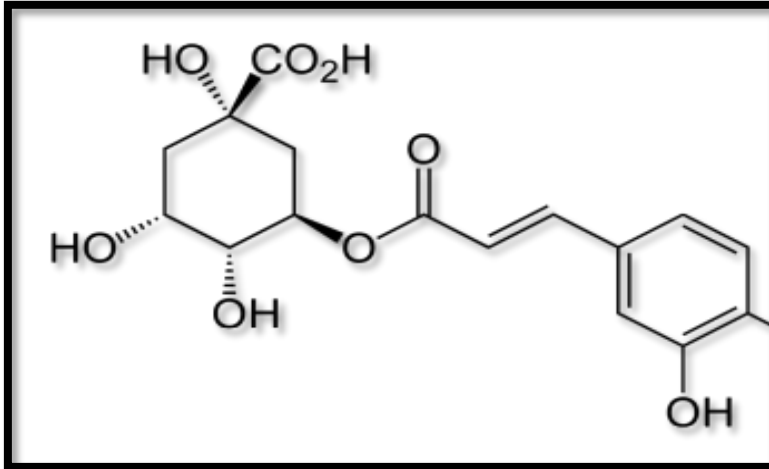
Este componente se obtiene en el café sin tostar, o café verde que contiene entre un 6% y un 7% de ácido clorogénico.

Datos químicos.

Formula molecular:  $C_{16}H_{18}O_9$

Estructura: éster del ácido cafeico con el grupo 3-hidroxilo del ácido quínico.

Sinónimos: Ácido 3-cafeoilquínico; Ácido carboxílico 1, 3, 4,5-tetrahidroxi- ciclohexano.



**FIGURA 3:** Estructura de Ácido Clorogénico.

Propiedades.

- Reduce la absorción de la glucosa de la dieta
- Reduce la síntesis de glucosa en el hígado
- Acelera el metabolismo de la glucosa.

Mecanismo de acción.

El ácido clorogénico inhibe la hidrólisis de la enzima glucosa-6-fosfatasa (G6P) de forma irreversible. En consecuencia, el ácido clorogénico es un reductor de la glicogenólisis hepática (transformación de glicógeno en glucosa) y reduce los niveles de glucosa.

## 6 METODOLOGÍA.

### 6.1 COLECTA DE SUELOS PARA CUATRO CAFETALES PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOMASA Y RESPIRACIÓN MICROBIANA.

Biomasa es el conjunto de materia orgánica de origen animal y vegetal en el suelo del bosque. Una forma de mitigar el cambio una forma de mitigar el cambio climático es a través de la captura de la captura de carbono ya sea en el suelo o en forma de biomasa, la cual incluye todo tipo de vegetación.

#### Materiales y Método.

MATERIALES	EQUIPO	REACTIVO
Tamíz		
PREINCUBACIÓN		
Frascos de vidrio	Incubadora	Agua
Termómetro		
FUMIGACIÓN		
Frascos de suelo	Desecador	Cloroformo
Termómetro		Alcohol
Cronometro		Agua
INCUBACIÓN		
Papel filtro	$N_aOH_1N$	Frascos con muestras
Termómetro		
DETERMINACION DEL $CO_2$		
Matraz		$B_aCl_2$
		Carbonato
		Fenolftaleína
		HCL

**TABLA 2:** Materiales para la determinaciones de biomosas.

## **Método.**

### **Preparación.**

1. Se tamiza la muestra del suelo para mover piedras y raíces.
2. Se separa una porción de la muestra del suelo tamizado para determinar el contenido de humedad.
3. Con una porción del suelo seco se determina la capacidad de campo, y con otra porción se determina el porcentaje de materia orgánica.

### **Pre incubación.**

4. Se pesan 4 porciones de 25 gramos de suelo y se colocan en frascos de vidrio.
5. Se adiciona agua hasta alcanzar 55% de la capacidad de campo.
6. Se incuban durante 7 días a 25° C.

### **Fumigación.**

7. En un desecador conectado a una bomba de vacío se colocan: la mitad de recipientes con la muestra de suelo, un recipiente con 50 ml de cloroformo libre del alcohol y un recipiente con agua.
8. Se cierra herméticamente el desecador y se aplica un vacío de 0.7 - 0.8 atmósferas o hasta que el cloroformo hierva vigorosamente durante 3 minutos, entonces quitar el vacío y dejar la muestra por 24 horas a 25° C.
9. Después de ese periodo se abre el desecador, se quita el recipiente con el cloroformo y se remueve el vapor residual del cloroformo mediante la aplicación de un vacío de 0.7 atmósferas por tres veces consecutivas.
10. Se guardan las muestras de suelo control sin fumigar en otro desecador, con el recipiente de agua, con el recipiente de agua pero sin el cloroformo, durante 24 horas 25° C.

## Incubación

11. Las muestras de suelos fumigados se inoculan con un gramo de suelo fresco sin fumigar y se mezclan vigorosamente. Las muestras de suelo sin fumigar no se inoculan.
12. Todas las muestras de suelo se llevan al 55% de la capacidad de campo mediante la adición del agua.
13. Dentro de cada frasco, tanto para suelo fumigado como sin fumigar, se introduce un tubo de ensaye con 5ml de NaOH1N y una pequeña tira de papel filtro. Los frascos se cierran herméticamente con el tapón de rosca.
14. Se incluye un banco de reactivos por duplicado que consiste en un frasco sin suelo en el que se introduce un tubo de ensaye con 5 mil NaOH1N y una pequeña tira de papel filtro. El frasco se encierra herméticamente con el tapón de rosca.
15. Los frascos son las muestras de suelos fumigados y sin fumigar, así como los dos frascos testigo sin suelo, se incuban durante 10 días a 25° C.

## Determinación del $CO_2$ .

16. Se vacía el contenido del tubo del tubo de ensaye en un matraz Erlenmeyer, transfiriendo también la tira de papel filtro.
17. Se adiciona 2 ml de  $BaCl_2$  al 2% para precipitar el carbonato, y se adicionan unas cuantas gotas de fenolftaleína al 1% como indicador.
18. La solución se titula con HCl de normalidad exactamente conocida (Aprox 0.05 N).

Para determinar el  $CO_2$  evolucionado de las muestras fumigadas y no fumigadas se realizaron los siguientes cálculos.

$$CO_2SF = (T - M) * CA * 22$$

Donde:

SF= Suelo fumigado

T=Volumen de HCl gastado en la titulación del NaOH del testigo.

M=Volumen de HCl gastado en la titulación del NaOH de la muestra.

CA= Concentración normal del HCl que se usó en la titulación.

22= Peso equivalente del bióxido de carbono ( $CO_2$ ).

$$CO_2SNF = (T - M) * CA * 22$$

Donde:

SNF= Suelo no fumigado.

T=Volumen de HCl gastado en la titulación del NaOH del testigo.

M=Volumen de HCl gastado en la titulación del NaOH de la muestra.

CA= Concentración normal del HCl que se usó en la titulación.

22= Peso equivalente del bióxido de carbono ( $CO_2$ ).

Para determinar la biomasa microbiana se utilizó la siguiente formula:

$$MB = CO_2SF - CO_2SNF/K$$

Donde:

BM=Biomasa microbiana

$CO_2SF$ =Bióxido de carbono evolucionado en el suelo fumigado.

$CO_2SNF$ =Bióxido de carbono de carbono evolucionado en el suelo no fumigado.

## 6.2 DETERMINACIÓN DE BIOMASA FRESCA Y SECA DE LA PARTE ÁREA Y RADICULAR DE PLANTAS DE CAFÉ (PORTE ALTO Y BAJO), (VARIEDAD CATURRA ROJA Y BOURBON).

### 6.1.1 Peso fresco de la parte aérea y radicular de la planta de café.

Para la realización de biomasa fresca y seca fue necesario ir al municipio de san Cayetano en donde, se encuentran los cafetales plantados en bolsitas pequeñas con diferentes tipos de abonos.

#### Materiales y métodos.

MATERIALES
Etiquetas
Charolas de plástico
Tijera

**TABLA 3:** Materiales para las plantulas de café.

#### Método.

1. Etiquetar las plantas de café conforme el tipo de abono.
2. Trasladar las plantas de café hasta el laboratorio.



3. Sacarlos de las bolsas.
4. Desboronar el suelo que cubre hasta que quede libre la parte radicular de la planta.
5. Lavarlas con abundante agua hasta dejar limpio la parte radicular y aérea de la planta.
6. Dejarlas escurrir 24 horas.
7. Dividir la planta de café en tres partes (raíz, tallo y hojas).
8. Se pesaron en una balanza inmediatamente después de dividirla en tres partes (raíz, tallo y hojas).

#### 6.1.2 Peso seco de la parte aérea y radicular de la planta de café.

##### Materiales Y Métodos.

MATERIALES	EQUIPO
Bolsas de papel	Estufa
Etiquetas	Balanza Analítica.

**TABLA 4:** Tabla de materiales para la determinaciones de biomásas.

##### Método.

1. Separar (raíz, tallo y hoja).
2. Se etiquetaron las bolsas.
3. Se introdujo en cada bolsa la raíz, tallo y hojas de cada planta.
4. Calentar la estufa a una temperatura de 120° C, durante 3 días.w
5. Retirar las bolsas de la estufa, después de 72 horas.
6. Separar en parte aérea y radicular.
7. Pesar y registrar datos.

### 6.3 PREPARACIÓN DE LAS PLANTAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES (EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS).

Después de separar la planta del cafeto en parte aérea y radicular, posteriormente se muelen.

Materiales y métodos.

MATERIALES	EQUIPO
Bolsas de plástico color Negro	Molino
Bolsas de plástico	Balanza Analítica
Espátula	
Etiquetas	
Marcador	

**TABLA 5:** Materiales para moler las hojas de café.

Método de preparación.

1. Peso 0.2 gramos de hojas de café secas y molidas.
2. Colocarlos en una bolsa de plástico.
3. Pasarlo por un tamiz de 500  $\mu$ m y coloque la muestra en un tubo de ensayo.

## 6.4 ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES EN PLANTAS DE CAFÉ EN VIVERO.

Materiales y método.

MATERIALES	EQUIPO	REACTIVOS
Matraz volumétrico	Tamiz	Metanol
Tubos de Ensayo	Centrifuga	Agua Destilada
Vasos de PP. de 1 Litro	Parrilla	
Vasos de PP. de 250 MI	Bortex	
Termómetro		
Agitador		
Imán Magnético		

**TABLA 6:** Materiales para la extracción de fenol.

Método.

Extracción de fenoles totales.

4. Pesar 0.2 gramos de hojas de café secas y molidas.
5. Pasar por un tamiz de 500  $\mu$ m y colocar la muestra en un tubo de ensayo.
6. Agregar 5ml de metanol-agua (70 / 30 v/v) a 70 ° C y tapar.
7. Dejar 10 minutos en baño termostático con agitación. Agitado en bortex cada 5 minutos.
8. Sacar el tubo del baño, dejar enfriar a temperatura ambiente y centrifugar, luego recoger el sobrenadante.
9. Agregar 5 ml mezcla metanol-agua (70/30 v/v) a 70 ° C y tapar.
10. Juntar los sobrenadantes.
11. Estandarización de fenoles.

#### 6.4.1 Preparaciones para lectura de fenoles.

Materiales y método.

MATERIALES	EQUIPOS	REACTIVOS
Tubos de ensayo	Bortex	Folin-Ciocalteu
Matraz volumétrico	Cromatografía	Carbonato de sodio
Vaso PP.		Agua destilada

**TABLA 7:** Materiales para la lectura de absorbancia.

Método.

1. Agregar 1 ml de folin.
2. 3ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
3. 1 ml de muestra
4. 20 ml  $\text{H}_2\text{O}$ estilada
5. Dejar reposar 40 minutos.
6. Sacar lecturas.

#### 6.5 PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN MICORRÍZICA.

Materiales y método.

MATERIALES	EQUIPO	REACTIVOS
Agua	Autoclave	KOH
Vasos PP.	Microscopio	Peróxido de hidrogeno
Escurreidores		HCl
Rejillas		Azul de tripano
Pinzas		Lactoglicerol
Bisturí		
Portaobjetos		
Cubreobjetos		

**TABLA 8:** Materiales para la tinsion de las raíces.

### 6.5.1 Determinación del porcentaje de colonización micorrízica en raíces de café.

Se colectaron plantas de café en la comunidad de san Cayetano se tomaron plantas al azar de cada una de las siguientes variedades: bourbón y caturra, posteriormente se transportaron al laboratorio. En laboratorio se lavaron las raíces perfectamente con agua hasta separar completamente el suelo, se cortaron las raíces y se fijaron en FAA (Formol-Ácido Acético-Alcohol) hasta que se realizó el análisis. Las raíces de café se obtuvieron por separación de las mismas del suelo rizosférico colectado en las comunidades y se fijaron en FAA hasta su análisis.

#### Método.

La técnica usada es la de clareo y tinción de raíces de café agregando el KOH, dejándose reposar desde una noche antes y se realizaron el proceso las muestras con el KOH y con la presión adecuada.

1. Las raíces son lavadas con abundante agua corriente para eliminar el FAA.
2. Para aclarar las raíces se elimina el exceso de agua por filtración, entonces se adiciona KOH y las raíces junto al KOH se colocan a presión de vapor en el autoclave hasta alcanzar 10 libras de presión durante 10 minutos.
3. Se decanta el KOH y las raíces son lavadas con agua de la llave
4. Se adiciona peróxido de hidrógeno y se someten a vapor 10 minutos.
5. Las raíces son lavadas con abundante agua y se sumergen en HCl durante 3 minutos.
6. Se decanta el exceso de HCl y se agrega la solución y se agrega la solución colorante Azul de Tripano en lactoglicerol, entonces las raíces se someten a 10 libras de presión de vapor durante 10 minutos.
7. Se decanta el exceso de colorante y las raíces se lavan con lactoglicerol limpio.
8. Se colocan los segmentos de las raíces coloreadas en portaobjetos.

9. Se tapan con cubreobjetos, evitando formación de burbujas de aire.
10. Dejar secar al aire durante 10 minutos.
11. Las preparaciones se observan bajo el microscopio.
12. A cada campo que presenta estructuras fúngica [hifas, vesículas o carbúnculos.
13. El porcentaje de micorrización se obtiene dividiendo el número de campos colonizados entre el número de campos observados multiplicados por 100.

Para realizar la observación al microscopio de las estructuras micorrízicas y determinar el porcentaje de colonización de las raíces se montaron en portaobjetos, seleccionando las raíces más finas ya que es en éstas donde mejor se ven las estructuras.

La observación al microscopio se realizó mediante tres pasos en zig-zag a través de los segmentos de raíces montadas en el portaobjeto, con el objetivo de 100x.

En cada uno de los campos se notó la presencia o ausencia de estructuras micorrízicas y se obtuvo el porcentaje de infección de la siguiente manera:

$$\% \text{ de colonización} = \frac{N_o. \text{ de campos colonizados}}{N_o. \text{ total de campo observados}} (100).$$

## 6.6 ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA, ÁCIDO CLOROGÉNICO Y FENOLES TOTALES EN GRANOS DE CAFÉ VERDE.

Para llegar a una estandarización se pasa por un proceso para la obtención de semilla de café, desde la recolección de las cerezas hasta el secado de granos de café. De ahí comienza el proceso de limpieza de granos para obtener micro partículas de café verde.

## Materiales y métodos.

MATERIALES	EQUIPO	REACTIVOS
Materia prima (Café Verde)	Balanza Analítica	Folin-Ciocalteu.
Tubos de ensayo	Molino	Ácido clorogénico
Pipetas	Centrifuga	
Jeringa	Sonicador	

**TABLA 9:** Materiales para la trituración de granos de café.

### Método Preparación de café.

1. El grano se pulverizó mecánicamente a un tamaño de partícula de 20 mm) en un molino.
2. Los polvos de café verde y procesado se almacenaron a una temperatura de -20° C.

### Extracción de los Compuestos Fenólicos.

3. Se pesaron 0.2 g de muestra (café verde).
4. homogenizados con 20 mL de agua a 75 °C.
5. Es sometido a movimientos ultrasónicos.
6. Centrifugado.
7. Extracción. (repetir la extracción dos veces y juntar sobrenadantes).
8. Los sobrenadantes fueron mezclados y filtrados en papel Whatman.

### Identificación y Cuantificación de Compuestos Fenólicos y Cafeína

9. Se introdujeron 20 µL de extracto acuoso a una columna LC18 (30 x 0.4 cm x 5 mm tamaño de partícula).
10. Las lecturas se hicieron en cromatografía.

### Determinación de Fenoles Totales.

11. Las determinaciones se realizaron espectrofotométricamente
12. Utilizando ácido clorogénico como estándar.

## 7 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

### 7.1 COLECTA DE SUELOS PARA CUATRO CAFETALES PARA LA DETERMINACIÓN DE BIOMASA Y RESPIRACIÓN MICROBIANA.

#### 7.1.1 Niveles de biomasa microbiana.

En el presente trabajo se estudió un total de 207 muestras de suelo. De las cuales fueron traídas de san Cayetano Y el Bosque, Chiapas. Los valores de biomasa microbiana encontrados en el conjunto de parcelas fueron desde 5.10 hasta 14 de suelo en las muestras. Con un valor promedio de 9.1790.

Niveles de biomasa microbiana estadísticos.

Casos					
Incluidos		Excluidos		Total	
N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
207	99.50%	1	0.50%	208	100.00%
207	99.50%	1	0.50%	208	100.00%

Media	9.1790	104.000
N	207	207
Desv. típ.	0.94615	59.89992
Mínimo	5.10	1.00
Máximo	14.00	207.00
Rango	8.90	206.00

**TABLA 10:** Rangos estadísticos de biomasa microbiano.

En la (cuadro 11) y (cuadro 12) se presentan los histogramas de frecuencias de las clases de biomasa microbiana definidos arbitrariamente para la muestra de san Cayetano el Bosque.

En ellas podemos observar que los rangos de biomasa encontrados son el orden de, lo que nos permite ver que la parcela de la comunidad de san Cayetano se encuentra dentro de estos rangos. Esto se debe probablemente a que los cafetos se encuentran bajo árboles de sombra, los cuales



proporcionan hojarasca sobre la superficie del suelo y por lo tanto aumentan los contenidos de materia orgánica conjuntamente con los niveles de biomasa microbiana.

$$BM = CO_2SF - CO_2SNF/K$$

RESULTADO %	RESULTADO %
0.4675	25.3432979
-2.7408333	12.0676471
7.37916667	13.5752941
-1.8791667	13.349902
-5.5916667	9.76411765
0.73333333	19.5001961
-4.7575	7.04539216
22.5	13.1175
34.46	16.1058333
20.09	-1.6225
20.27	-0.0275
4.26893617	-63.009091
	16.51

**TABLA 11:** Resultados de determinación de biomasa.

		Excluidos		Total
Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
96.20%	1	3.80%	26	100.00%

**TABLA 12:** Datos estadísticos de biomasa microbiana en las muestras de suelo estudiada.

## 7.1.2 EFECTOS DE SOMBRA Y LA UBICACIÓN SOBRE LOS NIVELES DE BIOMASA MICROBIANA.

Los niveles de biomasa microbiana observada en la parcela pueden estar relacionado con la cantidad y calidad bioquímica de la hojarasca aportada por los árboles de sombra.

Es importante señalar que los cafetos en producción se encontraron principalmente bajo sombra por lo que en el presente trabajo se consideró como sombra especializada, con predominancia chalum o como sombra diversificada, en donde además de chalum, se encontraron árboles frutales cítricos y plátano, y/o algunos otros árboles como guarumbo, ciprés y pino como principal productor de abono.

Por las características de la zona, y la temperatura en el municipio de Cayetano se incluyeron parcelas con plántula de café, que corresponden a terrenos con pocos años de haberse incorporado al cultivo de maíz y luego café o directamente con café, respectivamente. Ello puede ayudar a explicar los niveles más altos de biomasa microbiana encontrados en las parcelas clasificadas como sombra natural.

### 7.1.3 Determinación de biomasa microbiana.

La importancia del aporte de la materia orgánica en un sistema agrícola, radica en el equilibrio de los nutrimentos y en el mantenimiento de la producción agrícola. El aporte continuo de la hojarasca sostiene la recirculación de los nutrimentos aumentando la biomasa microbiana. En el presente estudio se encontró que 63.01 hasta 34.46 y un alto nivel de significancia entre la biomasa microbiana y materia orgánica del suelo, lo cual nos permite observar la estrecha relación y grado de dependencia que la biomasa microbiana tiene respecto a la cantidad de materia orgánica, entonces eso quiere decir que la biomasa microbiana es una pequeña fracción de la materia orgánica que contribuye a la nutrición de las plantas. La materia orgánica en los suelos estudiados varió desde 3.8 % hasta 92.6 % por lo que, con excepción de algunas parcelas, se encuentra dentro del rango en donde se señala que el cafeto requiere arriba del 7%.

Media	N	Desv. típ.	Mínimo	Máximo	Rango
7.0768	25	17.96646	-63.01	34.46	97.47

**TABLA 13:** Estadísticos de significados de Biomasa.

## 7.2 DETERMINACIÓN DE BIOMASA FRESCA Y SECA DE LA PARTE AÉREA Y RADICULAR DE PLANTAS DE CAFÉ (PORTE ALTO Y BAJO), (VARIEDAD CATURRA ROJA Y BOURBON).

En el presente trabajo se estudió el total de biomasa fresca y seca de la parte aérea y radicular de planta de café. El cual se analizaron 293 muestras realizándole la determinación de humedad.

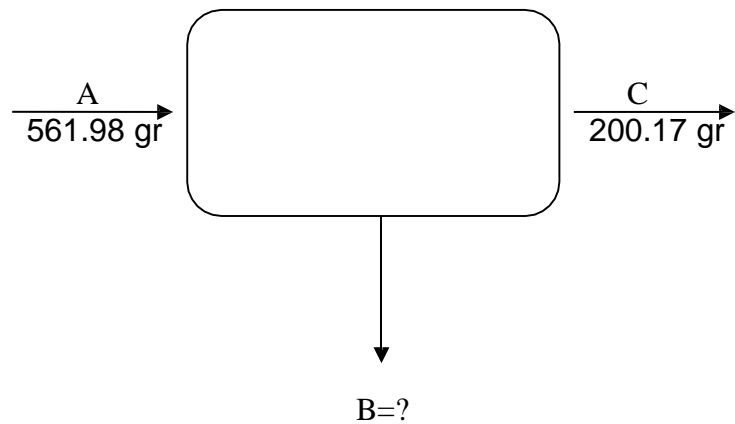
PARTE AÉREA		PARTE RADICULAR			
FRESCO (HOJA) A	SECO (HOJA)C	FRESCO (TALLO) D	SECO (TALLO) F	FRESCO (RAIZ) G	SECO (RAIZ) I
561.98 gr	200.17 gr	187.11 gr	70.034 gr	165.4 gr	82.8449 gr

**TABLA 14:** Peso total fresco y seco (aérea y radicular).

### 7.2.1 Determinación de humedad.

Hojas

FRESCO (HOJA) A	SECO (HOJA) C
561.98 gr	200.17 gr



$$A=561.98 \text{ gr.}$$

$$B=?$$

$$C= 200.17 \text{ gr.}$$

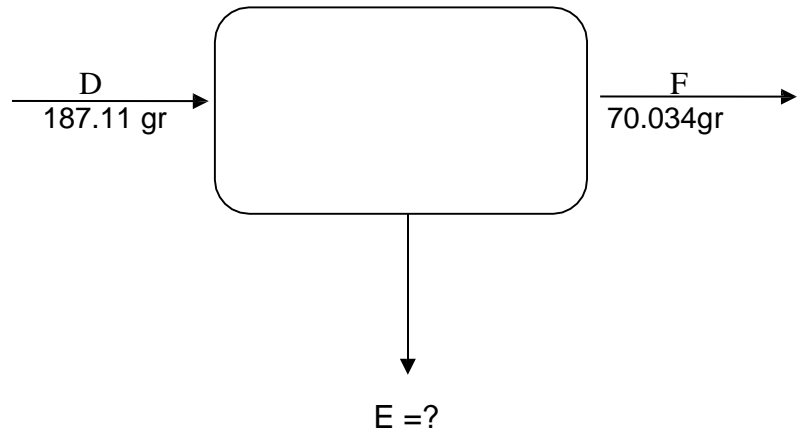
$$A - C = B$$

$$561.98 - 200.17 = B$$

$$B= \underline{361.81 \text{ gr.}}$$

Tallo

FRESCO (TALLO) D	CECO (TALLO) F
187.11 gr.	70.034 gr.

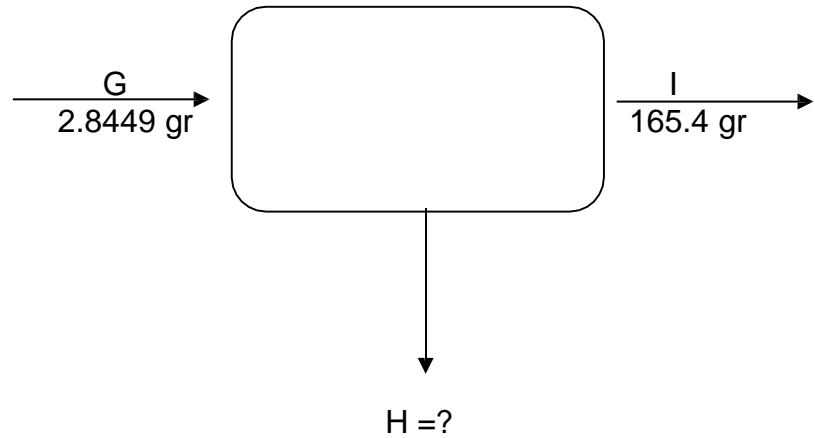


D= 187.11  
gr. E=?  
F= 70.034 gr

D – E = F  
187.11 – 70.034 = F  
F= 117.076 gr.

Raíz

FRESCO (RAIZ) G	SECO (RAIZ) I
165.4 gr	82.8449 gr



$$G = 165.4$$

$$\text{gr. } H = ?$$

$$I = 82.8449 \text{ gr.}$$

$$G - I = H$$

$$165.4 - 82.8449 =$$

$$H = 82.5551 \text{ gr.}$$

### 7.3 RESULTADOS ESTADÍSTICOS PARA EXTRACCIÓN DE FENOL EN HOJAS DE CAFÉ.

A partir de la extracción de fenoles se realizó la curva estándar de Ácido Gálico para la cuantificación de fenoles conforme el método de Folin Ciocalteu y se comparó con las muestras de café leyendo en espectrofotómetro a 760 nm; se expresan los resultados en  $\mu\text{g}$  equivalentes de Ácido Gálico/gr. de muestras.

En la siguientes graficas se muestra los valores, en color Rosa la curva de Ácido Gálico, en Menta se observa las concentraciones de la muestras de absorción de fenol, en donde cada tipo de tratamiento presenta una concentración en  $\mu\text{g}$  equivalentes en Ácido gálico/gr. de muestras, las concentraciones de cada sustrato varían dependiendo el tipo de tratamiento.



**FIGURA 4:** Grafica de fenoles totales.

En esta grafica se observan las concentraciones (compuesto) y la absorbancia de cada tratamiento. Las concentraciones del compuesto, tanto en la curva estándar (en Rosa) como en las concentraciones equivalentes muestras de hojas de cafe (en Menta). Se puede observar que el tratamiento 2 presenta una concentración mayor, al presentar  $12.381 \mu\text{g}$  equivalentes de fenoles/gr. de muestras, mientras que el tratamiento 1 presenta  $12.212 \mu\text{g}$  y el tratamiento 2 tiene  $9.461 \mu\text{g}$ .



**FIGURA 5:** Grafica de fenoles totales.

En esta grafica se observa las concentraciones de cada compuesto en la curva estándar tanto como en las concentraciones equivalentes, se muestra que el tratamiento 2 presenta una concentración de 13.78  $\mu\text{g}$ . el tratamiento 1. Presenta una concentración 12.24  $\mu\text{g}$ , mientras que el tratamiento 3 presenta una concentración de 9.355  $\mu\text{g}$ .



**FIGURA 6:** Grafica de fenoles totales.

Esta grafica muestra los valores, donde el tratamiento 3 presenta 14.148  $\mu\text{g}$ .seguidos de el tratamiento 1 y el tratamiento 2.





**FIGURA 7:** Gráfica de fenoles totales.

En esta gráfica se observa que la concentración de los tratamientos han sido muy efectivos ya que no hay mucha variación en la concentración del compuesto entre las concentraciones de los equivalentes, en donde el tratamiento 3 tiene una concentración de 12.981 µg., tratamiento 2 con una concentración de 12.598 µg. y el tratamiento 3 con 12.576 µg.



**FIGURA 8:** Gráfica de fenoles totales.

Teniendo en el tratamiento 3 una concentración mayor con 13.443 µg y seguido el tratamiento 2 con 12.679 µg teniendo la concentración más baja de 12.548 µg del tratamiento 1, ya que pudo haber una disminución de concentración en la muestra, con un resultado de 0.7538 en la línea de tendencia.



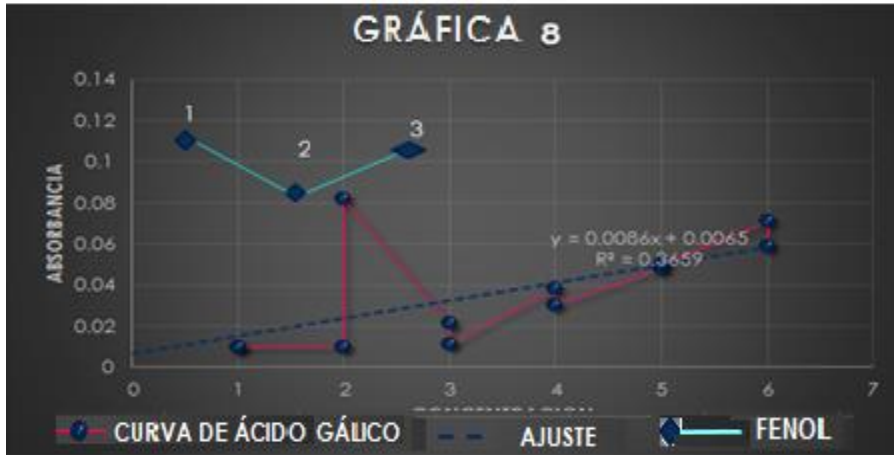
**FIGURA 9:** Gráfica de fenoles totales.

En esta grafica se observa que tenemos una concentracion mayor en el tratamiento 3 , al presentar 13.15  $\mu\text{g}$ . seguido el tratamiento 2 con 12.689  $\mu\text{g}$  y el tratamiento 1 con 10.456  $\mu\text{g}$ .



**FIGURA 10:** Gráfica de fenoles totales.

En la tabla nos muestra el resultado obtenido de fenoles para los diferentes tratamientos en el tratamiento 3 se puede ver que el valor es de 13.476  $\mu\text{g}$ . Y el valor más bajo es del tratamiento 1 con 10.548  $\mu\text{g}$ .



**FIGURA 11:** Gráfica de fenoles totales.

En esta tabla se observa los resultados en donde los tres tratamientos no tienen una mayor diferencia de resultado entre ellos. El tratamiento 1 tiene resultado de 11.354  $\mu\text{g}$  y seguido del tratamiento 2 con el valor más bajo de 8.947  $\mu\text{g}$ , teniendo el tratamiento 3 con el valor de 11.123  $\mu\text{g}$ .

#### 7.4 PORCENTAJE DE COLONIZACIÓN MICORRÍZICA.

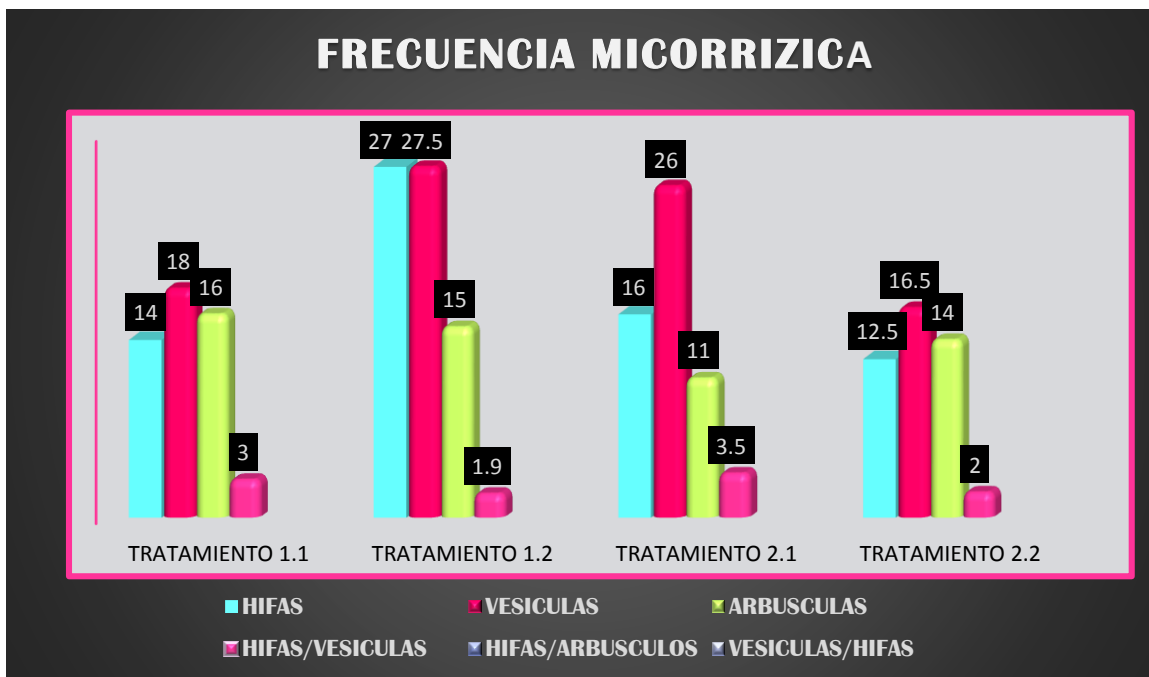
Para el municipio san Cayetano, se recolectaron 192 plantas de dos variedades de café con edad de 8 meses aproximadamente y se procesaron para obtener el porcentaje de colonización micorrízica, posteriormente se realizó un análisis de varianza. Los niveles de colonización debido a la presencia de hifas, vesículas y arbusculas en las raíces no variaron significativamente entre las variedades de café: bourbon y caturra, entre estas variedades se encontraron que únicamente el porcentaje de vesículas/arbusculas fue significativamente menor y estos se localizan principalmente en las raíces más próximas a la superficie del suelo.

##### 7.4.1 Número de segmentos, porcentaje de colonización y promedio micorrízica en plantas de café.

Los estudios de café se encontraron rangos de colonización micorrízica de 52% hasta 88%. Con promedios de 52%, 66%, 76%, 84% y Con cantidades totales de 70%, 64% y 61%. En el conjunto de muestras rizosféricas analizadas (n=192), en las siguientes figuras indican que las plantas de café en vivero bajo manejo orgánico presentaron valores de colonización micorrízicas mayores de los rangos encontrados en estudios previos.

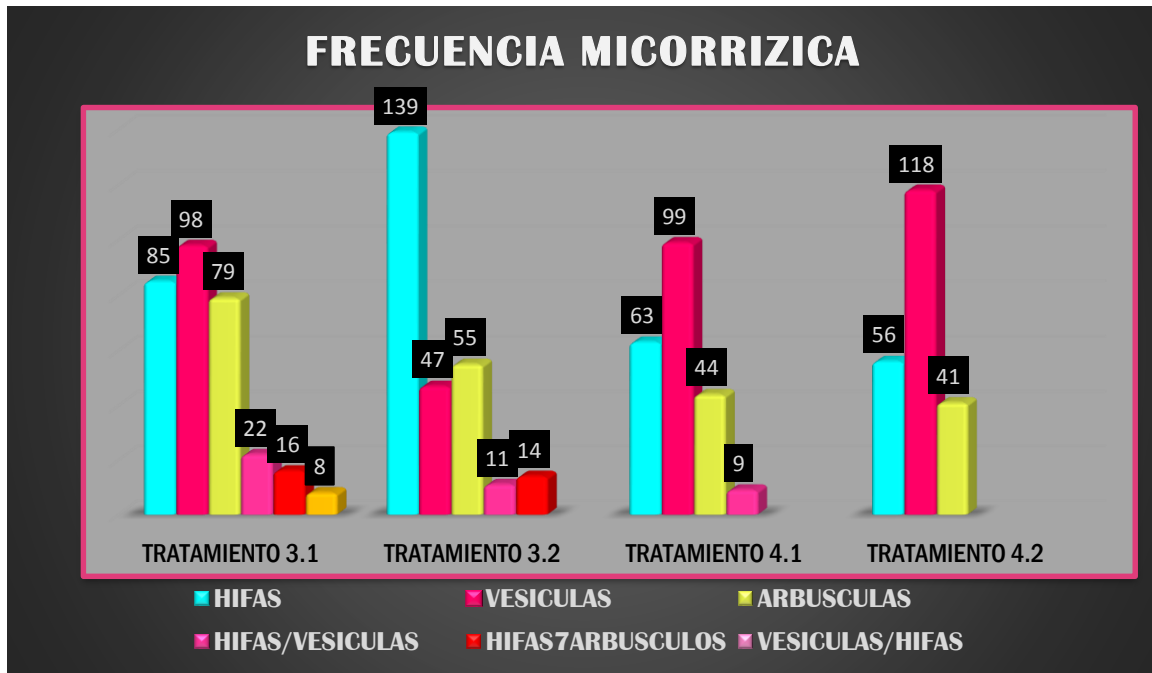
## Histogramas de frecuencia micorrízica.

La intensidad de la colonización micorrízica de los cafetos del municipio san Cayetano presentó una alta variación (figura 12). En el conjunto de muestras rizosféricas analizadas.



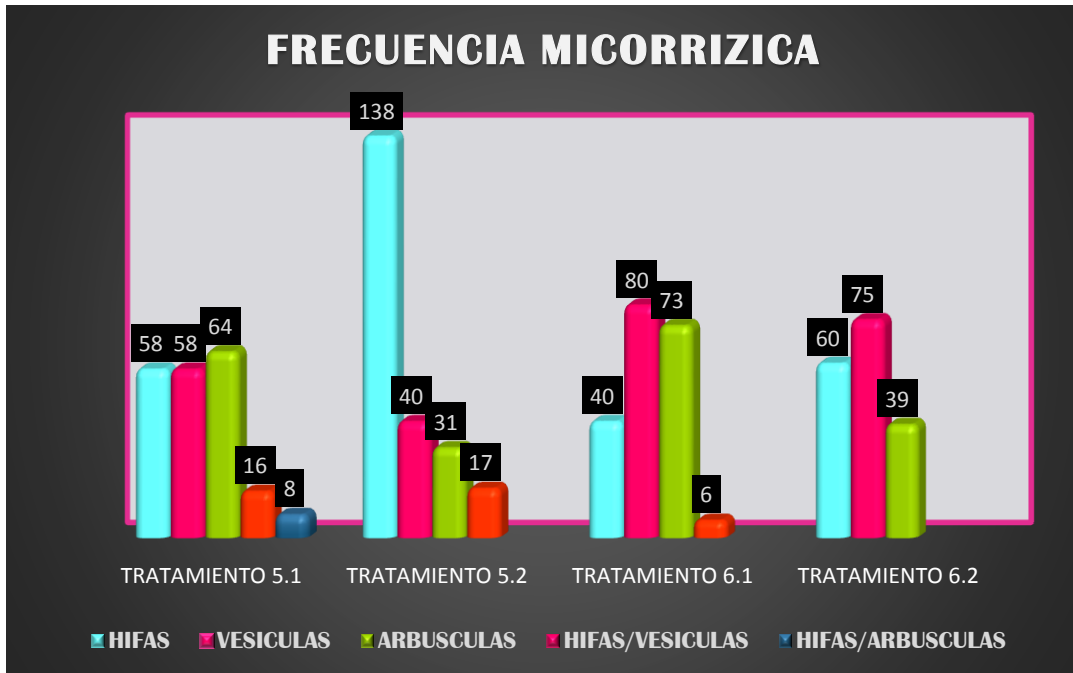
**Figura 12:** Histogramas de frecuencia micorrízica.

La (figura 13) la presencia de Vesículas/Hifas en las raíces colonizadas de café varían los resultados ya que en el tratamiento (3.2, 4.1 y 4.2), no se observaron estructuras micorrízicas, en los cuatro tratamientos se observaron el alto nivel de estructura micorrízicas de hifas seguido de vesículas y arbusculas, y de menor nivel micorrízica de las (h/v, h/a, v/h).



**Figura 13:** Histogramas de frecuencia micorrízica.

El análisis de la (figura 14), muestra cinco variedades de colonización micorrízica: entre los niveles más alto se encontraron las hifas y de nivel más bajo fueron las hifas/Arbúsculos.



**Figura 14:** Histogramas de frecuencia micorrízica.

#### 7.4.2 Porcentaje estadísticos de colonización micorrízica.

En el conjunto de muestras (tabla 16) se encontraron niveles de colonización debido a la presencia de Vesículas desde 17 hasta 116, con una media general de 57, las Hifas a un 13 hasta 140, con una media de 58. En menor proporción se encontraron los arbusculos, hifas/arbusculos, hifas/vesículas y de muy escaso se encontró la vesículas/hifas con una media de 39, 7, 9, 4 respectivamente.

ESTADISTICOS DESCRIPTIVOS					
ESTADISTICO	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv.tipica
VESÍCULAS	12	17.00	116.00	57.6667	33.87768
ARBÚSCULOS	12	12.00	76.00	39.75	23.23839
HIFAS	12	13.00	140.00	58.5833	43.15186
HIFAS/ARBÚSCULOS	9	1.00	24.00	7.6667	7.4162
HIFAS/VESÍCULAS	3	4.00	12.00	9.33333	4.6188
VESICULAS/HIFAS	1	4.00	4.00	4	

**TABLA 15:** Datos estadísticos de colonización micorrízica de café.

TRATAMIENTO: 1.1																												
· Monolito 1																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	%Promedio
1	V	H	-	-	V	-	V	V	A	H	A	A	-	-	-	A	-	-	-	H	-	A	V	A	-	14	56	64
2	V	V	-	-	-	H	-	V	A	-	H	-	-	V	-	-	H	-	V	H	H	-	A	-	-	12	48	
3	V	H	H	-	H	-	A	VA	V	H	H/V	A	HA	H	V	VA	H/V	V	H	-	V	A	V	A	A	22	88	
TRATAMIENTO: 1.2																												
Monolito 2																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	%Promedio
1	V	H	A	A	H	-	H	VH	H	H	H	VAH	HA	HA	-	-	V	V	V	A	V	A	H	-	V	21	84	82.6667
2	V	-	V	H	V	V	-	V	V	H	-	V	H/V	H	H	-	H	V	-	H	V	H	AH	V	V	20	80	
3	H	H	A	V	H	A	-	H	AV	A	VA	-	-	V	V	V	A	H	H	-	H	V	V	H	A	21	84	
TRATAMIENTO: 2.1																												
Monolito 3																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	%Promedio
1	VA	H	V	-	V	H/V	H	-	-	-	A	-	V	AV	-	-	V	H	-	V	V	H	V	A	H	17	68	68
2	HA	H	-	H/V	V	V	V	-	-	V	A	-	V	H	A	V	H	-	-	V	H	-	A	-	-	16	64	
3	VA	A	-	V	-	V	H	HV	-	V	-	V	H	AV	V	-	H	H	V	-	H	V	HA	-	A	18	72	
TRATAMIENTO: 2.2																												
Monolito 4																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	%Promedio
1	V	H	V	A	H	-	A	H	-	V	-	V	H/V	-	-	A	-	-	-	V	V	-	H	-	H	15	60	64
2	A	-	-	V	-	V	H	-	H	-	A	-	A	V	-	-	A	-	-	H	A	A	H	V	-	16	64	
3	-	V	-	V	-	A	-	V	V	-	-	A	V	-	H	-	V	VH	-	-	-	A	H	HA	A	17	68	

CUATRO  
69.667

TRES  
71.555556

**TABLA 16:** Datos de número de segmentos, porcentaje de colonización y micorrízicas en plantas de café.



TRATAMIENTO: 1.1																												
Monolito 1																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	% Promedio
1	VH	V	H	V	H/V	V	-	AH	-	-	V	-	-	V	V	-	-	VH	H/V	H/A	-	-	-	V	AV	15	60	64
2	-	-	H/A	-	A	A	A	RF	AHV	A	H	HA	H/V	H	V	V	A	H	AHV	H	H/A	V	H	-	HA	16	64	
3	AV	-	H/V	V	-	-	HV	HV	AHV	A	H/V	HA	H/V	HA	H7A	H	V,A	H	AV	AV	V	A	V	V	HV	17	68	
TRATAMIENTO: 1.2																												
Monolito 2																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	% Promedio
1	V	H	AV	HA	H	H/A	-	H/A	H/A	H	H	H	-	AH	H/V	VH	A	-	AH	-	VA	H	HA	H	HA	21	84	66.667
2	H/V	V	-	HA	V	-	H	-	-	H	-	V	H	-	HV	H	-	V	HA	H	-	H	-	H	H	16	64	
3	VA	-	H	HA	HA	-	HV	-	-	-	-	-	H	-	H	-	-	-	H	V	-	H	H	H	H	13	52	
TRATAMIENTO: 2.1																												
Monolito 3																									TRES			
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	% Promedio
1	V	H	V	V	HV	H/V	-	V	-	VA	H	A	-	H	A	H	-	V	H,A	-	V	-	A	V	-	18	72	76
2	-	-	-	-	HV	-	VA	-	-	-	V	V	V	HV	HV	H	A	A	-	-	-	-	A	-	-	19	76	
3	H	A	V	-	V	-	HV	H	-	VA	V	V	-	-	-	H	-	-	-	A	-	V	-	H	H	20	80	
TRATAMIENTO: 2.2																												
Monolito 4																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	% Promedio
1	-	V	V	-	V	-	V	-	-	AV	V	H	-	-	-	H	-	VH	-	-	V	V	-	V	-	12	48	52
2	V	H	H	V	V	-	-	A	-	-	H	-	-	H	V	H	-	V	A	V	AH	-	V	V	-	13	52	
3	AH	-	V	H	AV	H	V	V	V	V	V	VA	-	-	A	A	A	V	H	-	-	V	V	-	A	14	56	

**TABLA 17:** Datos de número de porcentaje de colonización y promedios micorrizas en plantas de café, segmentos

TRATAMIENTO :S1																												
Monolito 4																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	SPromedio
1	A	H	-	A	-	-	-	H	V	H/V	-	A	V	A	-	A	AV	H								11	48	
2	-	V	-	A	V	V	V	A	-	H/V	VA	-	-	AV	-	H	-	-								13	52	52
3	A	H	H	H/V	-	VA	V	HV	AH	H	H	-	V	HA	H	V	A	H/A								14	56	
TRATAMIENTO :S2																												
Monolito 4																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	SPromedio
1	H	H	H	V	A	H/V	-	-	VH	H	H	H	H	-	H	H	V	H	-	H	H	H	-	-	H	20	80	
2	HV	A	V	H	H	H	H	-	A	-	V	-	-	H	-	A	-	-	H/V	H	-	-	-	HV	H	21	84	84
3	VH	A	H	V	H	-	H	H	-	-	-	H	H	A	-	H/V	H/V	-	A	V	H	-	H	-	H	22	88	
TRATAMIENTO :S1																												
Monolito 4																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	SPromedio
1	-	-	-	H	H	-	A	-	-	V	-	V	-	V	-	H	A	-	H/V	-	A	-	V	H	HA	13	52	
2	V	A	V	A	-	-	-	-	V	V	A	V	-	HA	V	-	V	-	-	AH	-	A	V	A	-	14	56	56
3	V	-	-	V	A	-	A	V	-	-	H	VA	V	-	V	H	-	A	A	-	V	A	V	-	H	15	60	
TRATAMIENTO :S2																												
Monolito 4																												
Campo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	SUMA	%Colonización	SPromedio
1	V	-	-	H	H	-	-	V	-	-	V	-	V	-	-	H	-	-	H	-	VA	A	V	-	HA	11	48	
2	V	-	V	-	-	-	H	V	AH	-	V	-	V	H	-	A	-	H	-	A	H	A	-	-	V	13	52	52
3	V	-	-	V	V	-	V	-	-	V	-	V	-	-	H	-	H	-	-	H	A	-	H	-	A	14	56	

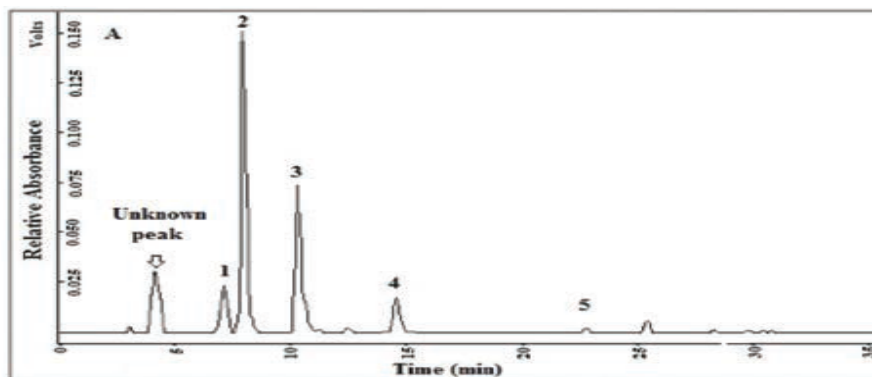
**TABLA 18:** Datos de Número de segmentos, porcentaje de colonización y promedios micorrízicas en plantas de café

## 7.5 ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA, ÁCIDO CLOROGÉNICO Y FENOLES TOTALES EN GRANOS DE CAFÉ VERDE.

### 7.5.1 Cuantificación de cafeína y Ácido Clorogénico.

El resultado se obtuvo usando el equipo de cromatografía, equipado con un detector de luz ultravioleta, se llevó a cabo con los tiempos de retención de sus estándares correspondientes.

Mediante en el grano de café significativamente se obtuvieron una concentración elevada de ácido clorogénico y Ácido cafeico, esto es debido al efecto que tiene el proceso de elaboración del café sobre la concentración de los compuestos. Y por la cual también se reportaron una concentración menor de cafeína. Los compuestos fenólicos producidos por las plantas son el resultado de la adaptación a las condiciones de estrés biótico y abiótico (infección, heridas, estrés por agua, estrés por frío, elevada luz visible). Por lo tanto, los porcentajes de las diferencias en la composición fenólica y la actividad antioxidante de los cafés de diferentes orígenes se puede deber a los factores ambientales a los que está sometida la planta de café.



**FIGURA 15:** Cuantificación Cafeína y Ácido clorogénico.

(A) Cromatograma de café verde (*Coffea arabica*) a 280 nm. estándares de referencia a 280 nm. Los picos corresponden a ácido cafeico (1), ácido clorogénico (2), cafeína (3), ácido ferúlico (4) y rutina (5).

### 7.5.2 Fenoles totales en granos de café verde.

Las determinaciones se realizaron espectrofotométricamente utilizando el método de Folin-Ciocalteu. Se utilizó ácido clorogénico como estándar, el contenido de fenoles totales fue expresado en mg de ácido clorogénico/g de peso de la muestra.

MUESTRA	% FENOLES TOTALES (mg/g)	COMPUESTOS FENOLICOS (mg/g).
Café verde (catarra roja)	65.19	18.7
Café verde (Bourbon)	56.73	17.8

**TABLA 19:** Porcentaje total de fenoles en grano verde.

El contenido de fenoles totales en café verde presentan una gran cantidad de fenol que reaccionan con el Folin-Ciocalteu, el porcentaje de fenoles totales encontrados para el café Caturra fue de 65.19 mg/g, reportaron contenido de compuestos fenólicos menores (18.7 mg/g). En el caso de café Bourbon en la cantidad de fenoles totales y compuestos fenólicos fue significativamente menor ( $p > 0.05$ ) en las muestras de café verde.

El porcentaje de la composición fenólica se puede deber a los factores ambientales a los que está sometida la planta de café.

## 8 CONCLUSION

En el trabajo de obtención de café orgánico se llevó un tiempo de 10 meses ya que de este proceso de obtención de café se sacaron datos conforme el desarrollo de la plántula y los resultados que se obtuvieron fueron variando dependiendo al tipo de clima, variedad y tipo de sombra.

En la obtención de biomasa verde se probaron en dos tipos de variedades de café (variedad caturra roja y bourbon), en las cuales se unieron dichas especies de café, para determinar la humedad en parte aérea y radicular, en la parte aérea se obtuvieron 187.11 gr. (en hojas), 187.11 gr. (en tallo) y 165.4 gr (en raíz) lo cual nos indica que tuvimos un buen resultado a pesar de que dos tipo de tratamientos no favorecieron a las plántulas de café.

En base a la obtención de resultados de humedad de biomasa seca de café se pusieron a secar por 72 hrs. para poder determinar la diferencia de humedad entre biomasa verde y biomasa seca, lo cual fue de 200.17 gr (en hojas) y la diferencia fue de 361.81 g lo cual se dice que es la perdida humedad. Para el tallo fue 70.04 gr en biomasa seca y diferencia de humedad fue 117.076.

Con esto determinamos que para determinar la biomasa vario. Esto es debido al efecto que tiene el proceso de sacado en la elaboración de biomasa en seco sobre la concentración de los compuestos.

En la extracción de fenoles totales en hojas, se encontraron una cantidad considerable de compuestos fenólicos que reacciona con el reactivo Folin-Ciocalteu, en algunos sustratos se observa que la concentración de fenoles totales variaron debido al tipo de tratamiento de Sombra, Abono, Clima. Lo cual esto estas marcaron la diferencia. En correlación en nuestra línea de tendencia en algunos sustratos marcaron el 0.5755, lo cual significa que estamos lejos del valor de la concentración de fenol, sin embargo la mayoría de los tratamientos mostraron la concentración de fenol cercano al valor 1, lo que significa que entre más cercano estemos al valor uno, es mucho más probable obtener una mayor concentración de fenol de café.

Para los niveles de biomasa se pueden atribuir a la diferencia tanto en la calidad de la materia orgánica como a su disponibilidad por el microorganismo. Se observa un incremento significativo de calidad del suelo orgánico debido al tipo de sombra en que permanecen y a las condiciones

bioclimáticas, de mayor temperatura aceleran las condiciones de biodegradación de la Materia orgánica.

De forma que se encontró correlación positiva entre el contenido de materia orgánica con los niveles de biomasa microbiana en las muestras de suelo.

El suelo es muy importante en el crecimiento de la planta de café. Para que la plántula de café tenga un crecimiento adecuado es necesario mantener el suelo en buen estado principalmente para que la raíz de la plántula de café absorba todo los nutrientes que se encuentra en el suelo. Esta tipo de tratamiento es importante para la planta de café ya que de esa forma se obtuvieron altos porcentajes de colonización micorrízica. Se estima que cerca 88% de las plantas han formado micorrizas arbusculares y muchos de estos hongos colonizan los tejidos más externos de la raíz desarrollando (Hifas, Arbúsculos, vesículas entre otros hongos) también se encuentran en la mayoría de los suelos.

Los granos de café obtenidos para este proceso son producidos de manera orgánica y seguida de un proceso de cosecha hasta el secado. En la cuantificación de granos de café Caturra y bourbon, no hubo gran % de diferencia de producción de cuantificación entre estos dos tipos de café, esto es debido al tipo al tratamiento que llevaron ambos especies, la cual favoreció a los granos.

En cuanto a determinación de fenoles totales, en el café de especie caturra se obtuvo el 65.19 % de fenoles y en el café de especie bourbon se obtuvo 56.73 %, con una diferencia de 0.124% y en cuanto a compuestos fenólicos es de 18.7% en café caturra y 17.8 % en café bourbon, queda claro que para la extracción de fenoles no hubo una gran disminución debido a que en las melanoidinas no tuvo disminución alguna.

En los granos de café verde presentan menor nivel de antioxidantes debido a su respectivo origen, en dicha especie de café es posible que la adición de azúcar al café Caturra haya estimulado la formación de melanoidinas y cafeína, mejorando así la actividad de antioxidantes.

En este estudio se identificaron y cuantificaron principalmente compuestos fenólicos en dos cafés verdes. La actividad de diferentes cafés se determinó por varios métodos por cuantificación, extracción, por determinación de biomasa y estandarización.

Los extractos analizados poseen un contenido de compuestos significativos, este contenido está activo desde la planta de café debido a los tipos de tratamiento que favorecen a los cafetales, lo cual se han estado implementando basándose en tipo clima, sombra entre otros factores que esto han ayudado a obtener un café cien por ciento orgánico y sustentable, libre de todo tratamiento químico.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

- ❖ Cruz Olloa, B.S.1995.Micorrizas. Un caso de simbiosis entre las plantas y hongos. Universidad Nacional Autónoma de México. Colegio de Ciencias y Humanidades, Planatel Sur. México.102 págs.
- ❖ Dr. Ruiz Figueroa José Feliciano.1991.Agricultura Bio-Intensiva Sostenible en el Minifundio Mexicano (Una alternativa para la producción de alimentos y el manejo ecológico del suelo). Primera edición. Págs.14-15.
- ❖ Farrera C.R., Jaen C.D. y Reyes S.M.G. 1988.Metodología para el manejo de la Endomicorriza Vesícula Arbuscular en la producción agrícola y frutícola. Curso de precongreso Ecología de la Raíz. Págs.6-17.
- ❖ Jenkinson, D.S. Y D.S. Powlson. 1976. The effects of biocida treatment on metabolism in soil-v. A method for measuring soil biomass. Soil Biol. Biochem 8:209-213.
- ❖ López N.U. 1995. El Carbono, Nitrógeno y Fósforo de la biomasa microbiana en suelos con diversos manejos. Tesis de Maestría. El colegio de Postgraduados, Montecillo, Edo. De México. Págs.158.
- ❖ Zagal, E.1993. Measurement of biomass in rewetted air-dried soil by fumigation-incubation and fumigation-extraction techniques. Soil Biol. Biochem. 25(5):553-559.



# ANEXOS

## IMÁGENES DE COLONIZACION MICORRIZICA

