

38
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

ANALISIS COMPARADO DE LIPIDOS, ACIDO
CLOROGENICO Y CAFEINA EN GRANO DE CAFE
VERDE (*Coffea arabica*) PROVENIENTES DE
CUATRO ESTADOS DE LA REPUBLICA
MEXICANA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A

CARLOS CONTRERAS HERNANDEZ



DIRECTOR DE TESIS: DRA. MA. CRISTINA PEREZ-AMADOR BARRON.



MEXICO, D. F.

1996

FACULTAD DE CIENCIAS
SECCION ESCOLAR

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



M. en C. Virginia Abrin Batule
 Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
 Facultad de Ciencias
 Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis:

"ANALISIS COMPARADO DE LIPIDOS, ACIDO CLOROGENICO Y CAFEINA EN GRANO DE
 CAFE VERDE (COFFEA ARABICA) PROVENIENTES DE CUATRO ESTADOS DE LA
 REPUBLICA MEXICANA"
 realizado por

CARLOS CONTRERAS HERNANDEZ
 con número de cuenta 8533279-9 . pasante de la carrera de **BIOLOGIA**

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis	DRA. MA. CRISTINA PEREZ-AMADOR BARRON	
Propietario	BIOL. CARMEN CRISTINA ADRIANO MORAN	
Propietario	DRA. NORMA EUGENIA GARCIA CALDERON	
Suplente	BIOL. JOSEFINA HERRERA SANJOYO	
Suplente	BIOL. JOSE LUIS REGINO CONTRERAS JIMENEZ	

FACULTAD DE CIENCIAS
 Departamento de Biología

M. en C. Alejandro Martínez Meha.
 COORDINACIÓN GENERAL
 DE BIOLOGIA

A la memoria del Maestro Nicolás Aquilera Herrera



"Eres Tú, divino café, cuyo amable brebaje sin alterar la cabeza abre el corazón." El buen decir del clásico poeta Delille (1738-1813)

Agradecimientos

Son pocas las palabras que escribo para expresar mi mas sincero agradecimiento a la Dra. Ma. Cristina Pérez-Amador Barrón por haber guiado y supervisado el presente trabajo que con gran paciencia y voluntad hicieron posible su realización y término.

Del mismo modo también agradezco al resto de mis sinodales

Biol. Carmen Cristina Adriano Morán

Dra. Norma García Calderón

Biol. Josefina Herrera Santoyo

Biol. José Luis Regino Contreras Jiménez

por su valiosa y oportuna colaboración en la supervisión y consejos que me ofrecieron. Especialmente a las Biols. Carmen Cristina Adriano Morán y Josefina Herrera Santoyo por haberme guiado y ayudado en todo momento y durante todas las etapas del trabajo.

También agradezco de todo corazón a la Dra. Patricia Guevara Fefer y a la M. en C. Aída Nelly García por su atenta ayuda que me brindaron cuando así se los solicite.

A mis compañeras tesisistas Tony, Martha, Eva, Matilde y Chuy por su amistad y compañerismo.

Agradezco muy especialmente a la Facultad de Ciencias y así mismo a la UNAM porque de ellas he obtenido lo que todos los mexicanos quisiéramos una formación digna y perdurable.

Dedicatoria

Esta tesis se la dedico con el más grande de los agradecimientos a mi familia es decir a mi padre Don Hipólito Contreras A., a mi madre Doña Ma. Isabel Hernández R., a mis hermanos, a mis sobrinos y demás, porque son ellos los pilares que en muchas ocasiones evitaron que me derrumbara; especialmente se la dedico a mi abuelo *Don Juan Contreras* de quien aprendí que la tierra es la forjadora de los hombres y que es la misma tierra el ente que derrama virtud.

A todos mis compañeros de escuela especialmente a Gabino, Fernando, José, Octavio y Jaime, porque siempre me animaron a continuar con mi trabajo.

A mis amigos Ángel Zamora, Gildardo Blas y Manuel Ruiz por su amistad y apoyo y porque sin su ayuda y comprensión me hubiera visto limitado para continuar mi trabajo.

Octubre de 1996.

INDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
GENERAL.....	3
PARTICULARES:.....	3
ANTECEDENTES.....	4
1. GENERALES.....	4
1.1. BOTÁNICA Y SISTEMÁTICA.....	4
1.2. CALIDAD DEL CAFÉ.....	7
1.3. CLIMA PROPICIO PARA EL CULTIVO DEL CAFÉ.....	8
1.4. EL CULTIVO DE CAFÉ EN MÉXICO.....	9
1.5. UBICACIÓN Y CLIMAS DE LOS SITIOS DE ORIGEN DE LAS MUESTRAS DE CAFÉ.....	11
2. PARTICULARES.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL CAFÉ.....	13
2.1. LÍPIDOS.....	13
2.2. CAFEÍNA.....	15
2.3. ÁCIDO CLOROGÉNICO.....	17
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
1. PREPARACIÓN DEL MATERIAL.....	19
2. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS.....	21
2.1. LÍPIDOS NEUTROS.....	21
2.2. FOSFOLÍPIDOS Y GLICOLÍPIDOS.....	22
2.3. DETERMINACIÓN DE PERFILES CROMATOGRÁFICOS.....	22
3. CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA.....	23
4. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO.....	25
RESULTADOS.....	28
1. LÍPIDOS NEUTROS.....	28
2. FOSFOLÍPIDOS Y GLICOLÍPIDOS.....	29
3. PERFILES CROMATOGRÁFICOS.....	30

3.1. LÍPIDOS NEUTROS.....	30
3.2. GLICOLÍPIDOS.....	30
3.3. FOSFOLÍPIDOS.....	32
4. CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA.....	34
5. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO.....	34
DISCUSIÓN.....	43
CONCLUSIONES.....	46
REFERENCIAS.....	47

INTRODUCCIÓN

El café es una de las bebidas más populares en todo el mundo. Desde hace 150 años ha sido muy importante desde el punto de vista comercial y ahora es uno de los principales artículos del comercio internacional (Stefanucci, A., Clinton, W.P. & Hamell, M., 1979). La principal razón de esta popularidad se debe a sus características de olor y sabor así como a los efectos estimulantes y refrescantes que provoca. Se considera que en la actualidad se explotan en todo el mundo fundamentalmente dos especies, *Colfea arabica* L. en un 75 % y *Colfea canephora* Pierre, en un 24 % aproximadamente, siendo la especie *C. arabica*, la más apreciada y de mayor consumo debido a que es considerada de mayor calidad (Slvetz & Desrosier, 1979).

El sabor y el olor del café tostado dependen de varios factores, como el tiempo y la temperatura de tostamiento, variedad, calidad de los granos, etc.

El café comprende en sí mismo, variedades, formas y tipos que hacen todavía más diversas las características específicas de los granos. A estos criterios botánicos se añaden otros menos evidentes, que resultan de la influencia del medio ecológico (el terreno, vegetación asociada, condiciones climáticas), las técnicas de cultivo, etc. Estas influencias y las características de origen genético, se traducen en diferencias más o menos acusadas en el grosor, la forma, el color, la estructura, e incluso la composición química de los granos.

Es conocido que el mismo grano verde contiene sustancias aromáticas y no aromáticas que influyen en el olor y sabor del café tostado características que se desarrollan en general durante el tostamiento. Entre los principales componentes químicos involucrados en estas características, se encuentran el ácido clorogénico y los lípidos que en una mayor o menor medida participan en el enorme complejo aromático del café.

Además de las cualidades antes mencionadas, el café puede tener efectos estimulantes, que son principalmente debidos al contenido de alcaloides presentes en el mismo, siendo la cafeína la causa principal de tales efectos.

La variación de todos estos compuestos puede intervenir en la calidad del café verde: (calidad que se ve reflejada en el café tostado) pero a su vez, ésta variación puede estar dada por las distintas características climáticas y geográficas de las regiones cafetaleras; es decir, que las diferencias en el contenido de estos compuestos pueden aparecer en cafés recolectados de arbustos de una misma filiación botánica, pero procedentes de regiones diferentes (Coste, 1969).

Relacionando lo anterior, se hace necesario analizar el contenido de los lípidos, el ácido clorogénico y la cafeína contenida en los granos de café verde de algunas muestras de café provenientes de distintas regiones cafetaleras del país para así hacer de este trabajo una contribución más al estudio del café.

OBJETIVOS

GENERAL

Hacer un análisis químico preliminar de seis muestras de granos de café verde provenientes de cuatro estados de la República Mexicana.

Para lo cual, se establecieron los siguientes objetivos

PARTICULARES:

1.- Determinar y comparar los perfiles cromatográficos de los lípidos neutros, fosfolípidos y glicolípidos de las muestras.

2.- Cuantificar y comparar el contenido de cafeína y de ácido clorogénico de las muestras.

ANTECEDENTES

1. GENERALES.

1.1. BOTÁNICA Y SISTEMÁTICA

Con el nombre de café (café en grano) se designan las semillas de las plantas del género *Coffea* desprovistas por completo de sus vainas y en lo posible de sus legumentos ("envoltura plateada o pergamino"), en estado crudo o tostado, enteros o molidos; también se llama café a la bebida preparada con estas semillas.

El café pertenece a la familia *Rubiaceae*, al género *Coffea* y a la especie *C. arabica* L.

UBICACIÓN TAXONÓMICA

Familia *Rubiaceae*

Género *Coffea*

Especie *C. arabica* L.

El café *C. arabica* L.

La especie *C. arabica*, que es la más conocida y la más extendida en todo el mundo, presenta las siguientes características:

Arbustos o pequeños árboles, usualmente glabros, estípulas amplias, persistentes, agudas; hojas opuestas, membranosas o subcoriáceas, sésiles o

pediceladas; flores axilares aglomeradas, sésiles o con un pedicelo corto, blancas, fragantes; bracteolas ovadas, las internas connadas en la base del pedicelo formando una cúpula; hipantio subcilíndrico a turbinado, cáliz corto, truncado, 5 dentado o 5 lobulado, persistente, con frecuencia glandular; corola funeliforme o salveriforme, el tubo corto o elongado, glabro o veloso en la garganta, limbo 5 lobado, lóbulos oblongos a obtusos, extendidos, contortos en el botón; estambres usualmente 5, insertos en la garganta de la corola, filamentos cortos o no los hay; anteras dorsifijas cerca de la base, lineares o subuladas exsertas; ovario generalmente con dos lóculos; estilo filiforme o engrosado, glabro; óvulos solitarios en los lóculos, dispuestos en la mitad del seplio; fruto es una baya, globosa u oval, seca o carnosa, contienen 2 semillas coriáceas, dorsalmente convexas (Standley & Williams, 1975).

Las dimensiones y la forma de la semilla (Fig. 1) difieren con las variedades, las condiciones del medio y del cultivo; pero por término medio tienen 10 mm de longitud; 6 ó 7 mm de ancho y 3 ó 4 mm de espesor, y su peso oscila entre 0.15 a 0.20 g (Belliz & Grosch, 1988, Coste, 1969).

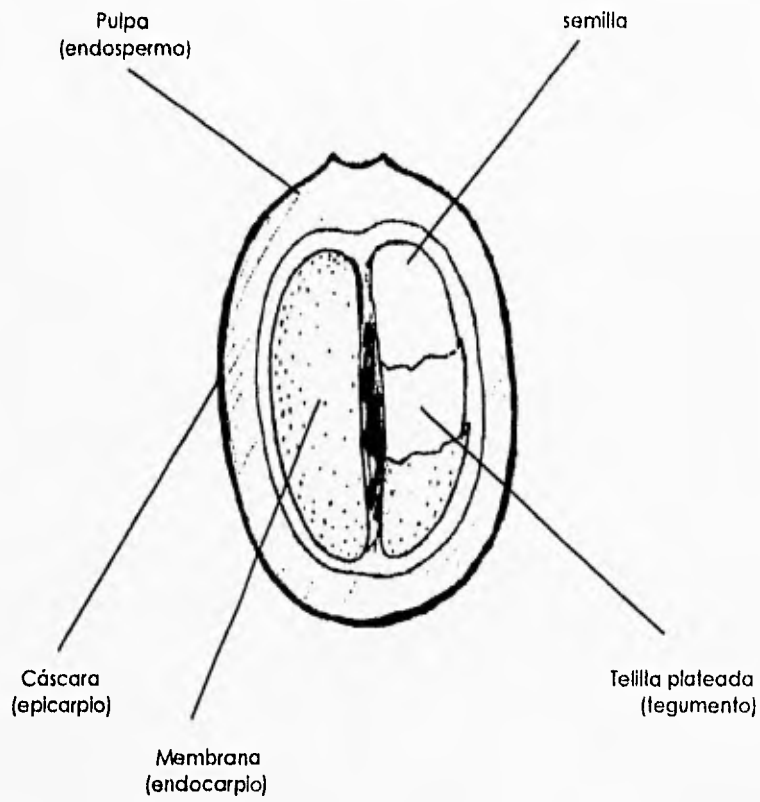


Fig. 1- Corte de un fruto de café.

1.2. CALIDAD DEL CAFÉ

La calidad del café puede ser evaluada a dos niveles: el primero de ellos es el grano verde, es decir el grano oro, el segundo es la infusión (Renard y Espinosa, 1993).

En el primer nivel, el café oro se diferencia por el tamaño de los granos, los defectos que presenta, el contenido de impurezas y las manchas que pueda presentar, cada paso de su elaboración es importante para la calidad del producto final. En el segundo nivel, los principales factores que determinan la calidad del grano desde su producción hasta su transformación en café tostado son:

Las especies y variedades de café influyen en el sabor en taza, determinando el cuerpo.

La altura y la latitud a la que se siembra determinan su grado de acidez.

La región donde se produce, su aroma.

El tipo de beneficio*, sea la vía seca o la vía húmeda, induce el sabor.

*El beneficio es el acto de quitar las envolturas (pulpa y película) de los frutos; el cual se efectúa en los lugares de producción en el momento de la cosecha y cuyo resultado es el café verde u oro, forma bajo la cual se comercializa y/o exporta en sacos de 60 kg (Coste, 1969).

En los mercados internacionales, los granos de café mexicano tienen características comerciales reconocidas por su alta calidad y su correcto beneficiado. Varios de los tipos de cafés mexicanos tienen ya un nombre y un prestigio reconocido internacionalmente (Mendoza, 1978).

1.3. CLIMA PROPICIO PARA EL CULTIVO DEL CAFÉ

Geográficamente el desarrollo del árbol del café comercial está particularmente indicado en los territorios tropicales y subtropicales de mediana altitud desde los 600 ó menos hasta los 2800 msnm, (siendo los de mejor calidad los que se cultivan a más altura), una temperatura media anual de entre 15 y 25 °C, y un clima no demasiado húmedo y umbroso, fuera de esto es muy difícil que sobrevivan a causa de las heladas (Belitz & Grosch, 1988).

EL CAFÉ ARABICA

En general, el café arábica es un cultivo de altura (de 650 a 2800 msnm) y de clima subtropical. Requiere precipitaciones de 1900 mm por año ideales en no más de 3 ó 4 meses consecutivos (Sivetz & Desrosier, 1979) con un período seco anual y temperaturas que oscilen en los 21°C. Es muy sensible a las heladas y a los vientos fríos; así mismo por su modo de reproducción (la autofecundación de flores hermafroditas de una misma planta, con su consecuente falta de diversidad en los contenidos genéticos), resulta muy frágil ante las plagas especialmente la roya *Hemileia vastatrix* (Renard y Espinosa, 1993).

Son muy importantes los criterios de fertilidad del suelo como por ejemplo: la presencia de un aporte adecuado de minerales esenciales, la temperatura, humedad, pH, drenaje, grado y orientación de la ladera.

El suelo para los cafetos no solamente debe ser poroso para permitir el drenaje de las lluvias pesadas, sino que además debe tener la suficiente materia orgánica para retener la humedad entre lluvias. El suelo no debe ser seco ni duro para que las raíces puedan desarrollarse sin ser inhibidas. Los cafetales suelen crecer óptimamente en suelos calcáreos granílicos que se originan de rocas ígneas de basalto y andesita (los Andosoles), pero particularmente en aquellos que contienen vidrio volcánico y materiales arcillosos amorfos (Ramos, S., Vallejo, E. y Aguilera, N., 1982).

1.4. EL CULTIVO DE CAFÉ EN MÉXICO

En México el café se siembra y se cultiva en 16 estados de la República (Chiapas, Veracruz, Oaxaca, Puebla, Guerrero, San Luis Potosí, Hidalgo, Nayarit, Tabasco, Jalisco, Colima, Michoacán, Tamaulipas, Sinaloa, México, y Morelos; mencionados en orden de importancia en cuanto a producción) las regiones cafetaleras más importantes, se encuentran principalmente en la zona montañosa del sur del país, especialmente en los estados de Chiapas, Veracruz y Oaxaca (fig. 2). Los primeros 8 estados productores producen algo más del 98% del café mexicano, los siguientes 3 producen el 1% (Tabasco, Jalisco y Colima) y los 5 restantes producen menos del 1% del total del café en México. Obviamente

el grupo formado por los primeros 8 estados conforman la zona cafetalera básica del país (Nolasco, 1992). Los rendimientos varían según las condiciones climáticas que se dan en cada una de estas regiones, aunque también de los tipos de cultivo y del manejo que se le da al grano.

De estas, son 3 los estados que producen más de $\frac{1}{4}$ partes del total del café mexicano (Chiapas, Veracruz y Oaxaca). Chiapas aporta el 41% de la producción nacional, mientras que Veracruz aporta el 39.7%. La otra cuarta parte la componen los estados restantes, así por ejemplo Puebla aporta el 7.4%, San Luis Potosí el 2.2% e Hidalgo un 1.5%, el estado de Michoacán produce menos del 1% de la producción nacional ocupando el lugar número 12 en cuanto a producción cafetalera.

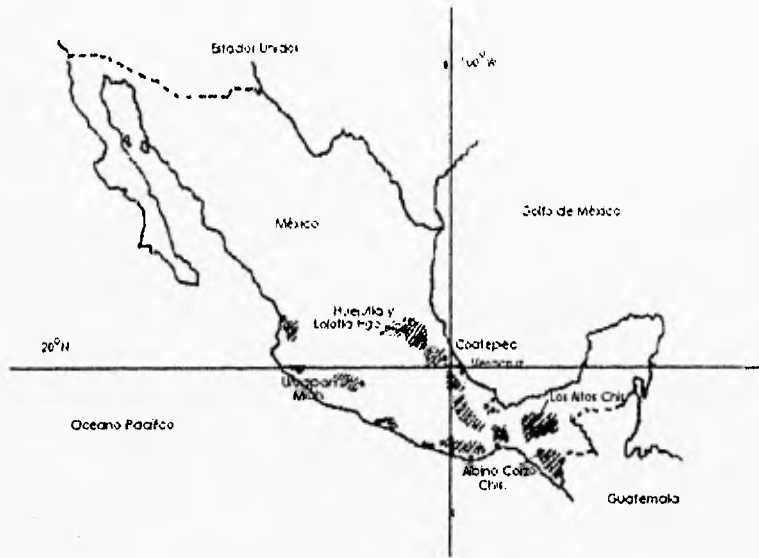


Fig. 2- México. Zonas de cultivo cafetero.

1.5. UBICACIÓN Y CLIMAS DE LOS SITIOS DE ORIGEN DE LAS MUESTRAS DE CAFÉ

Lolotta, Hidalgo.- Se encuentra ubicada entre los paralelos $20^{\circ} 21'$ y $20^{\circ} 41'$ Latitud Norte y $99^{\circ} 20'$ y $99^{\circ} 40'$ Longitud Oeste, a una altura de 1589 msnm. El tipo de clima es semicálido-húmedo con régimen de lluvias todo el año ((A)Cb(lm)(l')gw") (García, 1988); registra una temperatura media anual de 18°C y una precipitación (pp) de 1420 mm por año, siendo el periodo de lluvias más intenso de Junio a Septiembre. El suelo predominante es del tipo denominado *regosa* (INEGI, 1985).

Los Allos de Chiapas.- Representado por el municipio de Comitán el cual se encuentra localizado al este del estado y se sitúa a 16° 15' Latitud Norte y 92° 07' Longitud Oeste, a una altura de 1530 msnm. El clima predominante es del tipo semicálido sub-húmedo con régimen de lluvias en verano ((A)Cb(w2)(w)igw") (García, 1988); la cabecera registra una temperatura media anual de 18°C y una pp de 1020 mm por año. Los tipos de suelo predominantes son: el *andosol*, el *luisol* (Secretaría de Gobernación y Gobierno del estado de Chiapas, 1988), y el *litosol* (INEGI, 1983).

Huejulla de Reyes, Hidalgo.- Localizado al norte del estado y geográficamente entre los paralelos 21° 05' y 21° 22' Latitud Norte y 98° 05' y 90° 12' de Longitud Oeste, a una altitud de 172 msnm. El clima es del tipo cálido-húmedo con régimen de lluvias de verano (Am(e)w') (García, 1988), con una temperatura media anual de 31.12°C y una pp pluvial de 1500 mm por año. El suelo es del tipo *vertisol* (INEGI, 1985), aunque más bien se debe de tratar de un *andosol* ya que los *vertisoles* son suelos lo bastante compactos como para inhibir el desarrollo de los cafetos.

Uruapan, Michoacán.- Se localiza al este del estado, en las coordenadas 19° 21' de Latitud Norte, y 102° 04' Longitud Oeste, a una altura de 1610 msnm. El clima es semicálido-húmedo con régimen de lluvias de verano ((A)Cb(m)(w)(l)gw") (García, 1988); tiene una pp pluvial anual de 1739.3 mm y una temperatura media anual de 19.5°C. El suelo corresponde principalmente a

los del tipo *andosol*, aunque también se presentan los del tipo *litosol* (INEGI, 1983).

Ángel Albino Corzo Chiapas.- Se localiza al sur del estado y se encuentra situado a 15° 52' Latitud Norte y a 92° 43' Longitud Oeste, a una altura de 590 msnm. El tipo de clima es cálido-subhúmedo con régimen de lluvias de verano (Aw2(w)lgw") (García, 1988); la cabecera municipal tiene una temperatura media anual de 23°C y una pp pluvial anual de 2293.8 mm. Los tipos de suelo predominantes son: el *acrisol*, (INEGI, 1985), *litosol*, *cambisol*, y el *regosol* (Secretaría de Gobernación y Gobierno del estado de Chiapas, 1988).

Coatepec, Veracruz.- Localizado entre las coordenadas 19° 27' Latitud Norte y 102° 10' Longitud Este, a una altura de 1252 msnm. El clima es del tipo semicálido-húmedo con régimen de lluvias todo el año ((A)Cb(fm)(i)gw") (García, 1988); tiene una temperatura media anual de 19.2°C y una pp pluvial anual de 1926 mm. El tipo de suelo predominante es el *andosol* (Ramos, S., Vallejo, E. y Aguilera, N., 1982), aunque también se reportan los del tipo *acrisol* (INEGI, 1985).

2. PARTICULARES.- COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL CAFÉ

2.1. LÍPIDOS

El café verde, contiene alrededor de 8.3-17.0 % de sustancias lipídicas (Stefanucci, A., Clinton, W.P. & Hamell, M. , 1979), esta fracción de aceites puede

ser fácilmente medida, pero puede variar con el tipo de café y por la manera de moler y de extraer las grasas de los granos.

Los aceites del café son líquidos a temperatura ambiente y hasta los 7°C, pero los ácidos grasos solidifican lentamente durante su almacenaje. Algunos autores estiman que su presencia es capaz de influir en la conservación de las cualidades organolépticas del café, mientras que otros contradicen esta afirmación. Los principales componentes grasos son los ácidos linoléico, palmítico, oleico, lignocérico y esteáricos, con algún material insaponificable. El análisis de algunos productos grasos como los aldehídos, cetonas y ácidos grasos de cadena corta, han mostrado que contribuyen en gran parte en el aroma y sabor del café (Stefanucci, A., Clinton, W.P. & Hameli, M. 1979).

Después del rostitamiento, las sustancias grasas conservan un nivel relativo más o menos estable o que incluso parece a veces aumentar. Esto indica que la pérdida de materia grasa es proporcionalmente más débil que la pérdida total de sustancias fijas iniciales. Por consiguiente, la materia grasa puede proporcionar una pequeña cantidad de principios volátiles que se forman cuando los glicéridos son calentados en presencia de agua y ácidos causando una hidrólisis parcial de la glicerina y fragmentación de algunos ácidos grasos, estos forman ácidos grasos volátiles de cadena corta que pueden liberarse en una buena cantidad (Coste, 1969). El contenido ácido es escaso, pero su presencia afecta la prueba de textura porque reduce la tensión superficial de la infusión. Así por

ejemplo, podemos tener menos espuma en la taza (Sivetz & Destosier, 1979). Sin embargo, bajo la influencia del calor las materias grasas son liberadas de los complejos proteídicos o glucídicos en que están incluidas. Esta materia grasa libre juega el papel de solvente y fijador de distintos principios aromáticos por un fenómeno análogo al del "enlèvement" que se utiliza en perfumería, y puede igualmente proteger a los principios aromáticos contra el oxígeno atmosférico. De hecho, si bien no parece que una gran parte del aroma del café es originado por la materia grasa, esta interviene en la fijación y preservación del aroma (Coste, 1969); así mismo, las grasas también pueden actuar como acarreadores de muchos de los productos aromáticos volátiles formados durante el tostado del grano (Stefanucci, A., Clinton, W.P. & Hamell, M. 1979).

Durante el almacenaje del café verde, los lípidos pueden ser oxidados si se encuentra presente el oxígeno y esto puede cambiar en alto grado el aroma del café (Örsi, F. & Dicházi, B. 1989).

2.2. CAFÉINA

Entre las sustancias nitrogenadas de tipo alcaloídico contenidas en el café se encuentran la cafeína y la trigonelina; en menor cantidad lo acompañan otras bases nitrogenadas como la betaína y la colina.

Los cafés verdes contienen generalmente de 1 a 3 % de cafeína. De las distintas especies, los cafés *C. arabica* son los menos ricos, con una media de 0.8 a 2.5 % de cafeína.

En el grano verde, la cafeína forma parte de un complejo π -molecular hidrófobo con el ácido clorogénico de tal forma que se puede encontrar en forma de una sal doble: el clorogenato de cafeína y de potasio (Bellitz & Grosch, 1988).

La cafeína o trimetil-1,3,7-xantina, es la homóloga superior de la teobromina, su fórmula es $C_8H_{10}O_2N_4H_2O$ o bien $C_8H_{10}O_2N_4$ (cafeína anhidra). La cafeína se encuentra en forma de cristales blancos, finos y sedosos; funde a 234-237° C, pero se sublima ligeramente hacia los 100° C y claramente hacia los 180° C, lo que explica en parte la pérdida de sustancia que se observa en el curso de la torrefacción, ésta se considera como mínima debido a que la cafeína es químicamente muy estable.

Aunque la torrefacción ocasiona profundas modificaciones en la composición (sobre todo en lo que atañe a glúcidos y a aminoácidos), no modifica de manera sensible el contenido en cafeína, que solo se sublima en pequeña proporción (Brunelton, 1991).

La cafeína también se puede encontrar en los demás componentes del fruto (en la pulpa 9 %), así como en las diversas partes del café. Por ello los diversos análisis de los *arabica* han demostrado un contenido que varía según la estación, entre 0.5 y 0.9 % en las hojas desecadas, en las flores 0.9 % y en el tronco 0.08%.

La cafeína puede conferir algunas propiedades estimulantes y relajantes al ser consumida, pues entre otras cosas facilita la actividad cortical, inhibe el sueño y disminuye la sensación de fatiga. Aunque estas son algunas propiedades que se buscan en el café como bebida, suelen ser más apreciados los cafés con menor contenido de este alcaloide.

2.3. ÁCIDO CLOROGÉNICO

Los ácidos cuantitativamente más importantes del café verde son los ácidos clorogénicos, que en el café tostado normal se transforman en un 30 % aproximadamente, y en el tostado intenso en un 70 %. (Belitz & Grosch, 1988)

Varias estructuras del ácido clorogénico o ácido 3-cafeoilquinico han sido descritas, pero todas ellas tienen la fórmula empírica $C_{16}H_{16}O_8$, los cuales se encuentran presentes en los granos de café verde bajo la forma de clorogenato doble de cafeína y de potasio. El ácido clorogénico es un constituyente importante del café verde (4 a 8 %) y es considerablemente destruido durante el transcurso de la torrefacción después de que se ha liberado de la cafeína; muchos de los compuestos fenólicos identificados como volátiles del café tostado son presumiblemente derivados de éste y otros compuestos relacionados que aparecen en pequeñas cantidades, como por ejemplo el ácido caféico (Morton & Macleod, 1982). Así también, se puede pensar que el ácido clorogénico sufre una importante pérdida de masa, debido a que siempre aparece una cantidad equivalente de productos volátiles (Coste, 1969).

Se ha establecido que el ácido clorogénico indiscutiblemente juega un papel importante en la formación de compuestos identificados como volátiles y no volátiles que contribuyen en el sabor y olor del café tostado (Stefanucci, A., Clinton, W.P. & Hamell, M. 1979) y que aparecen como parte del extenso grupo de compuestos que se agrupan en el complejo aromático del café (Morton & Macleod, 1982).

Al parecer, el ácido clorogénico también actúa como buffer que ayuda al control de las reacciones que ocurren durante el tostamiento del café.

En la fracción hidrosoluble del café tostado se encuentran compuestos de coloración parda (melanoidinas), que tienen un peso molecular de 5000 a 10000 Daltons, que resultan de la reacción de Maillard o de la caramelización de los carbohidratos. Todavía se sabe poco de la estructura de estos pigmentos, pero es evidente que el ácido clorogénico participa en tales reacciones de pardeamiento, ya que en hidrolizados alcalinos de melanoidinas se ha encontrado ácido cafèico (Bellitz & Grosch, 1988).

MATERIAL Y MÉTODOS

1. PREPARACIÓN DEL MATERIAL

Los granos de café verde utilizados (*Coffea arabica*), son granos comerciales que fueron obtenidos en cuatro estados de la República Mexicana (tabla 1).

Estado	Localidad	Especie
Hidalgo	Huejulla	<i>C. arabica</i>
Michoacán	Uruapan	
Chiapas	Albino Corzo	
Veracruz	Coatepec	
Hidalgo	Lolotla	
Chiapas	Los Altos	

Tabla 1. Procedencia de los granos de café verde, *C. arabica*.

Para su utilización, los granos de café se molieron en un molino de manivela.

El trabajo experimental comprendió la extracción de lípidos y su determinación cromatográfica (Fig. 3), la cuantificación de cafeína (Fig. 4) y la cuantificación de ácido clorogénico (Fig. 5).

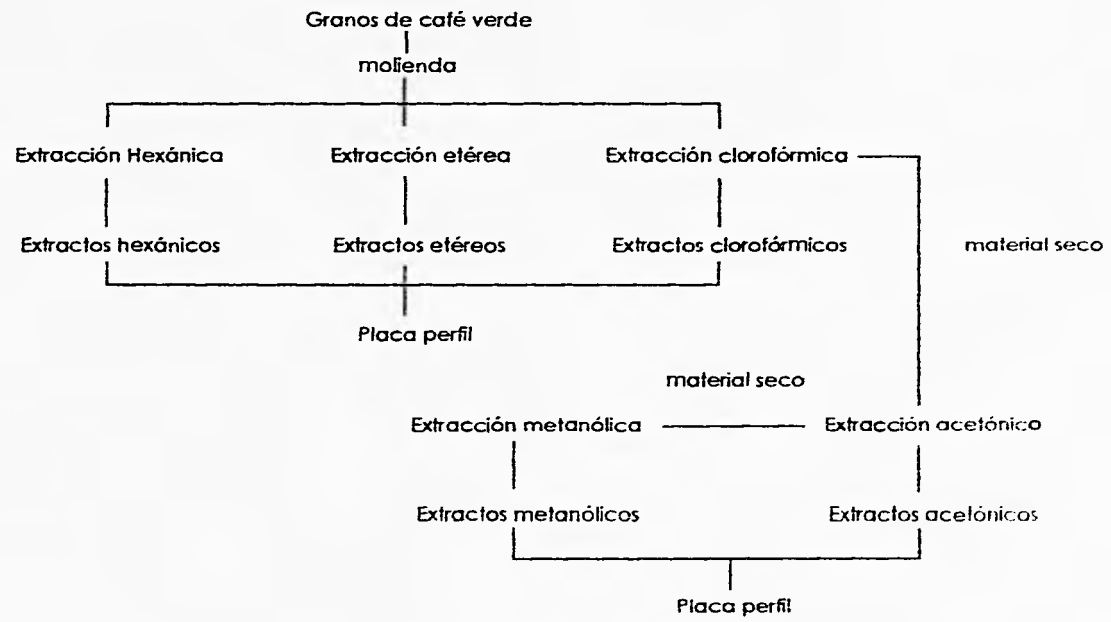


Fig. 3- Diagrama metodológico para la obtención y determinación cromatográfica de lípidos de café verde *C. arabica*.

2. EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS

2.1. LÍPIDOS NEUTROS

Los lípidos neutros fueron extraídos utilizando como disolventes hexano, éter dietílico y cloroformo.

Extracción hexánica- Para esta extracción, se pesaron 20 g de café molido que fueron colocados en un matraz de fondo redondo de 500 ml con 250 ml de disolvente; se extrajeron a reflujo 3 veces consecutivas con una duración de 8 horas cada una; al término de cada extracción los extractos se filtraron y se concentraron casi a sequedad, eliminando el disolvente por destilación a presión reducida. Una vez secos, los extractos se pesaron y se calculó su rendimiento (Tabla 2).

Extracción etérea- Para esta extracción se pesaron 20 g de café que fueron colocados en un matraz Erlenmeyer, adicionando disolvente hasta cubrir la muestra. Cada muestra se sometió a 3 extracciones consecutivas con una duración de 24 horas cada una a temperatura ambiente y con agitación ocasional. Al final, los extractos se filtraron y se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente para obtener su rendimiento (tabla 2).

Extracción clorofórmica- Se realizaron 3 extracciones consecutivas con una duración de 24 horas cada una a temperatura ambiente y con agitación ocasional. Para ello, se pesaron 40 g de muestra que se colocaron en un matraz Erlenmeyer adicionando cloroformo en tal cantidad que se cubrieran totalmente

las muestras. Los extractos así obtenidos fueron filtrados y se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente para obtener su rendimiento (Tabla 2).

2.2. FOSFOLÍPIDOS Y GLICOLÍPIDOS

Los fosfolípidos y los glicolípidos fueron extraídos con metanol y acetona respectivamente, utilizando las mismas muestras empleadas en la extracción clorofórmica. Para cada caso, se realizaron 3 extracciones consecutivas de 24 horas cada una a temperatura ambiente con cada uno de los disolventes, dejando secar completamente las muestras antes de adicionar el nuevo disolvente. Las extracciones se llevaron a cabo primero con acetona y después con metanol. Los extractos obtenidos fueron filtrados y secados a temperatura ambiente para calcular su rendimiento (Tabla 3).

2.4. DETERMINACIÓN DE PERFILES CROMATOGRÁFICOS

Los perfiles se realizaron en placas cromatográficas de gel de Sílice MERCK DC-60 con 10 cm de frente. Se utilizó L- α -fosfatidilinositol como patrón para los fosfolípidos y digalactosil-diglicérida para los glicolípidos. Los sistemas de eluyentes utilizados fueron:

Para los lípidos neutros- Hexano - Acetato de Etilo 8 : 2

Para los fosfolípidos - Acetato de Etilo - Metanol 4 : 6

Para los glicolípidos - Acetato de Etilo - Metanol 6 : 4

Una vez eluidas las placas se observaron con luz ultravioleta (UV) de onda corta, marcando las manchas con línea punteada; posteriormente se revelaron

con sulfato cérico marcando las manchas que aparecieron con línea continua (Figuras 6,7 y 8).

3. CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA

Para la cuantificación de cafeína se utilizó la técnica gravimétrica reportada por Pavia (1976) (Fig. 4); se tomaron 35 g de muestra que se llevaron a reflujó con 125 ml de agua destilada durante 20 minutos. En seguida y sin dejar enfriar, se filtraron los extractos al vacío; se adicionó al filtrado 20 ml de solución de Sub-acetato de Plomo al 10 %, se calentó durante 10 minutos y se filtró también al vacío, dejando enfriar el filtrado a temperatura ambiente. Este se colocó en un embudo de separación y se extrajo 3 veces con 25 ml de cloroformo, se lavó con 10 ml de solución de NaOH al 10 % y a continuación se volvió a lavar con 10 ml de agua destilada.

Una vez lavado, el extracto se colocó en un matraz Erlenmeyer, se secó con Sulfato de Sodio anhidro, se filtró en otro matraz previamente lavado, y se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente, pesando la cafeína cruda para obtener su rendimiento. Para comprobar la pureza de la cafeína, se determinó su punto de fusión en un aparato Fisher (Tabla 4).

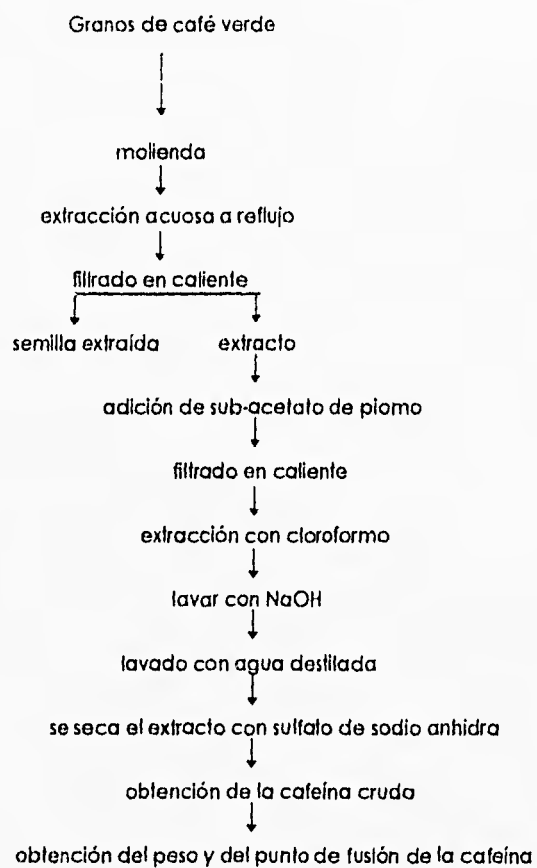


Fig. 4- Diagrama metodológico para la obtención y cuantificación de cafeína en café verde.

4. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO

Para determinar la concentración de ácido clorogénico en las muestras de café verde se pesaron 5 g de café previamente molido, mismos que se llevaron a reflujo con hexano durante 18 horas. Se filtraron y se dejaron secar a temperatura ambiente. Se pesaron 500 mg de este material y se extrajeron a reflujo con 100 ml de etanol durante 18 horas (Mendel, 1989). El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se redisolvió en 50 ml de metanol. Con esta solución, se determinó la concentración de ácido clorogénico (Tabla 5 y figs. 9-15) por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), utilizando un aparato MERCK modelo LaChrom con detector UV-VIS programable L-7400, una bomba L-7100, un cromatointegrador D-7500 y una columna RP - 18 (de fase reversa) de 250 x 4 mm, con tamaño de partícula de 5- μ m.

El sistema de eluyentes utilizado fué:

A) metanol y B) KH_2PO_4 , pH 2.4 con un flujo de 1.5 ml/min usando el siguiente gradiente:

15 a 55 % de A por 15 min, 55 a 80 % de A por 5 min y 80 a 100 % de A por 2 min; 100 % de A por 8 min, y de 100 a 15 % de A por 5 min (Bergulson, 1995).

La concentración de la solución patrón fué de 1 μ g/ml, preparada con ácido clorogénico ALDRICH, disuelto en metanol. El tiempo de retención (R_t) de la solución patrón fué de 9.52 min.

Para obtener la concentración de las muestras se realizó el siguiente cálculo:

$$\frac{\text{área del pico de la muestra} \times \text{concentración del estándar}}{\text{área del pico del estándar}} = \text{concentración de la muestra}$$

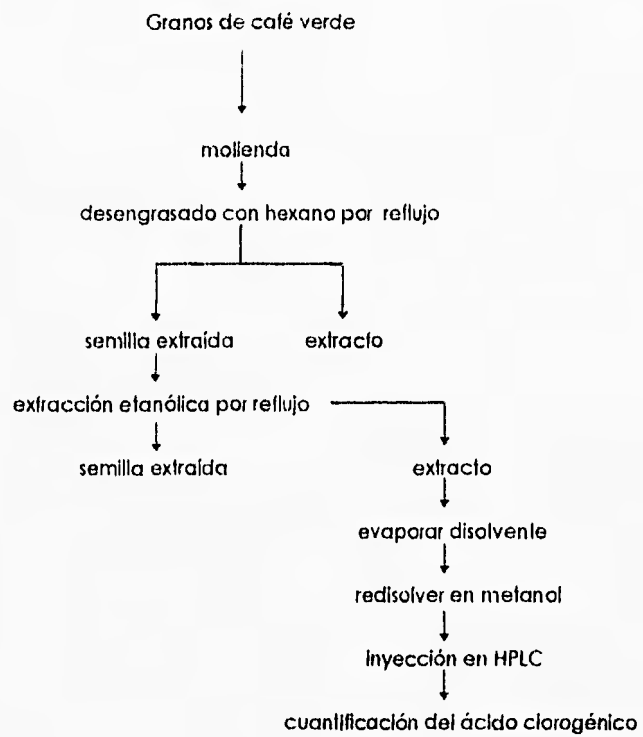


Fig. 5- Desarrollo metodológico para la obtención y cuantificación de ácido clorogénico por HPLC.

RESULTADOS

1. LÍPIDOS NEUTROS

El mayor rendimiento para los extractos hexánicos se encontró en el café de Lolalla, Hgo. (12.57 %), mientras que el menor rendimiento lo presentó el café de Huejutla, Hgo. (6.25 %). El rendimiento más alto en los extractos clorofórmicos se encontró en los granos de Coatepec, Ver. (8.40 %) y el más bajo se obtuvo en el café de Huejutla, Hgo. (7.61 %). Para el extracto etéreo se encontró que el rendimiento más alto lo presentó el café de Los Altos de Chiapas (11.13 %) mientras que el menor rendimiento se encontró en los granos de Albino C. Chis. (5.34 %) tabla 2.

Localidad	Hexánica		Etérea		Clorofórmica	
	peso (g)	rend. %	peso (g)	rend. %	peso (g)	rend. %
Huejutla, Hgo.	1.2503	6.25	1.1857	5.92	3.0475	7.61
Uruapan, Mich.	1.7731	8.86	1.1420	5.71	3.2800	8.20
Albino C. Chis.	1.8072	9.03	1.0688	5.34	3.0623	7.65
Coatepec, Ver.	2.1803	10.90	1.6491	8.24	3.3619	8.40
Lolalla, Hgo.	2.5152	12.57	1.9174	9.58	1.9839	4.95
Los Altos, Chis.	1.8993	9.49	2.2261	11.13	2.6730	6.68

Tabla 2. Pesos y rendimientos de los extractos para lípidos neutros obtenidos a partir de 20 g de café verde para las extracciones hexánicas y etéreas, y 40 g para las extracciones clorofórmicas.

2. FOSFOLÍPIDOS Y GLICOLÍPIDOS

Para los fosfolípidos, el rendimiento más alto se encontró en el extracto metanólico del café de los Altos de Chiapas (8.36 %), mientras que el más bajo lo presentó el extracto del café de Huejutla, Hgo. (4.24 %) tabla 3. El mayor rendimiento de extracto acetónico (glicolípidos), se encontró en los granos de Coatepec, Ver. (2.68 %), mientras que el menor rendimiento lo presentó el extracto del café de Lolotla, Hgo. (0.64 %) tabla 3.

Extracción	metanólica		acetónica	
	peso(g)	rend. %	peso(g)	rend. %
Huejutla, Hgo.	1.6985	4.24	0.6835	1.70
Uruapan, Mich.	2.8648	7.16	0.5261	1.31
Albino C. Chis.	2.1191	5.29	0.5104	1.27
Coatepec, Ver.	1.8294	4.57	1.0735	2.68
Lolotla, Hgo.	1.4118	3.52	0.2575	0.64
Los Altos, Chis.	3.3441	8.36	0.4418	1.10

Tabla 3. Pesos y rendimientos de los extractos metanólicos y acetónicos para los fosfolípidos y glicolípidos obtenidos a partir de 40 g de café verde.

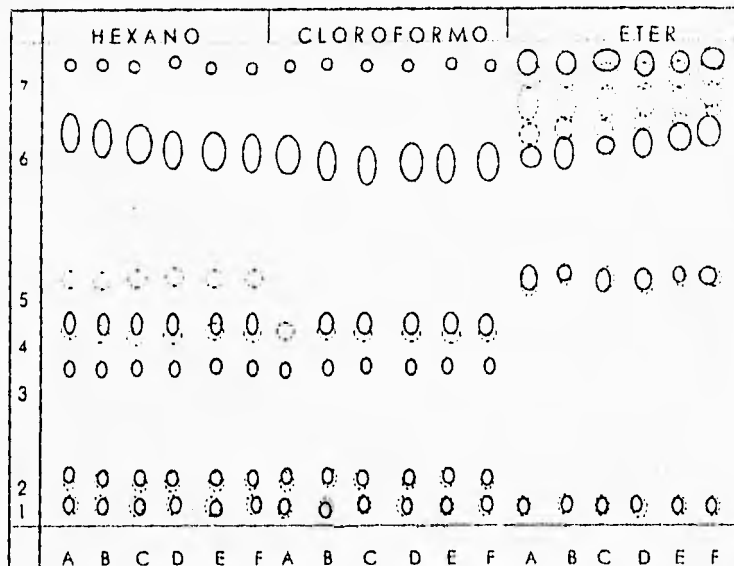
3. PERFILES CROMATOGRÁFICOS

3.1. LÍPIDOS NEUTROS

La cromatoplaqueta (fig. 6), nos muestra que el desarrollo cromatográfico para los extractos hexánicos y clorofórmicos son similares entre sí, salvo que en el extracto clorofórmico no aparece la mancha marcada con el número 5 que sí aparece en el extracto hexánico. Así mismo, comparando el desarrollo del extracto hexánico con el desarrollo del extracto etéreo se puede uno percatar de la ausencia de las manchas 2, 3 y 4 en la zona de alta polaridad y de polaridad intermedia, mientras que en la zona de baja polaridad del extracto etéreo se pueden observar 2 manchas más que no se ven en los extractos hexánicos y clorofórmicos.

3.3. GLICOLÍPIDOS

El perfil cromatográfico, nos permite ver que la composición de los extractos es igual en todas las muestras, ya que éstas presentan el mismo desarrollo cromatográfico. El marcador utilizado (digalactosil-diglicérido), nos permite asegurar la presencia de este compuesto en todos los extractos aunque en concentración relativamente baja si se toma en cuenta que otro compuesto minoritario (ácido fosfatídico o fosfatidil-etanolamina) que se encuentra acompañando a el marcador se encuentra en mayor concentración en todas las muestras (fig. 7).



Extractos : Hexánicos, Clorofórmicos y Eléreos Eluyente : hexano - AcOEt 8 : 2

frente : 10 cm Reveladores : ○ UV de onda corta, ○ Sulfato Cérico

Fig.6- Desarrollo cromatográfico para los lípidos obtenidos a partir de extractos hexánicos, clorofórmicos y eléreos. A- Huejutla, Hgo. B- Uruapan, Mich. C- Albino Corzo, Chis. D- Coatepec, Ver. E- Lolotla, Hgo. F- Los Altos, Chis.

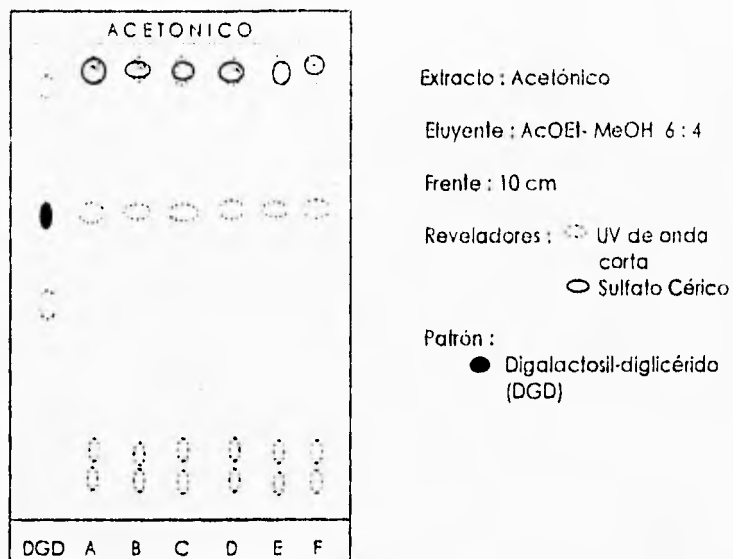


Fig. 7- Desarrollo cromatográfico para los glicolípidos obtenidos con los extractos acetónicos A- Huejutla, Hgo. B- Uruapan, Mich. C- Alblno Corzo, Chis. D- Coatepec, Ver. E- Lolotla, Hgo. F- Los Altos, Chis.

3.2. FOSFOLÍPIDOS

La cromatografía realizada para localizar estos lípidos nos revela que la composición de los extractos son iguales entre sí, ya que muestran un desarrollo cromatográfico idéntico. La comparación de los perfiles con el marcador (fosfatidil-inositol), nos muestra que este compuesto se encuentra presente en los granos de café en baja concentración y que existe otro compuesto en el

marcador que se encuentra presente en las muestras en una mayor concentración (fig. 8).

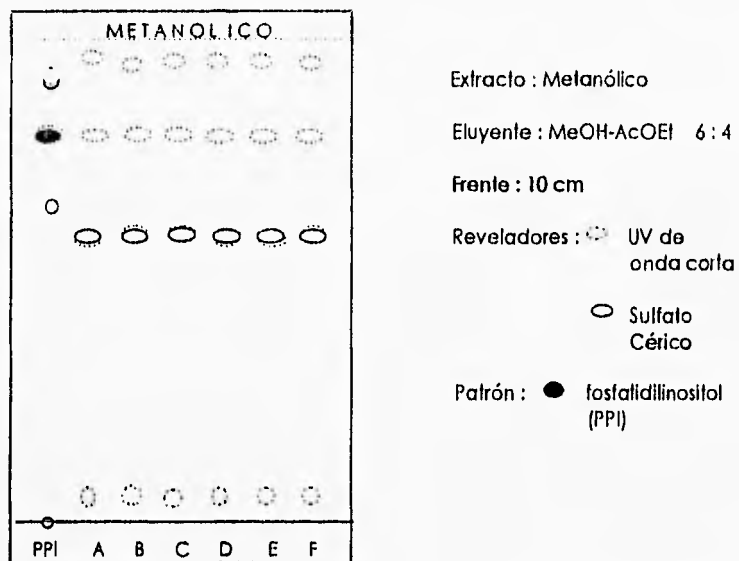


Fig. 8- Desarrollo cromatográfico para los fosfolípidos obtenidos con los extractos metanólicos. A- Huejutla, Hgo. B- Uruapan, Mich. C- Albino Corzo, Chis, D- Coatepec, Ver. E- Lolotla, Hgo. F- Los Altos, Chis.

4. CUANTIFICACIÓN DE CAFÉINA

El mayor rendimiento de cafeína, se encontró en el café de Coatepec Ver. (2.14 %) y el menor rendimiento lo presentaron los granos de Huejutla, Hgo. (1.17 %) (Tabla 4). Este rendimiento es por cada 100 g de muestra.

Localidad	peso (g)	rendimiento % en 35 g	rendimiento % para 100 g	punto de fusión (°C)
Huejutla, Hgo.	0.1442	0.412	1.17	237
Uruapan, Mich.	0.1537	0.439	1.25	237
Albino C. Chls.	0.1571	0.433	1.23	235
Coatepec, Ver.	0.2926	0.751	2.14	237
Lolotla, Hgo.	0.2248	0.642	1.83	235
Los Altos, Chls.	0.2527	0.722	2.06	236

Tabla 4. Cafeína obtenida por el método gravimétrico reportado por Pavla (1976) a partir de 35 g de muestra. También se muestra el rendimiento para 100 g de muestra.

5. CUANTIFICACIÓN DE ÁCIDO CLOROGÉNICO

La tabla 5, nos muestra que el mayor rendimiento encontrado fue para el café de Los Altos de Chiapas (15.25 %), mientras que el menor rendimiento lo presentaron los granos de Uruapan, Mich (4.23 %). Los cromatogramas obtenidos mediante el HPLC se muestran en las figs. 9 a 15.

Localidad	rendimiento %
Huejutla, Hgo.	14.21
Uruapan, Mich.	4.23
Albino C. Chis.	5.63
Coatepec, Ver.	4.40
Lolotla, Hgo.	5.89
Los Altos, Chis.	15.25

Tabla 5. Cuantificación de ácido clorogénico determinado por HPLC a partir de 500 mg de muestra de café verde.

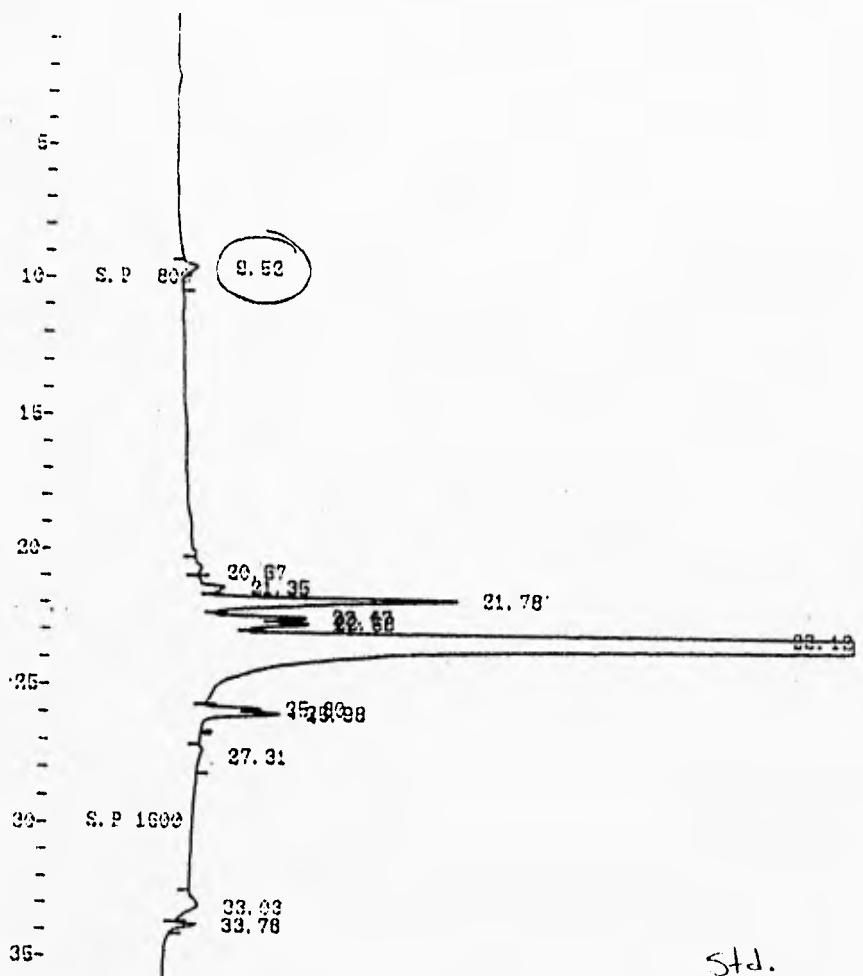


Fig. 9 - Cromatograma por HPLC del estándar utilizado para la cuantificación de ácido clorogénico en las muestras de café verde. El tiempo de retención es de 9.52 min.

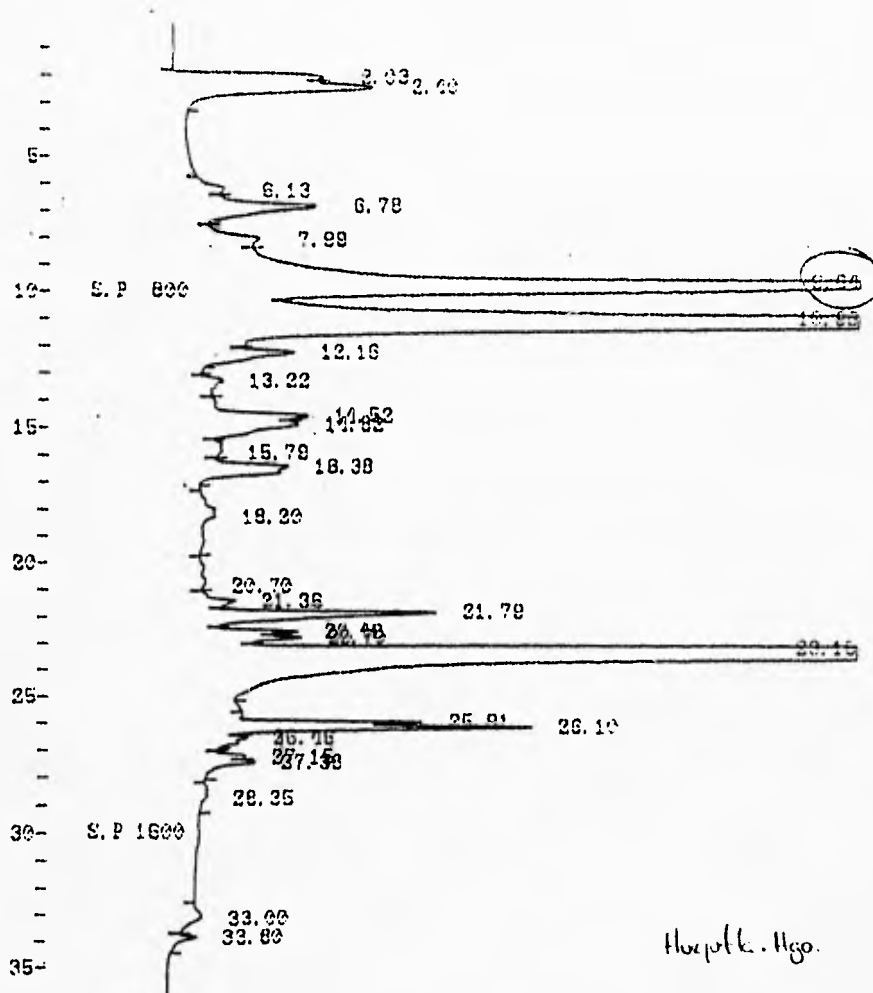


Fig. - Cromatograma por HPLC para la cuantificación de ácido clorogénico en las muestras de café verde de Huejutla, Hidalgo. El tiempo de retención es de 9.94 min..

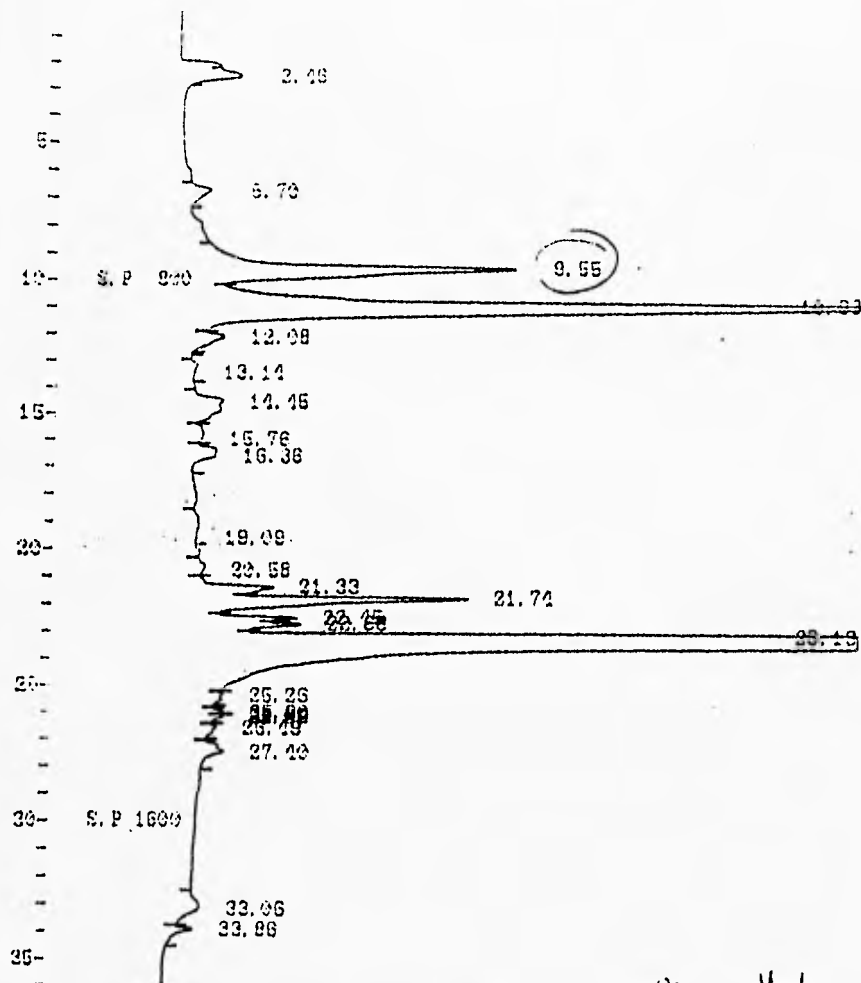


Fig. 10 - Cromatograma por HPLC para la cuantificación de ácido clorogénico en las muestras de café verde de Oruapan, Michoacán. El tiempo de retención es de 9.55 min.

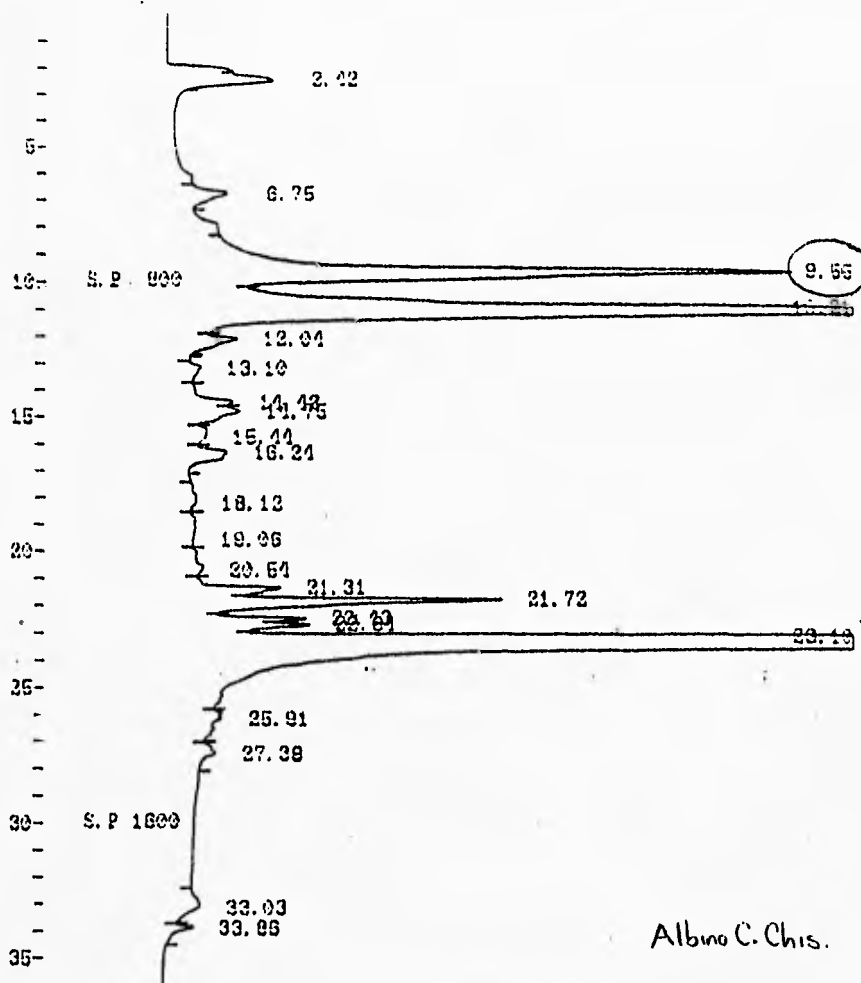
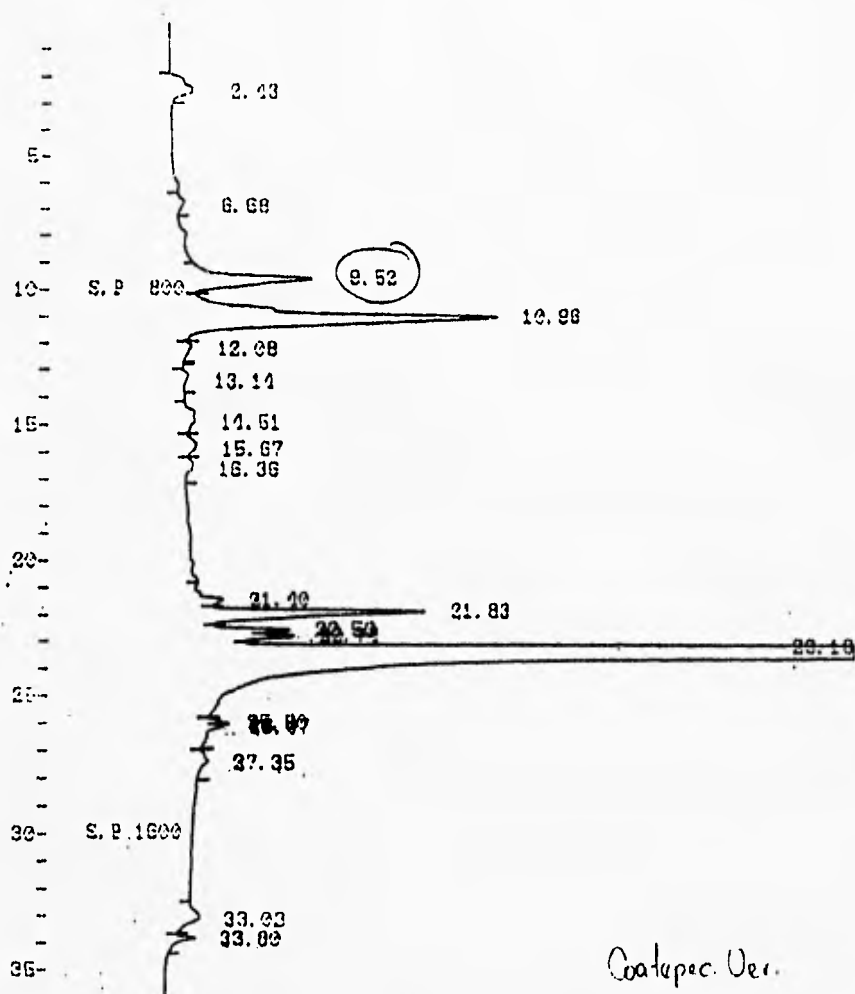


Fig. 11 - Cromatograma por HPLC para la cuantificación de ácido clorogénico en las muestras de café verde de Albino Corzo, Chiapas. El tiempo de retención es de 9.55 min.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



Coatepec, Ver.

Fig. 12 - Cromatograma por HPLC para la cuantificación de ácido clorogénico en las muestras de café verde de Coatepec, Veracruz. El tiempo de retención es de 9.52 min.

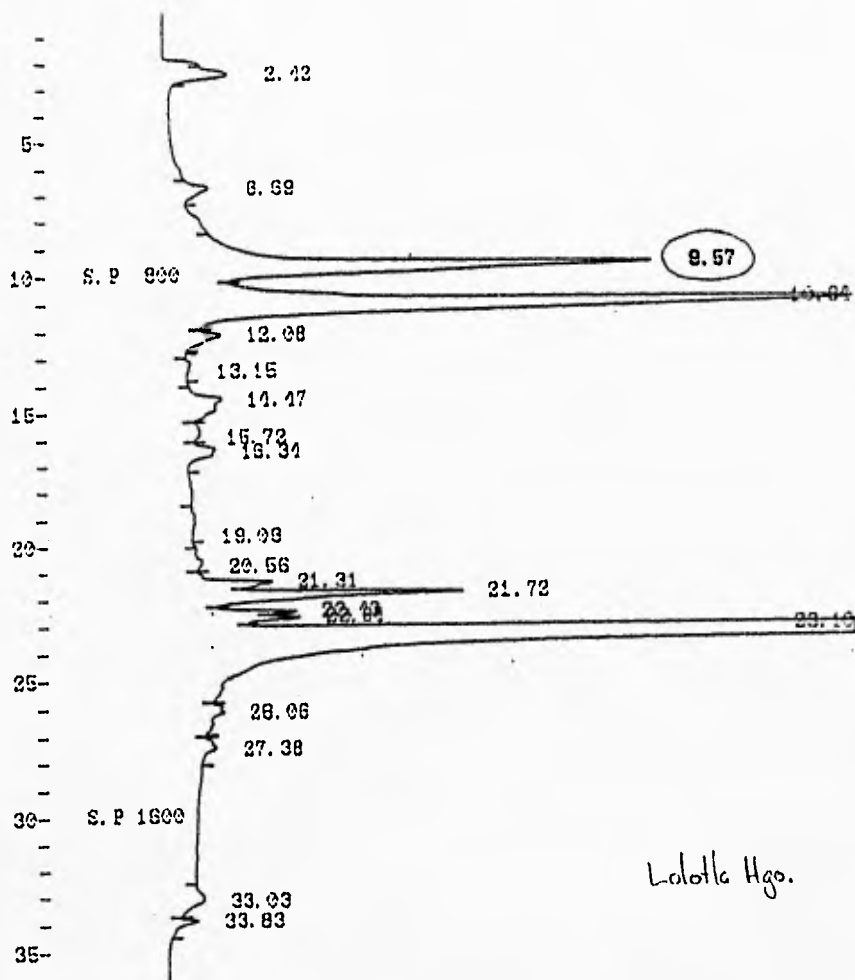


Fig. 13 - Cromatograma por HPLC para la cuantificación de ácido clorogénico en las muestras de café verde de Lolotla, Hidalgo. El tiempo de retención es de 9.57 min.

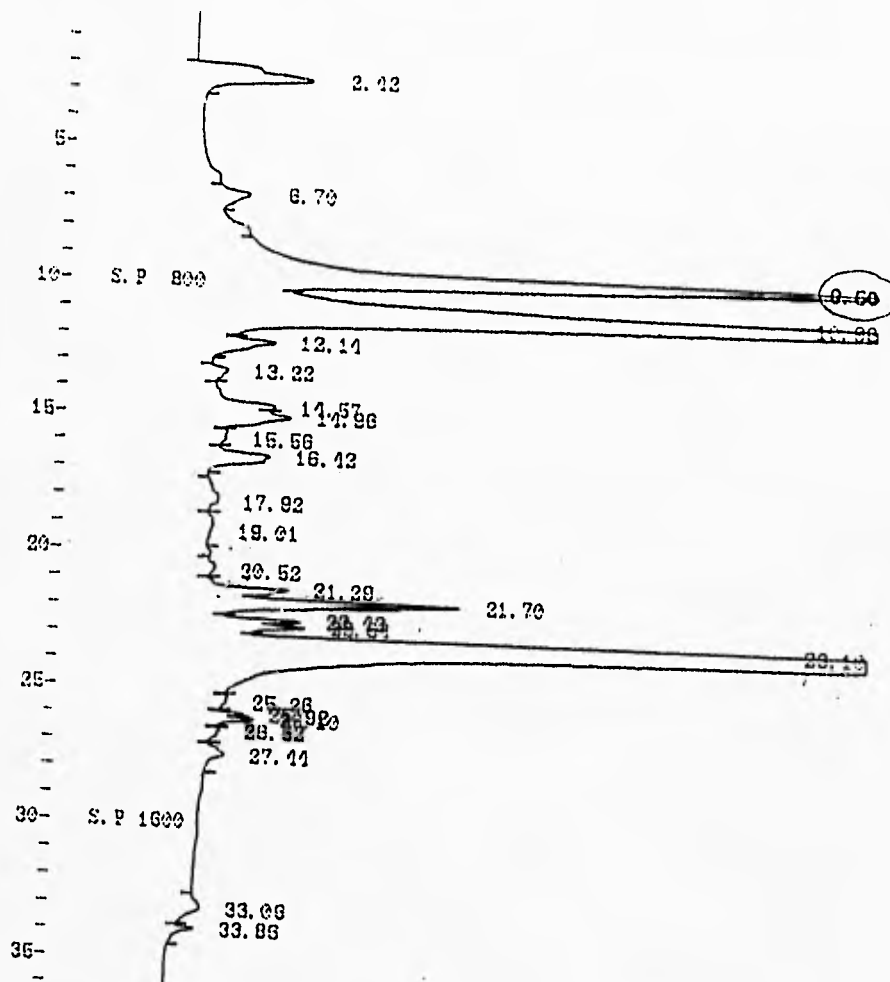


Fig. 14 - Cromatograma por HPLC para la cuantificación de ácido clorogénico en ^{Los Altos, Chiis} las muestras de café verde de Los Altos de Chiapas. El tiempo de retención es de 9.60 min.

DISCUSIÓN

La realización de tres diferentes extracciones con distintos disolventes (hexano, cloroformo y éter dietílico) para la obtención de los lípidos neutros, nos permitió ver que la extracción que se puede considerar más eficiente, es la que se llevó a cabo con hexano, ya que fue la extracción que mostró el perfil cromatográfico más completo.

La extracción selectiva con cloroformo, acetona y metanol, permitió separar en cada uno de los extractos los lípidos neutros de los glicolípidos y de los fosfolípidos, (aunque debe señalarse que en las extracciones bien pudieron haberse obtenido también algunos otros compuestos en proporciones mínimas que pueden ser poco o mínimamente consideradas) presentando todas las muestras perfiles iguales en cuanto al número de componentes, pero no en cuanto a su concentración, por lo que el rendimiento en los extractos es distinto en todas las muestras.

Aunque el contenido de cafeína tuvo valores relativamente heterogéneos se encuentran dentro de los reportados para los cafés arábica (*C. arabica* L.) cultivados en otros países, lo que demuestra que el contenido de cafeína de los arábica analizados se mantienen en proporción adecuada a la del resto de los arábica reportados.

Comparando los resultados obtenidos, se puede apreciar que la diferencia en los valores de los compuestos cuantificados no es grande entre las 6 muestras. Los valores de la cafeína quedaron todos dentro del rango reportado con diferencias entre las muestras que van del 0.08 % al 0.97 % (Tabla 4).

En la determinación del ácido clorogénico hubo dos muestras, la de los Altos de Chiapas y la de Huejuilla Hidalgo, cuyos valores sobrepasaron a los reportados (15.25 y 14.21 %, respectivamente). La diferencia en los valores de las muestras restantes osciló entre 0.26 y 1.66 % que además se encuentran dentro del rango reportado (Tabla 5).

Por otra parte, García (1988) cita que las mejores zonas para el cultivo del café en México son aquellas que presentan climas del tipo semicálido ((A)C(fm), A(C) f (m), A(C) m o (A)C (m)) las cuales se encuentran principalmente en algunas partes de la región del Soconusco en Chiapas y en la región de Cordoba-Coatepec en Veracruz.

De las muestras analizadas; la de Coatepec, que se encuentra dentro de esta zona veracruzana se escogió como muestra tipo para comparar sus resultados con los obtenidos en el resto de las muestras ya que es un café que goza de gran prestigio por su aroma y sabor que posee. Para la cual, se hizo una apreciación global de cantidad (rendimiento) de ácido clorogénico, que como ya se mencionó es un compuesto esencial como precursor del aroma, y de los

extractos lipídicos importantes por tener la cualidad de conservar los compuestos aromáticos además de formar algunos de ellos.

De esta apreciación se vió que del total de las muestras cuatro de ellas incluyendo el tipo (Uruapan, Mich., Lolotla, Hgo., Albino Corzo Chis. y Coatepec, Ver.), tienen valores próximos que hacen que se puedan considerar de calidad comparable a la del tipo escogido. De las otras dos muestras, la de Huejutla, Hgo. tuvo un valor muy elevado de ácido clorogénico, que rebasa el considerado en la literatura como normal para la especie; la de los Altos de Chiapas además del valor alto para el clorogénico lo tuvo también para los extractos lipídicos.

De estas muestras se requerirían más estudios para valorar su calidad en comparación a la de la muestra tipo.

CONCLUSIONES

1. Los perfiles cromatográficos de los extractos lipídicos fueron iguales en número de manchas, pero no en su intensidad (concentración)

2. La cafeína obtenida en las muestras se encuentra dentro del intervalo reportado para los cafés arábica (*C. arabica*), así como el ácido clorogénico, en 4 de las muestras analizadas

3. Considerando la muestra de Coatepec Ver. como muestra tipo, tres de las muestras (Uruapan, Mich., Lololla, Hgo. y Albino Corzo Chis.) presentan valores próximos entre sí de ácido clorogénico y de los extractos lipídicos, ambos factores considerados esenciales para el aroma del café.

4. Las dos muestras restantes (Huejulla, Hgo. y Los Allos de Chis.) presentan valores fuera de los reportados para este tipo de café por lo que requieren estudios más amplios.

REFERENCIAS

- Belitz, H.D., Grosch, W. 1988. Química de Alimentos. ACRIBIA, S.A. Zaragoza. Esp. 813 pp.
- Bergunson, D.J., Hamilton, R.I., and Arnason, J.T. 1995 Leaf prolife of maize resistance factors to European corn Borer *Ostrinia nubilalis*. Journal of Chemical Ecology 21(3): 343-354
- Bruneton, J. 1991. Elementos de Filoquímica y de Farmacognosla. ACRIBIA, S.A. Zaragoza. Esp. 594 pp.
- Coste, R. 1969. El café. BLUME Barcelona, Esp. 284 pp.
- García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen. (Para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana) S.I.G.S.A. México. 217 pp.
- INEGI. 1983. Carta Edafológica. Colima E13-3 1: 250,000
- INEGI. 1985. Carta Edafológica. Ciudad Valles F14-8 1: 250,000
- INEGI. 1985. Carta Edafológica. Huixtla D15-2 1: 250,000
- INEGI. 1983. Carta Edafológica. Mérida 1: 1,000,000
- INEGI. 1985. Carta Edafológica. Pachuca F14-11 1: 250,000
- INEGI. 1985. Carta Edafológica. Veracruz E14-3 1: 250,000
- Mendel, F., Lan Dao, and Gumbmann, M.R. 1989. Ergot Alkaloid and Chlorogenic Acid Content in Different Varieties of Morning-glory (*Ipomoea spp.*) Seeds. J. Agri. Food Chem. 37: 708-712
- Mendoza, G.M.E. 1978. Algunos análisis bromatológicos de *Coffea arabica* L. cultivada en suelos derivados de cenizas volcánicas y andosoles en el transecto Jalapa-Cordoba, Veracruz. Tesis, U.N.A.M. México: 141 p.
- Morton, I.D., Macleod, A.I. 1982. Food Flavours. Elsevier Scientific Publishing Co. N.Y. 473 pp.

- Nolasco, M. 1992. Características Socioeconómicas de las zonas cafetaleras. En Salazar, A.M., Nolasco, M. y Olivera, M. Editores. La producción cafetera en México, 1977-1988. (pp. 36-63) Instituto de Investigaciones Antropológicas
- Örsi, F. & Dicházi, B. 1989. Investigation of coffee lipids. En Biacs, A.P., Grüz, K. and Kremmer, T. Editors. Biological Role of Plants Lipids. (pp. 483-488) PLENUM PRESS. N.Y. and London.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M. and Kriz, G.S. Jr. 1976. Introduction to Organic laboratory techniques. W.B. SAUNDERS CO. Philadelphia. 698 pp.
- Ramos, S., Vallejo, E. y Aguilera, N. 1982. Edafología del Cafetal. En Jiménez, A. E. y Gomez-Pompa, A. Editores. Estudios Ecológicos en el Agroecosistema Cafetalero. C.E.C.S.A. México. 143 pp.
- Renard, M.C., Espinosa, S. T. 1993. Fuerte, Negro y Dulce: el Café. CIENCIAS 29: 3-8
- Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Chiapas. 1988. Los Municipios de Chiapas. Colección: Enciclopedia de los Municipios de México. Secretaría de Gobernación y Gobierno del Estado de Chiapas. México
- Sivetz, M. Ch., Desrosier, N.W. 1979. Coffee Technology. AUI Connecticut. 716 pp.
- Standley, P.C. & Williams, L.O. 1975. Flora of Guatemala. Field Museum of Natural History. USA Vol. 24, Part. XI, Numbers 1 to 3 pp. 44-48.
- Stefanucci, A., Clinton, W.P. & Hamell, M. 1979. Coffee. In Kirk-Othmer & Wiley-Interscience Publication. Editors. Encyclopedia of Chemical Technology. Third edition. John Wiley & Sons. N. Y. USA 6: 511-522