

## Aplicación de microextracción en fase sólida y detección por GC-MS para determinar los compuestos volátiles del café.

Rodríguez-Pérez M.A.<sup>a</sup>, Ceballos-Magaña. S.G.<sup>b</sup>, Hernández-Madrigal. J.V.<sup>a</sup>, Muñoz-Valencia R<sup>a\*</sup>

a Universidad de Colima, Facultad de Ciencias Químicas, Carretera Colima-Coquimatlán, 28400, Coquimatlán, Colima, México.

b Universidad de Colima, Facultad de Ciencias, Díaz Bernal, 28040, Colima, Colima, México.

\* [robemuva@yahoo.com](mailto:robemuva@yahoo.com)

### RESUMEN:

El café es una de las bebidas más consumidas en el mundo y comercializado como una de las dos variedades conocidas como Arábica y Robusta. Los cafés Arábica son por lo general considerados de mejor calidad y en consecuencia tienen precios más elevados. México es el primer productor mundial de café orgánico y uno de los primeros en cafés "gourmets". Colima se encuentra dentro de los 12 estados productores de café, comercializándose principalmente la especie Arábica. Debido a la importancia económica y extenso uso del café se hace indispensable su caracterización mediante un método que garantice el control y calidad del café, basado en el contenido de varios compuestos químicos con el objetivo de mantener un buen control de calidad. Cabe mencionar que la composición química (compuestos orgánicos) está influenciada por las características ambientales. Estos métodos podrían evaluar la calidad del producto en los casos de fraude o etiquetado incorrecto accidental. Así pues, el presente proyecto se enfocará a desarrollar un método analítico para caracterizar la composición volátil de las diferentes muestras de café de Colima mediante la técnica de microextracción en fase sólida y cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas..

### ABSTRACT:

Coffee is one of the most consumed beverages in the world and marketed as one of the two varieties known as Arabica and Robusta. Arabica coffees are generally considered better quality and thus have higher prices. Mexico is the leading producer of organic coffee and one of the first cafes "foodies". Colima is located within 12 coffee producing states, primarily marketed Arabica. Because of the economic importance and widespread use of coffee is essential characterization using a method that ensures coffee quality control and based on the content of various chemical compounds in order to maintain a good quality control. It should be noted that the chemical composition (organic compounds) is influenced by environmental characteristics. These methods could assess the quality of the product in cases of fraud or accidental mislabeling. Thus, this project will focus on developing an analytical method to characterize the volatile composition of different samples Colima coffee by the technique of solid phase microextraction and gas chromatography coupled to mass spectrometry..

**Palabras clave:** Cromatografía de gases – masas, café, compuestos volátiles.

**Área:** Frutas y hortalizas

### INTRODUCCIÓN

Debido a la creciente necesidad de caracterizar los granos de café se han realizado diversas investigaciones sobre diferentes métodos para hacerlo y experimentando con diferentes muestras y en condiciones diversas tanto con granos de verdes como con granos tostados, y de ambas especies y desde la determinación de ácidos cloragénicos, ácidos grasos, composición mineral y química.

De acuerdo al documento Paquete Tecnológico para el cultivo de café orgánico en el Estado de Colima, (2011) en Colima las zonas productoras de café, se encuentran establecidas entre los 600 y los 1,250 metros de altura sobre el nivel del mar y las condiciones agronómicas son las requeridas e idóneas para la producción de café Arábica, el 100% se establece bajo sombra predominan las variedades, criolla, caturra rojo y amarillo, catimor, bourbon y en menor escala la variedad oro azteca que presenta resistencia al hongo (*Hemileia Vastatrix*) causante de la roya anaranjada, considerando además que la edad de las plantaciones oscila entre los 15 y 55 años.

Actualmente en el Estado de Colima se cuentan con 2,198 has de café y 805 productores. Estas se encuentran establecidas en el norte de 5 municipios: Comala, Cuauhtémoc, Manzanillo, Minatitlán y Villa de Álvarez. Los productores de café están organizados en dos uniones de ejidos que agrupan una gran parte de los ejidatarios productores de café y 13 sociedades de producción rural.

A los cafetaleros en el estado no se les permite considerar el cultivo de café como prioritario, lo cual provoca que lo combinen con otras actividades como la siembra de maíz, caña de azúcar, ganadería, porcicultura, apicultura. Lo que también han implementado los productores de café son los sistemas de policultivos, en los que intercalan el café con naranja, lima, guayaba, papaya y plátano.

Por otro lado, existen trabajos referentes al grano del café alrededor del mundo, en los cuales llevan a cabo una clasificación de acuerdo a la especie y región geográfica a partir del contenido orgánico de los granos de café. Keidel y cols en 2010 lograron discriminar las especies de Arábica y robusta a partir del análisis por espectroscopía Raman. Martín y cols., en 1996, analizaron el contenido de ácidos clorogénicos, cafenia, trigonelina, aminoácidos, extracto acuoso y polifenoles y posteriormente los utilizó como descriptores químicos para clasificar las variedades de café por Análisis en Componentes Principales y Análisis Cluster y también logró diferenciar dichas variedades utilizando el contenido metálico. González y cols., en 1999 clasificaron las variedades de café a partir del contenido orgánico utilizando el Análisis Discriminante Lineal. En el caso de la clasificación por región de origen también existen muchos trabajos al respecto, de los más interesantes son el de Fernández y cols., en 1999, que utilizando el contenido metálico logró diferenciar mediante un Análisis en Componentes Principales cafés de origen de Brasil. Otro trabajo de autenticación de cafés de Indonesia, África del Este y Centro y Sur América se logró mediante análisis elemental de granos de café por Kim y cols., en el año 2002.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

Fibra de Microextracción en Fase Sólida, PDMS/DVB/Carb 65  $\mu\text{m}$ , color azul, marca Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Soporte manual para Fibra de Microextracción en Fase Sólida, marca Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).

Columnas para cromatografía de gases para la separación cromatográfica: Inferno (30m x 0.25mm x 0.25 $\mu\text{m}$ ), marca Phenomenex (Palo Alto, CA, USA).

### Equipo

Cromatógrafo de gases (GC) modelo 3900 acoplado a un detector de espectrometría de masas (MS) modelo 2100T, y la adquisición / análisis estadístico de los datos se hizo con el Software *Sistem Control* versión 6.9, todo marca Varian (Palo Alto, CA, USA).

### Método de separación y detección

#### Separación en el GC

Inyección: Sin división de flujo durante 2 min.

Temperatura del inyector: 240 °C.

Columna: Inferno (30 m x 0.25 mm di x 0.25  $\mu\text{m}$  df)

Flujo de He: 1 mL/min

Gradiente de temperatura: 60 °C  $\rightarrow$  15°C/min  $\rightarrow$  290°C (10min)

#### Detección en el espectrómetro de masas

Impacto Electrónico: 70 eV

Para identificación de COVs: Barrido de masa/carga (m/z): 40-500

Toma de muestra

Para llevar a cabo este estudio, se recolectaron muestras de café tomadas en el Estado de Colima. Las muestras se mantuvieron en a -20 °C hasta el momento de procesarlas.

Tratamiento de muestra

Una vez tomadas las muestras se almacenan en un lugar oscuro a -20 °C por un máximo de 96 horas antes de aplicar el siguiente protocolo, evitando la adición de conservadores químicos que puedan alterar los resultados.

Para el análisis, las muestras de 1 gramo se colocan en recipientes de 20 mL. A continuación se extraen los COVs utilizando la técnica de Micro Extracción en Fase Sólida (SPME) con la fibra de PDMS/DVB/Carb. La muestra se pone en contacto directo con la fibra durante 80 min, agitando a 600 rpm y a temperatura de 85 °C. Finalmente se inserta la fibra en el puerto de inyección del GC-MS para comenzar el análisis.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se realizó un experimento de extracción de COVs para determinar que fibra es mejor para obtener mayores fracciones volatiles del grano del café. Utilizando 4 fibras: azul, rosa, gris y blanca. Sometiéndolas a condiciones de tiempo: 60min, temperatura: 75°C y agitación: 300 rpm. Como se muestra en la figura 1.

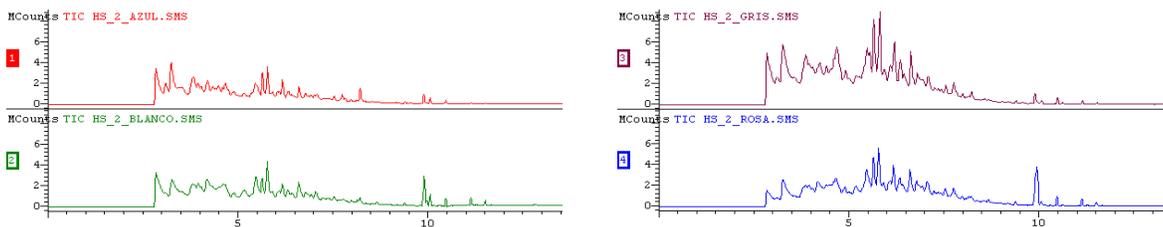


Figura 1. Cromatogramas del café con las fibras (azul, blanco, gris y rosa)

Se seleccionó la fibra gris, por ser la que obtuvo mayor intensidades en los COVs. Posteriormente se optimizaron las condiciones de extracción (ver Tabla 1).

Tabla 1. Diseño de experimentos para optimizar de extracción de COVs del café

Experimento	Tiempo		Temperatura		Agitación	
	40	80	65	85	0	6
1	X		X			X
2	X		X		X	
3		X	X		X	
4		X	X			X
5	X			X	X	
6	X			X		X
7		X		X	X	
8		X		X		X

Los resultados arrojados por los experimentos se muestran en la figura 2

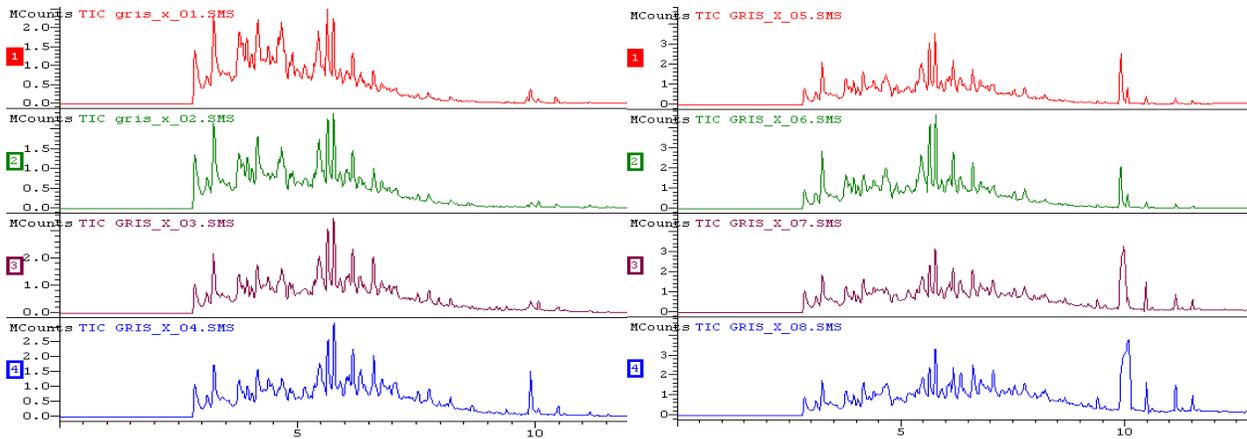


Figura 2. Cromatogramas de los experimentos del 1 al 8

Esto demuestra que las condiciones óptimas para las determinaciones de compuestos en las fracciones volátiles del café son mediante la fibra gris en las condiciones del experimento 8.

Ejemplo de muestras realizadas

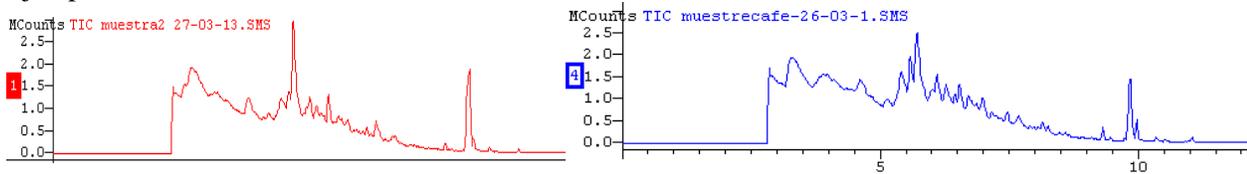


Figura 3. Cromatogramas de muestras de café.

Como se observa en la siguiente tabla (Tabla 2), se identificaron los COVs mediante su espectro de fragmentación de masas.

Tabla 2. Tabla de identificación de compuestos volátiles.

Tr	Compuesto 1	Probabilidad
2.848	2-Methyl-act-2-enedial	10.1
3.095	2-Furancarboxaldehyde,5-methyl-	71.3
3.242	2-Furanmethanol,acetate	79.4
3.34	bicycla(6.1.0)nanane-9-carboxylic acid	7.2
3.438	9-azadispiral3.1.3.0l nanane	19.3
3.552	cyclahexanane,2-ethyl,-axime	10.3
3.767	Ethanane,1-(1h-pyrral-2-y)-	76.4
3.964	3-cyclahex-3-enyl-prapiaric acid	10.7
3.946	Ethanane,1-(1-cyclahexen-1-y)-	6.6
4.044	9-oxabicycla(3.3.1)nan-6-en-2-ane,axime	8.7
4.174	Maltal	15.5
4.302	D-streptamine,0-2-amina-2-deoxy-	9.3

4.402	N-(3-)N-aziridylprapyldenelfurfurylamine	13.8
4.667	11-hexadecyn-1-al	8.1
4.992	D-streptamine,0-2-amina-2-deoxy-	22.3
4.997	D-streptamine,0-2-amina-2-deoxy-	46.4
5.166	tricycla(4.3.1.193,8)undecan-1-amine	26.1
5.36	5,6-dicarbadeborane(12),5,6-dymethy	25.0
5.49	Ethanone,1-(2,5-dihdraxyphenyl)-	14.7
5.637	Furan,2,2-(axybis(methylene))bis-	43.0
5.767	phenol,2,3,5,6-tetrametuy-	17.1
5.914	4-(2,5-dihdra-3-methaxphenyl	14.7
6.092	8-quinainal,5-amina-	13.8
6.792	1,1-(4-methyl-1,3-phenylene	13.9
6.954	Neocurdiane	9.2
7.067	2(3h)-naphthanone	24.0
7.262	2(3h)-naphthanone	22.8
7.538	1-Cyclahepten-3,6	15.5
7.765	2-Butanane	29.0
7.992	2(3h)-naphthanone	40.8
8.202	4-(4-methylphenyl)	63.5
8.382	Propene,1-9-barabic	13.7
8.561	2-(5-(2,2-dimethyl-6))	12.5
8.74	Perhydrocyclaprsal	45.7
8.821	n.n-bis9carbabrny0	10.9
9.034	Falcarinol	30.1
9.198	9,10-secacholesta	29.9
9.558	5,6,6-Trimethyl	10.2
10.487	Ethyltridecanote	10.5
10.627	5,8,11-heptadecatriynaic	43.5
11.138	9,12-octadecadienoic	10.2
11.516	Cyclaprapaneoc tanaic	11.1
11.664	hexadecanoic acid	30.4
12.239	Isoaromadendrene	14.0
12.73	1.1-biclapropyl	16.7
12.812	oleic acid	13.8
13.649	9,12,15-octadecatrienaic	38.0
14.886	mannofuranoside,farnesyl	12.1

## CONCLUSIÓN

Se lograron identificar de forma preliminar cerca de 60 compuestos con una probabilidad en el rango de 5 – 80. Considerando que el fragmentograma está adquirido en un rango muy amplio una probabilidad de 20 es considerada buena.

## **BIBLIOGRAFÍA**

González, F., Fernández, M. (1999). Characterization of arabica and robusta roasted coffee varieties and mixture resolution according to their metal content. 365-370.

Historia del café. <http://www.cafesdemexico.com/historiadelcafe.htm> [Fecha de acceso, julio de 2012].

Keidel, A., Von Stetten, D., Rodrigues, C. & Maguas, C (2010). Discrimination of Green Arabica and Robusta coffee beans by. 11187–11192.

Kim, A., Anderson, F. & Smith. J. (2002). Chemical Profiling To Differentiate Geographic Growing Origins of coffee. 2068–2075.

Martin, F., Pablos, A.G., & Gonzalez (1996). Application of pattern recognition to the discrimination of roasted coffees. *Analytica Chimica Acta*, 320; 191-197.

Paquete Tecnológico para el cultivo de café orgánico en el Estado de Colima, publicado por el Gobierno del Estado (2011).