

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



“EXTRACCIÓN DE COMPONENTES VOLÁTILES DEL CAFÉ (*Coffea arabica* L.) TOSTADO DE VILCABAMBA (ECUADOR) PARA ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO”

Presentado por:

JORGE GEOVANNY FIGUEROA HURTADO

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGÍSTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima - Perú

2013

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

“EXTRACCIÓN DE COMPONENTES VOLÁTILES DEL CAFÉ (*Coffea arabica* L.) TOSTADO DE VILCABAMBA (ECUADOR) PARA ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO”

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAGÍSTER SCIENTIAE**

Presentado por:

JORGE GEOVANNY FIGUEROA HURTADO

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra. Patricia Glorio Paulet
PRESIDENTE

Dr. Fernando Vargas Delgado
PATROCINADOR

Dr. Alberto Julca Otiniano
MIEMBRO

Mg.Sc. Luis Briceño Berrú
MIEMBRO

ÍNDICE GENERAL.

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.	3
2.1. HISTORIA DEL CAFÉ.	3
2.2. PRODUCCIÓN MUNDIAL DE CAFÉ.	3
2.3. PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN ECUADOR.	4
2.4. TRAZABILIDAD DE CAFÉ.	6
2.5. ESTRUCTURA DEL FRUTO DE CAFÉ.	6
2.6. POST-COSECHA.	7
2.6.1. Beneficio Seco.	7
2.6.2. Beneficio Húmedo.	8
2.7. QUÍMICA DEL CAFÉ.	10
2.7.1. Alcaloides.	10
2.7.2. Proteínas y amino ácidos libres.	10
2.7.3. Carbohidratos.	11
2.7.4. Polisacáridos.	11
2.7.5. Azúcares de bajo peso molecular.	11
2.7.6. Lípidos.	11
2.8. TOSTADO DEL CAFÉ.	12

2.9.	MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA.	12
2.10.	EXTRACCIÓN MEDIANTE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.	15
2.11.	DESTILACIÓN EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA.	16
2.12.	CROMATOGRAFÍA.	18
2.13.	ESPECTROMETRÍA DE MASAS.	19
2.14.	ÍNDICE DE KOVATS.	19
2.15.	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.	20
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.	21
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.	21
3.2.	MATERIA PRIMA-INSUMOS.	21
3.3.	EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS.	24
3.3.1.	Microextracción en fase sólida (SPME).	24
3.3.2.	Dióxido de carbono en condiciones supercríticas (FSC).	25
3.3.3.	Destilación y extracción simultánea (DES).	26
3.4.	DETECCIÓN.	27
3.5.	IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS.	27
3.5.1.	Biblioteca Wiley.	27
3.5.2.	Índice de Kovats.	27
3.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	28
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	29
4.1.	BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ Y TOSTADO.	29

4.2.	EXTRACCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS.	31
4.3.	MEDICIÓN Y REPRODUCIBILIDAD DE COMPUESTOS.	43
4.4.	EFICIENCIA DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.	52
4.4.1.	Análisis de varianza.	55
4.4.2.	Análisis de Componentes Principales (ACP).	57
V.	CONCLUSIONES.	61
VI.	RECOMENDACIONES.	62
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	63
VIII.	ANEXOS	75

ÍNDICE DE CUADROS.

	Pág.
Cuadro 1: Rampa de temperatura de tostado.	30
Cuadro 2: Cantidad de compuestos identificados mediante el IK, QM y por ambos.	31
Cuadro 3: Identificación de compuestos mediante Índice de Kovats e Índice de coincidencia.	32
Cuadro 4: Lista de compuesto encontrados de acuerdo a su grupo funcional orgánico.	40
Cuadro 5: Áreas de los diferentes compuestos identificados para las metodologías en estudio.	45
Cuadro 6: Análisis de varianza en función a las fibras de microextracción utilizadas en el método SPME.	56
Cuadro 7: Análisis de varianza en función a los diferentes métodos.	56

ÍNDICE DE FIGURAS.

	Pág.
Figura 1: Producción de café verde de Ecuador.	5
Figura 2: Precios del Café.	6
Figura 3: Estructura del fruto de café.	7
Figura 4: Esquema de los pasos del beneficio húmedo del café.	9
Figura 5: Formas de utilización de la fibra.	14
Figura 6: Fibra de microextracción.	15
Figura 7: Aparato de destilación – extracción.	17
Figura 8: Fotografía del color del café cereza seleccionado.	21
Figura 9: Diagrama de flujo de preparación de materia de materia prima.	22
Figura 10: Fotografía de la etapa de fermentación del café.	23
Figura 11: Diagrama de flujo del proceso extracción e identificación.	24
Figura 12: Fotografía del extractor Soxhlet de altas presiones.	25
Figura 13: Fotografía del equipo de micro destilación extracción simultánea.	26
Figura 14: Fotografía del café cosechado por caficultores de Vilcabamba.	29
Figura 15: Número de compuestos extraídos e identificados en el café tostado en función del método de extracción.	38
Figura 16: Capacidad de extracción de las diferentes métodos representados en función al Índice de Kovats y peso molecular.	39
Figura 17: Coeficiente de variación de los métodos de extracción.	52

Figura 18: Área total de los picos obtenidos del café tostado en función del método de extracción.	53
Figura 19: Sumatoria de áreas para los diferentes grupos funcionales encontrados.	54
Figura 20: Representación de la composición final obtenida con los 15 compuestos identificados, en el sistema de coordenadas formado por los dos primeros componentes.	58
Figura 21: Representación de la composición final obtenida con los 14 compuestos identificados (sin cafeína), en el sistema de coordenadas formado por los dos primeros componentes.	59
Figura 22: Representación de la composición final obtenida con los 6 compuestos marcadores, en el sistema de coordenadas formado por los dos primeros componentes.	60

ÍNDICE DE ANEXOS.

	Pág.
Anexo A: Metodología para análisis físico – químicos de fruto de café y café tostado.	75
Anexo B: Cromatogramas de los diferentes métodos de extracción	78
Anexo C: Resultados del análisis estadístico	81

RESUMEN.

El objetivo de la presente investigación fue extraer los componentes volátiles del café (*Coffea arabica* L. variedad *Typica*) tostado y molido de Vilcabamba (Ecuador), mediante los métodos fibra de microextracción en fase sólida (SPME), dióxido de carbono en condiciones supercríticas (FSC) y destilación extracción simultánea (DES), e identificación mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. Para el método SPME se evaluó el efecto del material de empaque de cuatro fibras (PDMS, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS y PA) sobre el número de compuestos extraídos, encontrando que el material de empaque tiene efecto sobre el número y tipo de compuestos encontrados. De las 4 fibras estudiadas, la fibra DVB/CAR/PDMS permitió extraer e identificar el mayor número de compuestos (57 y 44 respectivamente). De los tres métodos evaluados, el método FSC extrajo e identificó el mayor número de compuestos (72 y 64 respectivamente), además obtuvo las mayores área para los compuestos. La combinación de los tres métodos permite obtener un perfil aromático con 123 compuestos diferentes. En función del área el ácido acético, cafeína, alcohol furfurílico, 2-furanocarboxaldehído, 5-metilfurfural, 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol y 3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona son los compuestos mayoritarios encontrados con los tres métodos a excepción del método FSC donde predominan los compuestos con pesos moleculares mayores (> 194 g/mol). Al comparar los diferentes métodos se evidencia que el método SPME con fibra DVB/CAR/PDMS, permite de forma rápida, reproducible y sin la utilización de reactivos la obtención de un perfil representativo del aroma de café tostado y molido de Vilcabamba.

Palabras Claves: Café, Vilcabamba, SPME, FSC, DES.

ABSTRACT.

The aim of this study was extract the volatile compounds of roasted and ground coffee (*Coffea arabica* L. var. *Typica*) from Vilcabamba (Ecuador) by three methods: solid-phase microextraction (SPME) with four different coating (PDMS, PDMS/DVB, DVB/CAR/PDMS and PA), supercritical fluid extraction with carbon dioxide (SCF) and simultaneous distillation and extraction (SDE). Identification and characterization of volatile compounds were achieved using gas chromatography / mass spectrometry (GC/MS). Analysis of variance and analysis of main components were performed. In the SPME method, the coating material has an effect on the amount and concentration of extracted compounds, the DVB/CAR/PDMS coating provided the most representative aroma extract (44 compounds were identified). In SCF method, more compounds were extracted and identified rather than SPME and SDE; in addition, a higher concentration was achieved. Using the three methods, 123 compounds were extracted. Acetic acid, caffeine, furfuryl alcohol, furfural, 5-methylfurfural, butylated hydroxytoluene and maltol were the compounds with higher concentrations found using SPME and SDE; using SCF, a higher concentration of compounds with high molecular weights (> 194 g/mol) was found. Preferably SPME method with DVB/CAR/PDMS should be used to characterize coffee aroma compounds.

Keywords: Coffee, Vilcabamba, SPME, SCF, SDE.

I. INTRODUCCIÓN.

El café es una de las bebidas más consumidas a nivel mundial, apetecida por su agradable aroma y propiedades estimulantes debido a la cafeína (Parliment, 2000). La creencia de que el café provoca efectos negativos para la salud, está teniendo un vuelco total, diversos estudios demuestran que el consumo habitual de café provoca una disminución en el cáncer al colón (Miller *et al.*, 2000, Parliment *et al.*, 2000). Lo que ha provocado un incremento en su consumo, actualmente se consumen mundialmente 400 billones de tazas por año.

La producción mundial de café para el año 2012 fue de 144 millones de sacos de 60 kg, esta producción provee un movimiento en la economía de 90 mil millones de dólares (International Coffee Organization, 2013). En Ecuador el café se produce en prácticamente todas las provincias, pero destacan por mayor producción, calidad y denominación de origen: Manabí, Loja y Galápagos respectivamente. La producción para el año 2012 fue de 828 mil sacos de 60 kg (International Coffee Organization, 2013) y el café es considerada como prioritario para el desarrollo de la región sur del Ecuador. Actualmente dentro del Plan Nacional de Desarrollo del gobierno de Ecuador se ha considerado un Programa de Desarrollo Local Competitivo referente al café, con el fin de repotenciar el mercado de café, afectado por los bajos precios de los años 2002 a 2004. Entre los aspectos necesarios para repotenciar el café, basados en las tendencias mundiales de consumo, tenemos: comercialización de café con certificado de origen, comercio justo, orgánico, etc.

La globalización de mercados y la creciente demanda de los consumidores de conocer al detalle la procedencia de sus alimentos, ha provocado que la trazabilidad sea considerada como un factor preponderante en el momento de realizar una adquisición. El término trazabilidad de acuerdo a la EU Commission, es definida como “La posibilidad de encontrar y seguir el rastro, a través de todas las etapas de producción, procesamiento y distribución de productos alimenticios, piensos, animales destinados para la producción de alimentos o sustancias incorporadas en productos alimenticios o piensos o con probabilidad de ser usada como tal” (Risticovic *et al.*, 2008).

Existen numerosos estudios del perfil aromático del café; basados en diferentes técnicas de extracción y análisis; que buscan distinguir el café en función a su especie y

lugar de origen, con la finalidad de poder reconocer y garantizar su procedencia, esto cada día gana mayor importancia debido a la necesidad de disponer de una herramienta que permita validar la procedencia del café y evitar fraudes. Actualmente en Canadá un café proveniente de Galápagos cuesta más del doble de un café descafeinado o de mercados reconocidos. El café proveniente de Vilcabamba al igual que el de Galápagos tienen un precio diferenciado por sus características de origen, pero no existen estudios o análisis que permitan corroborar su procedencia.

El objetivo de la presente investigación fue extraer los componentes volátiles del café (*Coffea arabica* L.) tostado y molido de Vilcabamba (Ecuador) mediante los métodos fibra de microextracción en fase sólida, dióxido de carbono en condiciones supercríticas y destilación extracción simultánea, e identificación mediante cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. HISTORIA DEL CAFÉ.

El café es proviene de Kaffa, provincia de Etiopía; donde crecía de forma silvestre, descubierto por los efectos peculiares que producía sobre las cabras que lo consumían, las cuales permanecían sin dormir, la curiosidad de los pobladores logró que esta peculiaridad llegue a oídos de los párrocos de Yemen, los mismo que realizaron observaciones de los hábitos alimenticios de las cabras concluyendo que es el fruto del café el que producía este efecto, para comprobar su teoría ellos comenzaron a consumirlo, con lo que lograban rezar todo la noche sin necesidad de dormir (Flament, 2001).

En Etiopia fue el primer lugar donde se preparó una bebida a partir de café. En el siglo quince este fue exportado al otro lado del mar rojo, a Aden, donde su consumo fue restringido por la creencia de que poseía efectos tóxicos. Cien años más tarde se estableció la primera cafetería en Constantinopla, donde para impedir su consumo se establecieron altos impuestos, pero éstos no limitaron su consumo. En Londres para el siglo diecisiete se estableció una cafetería, donde también encontró restricciones por razones políticas al ser considerada la cafetería como un lugar de reuniones. Al mismo tiempo fue introducido el café a Francia donde fue considerado como competencia para el vino por lo cual su consumo fue limitado. Por dos siglos la única fuente de café fue Yemen, donde se ordenó que antes de exportar el café deba ser tostado, este monopolio desapareció en el siglo dieciocho cuando se logró cultivar café en Indonesia. La primera especie cultivada fue llamada *Coffea arabica* L (Flament, 2001, International Coffee Organization, 2013).

2.2. PRODUCCIÓN MUNDIAL DE CAFÉ.

Actualmente el café es producido en más de 50 países, su cultivo, procesamiento, comercio, transporte y comercialización provee el sustento a 25 millones de familias y provoca un movimiento de dinero de aproximadamente 35 billones de dólares americanos (International Coffee Organization, 2013), por lo cual no se exagera cuando se dice que el café tiene un gran impacto sobre la economía mundial, siendo considerado como uno de los productos primarios más valiosos, segundo en lugar después del petróleo como fuente

de divisas para los países en desarrollo (Nair, 2010). La producción mundial se ha mantenido sobre los 100 millones de sacos de 60 kg por año por los últimos diez años. El país con mayor producción es Brasil con 43,5 millones de sacos en el año 2011, ha encabezado la producción y exportación mundial de café desde hace más de un siglo y medio.

En Norteamérica es normal encontrar una cafetería en cada cuadra del centro de las principales ciudades, se ha generado una verdadera cultura de consumo de café. Los consumidores, cuyos paladares son cada vez más exigentes, no quieren un café con sabor amargo; desean disfrutar un café con un carácter propio, calidad inigualable, un producto desarrollado bajo estándares éticos y que sea ambientalmente responsable. El café siempre ha sido una de las bebidas más apreciadas, sin embargo, también ha sido de las más difamadas. Estudios recientes indican, por ejemplo, que el café puede reducir el riesgo de sufrir el mal de Parkinson. Sean o no comprobables estos beneficios a la salud, un hecho es cierto: los consumidores están cada vez más preocupados por su salud (Dórea y da Costa, 2005).

2.3. PRODUCCIÓN DE CAFÉ EN ECUADOR.

El café, ha sido uno de los cultivos que se han destacado en las exportaciones agrícolas del Ecuador, constituye una fuente de empleo para el 4% de la población económicamente activa del país. Según el Consejo Cafetalero Nacional (COFENAC) en el año 2010 existieron 220 mil hectáreas de este cultivo, con una producción de 854 miles de sacos de 60 kg (International Coffee Organization, 2013) (**Figura 1**). Éste cultivo se encuentra a nivel nacional, siendo Manabí la provincia con mayor producción (38.6%).

En el país se cultivan las dos especies de café: *Coffea arabico* L y *Coffea canephora* P. Aproximadamente, el 68% de la superficie total es del tipo arábigo. La producción de arábigo, considerado de mejor calidad se concentra específicamente en Manabí, la provincia de Loja y las estribaciones de la Cordillera Occidental de los Andes, en tanto que el tipo robusta se cultiva en la Amazonía, principalmente en Sucumbíos y Orellana.

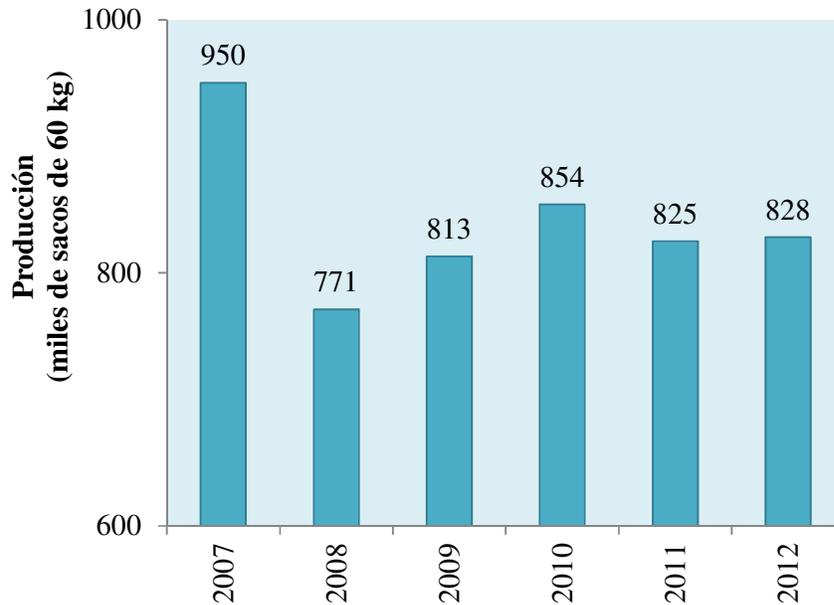


Figura 1: Producción de café verde de Ecuador.

Fuente: ICO (2013).

Alrededor del 90% del cultivo es manejado bajo el sistema tradicional (beneficio seco). El 50% de las 57 mil unidades de producción agropecuaria (upas) de café, son pequeñas es decir que van de 1 hasta 10 hectáreas. El rendimiento de producción es de 5 a 6 quintales/hectáreas al año, en gran parte por la edad de las plantaciones, falta de capacitación, transferencia de tecnología, no disponibilidad de créditos, ausencia de organización y fortalecimiento gremial (MAG, 2007).

Durante los últimos años, la Federación Regional de Asociaciones de Pequeños Productores Cafetaleros Ecológicos del Sur del Ecuador ya exporta a Europa y Estados Unidos, entre ellos cafés con certificación comercio justo y orgánico, los mismos que registran precios superiores al convencional (**Figura 2**) (FAPECAFES, 2009).

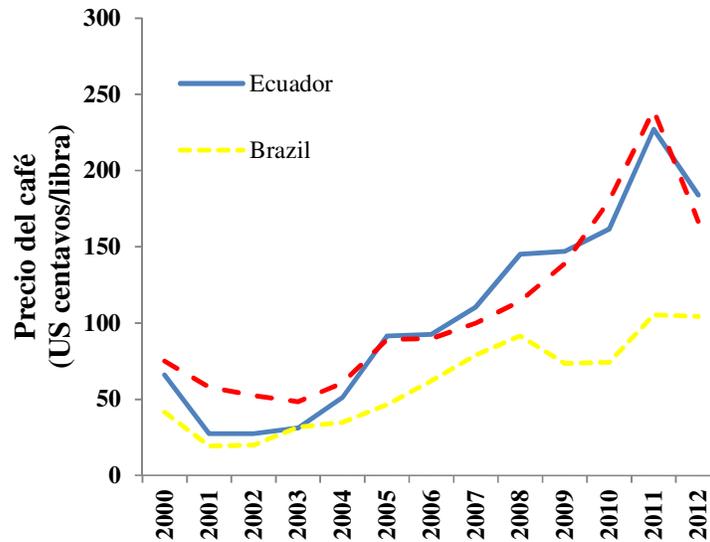


Figura 2: Precios del Café.

Fuente: ICO (2013).

2.4. TRAZABILIDAD DE CAFÉ.

La trazabilidad permite mantener la información de la cadena productiva, desde su origen hasta su venta al consumidor final, permite a los productores la posibilidad de colocar sus productos en mercados específicos más rentables, que exigen la certeza del origen y de las distintas etapas del proceso productivo (Sanchez, 2005). En la producción moderna no se concibe un producto sin sus datos de trazabilidad. No se trata de ninguna excentricidad, puesto que a partir del 2005 la Unión Europea obliga que todos los alimentos deban incorporar en sus etiquetas su origen (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2002).

2.5. ESTRUCTURA DEL FRUTO DE CAFÉ.

El fruto de café está conformada por tres partes principales: exocarpio (piel roja), mesocarpio (pulpa) y en su interior dos granos aplanados el uno contra el otro, recubiertos por un endocarpio (pergamino) (**Figura 3**). Cuando el fruto está maduro, una capa delgada y viscosa de mucílago recubre el pergamino. Por debajo del pergamino los granos están recubiertos de otra membrana más delgada, llamada piel plateada.

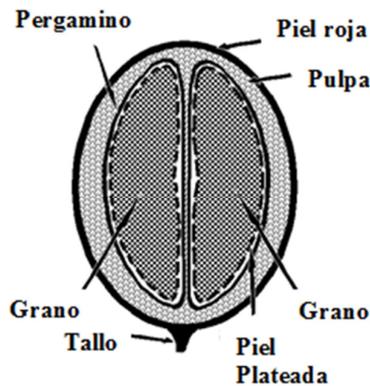


Figura 3: Estructura del fruto de café.

Fuente: FAO (2005)

2.6. POST-COSECHA.

Para obtener un café con mejores características sensoriales, es necesario recolectar sólo frutos maduros; evaluados en función al color de la cereza, considerando un color rojo oscuro como el adecuado (Carvajal Herrera *et al.*, 2011). La recolección se realiza principalmente de forma manual; debido a que se cultiva en zonas montañosas que no permiten mecanizar ésta operación. Una excepción es es Brasil, donde los terrenos son planos y de área grandes que facilitan realizar un proceso mecánico, con alta eficiencia y sin daños a la planta (International Coffee Organization, 2012, Cassia *et al.*, 2013). Posterior a la recolección se debe iniciar inmediatamente con el beneficio, existen dos posibilidades generales (Brando, 2008):

2.6.1. BENEFICIO SECO.

Conocido también como método natural, es el más antiguo, sencillo y requiere poca maquinaria. Se usa para aproximadamente el 90% del café arábico que se produce en el Brasil, para la mayoría del café que se produce en Etiopía, Haití y Paraguay, y también para algunos arábicos que se producen en la India y Ecuador. Casi todo el café robusta se benefician de esta forma. Este método no es práctico en zonas muy lluviosas, en las que la humedad atmosférica es demasiado elevada o en las que llueve con frecuencia durante la cosecha. Este procedimiento no es adecuado para lograr un café de calidad, debido a que normalmente el grano de café adquiere olores desagradables y hay una alta posibilidad de crecimiento de microorganismos (Flament, 2001, International Coffee Organization, 2013). Consta de tres etapas básicas:

a. Limpieza.

En esta etapa se seleccionan los frutos, separando aquellos que están demasiado maduros, dañados y se retira la suciedad, tierra, ramas y hojas.

b. Secado.

El fruto se extienden normalmente sobre grandes patios de cemento, ladrillo o bien sobre mesas de alambre alzadas hasta la altura de la cintura sobre caballetes. A medida que se van secando se les da la vuelta para que todo el café se seque igual. Esta etapa de secado es la importante sobre todo para evitar el desarrollo de toxinas como la Ocratoxina A.

c. Descascarillado.

Mediante una trilladora se retira la pulpa seca junto con el pergamino del grano, a continuación el café está listo para ser tostado o para ser almacenado.

2.6.2. BENEFICIO HÚMEDO.

El método de vía húmeda se usa en general para todos los cafés arábico, a excepción del café de Brasil y en los países productores de arábico citados anteriormente que usan el método de vía seca, se usa rara vez para los robustas. Es mucho más complejo (**Figura 4**), necesita de una infraestructura mayor y cantidades considerables de agua, pero permite conservar las características intrínsecas del café, por lo cual normalmente tiene un mejor precio final. El proceso debe iniciarse antes de completarse 8 horas después de su cosecha y consta de cuatro etapas (Flament, 2001):

a. Boyado.

De igual forma que el método por vía seca, es necesario realizar una separación y limpieza preliminar de las cerezas, esta operación puede hacerse lavando las cerezas en tanques repletos de agua, retirando los frutos vanos que flotan.

b. Despulpado.

Se realiza la eliminación de la pulpa mediante una máquina despulpadora que aprieta las cerezas entre planchas fijas y móviles. El espacio entre las planchas se ajusta para evitar que se dañen los granos.

c. Fermentación.

La fermentación es la etapa siguiente, para lo cual es necesario grandes tanques donde se deposita el grano con mucílago y bajo la influencia de enzimas naturales o adicionadas se oxida parcialmente los azúcares y etanol, ácido láctico, ácido acético y dióxido de carbono. Esta operación necesita constante vigilancia, una incorrecta fermentación puede ocasionar sabores desagradables y un café amargo, esta etapa tiene una duración entre 24 y 36 horas, dependiendo de la temperatura, el grosor de la capa mucilaginosa y la concentración de enzimas. Se produce una disminución del pH hasta aproximadamente 4,5. Culminada la fermentación se lava el café con agua limpia.

d. Secado.

Luego de la fermentación el café pergamino tiene un 57% de humedad aproximadamente, y se debe disminuir la humedad hasta un valor entre 8 a 12%, para lo cual se puede utilizar secadoras mecánicas o con la ayuda del sol (sobre mesas de alambre de malla fina) o una combinación. Después del secado, el café lavado, se almacena y se conserva en esa forma hasta poco antes de que se exporte o tueste (Flament, 2001, PROCAFE, 2004, Vásquez, 2004).



Figura 4: Esquema de los pasos del beneficio húmedo del café.

Fuente: Brando (2008).

En función del tipo de beneficio se producen diferentes cambios en el café (Mazzafera y Purcino, 2005, Fisk *et al.*, 2012). Con beneficio húmedo se obtiene café con mayor cuerpo y acidez, además los cambios químicos que se producen en este beneficio mejoran las características aromáticas del café comparadas con el beneficio seco (Hicks, 2001, Tarzia *et al.*, 2010).

2.7. QUÍMICA DEL CAFÉ.

La química de los componentes aromáticos del café es sumamente compleja y aun no es completamente entendida. Los principales grupos funcionales orgánicos responsables del aroma son ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, alcanos, alquenos, compuesto bencénicos, éteres, furanos, cetonas, lactoanas, componentes fenólicos, piridinas, pirazinas, pirroles, componentes sulfurados, tiazoles y tiofenos (Mancha *et al.*, 2008, Ribeiro *et al.*, 2009). Todos estos componentes se encuentran en proporciones diversas y cada uno aporta al aroma final. Durante el tostado la composición química del café verde cambia drásticamente y cientos de sustancias asociadas con el aroma y sabor son formadas (Flament, 2001). Largos tiempos de tostados producen cafés amargos, mientras que tiempos cortos producen cafés con un aroma poco desarrollado, debido a que algunas reacciones pirolíticas no se pudieron completar (Bröhan *et al.*, 2009).

2.7.1. ALCALOIDES.

La cafeína es el componente más importante de los alcaloides presentes. Pequeñas cantidades de metabolitos de la cafeína también se encuentran presentes, como teofilina y teobromina. Kappeler and Baumann, citado por (Flament, 2001), encontraron que la proporción entre teobromina y teofilina sirve para diferenciar entre café arábica y robusta sin importar el grado de madurez del cerezo. El contenido de cafeína se encuentra entre 1 a 2,5 % en base seca y cambia ligeramente con el grado de madurez de la semilla, es menor en café arábica que en café robusta. La cafeína no posee olor y tiene un amargor que contribuye únicamente en aproximadamente 10 % del total del amargor del café.

2.7.2. PROTEÍNAS Y AMINO ÁCIDOS LIBRES.

Los amino ácidos a pesar de representar únicamente el 1% del café verde, tiene gran importancia debido a la formación de componentes importante en relación al aroma final del café (Flament, 2001).

2.7.3. CARBOHIDRATOS.

Realmente importantes en la formación del aroma, caracterizado principalmente por los componentes de bajo peso molecular y las reacciones de Maillard con los amino ácidos. Los carbohidratos representan alrededor del 50% de la composición del café verde en base seca. La composición es compleja con un rango de poli, oligo y monosacáridos, subdividido en azúcares reductores y no reductores (Flament, 2001).

2.7.4. POLISACÁRIDOS.

Son los carbohidratos más abundantes y son identificados luego de su hidrólisis. Theler citado por (Flament, 2001) considera que el contenido en polisacáridos no es diferente entre Arabia y Robusta. Los polisacáridos se pierden parcialmente (aproximadamente el 30%) por el tostado, vía varios y no bien conocidos mecanismos, deshidratación, formación de complejos enlaces (co polisacáridos, proteínas fragmentos y ácido cloragénico). A diferencia de los azúcares de bajo peso molecular, los polisacáridos (celulosa, pectinas, almidón), no contribuyen a la formación del aroma durante del tostado de café, pero son muy importantes agentes de ligado en la bebidas.

2.7.5. AZUCARES DE BAJO PESO MOLECULAR.

Tressl *et al.* (1973) reporta 0,1% de azúcares reductores totales para café arábica y 0,45% para robusta, principalmente glucosa (0,03 – 0,038 y 0,16 – 0,18 % respectivamente), fructosa (0,023 – 0,030 y 0,19 – 0,21%) y galactosa (0,035 y 0,07 – 0,08 %). Ribosa y manosa también están presente pero en baja concentración. Con el tostado glucosa, fructosa y ribosa desaparecen casi completamente, mientras que galactosa y manosa son transformadas en un 40 – 80% (Flament, 2001).

2.7.6. LÍPIDOS.

De acuerdo a Carisano y Gariboldi, citados por (Flament, 2001), los principales ácidos grasos libres (AGL) en el aceite de café son el ácido linoleico (43- 46%) y ácido palmítico (30 – 35%). Los ácidos oleico, estereárico, eicosanoico y linoleico están también presentes en bajas concentraciones. La presencia de los AGL es evidentemente el más importante factor que afecta la formación del flavor durante el tostado.

2.8. TOSTADO DEL CAFÉ.

En la cadena de procesamiento del café, desde el grano maduro hasta el café tostado, este último es considerado como el paso más importante y relevante. El objetivo es producir olor, sabor, color oscuro y la textura quebradiza que facilite el molido. El tambor del tostador puede ser considerado como un birreactor; con temperaturas comprendidas entre 120 a 220 °C; en el cual se realiza eliminación de agua, cambio de la microestructura y desarrollo de reacciones químicas como Maillard, degradación de Strecker y pirólisis que producen una gran cantidad de compuestos volátiles (Schenker *et al.*, 2002). El grano de café no presenta una fácil transferencia de calor. La transferencia de calor se realiza por conducción, radiación y convección.

Existen muchas maneras de describir el tostado final del café mediante propiedades físicas y químicas como por ejemplo: desarrollo del color, pérdida de peso, pérdida de componentes orgánicos y contenido de agua. También se pueden utilizar métodos indirectos como la relación de amino ácidos, alquilpirazinas y contenido de ácido clorogénico. Pero el color del grano es el indicador más utilizado. Existen muchos componentes en el café, pero se considera que 30 tienen efecto sobre el aroma.

Schenker (2002) encontró que la mayoría de componentes exhiben un alto incremento en la concentración a una temperatura media alta y corto tiempo; y a baja temperatura y largo tiempo. Un tostado excesivo genera un decrecimiento en la concentración de sustancias volátiles, excepto para el hexanal, piridina y dimetil tiosulfito, la concentración de los mismos continúa aumentando (Baggenstoss *et al.*, 2008), por lo cual la composición del café está en función a las condiciones de tostado.

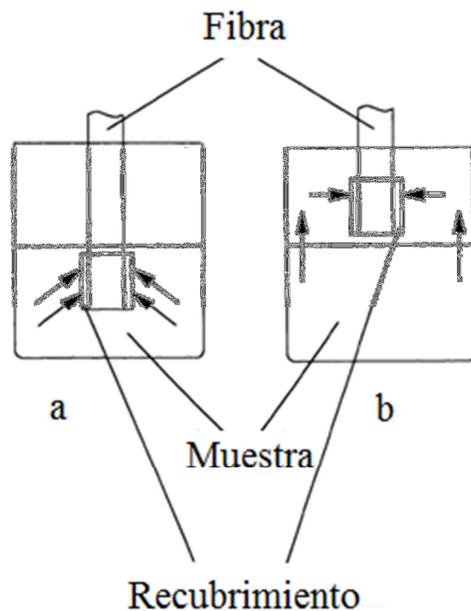
En las investigaciones realizadas por Gonzalez-Rios *et al.* (2007b, 2007a) para identificar el efecto del tratamiento post cosecha sobre el aroma del café, encuentra que al tostar el café se identifican 41 compuesto más que el café verde, lo que permite identificar de forma más clara el efecto de los tratamientos sobre el aroma del café. Costa Freitas y Mosca (1999) encuentran resultados similares en su estudio para caracterizar café según su origen geográfico.

2.9. MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA.

La microextracción en fase sólida (SPME) se ha desarrollado para reemplazar tediosas extracciones, que involucran un sin número de etapas necesarias para la preparación de la muestra. Este proceso consiste en dos etapas: repartición de compuestos

entre la muestra – fibra y la desorción de compuestos concentrados en la fibra dentro del puerto de inyección del cromatógrafo. El rango de compuestos que pueden analizarse es amplio comprenden compuestos volátiles, semi-volátiles e incluso no volátiles. El componente clave es una fibra de sílice fundida, recubierta de una fina capa orgánica polimérica de 10 a 100 μm (Pawliszyn *et al.*, 1997), semejante a la película de las columnas capilares, existen con diferentes características en función del sorbente utilizado y del compuesto de interés, por ejemplo: recubrimientos no polares como el polidimetilsiloxano retienen hidrocarburos muy bien, fibras polares como el poliacrilato y carbowax extraen componentes polares como fenoles y ácidos carboxílicos. Otra diferencia entre estas fases muy comúnmente usadas es que la primera es un líquido, por lo cual la extracción es mucho más rápida y el poliacrilato es un sólido (Pawliszyn *et al.*, 1997).

La absorción de compuestos se puede realizar de dos maneras diferentes en función del tipo de muestra (Figura 5), si esta no presenta compuestos que puedan contaminar la fibra, es conveniente realizarlo por contacto directo (por ejemplo cuando se quiere extraer compuestos del agua purificada envasa), pero si la muestra que se quiere analizar es un sólido o un líquido muy contaminado (por ejemplo agua residual), es necesario colocar la muestra en un vial (dejando un espacio de cabeza), luego por calentamiento se deja que el espacio de cabeza se enriquezca y finalmente la fibra extrae los compuestos que migraron al espacio de cabeza (Harris, 2007). El muestreo directo reduce la vida útil de la fibra, se considera que esta puede durar de 75 a 100 extracciones. La extracción es considerada completa cuando el compuesto ha alcanzado un equilibrio de distribución entre la matriz y la película de la fibra (Pawliszyn *et al.*, 1997).



- a) Contacto directo.
b) Espacio de cabeza.

Figura 5: Formas de utilización de la fibra.

Fuente: Pawliszyn *et al.* (1997).

La eficiencia de extracción depende del tiempo de absorción y/o adsorción, de la temperatura, del volumen de espacio de cabeza, etc. Para mejorar la sensibilidad del método se puede proceder de la siguiente manera:

- Aumentar el grosor del recubrimiento de la película lo que conlleva también un tiempo mayor para alcanzar el equilibrio.
- Modificar el tipo de fibra por una con mayor afinidad.
- Aumentar la temperatura de uso, con la precaución que puede limitar la extracción de compuestos con punto de ebullición bajos.

El método SPME, involucra una serie de pasos, consiste en insertar la fibra en la muestra acuosa o en el espacio de cabeza según corresponda, presionado el émbolo se pone en contacto la fibra con la muestra, se realiza la extracción y cuando se alcance el equilibrio, se retrae el émbolo y finalmente mediante la aplicación de calor se logra la desorción de compuestos en el puerto de inyección, donde ingresan a la columna transportados por el gas de arrastre, durante la etapa final la fibra queda lista para ser reusada (Pawliszyn *et al.*, 1997, Harris, 2007). La fibra es extremadamente frágil, por lo cual se han diseñado un dispositivo tipo jeringa para su manejo (**Figura 6**). Al contraer el

émbolo la fibra es protegida dentro de la aguja, durante el almacenamiento y penetración de la septa en el puerto de inyección (Pawliszyn *et al.*, 1997).

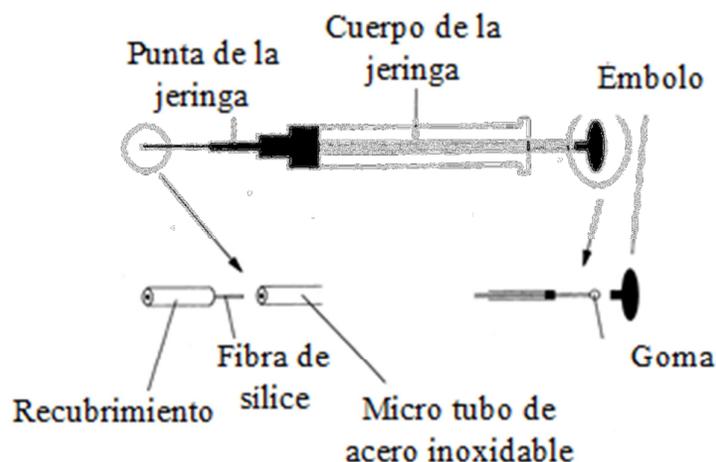


Figura 6: Fibra de microextracción.

Fuente: Pawliszyn *et al.* (1997).

La cantidad de compuesto extraído es independiente del volumen de la muestras, y es posible transferir todo al instrumento analítico, en contraste con la técnica de extracción líquido – líquido en la cual sólo es posible transferir el 1/100 o 1/1000 (Pawliszyn *et al.*, 1997).

2.10. EXTRACCIÓN MEDIANTE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS.

El potencial de los fluidos supercríticos para la extracción de compuestos fue mencionado por primera vez por Sozel (1978), el mismo que la utilizó para realizar la extracción de cafeína del grano de café (Pradip y Bhaduri, 2009). En 1822 el Baron Charles Cagniard fue el primero en definir un fluido supercrítico como un estado en el cual el líquido y vapor son indistinguibles. Una sustancia a temperatura y presiones superiores a las condiciones críticas se denomina fluido supercrítico. La temperatura crítica de una sustancia es la temperatura por encima de la cual no puede existir en fase líquida, independiente de la presión. Los fluidos supercríticos tienen densidades, viscosidades y otras propiedades que son intermedias entre las características de esa sustancia en estado gaseoso y líquido (Pradip y Bhaduri, 2009).

Entre las principales propiedades de los fluidos supercríticos es su gran capacidad de disolver moléculas grandes no volátiles, los compuestos disueltos en ellos son

fácilmente recuperables siendo solo necesario que las disoluciones se equilibren con la atmósfera a temperaturas relativamente bajas, la difusión de los solutos en ellos son un orden de magnitud más altos que en los líquidos, las viscosidades son de un orden de magnitud más bajas que las de los disolventes líquidos, además son baratos, inocuos y en su mayoría no son sustancias tóxicas. La velocidad de transferencia de masa entre la matriz, muestra y un fluido de extracción se determina por la velocidad de difusión de la especie en el fluido y por la viscosidad del fluido. A mayor velocidad de difusión y más reducida viscosidad la transferencia de masa sería mayor. El poder disolvente de un fluido supercrítico puede modificarse por los cambios en la presión y, con menor alcance, en la temperatura. Muchos de los fluidos supercríticos son gases a temperatura ambiente, un fluido supercrítico puede ser separado simplemente por descenso de la presión.

El dióxido de carbono ha sido el fluido de elección en la mayoría de los estudios, disolvente excelente para especies no polares, tales como alcanos y terpenos, y es un medio de extracción relativamente bueno para especies moderadamente polares (Skoog *et al.*, 2005), adecuado por su precio, se puede disponer con alta pureza, es químicamente estable, inerte, no inflamable, no corrosivo y tiene un punto crítico relativamente bajo. El CO₂ en condiciones supercríticas posee prácticamente propiedades lipofílicas. Es un solvente altamente selectivo cuyas propiedades se pueden controlar modificando la temperatura y presión del proceso de extracción. El dióxido de carbono posee condiciones supercríticas cuando es sometido a presiones superiores a 7,3 MPa y temperaturas superiores a 31,2 °C (Marsili, 2002).

2.11. DESTILACIÓN EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA.

Técnica descrita por primera ocasión por Nickerson y Likens (1965), el equipo consiste en dos brazos conectados a dos balones, el vapor que proviene de la muestra asciende por la sección B-B' y se condensa mediante el dedo frío (**Figura 7**), los vapores del solvente utilizado (por ejemplo diclorometano); el cuál debe ser inmisible con la sustancia en la cual se encuentra disuelta la muestra (generalmente agua), asciende por la sección A-A' y se condensan. Los condensados se encuentran en la sección central C, donde se realiza la extracción, éste es un proceso cíclico continuo, donde se suman nuevos condensados constante, lo que conlleva el regreso de cada solvente a su respectivo balón, el solvente utilizado para la extracción acarrea los compuestos extraídos, consiguiéndose que los compuestos se concentren en el balón A. Finalmente se separa las dos fases

(diclorometano y agua) que se encuentran en la sección C, se puede deshidratar el solvente utilizando Na_2SO_4 anhidro (Bononi *et al.*, 1998) y si es necesario se concentra mediante un Kuderna-Danish con columna de Zinder (Nickerson y Likens, 1965, Sinyinda y Gramshaw, 1998).

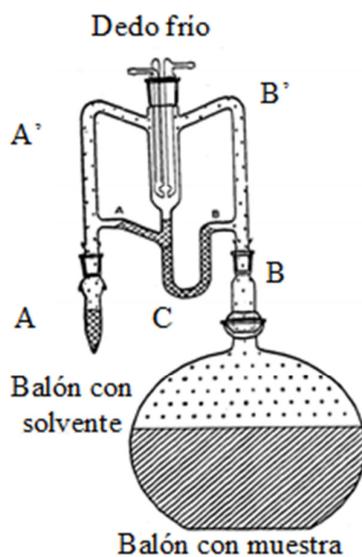


Figura 7: Aparato de destilación – extracción.

Fuente: Nickerson y Likens (1965)

Entre las ventajas de este sistema se tiene:

- Operación sencilla, extrae los compuestos y los concentra.
- Pequeña cantidad de solvente es necesaria.
- Recuperación de componentes aromáticos es alta.
- El sistema puede operar a reducidas presiones para evitar el daño térmico (Marsili, 2002).

Según Bouseta y Collin (1995), después de 45 min, la eficiencia de extracción del sistema disminuye significativamente para la mayoría de componentes volátiles (benzaldehído y monoterpenos).

2.12. CROMATOGRAFÍA.

La cromatografía es un poderoso método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. La cromatografía en columna fue inventada y denominada así, a principios del siglo XX por el botánico ruso Mikhail Tswett. El empleó la técnica para separar varios pigmentos vegetales, tales como clorofilas y xantofilas, haciendo pasar disoluciones de estos compuestos a través de una columna de vidrio rellena con carbonato de calcio finamente dividido. Las especies separadas aparecían como bandas coloreadas en la columna lo que justifica el nombre, chroma del griego que significa color y graphein que significa escribir (Skoog *et al.*, 2005).

En cromatografía de gases la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de la columna, la elución se produce por el flujo de un gas inerte, a diferencia de la mayoría de cromatografías, la fase móvil no interacciona con las moléculas del compuesto, su única función es la transportar el compuesto a través de la columna (Skoog *et al.*, 2005).

La fase estacionaria puede ser un líquido o un gas, la fase estacionaria es un líquido impregnado en una columna capilar o una capa sólida empacada en una columna. El reparto de soluto entre la fase estacionaria y móvil provoca la separación. El fluido que entra en la columna se llama eluyente y el fluido que sale se llama eluato, este proceso de paso de un líquido o un gas a través de la columna se llama elución.

En cromatografía de gases los compuestos son arrastrados por un gas portador, que puede ser helio, nitrógeno o hidrógeno, la columna debe estar lo suficiente caliente para que los compuestos alcancen una presión de vapor de tal forma que eluyan en un tiempo corto. El detector se mantiene a una temperatura mayor que la columna con lo que se busca que los compuestos permanezcan en su estado gaseoso.

Existen infinidad de fases estacionarias, para elegir una u otra se utiliza el criterio de lo semejante diluye a lo semejante, en definitiva si los compuestos de interés son polares debemos utilizar una columna polar. Hay que considerar que a medida que la columna envejece quedan al descubierto los grupos silanol (Si-O-H) y aumentan las colas, disminuyendo la eficiencia de la columna.

Un cromatograma es un gráfico que representa la respuesta del detector en función del tiempo de elución. El tiempo que un componente demora desde el momento que es inyectado hasta que es detectado se denomina tiempo de retención. El tiempo de retención ajustado de un soluto es el tiempo de retención del soluto menos el tiempo de retención de

un disolvente no retenido. La eficacia de separación de dos compuestos se mide en función al tiempo retención de cada uno y al ancho del pico (Harris, 2007).

2.13. ESPECTROMETRÍA DE MASAS.

La espectrometría de masas consiste en ionizar las moléculas gaseosas, acelerarlas en un campo eléctrico y luego separarlas de acuerdo a sus masas. El proceso de ionización suministra suficiente energía para que las moléculas se rompan en diversos fragmentos.

El funcionamiento de un espectrómetro de masas de cuadrupolo consiste en ionizar los eluatos; que pasan por un conector caliente, a través de una cámara de ionización de impacto, que se mantiene a un alto vacío. Los iones son acelerados con un potencial de 5 – 15 V antes de pasar al separador de cuadrupolo, el separador consiste en cuatro barras metálicas paralelas a las que se les aplica un voltaje constante y un voltaje oscilante de radiofrecuencia. El campo eléctrico desvía los iones, haciéndoles seguir trayectorias diversas a medida que van de la cámara de ionización hacia el detector y permitiendo que sólo llegue al detector los que tienen una relación (m/z) determinada, los demás iones chocan con los cilindros y se pierden antes (Harris, 2007).

El resultado se representa en un espectro de masas que consiste en una representación de la abundancia relativa de cada fragmento que choca con el detector, el eje de las abscisas corresponde a la relación masa/carga (m/z), pero la mayoría de los iones tienen una sola carga de modo que m/z es equivalente a la masa del ion en unidades de masa atómica.

2.14. ÍNDICE DE KOVATS.

El índice de retención fue propuesto por primera vez por Kovats en 1958 como un parámetro para identificar solutos a partir de los cromatogramas (Skoog *et al.*, 2005). El índice de retención relaciona el tiempo de retención de un soluto con los tiempos de retención de los alcanos lineales. El tiempo de retención para un soluto dado puede deducirse del cromatograma de una mezcla del soluto con al menos dos alcanos normales (de cadena lineal), que tengan tiempos de retención tal que el soluto se encuentre entre ellos (Skoog *et al.*, 2005, Harris, 2007).

El índice de retención de Kovats de un alcano lineal es igual a 100 veces su número de carbonos, por ejemplo para el octano sería 800, sin considerar el relleno de la columna, la temperatura u otras condiciones cromatográficas (Skoog *et al.*, 2005, Harris, 2007).

2.15. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES.

El método estadístico de análisis de componentes principales (PCA) es ampliamente usado para el análisis de resultados químicos y evaluación de calidad de alimentos. El objetivo de PCA es reducir la alta dimensionalidad de los datos sin pérdida significativa de información convirtiéndolos a un pequeño set de información de factores ortogonales de fácil interpretación (Zambonin *et al.*, 2004). En definitiva PCA, es designado para transformar las variables originales en unas nuevas, con las cuales se pueda clasificar, encontrar similitudes y correlacionar los resultados obtenidos (Korhonová *et al.*, 2009). Mediante un gráfico de dos ejes se representan normalmente los dos componentes principales con lo cual se logra visualizar de mejor manera los resultados obtenidos. Por otra parte existe la posibilidad que variables, en su mayoría de baja concentración, causen un resultado confuso o erróneo, una solución para evitar esto, es utilizar el criterio de un experto para eliminar aquellas variables que proporcionen resultados erróneos (Korhonová *et al.*, 2009).

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Instrumental del Departamento de Química y laboratorio de catación de café del Departamento de Ciencias Agropecuarias y Alimentos, ambos pertenecientes a la Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.

3.2. MATERIA PRIMA-INSUMOS.

Se analizó café arábico variedad Típica (*Coffea arabica* L), proveniente de la parroquia Vilcabamba con una altura de 1594 msnm (sur 04°14'35,1'' y oeste 079°13'21,0''), perteneciente al cantón Loja, provincia Loja, seleccionado por su creciente demanda debido a sus condiciones de origen. Se adquirió la materia prima directo al caficultor con la finalidad de garantizar el tipo de variedad.

Debido a que los caficultores cosechan frutos verdes y maduros, se realizó una selección, en función al color del cerezo (Brando, 2008). La medida del color se la realizó por medio de las cartas de color de Royal Horticultural Society London (1986) (Cárdenas, 2007) (Figura 8).



Figura 8: Fotografía del color del café cereza seleccionado.

En la Figura 9 se presenta el diagrama de flujo de preparación de materia prima.

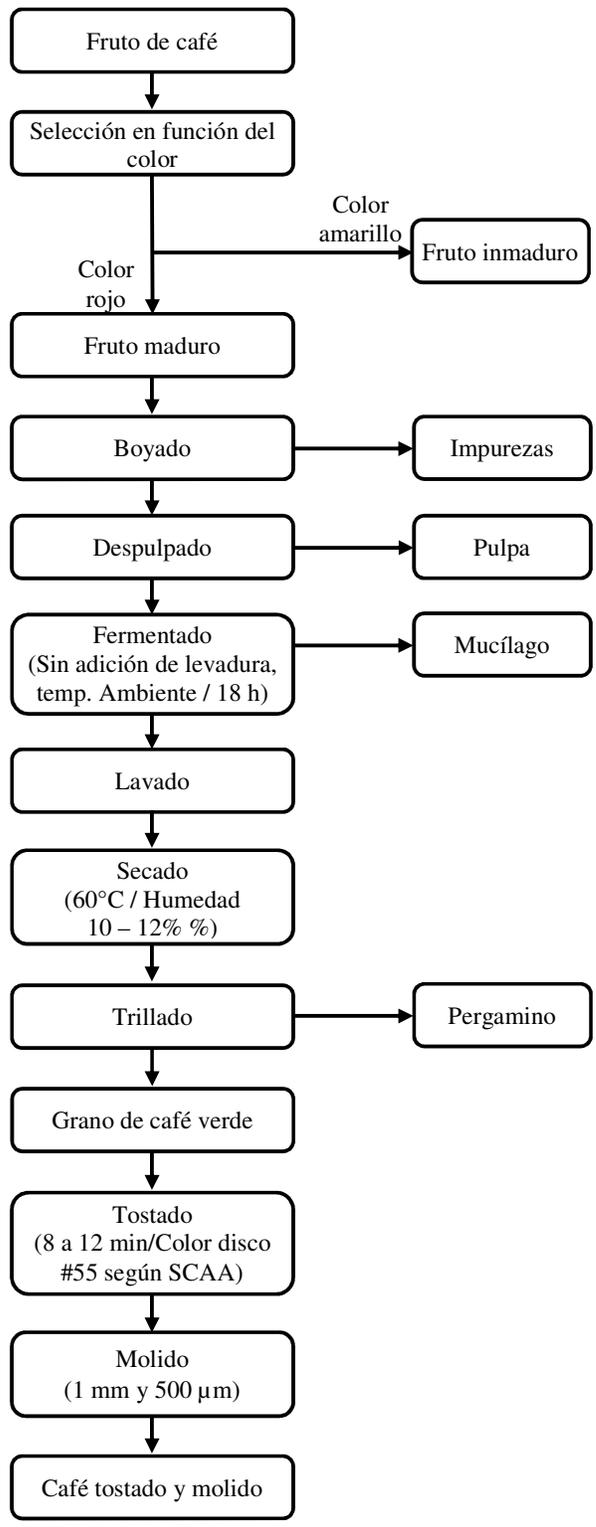


Figura 9: Diagrama de flujo de preparación de materia de materia prima.

Se caracterizó el grado de madurez de los frutos de café mediante la cuantificación de acidez y sólidos solubles mediante las metodologías AOAC 942.15 Acidez titulable en derivados de frutas (Anexo A) y AOAC 932.12 Sólidos solubles en frutas y derivados respectivamente (AOAC, 2005). Se determinó la humedad de la pulpa del fruto de café mediante AOAC 920.151 Sólidos totales en frutas y derivados (AOAC, 2005).

Se realizó un beneficio húmedo como tratamiento post cosecha de acuerdo al protocolo de Brando (2008). Para el despulpado se utilizó una despulpadora mecánica FIRMAR. La fermentación del grano se realizó a temperatura ambiente (Figura 10) sin adición de levadura, el punto final se determinó en función al grado de pegajosidad (Castañeda, 1997, Brando, 2008), tomando este proceso alrededor de 18 horas. A continuación se eliminó el mucílago mediante lavado con agua potable. La deshidratación se realizó en estufa a 60 °C (Belitz *et al.*, 2009), hasta obtener una humedad comprendida entre el 10 al 12% (Brando, 2008, Specialty Coffee Association of America, 2009a).



Figura 10: Fotografía de la etapa de fermentación del café.

El pergamino se retiró utilizando una trilladora. El grano verde se clasificó en función del tamaño (Franca *et al.*, 2009) mediante el juego de zarandas Penagos Clausen utilizando los tamices del 12 a 18. Se trabajó con la fracción separada en las zarandas 15 (5,95 mm) a 17 (6,75 mm). Se determinó la humedad del café verde mediante el método AOAC 920.151 Sólidos totales en frutas y derivados (AOAC, 2005).

El tostado se realizó siguiendo el protocolo de Specialty Coffee Association of America (2009a), que se fundamenta en tostar el grano hasta obtener un color igual al disco #55 perteneciente a la escala Roast Color Classification System (Staub, 1995), en un lapso de tiempo de 8 a 12 minutos. En el tostador de laboratorio Quantik, se fijó las siguientes condiciones: temperatura de partida (T_p) = 150 °C, temperatura de crack (T_c) = 180 °C, temperatura final (T_f) = 190 °C, potencia de para alcanzar T_p = 220, potencia para

alcanzar T_c desde $T_p = 150$ y potencia para alcanzar T_f desde $T_c = 50$. Cuando la temperatura del tambor se estabilizó en $150\text{ }^\circ\text{C}$ se cargó 100 g del café y se mantuvo por 10 minutos ± 30 segundos, finalizado el tostado se dejó reposar el grano por un lapso no menor a 8 horas ni mayor a 24 horas, pasadas las primeras 8 horas se almacenó el grano en fundas herméticas (Specialty Coffee Association of America, 2009b).

Se trituro el café tostado utilizando un molino de disco abrasivo Bunn, se tamizó y se trabajó con la porción comprendida entre 1 mm y $500\text{ }\mu\text{m}$. Inmediatamente de moler el café, se realizó la extracción de los compuestos volátiles.

En las muestras preparadas se cuantificó humedad, acidez y sólidos solubles siguiendo AOAC 979.12 Humedad en café tostado, AOAC 920.92 Acidez Total en café tostado y AOAC 973.21 Sólidos solubles en café tostado respectivamente (AOAC, 2005).

3.3. EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS.

Se evaluó tres métodos de extracción: microextracción en fase sólida (SPME), dióxido de carbono en condiciones supercríticas (FSC) y destilación y extracción simultánea (DES). Además en el método SPME se evaluaron cuatro fibras, en la Figura 11 se presenta el diagrama de flujo del proceso de extracción e identificación.

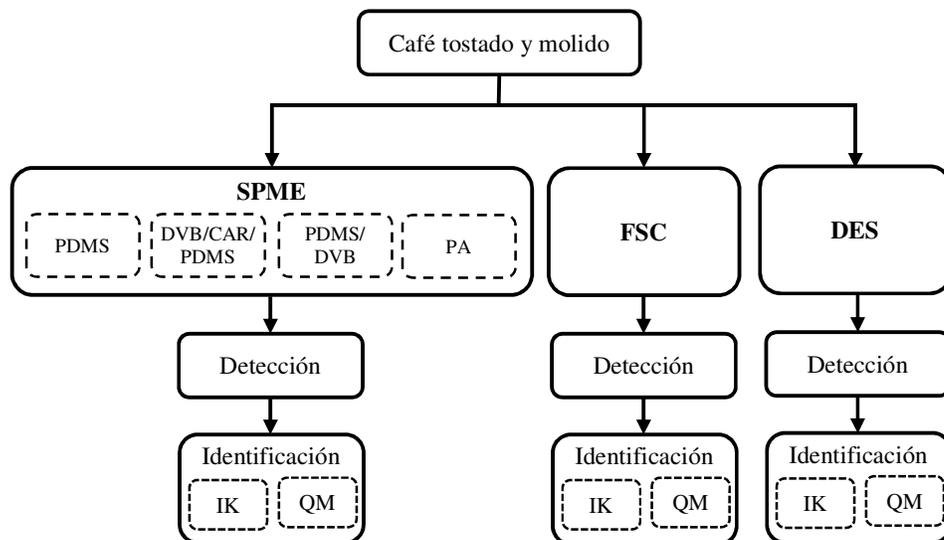


Figura 11: Diagrama de flujo del proceso extracción e identificación.

3.3.1. MICROEXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPME).

Se evaluaron cuatro fibras de microextracción en fase sólida: una apolar de polidimetilsiloxano (PDMS) de $100\text{ }\mu\text{m}$ de ancho de película, dos bipolares

divinilbenzeno/polidimetilsiloxano (PDMS/DBV) 60 μm y divinilbenzeno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/20 μm y una polar Poliacrilato (PA) 85 μm todas de Supelco (Bellafonte, PA, USA), previo a su uso fueron acondicionadas de acuerdo a las instrucciones del fabricante.

Se colocaron 2,9 g de café tostado y molido en un vial ámbar de 15 ml, se realizó el enriquecimiento del espacio de cabeza mediante un calentamiento a 70 °C por 10 min; se expuso la fibra por 40 minutos a 70 °C. La desorción de compuestos se lo realizó en el puerto de inyección del cromatógrafo (tipo “splitless”) a 250 °C por 10 minutos (Franca *et al.*, 2009).

3.3.2. DIÓXIDO DE CARBONO EN CONDICIONES SUPERCRÍTICAS (FSC).

La extracción fue realizada siguiendo la metodología descrita por Stashenko *et al.* (1996, 2000, 2009) utilizando un extractor Soxhlet de altas presiones (J&W Scientific, Folsom, CA). En la cámara superior del equipo Soxhlet se colocaron 20 g de café tostado y en la cámara de extracción 200 g de hielo seco (CO_2) comercial (fuera del equipo Soxhlet armado) (Figura 12), como fuente de fluido supercrítico (Stashenko *et al.*, 2003).



Figura 12: Fotografía del extractor Soxhlet de altas presiones.

Una vez armado el equipo se lo colocó en un baño de agua a 40 °C y se mantuvo la presión a 1200 psi. Luego de dos horas de recirculación del CO₂ el sistema se enfrió hasta que la presión descienda a 500 psi, alcanzado este valor se despresurizó muy lentamente y desarmó el sistema. Utilizando 2 ml de diclorometano se extrajo los compuestos impregnados en las paredes del balón. Se inyectó 1 µl de extracto en el GC con las condiciones descritas en 3.4.

3.3.3. DESTILACIÓN Y EXTRACCIÓN SIMULTÁNEA (DES).

La destilación simultánea con vapor y extracción líquido-líquido fue llevada a cabo en la micro-versión del aparato de Nickerson y Likens (1965), diseñado por Godefroot *et al.* (1981) (Figura 13), mediante la metodología descrita por Stashenko *et al.* (1996, 2003). En un balón de 100 ml (A) se pesaron 20 g de café tostado y se adicionaron 15 ml de agua destilada, en el balón de 5 ml (B) se colocaron 3,5 ml de diclorometano (grado cromatografía, Merck). Antes de iniciar la extracción se adicionó 1,5 ml de diclorometano y 1,5 ml de agua destilada en C con una jeringa (Godefroot *et al.*, 1981).

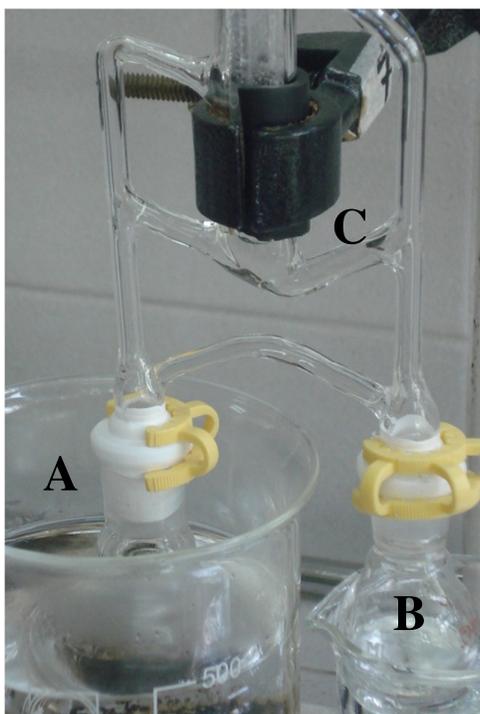


Figura 13: Fotografía del equipo de micro destilación extracción simultánea.

La destilación se realizó por dos horas, manteniendo a 100 °C el balón A y a 45 °C el balón B (Solís *et al.*, 2007). Finalizado el tiempo de destilación, la extracción se realizó

por 15 minutos más, se separó por decantación los solventes que se encontraban en C. Se inyectó 1 µl de extracto en el GC con las condiciones descritas en 3.4.

3.4. DETECCIÓN.

La separación de compuestos se realizó en una columna capilar de polímero de fenil arileno equivalente a (5% fenil)-polidimetilsiloxano con un flujo de 1 ml/min de helio con pureza igual o superior a 99,999 % (Indura, Ecuador), con las condiciones cromatográficas descritas por Franca *et al.* (2009): 40 °C (5 min) hasta 180 °C con una pendiente de 3 °C/min, luego a 250 °C (5 min) con pendiente de 10 °C/ min. Empleando un cromatógrafo de gases (GC) (Agilent 6890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) equipado con espectrómetro de masas (Agilent 5973N, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA).

3.5. IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS.

La identificación de compuestos se realizó mediante dos opciones:

3.5.1. BIBLIOTECA WILEY.

Para la identificación se utilizó la biblioteca Wiley, que dispone de 390000 espectros y 316934 compuestos, se consideró identificado un compuesto, si el índice de similitud (QM) es mayor a 80. Cálculo que realiza el software en función al grado de coincidencias entre el espectro obtenido y el espectro de la biblioteca para cada compuesto (Agilent Technologies, 2000).

3.5.2. ÍNDICE DE KOVATS.

Mediante el índice de Kovats (IK), utilizando como patrón una mezcla de hidrocarburos (C₈ a C₂₂). El IK para un soluto puede deducirse del cromatograma del soluto y el cromatograma de una serie de alcanos, ambos obtenidos bajo las mismas condiciones cromatográficas (temperatura, flujo, columna, etc.). Para calcular el IK como primer paso se identificó los alcanos con tiempo de retención menor ($t_{r(n)}$) y mayor ($t_{r(N)}$) al tiempo de retención del soluto de interés (Skoog *et al.*, 2005, Harris, 2007), estos datos se rempazan en la siguiente ecuación:

$$IK = 100 * \left[n + (N - n) \frac{\log t_{r(\text{desconocido})} - \log t_{r(n)}}{\log t_{r(N)} - \log t_{r(n)}} \right]$$

Donde:

- n → Número de carbonos del alcano más corto.
- N → Número de átomos de carbono del alcano más largo.
- $t_{r(n)}$ → Tiempo de retención del alcano más corto.
- $t_{r(N)}$ → Tiempo de retención del alcano más largo.

Los IK obtenidos se compararon con los IK de bibliografía y se consideró como identificado cuando este no varía en ± 20 con el valor de bibliografía.

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis se realizó en base a los siguientes compuestos marcadores: ácido acético, 2-metil pirazina, furfural, alcohol 2-furfural, 2.6-dimetil pirazina y 5-metil furfural (Korhonová *et al.*, 2009). Usando el paquete estadísticos MINITAB versión 14, realizando pruebas de análisis de varianza y análisis de componentes principales (PCA).

Se consideró como hipótesis nula: No existe diferencia significativa en la concentración de ácido acético, 2-metil pirazina, furfural, alcohol 2-furfural, 2.6-dimetil pirazina y 5-metil furfural volátil al utilizar diferentes métodos de extracción. Considerando los diferentes métodos de extracción como variables: Microextracción en fase sólida, CO₂ en condiciones supercríticas y destilación extracción.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. BENEFICIO HÚMEDO DEL CAFÉ Y TOSTADO.

Uno de los principales problemas en la calidad del café ecuatoriano se da en las etapas de cosecha y post-cosecha, en la **Figura 14** se puede observar un típico café cereza cosechado por los caficultores de Vilcabamba; se evidencia que no se tiene cuidado en cosechar sólo frutos maduros, debido a la falta de mano de obra y su elevado costo, por lo cual los caficultores no realizan una cosecha en función al grado de madurez perjudicando la calidad del café (Mazzafera, 1999, Sandoval y Prieto, 2007). Brando (2008) indica que para obtener un café de alta calidad la cosecha debe realizarse sólo de los frutos maduros, lo que involucra visitar cada árbol para su cosecha sobre 10 ocasiones por temporada.



Figura 14: Fotografía del café cosechado por caficultores de Vilcabamba.

Se realizó una selección como primer paso del tratamiento post cosecha, eliminando los frutos verdes y sobre maduros (Sandoval y Prieto, 2007), la selección provocó una eliminación del 47 por ciento de café cereza. El color más representativo del café cereza seleccionado fue el Orange-Red Group N34-A de acuerdo a las cartas de color (Royal Horticultural Society, 1986), similar al color rojo encontrado por Carvajal *et al.* (2011) y Sandoval y Prieto (2007) para café arábico.

El café cereza a pesar de tener una coloración característica de un café maduro, la acidez encontrada equivale a un gasto de $8,3 \pm 0,4$ ml de NaOH 0,1 N necesario para neutralizar 100 g de pulpa y sólidos solubles de $10,7 \pm 0,1$ por ciento, son valores menores a los indicados por Marín *et al.* (2003) para café arábico maduro con 217 días desde la

floración (DDF) cultivado a una altitud de 1400 msnm, de 11,4 ml de NaOH 0,1 N por 100 g para acidez y 18 por ciento para sólidos solubles. Se debe considerar que la acidez del café depende de factores como fertilización, altura, etc.

La pulpa de café tuvo una humedad de $84,0 \pm 0,1$ por ciento, superior a la indicada por Marín *et al.* (2003) de 69,7 por ciento para café maduro (217 DDF), el estudio de Marín encuentra que este valor para café maduro es significativamente mayor al compararlo con café verde (182 DDF) y sobremaduro (224 DDF) con valores de 66,36 y 66,59 por ciento respectivamente. La baja productividad del café de Ecuador menor a 5 a 6 quintales /hectáreas por año puede ser debida a la alta humedad del fruto encontrada.

Resultado del beneficio se obtuvo un café verde con una humedad de $11,3 \pm 0,2$ por ciento, este valor cumple con los requisitos para café verde según normas INEN 285 (2006b) y SCCA (2009b), y similar al valor encontrado de 11,4 por ciento por Mazzafera (1999) para café sin defectos. El tostado se realizó cumpliendo con lo establecido en la norma para catado de cafés especiales SCCA (2009a), las temperaturas alcanzadas en el tostador se indican en el Cuadro 1. Para todas las muestras (100 g) se necesitó 10 minutos ± 30 segundos para alcanzar un color del grano de 55 según la escala de Roast Color Classification System (Staub, 1995), partiendo con una temperatura de 150 °C en el tambor, se utilizó siempre el mismo tambor, el café tostado tuvo una disminución del peso del $15,2 \pm 0,6$ por ciento, este valor se encuentra en el rango indicado por Belitz *et al.* (2009) de 11 a 20 por ciento. El café nunca superó los 220 °C donde el grano desprende aceite. Los valores de humedad y sólidos solubles del café tostado, cumplen con los requisitos de las normas INEN 1123 (2006a) y COVENIN 46 (1995) con valores de $4,3 \pm 0,2$ por ciento y $24,1 \pm 1,0$ por ciento expresado en base seca respectivamente.

Cuadro 1: Rampa de temperatura de tostado.

Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	128 \pm 5
2	134 \pm 7
3	144 \pm 8
4	152 \pm 9
5	159 \pm 14
6	172 \pm 10
7	184 \pm 11
8	190 \pm 8
9	194 \pm 1
10	194 \pm 5

n = 3

Franca *et al.* (2005) indican que la acidez de café disminuye considerablemente con el tostado y manifiestan que la calidad sensorial depende de esta. La acidez del café tostado equivale a un gasto de $194 \pm 6,2$ ml de NaOH 0,1 N necesario para neutralizar 100 g, muy próxima a los valores indicados por Parizzi (2005) de 180 a 220 ml de NaOH 0,1 N por cada 100 g.

4.2. EXTRACCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS.

En la presente investigación se utilizaron tres métodos de extracción SPME, FSC y DES, dentro del método SPME se evaluó cuatro fibras con características diferentes en función a su polaridad y mecanismo de extracción. Se consideró identificado un compuesto en función al índice de Kovats (IK) cuando el valor encontrado estaba entre IK bibliografía ± 20 y respecto al índice de similitud (QM) si el valor era superior a 80. En base a estos criterios en el Cuadro 2 se muestran la cantidad de compuestos identificados.

Cuadro 2: Cantidad de compuestos identificados mediante el IK, QM y por ambos.

Método		IK	QM	IK y QM
SPME	FIBRAS PDMS	23	15	13
	PDMS/DVB	31	27	21
	DVB/CAR/PDMS	36	37	25
	PA	22	23	15
DES		42	45	34
FSC		49	54	39

Se debe considerar que existen compuestos (Cuadro 3) como el 2-metilpirazina que es identificado con IK y QM para todos los métodos, menos con el QM del método SPME fibra PDMS, el furfural formato que es identificado con un QM de 83 mediante un extracción FSC, pero no cumple el criterio para el método SPME fibra DVB/CAR/PDMS y DES con QM de 80 y 64 respectivamente. El 2,5 dimetil-3(2H)-furanona es identificado cuando se extrae con el método SPME fibras PDMS/DVB, PA y método DES, pero no es identificado con el método SPME con las fibras PDMS y DVB/CAR/PDMS, y no es detectado con FSC. El 2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-Piran-4-ano es identificado con IK para SPME fibra PDMS/DVB y con QM para SPME fibras DVB/CAR/PDMS y PA. En la Figura 15 se visualiza el número de compuestos que fueron extraídos pero que no identificados. Y en el Cuadro 3 se muestran el IK de bibliografía, IK del presente estudio y QM para todos los métodos de extracción evaluados.

Cuadro 3: Identificación de compuestos mediante Índice de Kovats e Índice de coincidencia.

#	Nombre del compuesto	CAS no.	IK (QM)				DES	FSC	IK (bibliografía)		
			SPME						Valor	Columna	Referencia
			PDMS	PDMS/ DVB	DVB/CAR/PD MS	PA					
1	Acetaldehído	75-07-0					599 (50)	500	DB-5	(Qian y Reineccius, 2003)	
2	Ácido acético	64-19-7	642 (84)	645 (91)	666 (91)	662 (91)		682	SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	
3	1-hydroxy-2-propanona	116-09-6			679 (42)		683 (47)	682 (64)	652	OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)
4	2-metilbutanal	96-17-3					684 (78)		658	SE-54	(Rembold <i>et al.</i> , 1989)
5	3-metilbutanal	590-86-3			697 (35)		679 (93)	699 (74)	645	OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)
6	2-pentanona	107-87-9					694 (10)		687	SE-54	(Rembold <i>et al.</i> , 1989)
7	2,3-pentanodiona	600-14-6					700 (72)		701	HP-5MS	(Engel <i>et al.</i> , 2002)
8	Ácido propanoico	79-09-4		693 (76)	713 (90)	705 (91)			668	RSL-200	(Jirovetz <i>et al.</i> , 2002)
9	3-hidroxi-2-butanona	513-86-0			707 (43)		712 (86)	710 (64)	713	DB5-MS	(Chen <i>et al.</i> , 2009)
10	Metilciclohexano	108-87-2						727 (90)	713	SE-54	(Rembold <i>et al.</i> , 1989)
11	3-metil-3-buten-1-ol	763-32-6					735 (43)		705	CP-Sil-5CB	(Pino y Marbot, 2001)
12	Pirazina	290-37-9			737 (80)		737 (90)	738 (72)	734	BPX-5	(Machiels <i>et al.</i> , 2003)
13	3-penteno-2-ona	625-33-2					741 (64)		715	DB-1	(Takeoka <i>et al.</i> , 1996)
14	Piridina	110-86-1	752 (91)	750 (91)	747 (94)	749 (81)	748 (94)	748 (91)	736	OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)
15	No identificado				768 (na)						
16	1-hidroxi-2-butanona	5077-67-8				768 (49)	771 (58)	769 (49)	nd		
17	3-metil-2-buten-1-ol	556-82-1					779 (87)		778	DB-5	(Adams, 1995)
18	3-hexanona	589-38-8					786 (64)		783	DB-5	(Joffraud <i>et al.</i> , 2001)
19	2,4-dimetil-3-pentanona	565-80-0					788 (58)		783	OV-101	(Menut <i>et al.</i> , 1995)
20	2,3-Dihidroxi-butano	513-85-9						797 (86)	769	DB-5	(Adams, 1995)
21	Hexanal	66-25-1						802 (91)	800	HP-5MS	(Juliani <i>et al.</i> , 2004)
22	2-metil-3-Pentanol	565-67-3					804 (72)		772.28SE-54		(Fatemi, 2002)

Cuadro 3 continuación.

#	Nombre del compuesto	CAS no.	IK (QM)								IK (bibliografía)		
			SPME						DES	FSC	Valor	Columna	Referencia
			PDMS	PDMS/ DVB	DVB/CAR/PD MS	PA							
23	2-Metiltetrahidrofuran-3-ona	3188-00-9	794 (53)	807 (87)	808 (50)	808 (53)	812 (83)	809 (72)	812	SLB-5	(Risticevic <i>et al.</i> , 2008)		
24	No identificado				815 (na)								
25	4-metiltiazol	693-95-8					821 (95)		823	SLB-5	(Risticevic <i>et al.</i> , 2008)		
26	2-metilpirazina	109-08-0	829 (72)	828 (90)	828 (87)	828 (87)	830 (91)	828 (91)	827	HP-5	(Leffingwell y Alford, 2005)		
27	2-furanocarboxaldehído	98-01-1	834 (76)	834 (93)	836 (95)	835 (94)	843 (95)	836 (95)	835	HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
28	Alcohol furfurílico	98-00-0	858 (96)	858 (95)	862 (95)	861 (95)	868 (95)	862 (95)	858	OV-101	(Yamaguchi y Shibamoto, 1979)		
29	3-metil-ácido butanoico	503-74-2		848 (62)			891 (83)		875	HP-5MS	(Alissandrakis <i>et al.</i> , 2007)		
30	1-Hidroxi-2-propanona acetato	592-20-1	869 (50)	869 (50)	871 (72)	870 (72)	875 (59)	871 (80)	882	SLB-5	(Risticevic <i>et al.</i> , 2008)		
31	Ácido 2-metil butanoico	116-53-0		856 (81)			895 (78)		894	HP-5MS	(Alissandrakis <i>et al.</i> , 2007)		
32	4-ciclopenteno-1,3diona	930-60-9						885 (86)		nd			
33	Heptanal	111-71-7						903 (95)	901	HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
34	Furfurilformato	13493-97-5			907 (80)		908 (64)	908 (83)	875	SLB-5	(Risticevic <i>et al.</i> , 2008)		
35	1-(2-furanil)-etanona	1192-62-7	910 (83)	911 (87)	912 (87)	912 (81)	915 (91)	911 (81)	910	DB-5	(Adams, 1995)		
36	Dihidro-2(3H)-furanona	96-48-0	913 (78)	913 (86)	914 (86)	913 (68)		914 (87)	908	SE-54	(Rembold <i>et al.</i> , 1989)		
37	No identificado				914 (na)								
38	2,5-dimetilpirazina	123-32-0			917 (83)				911	DB-5	(Adams, 1995)		
39	2,6-dimetilpirazina	108-50-9	915	916 (83)	920 (49)	916 (60)	920 (87)	916 (91)	912	DB-5	(Qian y Reineccius, 2003)		
40	Etilpirazina	13925-00-3	919 (64)	919 (43)	920 (45)	920 (87)	922 (91)	919 (91)	906	DB-5	(Adams, 1995)		
41	2,3-dimetilpirazina	5910-89-4	922 (74)	922 (39)	922 (68)	922 (58)	925 (91)	922 (94)	908	OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)		
42	2,5-Hexanediona	110-13-4			930 (72)			930 (64)	932	SLB-5	(Risticevic <i>et al.</i> , 2008)		
43	Etenilpirazina	4177-16-6					938 (92)	937 (64)	901	DB-1	(Buttery <i>et al.</i> , 1997)		
44	5-metil-2 (5H)-furanona	591-11-7			940 (86)				914	OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)		

Cuadro 3 continuación.

#	Nombre del compuesto	CAS no.	IK (QM)					IK (bibliografía)			
			SPME				DES	FSC	Valor	Columna	Referencia
			PDMS	PDMS/ DVB	DVB/CAR/PD MS	PA					
45	1-(2-furil)-2-propanona	6975-60-6					958 (86)		952 DB-5	(Parker <i>et al.</i> , 2000)	
46	2-Heptenal	18829-55-5						961 (95)	952 SE-54	(Rembold <i>et al.</i> , 1989)	
47	5-metilfurfural	620-02-0	964 (87)	965 (96)	967 (91)	966 (94)	970 (90)	966 (94)	966 HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)	
48	1-acetiloxi-2-butanona	1575-57-1		967 (59)				967 (86)	985 SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	
49	Benzaldehído	100-52-7		968 (80)				968 (95)	970 DB-5	(Buchin <i>et al.</i> , 2002)	
50	2,5 dimetil-3(2H)-furanona	3658-77-3	951 (50)	951 (87)	952 (56)	1068 (80)	954 (91)		1029 HP-1	(Ong y Acree, 1999)	
51	Fenol	108-95-2			990 (89)	990 (93)	992 (93)		980 SE-54	(Rychlik <i>et al.</i> , 1998)	
52	2-pentilfurano	3777-69-3						992 (94)	992 HP-5MS	(Pino <i>et al.</i> , 2005)	
53	Furfuril acetato	623-17-6	993 (91)	994 (96)	994 (96)	994 (96)	995 (96)	993 (94)	1004 SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	
54	2-etil-6-metilpirazina	13925-03-6	999 (90)	999 (60)	1000 (90)	1000 (70)	1001 (91)	999 (91)	1003 HP-5	(Leffingwell y Alford, 2005)	
55	2-etil-3-metilpirazina	15707-23-0	1003 (83)	1004 (64)	1004 (76)		1007 (87)	1003 (74)	1001 DB-5	(Adams, 1995)	
56	2-(2-etoxietoxi)-Etanol	111-90-0					1005 (90)		985 OV-101	(Yamaguchi y Shibamoto, 1981)	
57	2-etil-5-metilpirazina	13360-64-0			1005 (76)		1008 (81)	1004 (87)	979 SE-30	(Greenberg, 1981)	
58	1-(2-furanil)-1-Propanona	3194-15-8			1010 (78)		1011 (64)	1009 (72)	987 OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)	
59	2-Propilpirazina	18138-03-9					1017 (70)		nd		
60	1H-pirrol-2-carboxaldehído	1003-29-8	1021 (72)	1020 (91)	1026 (94)	1022 (91)	1025 (93)	1019 (90)	1060 SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	
61	2-acetilpirazina	22047-25-2					1028 (95)	1026 (95)	1036 SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	
62	2-formil-1-metilpirrol	1192-58-1	1006 (87)	1007 (90)	1007 (95)	1138 (78)	1010 (95)	1006 (94)	1020 SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	
63	2-hidroxi-3-metil-2-Ciclopenten-1-ona	80-71-7		1029 (86)	1031 (95)	1031 (96)			1025 OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)	
64	Limoneno	138-86-3						1034 (90)	1028 DB-5MS	(Angioni <i>et al.</i> , 2006)	
65	1-Acetil-2-metilciclopenteno	3168-90-9						1037 (46)	nd		
66	1-(2-piridinil)-etanona	1122-62-9		1043 (94)					1045 SLB-5	(Risticvic <i>et al.</i> , 2008)	

Cuadro 3 continuación.

#	Nombre del compuesto	CAS no.	IK (QM)				DES	FSC	IK (bibliografía)		
			SPME						Valor	Columna	Referencia
			PDMS	PDMS/ DVB	DVB/CAR/PD MS	PA					
67	Alcohol bencílico	100-51-6	1043 (97)		1044 (96)	1044 (97)		1039 OV-101	(Yamaguchi y Shibamoto, 1981)		
68	Fenilacetaldehído	122-78-1					1052 (87)	1049 DB-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
69	1-Etil-1H-pirrol-2-carboxaldehído	2167-14-8					1056 (95)	nd			
70	No identificado						1063 (90)				
71	1-(5-metil-2-furil)-2-propanona	Nd			1069 (38)			1131 HP5-MS	(Adams, 2005)		
72	1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona	1072-83-9	1071 (83)	1071 (81)	1074 (94)	1073 (91)	1076 (94)	1071 (94)	1064 OV-101 (Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)		
73	5-eteniltetrahidro- $\alpha,\alpha,5$ -trimetil-, Furanmetanol	cis-2- 5989-33-3					1079 (78)	1078 HP-5MS	(Jalali-Heravi <i>et al.</i> , 2006)		
74	1-(1-metil-1Hpirrol-2-yl)-etanona	932-16-1					1081 (87)	1078 (90)	nd		
75	3-etil-2,5-dimetilpirazina	13360-65-1	1080 (87)				1082 (94)	1080 (94)	1082 DB-5 (Rychlik <i>et al.</i> , 1998)		
76	5-Metil-2-pirazinilmetanol	61892-95-3			1083 (72)				nd		
77	2-furanmentanol propanoato	623-19-8	1086 (42)					1096 SLB-5	(Risticovic <i>et al.</i> , 2008)		
78	No identificado				1087 (na)						
79	3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona	118-71-8	1115 (87)	1116 (81)	1118 (93)	1118 (94)	1115 (87)	1111 SE-54	(Schnermann y Schieberle, 1997)		
80	3-Acetoxipiridina	17747-43-2					1119 (81)	nd			
81	1-(5-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	22047-27-4					1121 (83)	nd			
82	Bencenoetanol	60-12-8					1124 (92)	1121 HP-5MS	(Jalali-Heravi <i>et al.</i> , 2006)		
83	1-(6-metil-2-pirazinil)-1-etanona	22047-26-3					1125 (95)	1129 DB-5MS	(Ba <i>et al.</i> , 2012)		
84	2-Acetil-3-metilpirazina	23787-80-6					1128 (90)	1128 SLB-5	(Risticovic <i>et al.</i> , 2008)		
85	1-(5-metil-2-furanil)-1-Propanona	10599-69-6					1134 (72)	nd			
86	5-metil-1H-Pirrol-2-carboxaldehído	1192-79-6			1140 (90)			nd			
87	5-metil-6,7-dihidro-(5H)- ciclopentapirazina	23747-48-0					1150 (96)	1147 (91)	1149 SLB-5 (Risticovic <i>et al.</i> , 2008)		

Cuadro 3 continuación.

#	Nombre del compuesto	CAS no.	IK (QM)				DES	FSC	IK (bibliografía)		
			SPME						Valor	Columna	Referencia
			PDMS	PDMS/ DVB	DVB/CAR/PD MS	PA					
88	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-Piran-4-ano	28564-83-2	1153 (76)	1154 (90)	1155 (87)			1134 BPX-5	(D'Arcy <i>et al.</i> , 1997)		
89	2,3-Dietil-5-metilpirazina	18138-04-0				1158 (86)	1156 (95)	1158 SE-54	(Schnermann y Schieberle, 1997)		
90	3,5-dietil-2-metilpirazina	18138-05-1				1162 (94)		1160 DB-5	(Qian y Reineccius, 2003)		
91	1-(2-furanilmetil)-1H-pirrol	1438-94-4	1185 (59)				1183 (72)	1189 SLB-5	(Risticovic <i>et al.</i> , 2008)		
92	5-Hidroximetilfurfural	67-47-0	1235 (95)	1237 (94)	1237 (96)		1236 (94)	1267 OV-101	(Shibamoto <i>et al.</i> , 1981)		
93	4-etil guaiacol	2785-89-9					1280 (95)	1285 SE-54	(Rychlik <i>et al.</i> , 1998)		
94	1-(3,4-dihidroxifenil)-Etanona	1197-09-7		1286 (81)			1283 (80)	nd			
95	2,2'-(oxibis(metileno))bis-furano	4437-22-3	1302 (74)	1304 (72)				nd			
96	2-Furancarboxaldehído	10551-58-3	1311 (92)	1311 (92)			1309 (94)	1314 ZB-5	(Ross, 2004)		
97	2,5-dimetil-3-(3-metilbutil)-Pirazina	18433-98-2				1317 (81)		1295 DB-1	(Specht y Baltes, 1994)		
98	2-Metoxi-4-vinilfenol	7786-61-0	1320 (59)	1321 (96)	1321 (96)		1318 (92)	1315 HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
99	(E,E)-2,4-Decadienal	25152-84-5					1325 (94)	1318 HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
100	Eugenol	97-53-0					1370 (64)	1373 HP-5MS	(Hazzit <i>et al.</i> , 2006)		
101	Tetradecano	629-59-4	1402 (90)	1404 (96)				1400 BPX-5	(Hölldobler <i>et al.</i> , 2004)		
102	4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído	121-33-5				1408 (95)	1405 (95)	1394 HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
103	1-furfuril-2 formil pirrol	13788-32-4	1423 (78)	1424 (72)	1426 (72)	1424 (64)	1421 (80)	1443 BPX-5	(Bredie <i>et al.</i> , 1998)		
104	1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-Etanona	498-02-2					1492 (81)	1447 SPB-1	(Nagarajan <i>et al.</i> , 2001)		
105	Pentadecona	629-62-9	1505 (95)	1505 (98)			1503 (96)	1500 BPX-5	(Hölldobler <i>et al.</i> , 2004)		
106	2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol	128-37-0	1512 (97)	1512 (99)	1512 (98)	1509 (98)		1514 DB-5	(Adams <i>et al.</i> , 2005)		
107	(+)- δ -Cadineno	483-76-1					1529 (99)	1528 HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)		
108	cis-Calameneno	483-77-2					1534 (64)	1521 DB-5MS	(Zoghbi <i>et al.</i> , 1999)		

Cuadro 3 continuación.

#	Nombre del compuesto	CAS no.	IK (QM)					IK (bibliografía)			
			SPME				DES	FSC	Valor	Columna	Referencia
			PDMS	PDMS/ DVB	DVB/CAR/PD MS	PA					
109	α -Calacoreno	Nd					1555 (52)	1541	SLB-5	(Risticevic <i>et al.</i> , 2008)	
110	1,2-ácido benzenodicarboxílico-dietilester	84-66-2		1596(95)	1596(94)	1596(95)		1603	DB-5	(Ramarathnam <i>et al.</i> , 1993)	
111	Hexadecano	544-76-3			1606(95)		1605(95)	1604	DB-5	(Adams, 1995)	
112	Ácido dodecanoico 1-metiletil ester	10233-13-3			1630(47)			1617	SE-52	(Casoli <i>et al.</i> , 1996)	
113	Benzofenona	119-61-9				1647(96)		1625	HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)	
114	6,10,14-trimetil-2-Pentadecanona	502-69-2					1850(83)	1849	HP-5	(Leffingwell y Alford, 2005)	
115	Cafeína	58-08-2	1787(97)	1870(97)	1869(97)	1868(97)	1867(97)	1938(95)	1830	OV-101	(McLinden y Stenhouse, 1979)
116	Ácido hexadecanoico metil ester	112-39-0					1934(95)	1927	DB-5MS	(Palmeira <i>et al.</i> , 2004)	
117	Ácido palmítico	57-10-3			1972(99)		1975(99)	2076(99)	1977	HP-5MS	(Roussis <i>et al.</i> , 2000)
118	Ácido palmítico etil ester	628-97-7					2001(89)	1978	DB-1	(Takeoka <i>et al.</i> , 1996)	
119	Ácido heptadecanoico	506-12-7						2084(97)	2022	DB-5	(Alberts <i>et al.</i> , 1992)
120	Ácido linoleico metil ester	112-63-0						2106(99)	2100	SE-30	(Ramsey <i>et al.</i> , 1980)
121	Ácido 9-Octadecenoico metil ester	2462-84-2						2112(94)	2087	HP-1	(Boatright y Crum, 1997)
122	Ácido cis-linoleico	60-33-3						2174(99)	2134	HP-5MS	(Asuming <i>et al.</i> , 2005)
123	Ácido octadecanoico	57-11-4						2189(98)	2170	DB-5MS	(Maia <i>et al.</i> , 2000)

na: No aplica

nd: No disponible

El método SPME con fibras DBV/PDMS/CAR y PDMS/DVB que tienen la propiedad de adsorber los compuestos permitieron identificar 44 y 37 compuestos superando a los 30 y 25 encontrados por el método SPME fibras PA y PDMS respectivamente, que tienen el mecanismo de absorber los compuestos (Vas y Vékey, 2004, Majcher y Jeleń, 2009). Rojas (2005) en su estudio sobre la caracterización de café arábico mediante SPME encuentra 76 compuestos con DVB/CAR/PDMS y 33 con PDMS, a pesar de encontrar un número menor de compuestos, el método SPME fibras DVB/CAR/PDMS y PDMS encuentra todos los compuestos que Korhonová *et al.* (2009) consideran que presentan la información necesaria para diferenciar café provenientes de diferentes localidades.

De los 123 compuestos encontrados entre los tres métodos de extracción, 17 fueron detectados por todos los métodos, 22 por SPME cuatro fibras y cuatro exclusivamente por las metodologías DES y FSC.

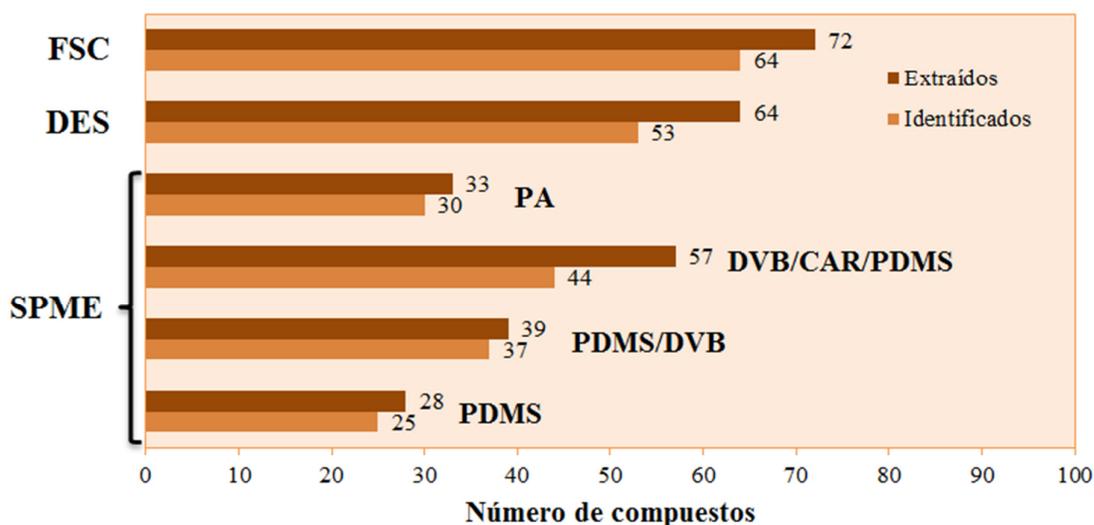


Figura 15: Número de compuestos extraídos e identificados en el café tostado en función del método de extracción.

En el método SPME, la fibra PDMS/DVB permitió identificar siete compuestos más que la fibra PA, de los cuales coinciden 28 compuestos, la fibra PA extrajo 4 compuestos diferentes: 1-hidroxi-2-butanona, fenol (identificado), 2-(2-etoxietoxi)-etanol (identificado), alcohol bencílico (identificado). Pero la fibra PA permite una mayor extracción para 29 compuestos, por ejemplo se obtiene una área 6 veces mayor para el 2-furanocarboxaldehído, 17 veces mayor para el ácido acético y alcohol furfurílico. Los dos

compuestos que tienen un área menor para la fibra PA son 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metilfenol y cafeína con un tercio y dos tercios menor respectivamente.

En la Figura 16 se muestra la capacidad de los diferentes métodos para extraer los compuestos en función al peso molecular, se refleja que el mejor método SPME con fibra DVB/CAR/PDMS (que al poseer tres fases), permite extraer compuestos con un amplio rango de pesos molecular (44 a 282 g/mol), ratificando lo indicado por Mondello *et al*, (2004).

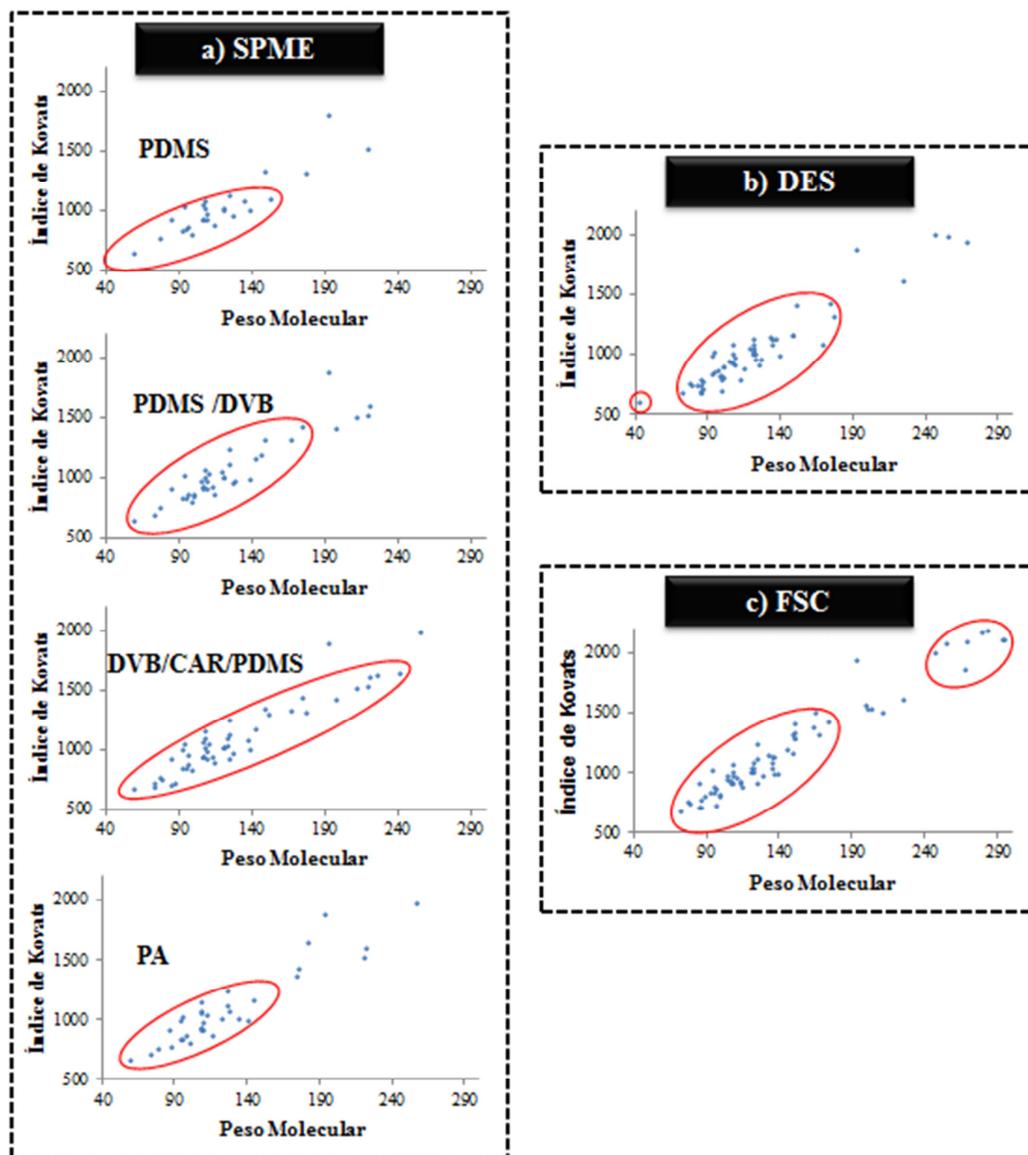


Figura 16: Capacidad de extracción de las diferentes métodos representados en función al Índice de Kovats y peso molecular.

En el método SPME, las fibras PDMS y PA al tener un mecanismo no competitivo de absorción poseen características de extraer compuestos volátiles de menor peso molecular (Costa *et al.*, 2001, Majcher y Jeleń, 2009), concordando con los resultados que se muestran en la Figura 16. En el Cuadro 4 se presentan los compuestos encontrados clasificados de acuerdo a su grupo funcional orgánico.

Cuadro 4: Lista de compuesto encontrados de acuerdo a su grupo funcional orgánico.

ÁCIDOS
Ácido acético
Ácido propanoico
3-metil-ácido butanoico
Ácido 2-metil butanoico
Ácido palmítico
Ácido heptadecanoico
Ácido cis-linoleico
Ácido octadecanoico
ALCOHOL
3-metil-3-buten-1-ol
3-metil-2-buten-1-ol
2,3-Dihidroxiбутano
2-metil-3-Pentanol
2-(2-etoxietoxi)-Etanol
Alcohol bencílico
Bencenoetanol
ALDEHÍDO
Acetaldehído
2-metilbutanal
3-metilbutanal
Hexanal
Heptanal
2-Heptenal
Benzaldehído
Fenilacetaldehído
(E,E)-2,4-Decadienal
AMINA
Cafeina
CETONAS
1-hydroxy-2-propanona
2-pentanona
2,3-pentanodiona
3-hidroxi-2-butanona

Cuadro 4 continuación.

CETONAS
3-penteno-2-ona 1-hidroxi-2-butanona 3-hexanona 2,4-dimetil-3-pentanona 4-ciclopenteno-1,3diona 2,5-Hexanediona 2-hidroxi-3-metil-2-Ciclopenten-1-ona 1-Acetil-2-metilciclopenteno 6,10,14-trimetil-2-Pentadecanona
ÉSTER
1-Hidroxi-2-propanona acetato 1-acetiloxi-2-butanona 1,2-ácido benzenodicarboxílico-dietilester Ácido dodecanoico 1-metiletil ester Ácido hexadecanoico metil ester Ácido palmítico etil ester Ácido linoleico metil ester Ácido 9-Octadecenoico metil ester
FENOLES
Fenol 4-etil guaiacol 1-(3,4-dihidroxifenil)-Etanona 2-Metoxi-4-vinilfenol Eugenol 4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído 1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-Etanona 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol Benzofenona
FURANOS
2-Metiltetrahidrofuran-3-ona 2-furanocarboxaldehído Alcohol furfurílico Furfuril formato 1-(2-furanil)-etanona 5-metil-2 (5H)-furanona 1-(2-furil)-2-propanona 5-metilfurfural 2,5 dimetil-3(2H)-furanona 2-pentilfurano Furfuril acetato 1-(2-furanil)-1-Propanona

Cuadro 4 continuación.

FURANOS
1-(5-metil-2-furil)-2-propanona
5-eteniltetrahidro- $\alpha,\alpha,5$ -trimetil-, cis-2-Furanmetanol
2-furanmentanol propanoato
1-(5-metil-2-furanil)-1-Propanona
5-Hidroximetilfurfural
2,2'-[oxibis(metileno)]bis-furano
2-Furancarboxaldehído
HIDROCARBUROS
Metilciclohexano
Limoneno
Tetradecano
Pentadecona
(+)- δ -Cadineno
cis-Calameneno
α -Calacoreno
Hexadecano
LACTONA
Dihidro-2(3H)-furanona
PIRANO
3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona
2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-Piran-4-ano
PIRAZINAS
Pirazina
2-metilpirazina
2,5-dimetilpirazina
2,6-dimetilpirazina
Etilpirazina
2,3-dimetilpirazina
Etenilpirazina
2-etil-6-metilpirazina
2-etil-3-metilpirazina
2-etil-5-metilpirazina
2-Propilpirazina
2-acetilpirazina
3-etil-2,5-dimetilpirazina
5-Metil-2-pirazinilmetanol
1-(5-Metil-2-pirazinil)-1-etanona
1-(6-metil-2-pirazinil)-1-etanona
2-Acetil-3-metilpirazina
5-metil-6,7-dihidro-(5H)-ciclopentapirazina
2,3-Dietil-5-metilpirazina

Cuadro 4 continuación.

PIRAZINAS
3,5-dietil-2-metilpirazina 2,5-dimetil-3-(3-metilbutil)-Pirazina
PIRIDINAS
Piridina 1-(2-piridinil)-etanona 3-Acetoxypyridina
PIRROLES
1H-pirrol-2-carboxaldehído 2-formil-1-metilpirrol 1-Etil-1H-pirrol-2-carboxaldehído 1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona 1-(1-metil-1Hpirrol-2-yl)-etanona 5-metil-1H-Pirrol-2-carboxaldehído 1-(2-furanilmetil)-1H-pirrol 1-furfuril-2 formil pirrol
TIAZOL
4-metiltiazol

4.3. MEDICIÓN Y REPRODUCIBILIDAD DE COMPUESTOS.

En el Cuadro 5 se presenta el promedio y la desviación estándar de las áreas encontradas para cada una de las metodologías en estudio. Se incluye el código con el cual Flament (2001) clasifica los compuestos en su libro “Coffee Flavor Chemistry”. A continuación se detallan los compuestos y sus áreas que tienen las cinco mayores respuestas para cada método de extracción (el área se encuentra entre paréntesis y se expresa en unidades arbitrarias y debe multiplicarse por 10^6): para el método SPME fibra PDMS fueron cafeína (433), alcohol furfurílico (16), ácido acético (15), 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol (10) y 3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona (6), con SPME fibra PDMS/DVB cafeína (1376), ácido acético (61), alcohol furfurílico (44), 3-hidroxi-2-metil-4h-piran-4-ona (42) y 2,6-bis(1,1-dimetil etil)-4-metil-fenol (17), para SPME fibra DVB/CAR/PDMS ácido acético (1235), cafeína (1063), alcohol furfurílico (878), 2-furanocarboxaldehído (716) y 5-metilfurfural (628); para SPME fibra PA fueron ácido acético (1036), alcohol furfurílico (754), cafeína (499), 3-hidroxi-2-metil-4h-piran-4-ona (199) y 2-(2-etoxietoxi)-etanol (135); para el método DES 2-furanocarboxaldehído (2570), 5-metilfurfural (1791), alcohol furfurílico (1293), 2-metilpirazina (916), 2,6-

dimetilpirazina (856) y finalmente para el método FSC cafeína (78981), ácido palmítico (16881), ácido cis-linoleico (11467), ácido octadecanoico (2702) y alcohol furfurílico (1284).

El alcohol furfurílico es uno de los compuestos que presenta mayores áreas solo menor que el ácido acético y la cafeína para las cuatro fibras en el método SPME. Korhonová y Hron *et al.* (2009) en su estudio sobre aroma del café encuentra que el alcohol furfurílico es el que presenta una mayor área, seguido por ácido acético en café arábico. Resalta que para el método SPME fibras PDMS y PDMS/DVB coinciden los seis primeros compuestos mayoritarios, pero con variaciones en el orden. Únicamente en el método DES la cafeína no se encuentra entre las primeras ocho áreas, debido a la característica de la metodología, que extrae en función a una destilación a 100°C, la cafeína al tener un punto de ebullición de 237°C se extrae principalmente por evaporación. La metodología FSC tiene mejor capacidad de extraer compuestos no tan volátiles, con pesos moleculares altos, esto se ve demostrado con los cuatro compuestos que presentan las mayores áreas: cafeína, ácido palmítico, ácido cis-linoleico y ácido octadecanoico. El alcohol furfurílico, 5-metilfurfural y 2-furanocarboxaldehído coinciden como los compuestos con mayores área para DES y en FSC son los de mayor área para compuestos con peso molecular bajo.

Cuadro 5: Áreas de los diferentes compuestos identificados para las metodologías en estudio.

#	Nombre de compuesto	CAS No.	SPME				DES	FSC	Flament (2005)
			PDMS	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA			
1	Acetaldehído	75-07-0					28 ± 13		C2
2	Ácido acético	64-19-7	15 ± 1	61 ± 5	1235 ± 32	1036 ± 77			E2
3	1-hydroxy-2-propanona	116-09-6			63 ± 4		145 ± 16	198 ± 16	D39
4	2-metilbutanal	96-17-3					235 ± 65		C12
5	3-metilbutanal	590-86-3			2 ± 0		219 ± 39	17 ± 1	C13
6	2-pentanona	107-87-9					7 ± 1		D3
7	2,3-pentanodiona	600-14-6					167 ± 30		D45A
8	Ácido propanoico	79-09-4		2 ± 0	3 ± 0	56 ± 2			E3
9	3-hidroxi-2-butanona	513-86-0			2 ± 0		97 ± 15	20 ± 3	D41
10	Metilciclohexano	108-87-2						5 ± 1	no
11	3-metil-3-buten-1-ol	763-32-6					12 ± 3		B28
12	Pirazina	290-37-9			5 ± 0		74 ± 13	4 ± 0	O1
13	3-penteno-2-ona	625-33-2					5 ± 1		D27
14	Piridina	110-86-1	2 ± 0	5 ± 0	48 ± 4	11 ± 1	56 ± 10	45 ± 6	N1
15	No identificado				9 ± 1				
16	1-hidroxi-2-butanona	5077-67-8				6 ± 1	72 ± 14	20 ± 2	D40
17	3-metil-2-buten-1-ol	556-82-1					7 ± 2		B27
18	3-hexanona	589-38-8					2 ± 0		D13
19	2,4-dimetil-3-pentanona	565-80-0					5 ± 1		D25
20	2,3-Dihidroxibutano	513-85-9						32 ± 7	no
21	Hexanal	66-25-1						258 ± 29	C6
22	2-metil-3-Pentanol	565-67-3					94 ± 15		no
23	2-Metiltetrahidrofuran-3-ona	3188-00-9	1 ± 0	4 ± 0	22 ± 1	18 ± 2	477 ± 83	48 ± 4	no

Cuadro 5 continuación.

#	Nombre de compuesto	CAS No.	SPME				DES	FSC	Flament (2005)
			PDMS	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA			
24	No identificado				37 ± 4				
25	4-metiltiazol	693-95-8					7 ± 1	M3	
26	2-metilpirazina	109-08-0	1 ± 0	8 ± 1	79 ± 7	14 ± 2	916 ± 160	O2	
27	2-furanocarboxaldehído	98-01-1	1 ± 0	7 ± 1	716 ± 58	47 ± 6	2570 ± 409	I63	
28	Alcohol furfurílico	98-00-0	16 ± 0	44 ± 1	878 ± 23	754 ± 106	1293 ± 299	I52	
29	3-metil-ácido butanoico	503-74-2		10 ± 0			98 ± 28	E17	
30	1-Hidroxi-2-propanona acetato	592-20-1	1 ± 0	7 ± 1	36 ± 3	60 ± 9	432 ± 80	F19	
31	Ácido 2-metil butanoico	116-53-0		2 ± 0			39 ± 12	E16	
32	4-ciclopenteno-1,3diona	930-60-9						4 ± 2	
33	Heptanal	111-71-7						14 ± 3	
34	Furfuril formato	13493-97-5			7 ± 1		46 ± 9	46 ± 6	
35	1-(2-furanyl)-etanonona	1192-62-7	1 ± 0	3 ± 0	35 ± 2	23 ± 3	306 ± 29	86 ± 15	
36	Dihidro-2(3H)-furanona	96-48-0	1 ± 0	2 ± 0	26 ± 1	31 ± 1		28 ± 17	
37	No identificado				11 ± 1				
38	2,5-dimetilpirazina	123-32-0			42 ± 1				
39	2,6-dimetilpirazina	108-50-9	2 ± 0	6 ± 0	15 ± 2	19 ± 2	856 ± 144	164 ± 31	
40	Etilpirazina	13925-00-3	1 ± 0	1 ± 0	17 ± 1	4 ± 0	68 ± 17	34 ± 6	
41	2,3-dimetilpirazina	5910-89-4	1 ± 0	2 ± 0	15 ± 2	3 ± 0	66 ± 10	13 ± 2	
42	2,5-Hexanediona	110-13-4			2 ± 0			11 ± 2	
43	Etenilpirazina	4177-16-6					19 ± 3	5 ± 0	
44	5-metil-2 (5H)-furanona	591-11-7			1 ± 0				
45	1-(2-furil)-2-propanona	6975-60-6					13 ± 3		
46	2-Heptenal	18829-55-5						27 ± 5	

Cuadro 5 continuación.

#	Nombre de compuesto	CAS No.	SPME				DES	FSC	Flament (2005)
			PDMS	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA			
47	5-metilfurfural	620-02-0	4 ± 1	15 ± 1	628 ± 42	61 ± 7	1791 ± 300	327 ± 41	I66
48	1-acetiloxi-2-butanona	1575-57-1		4 ± 1				23 ± 4	F20
49	Benzaldehído	100-52-7		4 ± 0				14 ± 2	C39
50	2,5 dimetil-3(2H)-furanona	3658-77-3	1 ± 0	1 ± 0	4 ± 0	44 ± 2	15 ± 3		I100
51	Fenol	108-95-2			15 ± 1	13 ± 1	22 ± 1		H1
52	2-pentilfurano	3777-69-3						53 ± 8	I9
53	Furfuril acetato	623-17-6	3 ± 0	6 ± 1	39 ± 5	22 ± 2	279 ± 56	133 ± 7	I109
54	2-etil-6-metilpirazina	13925-03-6	1 ± 0	3 ± 2	5 ± 0	2 ± 0	206 ± 55	51 ± 1	O10
55	2-etil-3-metilpirazina	15707-23-0	1 ± 0	1 ± 0	6 ± 0		204 ± 39	50 ± 4	O8
56	2-(2-etoxietoxi)-Etanol	111-90-0				135 ± 12			no
57	2-etil-5-metilpirazina	13360-64-0			2 ± 0		346 ± 109	45 ± 4	O9
58	1-(2-furanil)-1-Propanona	3194-15-8			3 ± 0		12 ± 1	9 ± 1	no
59	2-Propilpirazina	18138-03-9					3 ± 1		O4
60	1H-pirrol-2-carboxaldehído	1003-29-8	1 ± 0	4 ± 0	186 ± 26	71 ± 7	11 ± 1	64 ± 4	K42
61	2-acetilpirazina	22047-25-2					33 ± 5	15 ± 2	O79
62	2-formil-1-metilpirrol	1192-58-1	0 ± 0	1 ± 0	8 ± 0	20 ± 3	98 ± 29	27 ± 5	K43
63	2-hidroxi-3-metil-2-Ciclopenten-1-ona	80-71-7		3 ± 0	22 ± 2	36 ± 4			D68
64	Limoneno	138-86-3						6 ± 1	A 46
65	1-Acetil-2-metilciclopenteno	3168-90-9						12 ± 1	no
66	1-(2-piridinil)-etanona	1122-62-9		9 ± 1					N22
67	Alcohol bencílico	100-51-6	3 ± 0		88 ± 4	73 ± 6			no
68	Fenilacetaldehído	122-78-1					53 ± 14		C42
69	1-Etil-1H-pirrol-2-carboxaldehído	2167-14-8					14 ± 4		K45

Cuadro 5 continuación.

#	Nombre de compuesto	CAS No.	SPME				DES	FSC	Flament (2005)
			PDMS	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA			
70	No identificado								
71	1-(5-metil-2-furil)-2-propanona	nd			9 ± 1		30 ± 3	I80	
72	1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona	1072-83-9	1 ± 0	4 ± 0	52 ± 1	35 ± 4	59 ± 14	46 ± 7	K50
73	5-eteniltetrahidro- $\alpha,\alpha,5$ -trimetil-, cis-2-Furanmetanol	5989-33-3					21 ± 4		I56
74	1-(1-metil-1Hpirrol-2-yl)-etanona	932-16-1					32 ± 6	7 ± 0	K53
75	3-etil-2,5-dimetilpirazina	13360-65-1	1 ± 0				173 ± 34	46 ± 7	O23
76	5-Metil-2-pirazinilmetanol	61892-95-3			19 ± 2				no
77	2-furanmentanol propanoato	623-19-8	0 ± 0						I110
78	No identificado				18 ± 1				
79	3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona	118-71-8	6 ± 1	42 ± 2	141 ± 3	199 ± 31		113 ± 13	I146
80	3-Acetoxipyridina	17747-43-2						31 ± 5	no
81	1-(5-Metil-2-pirazinil)-1-etanona	22047-27-4					25 ± 5		O81
82	Bencenoetanol	60-12-8					3 ± 0		B49
83	1-(6-metil-2-pirazinil)-1-etanona	22047-26-3						29 ± 3	O82
84	2-Acetil-3-metilpirazina	23787-80-6					51 ± 12		O80
85	1-(5-metil-2-furanil)-1-Propanona	10599-69-6					4 ± 0		I76
86	5-metil-1H-Pirrol-2-carboxaldehído	1192-79-6			26 ± 1				K44
87	5-metil-6,7-dihidro-(5H)-ciclopentapirazina	23747-48-0					19 ± 6	10 ± 1	O51
88	2,3-dihidro-3,5-dihidroxi-6-metil-4H-Piran-4-ano	28564-83-2		4 ± 0	21 ± 2	52 ± 9			I148
89	2,3-Dietil-5-metilpirazina	18138-04-0					5 ± 2	3 ± 0	O27
90	3,5-dietil-2-metilpirazina	18138-05-1					11 ± 1		O29
91	1-(2-furanilmetil)-1H-pirrol	1438-94-4		1 ± 0				11 ± 2	K67

Cuadro 5 continuación.

#	Nombre de compuesto	CAS No.	SPME				DES	FSC	Flament (2005)
			PDMS	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA			
92	5-Hidroximetilfurfural	67-47-0		14 ± 1	93 ± 8	46 ± 3		218 ± 14	I72
93	4-etil guaiacol	2785-89-9						20 ± 1	H35
94	1-(3,4-dihidroxifenil)-Etanona	1197-09-7			74 ± 4			60 ± 9	H65
95	2,2'-[oxibis(metileno)]bis-furano	4437-22-3	1 ± 0		6 ± 1				I59
96	2-Furancarboxaldehído	10551-58-3		4 ± 0	16 ± 1			38 ± 8	no
97	2,5-dimetil-3-(3-metilbutil)-Pirazina	18433-98-2					6 ± 1		no
98	2-Metoxi-4-vinilfenol	7786-61-0	1 ± 0	15 ± 0	89 ± 4			10 ± 1	H36
99	(E,E)-2,4-Decadienal	25152-84-5						106 ± 18	C30
100	Eugenol	97-53-0						8 ± 1	H37
101	Tetradecano	629-59-4		5 ± 0	8 ± 1				A12
102	4-hidroxi-3-metoxi-benzaldehído	121-33-5					14 ± 2	39 ± 7	H56
103	1-furfuril-2 formil pirrol	13788-32-4		4 ± 1	14 ± 1	7 ± 1	22 ± 3	45 ± 4	K77
104	1-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-Etanona	498-02-2						21 ± 1	H66
105	Pentadecona	629-62-9		6 ± 0	10 ± 0			45 ± 9	A13
106	2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol	128-37-0	10 ± 2	17 ± 2	36 ± 3	12 ± 1			no
107	(+)-δ-Cadineno	483-76-1						19 ± 3	no
108	cis-Calameneno	483-77-2						4 ± 1	no
109	α-Calacoreno	Nd						11 ± 4	no
110	1,2-ácido benzenodicarboxílico-dietilester	84-66-2		6 ± 1	8 ± 0	6 ± 1			no
111	Hexadecano	544-76-3			13 ± 2		7 ± 1	33 ± 18	A14
112	Ácido dodecanoico 1-metiletil ester	10233-13-3			14 ± 2				no
113	Benzofenona	119-61-9				13 ± 2			no

Cuadro 5 continuación.

#	Nombre de compuesto	CAS No.	SPME				DES	FSC	Flament (2005)
			PDMS	PDMS/DVB	DVB/CAR/PDMS	PA			
114	6,10,14-trimetil-2-Pentadecanona	502-69-2						60 ± 6	D23
115	Cafeína	58-08-2	433 ± 33	1376 ± 569	1063 ± 198	499 ± 106	327 ± 70	78981 ± 5397	no
116	Ácido hexadecanoico metil ester	112-39-0					6 ± 1		F36
117	Ácido palmítico	57-10-3			12 ± 4		187 ± 56	16881 ± 2052	E14
118	Ácido palmítico etil ester	628-97-7					11 ± 2		F37
119	Ácido heptadecanoico	506-12-7						48 ± 20	no
120	Ácido linoleico metil ester	112-63-0						154 ± 25	no
121	Ácido 9-Octadecenoico metil ester	2462-84-2						34 ± 4	no
122	Ácido cis-linoleico	60-33-3						11467 ± 2385	no
123	Ácido octadecanoico	57-11-4						2702 ± 568	no

Valores expresados en abundancia del área x 1 E + 5.

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales.

De los 123 compuestos encontrados 17 compuestos fueron detectados y 15 fueron identificados por los tres métodos de extracción: piridina, 2-metiltetrahidrofuran-3-ona, 2-metilpirazina, 2-furanocarboxaldehído, alcohol furfurílico, 1-hidroxi-2-propanona acetato, 1-(2-furanil)-etanona, 2,6-dimetilpirazina, etilpirazina, 2,3-dimetilpirazina, 5-metilfurfural, furfural acetato, 2-etil-6-metilpirazina, 1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona y cafeína. Los IK encontrados para estos compuestos están entre 749 a 1073 y los pesos moleculares (PM) entre 79,0999 a 140,1366 g/mol a excepción de la cafeína con IK de 1866 y PM 194,1906 g/mol. Resalta que en este rango las mayores áreas se encuentran con DES, únicamente para la cafeína se obtiene una mayor área con FSC. Las áreas obtenidas para 2-metiltetrahidrofuran-3-ona, 2-metilpirazina, 1-Hidroxi-2-propanona acetato, 2,6-dimetilpirazina, 2,3-dimetilpirazina y 2-etil-6-metilpirazina con el método de extracción DES son significativas diferentes comparadas con los otros dos métodos.

Para el método SPME se detectaron 5 e identificaron 4 compuestos con todas las cuatro fibras: ácido acético, dihidro-2(3h)-furanona, 3-hidroxi-2-metil-4h-piran-4-ona y 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol. Con la fibra DVB/CAR/PDMS se obtuvieron áreas mayores si se comparan con las otras fibras utilizadas en SPME, a excepción de los compuestos 1-hidroxi-2-propanona acetato, 2,6-dimetilpirazina, dihidro-2(3H)-furanona, 3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona y 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol que presentaron mayor área con la fibra PA.

La piridina a pesar de tener un IK de 749 y PM de 79,0999 g/mol presenta un área con FSC que no tienen diferencia significativa con el método DES y SPME fibra DVB/CAR/PDMS, de los cuales se esperaba tener un área mayor por la afinidad a este compuesto, por su punto de ebullición bajo de 115,2°C.

La reproducibilidad de tres repeticiones para el método SPME con las cuatro fibras, es igual o inferior al 11 por ciento (Figura 17), resultado similar al indicado por Mestres *et al.* (1998) al realizar inyección manual con fibras PDMS y PA para el análisis de volátiles en vino y al mencionado por Hayasaka y Bartowsky (1999) de 10 por ciento al analizar diacetil en vino, con fibra PDMS y Carbowax/DBV (CW/DVB), menor al valor obtenido por Miller (1998) de 11,3 por ciento al analizar jugo de frutas con las fibras PDMS, PA, Carboxen, PDMS, PDMS/DVB y CW/DVB y mayores a los reportados por Costa *et al.* (2001) de 6,8 por ciento, al utilizar fibra de PDMS y CW/DBV.

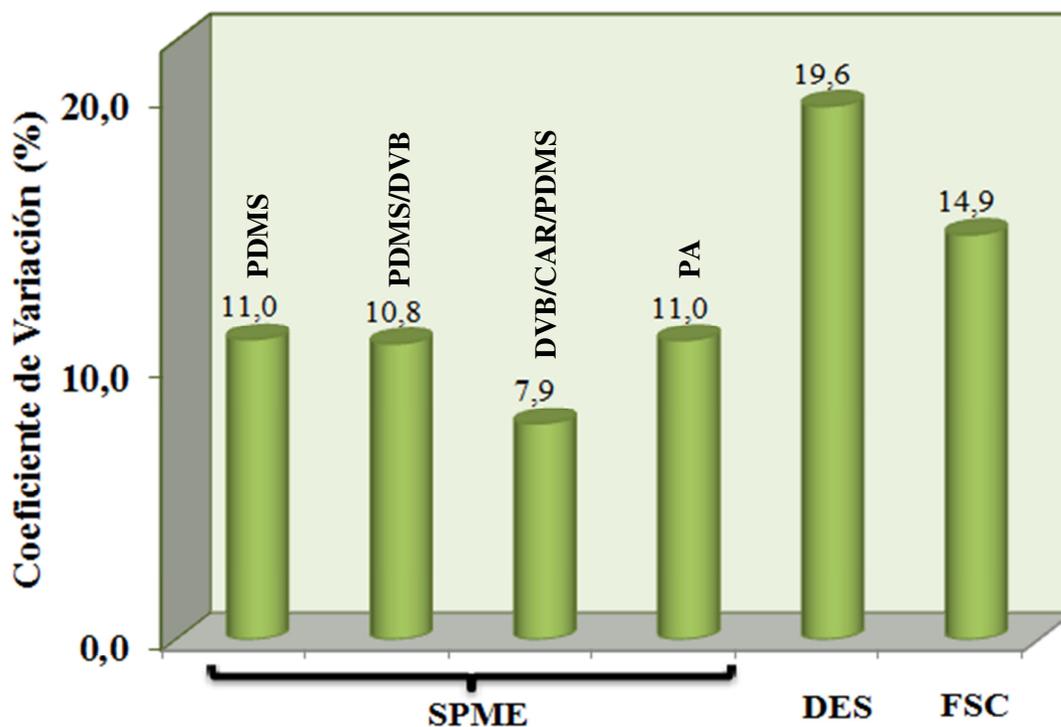


Figura 17: Coeficiente de variación de los métodos de extracción.

4.4. EFICIENCIA DE LOS MÉTODOS DE EXTRACCIÓN.

Los resultados en función a la sumatorias de área de pico para los compuestos identificados se muestran en la Figura 18. En SPME al comparar los resultados encontrados con las cuatro fibras, se evidencia un mayor potencial para la fibra DBV/CAR/PDMS obteniendo una sumatoria de áreas aproximadamente igual al doble que para la fibra PA, cuatro y doce veces mayor para las fibras PDMS/DVB y PDMS respectivamente. Esto es debido a que su composición le confiere la posibilidad de extraer compuestos con diferente estructura y polaridad (Bicchi *et al.*, 2000). Los resultados encontrados ratifican lo mencionado por Majcher y Jeleń (2009) en su estudio de extracción de componentes volátiles de extruidos de papa, donde indica que la fibra que permite la mayor extracción de compuestos en función a las áreas es la DVB/CAR/PDMS seguida por la PDMS/DVB y siendo la menos efectiva la PDMS, en el estudio no evalúa la fibra de PA.

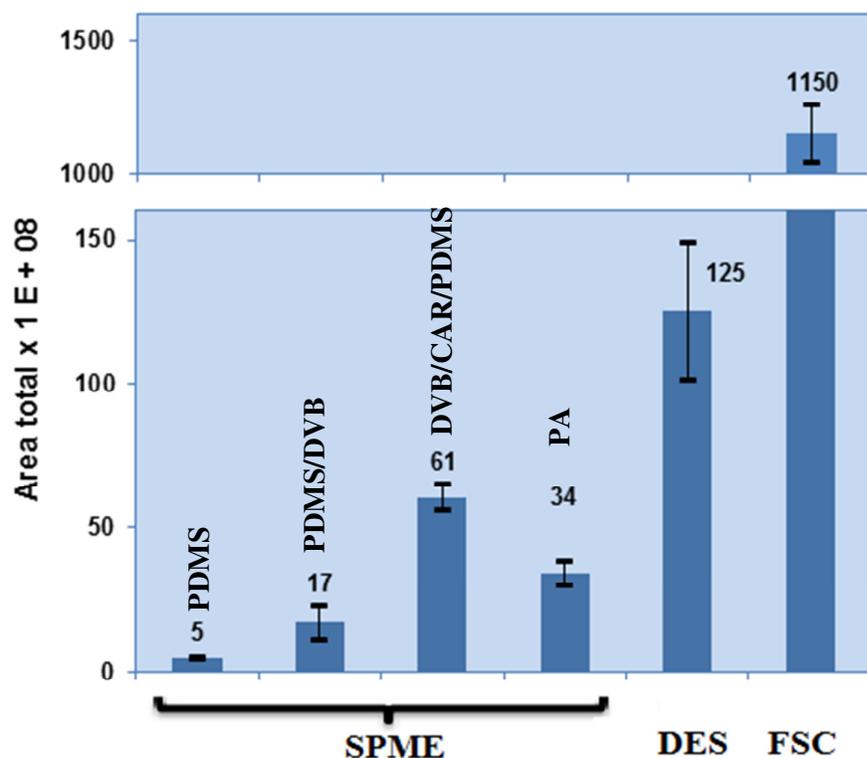


Figura 18: Área total de los picos obtenidos del café tostado en función del método de extracción.

Pero comparando SPME fibra DVB/CAR/PDMS con las metodologías DES y FSC se evidencia una gran diferencia, siendo las área obtenidas por FSC aproximadamente diez veces mayor que con SPME; esto debido a la alta concentración de cafeína ($789 \text{ E} + 08$); y respecto a DES un poco más que el doble que SPME. Pero si se compara en función de los tipos de compuestos, la diferencia es menor, por ejemplo con los furanos que es el grupo funcional orgánico con mayor presencia se tiene áreas de $24 \text{ E} + 8$ SPME fibra DVB/CAR/PDMS, $25 \text{ E} + 8$ para FSC y $68 \text{ E} + 8$ para DES. De manera global, los métodos FSC y SPME fibra DVB/CAR/PDMS son los que nos permiten tener mayores área para todos los tipos de compuestos (Figura 19).

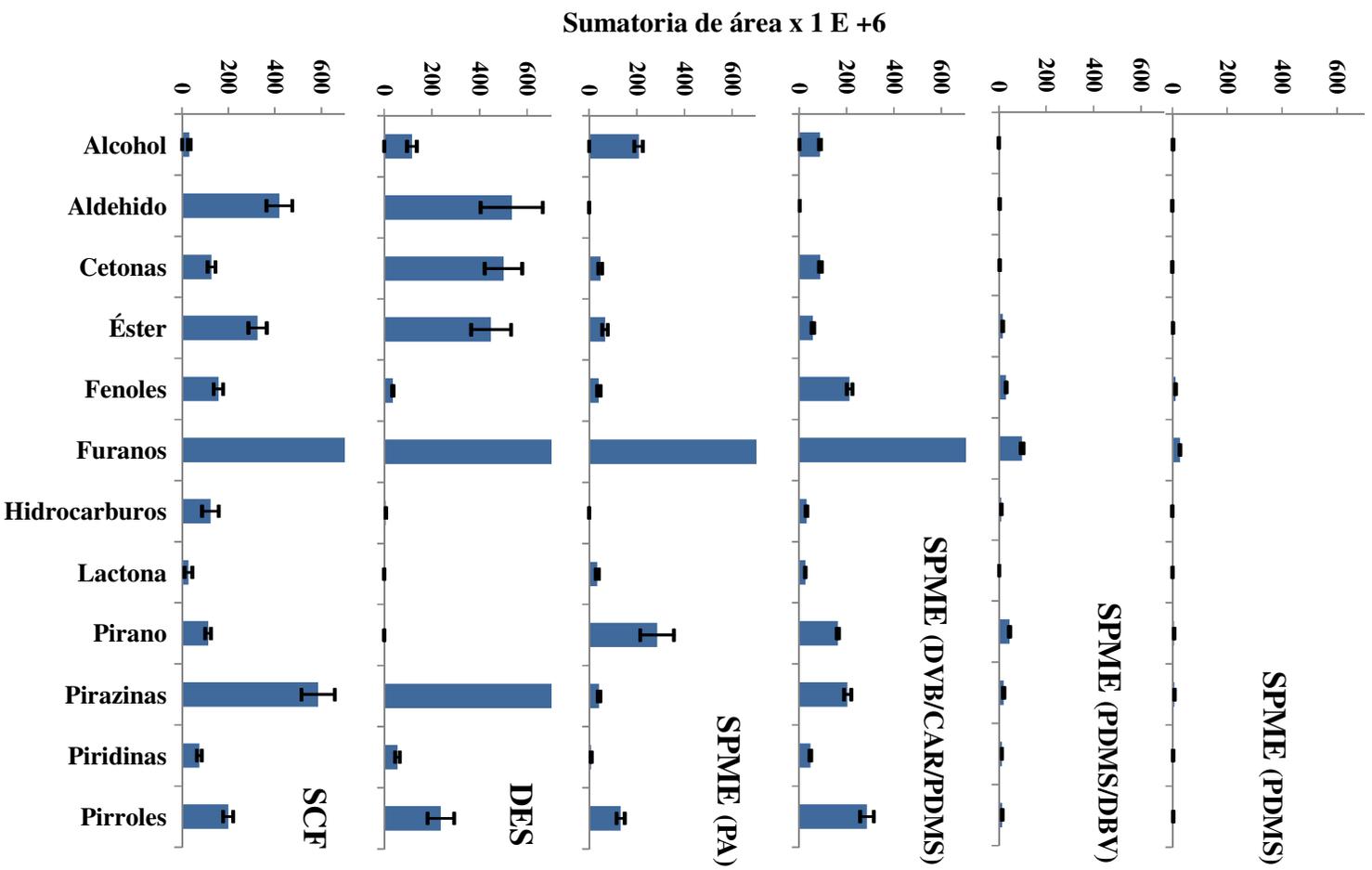


Figura 19: Sumatoria de áreas para los diferentes grupos funcionales encontrados.

4.4.1. ANÁLISIS DE VARIANZA.

Korhonová *et al.* (2009) en su estudio sobre el aroma del café concluyen que los siguientes compuestos: ácido acético, 2-metilpirazina, 2-furano carboxaldehído, alcohol furfurílico, 2,6-dimetilpirazina y 5-metilfurfural (2, 26, 27, 28, 39 y 47), proveen suficiente información para diferenciar 30 muestras de café, por lo cual se escogió estos compuestos como marcadores para determinar que método permite la mejor extracción. En el Cuadro 6 se presentan los resultados encontrados al realizar un análisis de varianza simple para cada compuesto versus las fibras utilizadas en el método SPME (resultados expresados como áreas de los picos). De éste análisis resulta que la fibra PDMS/DVB/CAR nos permite extraer una mayor cantidad para los compuestos analizados, no existiendo diferencia significativa con la fibra PA para los compuestos ácido acético, alcohol furfurílico y 2,6-dimetilpirazina, los cuales son compuestos polares; para el 2-furano carboxaldehído y 5-metilfurfural que no son polares se evidencia una gran diferencia entre las fibras PDMS/DVB/CAR y PA, debido a la propiedad que tiene la fibra de tres fases de extraer compuestos polares y apolares.

No existe diferencia significativa para los 6 compuestos, cuando se utilizó las fibras PDMS y PDMS/DVB al evaluar simultáneamente todas las fibras. Pero al analizar sólo las dos fibras existe diferencia significativa para todos los compuestos, siendo siempre mayor para la fibra con dos fases. Akiyama *et al.* (2005) es su estudio sobre café tostado encuentra la misma proporción, por ejemplo el alcohol furfurílico se obtuvo para la fibra PDMS/DVB 5,8 veces más que para la fibra PDMS, resultado similar al encontrado de 8,6 veces en el 5-metilfurfural; la proporción es 4,4 similar a la encontrada de 3,8, para el 2,6-dimetilpirazina; la proporción es 1,4 similar a la encontrada de 2,4 veces mayor y en el compuesto 2-metilpirazina se mantiene la tendencia, en el estudio mencionado no evalúa al ácido acético.

En el Cuadro 7 se comparan los tres métodos de extracción (SPME fibra DVB/CAR/PDMS, FSC y DES) con los cinco compuestos marcadores; no se incluye en el análisis el ácido acético debido a que se solapa con la elución del diclorometano utilizado como solvente en las metodologías DES y FSC. Para los compuestos marcadores analizados no se presenta diferencia significativa con los métodos SPME fibra DVB/CAR/PDMS y FSC. Para estos compuestos que tienen pesos moleculares inferiores a 112 g/mol el método que permite una mayor extracción es el DES.

Cuadro 6: Análisis de varianza en función a las fibras de microextracción utilizadas en el método SPME.

Fibras	Ácido acético	2-metilpirazina	2-furano carboxaldehído	Alcohol furfurílico	2,6-dimetilpirazina	5-metilfurfural
PDMS	150 ± 13 ^b	9 ± 1 ^c	8 ± 1 ^b	155 ± 3 ^b	24 ± 3 ^b	41 ± 5 ^c
PDMS/DVB	609 ± 55 ^b	79 ± 5 ^{bc}	69 ± 9 ^b	439 ± 10 ^b	57 ± 3 ^b	154 ± 8 ^{bc}
DVB/CAR/PDMS	12345 ± 315 ^a	786 ± 72 ^a	7156 ± 585 ^a	8776 ± 232 ^a	153 ± 18 ^a	6276 ± 418 ^a
PA	12689 ± 4518 ^a	144 ± 21 ^b	470 ± 55 ^b	7544 ± 1063 ^a	190 ± 22 ^a	678 ± 135 ^b

Valores expresados en abundancia del área x 1 E + 5.

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales.

Las medias que no comparten una letra en una misma columna, son significativamente diferentes.

Cuadro 7: Análisis de varianza en función a los diferentes métodos.

Método	2-metilpirazina	2-furano carboxaldehído	Alcohol furfurílico	2,6-dimetilpirazina	5-metilfurfural
SPME (DVB/CAR/PDMS)	786 ± 72 ^b	7156 ± 585 ^b	8776 ± 232 ^a	153 ± 18 ^b	6276 ± 418 ^b
DES	9162 ± 1597 ^a	25695 ± 4093 ^a	12926 ± 2994 ^a	8561 ± 1435 ^a	17913 ± 2995 ^a
FSC	1180 ± 98 ^b	2910 ± 264 ^b	12840 ± 339 ^a	1637 ± 313 ^b	3266 ± 409 ^b

Valores expresados en abundancia del área x 1 E + 5.

Cada valor es la media con la desviación estándar de tres réplicas experimentales.

Las medias que no comparten una letra en una misma columna, son significativamente diferentes.

4.4.2. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (ACP).

Para determinar la capacidad de extracción de los diferentes métodos (para SPME se incluye los resultados encontrados con las cuatro fibras), se realizó un análisis de componentes principales (ACP) mediante tres variables: a) utilizando los compuestos que se identificaron con todos los métodos, b) todos los compuestos utilizados en a) menos cafeína y c) los compuestos que indica Korhonová *et al.* (2009) como aquellos que brindan suficiente información para distinguir muestras de café de distintas localidades.

a. ACP con 15 compuestos identificados en todas las metodologías.

Al realizar el ACP con los 15 compuestos identificados (1H-pirrol-2-carboxaldehído y 2-formil-1-metilpirrol fueron extraídos por todos los métodos pero no identificados, no se incluyen en éste análisis), se obtiene que dos componentes proporcionan el 94,4 por ciento de la información del comportamiento de las metodologías (Cuadro 5). El primer componente aporta el 82,1 por ciento de la información y tiene correlación positiva con todos los compuestos menos la cafeína. El segundo componente brinda el 12,4 por ciento de la información y resalta su alta correlación con la cafeína, alcohol furfúrico, piridina (nombrados en orden descendente en función a su correlación). En la Figura 20 se puede observar que la composición obtenida con el método FSC es muy diferente al resto debido principalmente a la cafeína, el método de extracción DES también presenta un comportamiento diferente pero debido a que tiene mayor afinidad por el grupo de compuestos resaltado. El método SPME con las fibras PDMS y PDMS/DBV tienen un comportamiento muy similar entre sí. Finalmente el método SPME con fibras PA y DVB/CAR/PDMS obtuvieron una composición similar, pero con la diferencia de que el método SPME fibra DVB/CAR/PDMS tiene mayor afinidad por la cafeína.

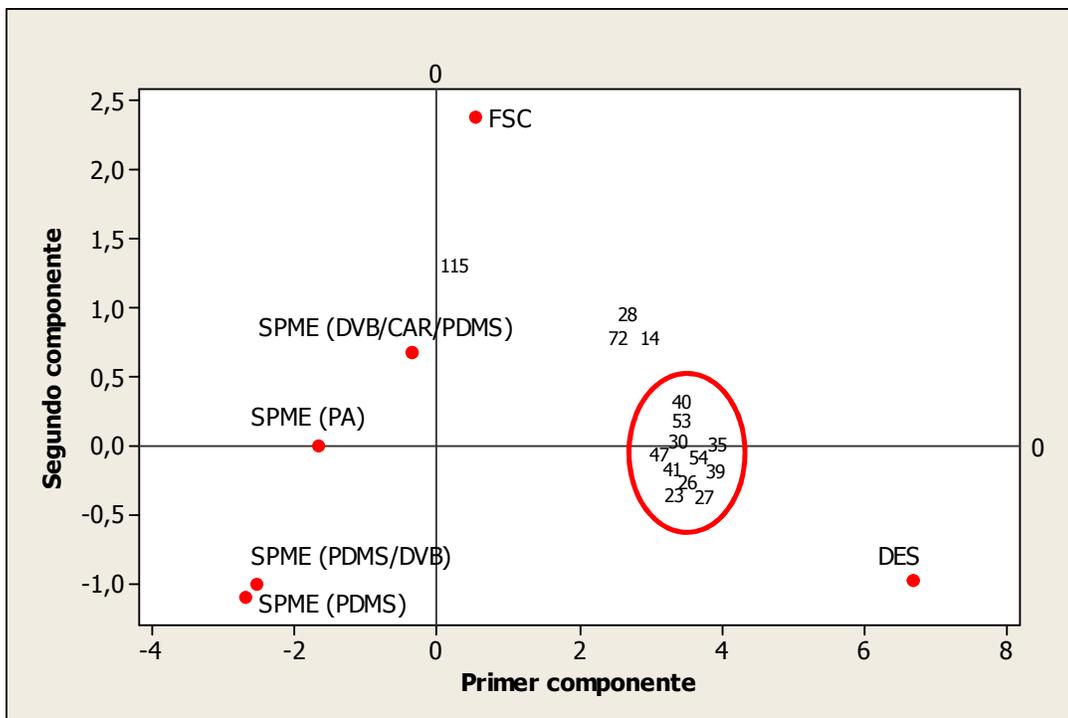


Figura 20: Representación de la composición final obtenida con los 15 compuestos identificados, en el sistema de coordenadas formado por los dos primeros componentes.

b. ACP con 14 compuestos identificados (sin cafeína) en todas las metodologías.

Al excluir la cafeína del ACP, el resultado para el método FSC cambia notoriamente como era de esperar (Figura 21); al ser un método con mayor afinidad por compuestos con pesos moleculares mayores, ahora presenta un comportamiento muy similar a SPME fibra DVB/CAR/PDMS con afinidad a los compuestos piridina, alcohol furfurílico y 1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona (14, 28 y 72). El comportamiento de SPME fibras PDMS y PDMS/DVB se repite comparado con la evaluación anterior, este debido principalmente a sus pobres capacidades de extraer compuestos. En este análisis los dos primeros componentes aportan el 97,4 por ciento de la información, aproximadamente tres por ciento más que al incluir cafeína en el análisis; también aumenta la información del primer componente, obteniendo el 87,9 por ciento, teniendo correlación positiva con todos los 14 compuestos. El segundo componente aporta el 9,5 por ciento de la información resaltando su correlación negativa con los compuestos 14, 28 y 72, brindando la información relacionada con los métodos FSC y SPME fibra DVB/CAR/PDMS. El método DES mantiene su afinidad por los mismos 11 compuestos ressaltados en la Figura 20.

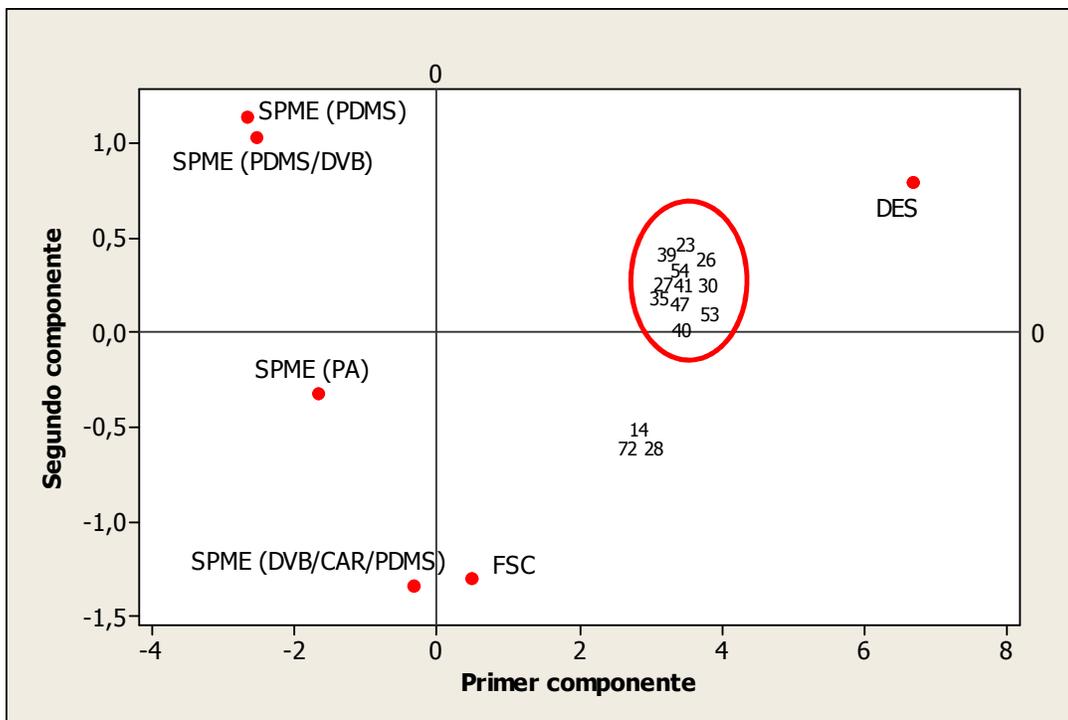


Figura 21: Representación de la composición final obtenida con los 14 compuestos identificados (sin cafeína), en el sistema de coordenadas formado por los dos primeros componentes.

c. ACP con 6 compuestos marcadores.

Korhonová *et al.* (2009) en su análisis del aroma del café indica que los compuestos 2, 26, 27, 28, 39 y 47, proveen suficiente información para diferenciar 30 muestras de café, en los Cuadro 6 y 7, se presenta los resultados del análisis de varianza con estos compuestos. Los dos componentes principales encontrados brindan el 92,7 por ciento de la información, existe aproximadamente cinco por ciento menos información si se compara con la obtenida con 14 compuestos. No se evidencia mayor diferencia en el comportamiento de las metodologías y composición final obtenida al realizar el ACP con 6 o 14 compuestos (Figura 21 y 22).

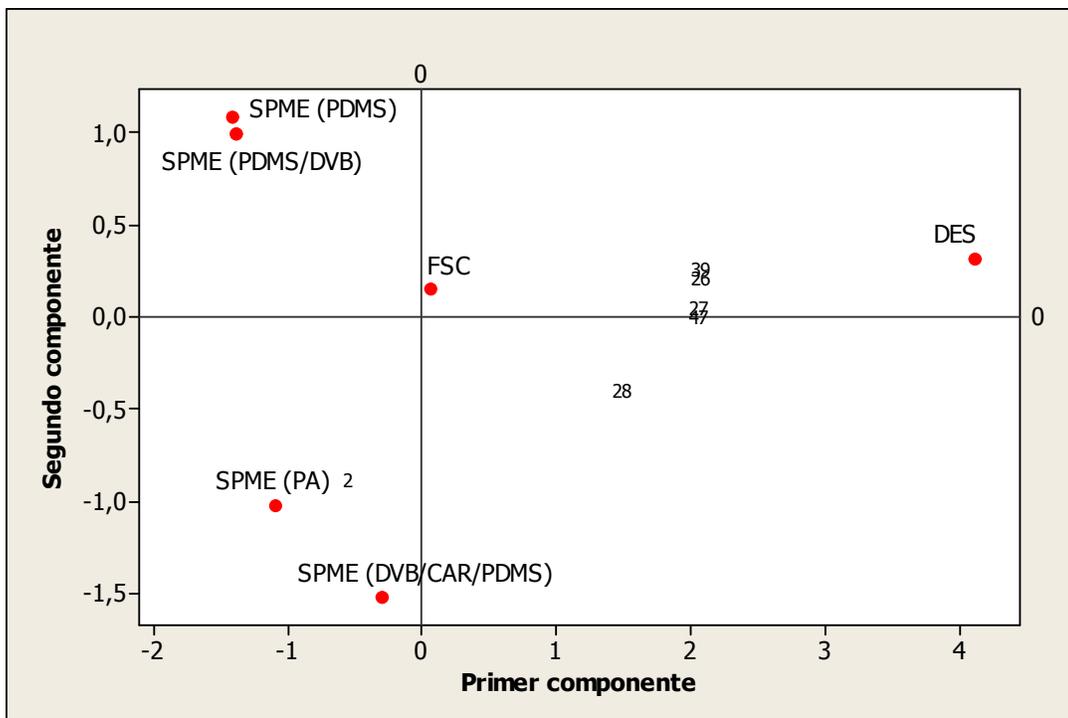


Figura 22: Representación de la composición final obtenida con los 6 compuestos marcadores, en el sistema de coordenadas formado por los dos primeros componentes.

Al incluir el ácido acético, compuesto que no fue identificado con los métodos DES y FSC debido a que coeluye con el solvente, modifica el comportamiento del método FSC con los dos primeros componentes. El primer componente tiene únicamente correlación negativa con el ácido acético y el segundo componente tiene correlación positiva con 2,6-dimetilpirazina (39) y marcada correlación negativa con el ácido acético.

V. CONCLUSIONES.

- Para el método SPME el material de empaque de las fibras de microextracción tuvo efecto sobre el número y tipo de compuestos que se pueden extraer e identificar. En orden creciente las fibras PDMS, PDMS/DVB, PA y DVB/CAR/PDMS permiten extraer la mayor cantidad de compuestos. La fibra de tres fases DVB/CAR/PDMS permitió obtener el perfil aromático más representativo extrayendo 57 compuestos e identificando 44 de ellos con puntos de ebullición bajo, medio y alto.
- La combinación de los tres métodos (seis tratamientos) permitió obtener un perfil aromático con 123 compuestos diferentes. En función del área encontrada los furanos y pirazinas fueron los grupos funcionales orgánicos que presentaron mayores resultados en el café tostado de Vilcabamba, siendo el ácido acético, cafeína, alcohol furfurílico, 2-furanocarboxaldehído, 5-metilfurfural, 2,6-bis(1,1-dimetiletil)-4-metil-fenol y 3-hidroxi-2-metil-4H-piran-4-ona los compuestos mayoritarios encontrados con los diferentes métodos a excepción del método FSC donde predominan los compuestos con pesos moleculares mayores.
- El método de extracción DES es un método muy efectivo para determinar compuestos con pesos moleculares inferiores a 140 g/mol, principalmente compuestos de grupos funcionales como aldehídos, cetonas, ésteres, furanos, pirazinas y pirroles.
- Los compuestos ácido acético, 2-metilpirazina, 2-furano carboxaldehído, alcohol furfurílico, 2,6-dimetilpirazina y 5-metilfurfural proporcionan suficiente información para distinguir el comportamiento de los métodos de extracción evaluados.
- Al comparar los diferentes métodos se evidencia que el método SPME con fibra de tres fases DVB/CAR/PDMS, permite de forma rápida, reproducible y sin la utilización de reactivos la obtención de un perfil representativo del aroma de café tostado de Vilcabamba.

VI. RECOMENDACIONES.

- Utilizar una columna de polaridad diferente para poder identificar otros componentes.
- Realizar beneficio seco y comparar con los resultados obtenidos.
- Evaluar el perfil aromático de café procedentes de otras localidades y comparar con el obtenido con el método de extracción DVB/CAR/PDMS.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Adams, A. 2005. Formation of valuable Maillard flavour compounds by model reactions and fermentation. Doctor, Ghent University. Faculty of Bioscience Engineering.
- Adams, RP. 1995. Identification of Essential Oil Components By Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. IL, USA. 804 p. (Carol Stream)
- Adams, RP; Morris, JA; Pandey, RN; Schwarzbach, AE. 2005. Cryptic speciation between *Juniperus deltoides* and *Juniperus oxycedrus* (Cupressaceae) in the Mediterranean. *Biochemical Systematics and Ecology* 33(8): 771-787.
- Agilent Technologies 2000. GC/MSD Libraries for the MSD ChemStation. USA.
- Akiyama, M; Murakami, K; Ikeda, M; Iwatsuki, K; Kokubo, S; Wada, A; Tokuno, K; Onishi, M; Iwabuchi, H; Tanaka, K. 2005. Characterization of Flavor Compounds Released During Grinding of Roasted Robusta Coffee Beans. *Food Science and Technology Research* 11(3): 298-307.
- Alberts, AC; Sharp, TR; Werner, DI; Weldon, PJ. 1992. Seasonal variation of lipids in femoral gland secretions of male green iguanas (<i>Iguana iguana). *Journal of Chemical Ecology* 18(5): 703-712.
- Alissandrakis, E; Tarantilis, PA; Harizanis, PC; Polissiou, M. 2007. Comparison of the Volatile Composition in Thyme Honeys from Several Origins in Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(20): 8152-8157.
- Angioni, A; Barra, A; Coroneo, V; Dessi, S; Cabras, P. 2006. Chemical Composition, Seasonal Variability, and Antifungal Activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* Essential Oils from Stem/Leaves and Flowers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(12): 4364-4370.
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18va. Washington, DC, Association of Official Analytical Chemists. 2590 p.

- Asuming, WA; Beauchamp, PS; Descalzo, JT; Dev, BC; Dev, V; Frost, S; Ma, CW. 2005. Essential oil composition of four *Lomatium* Raf. species and their chemotaxonomy. *Biochemical Systematics and Ecology* 33(1): 17-26.
- Ba, HV; Ryu, K-S; Inho, H. 2012. Flavor Characteristics of Hanwoo Beef in Comparison with Other Korean Foods. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 25(3): 435 - 446.
- Baggenstoss, J; Poisson, L; Kaegi, R; Perren, R; Escher, F. 2008. Coffee roasting and aroma formation: Application of different time - temperature conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 5836-5846.
- Belitz, H-D; Grosch, W; Schieberle, P. 2009. *Food Chemistry*, Springer Berlin Heidelberg. p. 938-970.
- Bicchi, C; Drigo, S; Rubiolo, P. 2000. Influence of fibre coating in headspace solid-phase microextraction-gas chromatographic analysis of aromatic and medicinal plants. *Journal of Chromatography A* 892(1-2): 469-485.
- Boatright, W; Crum, A. 1997. Nonpolar-volatile lipids from soy protein isolates and hexane-defatted flakes. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 74(4): 461-467.
- Bononi, M; Lubian, E; Martello, S; Tateo, F. 1998. *New beverages: flavored coffee*., Elsevier Science B.V.
- Bouseta, A; Collin, S. 1995. Optimized Likens-Nickerson Methodology for Quantifying Honey Flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43: 1890-1897.
- Brando, CHJ. 2008. *Harvesting and Green Coffee Processing*, Wiley-VCH Verlag GmbH. p. 604-715.
- Bredie, WLP; Mottram, DS; Guy, RCE. 1998. Aroma Volatiles Generated during Extrusion Cooking of Maize Flour. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(4): 1479-1487.
- Bröhan, M; Huybrighs, T; Wouters, C; Van der Bruggen, B. 2009. Influence of storage conditions on aroma compounds in coffee pads using static headspace GC-MS. *Food Chemistry*, 116(2): 480-483.

- Buchin, S; Salmom, J-C; Carnat, A-P; Berger, T; Bugaud, C; Bosset, JO. 2002. Identification of monoterpene, sesquiterpene and benzene derivatives in a highland milk very rich in these compounds. Bern, Suisse, Bundesamt für Gesundheitswesen. p. 18.
- Buttery, RG; Ling, LC; Stern, DJ. 1997. Studies on Popcorn Aroma and Flavor Volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(3): 837-843.
- Cárdenas, S. 2007. Caracterización morfológica y agronómica de la colección núcleo de café (*Coffea arabica* L.) del CATIE. Costa Rica, Escuela de Posgrado. Programa de educación para el desarrollo y la conservación. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE.
- Carvajal Herrera, JJ; Aristizábal Torres, ID; Oliveros Tascón, CE; Mejía Montoya, JW. 2011. Colorimetría del Fruto de Café (*Coffea arabica* L.) Durante su Desarrollo y Maduración. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 64: 6229-6240.
- Casoli, A; Musini, PC; Palla, G. 1996. Gas chromatographic-mass spectrometric approach to the problem of characterizing binding media in paintings. *Journal of Chromatography A* 731(1-2): 237-246.
- Cassia, MT; Silva, RPd; Chioderolli, CA; Noronha, RHF; Santos, EPd. 2013. Quality of mechanized coffee harvesting in circular planting system. *Ciência Rural* 43(1): 28-34.
- Castañeda, E 1997. Manual Técnico Cafetalero. Perú, Asociación de Exportadores y USAID.
- Costa, A; Parreira, C; Vilas, L. 2001. Comparison of Two SPME Fibers for Differentiation of Coffee by Analysis of Volatile Compounds. *Chromatographia* 54(9): 647-653.
- Costa Freitas, A; Mosca, A. 1999. Coffee geographic origin—an aid to coffee differentiation. *Food research international* 32(8): 565-573.
- COVENIN 1995. Café tostado o molido. Venezuela. COVENIN 46.
- Chen, G; Song, H; Ma, C. 2009. Aroma-active compounds of Beijing roast duck. *Flavour and Fragrance Journal* 24(4): 186-191.

- D'Arcy, BR; Rintoul, GB; Rowland, CY; Blackman, AJ. 1997. Composition of Australian Honey Extractives. 1. Norisoprenoids, Monoterpenes, and Other Natural Volatiles from Blue Gum (*Eucalyptus leucoxylon*) and Yellow Box (*Eucalyptus melliodora*) Honeys. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(5): 1834-1843.
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas 2002 "Reglamento (CE) No 178/2002 del parlamento europeo y del consejo."
- Dórea, JG; da Costa, THM. 2005. Is coffee a functional food? *British journal of nutrition* 93(6): 773.
- Engel, E; Baty, C; le Corre, D; Souchon, I; Martin, N. 2002. Flavor-Active Compounds Potentially Implicated in Cooked Cauliflower Acceptance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(22): 6459-6467.
- FAO. 2005. Arabica coffee manual for Myanmar. Consultado. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/008/ae938e/ae938e03.htm>.
- FAPECAFES 2009. Entrevista e informes brindados.
- Fatemi, MH. 2002. Simultaneous modeling of the Kovats retention indices on OV-1 and SE-54 stationary phases using artificial neural networks. *Journal of Chromatography A* 955(2): 273-280.
- Fisk, ID; Kettle, A; Hofmeister, S; Virdie, A; Kenny, JS. 2012. Discrimination of roast and ground coffee aroma. *Flavour* 1(1): 14.
- Flament, I. 2001. *Coffee Flavor Chemistry*. New York. 408 p.
- Franca, A; Oliveira, L; Oliveira, R; Mancha, P; Augusti, R. 2009. A preliminary evaluation of the effect of processing temperature on coffee roasting degree assessment. *Journal of Food Engineering*, 92(3): 345-352.
- Franca, AS; Mendonça, JCF; Oliveira, SD. 2005. Composition of green and roasted coffees of different cup qualities. *LWT - Food Science and Technology* 38(7): 709-715.

- Godefroot, M; Sandra, P; Verzele, M. 1981. New method for quantitative essential oil analysis. *Journal of Chromatography A* 203(0): 325-335.
- Gonzalez-Rios, O; Suarez-Quiroz, ML; Boulanger, R; Barel, M; Guyot, B; Guiraud, J-P; Schorr-Galindo, S. 2007a. Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis* 20(3): 297-307.
- . 2007b. Impact of “ecological” post-harvest processing on the volatile fraction of coffee beans: I. Green coffee. *Journal of Food Composition and Analysis* 20(3): 289-296.
- Greenberg, MJ. 1981. Characterization of meat and bone meal flavor volatiles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29(6): 1276-1280.
- Harris, D. 2007. *Análisis Químico Cuantitativo*. Tercera. Barcelona, Editorial Reverte. 532 p.
- Hayasaka, Y; Bartowsky, EJ. 1999. Analysis of Diacetyl in Wine Using Solid-Phase Microextraction Combined with Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(2): 612-617.
- Hazzit, M; Baaliouamer, A; Faleiro, ML; Miguel, MG. 2006. Composition of the Essential Oils of Thymus and Origanum Species from Algeria and Their Antioxidant and Antimicrobial Activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(17): 6314-6321.
- Hicks, P. 2001. Postharvest processing and quality assurance for speciality/organic coffee products. The first Asian regional round-table on sustainable, organic and speciality coffee production, processing and marketing: 26-28.
- Hölldobler, B; David Morgan, E; Oldham, N; Liebig, J; Liu, Y. 2004. Dufour gland secretion in the harvester ant genus *Pogonomyrmex*. *Chemoecology* 14(2): 101-106.
- Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización 2006a. *Café tostado y molido requisitos*. Ecuador. INEN 1123.
- 2006b. *Café verde en grano: clasificación y requisitos*. Ecuador. INEN 285.

- International Coffee Organization. 2012. Harvesting. Consultado. Disponible en http://www.ico.org/harvest_e.asp.
- . 2013. Total production of exporting countries. Consultado 11 ago. 2013. Disponible en <http://www.ico.org/prices/po.htm>.
- Jalali-Heravi, M; Zekavat, B; Sereshti, H. 2006. Characterization of essential oil components of Iranian geranium oil using gas chromatography–mass spectrometry combined with chemometric resolution techniques. *Journal of Chromatography A* 1114(1): 154-163.
- Jirovetz, L; Buchbauer, G; Ngassoum, MB; Geissler, M. 2002. Aroma compound analysis of *Piper nigrum* and *Piper guineense* essential oils from Cameroon using solid-phase microextraction–gas chromatography, solid-phase microextraction–gas chromatography–mass spectrometry and olfactometry. *Journal of Chromatography A* 976(1–2): 265-275.
- Joffraud, JJ; Leroi, F; Roy, C; Berdagué, JL. 2001. Characterisation of volatile compounds produced by bacteria isolated from the spoilage flora of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology* 66(3): 175-184.
- Juliani, HR; Zygadlo, JA; Scrivanti, R; de la Sota, E; Simon, JE. 2004. The essential oil of *Anemia tomentosa* (Savigny) Sw. var. *anthriscifolia* (Schrad.) Mickel. *Flavour and Fragrance Journal* 19(6): 541-543.
- Korhonová, M; Hron, K; Klimečková, D; Müller, L; Bednár, P; Barták, P. 2009. Coffee aroma—Statistical analysis of compositional data. *Talanta* 80(2): 710-715.
- Leffingwell, JC; Alford, ED. 2005. Volatile Constituents Of Perique Tobacco. *Electronic Journal of Agricultural and Food Chemistr* 4(2): 899–915.
- Machiels, D; van Ruth, SM; Posthumus, MA; Istasse, L. 2003. Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. *Talanta* 60(4): 755-764.
- MAG. 2007. Historia e importancia del café en el Ecuador. Consultado 9 feb. 2012. Disponible en http://www.sica.gov.ec/cadenas/cafe/docs/historia_cafe.html.

- Maia, JGS; Andrade, EHA; Zoghbi, MdGB. 2000. Volatile Constituents of the Leaves, Fruits and Flowers of Cashew (*Anacardium occidentale* L.). *Journal of Food Composition and Analysis* 13(3): 227-232.
- Majcher, M; Jeleń, HH. 2009. Comparison of suitability of SPME, SAFE and SDE methods for isolation of flavor compounds from extruded potato snacks. *Journal of Food Composition and Analysis* 22(6): 606-612.
- Mancha, P; Franca, A; Oliveira, L; Augusti, R. 2008. Discrimination between defective and non-defective Brazilian coffee beans by their volatile profile. *Food Chemistry* 106(2008): 787-796.
- Marín, S; Arcila, J; Montoya, E; Oliveros, C. 2003. Cambios físicos y químicos durante la maduración del fruto de café /*Coffea arabica*/ L. var. Colombia. *Cenicafé* 54(3): 208-225.
- Marsili, R. 2002. *Flavor, Fragrance and Odor Analysis*. New York, Marcel Dekker, Inc. 425 p.
- Mazzafera, P. 1999. Chemical composition of defective coffee beans. *Food Chemistry* 64(4): 547-554.
- ASIC 2004. 20th International Conference on Coffee Science, Bangalore, India, 11-15 October 2004. 2005, 2005. Post harvest processing methods and physiological alterations in the coffee fruit. 811-819.
- McLinden, VJ; Stenhouse, AM. 1979. A chromatography system for drug identification. *Forensic Science International* 13(0): 71-79.
- Menut, C; Molangui, T; Lamaty, GE; Bessiere, J-M; Habimana, J-B. 1995. Aromatic Plants of Tropical Central Africa. 23. Chemical Composition of Leaf Essential Oils of *Eucalyptus goniocalyx* F. Muell. and *Eucalyptus patens* Benth. Growth in Rwanda. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(5): 1267-1271.
- Mestres, M; Busto, O; Guasch, J. 1998. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile sulphides and disulphides in wine aroma. *Journal of Chromatography A* 808(1-2): 211-218.

- Miller, E; Gonzales, A; Orr, A; Binnie, W; Sunahara, G. 2000. The Anticancer Activity of Coffee Beans, American Chemical Society. p. 56–63.
- Miller, ME; Stuart, JD. 1998. Comparison of Gas-Sampled and SPME-Sampled Static Headspace for the Determination of Volatile Flavor Components. *Analytical Chemistry* 71(1): 23-27.
- Mondello, L; Casilli, A; Tranchida, PQ; Dugo, P; Costa, R; Festa, S; Dugo, G. 2004. Comprehensive multidimensional GC for the characterization of roasted coffee beans. *Journal of Separation Science* 27(5-6): 442-450.
- Nagarajan, S; Jagan Mohan Rao, L; Gurudutt, KN. 2001. Chemical composition of the volatiles of *Decalepis hamiltonii* (Wight & Arn). *Flavour and Fragrance Journal* 16(1): 27-29.
- Nair, KPP. 2010. 6 - Coffee. London, Elsevier. p. 181-208.
- Nickerson, G; Likens, S. 1965. Gas chromatographic evidence for the occurrence oil components in beer. *Journal of Chromatography* 21.
- Ong, PKC; Acree, TE. 1999. Similarities in the Aroma Chemistry of Gewürztraminer Variety Wines and Lychee (*Litchi chinesis* Sonn.) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47(2): 665-670.
- Palmeira, SF; Moura, FdS; Alves, VdL; Oliveira, FMd; Bento, ES; Conserva, LM; Andrade, EHdA. 2004. Neutral components from hexane extracts of *Croton sellowii*. *Flavour and Fragrance Journal* 19(1): 69-71.
- Parizzi, FC. 2005. Incidência de fungos da pré-colheita ao armazenamento de café. *Sistema Brasileiro de Informação do Café*.
- Parker, JK; Hassell, GME; Mottram, DS; Guy, RCE. 2000. Sensory and Instrumental Analyses of Volatiles Generated during the Extrusion Cooking of Oat Flours. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8): 3497-3506.
- Parliament, T. 2000. An Overview of Coffee Roasting, American Chemical Society. p. 188–201.

- Parliment, TH; Ho, C-T; Schieberle, P. 2000. Caffeinated beverages: health benefits, physiological effects, and chemistry, American Chemical Society.
- Pawliszyn, J; Pawliszyn, B; Pawliszyn, M. 1997. Solid phase microextraction (SPME). *The chemical educator* 2(4): 1-7.
- Pino, JA; Marbot, R. 2001. Volatile Flavor Constituents of Acerola (*Malpighia emarginata* DC.) Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(12): 5880-5882.
- Pino, JA; Mesa, J; Munoz, Y; Marti, MP; Marbot, R. 2005. Volatile Components from Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53(6): 2213-2223.
- Pradip, M; Bhaduri, S. 2009. Supercritical CO₂: a twenty-first century solvent for the chemical industry *Current Science* 97(1): 63-72.
- PROCAFE, FSpIdC-. 2004. Recolección y beneficio húmedo. Consultado 2009/03/19. Disponible en.
- Qian, M; Reineccius, G. 2003. Potent aroma compounds in Parmigiano Reggiano cheese studied using a dynamic headspace (purge-trap) method. *Flavour and Fragrance Journal* 18(3): 252-259.
- Ramarathnam, N; Rubin, LJ; Diosady, LL. 1993. Studies on meat flavor. 4. Fractionation, characterization, and quantitation of volatiles from uncured and cured beef and chicken. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41(6): 939-945.
- Ramsey, JD; Lee, TD; Osselton, MD; Moffat, AC. 1980. Gas-liquid chromatographic retention indices of 296 non-drug substances on SE-30 or OV-1 likely to be encountered in toxicological analyses. *Journal of Chromatography A* 184(2): 185-206.
- Rembold, H; Wallner, P; Nitz, S; Kollmannsberger, H; Drawert, F. 1989. Volatile components of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37(3): 659-662.
- Ribeiro, J; Augusto, F; Salva, T; Thomaziello, R; Ferreira, M. 2009. Prediction of sensory properties of Brazilian Arabica roasted coffees by headspace solid phase

- microextraction-gas chromatography and partial least squares. *Analytica Chimica Acta* 634(2): 172-179.
- Risticjevic, S; Carasek, E; Pawliszyn, J. 2008. Headspace solid-phase microextraction–gas chromatographic–time-of-flight mass spectrometric methodology for geographical origin verification of coffee. *Analytica Chimica Acta* 617(1–2): 72-84.
- Rojas, G. 2005. Caracterización del aroma del café molido de Puerto Rico mediante la técnica de microextracción en fase sólida (spme) y cromatografía de gas acoplada a espectrometría de masas (gc/ms). Maestro en ciencias. Mayaguez, Universidad de Puerto Rico. 156.
- Ross, J. 2004. Étude des composés chimiques extraits des lixiviats issus de la thermotransformation du pin gris (*Pinus banksiana* Lamb.). Maîtrise en ressources renouvelables, Université du Québec à Chicoutimi.
- Roussis, V; Tsoukatou, M; Petrakis, PV; Ioanna, C; Skoula, M; Harborne, JB. 2000. Volatile constituents of four *Helichrysum* species growing in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology* 28(2): 163-175.
- Royal Horticultural Society 1986. Royal Horticultural Society Colour chart. Reino Unido, Royal Horticultural Society.
- Rychlik, M; Schieberle, P; Grosch, W. 1998. Compilation of Odor Thresholds, Odor Qualities and Retention Indices of Key Food Odorants. 63 p.
- Sanchez, A. 2005. Trazabilidad como arma competitiva. Consultado 10 may. 2012. Disponible en <http://www.traceablecoffee.net/doc/trazabilidad/trazabilidad4.doc>.
- Sandoval, Z; Prieto, F. 2007. Caracterización de café cereza empleando técnicas de visión artificial. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 60: 4105-4127.
- Schenker, S; Heinemann, C; Huber, M; Pompizzi, R; Perren, R; Escher, F. 2002. Impact of Roasting Conditions on the Formation of Aroma Compounds in Coffee Beans. *Journal of food science* 67: 60-66.

- Schnermann, P; Schieberle, P. 1997. Evaluation of Key Odorants in Milk Chocolate and Cocoa Mass by Aroma Extract Dilution Analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45(3): 867-872.
- Shibamoto, T; Kamiya, Y; Mihara, S. 1981. Isolation and identification of volatile compounds in cooked meat: sukiyaki. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29(1): 57-63.
- Sinyinda, Sg; Gramshaw, J. 1998. Volatiles of avocado fruit. *Food Chemistry*, 62: 483-487.
- Skoog, D; Holler, J; Nieman, T. 2005. *Principios de Análisis Instrumental*. Martín María. Quinta. Madrid, McGRAW HILL. 1028 p.
- Solís, H; Caldero, M; Schorr, S; Luna, G; Ragazzo, J. 2007. Characterization of aroma potential of apricot varieties using different extraction techniques. *Food Chemistry* 105(2): 829-837.
- Sozel, K. 1978. Separation with Supercritical Gases: Practical Application. *Angewandte Chemie* 17: 702-709.
- Specialty Coffee Association of America 2009a. *Cupping Specialty Coffee*, Specialty Coffee Association of America.
- 2009b. *Green Coffee Quality*, Specialty Coffee Association of America.
- Specht, K; Baltes, W. 1994. Identification of Volatile Flavor Compounds with High Aroma Values from Shallow-Fried Beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42(10): 2246-2253.
- Stashenko, E; Ordóñez, SA; Marín, NA; Martínez, JR. 2009. Determination of the Volatile and Semi-volatile Secondary Metabolites, and Aristolochic Acids in *Aristolochia ringens* Vahl. *Journal of Chromatographic Science* 47(9): 817-821.
- Stashenko, EE; Acosta, R; Martínez, JR. 2000. High-resolution gas-chromatographic analysis of the secondary metabolites obtained by subcritical-fluid extraction from Colombian rue (*Ruta graveolens* L.). *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 43(1-3): 379-390.

- Stashenko, EE; Jaramillo, BE; Martínez, JR. 2003. Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenaceae. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 27(105): 579-598.
- Stashenko, EE; Prada, NQ; Martínez, JR. 1996. HRGC/FID/NPD and HRGGC/MSD study of Colombian ylang-ylang (*Cananga odorata*) oils obtained by different extraction techniques. *Journal of High Resolution Chromatography* 19(6): 353-358.
- Staub, C 1995. Roast Color Classification System. Agtrom/Specialty Coffee Association of America.
- Takeoka, G; Perrino, C; Buttery, R. 1996. Volatile Constituents of Used Frying Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(3): 654-660.
- Tarzia, A; Dos Santos Scholz, MB; De Oliveira Petkowicz, CL. 2010. Influence of the postharvest processing method on polysaccharides and coffee beverages. *International Journal of Food Science & Technology* 45(10): 2167-2175.
- Vas, G; Vékey, K. 2004. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *Journal of Mass Spectrometry* 39(3): 233-254.
- Vásquez, M 2004. Pasos para el Beneficio Húmedo y Ecológico de Café de Calidad.
- Yamaguchi, K; Shibamoto, T. 1979. Volatile constituents of *Castanopsis* flower. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 27(4): 847-850.
- . 1981. Volatile constituents of green tea, Gyokuro (*Camellia sinensis* L. var Yabukita). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 29(2): 366-370.
- Zambonin, C; Balest, L; Benedetto, G; Palmisano, F. 2004. Solid-phase microextraction-gas chromatography mass spectrometry and multivariate analysis for the characterization of roasted coffees. *Talanta* 66(1): 261-265.
- Zoghbi, MDGB; Andrade, EHA; Maia, JGS. 1999. Volatile constituents from leaves and flowers of *Alpinia speciosa* K. Schum. and *A. purpurata* (Viell.) Schum. *Flavour and Fragrance Journal* 14(6): 411-414.

VIII. ANEXOS

Anexo A: Metodología para análisis físico – químicos de fruto de café y café tostado.

AOAC 932.12- Sólidos solubles en frutas y derivados de frutas.

1. Triturar la pulpa del fruto de café, con la ayuda de un procesador de alimentos, hasta obtener un jugo.
2. Colocar unas gotas de jugo en el refractómetro.
3. Realizar la lectura a 20 °C.

AOAC 942.15.- Acidez titulable en derivados de frutas.

1. Tritura la pulpa del fruto de café, con la ayuda de un procesador de alimentos, hasta obtener un jugo.
2. Pesar 10 g de jugo y diluir hasta 250 ml con agua destilada.
3. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N (previamente estandarizado utilizando como patrón primario ftalato ácido de potasio), usando como indicador 0,3 ml de fenolftaleína por cada 100 ml de solución titulada, realizar hasta alcanzar un rosado persistente mínimo por 30 segundos.
4. Reportar el resultado como ml 0,1 M de álcali/100 g de muestra original.

AOAC 920.151.- Sólidos totales frutas y derivados de frutas.

1. Tritura la pulpa del fruto de café, con la ayuda de un procesador de alimentos, hasta obtener un jugo.
2. Pesar 20 g de jugo en una cápsula plana (la cápsula debe estar previamente secada y pesada).
3. Secar en estufa de vacío a 70 °C bajo una presión ≤ 100 mm Hg.
4. Pesar en intervalos de 2 h, hasta obtener una diferencias de pesos ≤ 3 mg.

AOAC 920.92.- Acidez Total en café tostado.

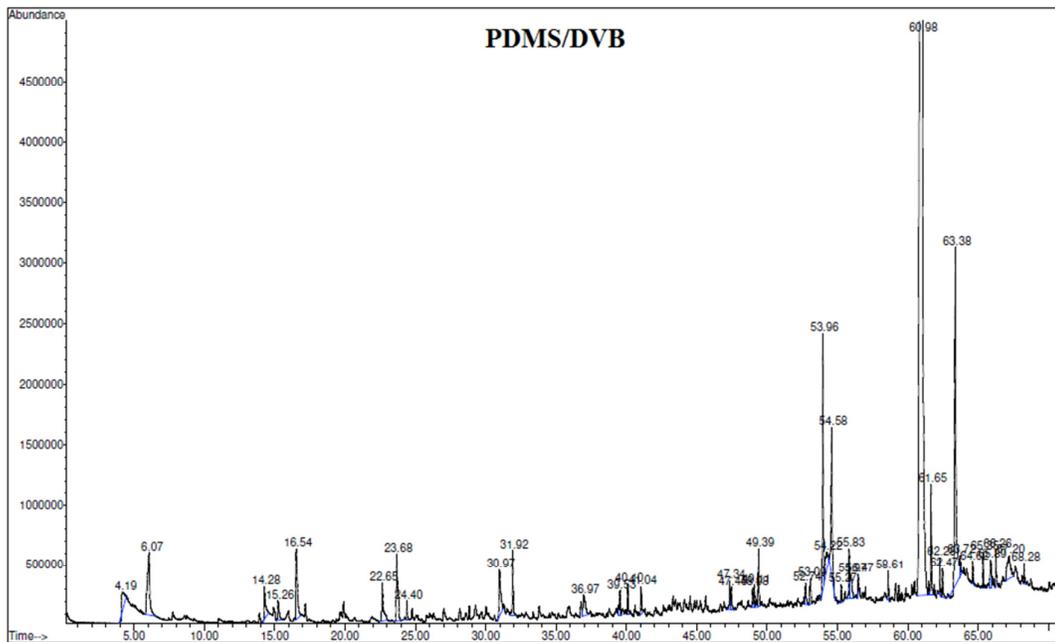
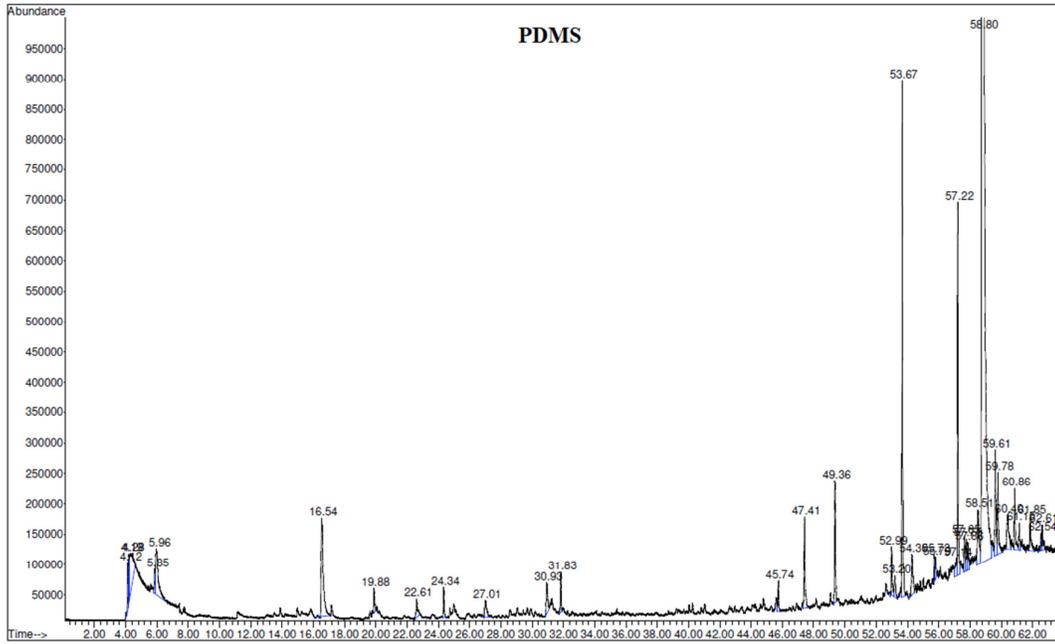
1. Pesar 10 g de café tostado y molido en erlenmeyer.
2. Adicionar 75 ml de etanol al 80%.
3. Tapar y dejar en reposo por 16 h, agitando ocasionalmente.
4. Filtrar y transferir una alícuota de 10 ml del filtrado a un vaso.
5. Diluir con 100 ml de agua.
6. Titular con hidróxido de sodio 0,1 N, usando fenoltaleína como indicador.
7. Expresar el resultado como el volumen (ml) de hidróxido de sodio 0,1 N requerido para neutralizar 100 g de café tostado.

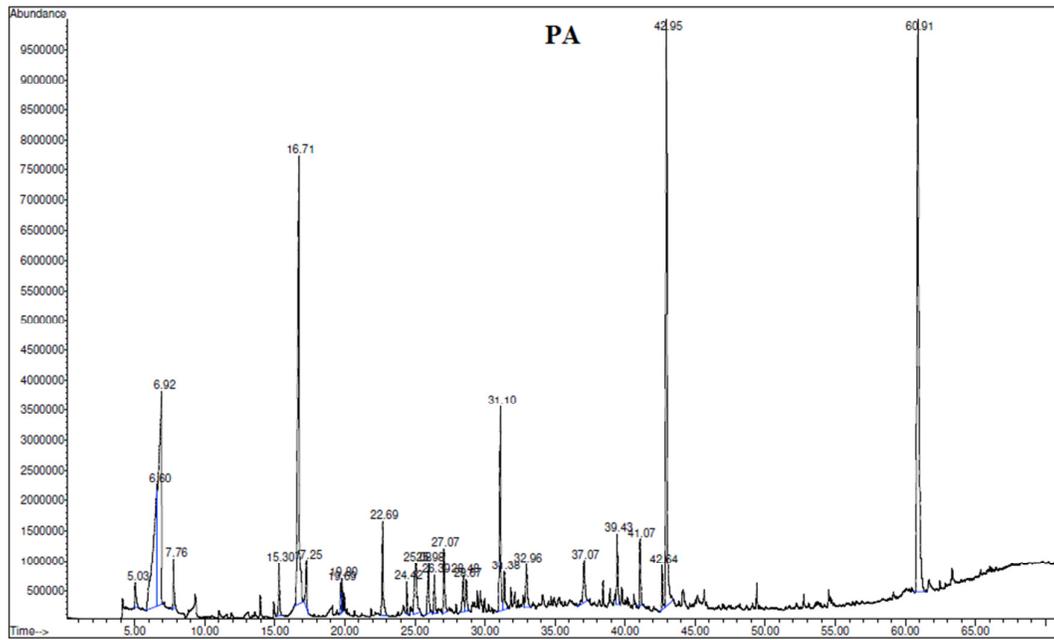
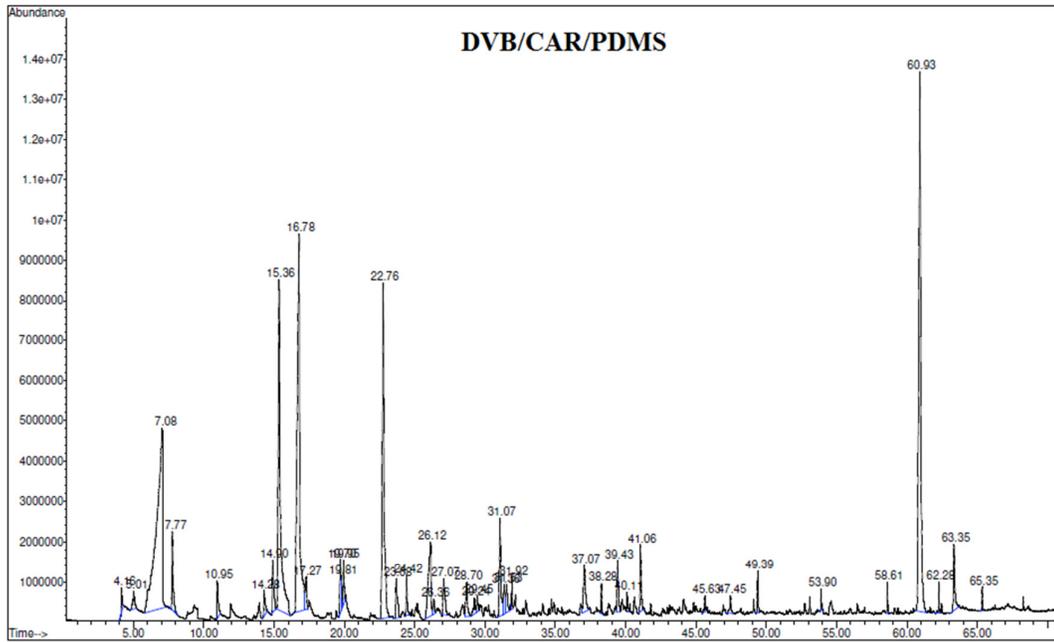
AOAC 973.21.- Sólidos solubles en café tostado.

1. Pesar 10 g de café tostado y molido en balón de 500 ml.
2. Colocar una varilla de vidrio de 20 cm de largo en el balón.
3. Adicionar 200 ml de agua destilada.
4. Pesar el balón con café, varilla de vidrio y agua destilada, registrar como peso W.
5. Hervir por 5 min, agitando constantemente.
6. Enfriar y pesar.
7. Adicionar agua de tal forma que el peso sea igual al peso W.
8. Filtrar y colocar una alícuota de 25 ml del filtrado en una cápsula (la cápsula debe estar previamente pesada).
9. Evaporar la alícuota a 105 °C en estufa de convección forzada.
10. Pesar el residuo y continuar evaporando hasta obtener un peso constante.

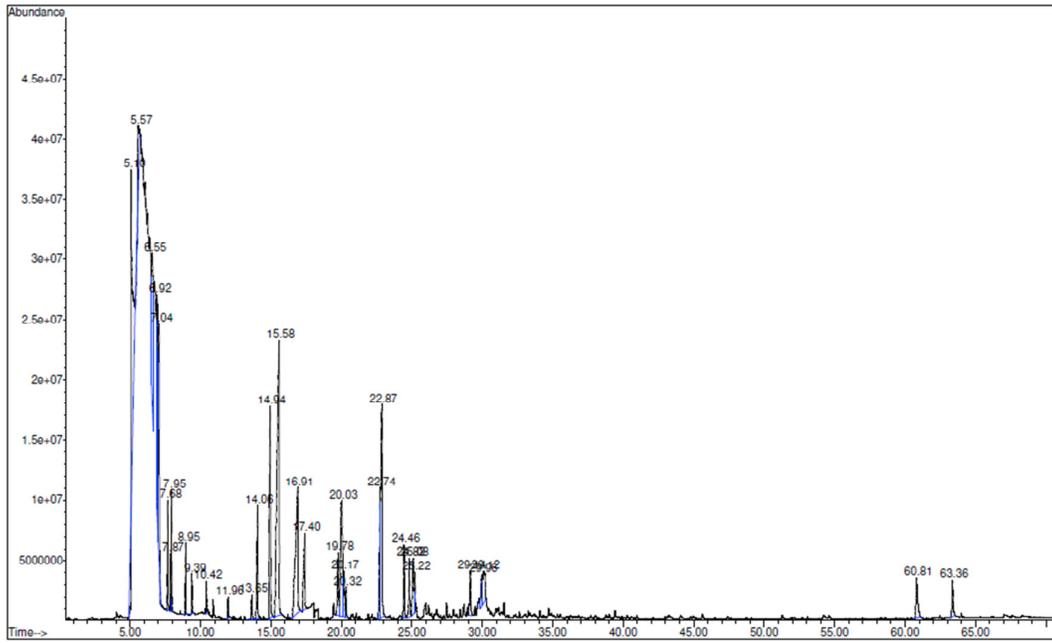
Anexo B: Cromatogramas de los diferentes métodos de extracción

SPME

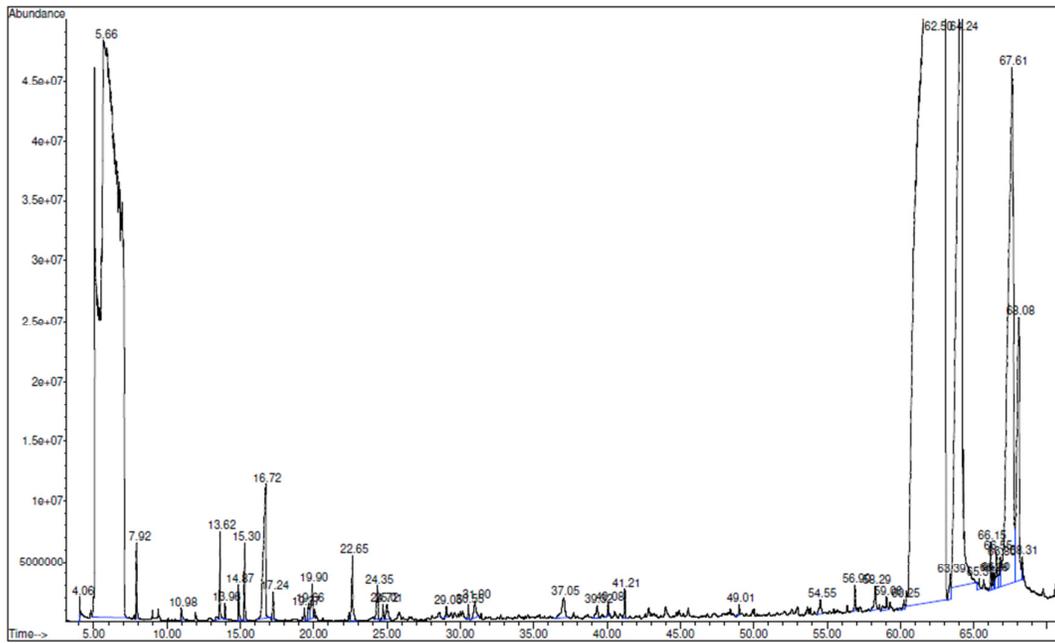




DES



FSC



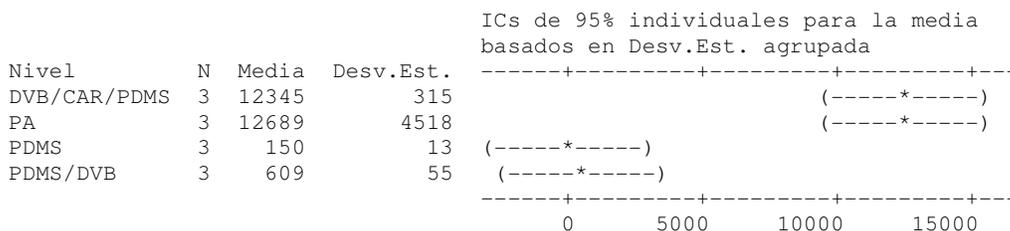
Anexo C: Resultados del análisis estadístico

Análisis de varianza en función a las fibras de microextracción.

ANOVA unidireccional: Ácido Acético vs. SPME (Fibra)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
SPME (Fibra)	3	442456397	147485466	28,76	0,000
Error	8	41030035	5128754		
Total	11	483486432			

S = 2265 R-cuad. = 91,51% R-cuad.(ajustado) = 88,33%



Desv.Est. agrupada = 2265

Agrupar información utilizando el método de Tukey

SPME (Fibra)	N	Media	Agrupación
PA	3	12689	A
DVB/CAR/PDMS	3	12345	A
PDMS/DVB	3	609	B
PDMS	3	150	B

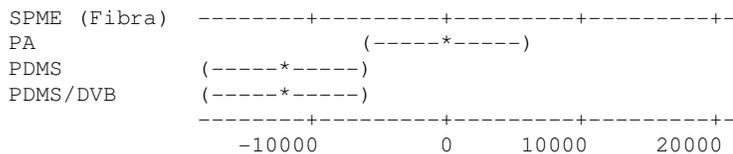
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de SPME (Fibra)

Nivel de confianza individual = 98,74%

SPME (Fibra) = DVB/CAR/PDMS restado de:

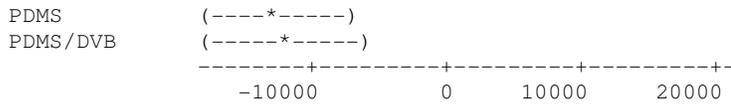
SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PA	-5579	344	6267
PDMS	-18119	-12196	-6273
PDMS/DVB	-17659	-11736	-5813



SPME (Fibra) = PA restado de:

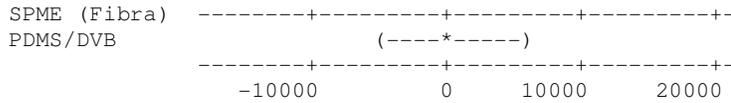
SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS	-18462	-12539	-6616
PDMS/DVB	-18003	-12080	-6157





SPME (Fibra) = PDMS restado de:

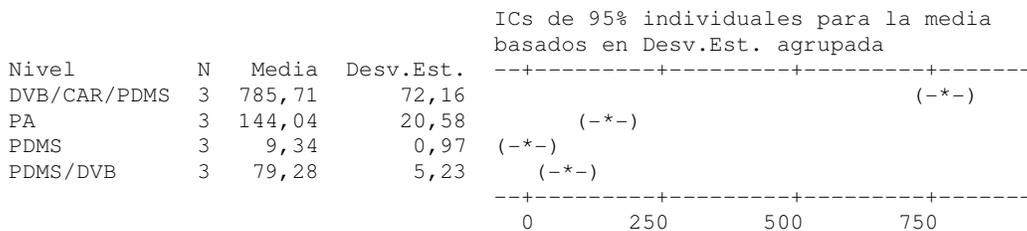
SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS/DVB	-5463	460	6383



ANOVA unidireccional: 2-metilpirazina vs. SPME (Fibra)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
SPME (Fibra)	3	1155572	385191	272,27	0,000
Error	8	11318	1415		
Total	11	1166890			

S = 37,61 R-cuad. = 99,03% R-cuad.(ajustado) = 98,67%



Desv.Est. agrupada = 37,61

Agrupar información utilizando el método de Tukey

SPME (Fibra)	N	Media	Agrupación
DVB/CAR/PDMS	3	785,71	A
PA	3	144,04	B
PDMS/DVB	3	79,28	B C
PDMS	3	9,34	C

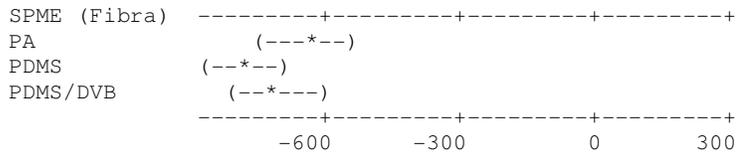
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de SPME (Fibra)

Nivel de confianza individual = 98,74%

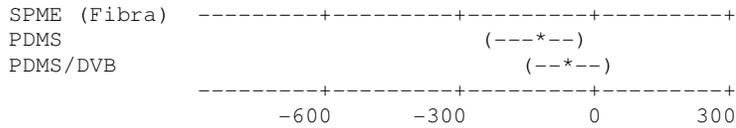
SPME (Fibra) = DVB/CAR/PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PA	-740,04	-641,67	-543,30
PDMS	-874,74	-776,37	-678,00
PDMS/DVB	-804,81	-706,43	-608,06



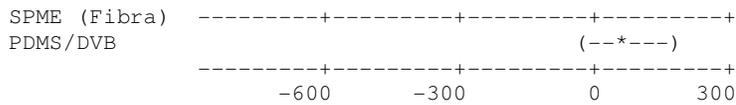
SPME (Fibra) = PA restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS	-233,07	-134,70	-36,33
PDMS/DVB	-163,14	-64,76	33,61



SPME (Fibra) = PDMS restado de:

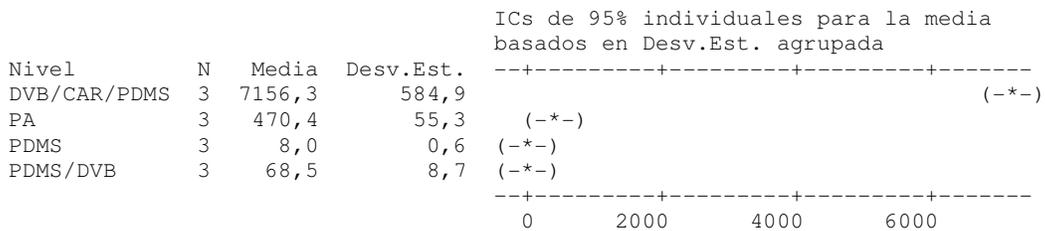
SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS/DVB	-28,44	69,94	168,31



ANOVA unidireccional: 2-furano carbaldehído vs. SPME (Fibra)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
SPME (Fibra)	3	109812449	36604150	424,06	0,000
Error	8	690542	86318		
Total	11	110502991			

S = 293,8 R-cuad. = 99,38% R-cuad.(ajustado) = 99,14%



Desv.Est. agrupada = 293,8

Agrupar información utilizando el método de Tukey

SPME (Fibra)	N	Media	Agrupación
DVB/CAR/PDMS	3	7156,3	A
PA	3	470,4	B
PDMS/DVB	3	68,5	B
PDMS	3	8,0	B

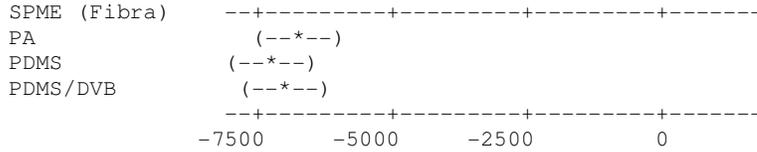
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de SPME (Fibra)

Nivel de confianza individual = 98,74%

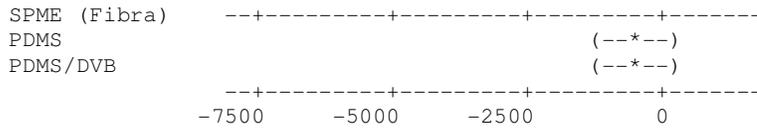
SPME (Fibra) = DVB/CAR/PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PA	-7454,3	-6685,9	-5917,5
PDMS	-7916,8	-7148,4	-6380,0
PDMS/DVB	-7856,2	-7087,8	-6319,4



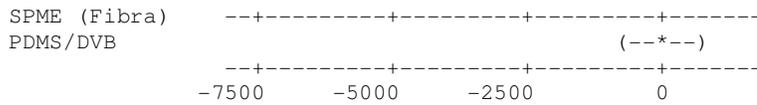
SPME (Fibra) = PA restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS	-1230,8	-462,4	306,0
PDMS/DVB	-1170,3	-401,9	366,5



SPME (Fibra) = PDMS restado de:

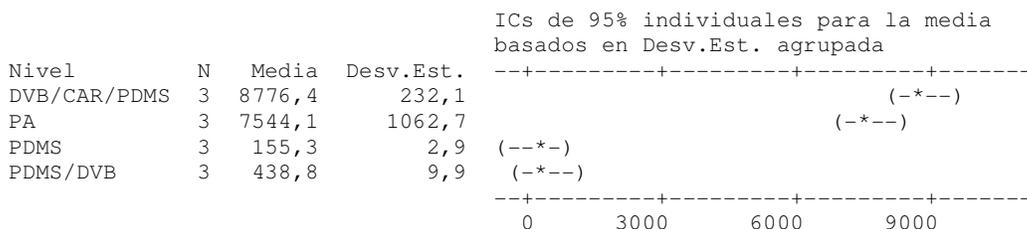
SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS/DVB	-707,8	60,6	829,0



ANOVA unidireccional: Alcohol furfurílico vs. SPME (Fibra)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
SPME (Fibra)	3	187887403	62629134	211,69	0,000
Error	8	2366809	295851		
Total	11	190254212			

S = 543,9 R-cuad. = 98,76% R-cuad.(ajustado) = 98,29%



Desv.Est. agrupada = 543,9

Agrupar información utilizando el método de Tukey

SPME (Fibra)	N	Media	Agrupación
DVB/CAR/PDMS	3	8776	A
PA	3	7544	A
PDMS/DVB	3	439	B
PDMS	3	155	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

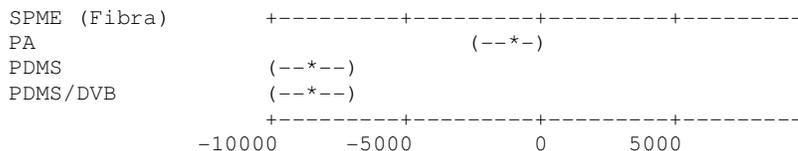
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de SPME (Fibra)

Nivel de confianza individual = 98,74%

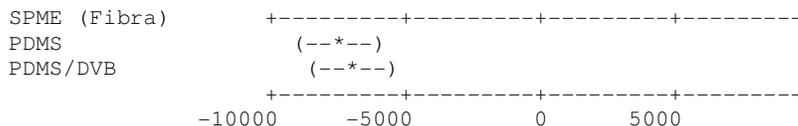
SPME (Fibra) = DVB/CAR/PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PA	-2655	-1232	190
PDMS	-10044	-8621	-7199
PDMS/DVB	-9760	-8338	-6915



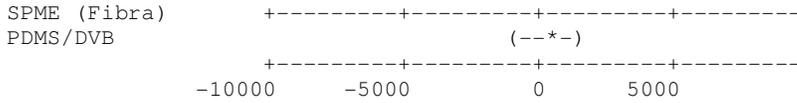
SPME (Fibra) = PA restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS	-8811	-7389	-5966
PDMS/DVB	-8528	-7105	-5683



SPME (Fibra) = PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS/DVB	-1139	284	1706

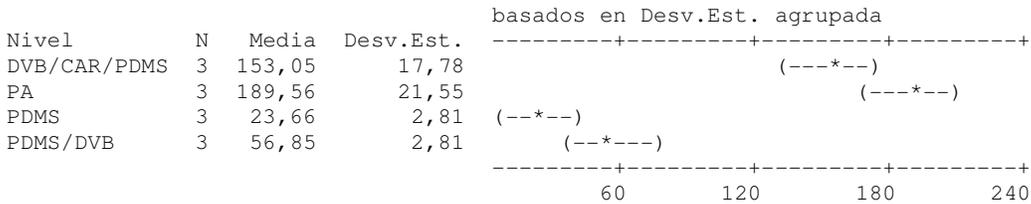


ANOVA unidireccional: 2,6-dimetilpirazina vs. SPME (Fibra)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
SPME (Fibra)	3	55173	18391	92,38	0,000
Error	8	1593	199		
Total	11	56765			

S = 14,11 R-cuad. = 97,19% R-cuad.(ajustado) = 96,14%

ICs de 95% individuales para la media



Desv.Est. agrupada = 14,11

Agrupar información utilizando el método de Tukey

SPME (Fibra)	N	Media	Agrupación
PA	3	189,56	A
DVB/CAR/PDMS	3	153,05	A
PDMS/DVB	3	56,85	B
PDMS	3	23,66	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

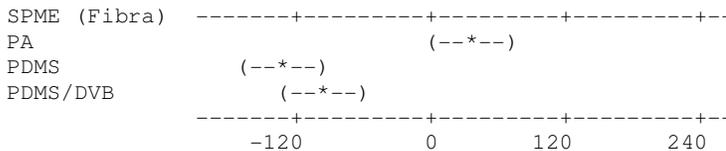
Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%

Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de SPME (Fibra)

Nivel de confianza individual = 98,74%

SPME (Fibra) = DVB/CAR/PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PA	-0,40	36,50	73,41
PDMS	-166,29	-129,39	-92,49
PDMS/DVB	-133,10	-96,20	-59,30



SPME (Fibra) = PA restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS	-202,80	-165,90	-128,99
PDMS/DVB	-169,61	-132,71	-95,81

SPME (Fibra)	-----+-----+-----+-----+---
PDMS	(--*--)
PDMS/DVB	(--*--)
	-----+-----+-----+-----+---
	-120 0 120 240

SPME (Fibra) = PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS/DVB	-3,71	33,19	70,09

SPME (Fibra)	-----+-----+-----+-----+---
PDMS/DVB	(--*--)
	-----+-----+-----+-----+---
	-120 0 120 240

ANOVA unidireccional: 5-Metilfurfural vs. SPME (Fibra)

Fuente	GL	SC	CM	F	P
SPME (Fibra)	3	81290656	27096885	562,20	0,000
Error	8	385585	48198		
Total	11	81676241			

S = 219,5 R-cuad. = 99,53% R-cuad.(ajustado) = 99,35%

				ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada
Nivel	N	Media	Desv.Est.	-----+-----+-----+-----+---
DVB/CAR/PDMS	3	6276,2	417,7	(*-)
PA	3	677,7	135,0	(*-)
PDMS	3	41,4	5,3	(*-)
PDMS/DVB	3	153,9	7,9	(*-)
				-----+-----+-----+-----+---
				0 2000 4000 6000

Desv.Est. agrupada = 219,5

Agrupar información utilizando el método de Tukey

SPME (Fibra)	N	Media	Agrupación
DVB/CAR/PDMS	3	6276,2	A
PA	3	677,7	B
PDMS/DVB	3	153,9	B C
PDMS	3	41,4	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de SPME (Fibra)

Nivel de confianza individual = 98,74%

SPME (Fibra) = DVB/CAR/PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PA	-6172,6	-5598,5	-5024,3
PDMS	-6808,9	-6234,7	-5660,5
PDMS/DVB	-6696,4	-6122,2	-5548,0

```

SPME (Fibra)  -----+-----+-----+-----+---
PA            (---*-)
PDMS          (-*-)
PDMS/DVB     (---*-)
-----+-----+-----+-----+---
           -5000    -2500      0      2500

```

SPME (Fibra) = PA restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS	-1210,4	-636,2	-62,1
PDMS/DVB	-1097,9	-523,8	50,4

```

SPME (Fibra)  -----+-----+-----+-----+---
PDMS          (---*--*)
PDMS/DVB     (---*--*)
-----+-----+-----+-----+---
           -5000    -2500      0      2500

```

SPME (Fibra) = PDMS restado de:

SPME (Fibra)	Inferior	Centro	Superior
PDMS/DVB	-461,7	112,5	686,7

```

SPME (Fibra)  -----+-----+-----+-----+---
PDMS/DVB     (---*--*)
-----+-----+-----+-----+---
           -5000    -2500      0      2500

```

Análisis de varianza en función del método de extracción

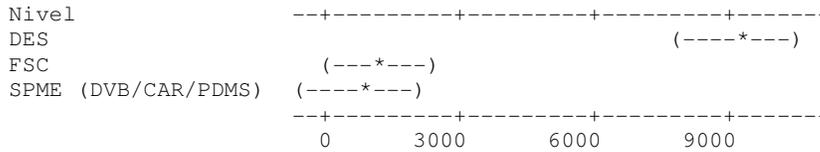
ANOVA unidireccional: 2-metilpirazina vs. Método

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Método	2	134044110	67022055	78,35	0,000
Error	6	5132763	855461		
Total	8	139176873			

S = 924,9 R-cuad. = 96,31% R-cuad.(ajustado) = 95,08%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
DES	3	9162	1597
FSC	3	1180	98
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	786	72

ICs de 95% individuales para la media
basados en Desv.Est. agrupada



Desv.Est. agrupada = 925

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Método	N	Media	Agrupación
DES	3	9162	A
FSC	3	1180	B
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	786	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Método

Nivel de confianza individual = 97,80%

Método = DES restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
FSC	-10300	-7983	-5665
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-10694	-8377	-6059

Método	-+-----+-----+-----+-----			
FSC	(----*----)			
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(----*----)			
	-10500	-7000	-3500	0

Método = FSC restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-2712	-394	1924

Método	-+-----+-----+-----+-----			
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(----*----)			
	-10500	-7000	-3500	0

ANOVA unidireccional: 2-furano carbaldehído vs. Método

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Método	2	880904733	440452366	76,98	0,000
Error	6	34331501	5721917		
Total	8	915236234			

S = 2392 R-cuad. = 96,25% R-cuad.(ajustado) = 95,00%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
DES	3	25695	4093
FSC	3	2910	264
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	7156	585

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	-+-----+-----+-----+-----			
DES	(---*---)			
FSC	(----*----)			
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(---*---)			
	0	8000	16000	24000

Desv.Est. agrupada = 2392

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Método	N	Media	Agrupación
DES	3	25695	A
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	7156	B
FSC	3	2910	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Método

Nivel de confianza individual = 97,80%

Método = DES restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
FSC	-28779	-22786	-16792
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-24533	-18539	-12545

Método	-----+-----+-----+-----+
FSC	(-----*-----)
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)
	-----+-----+-----+-----+
	-20000 -10000 0 10000

Método = FSC restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-1747	4247	10241

Método	-----+-----+-----+-----+
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)
	-----+-----+-----+-----+
	-20000 -10000 0 10000

ANOVA unidireccional: Alcohol furfurílico vs. Método

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Método	2	33740784	16870392	5,54	0,043
Error	6	18270294	3045049		
Total	8	52011078			

S = 1745 R-cuad. = 64,87% R-cuad.(ajustado) = 53,16%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
DES	3	12926	2994
FSC	3	12840	339
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	8776	232

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	-----+-----+-----+-----+
DES	(-----*-----)
FSC	(-----*-----)
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)
	-----+-----+-----+-----+
	7500 10000 12500 15000

Desv.Est. agrupada = 1745

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Método	N	Media	Agrupación
DES	3	12926	A
FSC	3	12840	A
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	8776	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Método

Nivel de confianza individual = 97,80%

Método = DES restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
FSC	-4458	-86	4287
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-8522	-4150	223

Método	-----+-----+-----+-----+-----+-----		
FSC	(-----*-----)		
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)		
	-----+-----+-----+-----+-----+-----		
	-5000	0	5000 10000

Método = FSC restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-8436	-4064	309

Método	-----+-----+-----+-----+-----+-----		
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)		
	-----+-----+-----+-----+-----+-----		
	-5000	0	5000 10000

ANOVA unidireccional: 2,6-dimetilpirazina vs. Método

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Método	2	120837130	60418565	83,99	0,000
Error	6	4316348	719391		
Total	8	125153478			

S = 848,2 R-cuad. = 96,55% R-cuad.(ajustado) = 95,40%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
DES	3	8561,0	1435,2
FSC	3	1637,1	313,3
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	153,1	17,8

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada

Nivel	-----+-----+-----+-----+-----+-----		
DES	(---*---)		
FSC	(---*---)		
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(---*---)		
	-----+-----+-----+-----+-----+-----		
	0	3000	6000 9000

Desv.Est. agrupada = 848,2

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Método	N	Media	Agrupación
DES	3	8561	A
FSC	3	1637	B
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	153	B

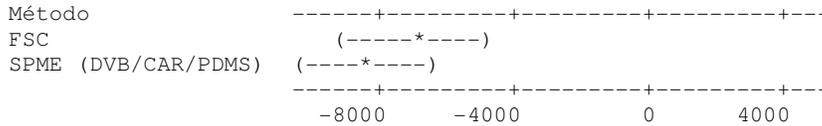
Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
 Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Método

Nivel de confianza individual = 97,80%

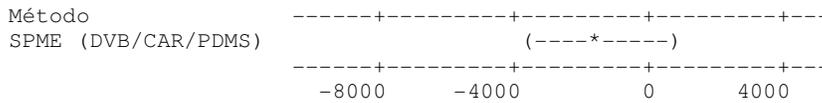
Método = DES restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
FSC	-9049	-6924	-4799
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-10533	-8408	-6283



Método = FSC restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-3609	-1484	641



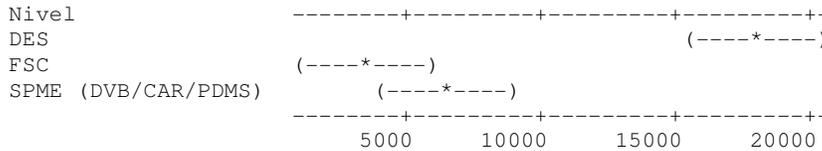
ANOVA unidireccional: 5-Metilfurfural vs. Método

Fuente	GL	SC	CM	F	P
Método	2	358991796	179495898	57,82	0,000
Error	6	18627594	3104599		
Total	8	377619390			

S = 1762 R-cuad. = 95,07% R-cuad.(ajustado) = 93,42%

Nivel	N	Media	Desv.Est.
DES	3	17913	2995
FSC	3	3266	409
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	6276	418

ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada



Desv.Est. agrupada = 1762

Agrupar información utilizando el método de Tukey

Método	N	Media	Agrupación
DES	3	17913	A
SPME (DVB/CAR/PDMS)	3	6276	B
FSC	3	3266	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Intervalos de confianza simultáneos de Tukey del 95%
Todas las comparaciones de dos a dos entre los niveles de Método

Nivel de confianza individual = 97,80%

Método = DES restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
FSC	-19062	-14647	-10232
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-16052	-11637	-7222

Método	-----+-----+-----+-----+-----+-----
FSC	(-----*-----)
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)
	-----+-----+-----+-----+-----+-----
	-14000 -7000 0 7000

Método = FSC restado de:

Método	Inferior	Centro	Superior
SPME (DVB/CAR/PDMS)	-1405	3010	7425

Método	-----+-----+-----+-----+-----+-----
SPME (DVB/CAR/PDMS)	(-----*-----)
	-----+-----+-----+-----+-----+-----
	-14000 -7000 0 7000

Análisis de componente principal: Piridina. 2-Metiltetra. 2-metilpiraz. 2-furan

Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Valor propio	12,312	1,854	0,675	0,158	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Proporción	0,821	0,124	0,045	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Acumulada	0,821	0,944	0,989	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Valor propio	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000
Proporción	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000	-0,000
Acumulada	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
Piridina	0,231	0,343	0,322	-0,594
2-Metiltetrahidrofuran-3-ona	0,274	-0,195	-0,086	0,108
2-metilpirazina	0,277	-0,170	-0,068	0,004
2-furanocarboxaldehído	0,276	-0,144	0,156	-0,212
Alcohol furfúrico	0,217	0,442	0,169	0,480
1-Hidroxi-2-propanona acetato	0,280	-0,086	-0,127	0,291
1-(2-furanil)-etanona	0,282	-0,068	-0,117	0,094
2,6-dimetilpirazina	0,276	-0,141	-0,178	0,089
Etilpirazina	0,280	0,098	-0,125	-0,166
2,3-dimetilpirazina	0,281	-0,118	0,036	-0,121
5-metilfurfural	0,277	-0,088	0,194	-0,278
Furfuril acetato	0,279	0,061	-0,220	0,025
2-etil-6-metilpirazina	0,278	-0,105	-0,212	0,039
1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona	0,218	0,351	0,499	0,327
Cafeína	0,020	0,631	-0,611	-0,171

Análisis de componente principal: Piridina. 2-Metiltetra. 2-metilpiraz. 2-furan

Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Valor propio	12,308	1,324	0,248	0,119	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Proporción	0,879	0,095	0,018	0,009	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Acumulada	0,879	0,974	0,991	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Valor propio	0,000	0,000	-0,000	-0,000	-0,000
Proporción	0,000	0,000	-0,000	-0,000	-0,000
Acumulada	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
Piridina	0,230	-0,462	0,314	0,586
2-Metiltetrahidrofuran-3-ona	0,274	0,230	0,029	-0,195
2-metilpirazina	0,277	0,200	0,070	-0,087
2-furanocarboxaldehído	0,276	0,105	0,420	-0,081
Alcohol furfúrico	0,217	-0,531	-0,411	-0,228
1-Hidroxi-2-propanona acetato	0,280	0,125	-0,204	-0,231
1-(2-furanil)-etanona	0,282	0,104	-0,130	-0,028
2,6-dimetilpirazina	0,277	0,201	-0,136	-0,028
Etilpirazina	0,280	-0,067	-0,199	0,396
2,3-dimetilpirazina	0,281	0,113	0,202	-0,021
5-metilfurfural	0,278	0,034	0,442	-0,004
Furfuril acetato	0,279	-0,001	-0,362	0,272
2-etil-6-metilpirazina	0,278	0,173	-0,196	0,092
1-(1H-pirrol-2-yl)-etanona	0,218	-0,534	0,167	-0,508

Análisis de componente principal: Ácido acético. 2-metilpiraz. 2-furanocarb. Alc

Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Valor propio	4,4309	1,1323	0,4037	0,0330	0,0000	-0,0000
Proporción	0,738	0,189	0,067	0,006	0,000	-0,000
Acumulada	0,738	0,927	0,994	1,000	1,000	1,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
Ácido acético	-0,125	-0,872	0,409	0,232
2-metilpirazina	0,469	0,092	0,171	0,383
2-furanocarboxaldehído	0,466	-0,046	0,283	-0,310
Alcohol furfurílico	0,336	-0,447	-0,824	-0,033
2,6-dimetilpirazina	0,467	0,138	0,039	0,597
5-metilfurfural	0,466	-0,096	0,210	-0,588

Análisis de componente principal: 2-metilpiraz. 2-furanocarb. Alcohol furf. 2,6

Análisis de los valores y vectores propios de la matriz de correlación

Valor propio	4,3772	0,5442	0,0778	0,0008	0,0000
Proporción	0,875	0,109	0,016	0,000	0,000
Acumulada	0,875	0,984	1,000	1,000	1,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
2-metilpirazina	0,469	-0,238	-0,295	-0,470
2-furanocarboxaldehído	0,470	-0,176	0,426	-0,491
Alcohol furfurílico	0,347	0,931	-0,082	-0,073
2,6-dimetilpirazina	0,465	-0,197	-0,641	0,421
5-metilfurfural	0,471	-0,080	0,561	0,596