

**PERFILES CROMATOGRÁFICOS Y SENSORIALES DEL
CAFÉ SEGÚN LA ALTURA DE SIEMBRA DEL CULTIVO**

ARISTÓFELES ORTIZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Título de Químico

Directora: Isabel Bravo Realpe.
Química. Ms.c.

Codirector: Dr. Néstor M. Riaño H.
ing. Agrónomo Ph.D.

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA
EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
Popayan septiembre del 2001

NOTA DE ACEPTACIÓN

Directora

Isabel Bravo Realpe

Codirector

Néstor M. Riaño H.

Jurado

Flor María Sarmiento Z.

Jurado

Germán Cuervo Ochoa.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: POPAYAN, _____ DE _____ DE _____

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa su agradecimiento a

A la Federación Nacional de Cafeteros por su financiación del proyecto y en especial al Doctor Gabriel Cadena: Director del centro de investigaciones de café "Pedro Uribe Mejía"- CENICAFE, por la oportunidad que me dió para trabajar en este proyecto y por confiar en mi capacidad.

Al Doctor Américo Ortiz por brindarme sus enseñanzas.

Al Doctor Néstor Riaño por su acertada dirección, por sus enseñanzas, y recomendaciones.

A la profesora Isabel bravo Realpe directora del trabajo de tesis de la Universidad del Cauca. Por su colaboración en la dirección del trabajo.

Al Profesor Efrén Giraldo por su colaboración en la asesoría académica.

Al doctor Bernardo Chaves por su asesoría en el análisis estadístico.

A German Cuervo y Flor Maria Sarmiento por la gran colaboración y consejos brindados durante la evaluación de este trabajo.

A Aura Cecilia Arce P. por su colaboración, apoyo y paciencia que ha tenido conmigo en la realización del trabajo.

A los compañeros de la disciplina de Fisiología vegetal por su colaboración ilimitada en las labores de campo.

A todas las demás personas que de una forma u otra manera colaboraron en el desarrollo de la investigación, mil gracias por su apoyo y consejo.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	13
2	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
3	OBJETIVOS	17
3.1	OBJETIVO GENERAL	17
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4	REVISIÓN DE LITERATURA	18
4.1	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA.....	18
4.1.1	<i>Agua:</i>	19
4.1.2	<i>Minerales:</i>	19
4.1.3	<i>Proteínas:</i>	19
4.1.4	<i>Lípidos:</i>	19
4.1.5	<i>Carbohidratos:</i>	19
4.1.6	<i>Ácidos :</i>	19
4.2	EL AROMA DEL CAFÉ:	20
4.2.1	<i>Torrefacción:</i>	20
4.2.1.1	Etapa de secado:.....	21
4.2.1.2	Etapa de Pirolisis:	21
4.2.1.3	Etapa de enfriamiento:	21
4.2.1.4	Cambios físicos:.....	21
4.2.1.5	Cambios Químicos:.....	22
4.2.2	<i>Componentes en el café tostado:</i>	22
4.2.2.1	Compuestos azufrados:	22
4.2.2.2	Pirazinas:.....	23
4.2.2.3	Piridinas:	23
4.2.2.4	Pirroles:.....	23
4.2.2.5	Oxazoles:	24
4.2.2.6	Furanos:	24
4.2.2.7	Aldehídos:.....	24
4.2.2.8	Cetonas:	25
4.2.2.9	Fenoles:.....	25
4.2.3	<i>Estudios relacionados con la altitud:</i>	25
4.2.4	<i>Estudios relacionados con los volátiles de café</i>	28
4.2.5	<i>Técnicas de extracción y concentración de aromas</i>	30
4.2.5.1	Destilado:.....	30
4.2.5.2	Extracción directa:	31
4.2.5.3	Extracción con vapor:	31

4.2.5.4	Extracción y destilación simultanea:.....	32
4.2.6	<i>Técnica de espacio de cabeza:</i>	32
4.2.6.1	Espacio de cabeza estático	32
4.2.6.1.1	Ventajas:.....	33
4.2.6.1.2	Desventajas:.....	34
4.2.6.2	Espacio de cabeza dinámico:.....	34
4.2.6.2.1	Ventajas:.....	34
4.2.6.2.2	Desventaja:	34
4.2.6.3	Purga y trampa:.....	35
4.2.7	<i>Microextracción en fase sólida (SPME).</i>	35
4.3	CROMATOGRAFÍA DE GASES.	36
5	METODOLOGÍA.....	38
5.1	SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE CAFÉ.	38
5.2	BENEFICIO DE LAS MUESTRAS.....	39
5.2.1	<i>Análisis Físicos.</i>	39
5.2.2	<i>Tostación del café.</i>	40
5.2.3	<i>Molienda del café.</i>	40
5.2.4	<i>Análisis Sensorial</i>	40
5.2.4.1	Análisis estadístico.....	41
5.3	EXTRACCIÓN DE LOS VOLÁTILES.....	41
5.3.1	<i>Estandarización de la técnica microextracción en fase sólida (SPME) para volátiles de café.</i> 41	
5.3.1.1	Condiciones del equipo.....	41
5.3.1.2	Determinación del flujo según curva de Van Deemter.....	42
5.3.1.3	Condiciones del polímero SPME.	43
5.3.1.4	Análisis estadístico.....	44
5.4	ANÁLISIS CUALITATIVO DE LAS MUESTRAS.	46
5.4.1	<i>Análisis estadístico.</i>	46
5.4.2	<i>Índices de Retención de Kováts (Ik)</i>	47
5.5	OBTENCIÓN DE LOS MS DE LOS VOLÁTILES POR CG/MSD.....	47
5.6	IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LOS VOLÁTILES EN EL HEADSPACE CON BASE EN LOS IK Y MS.....	48
5.7	ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS VOLÁTILES DEL CAFÉ.....	48
6	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	49
6.1	ANÁLISIS FÍSICOS.....	49
6.1.1	<i>Análisis del café pergamino</i>	49
6.1.2	<i>Análisis del café almendra.</i>	50
6.1.3	<i>Calidad sensorial del Panel de Catación</i>	52
6.2	ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA SPME PARA VOLÁTILES DE CAFÉ.....	55
6.2.1	<i>Análisis de la curva de Van Deemter.</i>	55
6.2.2	<i>Condiciones del CG/MS.</i>	56
6.2.3	<i>Condiciones de los polímeros de SPME.</i>	57
6.2.3.1	Determinación del tiempo de adsorción de los polímeros.....	57
6.2.3.2	Determinación del tiempo de desorción de los polímeros.....	61
6.2.3.3	Determinación de la cantidad de muestra.....	62
6.2.3.4	Determinación del mejor polímero.....	63
6.2.3.5	Determinación de la mejor columna.	64
6.2.4	<i>Estudio de la reproducibilidad de los tiempos de retención (t_r) y las áreas de los picos cromatográficos.</i>	66
6.3	CARACTERIZACIÓN DE LOS VOLÁTILES POR SPME.....	70
6.3.1	<i>Determinación de la composición del aroma del café por SPME.</i>	70

6.3.1.1	Volátiles aislados de café tostado y molido.	70
6.3.2	<i>Efecto de la altitud del cultivo de cafeto en la composición de los volátiles de café tostado y molido</i>	79
6.3.2.1	Furanos.	80
6.3.2.2	Pirazinas.....	81
6.3.2.3	Cetonas	82
6.3.2.4	Aldehídos.....	82
6.4	ANÁLISIS DE LOS VOLÁTILES POR CG/MSD	84
6.4.1	<i>Espectros de masas</i>	87
6.4.1.1	MS de cetonas y aldehídos alifáticos.	87
6.4.1.2	MS de compuestos heterocíclicos.	88
6.4.1.3	MS de los ácidos carboxílicos.....	91
6.4.1.4	MS de compuestos azufrados alifáticos.	93
7	CONCLUSIONES	95
8	RECOMENDACIONES	97
9	BIBLIOGRAFÍA	98
10	ANEXOS	104

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Componentes más importantes en el aroma del café.....	18
Tabla 2. Origen de la toma de muestras.	39
Tabla 3. Descripción de los tratamientos a evaluar	45
Tabla 4. Distribución de tratamientos para la columna DB5, polímero rojo y repetición uno.	46
Tabla 5. Rendimiento de cosecha para las diferentes alturas de siembra del cultivo de cafeto.....	49
Tabla 6. Porcentaje de granulometría de café almendra dado para cada altura.....	51
Tabla 7. Estudio de la reproducibilidad de los Tr de algunos de los constituyentes del aroma del café tostado y molido.....	67
Tabla 8. Estudio de la reproducibilidad de las áreas cromatográficas.	68
Tabla 9. composición química del aroma del café tostado y molido.....	72
Tabla 10. Compuestos con adsorbacia mayores de 400000 que varían con la altitud de siembra del cultivo de cafeto.	79
Tabla 11. Estudio de la reproducibilidad de las intensidades relativas (%) de los iones característicos de los espectros de masas de algunos compuesto volátiles de café.	86

LISTA DE FIGURAS

figura 1. Descripción y fuente del ácido clorogénico.	20
figura 2. Propiedades organolépticas presentadas a diferentes alturas de siembra del cultivo de café.	53
figura 3. Curva de van deemter para la columna db5	55
figura 4. Curva de van deemter para la columna dbwax.....	56
figura 5. Efecto del tiempo de adsorción del polímero azul en la columna dbwax (p = peso de la muestra, b = tiempo de desorción, área = área del pico).....	59
figura 6. Efecto del tiempo de adsorción del polímero rojo en la columna dbwax (p = peso de la muestra, b = tiempo de desorción, área = área del pico	60
figura 7. Efecto del tiempo de desorción del polímero azul en la columna dbwax. (p = peso de la muestra, a = tiempo de adsorción, área = área del pico).....	61
figura 8. Efecto del tiempo de desorción del polímero rojo en la columna dbwax. (p = peso de la muestra, a = tiempo de adsorción, área = área del pico	62
figura 9. Efecto del tiempo de desorción de 10 min. del polímero azul en la columna dbwax.....	63
figura 10. Perfil cromatográfico de la columna dbwax y polímero azul.....	65
figura 11. Perfil cromatográfico de la columna db5 y polímero azul.....	65
figura 12. Perfil cromatográfico típico del aroma del café tostado y molido	71
figura 13. Composición general de los volátiles obtenidos por spme-hs de cafés tostados y molidos	77
figura 14 Comportamiento del dihidro-2-metil-3-furanona y furfural acetato con la altura de siembra del cultivo.	80

figura 15 Comportamiento del 2,6-dimetil pirazina y metil pirazina con la altura de siembra del cultivo.	81
figura 16. Comportamiento del 3-hidroxiacetona y acetoxiacetona con la altura de siembra del cultivo.	82
figura 17. Comportamiento del 2-metil y 3-metil butanal con la altura de siembra del cultivo de cafeto.	83
figura 18. Espectro de masas y patrón de fragmentación del 2-metil butanal.....	88
figura 19. Espectro de masas y patrón de fragmentación del 2-furanometanol.	90
figura 20. Espectro de masas y patrón de fragmentación del 2,5-dimetil pirazina.....	91
figura 21. Espectro de masas y patrón de fragmentación del ácido propiónico.	92
figura 22. Espectro de masas y patrón de fragmentación del tiopropano.	94

ABREVIATURAS

GC	Gas Chromatography (Cromatografía de Gases ó Cromatógrafo de Gases, según el contexto).
GC/MS	Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas ó Cromatógrafo de Gases acoplado a espectrómetro de Masas, según el contexto).
GLP	Good Laboratory Practice (Buenas prácticas de laboratorio)
HRGC	High Resolution Gas Chromatography (Cromatografía de gases de alta resolución)
MS	Mass Spectra, Mass Spectroscopy (espectro de masas, espectrometría de masas, según contexto)
MSD	Mass Selective Detector (Detector Selectivo de Masas)
m.s.n.m.	Metros sobre el nivel de mar
PCA	Principal Component Analysis (Análisis de Componentes Principales)
i.d.	Diámetro Interno
SPME	Solid Phase Microextraction (microextracción en fase sólida)
HP	Hewlett Packard
T _r	Tiempo de retención
HS	Headspace (espacio de cabeza)
I _k	Indices de Kovats.
DVB/PDMS	Polydimethylsiloxano/Divinylbenzene
PDMS	Polydimethylsiloxano
°C/min.	Grados centígrados/minuto

m	Metros
mm	Milímetros
CV	coeficiente de variación
s	segundos
g	gramos
min	minutos
°C	grados centígrados
μm	micrómetros
u.m.a	unidades de masa atómica
m/z	masa/carga
scan/s	barrido/segundo
eV	electron voltios
cm/s	centímetros/segundos

RESUMEN

En este trabajo se estandarizaron las condiciones de la técnica de GC/MS para estudiar la composición química de volátiles de café (variedad Caturra) tostado y molido, proveniente de un rango altitudinal entre 1100-1900 msnm. Los volátiles se extrajeron mediante la microextracción en fase sólida, utilizando dos polímeros, polidimetilsiloxano (polímero rojo) y divinilbenceno/polidimetilsiloxano (polímero azul) obteniéndose mejores resultados con el polímero azul. Para la separación se utilizaron dos columnas cromatográficas, la DB5 (semipolar) y DBWax (polar), siendo ambas eficientes. Se seleccionó la DBWax por presentar mejor resolución cromatográfica. Se separaron 107 compuestos en el café tostado y molido provenientes de diferentes alturas, de los cuales se identificaron el 80% a través de los índices de Kovats y Espectrometría de masas. Se destacó la familia de los compuestos heterocíclicos (furanos, pirazinas, piridinas etc.) como constituyentes en mayor cantidad (siendo el mayor compuesto el furanometanol). Se encontró que el modelo estadístico cuadrático fue el que mejor se ajustó para correlacionar el efecto de la altitud del cultivo del cafeto con la composición de los volátiles de café tostado y molido. Se hizo el estudio de las propiedades organolépticas del café tostado y molido provenientes de las diferentes alturas, encontrándose que la altura tiene un efecto sobre las propiedades físicas del café en su granulometría, aumentando a medida que la altura aumenta, pero no se demostró efecto de esto en sus propiedades organolépticas.

1 INTRODUCCIÓN

Colombia es actualmente el tercer productor mundial de café. La producción mundial de café excede las 4.4 millones de toneladas métricas y es, después del petróleo, el producto de mayor mercado en el mundo (Encuesta Nacional Cafetera 1999). El café Colombiano es apreciado en el mercado internacional por su suave aroma, ésta característica y las investigaciones sobre el sabor constituyen en la actualidad un campo importante de la investigación en la ciencia y tecnología de los alimentos.

El aroma de los alimentos es el olor agradable que emana de ellos, el cual se percibe a través del sentido del olfato. El aroma desempeña un papel decisivo en la aceptación o rechazo de un alimento; por lo que puede considerarse un atributo fundamental de la calidad.

La fracción volátil de los alimentos está constituida no sólo por los aromas sino también por otras sustancias no olorosas, de ellas el agua es la más abundante. Entre las sustancias orgánicas volátiles, algunas tienen poca significación en el aroma por estar presentes en concentraciones inferiores a su umbral de detección. Diversos estudios muestran que el aroma del café tostado está formado principalmente por compuestos heterocíclicos (furanos, piridinas, pirazinas, pirroles, tiofenos y oxazoles) en concentraciones mayores del 70%, junto con pequeñas cantidades (<1%) de cetonas y aldehídos alifáticos. La cantidad de cada uno de ellos depende de muchas

variables, entre las cuales figuran: Especie, clima, régimen de lluvias, suelo, y altitud, además de los métodos de recolección y procesamiento del grano.

Este trabajo busca contribuir al conocimiento de la composición química del aroma del café tostado y molido, identificando y cuantificando moléculas que permitan determinar su procedencia, principalmente relacionada con la altitud del cultivo. Para ello se utilizará metodologías de punta (microextracción en fase sólida con espacio de cabeza estático, cromatografía de gases-espectrometría de masas), que logran separar y detectar moléculas que se encuentran en mezclas, aun en concentraciones del orden de nonagramos a picogramos.

Esta investigación está comprendida dentro del macroproyecto Estudios Bioquímicos de la Composición del Cafeto, que se está ejecutando en el área de fisiología vegetal, de Cenicafé.

Los resultados podrán ser utilizados en la caracterización y clasificación del café por su calidad, lo cual será de gran ayuda para la obtención de mejores precios para el agricultor.

2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los cambios en el mercado internacional del café, debidos a la sobreoferta del producto y al ingreso de nuevos países productores, ha hecho que el negocio cafetero a escala global pueda ser clasificado en dos grandes categorías. La primera en la cual priman los volúmenes negociados sin tener muy en cuenta la calidad final, éstos se utilizan principalmente en la producción de solubles y de café tostado y molido en mezclas. En este grupo el café Colombiano juega un papel de importancia debido a su calidad que supera a los demás suaves producidos que se traduce en un mayor valor en el mercado. La segunda categoría está conformada por cafés con características especiales, ya sea por su origen, cualidades sensoriales especiales u orgánicos. Esta a pesar de representar una estrecha franja del mercado está en crecimiento y se visualiza como una alternativa para la caficultura Colombiana.

Durante muchos años se ha planteado que el café de Colombia presenta el mejor aroma a nivel mundial, por eso se ha podido competir con otros países como Brasil, ocupando siempre uno de los primeros lugares de exportación de este producto, tanto que éste ha sido uno de los renglones más importantes en la base de la economía en nuestro país. Sin embargo en los últimos años el mercado internacional ha detectado que la calidad del aroma está variando y por esto ha exigido que se haga una clasificación del café según esta característica. No se sabe hasta el momento, a qué factor se puede atribuir esta variación, ya que de acuerdo con las investigaciones realizadas por la Federación Nacional de Cafeteros (FEDERACAFE 1999) se asegura que el café proviene siempre de la misma especie y que por esto la calidad del aroma

no debe variar. Pero de acuerdo a las exigencias del mercado internacional se requiere investigar la causa de la variación del aroma.

Si bien en Colombia se cultiva una sola especie de café *Coffea arabica* L., hay una gama de variedades que responden diferencialmente en cuanto a producción y calidad de acuerdo con la oferta ambiental y del suelo.

La caracterización del café de acuerdo con sus cualidades organolépticas ha permitido diferenciarlo por su origen (clima y suelo) y recientemente los estudios se han enfocado a determinar el efecto de la altitud sobre estas características.

Una de las mayores limitaciones en la caracterización del café, es que ésta se realiza mediante pruebas sensoriales (prueba de tasa) que califican de manera global sus atributos dentro de los cuales se encuentra el aroma. Hoy se conoce que son más de un centenar los compuestos responsables de esta característica (Shibamoto 1991). Es por ello de interés determinar una o varias de estas moléculas (volátiles), que pueden ser identificadas para discriminar la calidad aromática del café de acuerdo con su procedencia.

Para ello se propone identificar los compuestos volátiles más abundantes luego de la tostión y molienda del café, proveniente de una misma variedad sembrada en el rango altitudinal normal del cultivo, utilizando la técnica de microextracción en fase sólida, seguida del análisis de Cromatografía de Gases / Espectrometría de Masas.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Generar información que relacione la altura del cultivo, algunos compuestos del aroma y sus cualidades organolépticas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) espacio de cabeza (HS) para la determinación de compuestos volátiles de café tostado y molido mediante cromatografía gases (CG) espectrometría de masas (MS)
- Caracterizar la composición química del aroma del café tostado y molido (variedad caturra) proveniente de diferentes alturas de cultivo, en un rango comprendido entre 1100 - 1900 msnm.
- Evaluar y explicar correlaciones entre composición química del aroma del café tostado y molido (variedad caturra) y sus propiedades organolépticas.

4 REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA SEMILLA

El café es una semilla de albumen córneo, en el cual se encuentran los cinco grupos fundamentales, que constituyen la materia viva: agua, minerales, glúcidos, lípidos y proteínas; también contiene ácidos orgánicos y clorogénicos, alcaloides y algunas vitaminas (Federacafé 1998). En la tabla 1, se presentan los porcentajes en que están presentes los compuestos más importantes en el grano de café verde y tostado. (Shibamoto 1991, Clarke 1985).

Tabla 1. Componentes más importantes en el aroma del café.

Componente	Café verde (%)	Café tostado (%)
Celulosa	36	37
Lignina	5.6	5.8
Lípidos	11.4	11.9
Cenizas	3.8	4.0
Cafeína	1.2	1.3
Azucares	7.3	0.3
Ácido clorogénico	7.6	3.5
Proteínas	11.6	3.1

Se observa que los resultados cambian considerablemente en proteína, ácido clorogénico y azucares para el café tostado en relación al café verde, debido a que

muchos de los compuestos volátiles presentes en el café tostado se forman principalmente por la reacción de un azúcar con un aminoácido. (reacción de Maillard).

4.1.1 Agua:

El café cosechado seco de agua contiene un 55% de humedad, y se seca hasta el 10-12% para el comercio y procesamiento industrial. En este último se obtiene por ejemplo, café tostado que normalmente contiene entre el 3-5% de humedad.

4.1.2 Minerales:

Los principales minerales encontrados : potasio, sodio, calcio, magnesio, fósforo y azufre.

4.1.3 Proteínas:

Los cafés verdes contienen del 11-12% de nitrógeno total en forma de proteínas y aminoácidos libres.

4.1.4 Lípidos:

Influye en la conservación de sus cualidades organolépticas; entre ellos se encuentran: ácidos grasos, glicéridos, fosfolípidos y materia insaponificable que representa cerca del 0.5 %.

4.1.5 Carbohidratos:

Representa más de la mitad de la materia seca; contiene azúcares reductores, sacarosa, polisacáridos insolubles como hemicelulosa, celulosa y lignina.

4.1.6 Ácidos :

Los granos de café contienen diversos ácidos orgánicos sobre todo ácidos clorogénicos, que son una serie de ácidos fenólicos (Principalmente caféico, ferúlico y p-cumárico) derivados de la esterificación con ácido quínico donde el más significativo es el ácido clorogénico figura 1.

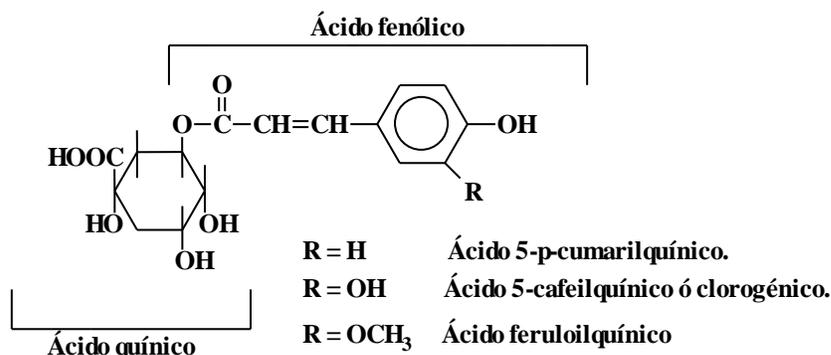


Figura 1. Descripción y fuente del ácido clorogénico.

4.2 EL AROMA DEL CAFÉ:

El aroma del café, debido a su originalidad, fuerza y carácter ha causado siempre curiosidad a los investigadores. El aroma de los granos de café verde es débil, la torrefacción es esencial para la producción del aroma que se reconoce como del café. Durante la tostación, se forman los componentes volátiles del café, algunos compuestos como azúcares, aminoácidos y trigonelina, sufren cambios pirolíticos y como resultado se descomponen, transforman y reaccionan dando compuestos que incluyen ácidos volátiles, carbonilos volátiles y sulfitos. La composición final de los volátiles depende de un gran número de factores que incluyen: especie y variedad del grano, condiciones climáticas y de suelo durante el crecimiento, almacenamiento del grano después de la cosecha y del tiempo, la temperatura y equipos empleados en la tostación, estos factores determinan el aumento y proporción de los precursores no volátiles presentes en el grano antes de la tostación y su producción durante el proceso. (Sivietz 1974, Morton 1986)

4.2.1 Torrefacción:

La torrefacción proporciona al café sus cualidades gustativas y aromáticas, en este proceso ocurren tres etapas como son la de secado, pirolisis y enfriamiento.

4.2.1.1 Etapa de secado:

El secado se considera desde el momento de la carga del café en el tostador hasta más o menos un 80% del tiempo total de la torrefacción. Entre los 125-190°C, el grano pierde su agua ligada, de los 150-230°C pierde su coloración verde, cambiando a amarillo y luego a diversos tonos de marrón, dependiendo el tipo de torrefacción que se desea.

4.2.1.2 Etapa de Pirólisis:

Durante esta etapa, los compuestos del café comienzan a sufrir una serie de reacciones químicas espontáneas de carácter exotérmico, que son favorecidas por los compuestos minerales que contiene el grano, estas reacciones son las que producen toda la gama de compuestos que conforman el aroma y sabor característico del café. Esta etapa ocurre en menos de un minuto a temperatura entre 205-220 °C, también el grano presenta el mayor grado de hinchamiento y se escucha crepitar.

4.2.1.3 Etapa de enfriamiento:

Es la última etapa de la torrefacción. El enfriamiento se debe hacer lo más rápido y súbito posible con el fin de interrumpir las reacciones que ocurren en la pirólisis y conservar así los compuestos que forman el aroma y el sabor del café. El enfriamiento se puede hacer por dos métodos, con aire o por aspersión con agua.

En todas estas etapas de la torrefacción el grano sufre cambios químicos como físicos.

4.2.1.4 Cambios físicos:

El grano va cambiando de densidad a medida que transcurre la torrefacción, su volumen aumenta hasta un 50-100%; pierde su consistencia coriácea y se hace frágil pudiéndose pulverizar fácilmente. El peso va disminuyendo debido a la evaporación del agua contenida en el café verde y a la eliminación de la película plateada (0.2-0.4

%). Se observa también que el color del grano varía a marrón según el grado de torrefacción.

4.2.1.5 Cambios Químicos:

La torrefacción ocasiona también reacciones químicas de los diversos componentes iniciales para dar lugar a la formación de las sustancias que van a proporcionar a la bebida su sabor y aroma característico.

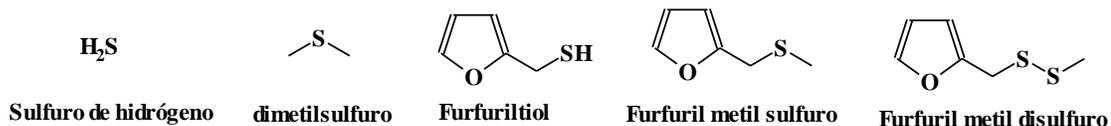
Al comienzo de la torrefacción casi toda la sacarosa desaparece, al parecer se forman primero azúcares reductores los cuales reaccionan de tal manera que la cantidad de azúcar disminuye con rapidez. Las reacciones del azúcar son la deshidratación y la polimerización, se forman sustancias de peso molecular elevado solubles e insolubles en agua, produciendo entre otros: cetonas, furfural, piridina, aromáticos, trimetilamina, ácido fórmico y acético, etc, las grasas se descomponen y naturalmente aumenta el contenido de ácidos grasos en el café torrefactado. (Rincón 1995, Rodríguez 1989)

4.2.2 Componentes en el café tostado:

Se puede decir que en general se encuentran diferentes clase de compuestos en el aroma del café tostado como son: (Shibamoto 1991, Dart 1985, Flament 1991)

4.2.2.1 Compuestos azufrados:

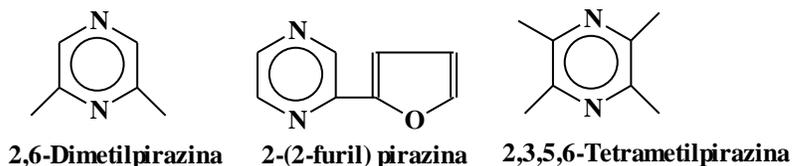
Son importantes en el aroma del café tostado, pueden dar un aroma positivo (dimetilsulfuro) o negativo (sulfuro de hidrógeno).



El furfuriltiol tiene un aroma de café tostado a concentraciones relativamente bajas (0.01-0.5 ppb), el dimetil disulfuro es esencial en la calidad del aroma del café, y su presencia es una señal para improvisar marcadamente el aroma del café.

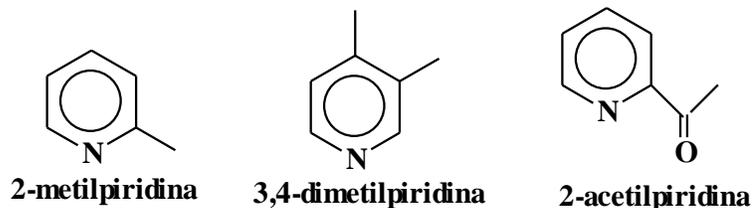
4.2.2.2 Pirazinas:

Son muy abundantes, la pirazinas mismas tienen un aroma amargo, dulce y parecido al maíz. Con sustitución alquílica contribuyen al olor característico del tostado, nuez y quemado.



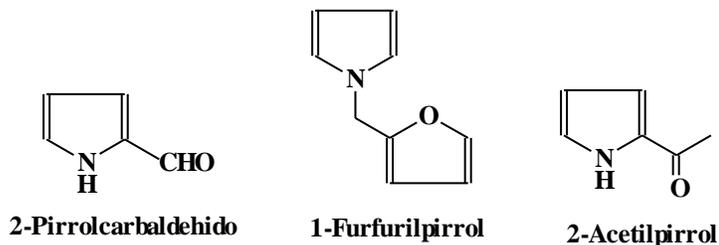
4.2.2.3 Piridinas:

Tienen olor desagradable, tostado y sabor agrio, en el café tostado se han detectado 15 compuestos que tienen piridinas.



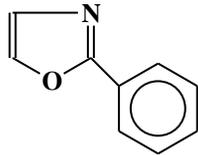
4.2.2.4 Pirroles:

Se encuentra en gran cantidad en el café tostado.

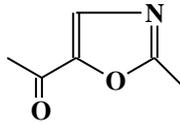


4.2.2.5 Oxazoles:

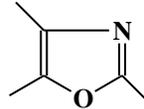
Poseen un sabor dulce en cafés verdes, en el café tostado no contribuyen al aroma debido a las pocas propiedades organolépticas comparada con otros compuestos heterocíclicos.



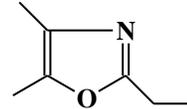
2-Feniloxazol



5- Acetil-2-metiloxazol



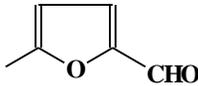
2,4,5-Trimetiloxazol



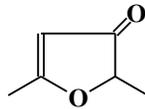
2- Etil-4,5-Dimetiloxazol

4.2.2.6 Furanos:

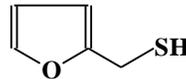
Están presentes en altas concentraciones en café tostado, dando el sabor amargo y aroma a quemado característico del café.



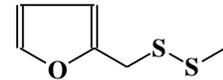
2-Furaldehido



2,5-Dimetil-3(2H)-furanona



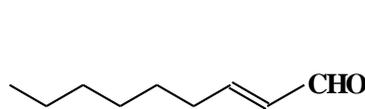
2-(furil)-metanotiol



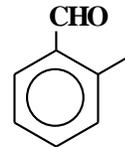
Furfuril metil disulfuro

4.2.2.7 Aldehídos:

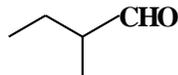
Están presentes en el café tostado, son los compuestos más volátiles, dan aromas características de fruta, flores aunque el metanal y etanal dan aroma a picante y agrio.



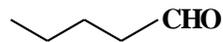
(E)-2-nonenal



2-Metil benzaldehido



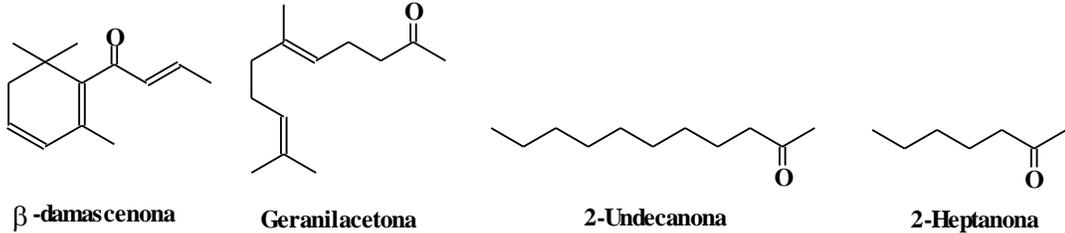
2-Metil butanal



Pentanal

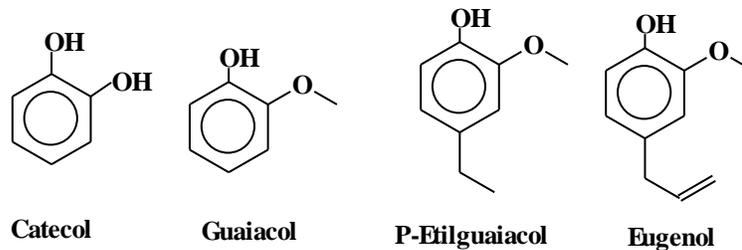
4.2.2.8 Cetonas:

Varían considerablemente en aroma, algunas son dulces, otras picantes etc. En el café, abundan las de bajo peso molecular.



4.2.2.9 Fenoles:

Son característicos en ambos estados de café, incrementa su concentración en el tostado, tienen aromas amargo, quemado, picante etc.



Estos y muchos otros derivados de estos compuestos dan el aroma o sabor final de la taza de café. Teniendo en cuenta que la cantidad de uno o mas grupos de compuestos varia dependiendo de la especie.

4.2.3 Estudios relacionados con la altitud:

BUENAVENTURA, S. C.; CASTAÑO, C. J. (2000). “INFLUENCIA DE LA ALTITUD EN LA CALIDAD DEL CAFÉ PROCEDENTE DEL ECOTOPO 206 B EN COLOMBIA”. Este estudio se realizó en Fresno en el departamento del Tolima. Se trabajó muestras de café a 10 diferentes altitudes entre 1050 y 1950 msnm. **Se demostró que la altitud tiene un efecto determinante sobre las características organolépticas y**

fisicoquímicas del café tostado, tostado y molido y de la bebida del café, pero no se comporta directamente proporcional con estas características.

FIGUEROA S., P.; JIMENEZ G., O.H.; Et al. (2000) INFLUENCIA DE LA VARIEDAD Y LA ALTITUD EN LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y FÍSICAS DEL CAFÉ. Concluyen, que la información derivada de su estudio, **reitera la clara influencia que ejerce el factor altitudinal en la calidad de taza**, independientemente de la variedad cultivada. Las propiedades organolépticas cuerpo, aroma y fineza, se acentúan a medida que se incrementa la altitud.

GUYOT, B. GUEULE, D. MANEZ, J. PERRIOT, J. VILLAIN, L. 1996. “INFLUENCE DE L’ALTITUDE ET DE L’OMBRAGE SUR LA QUALITE, DES CAFÉS ARABICA” Este estudio pone en evidencia, de manera objetiva, la influencia de la sombra y de la altitud en la granulometría y la composición química de los cafés verdes Borbón y Catuai. **El aumento de la acidez conforme a la altitud es una observación descrita ya; en cambio el aumento del contenido de la cafeína y la disminución del contenido de grasa conforme a la altitud son hechos nuevos. La altitud como la sombra favorecen al Catuai una mejor granulometría, permite, desde el punto de vista químico un aumento del contenido de sacarosa y de la acidez. Este hecho resulta importante dado que estos factores contribuyen fuertemente a la formación del aroma durante el tostado. La altitud aumenta el contenido de cafeína y ligeramente el contenido de trigonelina, disminuye el contenido de grasa y el contenido de ácidos clorogénicos no disminuye significativamente.**

CAMARGO, A.P. DE; SANTINATO, R.; CORTEZ, J.G. (1992) APTIDAO CLIMATICA PARA QUALIDADE DA BEBIDA NAS PRINCIPAIS REGIOES CAFEIRAS DE CAFE ARABICA. Presentaron un trabajo en el cual se pretendió caracterizar las principales áreas aptas para la caficultura de Arábica en Brasil, aquellas con disposición climática para producir naturalmente, bebidas de café clasificadas como Mole, Dura

y Río, el cual determina que estas bebidas se presentaron, en determinadas alturas así: Mole que está clasificada como la calidad de bebida óptima, libre de olores y sabores desagradables, esta ubicada en los climas más fríos o antiplanos, con temperatura media anual entre 18°C y 20°C, y con una altitud de más de 900 msnm, mientras que la clasificación Dura que es una bebida con cierta astringencia (acidez indeseable), con olores mohosos y terrosos, se ubica en áreas moderadamente húmedas, con temperatura media de 20°C y 22°C, en lugares con altitud entre 700 a 900 msnm, en lugares con altitud de 600 a 700msnm se obtuvo una bebida dura pero con mucho más cuerpo, y en lugares con altitud menor de 600msnm se presentó una bebida clasificada como Dura a Río la cual es una taza de mala calidad.

CABRERA, S. C. ACEVEDO, F.A. LACERRA, E. J. Et al. (1991) “ALGUNOS ÍNDICES FÍSICOS DEL *COFFEA ARABICA L.* A DIFERENTES ALTURAS DEL ESCAMBRAY AÑOS 1986 Y 1987”. El trabajo se realizó en la zona de Escambray durante los años 1986 y 1987. Se utilizaron plantaciones de *Coffea arabica L.* de 13 años de edad, de las variables rojo y amarillo y catuai amarillo, ubicados a diferentes alturas (420, 570 y 625 msnm). Los mejores resultados se lograron en la variedad caturra amarillo en los índices peso de la cerezas, % de granos vanos y rendimiento agrícola; en catuai amarillo se destacó en el % de exportables y de mayor tamaño. **Existen diferencias significativas entre variedades y alturas analizadas. La altura favorece la taza y sus propiedades físicas.**

MENCHÚ, F. J. ORTEGA, E. (1971). “CORRELACIÓN ENTRE ALGUNAS PROPIEDADES FÍSICAS DEL CAFÉ TOSTADO Y SU CALIDAD INHERENTE”. Este estudio se hizo con muestras procedentes de la Costa Sur-Occidental de Guatemala bajo condiciones ecológicas similares. Esta es una franja que va desde los 300 a los 1500 msnm. Se ha encontrado que la altitud variable determina un cambio definitivo en las características de la bebida. El aroma, la acidez y cuerpo de la misma, aumentan gradualmente con la altura hasta llegar a un máximo en productos de las mayores

altitudes. En las determinaciones efectuadas sobre el grano en verde, se nota que tanto la densidad aparente, como el peso del grano aumentan conforme aumenta la altitud de la plantación

FOOTE, H. E. (1963). “FACTORS AFFECTING CUP QUALITY IN COFFEE”. Los factores que mas afectan la calidad del café son la climatología, las características del suelo y de mayor importancia son los procesos o métodos del beneficio y recolección; **la altitud no afecta la calidad de la bebida.**

4.2.4 Estudios relacionados con los volátiles de café

SHIBAMOTO, T. AN OVERVIEW OF COFFEE AROMA AND FLAVOR CHEMISTRY.

De los compuestos encontrados en café muchos son no polares tales como hidrocarburos y altamente polares tal como alcoholes y ácidos. Las componentes que tienen mayor atención en la química del “flavour” son los compuestos heterocíclicos, en particular pirizinas y tiazoles, debido a sus características odorantes. La mejor ruta involucrada en la formación de volátiles de compuestos heterocíclicos es la reacción de Maillard. Estos compuestos heterocíclicos son formados por la reacción entre una amina (aminoácido o proteína) y un compuesto carbonilo (carbohidratos o azúcares).

CLARKE, R. J. COFFEE CHEMISTRY. VOL. 1. CHAPTER 7 VOLATILE COMPONENTS.

Muchos de los compuestos volátiles son derivados de componentes no volátiles de granos crudo, que se descomponen y reaccionan durante el tostado, formando una mezcla compleja. La pirolisis y otras reacciones e interacciones de componentes, tales como aminoácidos, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, resultan en la formación de las características del aroma y el “flavour” del café. La composición final de los volátiles depende de varios factores, incluyendo especie/variedad del grano, climatología y condiciones del suelo durante el crecimiento, almacenaje de los

granos, tanto de la cosecha como del tostado, el tiempo y temperatura de tostado y equipo usado. Estos factores influyen en el aroma final del café.

TRUGO, L. C. COMPOSITION OF GREEN COFFEE WATER-SOLUBLE FRACTIONS AND IDENTIFICATION OF VOLATILES FORMED DURING ROASTING.

La tostación fomenta una extensiva degradación de trigonelina, sacarosa y aminoácidos en la fracción soluble en agua de bajo peso molecular y de arabinogalactan en la fracción soluble de alto peso molecular. Los análisis de las fracciones determinadas en el tostado muestra que los furanos no solo son formados por la degradación de la sacarosa si no también por la pirolisis de hidroxiaminoácidos de la fracción soluble en agua de alto peso molecular, también se muestra que la piridina encontrada en café tostado no es exclusivamente formada por la degradación de trigonelina si no también por la pirolisis de las proteínas.

DUARTE, R. A. et al. VOLÁTILES DE MAÍZ (*Zea mays*), *Cebada* (*Hordeum vulgare*) Y CAFÉ (*Coffea arabica*) TOSTADOS, INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE ESTOS CEREALES EN EL AROMA DEL CAFÉ.

El análisis por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas permitió identificar 16 compuestos obtenidos por “headspace” en el aroma del café con torrefacción clara; 25 componentes en el café con torrefacción oscura. Los constituyentes mayoritarios del café torrefactado a 230 °C durante 8 minutos fueron el furfural 2-metil-3dihidrofuranona y 2,3-pentadiona mientras que a 230 °C y a 10 minutos fueron el 2-furanometanol, 3-metilpirazina, la 1,6-dimetilpirizina y acetato de 2-furanometanol.

SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T. ISOLATION AND IDENTIFICATION OF HEADSPACE VOLATILES FROM BREWED COFFEE WITH AN ON-COLUMN GC/MS METHOD.

62 compuestos volátiles fueron identificados en el espacio de cabeza de la bebida de café, los compuestos identificados incluyen 23 furanos, 10 pirazinas, 6 cetonas, 5

aldehídos, 3 pirroles, 3 tiofenos y 8 compuestos diferentes tales como alcoholes sulfuros y piridina. Los mayores constituyentes fueron 2-metilbutanal, furano y 3 metilbutanal.

BLANK, I. SEN, A. GROSCH. W. AROMA IMPACT COMPOUNDS OF ARABICA AND ROBUSTA COFFEE QUALITATIVE AND QUANTITATIVE INVESTIGATIONS.

Analizan los componentes volátiles de café tostado de arábica y robusta en polvo y bebido, por CG/SM y CG/O (cromatografía de gases/ olfatometría) indicando que la diferencia de “flavor” entre el café arábica y robusta son principalmente debido a los compuestos predominantes de enoloxo (sotolon, abhexon, furanol, 3,4-dimetilciclopentano -1 -eno) en arábica y de 3,4-dimetil-2-etilpirazina, 2,3-dietil-5-metilpirazina, 4-etilguaiacol y 4-vinilguaiacol en el robusta. La preparación de la bebida aumenta más la diferencia de “flavor” debido a los niveles de concentración de agua-odorantes solubles (furanol, sotolon, abhexon) responsables del sabor a “caramelo dulce”, incrementado más en el café arábica que en el robusta, por otra parte, los alquilpirazinas y guaiacoles son los responsables del aroma “spicy, harsh-earthly” del café robusta.

Muchas de estas extracciones fueron desarrolladas por una o alguna combinación de las siguientes técnicas de extracción de compuestos volátiles.

4.2.5 Técnicas de extracción y concentración de aromas

4.2.5.1 Destilado:

En el destilado la proporción aromática es muy baja y se arrastran también compuestos no volátiles por lo que es necesario realizar una concentración, que generalmente se hace por destilación a reflujo en columnas de rectificación de los condensados, posterior a la destilación. En la destilación se presentan pérdidas de volátiles debido al manejo de la temperatura superiores a 70 °C. para su condensación

se usan condensadores criogénicos y condensación directa con solvente, para que todos los volátiles queden atrapados en el solvente. El inconveniente con este procedimiento es la pérdida de los componentes de mayor volatilidad

4.2.5.2 Extracción directa:

Consiste en la separación de los componentes de un solución líquida por contacto con otro líquido inmiscible (este tipo de separación debe tener en cuenta el coeficiente de reparto); la extracción directa puede hacerse con agitación manual realizada en embudos de decantación, la eficiencia de la extracción es del orden del 20%, por lo que es necesario efectuar extracciones sucesivas, la extracción con agitación mecánica, es un proceso continuo en el que el solvente puro y el alimento están en contacto durante el tiempo necesario; el principio de la operación de esta técnica, es la percolación continua del solvente a través de una mezcla acuosa rica en volátiles. (Valcárcel 1994).

4.2.5.3 Extracción con vapor:

Esta técnica puede aplicarse a presión atmosférica, aunque puede producirse la extracción de sustancias indeseables en la solución acuosa, esta solución se somete posteriormente a concentración con un solvente apropiado, la que puede hacerse por congelación, refrigerando la solución a concentrar, condensando poco a poco y por barbotage de un gas inerte sobre un adsorbente. (Rincón 1995).

La extracción con vapor puede hacerse a presión menor que la atmosférica, la que disminuye el porcentaje de degradación térmica del sustrato. Presiones inferiores a los 50 mmHg para el vapor, producen temperaturas de proceso alrededor de los 20 °C, su desventaja esta en la perdida de componentes volátiles con punto de ebullición superiores a la temperatura del proceso y al largo tiempo del mismo. (Alberola – ghodsizadeh 1984).

4.2.5.4 Extracción y destilación simultánea:

Es una combinación de la destilación directa y la extracción con solventes. Una muestra diluida y el solvente extractor, destilan por separado para condensarse en el mismo sitio, separándose las dos fases del condensado (agua y aromas no extraídos y solvente y aromas extraídos) regresan a sus recipientes respectivos logrando enriquecimiento paulatino del solvente en componentes volátiles lo que pone de manifiesto una de las ventajas del método que es la de aumentar la concentración de los volátiles deseados en un tiempo relativamente corto, usando volúmenes mínimos del solvente, además ofrece la oportunidad de disminuir la degradación térmica, al disminuir la presión del proceso. (Rincón 1995).

4.2.6 Técnica de espacio de cabeza:

Esta técnica se divide frecuentemente en tres categorías: espacio de cabeza estático, espacio de cabeza dinámico y purga y trampa. Sin embargo en cada caso el principio fundamental es el mismo. En espacio de cabeza estático la cantidad de muestra es pequeña (aproximadamente 1 mL) y es tomada de la atmósfera de la muestra e inyectada en el cromatógrafo de gases directamente. En espacio de cabeza dinámico los analitos orgánicos primero son concentrados y después transferidos al cromatógrafo de gases. El término espacio de cabeza dinámico es generalmente usado cuando se refieren a muestras sólidas y el término “purga y trampa” generalmente se refiere a análisis de muestras líquidas por burbujeo de un gas en la muestra. (Marsili 1997).

4.2.6.1 Espacio de cabeza estático

La muestra esta dentro de un vial sellado, calentado en el cual se realiza la vaporización de los componentes volátiles en el espacio de cabeza, permitiendo que se establezca el equilibrio entre la muestra y el espacio de cabeza en un determinado tiempo y a temperatura fija. Una vez los compuestos volátiles estén en equilibrio, una

alícuota del espacio de cabeza es retirada con una jeringa e inyectada en el puerto del cromatógrafo de gases.

La composición en el espacio de cabeza depende de muchos factores, incluyendo la cantidad de muestra, la volatilidad de los componentes, la solubilidad del componente en la muestra matriz, la temperatura del vial, la concentración del analito en el espacio de cabeza, del trayecto del volumen en el vial usado. Etc.

La cantidad de un componente A que se ha escapado de la muestra matriz y existe alrededor de la atmósfera es justo el total de la cantidad de A menos la cantidad inmóvil de la matriz.

$$A_{\text{headspace}} = A_{\text{total}} - A_{\text{matriz}}$$

Y el coeficiente de partición es:

$$K_A = \frac{A_{\text{Headspace}}}{A_{\text{Matriz}}}$$

la cantidad de A que se obtiene dentro del cromatógrafo de gases depende de que porción del espacio de cabeza es inyectado:

$$A_{\text{inyectado}} = \frac{V_S}{V_T} A_H$$

donde V_S es el volumen de inyección en la jeringa, V_T es el volumen del espacio de cabeza en el vaso de la muestra y A_H es la concentración de A en el espacio de cabeza total.

Por lo tanto la cantidad inyectada es:

$$A_I = (A_T - A_M) \frac{V_S}{V_T}$$

4.2.6.1.1 Ventajas:

Su principal ventaja es la habilidad para analizar muestras de bajo peso molecular sin la presencia del pico del solvente. Otra es los bajos costos por análisis, la fácil preparación de la muestra y la eliminación de reactivos.

4.2.6.1.2 Desventajas:

Los análisis en espacio de cabeza estático permiten solo la inyección de una fracción del espacio al cromatógrafo, para niveles de concentración bajos de analitos en la muestra original la técnica de espacio de cabeza puede ser baja en la sensibilidad requerida para su determinación, la elevación de la temperatura para incrementar la volatilidad de los analitos, alcanza una temperatura hasta 150 °C, el análisis a bajas temperaturas del espacio de cabeza estático limita la utilidad para analitos con puntos de ebullición relativamente altos.

4.2.6.2 Espacio de cabeza dinámico:

Como su nombre lo dice el espacio de cabeza involucra movimiento de los analitos, en lugar de permitir que los volátiles de la muestra lleguen al equilibrio entre la matriz y el espacio de cabeza, la muestra alrededor de la atmósfera es constantemente barrida por el flujo de un gas inerte llevándose con sigo los analitos volátiles y concentrándolos en un adsorbente orgánico generalmente.

4.2.6.2.1 Ventajas:

La técnica de espacio de cabeza dinámico ofrece muchas más ventajas que el estático, incluyendo la eliminación del pico del solvente, análisis de volátiles solamente, automatización, y fácil preparación de la muestra, además la adición del adsorbente (trampa) incrementa la sensibilidad incrementando concentración de los analitos volátiles, permitiendo el análisis de volátiles hasta de partes por billón (ppb) a nivel de rutina. Además la muestra entera del espacio de cabeza dinámico es transferido a el cromatógrafo de gases para un solo análisis.

4.2.6.2.2 Desventaja:

La instrumentación requiere un monitoreo continuo de los pasos, válvulas, zonas de calentamiento, es más costoso tanto para la compra como para el análisis por muestra. hay muchas oportunidades para los funcionamientos defectuosos, incluso el daño del calentador, goteo de la válvula, contaminación en general.

4.2.6.3 Purga y trampa:

Tiene las mismas características del espacio de cabeza dinámico, la única diferencia es que en esta técnica se trabaja con muestras líquidas haciendo burbujear la muestra con un gas inerte de arrastre, llevándose la muestra y concentrándola en la trampa. Las ventajas y desventajas de esta técnica son las mismas que la de el espacio de cabeza dinámico.

4.2.7 Microextracción en fase sólida (SPME).

La SPME no requiere solventes o aparatos complicados. Puede concentrar compuestos volátiles y no volátiles, en muestras líquidas o gaseosas, para análisis por GC, GC/MS, o HPLC.

La técnica de microextracción en fase sólida consiste en poner en contacto la muestra con una fibra de sílice fundida recubierta con un material adsorbente; la muestra se coloca en un vial cerrado, se perfora el septum, se expone el material adsorbente a la muestra durante un período de tiempo que oscila entre 1 y 30 minutos, se retira el material adsorbente, se saca la jeringa del vial, se perfora con la jeringa el inyector de un cromatógrafo gaseoso o de un GC-MS, se expone a la temperatura el material adsorbente y los analitos se desorben dentro del inyector. La desorción es total y la fibra es re-usable, con una vida útil de más de 50 inyecciones. Si no se cuenta con un cromatógrafo de gases o un GC-MS, mediante una interfase SPME/HPLC se puede utilizar la SPME con su cromatógrafo líquido (HPLC), en este caso la desorción se produce en la válvula de inyección (se pueden usar válvulas Rheodyne o Valco).

La SPME tiene las siguientes ventajas :

- Es una técnica de extracción libre de solventes.
- Con sólo 3 tipos de materiales adsorbentes se cubren la totalidad de los analitos a determinar tanto para muestras líquidas, sólidas o gaseosas.

- La volatilidad de los compuestos a determinar no es un factor limitante como para el caso del "head-space" o de "purga y trampa"; pueden determinarse muy rápidamente compuestos no volátiles (non purgeables compounds).
- El límite de detección es del orden de las ppt, mucho más bajo que para las técnicas de "head-space"(ppm) o "purga y trampa" (ppb).

La SPME tiene las siguientes desventajas:

Requiere de mucho cuidado con la fibra adsorbente ya que es muy frágil y en la inyección al cromatógrafo se puede romper, se debe tener cuidado en que siempre exista el mismo tiempo de contacto de la fibra con la muestra.

4.3 CROMATOGRAFÍA DE GASES.

La CG se describió por primera vez por James y Martín en 1952, y en 1954 ya se vendían en Londres el primer instrumento comercial fabricado por Griffin y George. A principios de la década de los 80, con el desarrollo de las columnas capilares de sílica fundida, detectores selectivos, sistemas completamente automatizados y técnicas de acople (CG-MS, CG-IR, etc.), la CG ya era una técnica bien establecida y una reconocida herramienta analítica (Hupe 1992).

La CG ha sido una técnica de análisis cuantitativo, cuya confiabilidad aumenta con el empleo de microprocesadores para el manejo de los equipos, lo que hace más reproducible el control de parámetros críticos como la propagación de temperatura de la columna, tiempo de equilibrio, temperatura de inyector y detector y control de flujo de gas de arrastre. Todas estas ventajas, junto con el uso de integradores electrónicos o sistemas de datos (software) especializados reducen el error humano y mejoran la precisión de la técnica.

Por su naturaleza, la CG es una técnica de separación y es virtualmente "ciega" cuando se trata de reconocimiento molecular. Por otra parte, técnicas de análisis elemental como MS y otros métodos espectroscópicos como IR y RMN son eficientes para determinar la estructura de sustancias desconocidas. Es por tanto, muy lógico el interés que se tiene por acoplar métodos cromatográficos y espectroscópicos sofisticados para dar las conocidas técnicas "acopladas". La primera y más importante combinación fue la unión de CG y MS realizada por Charles M. Drew en 1956. Hasta 1983 el sistema CG-MS operaba con columnas empacadas que manejaban grandes volúmenes de gas de arrastre lo que hizo necesario el desarrollo de interfases apropiadas para el acoplamiento de estos equipos. Este problema se obvió con la introducción de columnas capilares, que permitieron una unión directa CG-MS

5 METODOLOGÍA

5.1 SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS DE CAFÉ.

La materia prima fue café cereza colectado directamente en fincas situadas en la cuenca del río Chinchina (anexo 1). Se seleccionaron ocho (8) altitudes entre 1100 a 1900 msnm. Las muestras escogidas presentan las siguientes características:

- ❖ *Coffea Arabica L* variedad caturra.
- ❖ Café cereza 100% maduro aproximadamente 2 Kg.
- ❖ Densidad de siembra entre 5000-10000 árboles por hectárea.
- ❖ Plantaciones entre la primera y tercera cosecha.
- ❖ Cultivos a plena exposición al sol.
- ❖ Aproximadamente el mismo manejo agronómico, Urea y KCl como abono. (Esta característica se coordinó con ayuda de un técnico del comité de cafeteros de Caldas).

La tabla 2. presenta las características de cada sitio, donde se recolectaron las muestras.

Tabla 2. Origen de la toma de muestras.

Altura	Propietario	Vereda	Finca	Densidad	Edad
1150	Luis Hernán Acevedo	La cabaña	La porteña	1.5x1.5	1 año
1250	Mario Gómez Estrada	La cabaña	Belohorizonte	1x1	2 años
1350	FEDERACAFE	Naranjal	Naranjal	1 x 1.5	2 años
1450	Maria Isaura Ospina	La violeta	El Danubio	1.5x1.2	3 años
1550	Isabel Cardona	Alto naranjo	Costa rica	1.4x1.4	3 años
1650	Hernando Gutiérrez	Arenillo	Asturias	1.2x1.2	3 años
1750	Cristóbal Quintero	Java	La matilde	2x1	2 años
1850	Víctor Hugo Pulgarin	Arenillo	Villa luz	1.2x1.2	3 años

5.2 BENEFICIO DE LAS MUESTRAS.

Dos kg de café cereza recolectados en cada altitud se beneficiaron de acuerdo con la siguiente metodología. Despulpado convencional, Remoción del mucílago por fermentación natural durante 14 horas en bolsas plásticas, se lavaron con agua corriente y secado al sol inmediatamente después del lavado. Todas las muestras se secaron hasta un contenido de humedad del 10 al 13%.

5.2.1 Análisis Físicos.

Una vez seco el material, se realizaron los siguientes análisis:

Análisis de café pergamino

Color, olor, porcentaje de humedad, apariencia, porcentaje de pasilla, rendimiento de cosecha.

Análisis de café almendra

Merma, color, olor, apariencia, granulometría, porcentaje de defectos: negro, vinagre, cardenillo, mordido y cortado, astillado y partido, decolorado, cristalizado y perforado por insectos.

5.2.2 Tostación del café.

Las muestras de café se tostaron a una temperatura máxima de 220 °C hasta una pérdida de peso del 14%, según norma técnica colombiana 3435.

5.2.3 Molienda del café.

El café tostado se molió en un molino de discos PROBAT tipo KENIA calibrado para un tamaño de partícula de 500 µm según norma técnica colombiana 2441.

5.2.4 Análisis Sensorial.

Este análisis fue hecho por el Panel de Catación de Cenicafé, conformado en este caso por 4 catadores. Se realizaron 12 evaluaciones sensoriales para cada muestra de café, siguiendo las técnicas para este tipo de análisis. Cada taza se preparó utilizando 11 gramos de café tostado y molido en 150 mL de agua destilada en ebullición. Se usó una escala de 9 puntos para la descripción y calificación de las características organolépticas de la bebida de café. Que se interpreta así: 9,8,7 calidades aceptables; 6,5,4 desviaciones tolerante; 3,2,1 defectos de rechazo.

Cada propiedad sensorial: intensidad del aroma del café molido, aroma, acidez, amargo, cuerpo, impresión global de la bebida, se describió así: 9 muy buena, equilibrada; 8,7,6 buena; 5 verde, astringente, insípida; 4 baja; 3 cereal, reposo, quemado, muy amargo; 2 fermento, extraño, metálico, sucio; 1 fenol, carbonoso, tierra, picante, stinker. (Shahidi 1993, Puerta 1996).

5.2.5 Análisis estadístico.

Se práctico un análisis estadístico de varianza, para determinar promedios (\bar{X}), reproducibilidad (s) y repetividad (CV) de los valores reportados. Además se hizo un análisis de componentes principales usando los diferentes resultados dados por el Panel de Catación, para determinar las muestras que permitan la mejor diferenciación entre los diferentes cafés

5.3 EXTRACCIÓN DE LOS VOLÁTILES.

5.3.1 Estandarización de la técnica microextracción en fase sólida (SPME) para volátiles de café.

La estandarización de esta técnica se llevó a cabo utilizando una muestra de café tostado y molido suministrada por la disciplina de química industrial de Cenicafé.

5.3.1.1 Condiciones del equipo.

Los análisis para la estandarización de la técnica SPME, se llevaron a cabo en un CG/MSD con un cromatógrafo de gases 6890 Hewlett Packard (HP) acoplado a un detector selectivo de masas (MSD) HP 5973, y equipado con un sistema de datos HP MS Chemstation (versión B 01 00). Se empleó una columna capilar de sílica fundida, con fase estacionaria entrecruzada, DB-5 (J&W Scientific, folson, S.A.) 50 m, 0.2 mm i.d; recubierta con 5% de fenildimetil polisiloxano (0.25 μm , medianamente polar) y DBWax (J&W Scientific, folson, S.A.) 50 m, 0.32 mm de diámetro interno, recubierta con una película de 1 μm de polietilenglicol (polar), Se trabajó con rampa de temperatura en el cromatógrafo de gases, la cual comenzó en 30°C hasta 250°C, cambiando la velocidad de incremento de la temperatura hasta obtener la mejor

resolución en el cromatograma. Se empleó como gas de arrastre helio grado 5 (AGAFANO S.A., UAP 99.999%) con una presión de entrada de 80 psi y una velocidad lineal de 23-30 cm/s para la DB5 y de 35-50 cm/s para la DBWax (splitless) según resultados de la curva de Van Deemter. La temperatura del inyector se mantuvo a 250 °C mientras la cámara de ionización y la línea de transferencia estuvieron a 230 y 280 °C respectivamente. La energía del flujo de electrones bombardeantes fue de 70 eV. Los espectros de masas y las corrientes iónicas totales (cromatogramas reconstruidos) se registraron por medio del barrido automático de radiofrecuencia (2.5 scan/s, analizador cuadrupolo) en el intervalo de masas m/z 40-400 u.m.a.

5.3.1.2 Determinación del flujo según curva de Van Deemter.

La determinación del mejor flujo para cada columna se desarrolló utilizando como patrón 2-heptanol (Merck, reference substance for synthesis), para las dos columnas DB5 (semipolar) y DBWax (polar). Para la primera columna (DB5) se trabajó flujos desde 0.3 a 1.2 mL/min. y para la segunda columna (DBWax), se trabajó con flujos de 0.8 a 2.5 mL/min. las condiciones del cromatógrafo de gases masas (CG/MS) fueron: para el horno de 100 °C (2 min.) hasta 180 °C con una tasa de 7 °C/min. Para ambas columnas, el modo del inyector fue split con una división 50:1; el polímero divinilbenceno/polidimetilsiloxano (polímero azul), fue el utilizado para esta sección donde el tiempo de adsorción fue de 20 segundos y el tiempo de desorción fue de 5 min, el volumen de muestra fue de 10 µL de 2-heptanol puro, depositado en un vial de 2 mL con tapa semáforo y sello de teflón. Se realizaron dos repeticiones por cada inyección.

La altura equivalente del plato teórico (HETP) de cada columna se calculó midiendo el ancho de banda y el tiempo de retención y se calculó el número de platos teóricos para cada columna, según la siguiente ecuación:

$$N = 16 \left(\frac{t_r}{w} \right)^2 \qquad HETP = \frac{L}{N}$$

donde:

N = número de platos teóricos.

W = ancho de banda del pico.

T_r = tiempo de retención.

L = longitud de la columna.

5.3.1.3 Condiciones del polímero SPME.

Para la captura y concentración de los volátiles de café tostado y molido, se empleó un polímero con fase adsorbente de polidimetilsiloxano (polímero rojo) específica para compuestos volátiles (supelco, 100µm film thickness non-bonded) y un polímero con fase adsorbente de divenilbenceno/polidimetilsiloxano específico para compuestos volátiles de aminas, aromáticos etc. (supelco, 65µm film thickness, partially crosslinked). La cantidad de muestra utilizada de café tostado y molido varió de 0.3 a 1.0 g. El tiempo de exposición del polímero con el espacio de cabeza utilizado fue de 2 a 10 minutos; la temperatura de adsorción fue de 20 °C, el tiempo de desorción de los compuestos volátiles adsorbidos en ambos polímeros fueron de 2 a 10 minutos a una temperatura de 250 °C

Cada uno de los polímeros se activó según recomendaciones de la casa comercial, que para ambos polímeros la temperatura de activación es de 250 °C, y el tiempo de exposición de la fibra a esta temperatura para el polímero rojo fue de 60 min. y para el polímero azul fue de 30 min.

5.3.1.4 Análisis estadístico.

Durante la parte de estandarización de la técnica se realizaron 216 análisis cromatográficos, (de la muestra suministrada por la disciplina de química agrícola) y sometiendo posteriormente la variación del área y de los tiempos de retención de un grupo de picos correspondiente a un número de compuestos seleccionados (10) a análisis estadístico descriptivo y de varianza. La selección de los picos, se hizo de acuerdo con su altura teniendo como base 400.000 unidades de absorbancia. Se obtuvo el promedio (\bar{X}), reproducibilidad (s) y repetividad (CV) de los valores reportados.

estos valores se calcularon empleando las siguientes relaciones:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad CV = \frac{s}{\bar{X}} \times 100\%$$

donde :

n = Número de mediciones; \bar{X} = Valor promedio; x = Valores de la variable (t_r ó área).

Para escoger los mejores parámetros de captura, concentración y desorción de los volátiles en la estandarización de la técnica, se aplicó un análisis estadístico de arreglo factorial de 3^3 (Análisis de superficie de respuesta) para las variables de tamaño de muestra (0.3, 0.5 y 1 g de muestra), tiempo de adsorción (2, 5 y 10 min) y tiempo de desorción (2, 5 y 10 min) (tabla 3)

Tabla 3. Descripción de los tratamientos (TTO) a evaluar

Tamaño de muestra (g)	Tiempo de adsorción (min)	Tiempo de desorción(min)	TTO	
0.3	2	2	1	
		5	2	
		10	3	
	5	5	2	4
			5	5
			10	6
	10	10	2	7
			5	8
			10	9
0.5	2	2	10	
		5	11	
		10	12	
	5	5	2	13
			5	14
			10	15
	10	10	2	16
			5	17
			10	18
1	2	2	19	
		5	20	
		10	21	
	5	5	2	22
			5	23
			10	24
	10	10	2	25
			5	26
			10	27

Se hicieron dos repeticiones del experimento por cada polímero y por cada columna, a partir del cual, se analizó la superficie de respuesta, con el objeto de encontrar qué niveles de los factores estudiados, logran la máxima cantidad de compuestos dados por el área bajo la curva de la integración de los cromatogramas.

Se aplicó un diseño de parcelas divididas en bloques completamente al azar, para la distribución de los tratamientos, donde la parcela principal es el polímero y la subparcela es el factorial de 3x3x3. En la tabla 4 se lista la distribución de tratamientos para la columna DB5 y el polímero PDMS (polímero rojo), las demás

distribuciones de los tratamientos para las diferentes combinaciones de columna y polímero con sus repeticiones se muestran en el anexo 2.

Tabla 4. Distribución de tratamientos para la columna DB5, polímero rojo y repetición uno.

1TTO9	2TTO5	3TTO8	4TTO23	5TTO7	6TTO2
7TTO15	8TTO26	9TTO4	10TTO1	11TTO3	12TTO21
13TTO6	14TTO22	15TTO16	16TTO18	17TTO24	18TTO13
19TTO25	20TTO17	21TTO27	22TTO11	23TTO12	24TTO19
25TTO14	26TTO20	27TTO10			

5.4 ANÁLISIS CUALITATIVO DE LOS VOLÁTILES DE CAFÉ.

El análisis de los volátiles de café tostado y molido de las diferentes procedencias se realizó en el mismo equipo y con las mejores condiciones obtenidas de la etapa de la estandarización, así: columna capilar de sílica fundida, con fase estacionaria entrecruzada, DBWax (J&W Scientific, folson, S.A.) 50 m de longitud, 0.32 mm de diámetro interno, recubierta con una película de 1 µm de polietilenglicol (polar).

La temperatura del horno se programo a 40 °C (2 min) con una rata de 7 °C hasta 130 °C (1 min.) y después subió la temperatura hasta 200 °C (3 min.) a una rata de 4 °C/min. Gas de arrastre helio con una presión de entrada de 100 psi y una velocidad lineal de 35 cm/s (splitless). una cantidad de muestra de 0.7g de café tostado y molido recolectados en viales de 5 mL de vidrio con tapa semáforo y sello de teflón, se utilizó el polímero DVB/PMS con El tiempo de adsorción de 7 minutos y el tiempo de desorción de 6 minutos.

5.4.1 Análisis estadístico.

Se realizaron 27 análisis cromatográficos, (8 altitudes por 3 repeticiones más 3 inyecciones de los patrones de hidrocarburos). El análisis estadístico fue similar al de la fase previa de la estandarización. Adicionalmente se realizó un análisis de regresión lineal para determinar la relación existente entre el área de cada pico con su

procedencia (altitud) y un análisis de componentes principales usando los compuestos anteriormente seleccionados, agrupados en familias para determinar las muestras que permitan la mejor diferenciación entre las diferentes alturas de cultivo

5.4.2 Índices de Retención de Kováts (Ik)

Los índices de retención de Kováts hallados experimentalmente proporcionaron una identificación previa de los constituyentes de los volátiles de café, al compararse con los reportados en la literatura (Umano 1995, Hwang 1995, Yu 1995). Para su cálculo se emplearon los tiempos de retención de una mezcla de hidrocarburos (C₅-C₁₅) obtenidos bajo las mismas condiciones cromatográficas a las que se sometieron las muestras.

Los Ik se calcularon empleando la relación $I_x = 100n + 100[N - n] \frac{\log t_x - \log t_n}{\log t_N - \log t_n}$

Donde:

I_x = Índice de retención del compuesto.

n = Número de átomos de carbono del n-alcano que fluye antes del compuesto de interés.

N = Número de átomos de carbono del n-alcano que fluye después del compuesto de interés.

t_x = Tiempo de retención del compuesto.

t_n = Tiempo de retención del hidrocarburo que fluye antes del compuesto de interés.

t_N = Tiempo de retención del hidrocarburo que fluye después del compuesto de interés.

5.5 OBTENCIÓN DE LOS MS DE LOS VOLÁTILES POR CG/MSD

El análisis de Espectrometría de Masas, se realizó a partir de los espectros de masas y las corrientes iónicas totales (cromatogramas reconstruidos). Se registraron por medio del barrido automático de radiofrecuencia (2.2 scan/s, analizador cuadrupolar) en el

intervalo de masas m/z 41-400 u.m.a. La homogeneidad de los picos se comprobó con ayuda de los fragmentogramas de masas con base en los iones característicos. Los componentes de los extractos se identificaron en forma "manual" a través del estudio de los patrones de fragmentación y "automática", empleando las bases de datos NBS 75K, Wiley275 y NIST98 de 75000, 275000 y 98000 espectros de masas respectivamente.

5.6 IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPONENTES DE LOS VOLÁTILES EN EL HEADSPACE CON BASE EN LOS IK Y MS

El análisis cualitativo de los volátiles en las muestras se realizó comparando los índices de Kováts determinados experimentalmente en la columna de fase estacionaria polar (DBWax) con los reportados en la literatura. Simultáneamente se confirmó la identificación de los componentes por medio de los espectros de masas y el estudio de su ionización disociativa (70 eV).

5.7 ANÁLISIS CUANTITATIVO DE LOS VOLÁTILES DEL CAFÉ.

La cuantificación se realizó determinando el porcentaje de área relativa de cada pico con un mismo parámetro de integración.

6 ANÁLISIS DE RESULTADOS

6.1 ANÁLISIS FÍSICOS

6.1.1 Análisis del café pergamino

En la tabla 5 se presentan los resultados de la calidad del café estudiado. Además todas las muestras presentaron un color (amarillo claro) y olor característico.

Tabla 5. Rendimiento de cosecha para las diferentes alturas de siembra del cultivo de cafeto.

altura	W cereza (g)	% flotantes	W cps (g)	W pasilla (g)	% H	relación cc/cps	% de pasilla
1850	2113,5	1,5	449,3	2,84	10,86	4,7	0,63
1750	2000,1	4,0	416,3	14,62	13,38	4,8	3,4
1650	1999,9	8,0	387,3	34,36	13,24	5,2	8,2
1550	2000,4	14,0	380,2	48,98	12,91	5,3	11,4
1450	2000,4	10,0	325,7	97,81	13,38	6,1	23,1
1350	1999,9	7,5	364,6	37,23	10,95	5,5	9,3
1250	2000,6	6,0	323,7	57,14	11,52	6,2	15,0
1150	1827,9	5,5	346,4	26,62	10,90	5,3	7,1

cc = Café cereza; cps = Café pergamino seco.

Como se observa en la tabla 5, las muestras que presentaron mejor rendimiento de cosecha fueron las correspondientes a las alturas de 1850 y 1750 msnm, donde su relación de café cereza a café pergamino son las más pequeñas (4.7 y 4.8 respectivamente), indicando que para obtener un kilogramo de café pergamino se necesita 4.7 kg de café cereza para la muestra de 1850 msnm. Estas muestras también

obtuvieron el menor porcentaje de pasilla y frutos de cereza flotantes dañados. Todos estos datos revelan que para el agricultor este café le produce un beneficio económico muy favorable. Las muestras que siguen este comportamiento en menor rendimiento son las de 1650, 1150, 1550 y 1350 msnm. Todas estas muestras tuvieron un rendimiento de cosecha entre 5.2 - 5.4 (relación café cereza a café pergamino) y su porcentaje de pasilla vario entre 7.1 - 11.4 %. Al comparar estos datos, con los de 1850 y 1750 msnm, estos últimos obtienen la misma cantidad de café pergamino con medio kilogramo de café cereza menos que las muestras anteriores y con 1.3 kg de café cereza menos para las muestras de 1450 y 1250 msnm, que presentaron el rendimiento de cosecha más bajo de todas y el mayor porcentaje de pasilla.

Según estos datos se puede predecir que el rendimiento de cosecha presenta una relación proporcional con la altura de siembra del cultivo, como se observa en la tabla 5, a mayor altura presenta mejor rendimiento de cosecha para variedad de café caturra. Hay que tener en cuenta, que este rendimiento de cosecha no indica que a mayor altura la calidad de café es mejor, porque la calidad de la taza de café depende de muchas otras variables no solo de la altura.

6.1.2 Análisis del café almendra.

Las muestras de café presentaron el color y olor característicos para todas las alturas estudiadas.

- Después de trillado el café pergamino seco, se determinó el porcentaje de merma de cada altura dando: del 19.8% para la altura 1850 msnm, y 19.2% para las alturas 1750 y 1650 msnm, 18.7-21.5% para las alturas 1550-1150 msnm. Esto indica que la pérdida de cascarilla del café pergamino es casi constante para todas las alturas.

➤ Almendra perforada por broca: el mayor porcentaje de grano perforado por broca lo presentó el café a una altura de 1250 msnm, con un 37% dentro de los defectos. Este defecto se separó de cada una de las muestras analizadas. No se encontraron almendras vinagres ni granos negros.

➤ Granulometría.

En la tabla 6 se presenta la granulometría de cada muestra de café pergamino después de trillado y clasificado por tamaño, usando los tamices serie Tyler para café, de perforación circular. Para el análisis se utilizaron los granos de tamaño superior: 17/64, 16/64, 15/64, 14/64 y 12/64 pulgadas.

El tamaño de café almendra superior a 15/64 pulgadas se comportó a excepción de la altura 1850 msnm, en forma directamente proporcional a la altura, pues a mayor altura se tiene un porcentaje mayor de tamaño de grano en las mallas 17/64 y 16/64 pulgadas. Siendo en orden de altura (de 1850 a 1150 msnm) de 74.4%, 85.6%, 85.2%, 83.7%, 71.3%, 80.4%, 68.5% y 76.3%. De manera consistente con estos resultados, los autores como Guyot (1996) y Buenaventura (2000), también encontraron que la altura de siembra del cultivo de cafeto y el sombrío tienen un efecto sobre la granulometría directamente proporcional a la altura.

Tabla 6. Porcentaje de granulometría de café almendra dado para cada altura.

altura	%malla 17	%malla 16	%malla 15	%malla 14	%malla 12	%malla 0
1850	37,50	36,90	16,35	6,75	2,40	0,05
1750	58,80	26,80	9,55	3,60	0,85	0,05
1650	57,90	27,30	9,45	4,60	0,65	0,05
1550	56,30	27,40	11,80	3,35	0,90	0,00
1400	34,30	37,00	17,45	7,50	3,30	0,05
1350	54,20	26,20	11,30	6,00	2,30	0,10
1250	32,80	35,80	20,05	8,30	3,05	0,05
1150	53,20	23,10	13,25	7,00	3,05	0,05

6.1.3 Calidad sensorial del Panel de Catación

En la figura 2 se muestra los resultados para cada una de las muestras y propiedades organolépticas dadas por el Panel de Catación de Cenicafé. En esta grafica se puede observar que cada propiedad varió de la siguiente forma:

Aromas: todas las muestras obtuvieron una calificación en promedio, superior o igual a 6 en las variables intensidad del aroma del café tostado y molido y aroma de la bebida, a excepción de la altura de 1850 msnm que presentó un promedio de 4 en el aroma de la bebida.

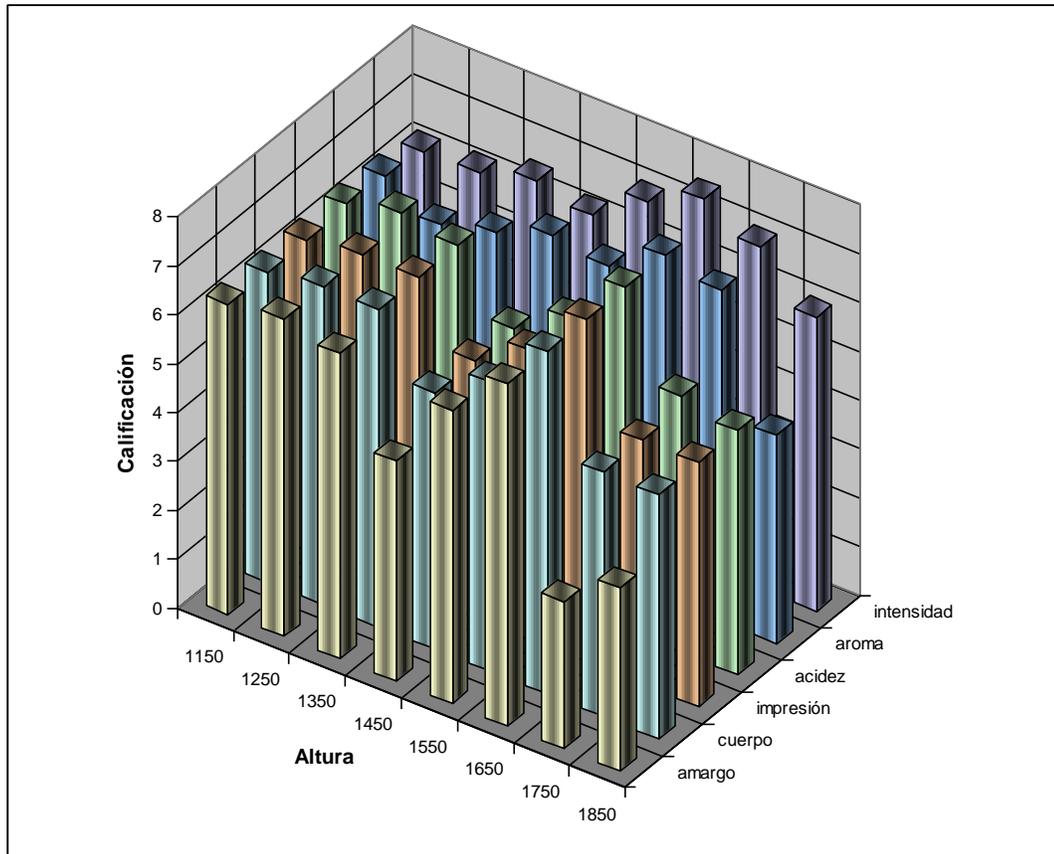
El 50% de las muestras presentaron calificación promedio igual o superior a 7 para el aroma del café tostado y molido, con las mejores calificaciones para las muestra de café a una altura de 1650 msnm. y tostada a un 14.4% en pérdida de peso.

El 37.5% de las muestras presentaron calificación igual o superior a 7 para el aroma de la bebida. La calificaciones mejores fueron para los provenientes de las alturas 1450, 1650 y 1750 msnm tostadas a 15.0%, 14.4% y 16.1% respectivamente en perdida de peso. La calificación más baja la presentó la muestra correspondiente a la altura de 1850 msnm tostada a 14.8% presentando un aroma pronunciado.

Entre el rango de tostación evaluado no se presentaron diferencias significativas en el aroma de las variables, aunque el aroma del café a la altura 1850 msnm se destacó por ser pronunciada.

Acidez: el 62.5% y 37.5% de las muestras presentaron promedio de calificación superior o igual a 6 y 7, respectivamente, para la variable acidez de la bebida. Las mejores calificaciones para la bebida se obtuvieron en los cafés de alturas 1250, 1350 y 1650 msnm, tostadas entre 14.1%, 14.3% y 14.4% en pérdida de peso. Las bajas

calificaciones (verde) para la acidez de la bebida se presentaron en cafés de altura de 1850 msnm con tostación de 14.8% en pérdida de peso (ppt).



intensidad = intensidad del aroma del café tostado y molido; aroma = aroma de la bebida

Figura 2. Propiedades organolépticas presentadas a diferentes alturas de siembra del cultivo de café.

Amargo: esta cualidad se calificó en promedio con 6 o mayor para el 62.5 % de las muestras. Los promedios de las calificaciones más equilibradas para el amargo, según las variables evaluadas, resultaron así: 7 para 1250 y 1650 msnm con ppt de 14.1% y 14.4%. La calificaciones más bajas se presentaron en las muestras de 1750 y 1850 msnm con 3 y 4 de amargo pronunciado respectivamente.

Cuerpo: fue calificado como regular y bueno con calificaciones, en promedio, iguales o superiores a 6 para el 62.5% de las muestras. Las mejores calificaciones, 7

en promedio, para el cuerpo en la bebida se obtuvieron en los cafés de las alturas de 1250, 1350 y 1650 msnm tostadas a 14.4%, 14.3% y 14.4% de pérdida de peso. Las alturas de 1450, 1750 y 1850 tuvieron en promedio las calificaciones más bajas (5 en promedio).

Impresión global: Esta variable permite aceptar o rechazar una muestra de café por su calidad y está relacionada con todas las propiedades percibidas con el sentido del olfato (aroma) y gusto (cuerpo, amargo y acidez). El 62.5% de las muestras obtuvieron un promedio de calificación igual o superior a 6, permitiendo calificar el café como bueno para todas las alturas estudiadas.

En resumen según resultados del Panel de Catación, la mejor taza está a una altura de 1650 msnm, donde todas sus propiedades organolépticas fueron buenas, mientras que los cafés provenientes de las alturas de 1850 y 1750 msnm presentaron las propiedades organolépticas más bajas en todas las variables como se observa en la figura 2. En esta gráfica también se observa que los cafés provenientes de las alturas entre 1150 a 1350 msnm y la altura de 1550 msnm, presentaron propiedades organolépticas buenas y muy similares en promedio.

Estos resultados no están de acuerdo con los reportados en la literatura por autores como Buenaventura (2000), Figueroa (2000) y Guyot (1996), quienes dicen que la altitud tiene un efecto directo sobre las propiedades organolépticas. Esto podría explicarse porque: Buenaventura, realizó un procedimiento de beneficio mecánico, por tanto las condiciones de trabajo son diferentes. Además él utilizó otro ecotopo diferente y este factor podría influir en la obtención de estos resultados. De otra parte Guyot estudió variedades diferentes a Caturra y los parámetros de evaluación son diferentes a los empleados en este trabajo. De igual manera Figueroa hizo el estudio con otras condiciones de trabajo.

6.2 ESTANDARIZACIÓN DE LA TÉCNICA SPME PARA VOLÁTILES DE CAFÉ.

6.2.1 Análisis de la curva de Van Deemter.

Las figuras 3 y 4 presentan las curvas de Van Deemter para la columna DB5 y DBWax , con ellas se determinó que el mejor flujo de trabajo para la columna DB5 es de 0.8 mL/min y el de la columna DBWax es de 1.4 mL/min, sin embargo para esta última se tomó el flujo de 1.2 mL/min, dado que no existe mayor diferencia en la altura eficiente del plato teórico (HETP) y se obtiene mejor separación de los volátiles, evitando solapamientos debidos al flujo.

En la determinación del mejor flujo de trabajo para cada columna se tuvo en cuenta que la altura eficiente del plato teórico (HETP) de las columna estudiada, fuera el más pequeño, ya que ello garantiza mejor resolución del cromatograma, debido a que el soluto o analito de interés puede equilibrarse entre la fase móvil y la fase estacionaria, de una forma más eficiente, permitiendo así un perfil cromatográfico bien definido.

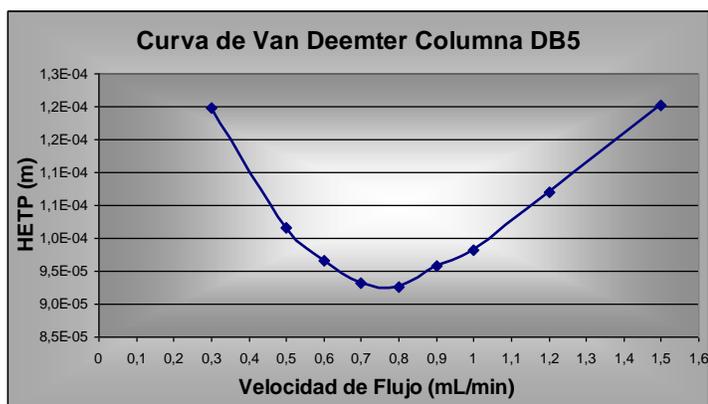


Figura 3. Curva de Van Deemter para la columna DB5

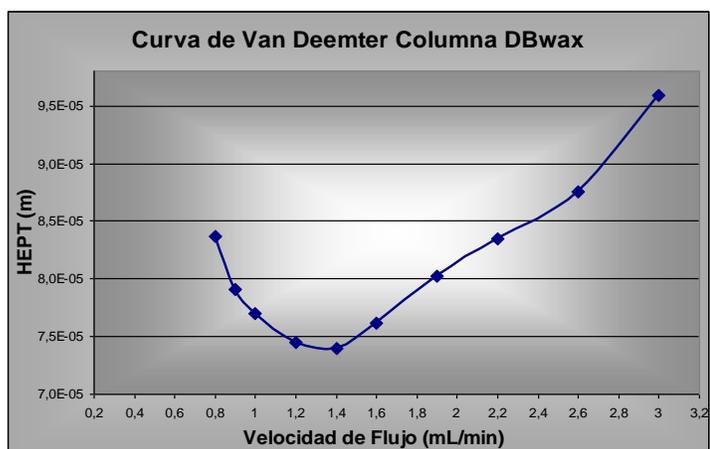


Figura 4. Curva de Van Deemter para la columna DBWax

6.2.2 Condiciones del CG/MS.

Para determinar el mejor perfil cromatográfico, se partió del flujo de trabajo obtenido para cada columna, hasta obtener el mejor perfil cromatográfico. Con la columna DB5 las condiciones óptimas son: flujo de 0.8 mL/min, temperatura del horno de 30 °C (2 min.) con una rata de 4 °C/min. hasta 100 °C (3 min.) y después hasta 250 °C (5 min.) con una rata de 20 °C/min. Con la columna DBWax, las condiciones son: flujo de 1.2 mL/min, temperatura del horno de 40 °C (2 min.) hasta 130 °C con una rata de 7 °C/min y después hasta 200°C (3 min.) con una rata 4°C/min. En ambos casos, se utilizó el detector selectivo de masas y las corrientes iónicas totales (cromatogramas reconstruidos), se registraron por medio del barrido automático de radiofrecuencia (2.2 scan/s, analizador cuadrupolar) en el intervalo de masas m/z 40-350 u.m.a, la temperatura de la fuente de 230 °C, La energía de los electrones bombardeantes fue de 70 eV.

6.2.3 Condiciones de los polímeros de SPME.

La muestra suministrada para esta determinación, presentaba un grado de tostión del 14% en pérdida de peso (según la Norma Técnica Colombiana 2442 de 1998), su coloración (marrón) fue de 330 a 346 según medición del colorímetro Quantik IR, la medición de este aparato se basa en la incidencia de un haz de luz con una longitud de onda de 810nm (rayo de luz monocromática) sobre una muestra molida y bajo tamiz 40; ésta muestra absorbe cierta cantidad de energía, la energía que no es absorbida es reflejada y medida por un detector, el cual expresa la medida como porcentaje de reflectancia.

Con los 216 cromatogramas obtenidos, teniendo como fuente de variación la cantidad de muestra, tiempo de adsorción y tiempo de desorción, se llevó a cabo un análisis de superficie de respuesta, que permitiera escoger el polímero y a su vez las mejores condiciones de funcionamiento. Se tomaron los picos con áreas mayores de 400000 unidades de abundancia.

6.2.3.1 Determinación del tiempo de adsorción de los polímeros.

Las figuras 5 y 6 presentan los resultados de superficie de respuesta del tiempo de adsorción, en función de la cantidad de muestra y el tiempo de desorción, medido como área de los picos. Los datos correspondientes a estas figuras, en general se ajustan estadísticamente a la siguiente ecuación con un 98% de probabilidad.

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{1,1} X_1^2 + \beta_{2,2} X_2^2 + \beta_{3,3} X_3^2 + \beta_{1,2} X_1 X_2 + \beta_{1,3} X_1 X_3 + \beta_{2,3} X_2 X_3$$

Se aprecia claramente que a medida que aumenta el tiempo de adsorción en ambos polímeros (de 2 a 10 min), aumenta el área de los picos, indicando mayor retención de los volátiles. Además, el polímero azul (figura 5), presenta mayores valores de

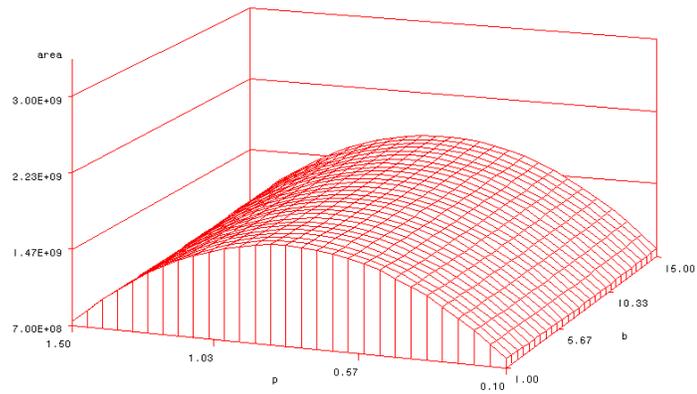
área, para cada uno de los tiempos estudiados, siendo evidente que este último atrapa más eficientemente los volátiles del café tostado y molido (figura 5 y 6). En las gráficas correspondientes a los dos polímetros se puede apreciar que el incremento de área de los tiempos de 5 a 10 min. no es muy significativo como si lo es el correspondiente de 2 a 5 min. Por eso se seleccionó como óptimo el tiempo de adsorción promedio entre 5 a 10 min que es 7 min.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se tiene que con el polímero azul y el tiempo de adsorción de 7 min, se logra la mejor eficiencia. Esto último permite garantizar que el polímero no alcanza su punto de saturación, que ocasionaría una disminución en la adsorción de los volátiles de café tostado y molido.

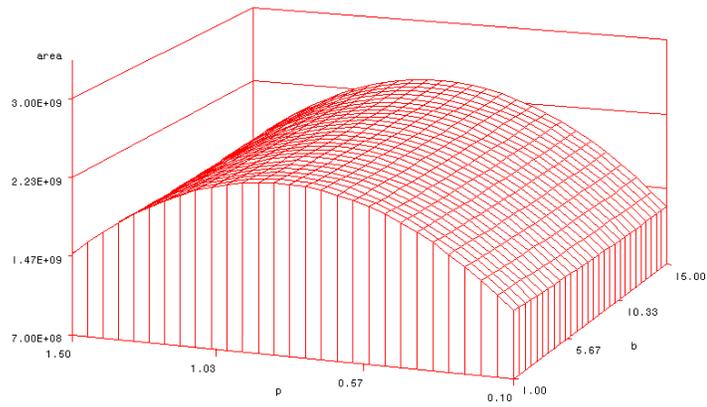
En las figuras 5 y 6 se puede apreciar que hay una disminución de área a mayor peso de muestra utilizada, lo que se puede atribuir probablemente, a que la cantidad de muestra es mayor, se disminuye el espacio de cabeza.

Similares resultados se presentan para la columna DB5 con ambos polímeros, que de igual forma se escogió un tiempo de desorción de 6 minutos (anexo 3).

TA 2 min.



TA 5 min.



TA 10 min.

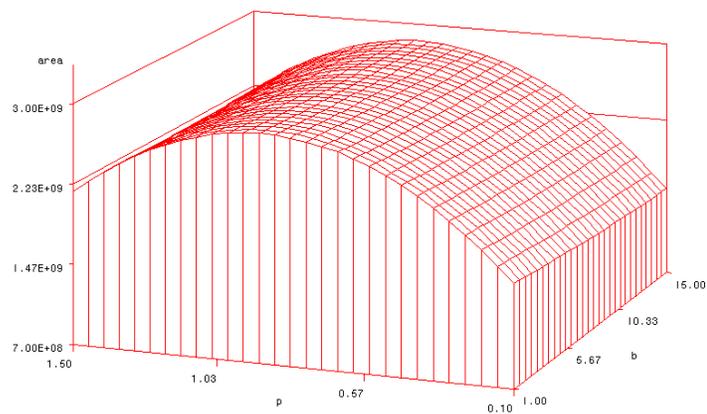
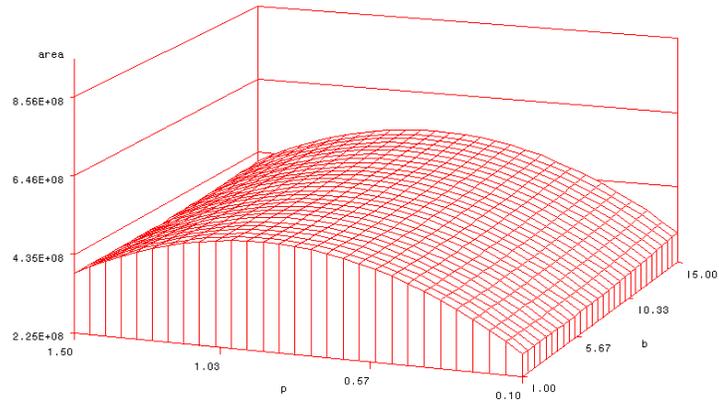
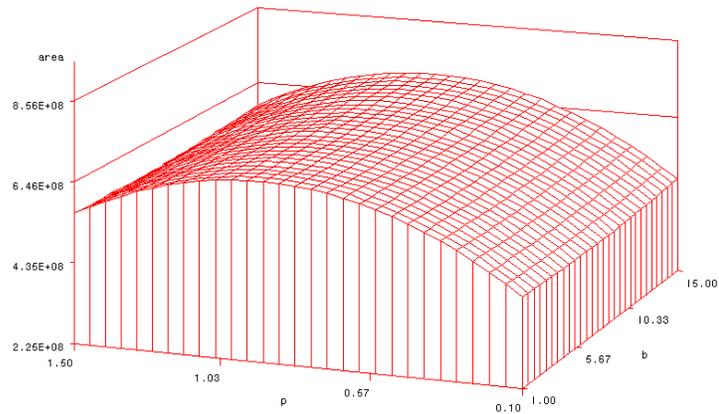


Figura 5. Efecto del tiempo de adsorción del polímero azul en la columna DBWax (p = peso de la muestra, b = tiempo de desorción, área = área del pico)

TA 2 min.



TA 5 min.



TA 10 min.

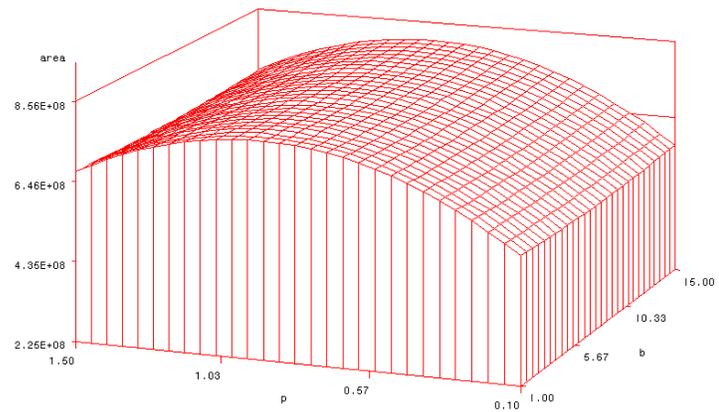


Figura 6. Efecto del tiempo de adsorción del polímero rojo en la columna DBWax (p = peso de la muestra, b = tiempo de desorción, área = área del pico)

6.2.3.2 Determinación del tiempo de desorción de los polímeros.

Al igual que con los datos de la figura 5 y 6, estos datos se ajustan estadísticamente a la ecuación representada anteriormente en la sección 6.2.3.1.

Diferente a lo ocurrido en el tiempo de adsorción, el área correspondiente al tiempo de desorción, no presentó variación significativa al aumentar el tiempo (figura 7 y 8). En general los dos polímeros presentan el mismo comportamiento, sin embargo se observa que son mayores los valores de área de desorción a partir del polímero azul, lo cual está relacionado directamente con los resultados obtenidos para el tiempo de adsorción.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se estableció el tiempo de desorción de 6 minutos, que es la media de los tres tiempos estudiados, es el adecuado para ser empleado en las etapas de la investigación.

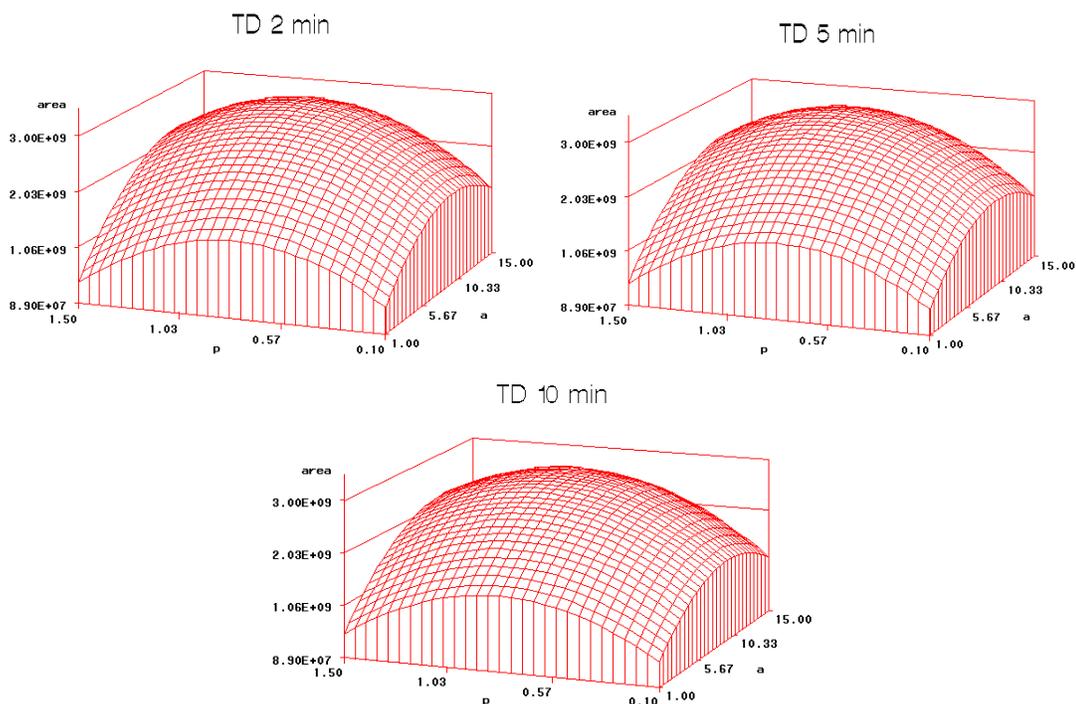


Figura 7. Efecto del tiempo de desorción del polímero azul en la columna DBWax. (p = peso de la muestra, a = tiempo de adsorción, área = área del pico)

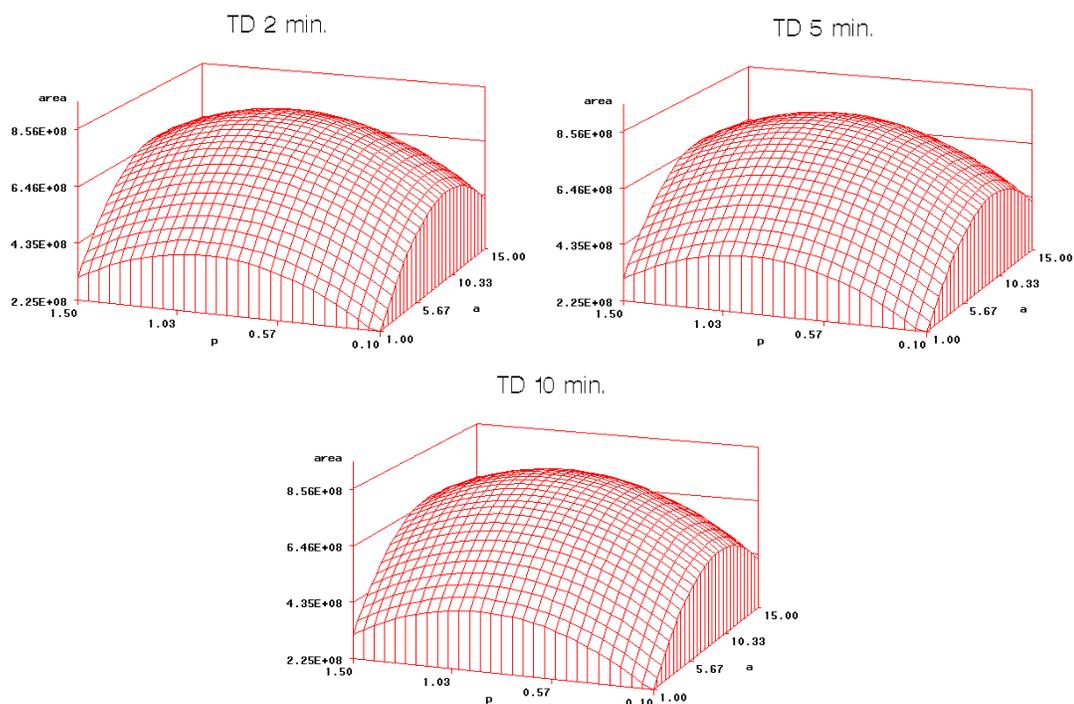


Figura 8. Efecto del tiempo de desorción del polímero rojo en la columna DBWax. (p = peso de la muestra, a = tiempo de adsorción, área = área del pico)

Similares resultados se presentan para la columna DB5 con ambos polímeros, de igual forma se escogió un tiempo de desorción de 6 minutos (ver anexo 4).

6.2.3.3 Determinación de la cantidad de muestra.

Tomando como punto de partida las gráficas 5-8, se puede explicar que esta variable tiene un gran efecto en la concentración de los compuestos volátiles, puesto que a medida que se aumenta la cantidad de muestra, hay una mayor respuesta de los volátiles atrapados en los polímeros, los cuales llegan a un punto de saturación. Después de este punto su comportamiento no es proporcional, y comienza una pequeña disminución de la concentración de los volátiles atrapados en los polímeros. Como se explicó anteriormente, esto se podría atribuir probablemente a la disminución del espacio de cabeza ocasionado por el incremento en la cantidad de muestra, Por lo tanto el aspecto fundamental de la cantidad de muestra a tomar, es

que ésta debe estar casi en el límite de saturación del polímero, es decir, que la respuesta se encuentre casi en el máximo de la superficie, teniendo en cuenta las otras variables.

En la figura 9 (b) se puede observar una ampliación de la figura 9 (a), en ella se muestra que a una cantidad de muestra de 0.7 gramos logra un máximo de trabajo del polímero. También es evidente que a un tiempo de adsorción de 7 min. (determinado anteriormente) y la cantidad de muestra de 0.7 g, se logra una buena condición de trabajo de los polímeros.

Por lo tanto las mejores condiciones de trabajo del polímero azul son: tiempo de adsorción 7 min, tiempo de desorción 6 min. y cantidad de muestra 0.7 gramos, en ambas columnas. Para el polímero rojo son: tiempo de adsorción de 7 min. tiempo de desorción de 6 min. y cantidad de muestra de 0.8 gramos para ambas columnas.

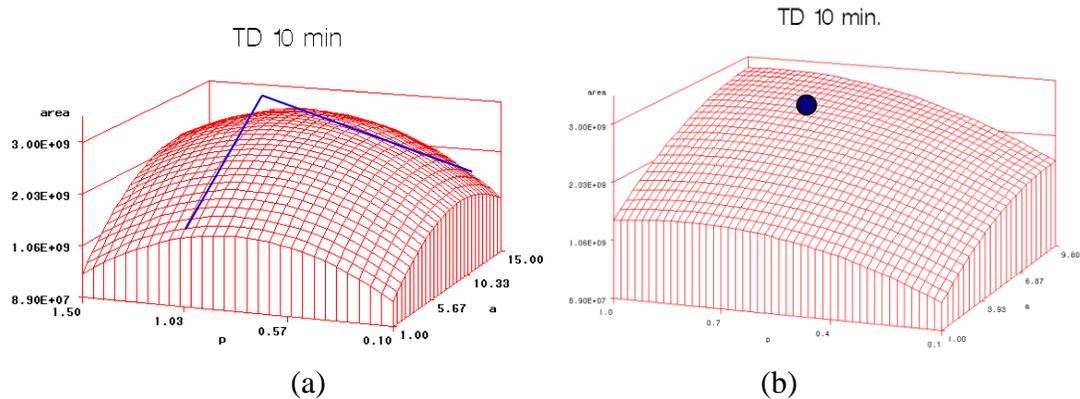


Figura 9. Efecto del tiempo de desorción de 10 min. del polímero azul en la columna DBWax

6.2.3.4 Determinación del mejor polímero.

En todos los experimentos que se llevaron a cabo, el polímero azul presentó una mejor respuesta a la captura de los volátiles del café tostado y molido, por lo tanto se puede afirmar que la combinación de las fases estacionarias del polímero azul

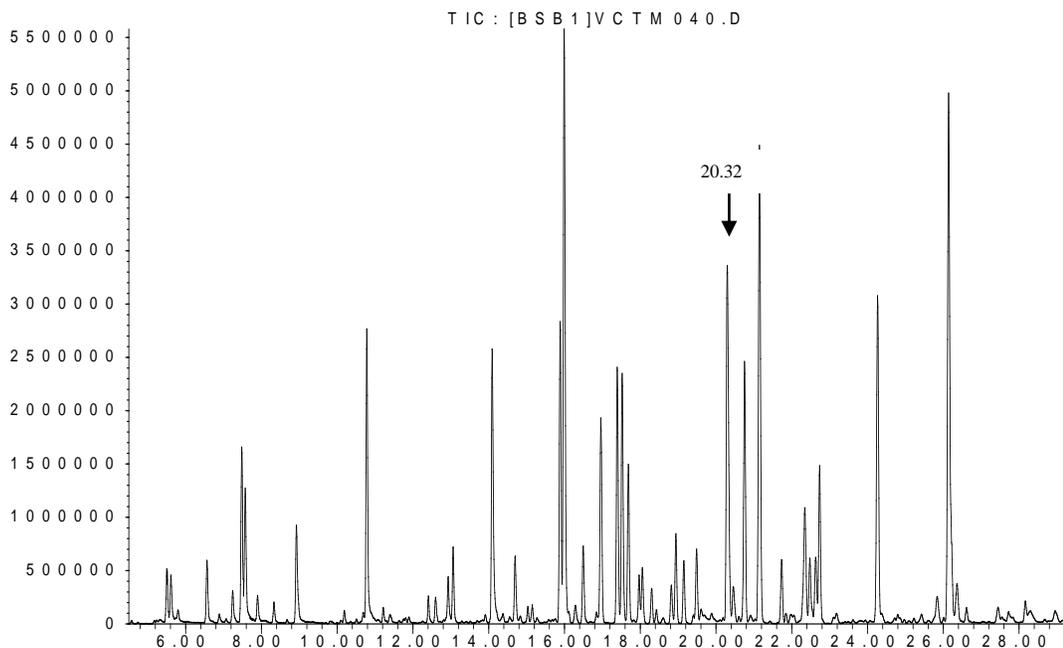
(DVB/PDMS) es más eficaz que la fase estacionaria del polímero rojo (PDMS), debido posiblemente a la gran gama de pirazinas y compuestos heterocíclicos que tiene el aroma de café. En el anexo 5 se puede ver la diferencia en los perfiles cromatográficos entre los dos polímeros para cada columna.

6.2.3.5 Determinación de la mejor columna.

Para determinar cuál de las dos columnas es la mas adecuada para hacer el estudio, se procedió a la obtención de perfiles cromatográficos, teniendo las condiciones de absorción, desorción y la cantidad de muestra optimas establecidas sobre el polímero azul.

En las figuras 10 y 11 se observa los perfiles cromatográficos de los volátiles de café tostado y molido en las mismas condiciones de trabajo en las dos columnas. En ellas se observan detalles relevantes en la separación de los compuestos volátiles, como es el caso del compuesto a un tiempo de retención (t_r) de 6.78 min. para la columna DB5 y de 20.32 para la columna DBWax, este compuesto es el ácido acético que en la columna DB5 no presenta una separación tan eficiente como la columna DBWax, dando una mala resolución y solapando a otros compuestos, debido a que la fase estacionaria no es muy adecuada para su separación. Mientras que la columna DBWax si presenta una resolución adecuada para este compuesto y en general para los demás compuestos, como se puede observar en la figura 10, de igual forma se presenta el perfil de la DB5 en la figura 11.

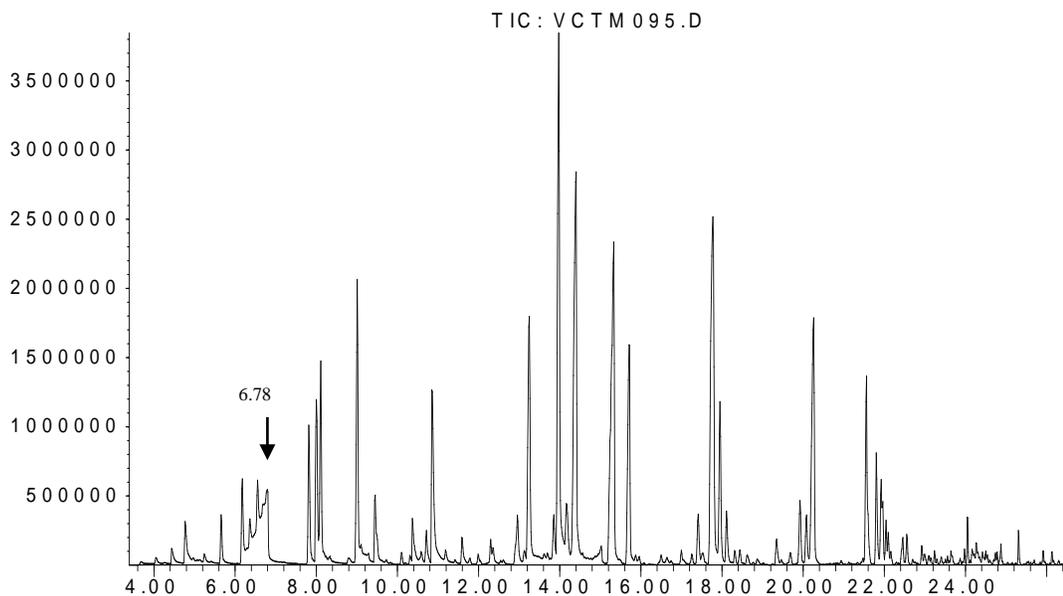
Abundance



Time-->

Figura 10. Perfil cromatográfico de la columna DBWax y polímero azul.

Abundance



Time-->

Figura 11. Perfil cromatográfico de la columna DB5 y polímero azul.

De acuerdo con los resultados presentados, la metodología que se utilizará en resumen es: microextracción en fase sólida en espacio de cabeza estático, vial de 5 mL, polímero con fase estacionaria DVB/PDMS (azul), cantidad de muestra 0.7 g de café tostado y molido, tiempo de adsorción 7 minutos, tiempo de desorción 6 minutos a 250 °C y columna DBWax de 50 m de longitud 0.32 mm de diámetro interno, recubierta con una película de 1µm de polietilenglicol (polar).

Las condiciones del CG/SM son flujo de 1.2 mL/min, temperatura del horno de 40 °C (2 min.) hasta 130 °C (1min) con una rata de 7 °C/min y después hasta 200°C (3 min.) con una rata 4°C/min. Los espectros de masas y las corrientes iónicas totales (cromatogramas reconstruidos) se registran por medio del barrido automático de radiofrecuencia (2.2 scan/s, analizador cuadrupolar) en el intervalo de masas m/z 41-350 u.m.a, la temperatura de la fuente de 230 °C, La energía de los electrones bombardeantes de 70 eV.

6.2.4 Estudio de la reproducibilidad de los tiempos de retención (t_r) y las áreas de los picos cromatográficos.

Las tabla 7 y 8 presentan los valores de t_r , t_r promedio, área, área promedio, desviaciones estándar (s) y coeficiente de variación (CV, %) de varios compuestos volátiles provenientes de una muestra de café, corrida en 6 ocasiones.

En la tabla 7 se observa que los coeficientes de variación para el tiempo de retención (t_r) son inferiores a 0.0262%, el máximo permitido por GLP (good laboratory practice) para la inyección manual es del 2%, lo cual significa que hay un alta grado de repetitividad en los resultados cromatográficos.

En la tabla 8 se describen los resultados obtenidos para la integración de las áreas cromatográficas. Como se puede observar, el CV es para todos los casos, inferior a 5%, lo que indica una alta reproducibilidad en las inyecciones, puesto que según las normas GLP los CV para áreas en CG no deben superar el 5%.

Las bajas desviaciones y coeficientes de variación, permiten concluir que el método estandarizado logra obtener resultados confiables, garantizando que las diferencias obtenidas en el experimento, se deben a efecto de los tratamientos de las muestras y no de la metodología cromatográfica utilizada.

Tabla 7. Estudio de la reproducibilidad de los Tr de algunos de los constituyentes del aroma del café tostado y molido.

Compuesto	Tiempo de retención, min. (n=6)						Tr promedio	S	CV%
	1	2	3	4	5	6			
2-furanometanol	26,133	26,134	26,134	26,132	26,132	26,135	26,133	0,00121	0,0046
metilpirazina	15,986	15,987	15,987	15,985	15,985	15,988	15,986	0,00121	0,0076
furfural	21,140	21,142	21,141	21,140	21,139	21,142	21,141	0,00121	0,0057
acido acetico	20,284	20,285	20,285	20,283	20,282	20,285	20,284	0,00126	0,0062
5-metil-2-furfural	24,258	24,259	24,259	24,257	24,257	24,260	24,258	0,00121	0,0050
Piridina	14,083	14,084	14,091	14,089	14,089	14,092	14,088	0,00369	0,0262
1-(acetiloxo)-2-propanona	20,747	20,748	20,748	20,746	20,746	20,749	20,747	0,00121	0,0058
dihidrio 2-metil 3 furanona	15,881	15,882	15,882	15,880	15,886	15,882	15,882	0,00204	0,0129
2,5-dimetil pirazina	17,383	17,385	17,384	17,390	17,389	17,385	17,386	0,00283	0,0163
2,6-dimetil pirazina	17,517	17,518	17,518	17,516	17,515	17,518	17,517	0,00126	0,0072

Tabla 8. Estudio de la reproducibilidad de las áreas cromatográficas.

Compuesto	Áreas		Áreas Promedio		S		CV%	
	cuentas	relativa %	cuentas	relativa %	cuentas	relativa %	cuentas	relativa %
2-furanometanol	208761331	9,953						
	233103516	10,552						
	232943630	10,47						
	245508247	11,214	230701744,0	10,604	12327915,5	0,421	5,34	3,97
	227183572	10,572						
	236710168	10,865						
Metilpirazina	180628454	8,612						
	184711028	8,361						
	184949340	8,313						
	177771989	8,12	180447496,7	8,299	3653458,9	0,187	2,02	2,25
	178161146	8,291						
	176463023	8,099						
Furfural	165891012	7,909						
	175731457	7,955						
	175084401	7,87						
	169856386	7,758	170620420,0	7,846	4016568,7	0,078	2,35	0,99
	167288583	7,785						
	169870681	7,797						
ácido acético	142764597	6,807						
	155023303	7,017						
	159148223	7,153						
	152896677	6,984	155255268,5	7,138	6956831,9	0,263	4,48	3,68
	161991790	7,539						
	159707021	7,33						
5-metil-2-furfural	106393554	5,073						
	115039853	5,207						
	114160662	5,131						
	116835856	5,336	113340660,0	5,211	4873414,7	0,161	4,30	3,09
	108597529	5,054						
	119016506	5,463						

Continuación de la tabla 8.

Piridina	84007914	4,005						
	84326520	3,817						
	82668091	3,716						
	80401402	3,672	81163359,8	3,733	2957611,5	0,158	3,64	4,23
	77862006	3,623						
	77714226	3,567						
1-(acetiloxo)-2-propanona	83747291	3,993						
	85531927	3,872						
	85741878	3,854						
	84303027	3,851	83796329,5	3,854	1782789,5	0,080	2,13	2,07
	81359344	3,786						
	82094510	3,768						
dihidrio 2-metil 3 furanona	79132896	3,773						
	84857902	3,841						
	85155600	3,828						
	80980171	3,699	82562248,2	3,797	2292751,4	0,055	2,78	1,44
	82530923	3,841						
	82715997	3,797						
2,5-dimetil pirazina	75718671	3,61						
	79988873	3,621						
	79309838	3,565						
	79372589	3,625	78003251,3	3,587	1964920,2	0,043	2,52	1,21
	75448145	3,511						
	78181392	3,588						
2,6-dimetil pirazina	75157800	3,583						
	79987975	3,621						
	79665248	3,581						
	79287492	3,621	77860316,0	3,580	2136017,4	0,041	2,74	1,14
	75493128	3,513						
	77570253	3,56						

6.3 CARACTERIZACIÓN DE LOS VOLÁTILES POR SPME.

6.3.1 Determinación de la composición del aroma del café por SPME

Los constituyentes volátiles del aroma del café tostado y molido fueron extraídos por SPME en un espacio de cabeza de aproximadamente 3.5 mL. Las muestras presentaron generalmente una coloración marrón y un aroma de café concentrado.

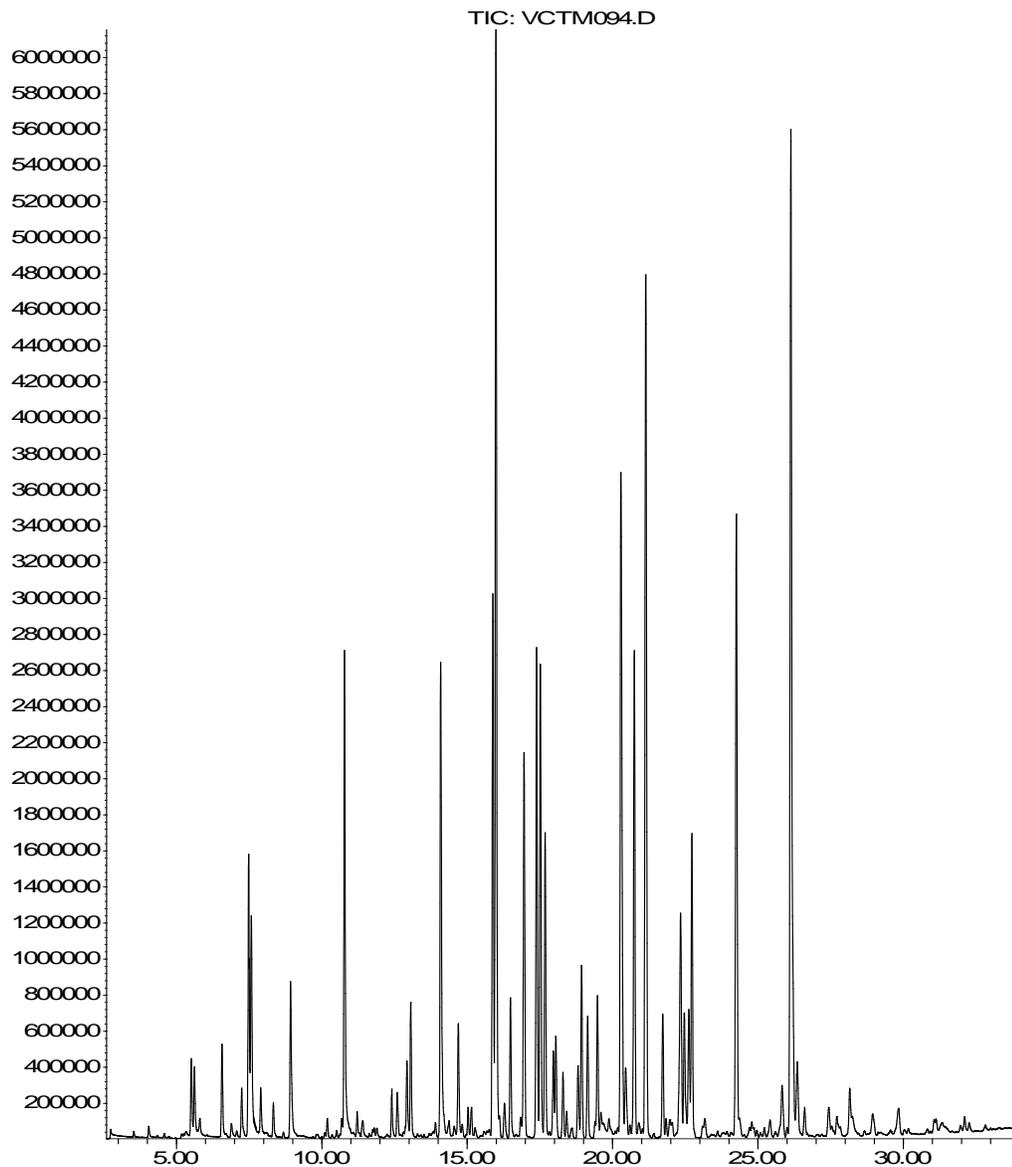
A través de la SPME-HS se aislaron los compuestos volátiles afines a la fase estacionaria del polímero del SPME. Estos compuestos volátiles son adsorbidos y retenidos en la fibra hasta una desorción térmica. La composición cualitativa de los volátiles aislados por el polímero CVB/PDMS en la columna DBWax varió de acuerdo a la altura de siembra del cultivo.

6.3.1.1 Volátiles aislados de café tostado y molido.

En general, la técnica utilizada permitió tener perfiles cromatográficos, donde inicialmente se observan los compuestos alifáticos livianos, como aldehídos y cetonas de no más de cinco carbonos, seguidos por los heterocíclicos y sus derivados. Un cromatograma típico se presenta en la figura 12.

Se separaron 107 compuestos en un rango de tiempo comprendido entre 2.6 y 36 minutos, de los cuales se identificaron el 80%, por medio los EM en forma manual a través del estudio de los patrones de fragmentación y en forma automática, empleando las bases de datos NBS 75K, Wiley275 y Nist98, correspondientes a los espectros de masas. Además se utilizaron los valores de I_k para identificar algunos compuestos en la columna DBWax. La tabla 9 registra la composición química de los volátiles de café tostado y molido según su orden de elución.

Abundance



Time-->

Figura 12. Perfil cromatográfico típico del aroma del café tostado y molido, columna DBWax 50 m, 0.32 mm id, 1µm ancho de película. Flujo 1,2 mL/min.

Tabla 9. Composición química del aroma del café tostado y molido.

Pico #	Compuesto	Ik	Altitud del cultivo							
			1150	1250	1350	1450	1550	1650	1750	1850
			Concentración de los compuestos en % relativo							
1	Dióxido de carbono		0,177	0,172	0,189	0,422	0,145	0,227	0,188	0,272
2	2-metil-1-propeno		0.011	0.010	0.013	0.012	0.011	0.010	0.012	0.012
3	2-metil-1,3-butadieno	619	0,095	0,073	0,067	0,101	0,052	0,071	0,071	0,077
4	Metanotiol	635	0,025	0,03	0,024	0,022	0,024	0,026	0,029	0,028
5	Tiopropano	768	0,21	0,077	0,061	0,194	0,175	0,321	0,35	0,111
6	Propanal	805	0,053	0,05	0,048	0,058	0,041	0,058	0,035	0,052
7	Furano		0,053	0,049	0,046	0,066	0,041	0,058	0,024	0,055
8	2-Metil propanal	815	0,486	0,532	0,535	0,752	0,554	0,714	0,486	0,403
9	2 propanona	818	0,553	0,56	0,545	0,723	0,52	0,672	0,515	0,584
10	Metil acetato	822	0,236	0,227	0,207	0,293	0,18	0,236	0,248	0,276
11	2 metil furano	842	0,904	0,825	0,735	0,99	0,634	0,839	0,821	0,949
12	3 metil furano	855	0,042	0,041	0,04	0,053	0,036	0,051	0,042	0,048
13	2 butanona	859	0,393	0,38	0,363	0,461	0,335	0,421	0,373	0,396
14	2 metil butanal	866	1,517	1,67	1,501	1,86	1,516	1,778	1,354	1,027
15	3 metil butanal	868	1,083	1,049	0,976	1,203	1,002	1,35	0,987	0,842
16	2,5-dimetil furano	887	0,26	0,25	0,204	0,257	0,173	0,211	0,239	0,262
17	2,4-hexadienal		0,026	0,029	0,025	0,028	0,024	0,023	0,025	0,027
18	2,3-butanodiona		1,36	1,42	1,245	1,424	1,226	1,625	1,021	1,062
19	Tiofeno		0,026	0,024	0,023	0,025	0,021	0,027	0,020	0,028
20	2 metil 3 buten 1 ol		0,164	0,149	0,127	0,14	0,109	0,13	0,094	0,09
21	3 hexanona		0,05	0,048	0,048	0,064	0,06	0,074	0,102	0,068
22	2,3-pentadiona		3,716	3,936	3,187	3,713	3,284	3,728	2,667	2,607
23	2 vinilfurano		0,167	0,171	0,147	0,143	0,094	0,148	0,097	0,139
24	Dimetil disulfuro		0,064	0,063	0,053	0,041	0,045	0,032	0,030	0,038
25	2-metiltiofeno		0,038	0,035	0,036	0,033	0,029	0,036	0,032	0,036
26	2-metil-2-butenal		0,056	0,053	0,055	0,064	0,046	0,052	0,053	0,062

Continuación de la tabla 9.

Pico #	Compuesto	Ik	Altitud del cultivo							
			1150	1250	1350	1450	1550	1650	1750	1850
			Concentración de los compuestos en % relativo							
27	2,3 hexanodiona		0,297	0,281	0,274	0,3	0,256	0,267	0,286	0,306
28	3,4-hexanodiona		0,392	0,382	0,34	0,406	0,342	0,354	0,367	0,379
29	3,5-dimetil isoxaol		0,037	0,033	0,038	0,039	0,037	0,035	0,030	0,041
30	1-metil-1H-pirrol		0,385	0,41	0,397	0,416	0,322	0,354	0,391	0,334
31	2-vinil-5metilfurano		0,727	0,729	0,679	0,721	0,712	0,742	0,661	0,637
32	Desconocido		0,045	0,027	0,036	0,024	0,023	0,025	0,038	0,053
33	Tetrametil furano		0,074	0,062	0,064	0,057	0,053	0,057	0,066	0,074
34	1 -etil-1H-pirrol		0,067	0,061	0,065	0,059	0,049	0,051	0,067	0,066
35	Pirirdina		5,492	5,157	4,708	6,029	4,288	4,449	7,53	6,558
36	2-(2-propenil) furano		0,168	0,157	0,146	0,157	0,14	0,147	0,18	0,18
37	2,5-dimetil 1H-pirrol		0,099	0,089	0,097	0,091	0,078	0,066	0,103	0,107
38	Pirazina		0,496	0,645	0,672	0,546	0,58	0,537	0,421	0,463
39	2 metil piridina		0,121	0,112	0,119	0,121	0,115	0,109	0,142	0,146
40	2-(metoximetil) furano		0,331	0,333	0,271	0,318	0,248	0,26	0,357	0,395
41	3-metil-3-buten-1-ol		0,223	0,202	0,157	0,258	0,276	0,266	0,317	0,3
42	Desconocido		0,113	0,089	0,093	0,09	0,084	0,079	0,106	0,116
43	Dihidro 2-metil 3-furanona		4,573	4,539	3,626	4,562	3,791	3,96	3,929	3,803
44	Metil pirazina		5,606	7,139	7,77	6,71	7,099	6,239	5,282	5,358
45	trans -2-metil-5-n-propenilfurano		0,294	0,288	0,3	0,282	0,3	0,263	0,338	0,326
46	3-hidroxi-2-butanona		1,205	1,203	1,08	1,25	1,106	1,167	1,181	1,192
47	2-metil-2-buten-1-ol		0,237	0,202	0,199	0,183	0,176	0,199	0,213	0,231
48	1-hidroxi-2-propanona		2,447	2,708	2,366	2,056	2,328	2,502	1,68	1,806
49	2,5-dimetil pirazina		2,102	2,459	2,85	2,487	2,869	2,402	2,188	2,165
50	2,6-dimetil pirazina		2,142	2,531	3,071	2,574	2,909	2,406	2,196	2,269
51	etil pirazina		1,299	1,522	1,867	1,59	1,756	1,447	1,303	1,39
52	2-metil-3-pentanol		0,685	0,676	0,631	0,745	0,686	0,666	0,685	0,698
53	2,3-dimetil pirazina		0,371	0,443	0,558	0,443	0,511	0,416	0,403	0,417

Continuación de la tabla 9.

Pico #	Compuesto	Ik	Altitud del cultivo							
			1150	1250	1350	1450	1550	1650	1750	1850
			Concentración de los compuestos en % relativo							
54	2-butanol		0,556	0,544	0,511	0,596	0,558	0,535	0,568	0,572
55	3-penteno-2-ol		0,164	0,15	0,141	0,172	0,15	0,151	0,205	0,211
56	1-ona-2-ciclopenteno		0,119	0,112	0,105	0,119	0,111	0,111	0,147	0,151
57	1-hidroxi-2-butanona		0,814	0,787	0,725	0,737	0,738	0,769	0,745	0,759
58	2-etil-6-metil pirazina		0,641	0,726	0,965	0,817	0,91	0,744	0,703	0,73
59	2-etil-5-metil pirazina		0,497	0,526	0,66	0,6	0,698	0,561	0,581	0,566
60	Desconocido		0,088	0,081	0,071	0,084	0,08	0,08	0,113	0,12
61	trimetil pirazina		0,436	0,504	0,681	0,552	0,647	0,516	0,515	0,501
62	3-(1-metiletoxi)-propanitrilo		1,128	1,322	1,135	1,051	1,309	1,41	0,459	0,404
63	Desconocido		0,548	0,556	0,559	0,521	0,623	0,649	0,476	0,471
64	Ácido acético		4,788	4,876	4,476	4,334	4,823	5,03	4,2	4,156
65	3,5-dimetil-3-etil pirazina		0,375	0,419	0,487	0,428	0,482	0,428	0,426	0,432
66	Acetoxiacetona		3,52	3,257	3,418	3,81	3,643	3,446	4,697	4,419
67	2,6-dietil pirazina		0,109	0,1	0,135	0,085	0,137	0,093	0,154	0,161
68	Furfural		11,054	11,533	10,152	9,994	10,84	11,803	9,195	8,951
69	2-furfuril formate		0,975	0,866	0,957	0,932	0,883	0,859	1,027	1,167
70	2-metil-6-vinil pirazina		0,072	0,078	0,104	0,077	0,099	0,085	0,097	0,093
71	Desconocido		0,137	0,143	0,139	0,111	0,164	0,159	0,133	0,138
72	2-etenil-5-metil-pirazina		0,073	0,065	0,102	0,078	0,098	0,088	0,092	0,085
73	2-acetilfurano		3,446	3,21	3,086	3,116	3,221	3,245	3,345	3,527
74	Desconocido		0,618	0,589	0,7	0,636	0,98	0,679	1,113	0,772
75	1-(2-furil)-2-propanona		0,296	0,239	0,216	0,279	0,125	0,225	0,142	0,376
76	Ácido propionico		0,885	0,814	0,863	0,849	0,95	0,928	1,023	1,000
77	Furfuril acetato		2,203	1,915	1,935	2,188	2,01	1,924	2,83	3,038
78	Benzaldehido		0,046	0,039	0,051	0,052	0,052	0,049	0,054	0,053
79	Dihidro -2-metil-3-(2H)-tiofeno		0,156	0,146	0,165	0,156	0,176	0,149	0,185	0,184
80	Desconocido		0,062	0,054	0,056	0,064			0,076	0,087

Continuación de la tabla 9.

Pico #	Compuesto	Ik	Altitud del cultivo							
			1150	1250	1350	1450	1550	1650	1750	1850
			Concentración de los compuestos en % relativo							
81	2,3-dimetil-2-ciclopenteno-1-ol		0,068	0,058	0,050	0,071	0,052	0,062	0,077	0,068
82	1-(5-metil-2-furil)-2-propanona		0,103	0,076	0,102	0,082	0,109	0,095	0,132	0,113
83	5-metil-2-furfural		6,69	6,29	6,385	6,535	7,113	6,85	7,507	7,212
84	2-(2-furil)-furano		0,069	0,071	0,074	0,058	0,061	0,067	0,072	0,096
85	Protoanemonina		0,477	0,527	0,238	0,417	0,473	0,488	0,341	0,248
86	2-furfurilfurano		0,052	0,042	0,050	0,061	0,059	0,070	0,098	0,125
87	Ácido butanoico		0,052	0,048	0,045	0,051	0,055	0,45	0,061	0,065
88	Acetilpiridina		0,045	0,044	0,054		0,053		0,053	0,057
89	2-formil-1-metil pirrol		0,536	0,477	0,597	0,577	0,586	0,518	0,755	0,721
90	Furanometanol		11,641	11,043	11,958	11,02	11,84	11,234	11,695	12,661
91	Dihidro-2-(3H)-furanona		0,918	0,831	0,81	0,889	0,951	0,905	1,277	1,311
92	2-acetil-1-metil pirrol		0,115	0,112	0,133	0,124	0,142	0,128	0,178	0,218
93	3-etil-2-hidroxy-2-ciclopenteno		0,218	0,18	0,235	0,209	0,247	0,232	0,273	0,279
94	5-metil-2-(3H)-furanona		0,101	0,089	0,098	0,081	0,108	0,107	0,102	0,104
95	1-(6-metil-2-pirazinil)-1-etonona		0,135	0,134	0,202	0,129	0,191	0,162	0,122	0,112
96	2-tiofenocarboxialdehido		0,063	0,071	0,068	0,09	0,08	0,075	0,084	0,088
97	Desconocido		0,224	0,235	0,322	0,296	0,243	0,23	0,249	0,263
98	Desconocido		0,234	0,213	0,243	0,219	0,273	0,238	0,257	0,268
99	3-etil 4-metil-2,5-furanodiona		0,01	0,01			0,02	0,01		0,01
100	Desconocido		0,425	0,297	0,441	0,302	0,378	0,355	0,304	0,363
101	1-(2-furfuril)-pirrol		0,058	0,063	0,039	0,066	0,061	0,059	0,123	0,097
102	2-hidroxi-3-metil-2-ciclopente-1-ona		0,234	0,102	0,25	0,095	0,218	0,185	0,166	0,122
103	Desconocido		0,175		0,183		0,055	0,053	0,204	0,088
104	2-metoxi fenol		0,049	0,034	0,044	0,041	0,038		0,091	0,078
105	Desconocido		0,21	0,167	0,221	0,114	0,223	0,216	0,118	0,114
106	Fase estacionaria de la columna		0,054		0,055		0,055		0,055	0,06
107	Artefacto		0,253	0,193	0,261	0,228	0,262	0,206	0,327	0,366

Ik = Indices de Kovats Experimentales

Los compuestos heterocíclicos (furanos, piridinas, pirazinas tiofenos etc) representaron la principal familia de compuestos en los volátiles aislados por SPME-HS con un 57.8%, seguidos por las cetonas y aldehídos alifáticos con 15.6 % y 7.8% respectivamente y los alcoholes con un 7.8%. Por esta técnica se separaron también ácidos, hidrocarburos en un 5.3% y 0.1% y compuestos azufrados no heterocíclicos en un 0.3%.

Los compuestos mayoritarios en las muestras de café provenientes de todas las alturas, obtenidas por SPME fueron: el 2-furanometanol en un rango de concentración de 10.84 - 13.02%, furfural con 9.64 - 11.33%, 5-metil-2-furfural con 6.60 - 7.55%, piridina con 4.33 - 6.64%, metil pirazina con 5.33 - 8.12%, acetoxiacetona con 3.57 - 4.57%, dihidro 2-metil-3-furanona con 4.25 - 5.03%, ácido acético con 4.04 - 4.98%, 2-acetil furano con 3.09 - 3.60%, 2,3-pentanodiona con 2.68 - 3.72%, 2,6-dimetil pirazina con 2.25 - 3.17%, furfural acetato con 2.06 - 3.12% 2,5-dimetil pirazina con 2.24 - 2.94, 1-hidroxi-2-propanona con 1.89 - 2.56%, etil pirazina con 1.33 - 1.92%, 2-metil butanal con 1.35 - 1.53%, 3-metil butanal con 1.26 - 1.34%, 3-hidroxi-2-butanona con 1.18 - 1.27%, 2,3-butanodiona con 1.15 - 1.41%, 2-furfural formate con 0.91 - 1.18%, 2-vinil-5-metilfurano con 0.69 - 0.72%.

Independientemente de la procedencia de la muestra por altitud del cultivo, los volátiles de café tostado y molido con abundancias mayores de 400000, son en su orden: furanos, pirazinas, cetonas, piridina, ácidos y aldehídos alifáticos (figura 13). Los compuestos heterocíclicos (furanos, pirazinas y piridinas), son los más abundantes, y concuerdan con los reportados por Flament y Chevallier (1988). Estos compuestos se generan en su gran mayoría por la reacción de Maillard (Baltes 1987), entre aminoácidos y azúcares reductores, y su contribución al aroma del café es muy importante.

El grupo siguiente estuvo conformado por cetonas y aldehídos alifáticos. Autores como Yu y Ho (1995) y Umamo (1995), estudiaron el efecto de diferentes condiciones de tostado y concluyeron que la formación de estos compuestos carbonílicos se debe a la degradación térmica de azúcares, en reacciones secundarias a la formación de compuestos heterocíclicos aromáticos. Por otra parte, estos compuestos son intermediarios en la generación de otros productos de condensación como, el 2-metilbutenal y las dicetonas que a su vez están involucrados en reacciones de condensación aldólica para la formación de pirazinas.

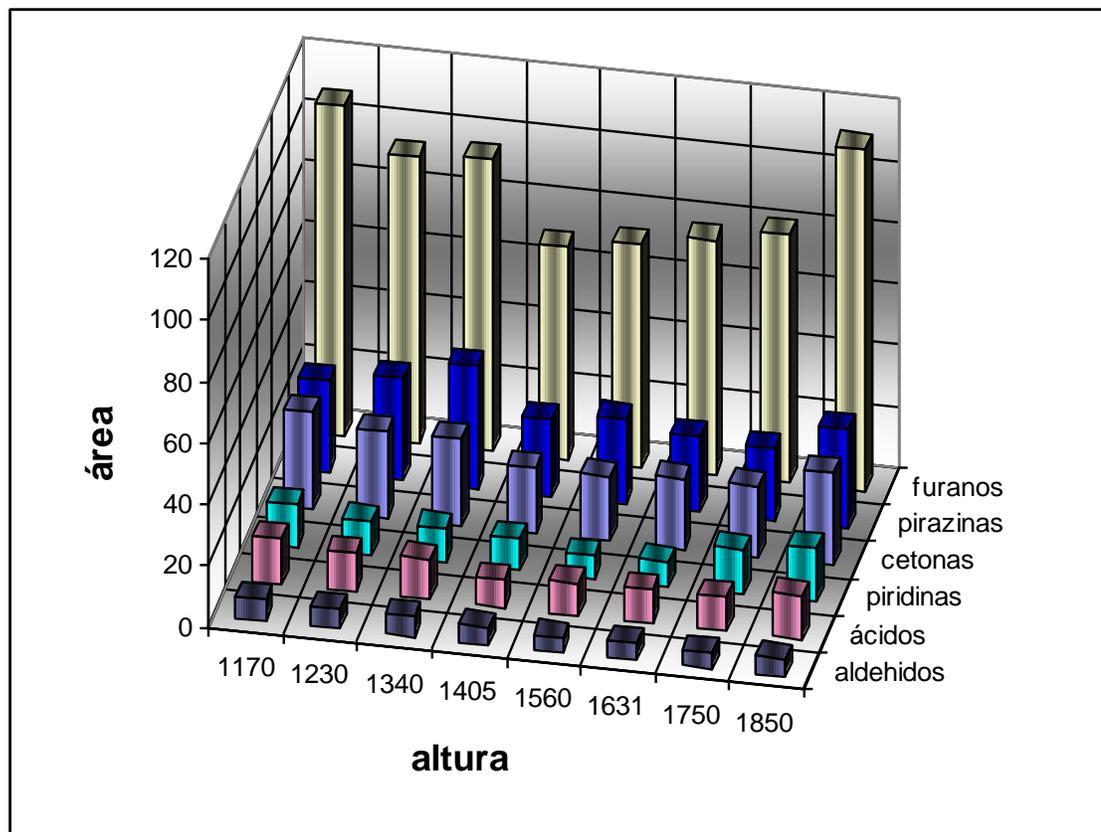


Figura 13. Composición general de los volátiles obtenidos por SPME-HS de cafés tostados y molidos

Las cetonas y los aldehídos alifáticos presentan en conjunto aromas dulces, caramélicos y tostados. De los cuales se identificaron, en todas las muestras de café

tostado y molido, el 2- y 3-metil butanal, la 2-butanona, 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, etc. Estos compuestos carbonílicos y otros, relacionados estructuralmente, han sido reportados como componentes "clásicos" en el aroma del café por Gianturco (1964), Stoffelsma (1968) y Bondarovich (1967).

La cantidad de ácidos extraídos mediante SPME-HS de café tostado y molido es muy pequeña. Entre los principales está el ácido acético y el ácido propiónico, los cuales son fácilmente descompuestos por degradación térmica, generando aldehídos de notables cualidades aromáticas.

Los furanos como el 2-furanometanol y el 2-furanocarboxaldehído, son los responsables del olor a "tostado" y junto con la cafeína y compuestos fenólicos por el gusto amargo del café; se producen por la degradación térmica de carbohidratos y otros polímeros relacionados según estudios realizados por Mottram (1995).

Las pirazinas son una de las principales familias de sustancias químicas volátiles generadas en la reacción de Maillard, en general, producen aromas "roasted" y "green", con umbrales bajos de percepción y le dan la nota tostada al café de acuerdo con Maga (1973) y Shibamoto (1979). En el presente estudio se detectaron fundamentalmente pirazina, y alquil pirazinas (metil-, etil-, 2,3-dimetil-, 2-etil-6-metil-), compuestos de reconocida contribución al aroma de alimentos termoprocados (Fors 1985). Las pirazinas monosustituídas generan aromas "nutty" y "roasted" mientras que las pirazinas con más sustituyentes alquílicos producen olores "grasos" o "cereales" (Matsuda 1988).

Las piridinas dan aromas más desagradables que las pirazinas y no han recibido mucha atención como sustancias aromáticas, debido a que en altas concentraciones producen olores desagradables (Buttery 1977).

6.3.2 Efecto de la altitud del cultivo de café en la composición de los volátiles de café tostado y molido

De los 107 compuestos volátiles extraídos por SPME-HS, se escogieron los picos que presentaran una abundancia mayor de 400000 y que se encontraron en cada una de las muestras estudiadas; en cada compuesto, se determinó si existía una relación funcional significativa entre su cantidad presente y la altitud del cultivo.

La relación funcional de cada compuesto se presenta en la tabla 10. En general se observa que 16 de los 23 compuestos seleccionados presentan un modelo que explica su comportamiento con significancia estadística menor del 5%.

Tabla 10. Compuestos con abundancia mayores de 400000 que varían con la altitud de siembra del cultivo de café.

Compuesto	Familia	Modelo estadístico	Significancia
2-Vinil-5-Metilfurano	Furano	Cuadrático	0.0163
Furfural	Furano	Cuadrático	0.0506
2-Furfurilformate	Furano	cuadrático	0.0275
2-Acetilfurano	Furano	Cuadrático	0.0080
Furfuril acetato	Furano	Cuadrático	0.0021
5-Metil-2-furfural	Furano	Cuadrático	0.0082
2-Furanometanol	Furano	Cuadrático	0.0442
Dihidro 2-Metil-3-furanona	Furano	Cuadrático	0.0004
Metil Pirazina	Pirazina	Ninguno	
2,5-Dimetil-pirazina	Pirazina	Ninguno	
2,6-Dimetil-pirazina	Pirazina	Ninguno	
Etil-pirazina	Pirazina	Ninguno	
Etil-6-metil pirazina	pirazina	Ninguno	
2,3-Butanodiona	Cetona	Cuadrático	0.0729
2,3-Pentanodiona	Cetona	Cuadrático	0.0090
3-Hidroxi-2-butanona	Cetona	Cuadrática	0.0107
1-Hidroxi-2-propanona	Cetona	Lineal	0.0687
Acetoxiacetona	Cetona	Cuadrático	0.0088
Piridina	Piridina	Cuadrático	0.0159
Ácido acético	Ácido	Cuadrático	0.0497
Ácido Propionico	Ácido	Cuadrático	0.0111
2-Metil Butanal	Aldehído	Lineal	0.0025
3-Metil Butanal	Aldehido	Cuadrático	0.0727

Únicamente dos compuestos, 2-metil butanal y 1-hidroxi-2-propanona, presentaron un comportamiento lineal inversamente proporcional al aumento en la altitud del cultivo. Para los demás compuestos se ajustó un modelo estadístico significativo del tipo cuadrático.

6.3.2.1 Furanos.

En la figura 14 se observa el comportamiento del principal grupo de compuestos heterocíclicos aislados por SPME-HS. Este grupo de compuesto presentó un comportamiento estadístico de tipo cuadrático igual para todos los diferentes compuestos y están presentes en altas concentraciones en café tostado, dando el sabor amargo y aroma a quemado característicos del café. Las muestras obtenidas en altitudes bajas y altas, presentan la mayor formación de estos compuestos, en tanto que en altitudes intermedias la presencia de este tipo de moléculas es inferior en concentración. (Figura 14)

Este grupo de compuestos debido a su comportamiento podrían ser utilizados como factor discriminante para determinar la procedencia del café por altitud.

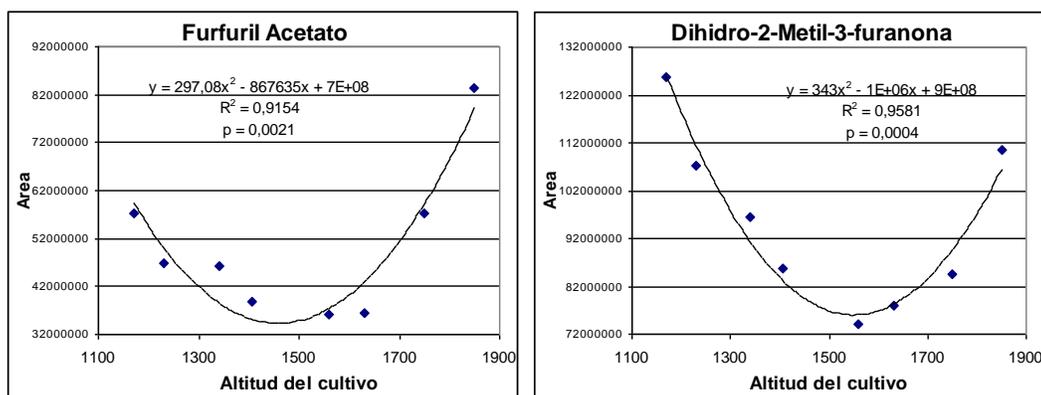


Figura 14 Comportamiento del Dihidro-2-metil-3-furanona y furfuril acetato con la altura de siembra del cultivo.

Estos compuestos son los responsables del olor a tostado y junto con compuestos fenólicos y cafeína dan el gusto amargo del café; se producen por la degradación térmica de carbohidratos y otros polímeros relacionados según estudios realizados por Morttram (1995).

6.3.2.2 Pirazinas

Las pirazinas constituyeron el segundo grupo de compuestos heterocíclicos aislados por su concentración. En general la dispersión de las concentraciones del compuesto de acuerdo con la altitud del cultivo (figura 15), no permite obtener un modelo estadístico confiable, lo que indica que esta familia de compuestos no pueden ser utilizados como factor discriminantes en la determinación del origen del café por altitud de acuerdo a su aroma. A pesar de lo anterior es importante anotar que esta familia de compuestos, presentó su mayor concentración a 1350 metros de altitud, lo cual permitiría identificar la muestra procedente de esta altura.

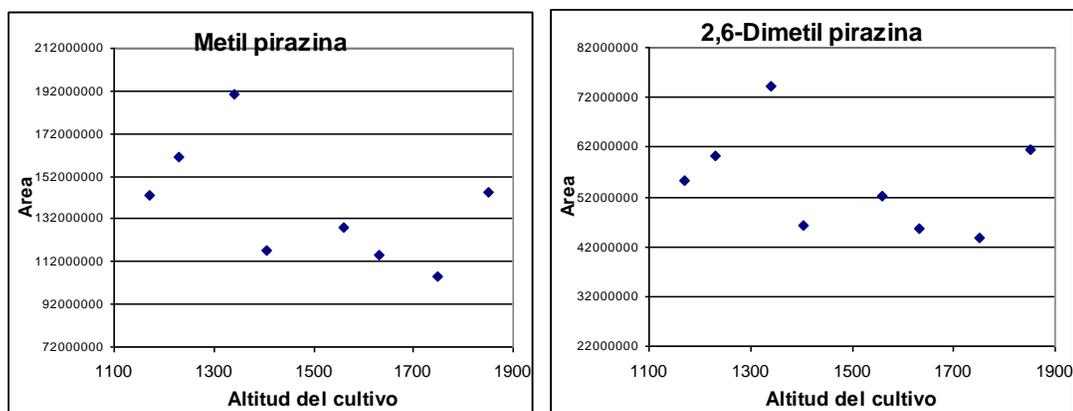


Figura 15 Comportamiento del 2,6-dimetil pirazina y metil pirazina con la altura de siembra del cultivo.

Las pirazinas son una de las principales familias en la reacción de Maillard, generando un aroma ya sea amargo o dulce y con sustitución alquílica contribuyen al olor característico del tostado, nuez y quemado (Shibamoto 1991, Dart 1985, Flament 1991).

6.3.2.3 Cetonas

Al igual que en los furanos, las cetonas presentaron un comportamiento estadístico cuadrático, al relacionar su presencia en concentración y la altura del cultivo (figura 16).

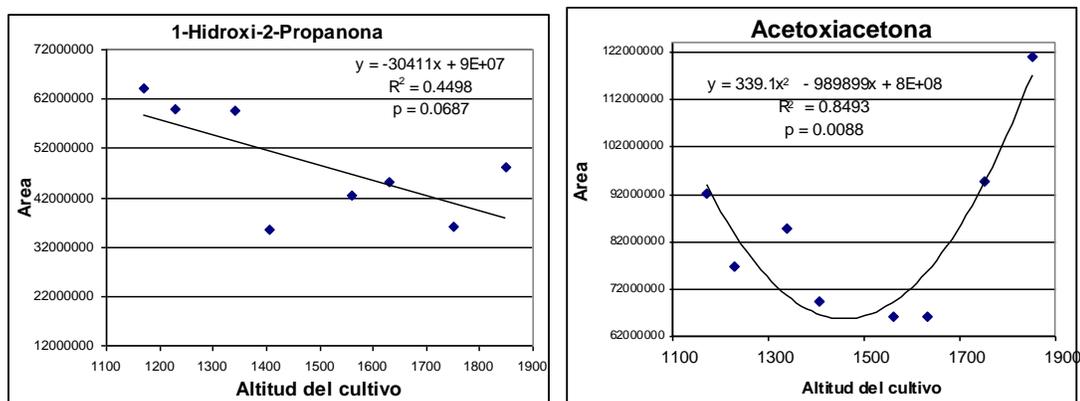


Figura 16. Comportamiento del 3-hidroxiacetona y Acetoxiacetona con la altura de siembra del cultivo.

Estos compuestos al igual que los aldehídos hacen parte de la llave del aroma del café tostado y molido (Grosch 1999), en donde la 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, 2- y 3-metilbutanal son parte muy importantes en el aroma fresco del café tostado y molido.

6.3.2.4 Aldehídos

Estos compuestos, dentro de los seleccionados por su presencia en mayor concentración ocuparon el último lugar.

Al estudiar el comportamiento del 2-metil butanal figura 17 (a), se observa la relación que existe entre la concentración y la altitud del cultivo, siendo inversamente

proporcional y altamente significativa. En tanto que el otro compuesto de esta familia 3-metil butanal presentó una respuesta estadística cuadrática.

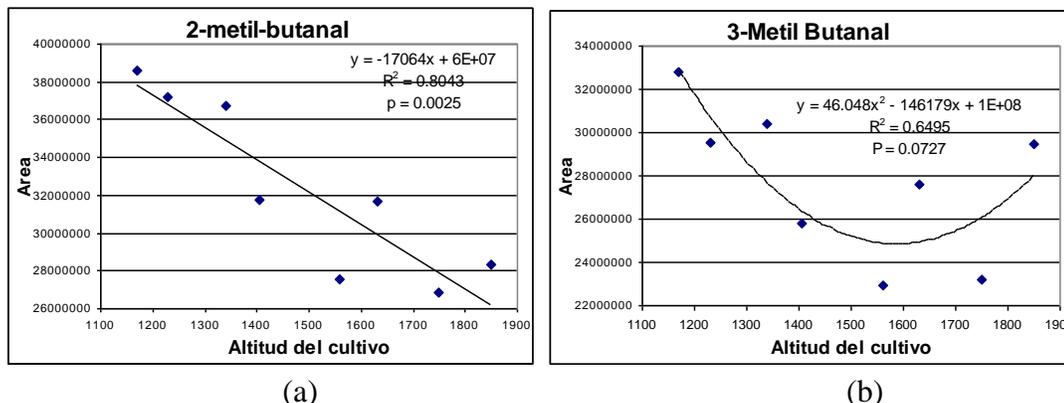


Figura 17. Comportamiento del 2-metil y 3-metil butanal con la altura de siembra del cultivo de cafeto.

El uso de estos compuestos como factor discriminante para la determinación del origen del café por la altitud del cultivo y por su aroma, tiene un gran potencial, sumado al hecho de que estos dos compuestos y otros carbonilos, relacionados estructuralmente, han sido reportados como componentes "clásicos" en el aroma del café por autores como Gianturco (1964), Stoffelsma (1968) y Bondarovich (1967).

La relación que existe entre las características de la familia de los furanos, aldehídos y cetonas, y su contribución con el aroma ha sido tema de un número considerable de investigaciones que tratan de establecer, a través de técnicas como CG/O (cromatografía de gases / olfatometría), qué compuestos son más potentes en el umbral del aroma característicos del café tostado y molido (Simmelroch, 1995).

Como se puede observar en las gráficas 12-15, las alturas que tuvieron mayor concentración de los compuestos volátiles de café tostado y molido, son a 1150 y 1850 los cuales aparentemente serían las que presentarían mejores cualidades organolépticas.

Los cafés colombianos de consumo interno, y tostados y molidos, exhiben un patrón composicional que concuerda, a grandes rasgos, con los reportados en la literatura; aunque el aroma analizado incluye compuestos heterocíclicos, aromáticos aldehídos y cetonas lineales volátiles no se puede afirmar que la calidad del café que consumimos sea excelente. Pero si se detectaron compuestos de reconocido impacto odorante, característico del café arábica colombiano reportado por Smmelroch (1996).

Del análisis anterior se podría deducir que los compuestos de mayor abundancia encontrados en los cafés provenientes de las diferentes alturas (tabla 10), presentan diferencias cuantitativas.

6.4 ANÁLISIS DE LOS VOLÁTILES POR CG/MSD

Los análisis realizados a través de CG/SM, se basaron en la obtención de los cromatogramas (corriente total iónica TIC) y los espectros de masas de los componentes individuales, presentes en el espacio de cabeza, aislados de las diferentes alturas de siembra del cultivo. El software del equipo (MSChemStation, versión B. 01

00), diseñado para adquirir, procesar almacenar, graficar y normalizar las señales, como para comparar automáticamente los SM obtenidos con los almacenados en las librerías (Wiley 275, Nist 98 y NBS75K), originó reportes de identificación tentativa para cada uno de los espectros, se consideró una identificación confiable de la molécula cuando el índice de coincidencia (match, probabilidad, grado de coincidencia) reportado por el equipo superaba el 80%.

La reproducibilidad de las intensidades relativas de los iones en los MS reportados en la tabla 11, se comprobó por medio de los coeficientes de variación (CV), que

fluctuaron entre 2.10% y 8.00%, para los espectros de masas característicos los compuestos heterocíclicos, cetonas, aldehídos alifáticos y ácidos carboxílicos. Los resultados se encuentran dentro de las normas GLP, que indican que los valores obtenidos para el mismo equipo no deben superar el 10% del coeficiente de variación (CV). (Gianturca 1964)

6.5 CORRELACIÓN ENTRE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES Y LA PRUEBA DE TAZA RESPECTO A LA ALTITUD.

Los cafés provenientes de todas las alturas estudiadas presentan los mismos compuestos volátiles extraídos, sin embargo se encuentran diferencias en cuanto a concentración de los compuestos extraídos. Tampoco se observa una relación directamente proporcional entre la calidad de taza y la altura de siembra del cultivo. Pero el Panel de Catación calificó las mejores tazas en cafés provenientes de las alturas de 1650, 1150 y 1350 msnm y la de más baja calidad al café proveniente de una altura de 1850 msnm. Esto indicaría que la calidad del café estudiado no depende del tipo de compuestos si no que esta más relacionada con la concentración de algunas familias de compuestos, por ejemplo a 1650 msnm, la concentración de furanos, pirazinas y cetonas es más baja que en el café proveniente de la altura de 1850 msnm, en la cual predomina como familias de compuestos los furanos, destacándose el furfural acetato. Sin embargo se debe tener en cuenta que los compuestos estudiados fueron los que presentaron mayor concentración, y que para correlacionar el aroma en general se debe tener en cuenta todos los compuestos, de aquí que es aconsejable de continuar con el estudio que estén en menor concentración.

Tabla 11. Estudio de la reproducibilidad de las intensidades relativas (%) de los iones característicos de los espectros de masas de algunos compuesto volátiles de café.

compuesto	Ion, m/z	Intensidad relativa (n=6)						\bar{I}_r	S	%CV
2-metil-butanal	57	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	41	85	83	85	86	85	86	85,0	1,1	1,3
	58	73	73	74	74	74	73	73,5	0,5	0,7
	43	12	11	12	12	11	12	11,7	0,5	4,4
	86	10	10	10	10	10	10	10,0	0,0	0,0
Piridina	79	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	52	54	54	54	54	54	53	53,8	0,4	0,8
	51	25	25	25	25	25	25	25,0	0,0	0,0
	50	19	19	19	19	19	19	19,0	0,0	0,0
	78	13	13	12	12	12	12	12,3	0,5	4,2
metil pirazina	94	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	67	46	45	45	45	45	46	45,3	0,5	1,1
	53	13	12	12	12	12	12	12,2	0,4	3,4
	42	8	8	8	8	8	9	8,2	0,4	5,0
	95	7	7	7	7	7	7	7,0	0,0	0,0
2 furanometanol	98	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	97	53	54	53	53	54	53	53,3	0,5	1,0
	81	51	51	51	51	52	51	51,2	0,4	0,8
	41	40	40	40	40	40	40	40,0	0,0	0,0
	53	35	35	35	36	36	36	35,5	0,5	1,5
Ácido acético	43	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	45	95	95	96	95	95	94	95,0	0,6	0,7
	60	79	79	79	80	79	79	79,2	0,4	0,5
	42	17	17	17	17	17	17	17,0	0,0	0,0
	44	7	6	7	7	7	6	6,7	0,5	7,7
5-metil-2-furano carboxialdehido	110	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	109	88	88	88	89	88	89	88,3	0,5	0,6
	53	41	40	40	40	40	41	40,3	0,5	1,3
	81	10	10	10	10	10	10	10,0	0,0	0,0
	51	11	11	11	11	11	11	11,0	0,0	0,0
dihidro 2-metil-3-furanona	43	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	72	56	56	56	56	56	56	56,0	0,0	0,0
	100	41	41	40	40	41	40	40,5	0,5	1,4
	44	22	21	21	21	22	21	21,3	0,5	2,4
	45	20	20	20	20	20	20	20,0	0,0	0,0
2-vinil-5-metil furano	108	100	100	100	100	100	100	100,0	0,0	0,0
	107	66	66	68	68	66	68	67,0	1,1	1,6
	93	14	14	14	16	16	16	15,0	1,1	7,3
	79	19	19	19	19	19	19	19,0	0,0	0,0
	65	20	20	20	20	20	19	19,8	0,4	2,1

I_r = Intensidad Relativa promedio; S = Desviación estándar

6.5.1 Espectros de masas.

El análisis CG/SM determinó que los volátiles de café tostado y molido obtenidos por SPME-HS están constituidos principalmente por compuestos heterocíclicos como el furano (2-furanocarboxaldehído, M⁺ en m/z 96; 2-furanometanol, M⁺ en 98), la pirazina (metil pirazina, M⁺ en m/z 94;. 2,5-dimetilpirazina M⁺ en m/z 108), la piridina (piridina M⁺ en m/z 79), el pirrol (1-metil 1H-pirrol M⁺ en m/z 81), entre otros. También presentó, ácidos (ácido acético M⁺ en m/z 60), aldehídos (2-metil butanal M⁺ en m/z 86) y cetonas (2,3-pentanodiona M⁺ en m/z 100). (anexo 6).

6.5.1.1 MS de cetonas y aldehídos alifáticos.

En los volátiles de café tostado y molido (ver tabla 9), se identificaron cetonas y aldehídos alifáticos de bajo peso molecular. Estudios realizados por investigadores alemanes (Grosch, 1999) han comprobado que compuestos de este tipo, específicamente el 2- y 3-metil butanal, son los responsables del aroma fresco y suave del café.

2-metil butanal.

El espectro de masas del 2-metil butanal (figura 18) muestra el ión molecular M⁺ en m/z 86 (10%). Las fragmentaciones características de esta molécula corresponden a escisiones en los enlaces C-H y C-C siguientes al átomo de oxígeno que resulta en el pico M-1 y M-R; en los aldehídos C₄ y superiores la escisión de McLafferty del enlace αβ C-C ocurre para dar lugar a un pico en m/z 44, 58 o 72.

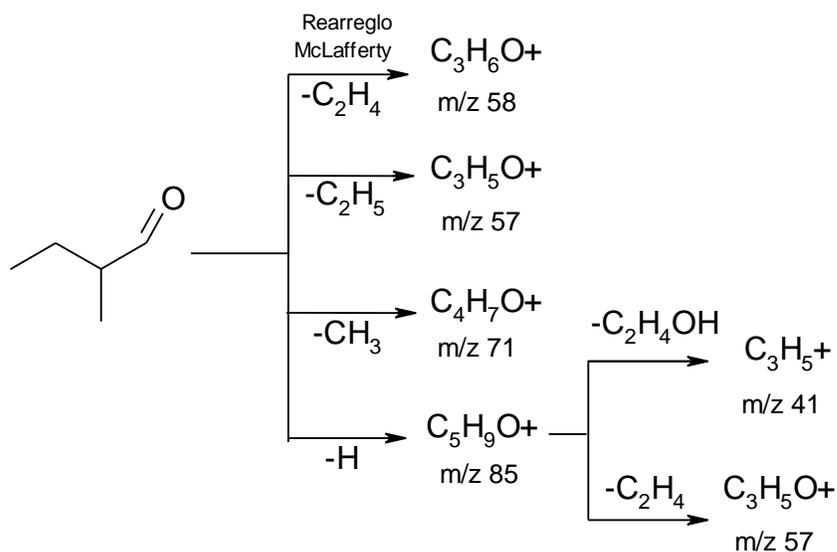
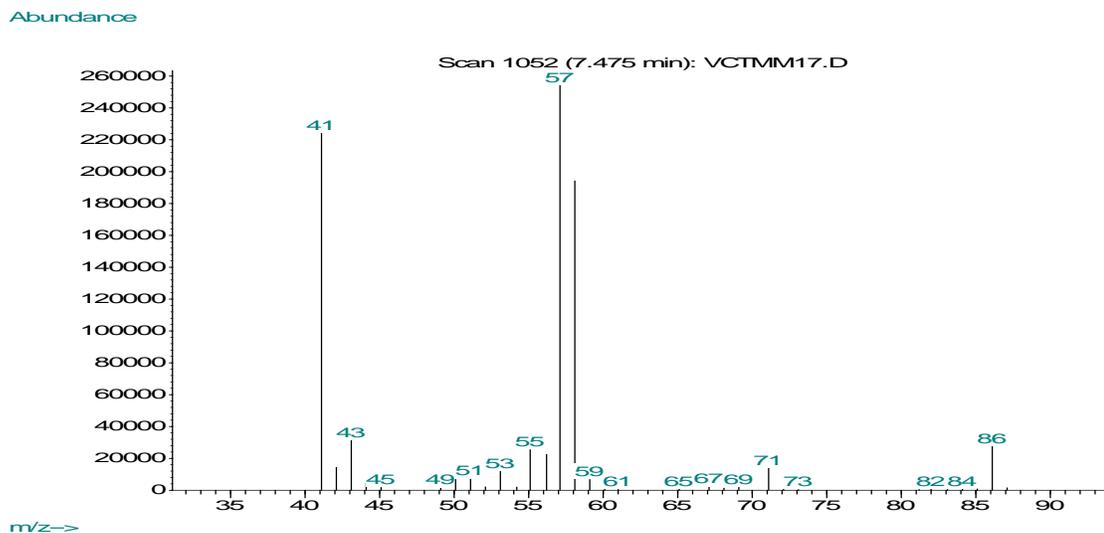


Figura 18. Espectro de masas y patrón de fragmentación del 2-metil butanal

6.5.1.2 MS de compuestos heterocíclicos.

Los espectros de masas de estos compuestos (furanos, pirazinas, piridinas, pirroles y tiazoles) se caracterizan por iones moleculares de gran intensidad (40-100%); la presencia de los heteroátomos en los anillos se confirma por la eliminación de

fragmentos del tipo RCO (para heterocíclicos oxigenados) y RCNR (para heterocíclios nitrogenados).

2-Furanometanol.

En el espectro de masas del 2-furanometanol aparece el ión molecular M^+ en m/z 98 (100%), que corresponde al pico base. La presencia del heteroátomo en el anillo se corrobora por la pérdida de los fragmentos HCO y CO, después de la apertura del ciclo, para formar iones en m/z 69 $(M - HCO)^+$ y en m/z 70 $(M - CO)^+$, como se ilustra en la figura 19. La eliminación del grupo hidroxilo (-OH) del ión molecular (M^+), produce el fragmento $(M - OH)^+$ en m/z 81, que después sufre reordenamientos con la eliminación de los fragmentos CO (descarboxilación) y CHO para dar lugar a los iones en m/z 53 y m/z 52.

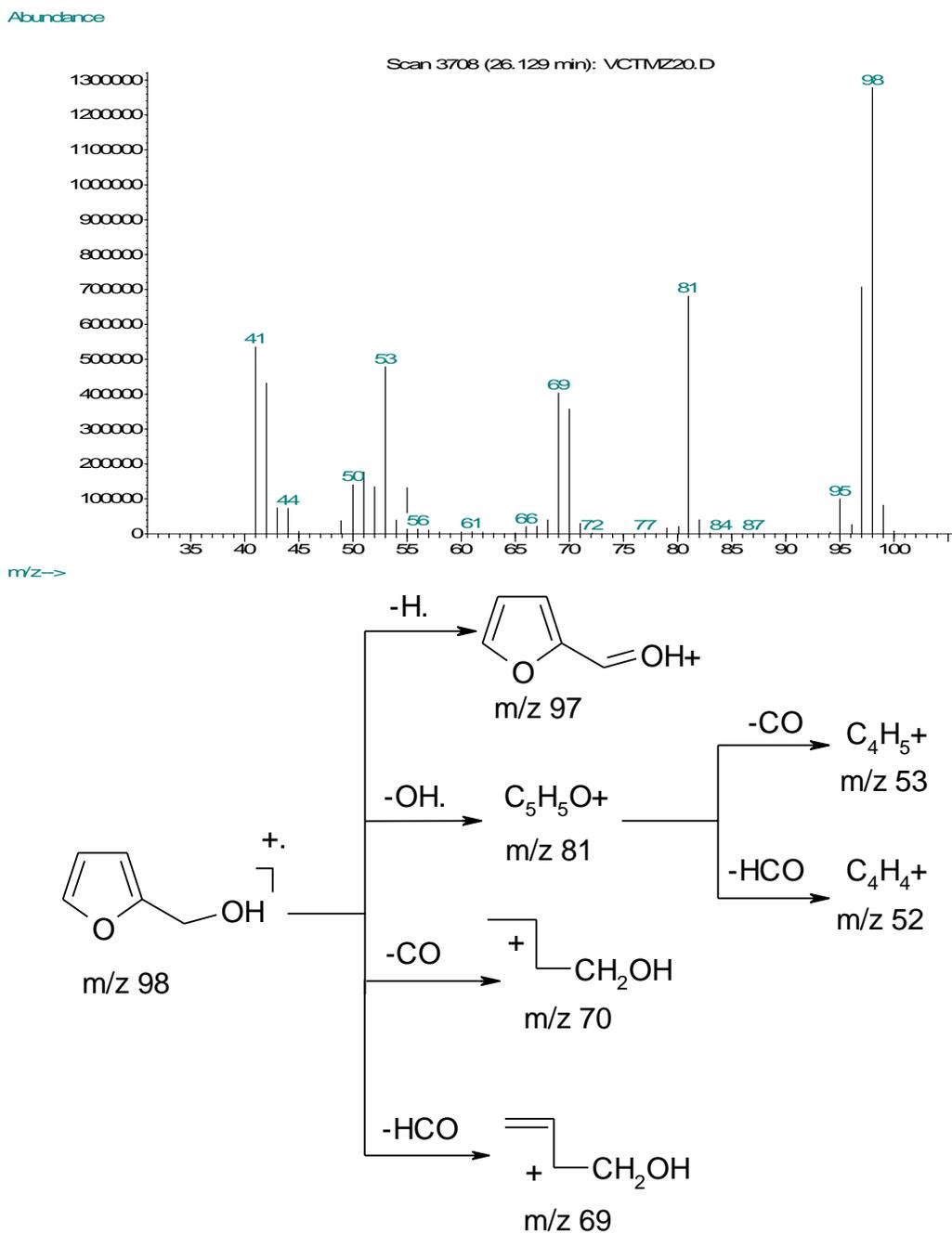


Figura 19. Espectro de masas y patrón de fragmentación del 2-furanometanol.

2,5 dimetil pirazina.

Al igual que el 2-furanometanol el ión molecular en m/z 108 (100%) es el pico base, que por eliminación del CH₃ y CH₃CN da un pico a m/z 93, y m/z 67 respectivamente, lo que comprueba el nitrógeno en la estructura, como se aprecia en la figura 20.

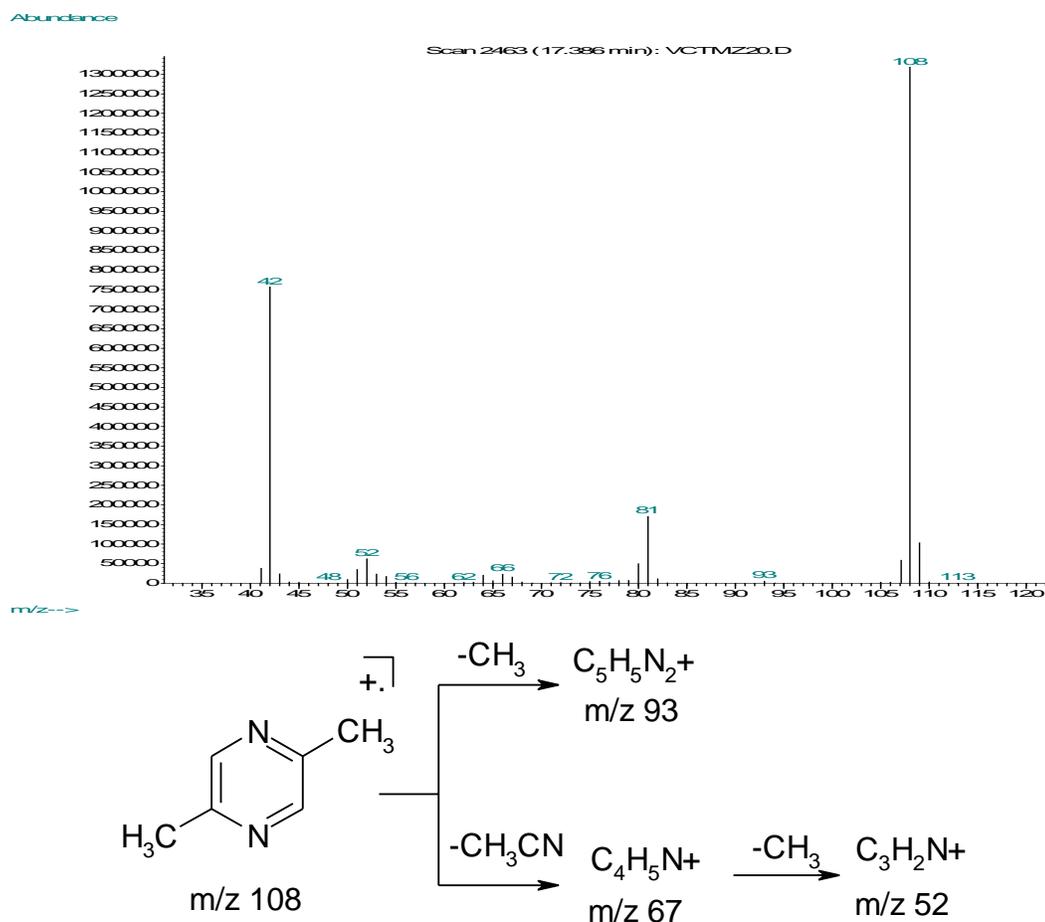


Figura 20. Espectro de masas y patrón de fragmentación del 2,5-dimetil pirazina

6.5.1.3 MS de los ácidos carboxílicos.

El ion más característico de los ácidos carboxílicos es m/z 60 debido al rearrreglo de McLafferty. En los ácidos de cadena corta, los picos a M-OH y M-COOH son muy notables, representando la escisión del enlace siguiente a C=O. En los ácidos de

cadena larga, el espectro consiste en dos series de picos que resultan de la escisión de cada enlace C-C con la retención de la carga en el fragmento que contiene el oxígeno (m/z 45, 59, 73, 87...) o en fragmento alquilo (m/z 29, 43, 57, 71, 85,...).

Ácido propiónico

En el espectro de masas del ácido propiónico, aparece el ión molecular M^+ en m/z 74 (100%), que es el pico base. La presencia del grupo -COOH es corroborada por la pérdida de los fragmentos -OH y -CH₃-CH₂, para formar iones en m/z 57 (M-OH) y en m/z 45 (M-C₂H₅) como se ilustra en la figura 21.

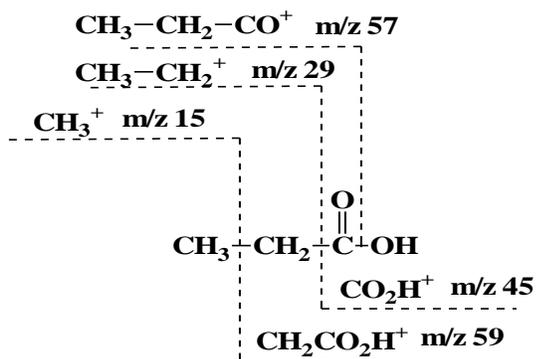
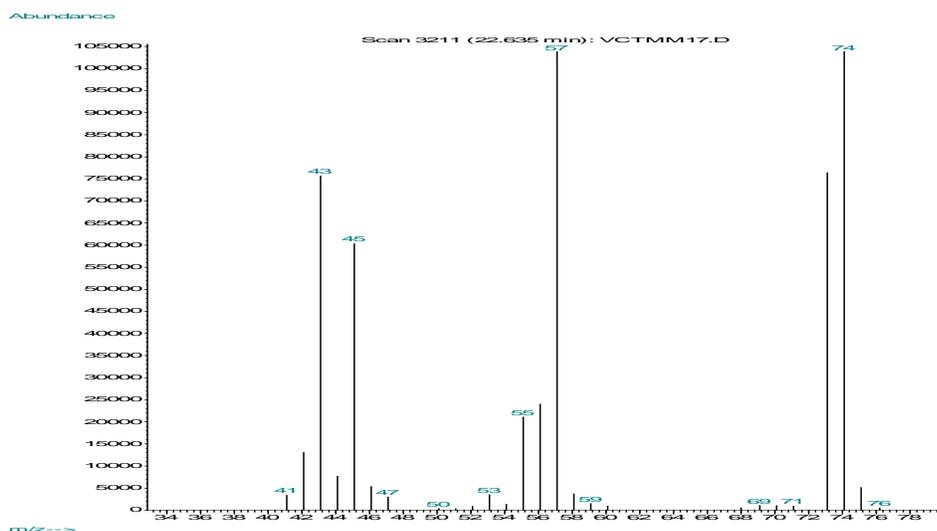


Figura 21. Espectro de masas y patrón de fragmentación del ácido propiónico.

6.5.1.4 MS de compuestos azufrados alifáticos.

En las diferentes alturas de siembra del café, los compuestos azufrados alifáticos, se identificaron en todas las alturas pero en concentraciones muy pequeñas. En recientes estudios realizados (Shibamoto 1991, Dart 1985, Flament 1991), se ha comprobado que este tipo de compuestos está relacionado con la calidad del aroma del café tostado y molido, y la presencia en particular del dimetil disulfuro incide marcadamente sobre el aroma

Dimetil Disulfuro

En el espectro de masas del dimetil disulfuro aparece el ión molecular M^+ en m/z 94 (100%), es el pico base. La contribución del isótopo ^{34}S al pico $M + 2$ (m/z 96) y frecuentemente al pico de fragmento $+ 2$ permite el rápido reconocimiento de los compuestos que contienen azufre. Un pico característico resulta de la escisión de uno de los enlaces C-S con el desplazamiento de un átomo de hidrógeno para formar el fragmento RSSH, otros picos resultan de la escisión entre el átomo de azufre sin rearreglo, y con rearreglos de uno o dos átomos de hidrógeno para dar RS^+ , RS^+-1 , RS^+-2 . Como se observa en la figura 22.

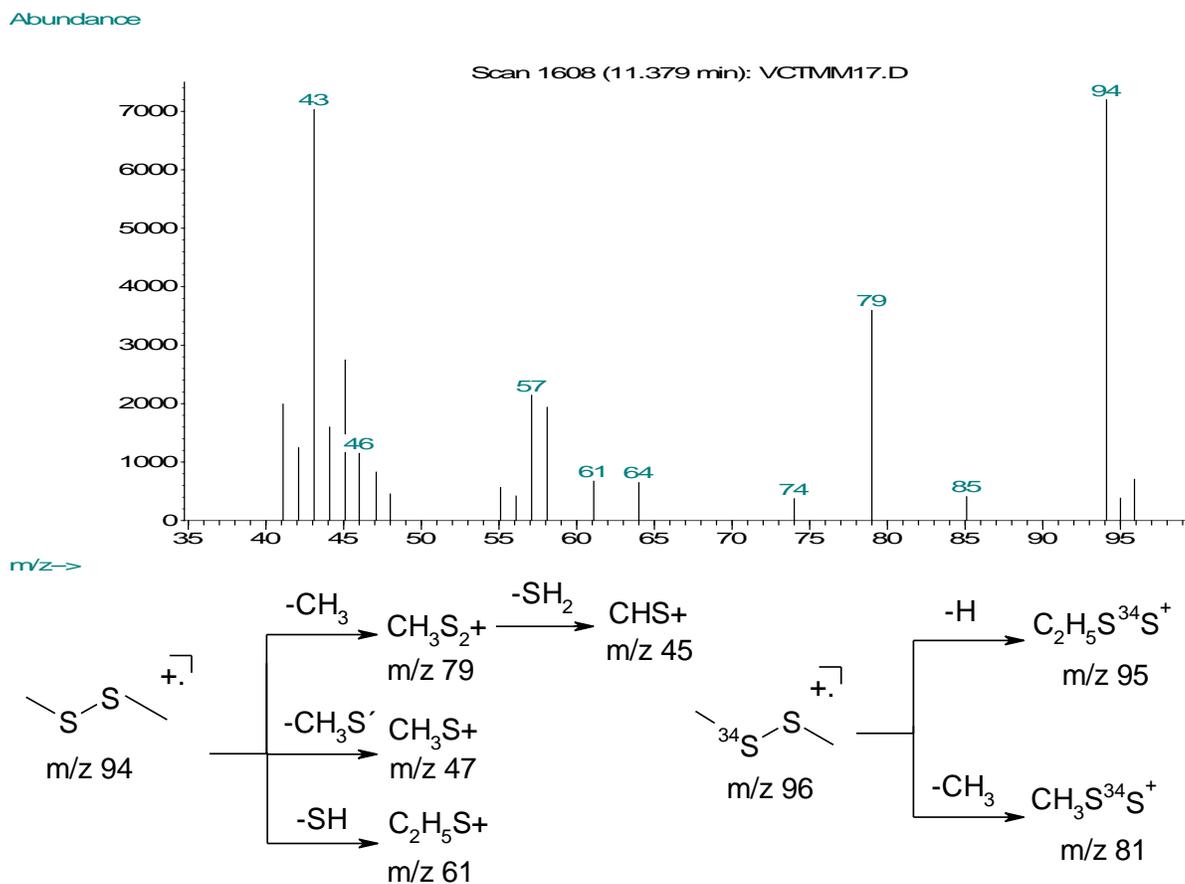


Figura 22. Espectro de masas y patrón de fragmentación del tiopropano.

7 CONCLUSIONES

- ✍ Se logró estandarizar las condiciones óptimas de la técnica GC/MS para la microextracción en fase sólida de los volátiles de café tostado y molido, así como para su separación, identificación y cuantificación.
- ✍ Los dos polímeros utilizados polidimetilsiloxano (polímero rojo) y divinilbenceno/polidimetilsiloxano (polímero azul), son apropiados para la extracción de los volátiles del café tostado y molido, pero el polímero azul presenta una mayor concentración de los compuestos extraídos.
- ✍ Las dos columnas utilizadas DB5 (semipolar) y DBWax (polar), son apropiadas para la separación de los compuestos volátiles. Sin embargo se seleccionó la columna DBWax porque presenta mejor resolución cromatográfica con ambos polímeros, el rojo y azul.
- ✍ Con la técnica utilizada se identificaron 107 compuestos de café tostado y molido en las muestras provenientes de todas las alturas estudiadas. La altura de siembra del cultivo no influyó en la clase de compuestos encontrados.
- ✍ La técnica aplicada permitió valorar el efecto de la altura en la concentración de 23 compuestos volátiles del aroma del café tostado y molido, obteniéndose un

modelo estadístico cuadrático en dicha relación, que podría utilizarse como factor de clasificación del aroma con respecto a la altura del cultivo.

- ✍ Con el modelo estadístico establecido se deduce que los cafés provenientes de alturas intermedias (1450-1650 msnm) presentan menor concentración de los compuestos identificados, y los cafés provenientes de las mayores y menores alturas (1750-1850 y 1150-1350), presentan mayor concentración de estos. La familia de las pirazinas no se acogió a este modelo.
- ✍ La calidad de taza del café no está relacionada directamente con la clase de compuestos volátiles encontrados, pero se podría inferir la influencia de la concentración de algunos de los compuestos estudiados en la calidad del café.
- ✍ Aún cuando no se encontró una relación directamente proporcional entre la calidad de taza y la altura de siembra del cultivo, el Panel de Catación estableció que la mejor calidad proviene de los cafés correspondientes a las alturas 1650, 1150 y 1350msnm y que la taza de más baja calidad correspondió al café proveniente de la altura de 1850 msnm.
- ✍ Se encontró que la altura influye sobre unas de las propiedades más importantes del café como es su granulometría, aumentando en relación directa con la altura.
- ✍ De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que no se puede tener en cuenta únicamente la altura en la evaluación de la calidad de taza, sino que se debe relacionar con otras variables.

8 RECOMENDACIONES

Realizar un estudio de los compuestos volátiles menos concentrados hallados en esta investigación, para obtener un conocimiento más profundo de la composición química de los compuestos volátiles del aroma de café, que sirva como marcadores para cafés especiales.

Continuar con el estudio de la composición de los volátiles del aroma del café tostado en otras regiones con el objetivo de buscar un modelo matemático que clasifique el café proveniente de diferentes altitudes de siembra.

9 BIBLIOGRAFÍA

BALTES, W.; BOCHMANN, G. Model reactions on roast aroma formation. 1. Reaction of serine and threonine with sucrose under the conditions of coffee roasting and identification of new coffee aroma compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Estados Unidos) 35(3):340-346. 1987.

BALTES, W.; BOCHMANN, G. Model reactions on roast aroma formation. II. Mass spectrometric identification of furans and furanones from the reaction of serine and threonine with sucrose under the conditions of coffee roasting. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* (Alemania) 184(3):179-186. 1987.

BELITZ, H. D., CROSCHE, W. *Química de los alimentos* Ed. Acribia, S.A. Zaragoza España 1988. P. 274-279.

BLANK, I. SEN, A. GROSCH, W. Aroma Impact Compounds of Arabica and Robusta Coffee Qualitative and Quantitative Investigations. In: *International Scientific Colloquium on coffee*. San Francisco (Estados Unidos) 1991.

BONDAROVICH, H.A.; FRIEDEL, P.; KRAMPL, V.; RENNER, J.A.; SHEPHARD, F.W.; GIANTURCO, M.A. Volatile constituents of coffee. Pyrazines and other compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Estados Unidos) 15(6):1093-1099. 1967.

BUENAVENTURA, S. C.; CASTAÑO, C. J. (2000). “Influencia de la Altitud en la calidad del café procedente del ecotopo 206 B en Colombia” CENICAFE 2000

CABRERA, S. C. ACEVEDO, F.A. LACERRA, E. J. Et al. (1991) “Algunos índices físicos del coffea arabica L. a diferentes alturas del Escambray años 1986 y 1987”. Revista centro agrícola 18(1) enero-abril 1991.

CAMARGO, A.P. DE; SANTINATO, R.; CORTEZ, J.G. Aptidao climatica para qualidade da bebida nas principais regioes cafeeiras de Cafe Arabica. In: CONGRESSO Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, 18. Araxa (Brasil), Outubro 27-30, 1992. Trabalhos apresentados. Araxa (Brasil), PROCAFE-EMBRAPA, 1992. p. 70-74.

CLARKE, R. J. Coffee Chemistry. Vol. 1. Chapter 7 Volatile Components. Elsevier Appilied Science. Londres 1987 p 223-265.

COMBARIZA, YAJAIRA MARIANNY; Estudio comparativo de diez marcas comerciales de café colombiano por diferentes métodos de extracción y análisis. Tesis 1997.

DUARTE, R. A. SUÁREZ, M. MORENO, E. BAUTISTA, E.. Volátiles de Maíz (Zea mays), Cebada (Hordeum vulgare) y café (Coffea arabica) tostados, influencia de la adicion de estos cereales en el aroma del café. Revista Colombiana de Química Bogota (Colombia) Vol. 24 No. 2 1995.

FEDERACAFÉ, CAFÉ GENERALIDADES DE SU PROCESO. Santafé de Bogotá D.C. 1998. P 17-19

FEDERACIÓN NACIONAL DE CAFETEROS. Censo Nacional de cafeteros. Santa fe de Bogota. D.C. 1999. 150p.

FIGUEROA S., P.; JIMENEZ G., O.H.; LOPEZ DE L., E.; ANZUETO, F. Influencia de la variedad y la altitud en las características organolépticas y físicas del café. In: SIMPOSIO Latinoamericano de Caficultura, 19. San Jose (Costa Rica), Octubre 2-6, 2000. Memorias. San Jose (Costa Rica), ICAFE-PROMECAFE, 2000. p. 493-497.

FLAMENT, I. Coffee, Cocoa, and Tea. In: Volatile Compounds in Foods and Beverages. Nueva York. (Estados Unidos) Ed.Marcel Dekker. 1991 p. 617-653.

FLAMENT, I.; CHEVALLIER, C. Analysis of volatile constituents of coffee aroma. Chemistry and Industry (Inglaterra) 18:592-596. 1988.

FOOTE, H. E. "factors affecting cup quality in coffee". Coffe and cacao journal 5(12):248-249 1963

GIANTURCO, M.A.; GIAMMARINO, A.S.; FRIEDEL, P.; FLANAGAN, V. The volatile constituents of coffee. IV. Furanic and pirrolic compounds. Tetrahedron (Estados Unidos) 20:2951-2961. 1964.

GROSCH, W. Key odorants of roasted coffee: evaluation, release, formation. In: COLLOQUE Scientifique International sur le Cafe, 18. Helsinki (Finlandia), Agosto 2-6, 1999. Paris (Francia), ASIC, 2000. p. 17-26. 8

GUYOT, B. GUEULE, D. MANEZ, J. PERRIOT, J. VILLAIN, L. 1996. "Influence de l'altitude et de l'ombrage sur la qualite, des cafés Arabica"Plantations, recherche, développemnet. Juillet-août 1996.

HWANG, H., HARTMAN, T.G. AND HO, C., Relative reactivities of the amino acids in pyrazine formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 43 (1):179 - 184 . 1995.

MARSILI, R.; *Techniques for Analyzing Food Aroma*. Nueva York (Estados Unidos) Ed. Marcel Dekker 1997. P 54-78

MASUDA, H., MIHARA, S. Olfactive properties of alkylpyrazines and 3-substituted 2-alkylpyrazines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 36 (3): 584 - 587 1988.

MENCHÚ, F. J. ORTEGA, E. (1971). “Correlación entre algunas propiedades físicas del café tostado y su calidad inherente”. *Agronomía* 2(2):9-19 1971

MONTON, I. D; MACLEOD, A. J. *Food Flavours Part. B The Flavour of Beverages*. Ed. El Sevier (Estados Unidos) 1986

MOTTRAM, D. S., WHITFIELD, F.B., Maillard lipid interactions in nonaqueous systems: volatiles from the reaction of cysteine and ribose with phosphatidylcholine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 43 (5):1302 - 1306. 1995.

MOTTRAM, D. S., WHITFIELD, F. B., Volatile compounds from the reaction of cysteine, ribose and phospholipid in low-moisture systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 43(4):984-988. 1995.

PUERTA, Q. G. I. Escala para la evaluación de la calidad de bebida de café verde *coffea arabica* L, proceso vía húmeda. *Cenicafe* 47 (4): 231-234. 1996

RAY MARRSILI. Techniques for Analyzing Food Aroma. Ed. Marcel Dekker. New York Hong Kong 1997 p. 27-59.

RINCON, AYA. M. I. Extracción y recuperación de Volátiles Provenientes de Café Torrefactado. Tesis. 1995

RODRIGUEZ DÍAZ, M. S; GOMEZ, N. S. Torrefacción y Extracción de las Mezclas de Café. Tesis 1989.

SEEMMELROCH, P., GROSCHE, W. Analysis of roasted coffee powders and brews by gas chromatography - olfactometry of headspace samples. Food Science and technology (Suiza) 28(3): 310-313. 1995.

SHAHIDI, T., MANLEY, CH. Flavor measurement. Marcel Decker, New York. 1993. 379 p.

SHIBAMOTO, T. An overview of coffee aroma and flavor chemistry. 14 International Scientific Colloquium on coffee. San Fransisco. 1991.

SHIBAMOTO, T., AKIYAMA, T., SAKAGUCHI, M., ENOMOT, Y., MASUDA, H. A study of pirazine formation. Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos) 27 (2):1027-1030. 1979

SHIMODA, M.; SHIBAMOTO, T. Isolation and identification of headspace volatiles from brewed coffee with an on-column GC/MS method. Journal of Agricultural and Food Chemistry (mar 1990) V. 38(3) p. 802-804.

SIVETZ, M; DESROSIER, N. W. Coffee Technology. Ed. Westport (Estados Unidos), AVI, 1979.

STOFFELSMA, J.; SIPMA, G.; KETTENES, D.K.; PYPKER, J. New volatile components of roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 16(6):1000-1004. 1968.

TRUGO, L. C. NETO, A. MOREIRA A. Composition of green coffee water-soluble fractions and identification of volatiles formed during roasting. *Food chemistry*. Vol. 55. No. 3. P 203-207 1996.

UMANO, K., HAGI, Y., NAKAHARA K, SHYOJI, A., SHIBAMOTO T., Volatile chemicals formed in the headspace of a heated D-glucose/L-cysteine Maillard model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 43 (8):2212 - 2218. 1995.

YU, T AND HO, C., Volatiles compounds generated from thermal reaction of methionine and methionine sulfoxide with or without glucose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry (Estados Unidos)* 43 (6):1641 - 1646. 1995.

10 ANEXOS

ANEXO 1

Lotes experimentales situados entre las alturas de 1150 - 1850 msnm. De los cuales se tomaron las muestras de café cereza maduro para los respectivos análisis organolépticas, físicos y cromatográficos.



ANEXO 2

Distribución de los tratamientos para la estandarización de la captura de volátiles de café tostado y molido por la técnica de SPME.

Distribución de tratamientos para la columna DB5, polímero rojo y repetición dos.

1TTO6	2TTO3	3TTO4	4TTO7	5TTO1	6TTO9
7TTO2	8TTO23	9TTO5	10TTO8	11TTO27	12TTO25
13TTO24	14TTO12	15TTO22	16TTO19	17TTO26	18TTO17
19TTO11	20TTO14	21TTO18	22TTO15	23TTO20	24TTO13
25TTO21	26TTO10	27TTO16			

Distribución de tratamientos para la columna DB5, polímero azul y repetición uno.

1TTO4	2TTO9	3TTO6	4TTO12	5TTO20	6TTO3
7TTO2	8TTO21	9TTO25	10TTO13	11TTO27	12TTO26
13TTO1	14TTO15	15TTO23	16TTO8	17TTO7	18TTO14
19TTO10	20TTO18	21TTO19	22TTO11	23TTO17	24TTO24
25TTO5	26TTO22	27TTO16			

Distribución de tratamientos para la columna DB5, polímero azul y repetición dos.

1TTO5	2TTO16	3TTO10	4TTO7	5TTO9	6TTO19
7TTO12	8TTO6	9TTO13	10TTO1	11TTO11	12TTO8
13TTO3	14TTO20	15TTO4	16TTO15	17TTO2	18TTO17
19TTO21	20TTO14	21TTO25	22TTO18	23TTO24	24TTO22
25TTO26	26TTO27	27TTO23			

Distribución de tratamientos para la columna DBWax, polímero rojo y repetición uno.

1TTO8	2TTO21	3TTO14	4TTO24	5TTO23	6TTO6
7TTO16	8TTO5	9TTO13	10TTO1	11TTO2	12TTO15
13TTO19	14TTO20	15TTO18	16TTO27	17TTO11	18TTO7
19TTO12	20TTO10	21TTO25	22TTO9	23TTO4	24TTO17
25TTO3	26TTO22	27TTO26			

Distribución de tratamientos para la columna DBWax, polímero rojo y repetición dos.

1TTO10	2TTO6	3TTO9	4TTO4	5TTO15	6TTO21
7TTO25	8TTO2	9TTO3	10TTO5	11TTO1	12TTO18
13TTO14	14TTO23	15TTO12	16TTO16	17TTO27	18TTO7
19TTO24	20TTO13	21TTO11	22TTO22	23TTO8	24TTO20
25TTO17	26TTO19	27TTO26			

Distribución de tratamientos para la columna DBWax, polímero azul y repetición uno.

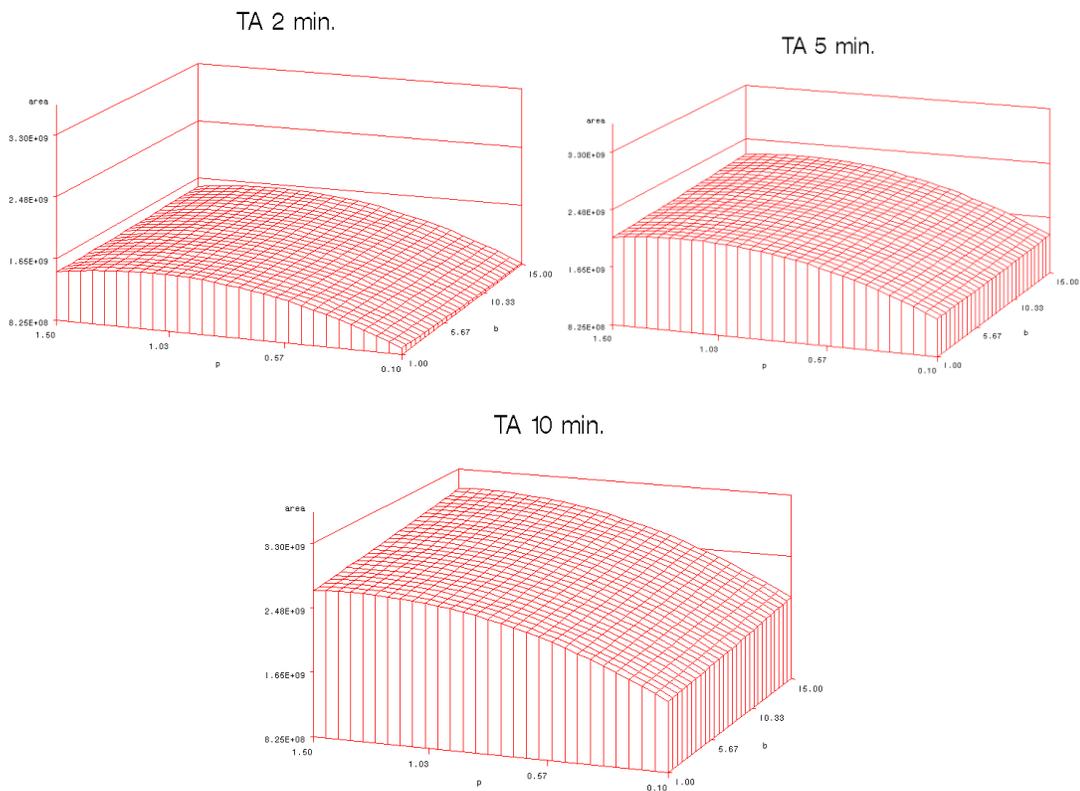
1TTO22	2TTO7	3TTO25	4TTO13	5TTO1	6TTO10
7TTO11	8TTO3	9TTO17	10TTO20	11TTO12	12TTO9
13TTO15	14TTO8	15TTO18	16TTO6	17TTO26	18TTO19
19TTO2	20TTO5	21TTO16	22TTO14	23TTO21	24TTO24
25TTO23	26TTO4	27TTO27			

Distribución de tratamientos para la columna DBWax, polímero azul y repetición dos.

1TTO16	2TTO4	3TTO10	4TTO8	5TTO9	6TTO12
7TTO25	8TTO5	9TTO6	10TTO19	11TTO18	12TTO7
13TTO11	14TTO15	15TTO27	16TTO14	17TTO17	18TTO2
19TTO3	20TTO21	21TTO24	22TTO3	23TTO13	24TTO20
25TTO23	26TTO22	27TTO1			

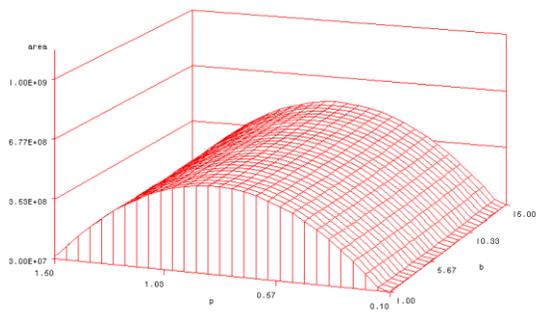
ANEXO 3

Resultado del análisis estadístico de superficie de respuesta para la columna DB5 y los polímeros PDMS (polímero rojo) y PDMS/DVB (polímero azul) a diferentes tiempos de adsorción (TA) en un espacio de cabeza de aproximadamente de 3.5 mL.

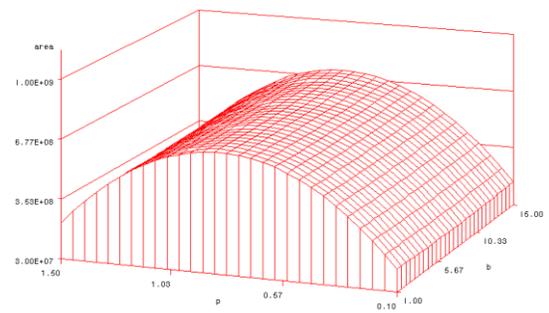


Efecto del tiempo de adsorción del polímero azul en la columna DB5

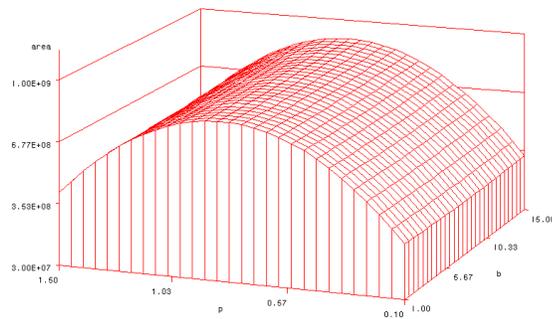
TA 2 min.



TA 5 min.



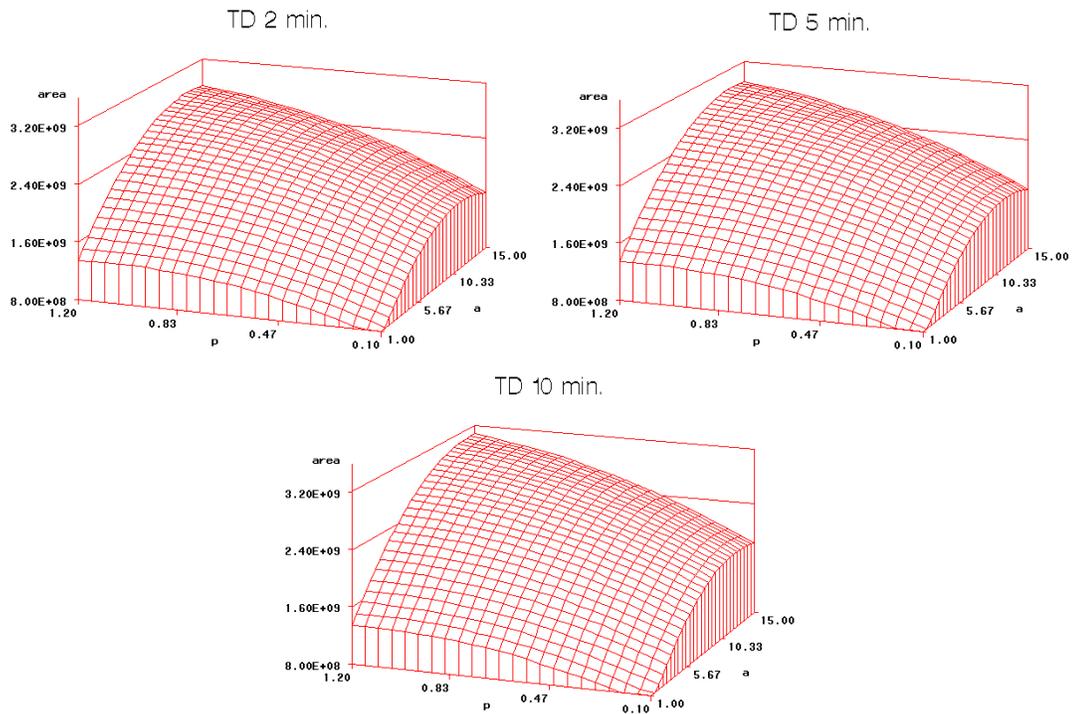
TA 10 min.



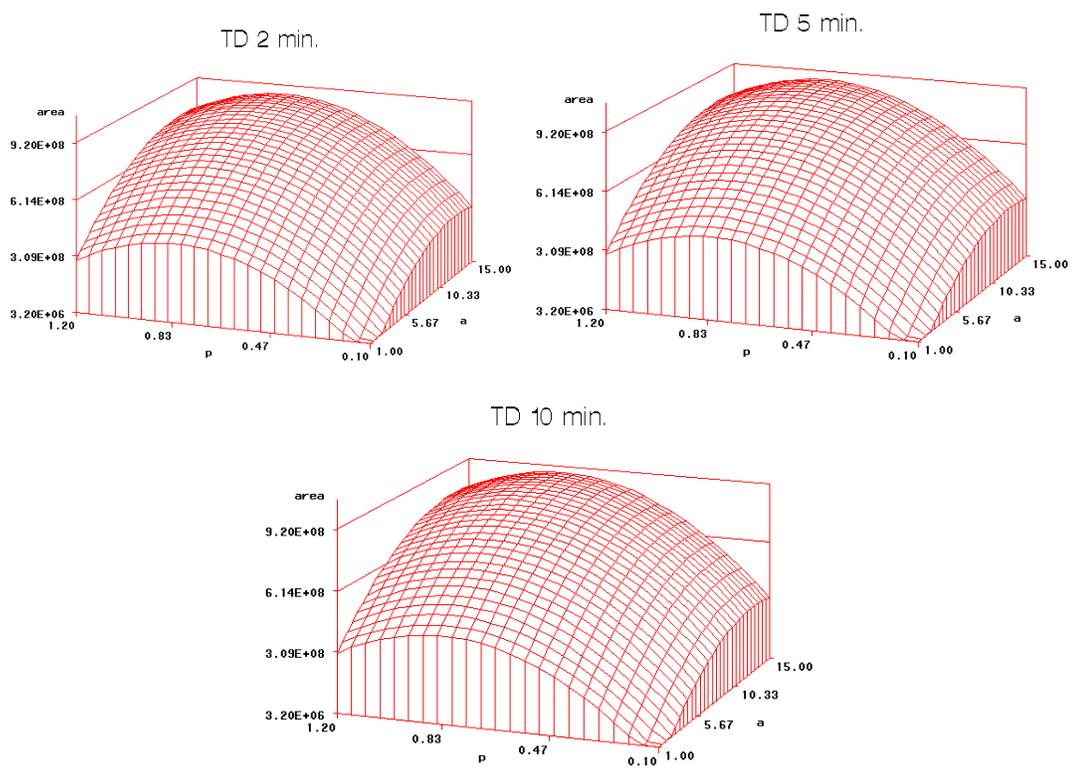
Efecto del tiempo de adsorción del polímero rojo en la columna DB5

ANEXO 4

Resultado del análisis estadístico de superficie de respuesta para la columna DB5 y los polímeros PDMS (polímero rojo) y PDMS/DVB (polímero azul) a diferentes tiempos de desorción (TD) en el puerto de inyección a 250 °C.



Efecto del tiempo de desorción del polímero azul en la columna DB5.

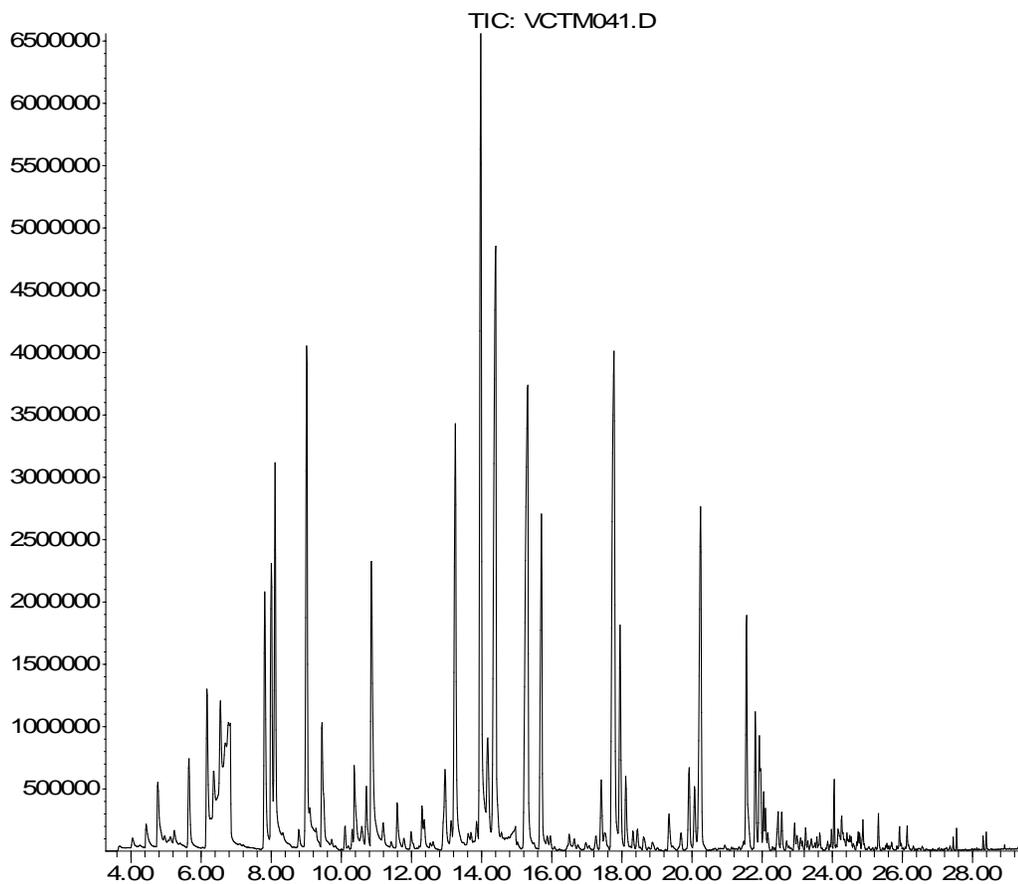


Efecto del tiempo de desorción del polímero rojo en la columna DB5.

ANEXO 5

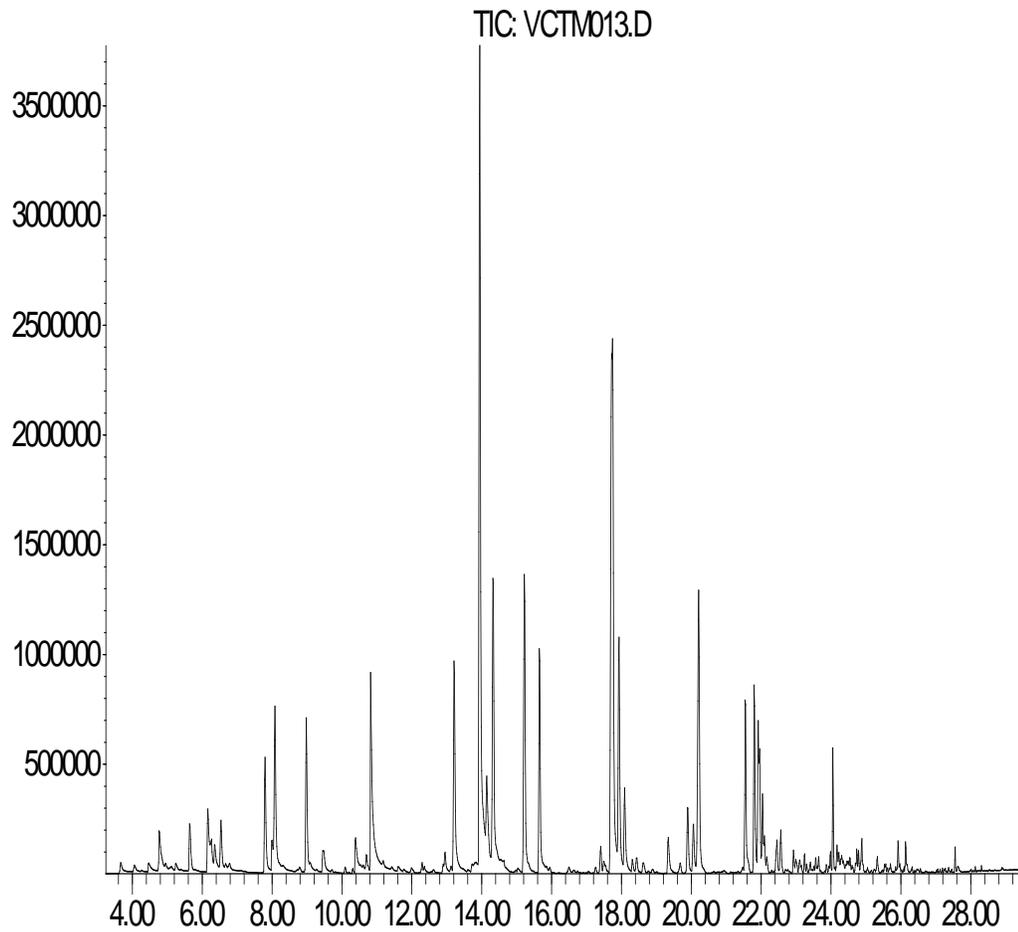
Perfiles cromatográficos obtenidos con los polímeros PDMS (polímero rojo) y PDMS/DVB (polímero azul) en las columnas DB5 y DBWax a las mismas condiciones de trabajo.

Abundance



volátiles de café tostado y molido extraídos por SPME usando el polímero azul y la columna DB5

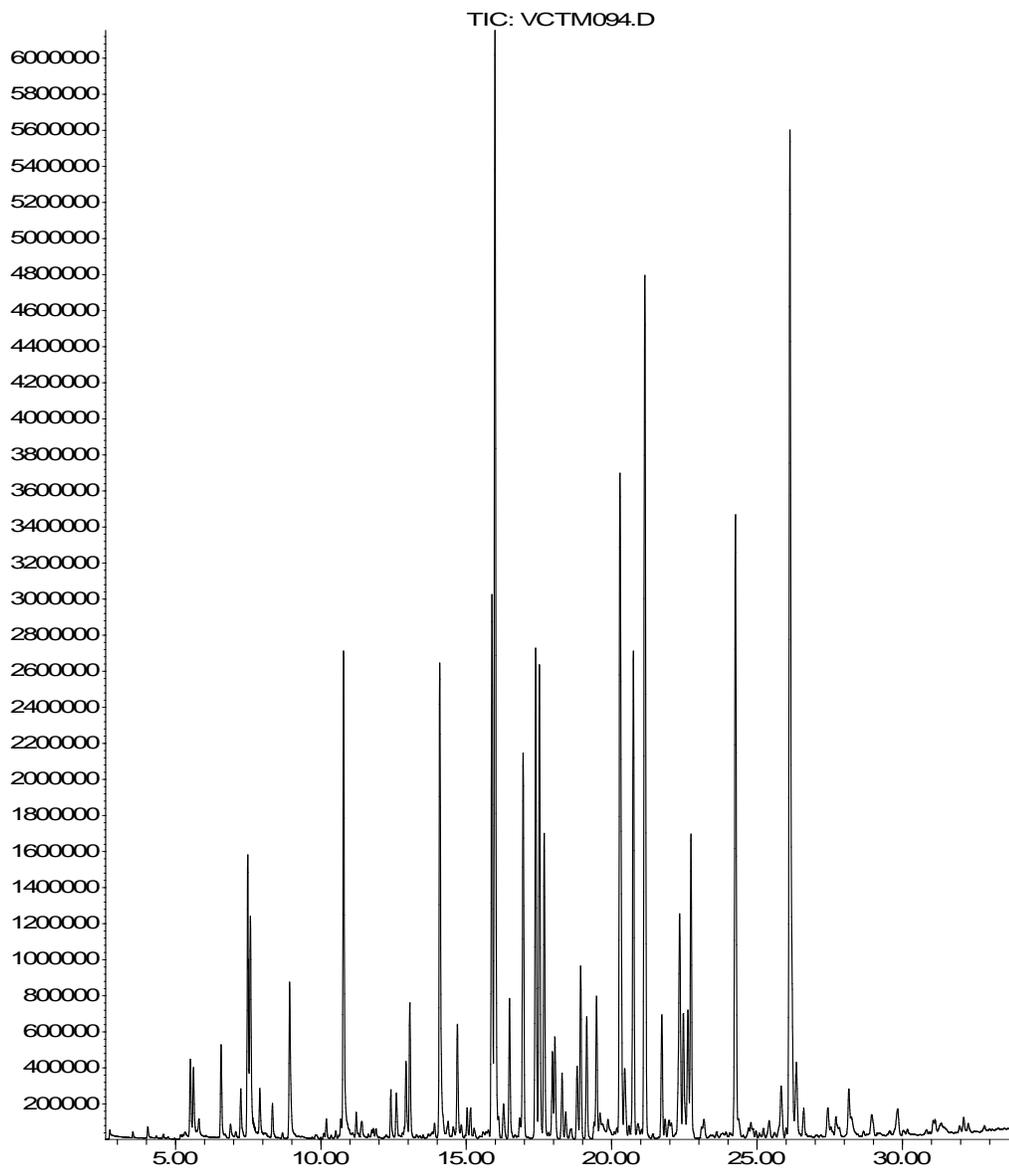
Abundance



Time-->

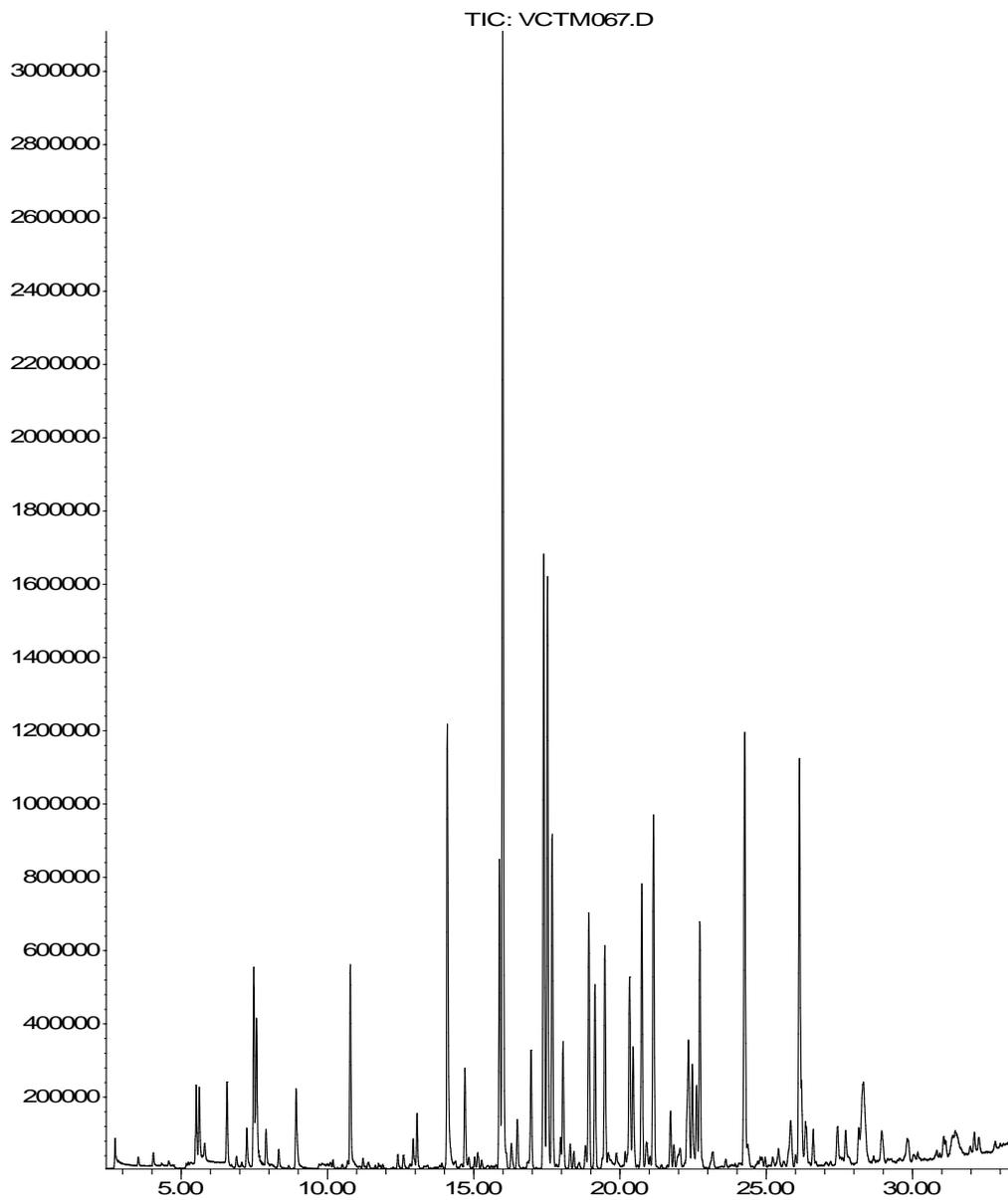
volátiles de café tostado y molido extraídos por SPME usando el polímero rojo y la columna DB5

Abundance



volátiles de café tostado y molido extraídos por SPME usando el polímero azul y la columna DBWax

Abundance

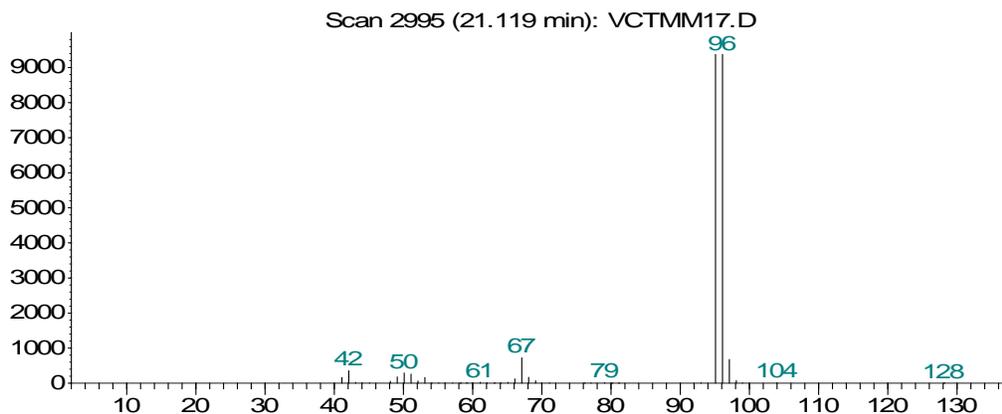


Volátiles de café tostado y molido extraídos por SPME usando el polímero rojo y la columna DBWax.

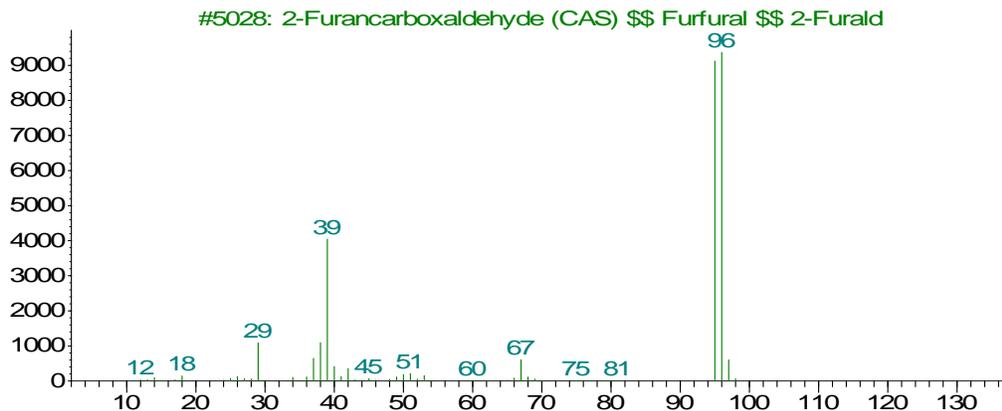
ANEXO 6

Espectros de masas de los compuestos más importantes de cada grupo de familia, obtenidos con el polímero PDMS/DVB (polímero azul) en la columna DBWax.

Abundance



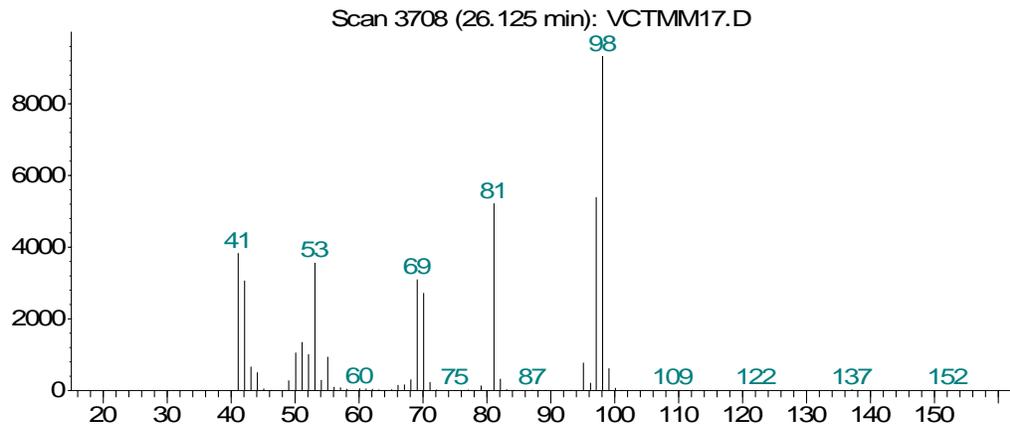
m/z-->
Abundance



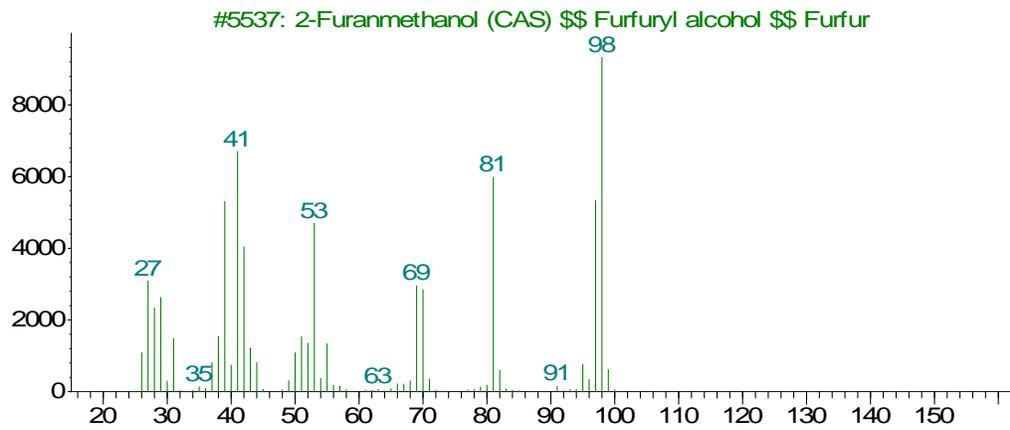
m/z-->

Espectro de masas del 2-furanocarboxilaldehído, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico.

Abundance



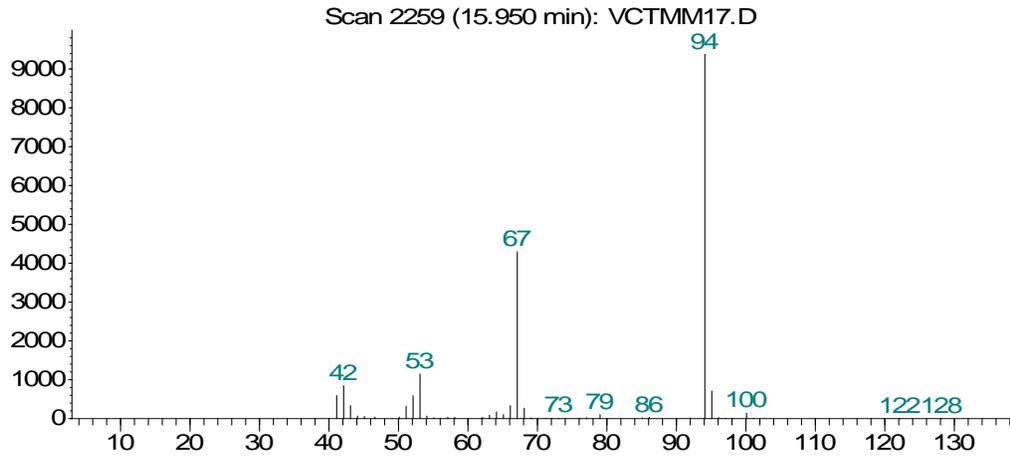
m/z-->
Abundance



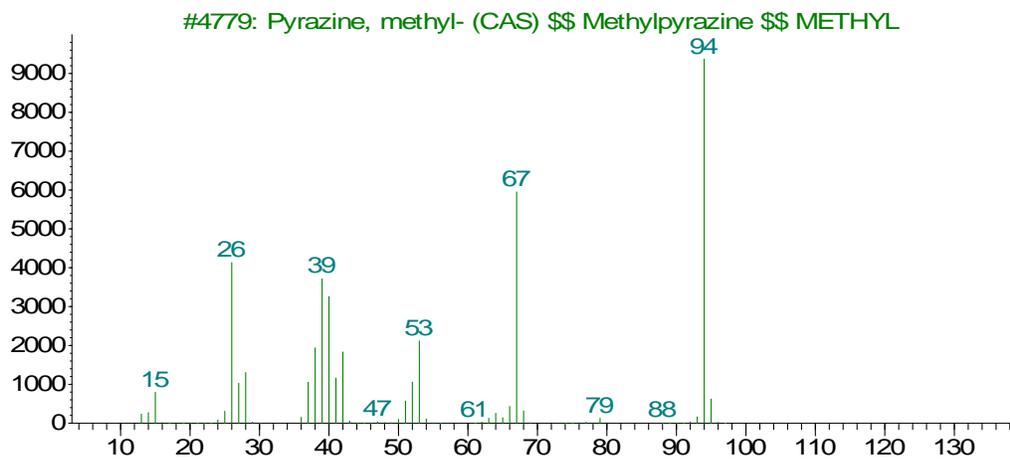
m/z-->

Espectro de masas del 2-furanometanol, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico

Abundance



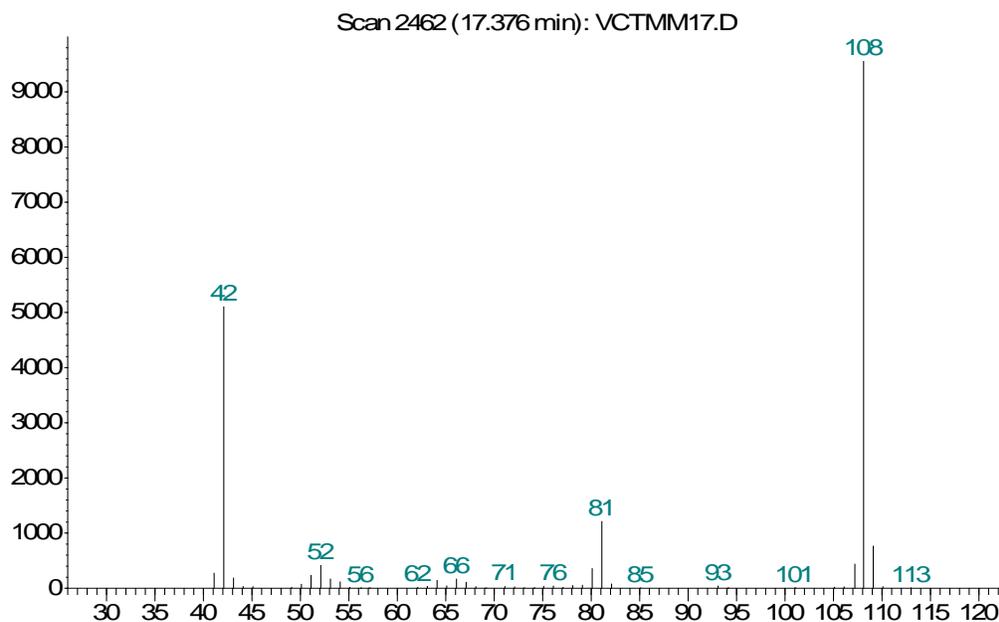
m/z-->
Abundance



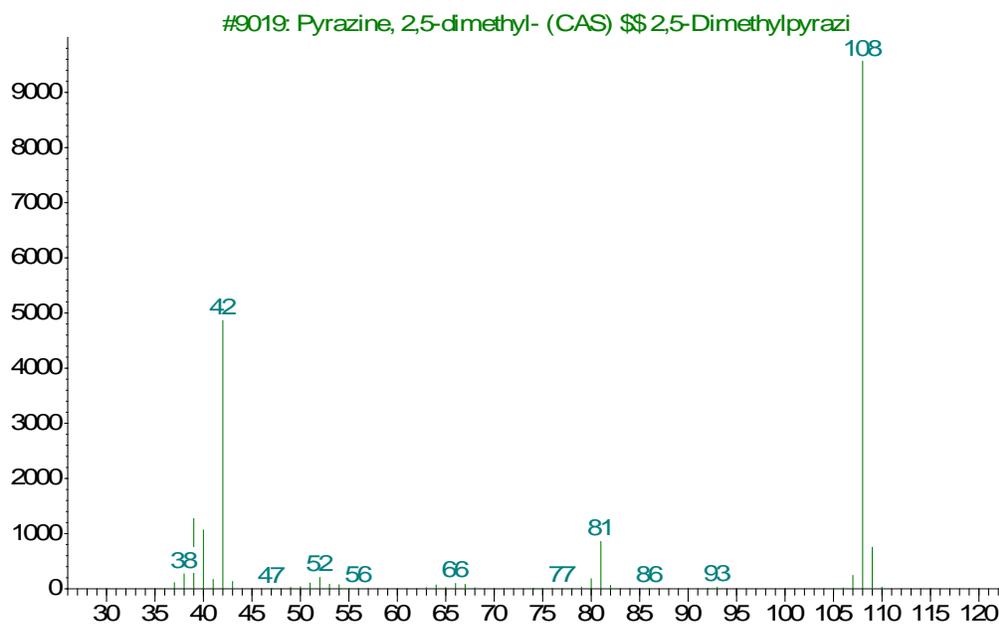
m/z-->

Espectro de masas del metil pirazina, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico.

Abundance



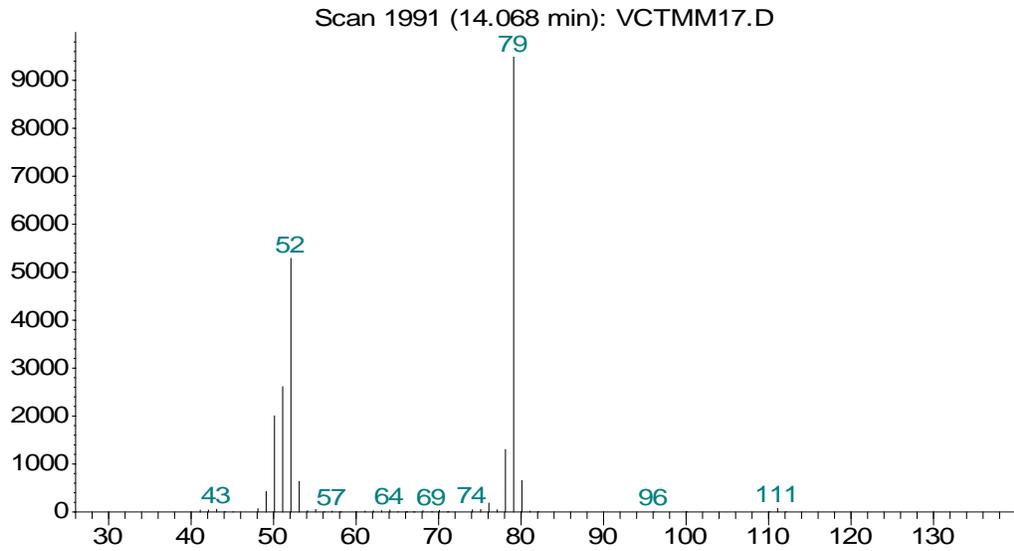
m/z-->
Abundance



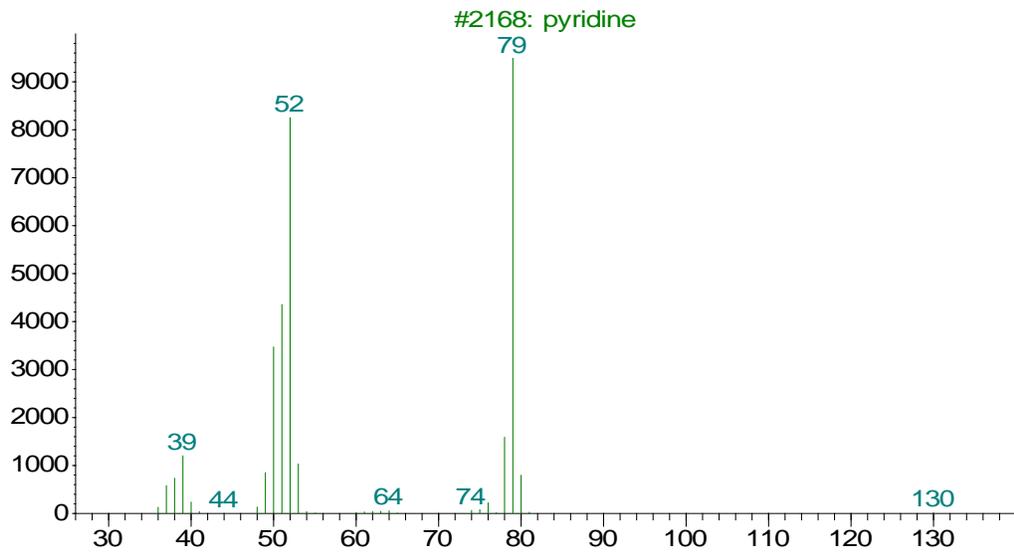
m/z-->

Espectro de masas del 2,5-dimetil pirazina, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico

Abundance



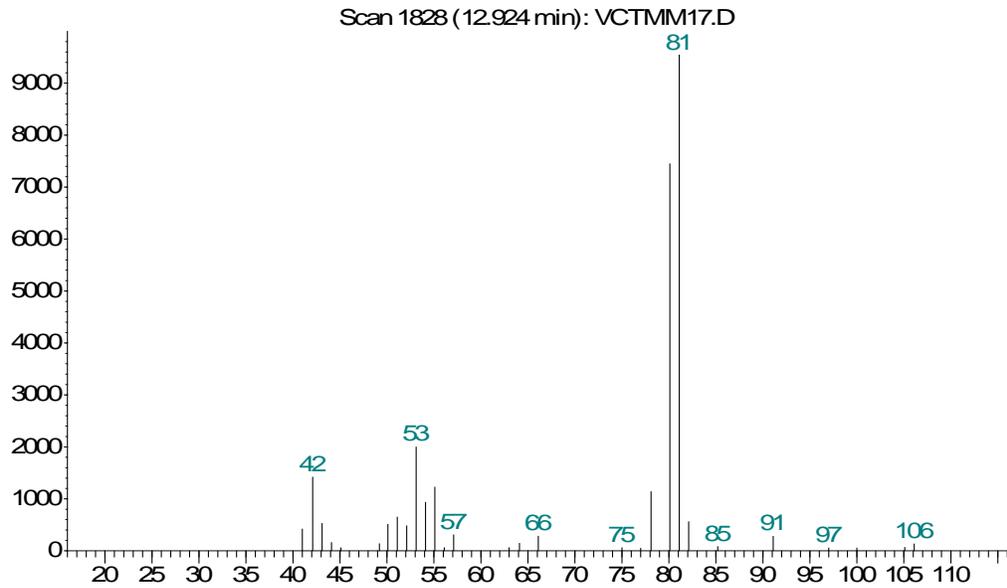
m/z-->
Abundance



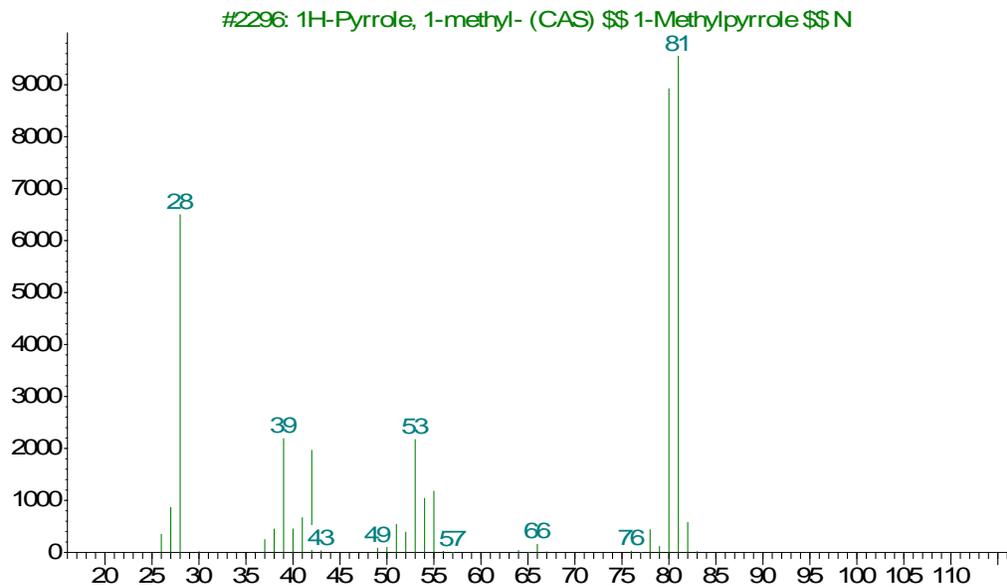
m/z-->

Espectro de masas de la piridina, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico

Abundance



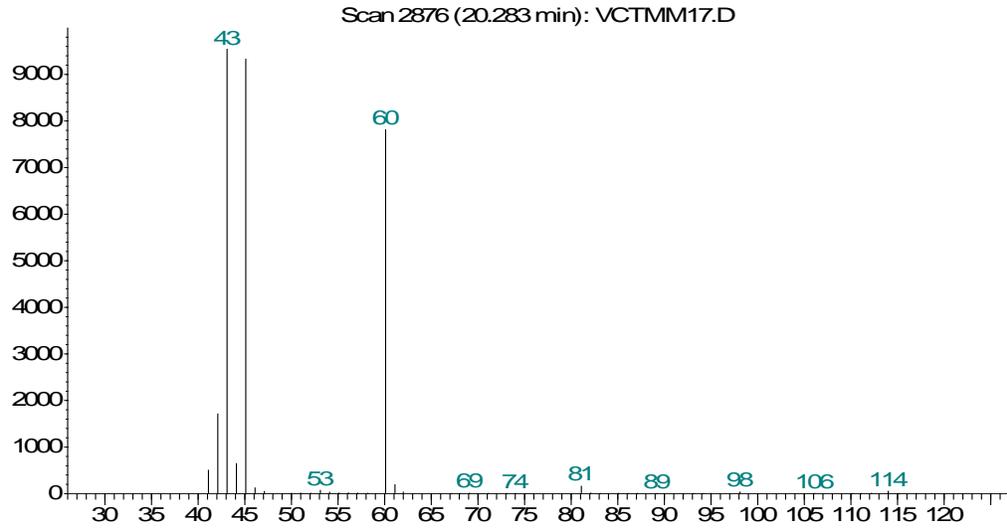
m/z-->
Abundance



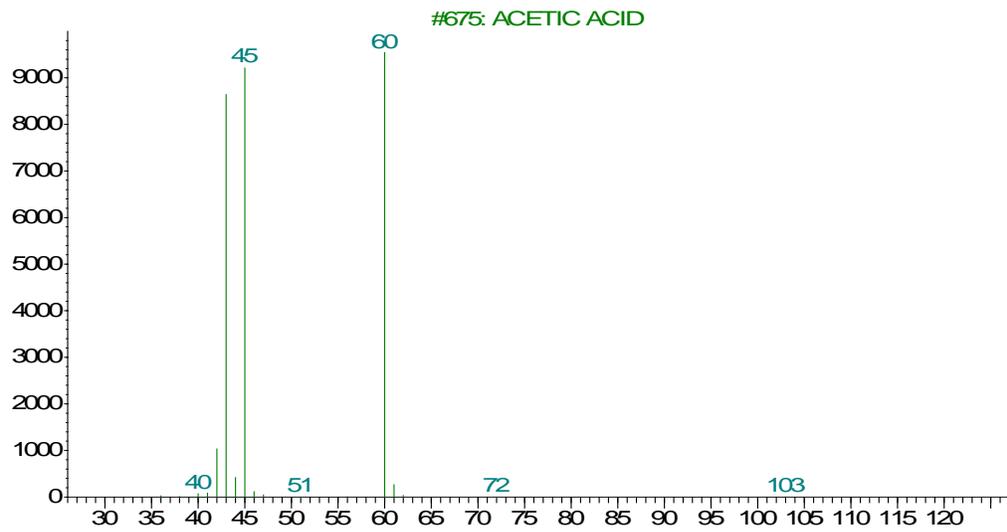
m/z-->

Espectro de masas del 1-metil 1H-pirrol, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico

Abundance



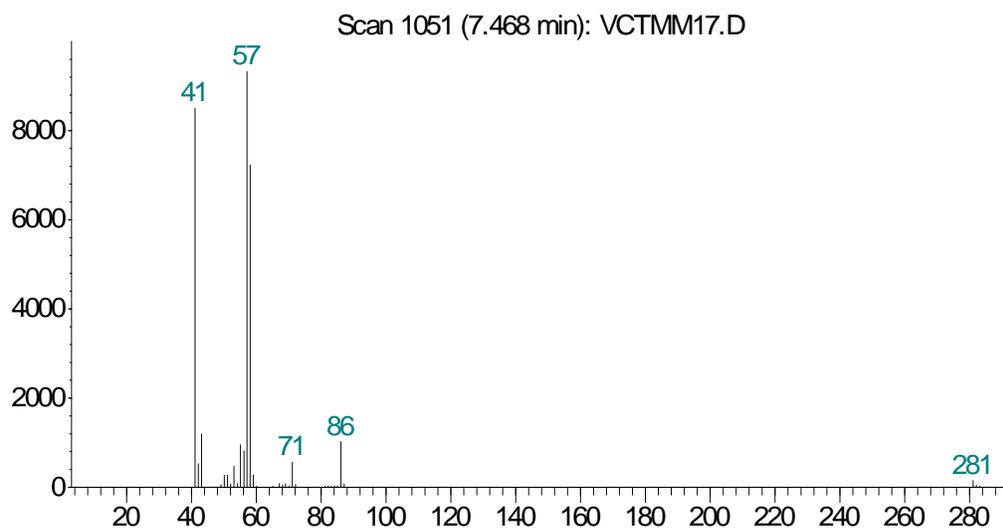
m/z-->
Abundance



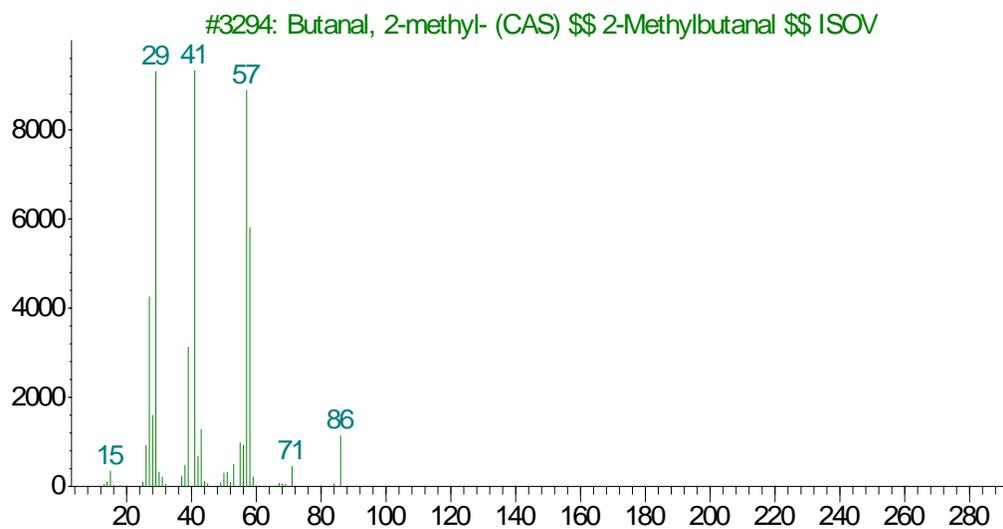
m/z-->

Espectro de masas del ácido acético, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico

Abundance



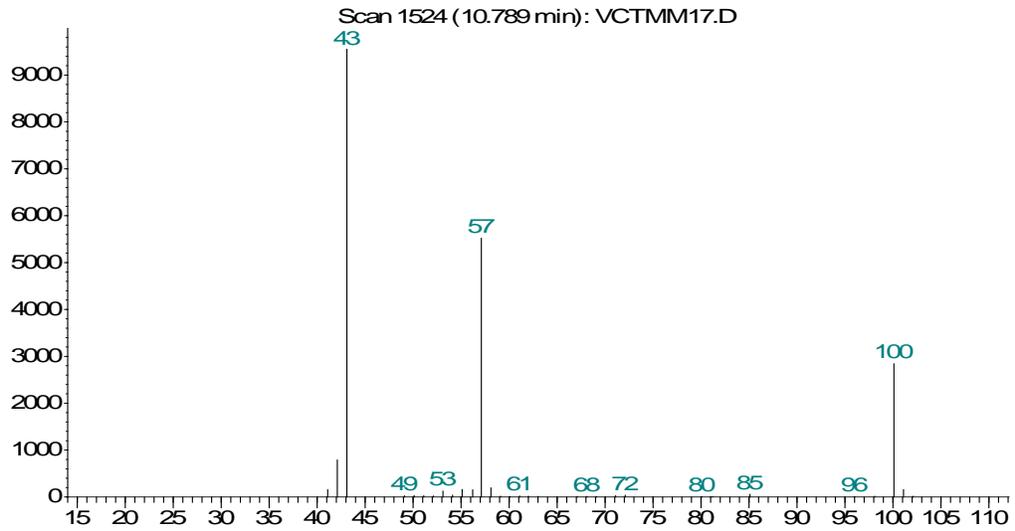
m/z-->
Abundance



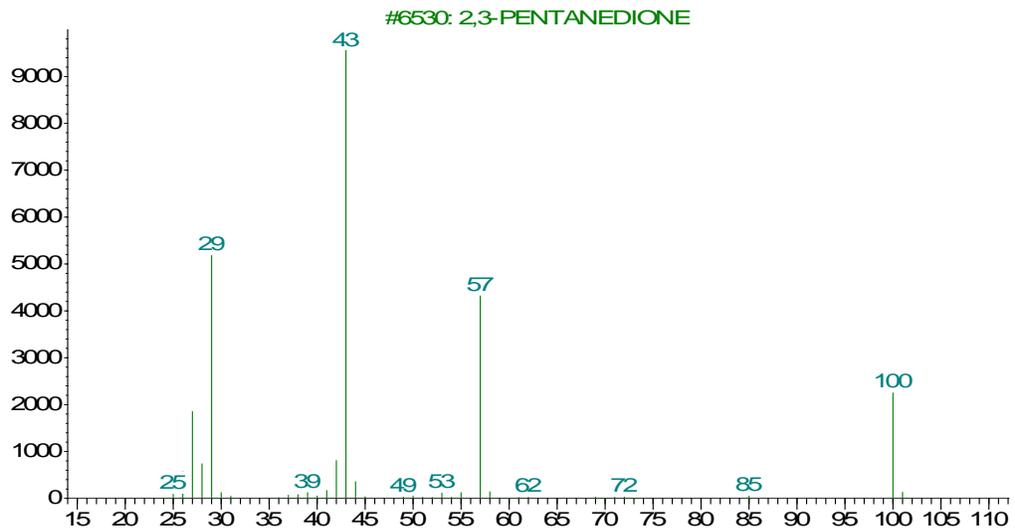
m/z-->

Espectro de masas del 2-metil butanal, parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico.

Abundance



m/z-->
Abundance



m/z-->

Espectros de masas del 2,3-pentanodiona: parte superior, espectro de la muestra, parte inferior, espectro teórico.