

**Transformación y agroindustria**

Artículos de investigación científica y tecnológica

# Identificación de adulteraciones en café tostado mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas

Identification of adulterations in roasted coffee by gas chromatography coupled with mass spectrometry

 Joseph David Campoverde León<sup>1</sup>  Kaila Santín<sup>1</sup>  Jorge G. Figueroa<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador

\*Autor por correspondencia: Universidad  
Técnica Particular de Loja (UTPL) San  
Cayetano Alto, Loja, Ecuador.  
[jfigueroa@utpl.edu.ec](mailto:jfigueroa@utpl.edu.ec)

Recibido: 30 de septiembre de 2020  
Aprobado: 27 de julio de 2021  
Publicado: 24 de enero de 2022

Editor temático: Jader Rodríguez Cortina  
Corporación Colombiana de Investigación  
Agropecuaria [AGROSAVIA]

Para citar este artículo: Campoverde León, J. D., Santín K., & Figueroa J. G. (2022). Identificación de adulteraciones en café tostado mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(1), e2265 [https://doi.org/10.21930/rcta.vol23\\_num1\\_art:2265](https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num1_art:2265)

**Resumen:** En el mundo, el café es el segundo producto más comercializado después del petróleo. Sin embargo, debido a su elevado precio, suele ser adulterado con materiales de menor costo. El objetivo de la presente investigación fue desarrollar un método basado en la combinación de las técnicas de microextracción de fase sólida (SPME) con la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y el análisis de componentes principales (PCA), para detectar la presencia de haba y/o cebada en café tostado. Además, se optimizó la SPME de compuestos volátiles del café, mediante la metodología de superficie de respuesta. Respecto al método de extracción, se encontró que las condiciones óptimas fueron 16 y 35 min, para el tiempo de equilibrio y extracción, respectivamente. Por otra parte, se identificaron 44, 36 y 24 compuestos, en café, cebada y haba, respectivamente. De acuerdo con nuestro conocimiento, es el primer estudio respecto a la identificación de compuestos volátiles en haba tostada. Finalmente, el método desarrollado permitió detectar la probable presencia de haba en cuatro muestras comerciales de café. Además, se descartó la presencia de cebada en estas muestras.

**Palabras clave:** análisis de componentes, cebada, cereales, compuestos orgánicos volátiles, haba, microextracción en fase sólida, optimización

**Abstract:** Globally, coffee is the second most commercialized product after crude oil. Nevertheless, due to its high price, this product is usually adulterated with lower-cost products. The objective of the present study was to develop a method based on the combination of solid phase microextraction (SPME) with gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) and principal component analysis (PCA), to detect the presence of faba beans and/or barley in roasted coffee. In addition, the SPME of volatile coffee compounds was optimized using the response surface methodology. The optimized SPME conditions were 16 min as conditioning time and 35 min as extraction time. Besides, 44, 36 and 24 compounds were identified, in coffee, barley and bean, respectively. Finally, the developed method allowed detecting the probable presence of faba bean in four commercial coffee samples. To our knowledge, this is the first time that volatile compounds have been described in roasted faba bean. In addition, the presence of barley in these samples was ruled out.

**Keywords:** barley, cereals, faba bean, component analysis, optimization, organic volatile compounds, solid phase microextraction



## Introducción

El café es una de las bebidas de mayor consumo en el mundo y es el segundo producto básico más comercializado (Souto et al., 2015). Por lo tanto, es un rubro económico muy importante en los países involucrados en su producción y exportación (Toci et al., 2016). En el año 2018, la producción mundial de café fue de 10,3 millones de toneladas (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2020), con un incremento de 3,7 % respecto al periodo anterior. Además, se ha evidenciado en los últimos años que ha existido un aumento en el precio del café (International Coffee Organization, 2018). Todo esto ha contribuido a un incremento en la adulteración de este producto, con la finalidad de aumentar la rentabilidad económica durante su comercialización. Según Bansal et al. (2017), un alimento puede declararse adulterado si una sustancia más barata o de calidad inferior es añadida al alimento para aumentar el volumen o el peso. La adulteración se realiza por lo general luego de los procesos de torrefacción y molienda. De esta manera, el color y el tamaño de las partículas de los elementos adulterantes tostados son difíciles de diferenciar o detectar a simple vista (Song et al., 2019).

La adulteración del café tostado es frecuente. Por ejemplo, en un estudio realizado en Brasil, se encontró que el 2 % de 2.400 muestras evaluadas presentaron adulterantes (Toci et al., 2016). Los principales materiales utilizados para este propósito son: soja (Pauli et al., 2014), trigo (Pauli et al., 2014; Sezer et al., 2018), cebada (Oliveira et al., 2009), maíz (Jham et al., 2007; Sezer et al., 2018), arroz (Cai et al., 2016), garbanzo (Sezer et al., 2018), subproductos del café (Aquino et al., 2014; Souto et al., 2015; Tavares et al., 2016), entre otros. Sin embargo, los diversos estudios relacionados con la identificación de adulterantes se han limitado a identificar un adulterante, y son pocos los estudios que detectan más de un adulterante de forma simultánea.

En Ecuador se consume un sucedáneo de café a partir de haba (*Vicia faba*), principalmente por no presentar cafeína y su bajo costo (Villarreal, 2013). Además, también se utiliza esta leguminosa para adulterar café (datos no publicados). Sin embargo, no se ha podido localizar ningún estudio enfocado a detectar la adulteración del café con haba. En este contexto, en la presente investigación se utilizaron como adulterantes haba —*Vicia faba* L. (Fabaceae)— y cebada —*Hordeum vulgare* L. (Poaceae)—, por su bajo costo. Además, porque cuando están tostados tienen un aspecto parecido al café tostado y molido, de tal manera que pasan inadvertidos en una mezcla.

Con el paso del tiempo se ha desarrollado una amplia variedad de métodos para detectar adulterantes en café. Por ejemplo, cuantificación de metales por absorción atómica y emisión óptica de plasma de acoplamiento inductivo (Sezer et al., 2018); medición del espectro de absorción (240-400 nm) (Souto et al., 2015); evaluación de  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, y  $\delta$ -tocoferoles por cromatografía líquida de alta resolución (Jham et al., 2007); análisis por resonancia magnética nuclear de protones (de Moura et al., 2017); espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (Reis et al., 2017); compuestos volátiles mediante SPME-GC-MS (Oliveira et al., 2009), entre otros. De todas estas opciones, la alternativa de SPME-GC-MS es sin duda la metodología más sencilla, debido a que la extracción de los analitos de interés se realiza sin uso de solventes, de tal manera que no es necesario realizar etapas posteriores de eliminación de solventes y/o concentración. Por estos motivos, esta técnica se seleccionó en la presente investigación para

identificar adulterantes en café. El objetivo de esta investigación fue identificar la adulteración de café tostado y molido, con haba, cebada y mezclas de estos materiales, mediante microextracción en fase sólida combinada con cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas.

## **Materiales y métodos**

### **Muestras**

Para optimizar el método de microextracción en fase sólida de compuestos volátiles se trabajó con café de la especie *Coffea arabica* L. (Rubiaceae), que fue adquirido en la empresa FAPECAFES. La selección de los granos verdes de café se realizó de acuerdo con su tamaño con la finalidad de que el tostado resultara homogéneo. La selección se hizo en un juego de zarandas (Penagos Clausen, Colombia). Se trabajó con los tamices 12 y 18, equivalentes a 5,95 y 6,75 mm, respectivamente.

Adicionalmente, para el desarrollo del método de identificación de adulterantes, se analizaron muestras de café, haba y cebada por separado. El haba y la cebada fueron adquiridas en comercios de la ciudad de Loja, Ecuador. Además, se realizaron en el laboratorio mezclas de café con cebada y café con haba, en proporciones de 30 %, 40 % y 50 % de cada adulterante respecto del café. También se prepararon las siguientes combinaciones: 20 % de haba, 20 % de cebada y 60 % de café, y 25 % de haba, 25 % de cebada y 50 % de café. Finalmente, con el propósito de identificar la posible presencia de adulterantes en muestras comerciales, se adquirieron cuatro productos comerciales de café tostado en diferentes comercios de la localidad.

### **Mezclado**

El mezclado del café con sus adulterantes se realizó en un mezclador en V. Previamente, se determinó el tiempo óptimo de mezclado, para lo cual se evaluaron siete tiempos de mezclado: 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 min. La cantidad de la muestra fue 200 g. Se trabajó con proporciones de 20 %, 30 %, 40 % y 50 % de cada adulterante respecto del café. Como variable respuesta se utilizó la desviación estándar relativa del potencial eléctrico de cinco repeticiones. Para medir esta propiedad, se realizó una maceración dinámica de 10 g de muestra con 100 mL de agua destilada durante 30 min y, luego de 10 min de reposo, se decantó e inmediatamente se midió el potencial eléctrico del sobrenadante con un pH-metro (S210, Mettler Toledo, Alemania).

Una vez determinado el tiempo óptimo de mezclado (5 min), se mezcló café, cebada y/o haba de acuerdo con las proporciones detalladas en el apartado anterior, para obtener de cada mezcla una cantidad total de 200 g.

### **Tostado y molido**

Las muestras de café, cebada, haba y las mezclas generadas en el laboratorio fueron tostadas de acuerdo con el protocolo descrito por Figueroa y Vargas (2016). Brevemente, 100 g de muestra

se colocaron en el tostador (Quantik, TC 300 A R/G, USAID), a una temperatura de 150° C, el tostado duró entre 8 y 12 min, hasta obtener un color igual al disco #55 perteneciente a la escala Roast Color Classification System (Internatinal Trade Centre, 2011), la temperatura final no superó los 200 °C. Las muestras tostadas fueron conservadas en recipientes herméticos hasta su análisis. Después del tostado, las muestras de café, cebada, haba y mezclas se molieron usando un molino ultracentrífugo ZM200 (Retsch GmbH, Alemania). Luego de esto, se procedió a tamizarlas trabajando con un tamaño de partícula  $\leq 500 \mu\text{m}$ .

### **Optimización del proceso de microextracción en base sólida (SPME)**

La optimización de la extracción de compuestos volátiles de café tostado mediante la técnica de SPME, se realizó mediante la metodología de superficie de respuesta con un diseño central compuesto, procedimiento muy utilizado cuando se trabaja con dos variables independientes (Bezerra et al., 2008). Se seleccionaron el tiempo de equilibrio y el tiempo de extracción como variables independientes, y la concentración de ácido acético, 2-metil pirazina, furfural, alcohol furfurílico, 2,6-dimetilpirazina y 5-metilfurfural como variables respuesta.

Para la extracción, en un vial ámbar de 15 mL se colocaron 2 g de café tostado, 5 mL de una solución saturada de cloruro de sodio en agua destilada (precalentada a 93 °C). Además, se colocó una barra magnética de 10 mm para asegurar una agitación constante durante el proceso de extracción. Se usó una fibra divinilbenceno/carboxen/polidimetilsiloxano (DVB/CAR/PDMS) 50/30  $\mu\text{m}$  (modelo 57348-U, Supelco Inc., USA), combinación que permite obtener un perfil aromático representativo en muestras de café (Figueroa & Vargas, 2016). El equilibrio del espacio de cabeza y extracción se realizó a 93 °C. Los tiempos de equilibrio y extracción se detallan en la (tabla 1). Posteriormente, una vez cumplido el tiempo de extracción se retiró la fibra e inmediatamente se colocó en el puerto de inyección del cromatógrafo de gases, previamente acondicionado a 250 °C, donde se mantuvo la fibra durante 5 min.

### **Caracterización del perfil volátil por GC-MS**

Una vez determinada las condiciones óptimas de SPME de compuestos volátiles de café, se utilizó estas condiciones para analizar el perfil volátil de todas las muestras tostadas (café, cebada, haba y sus mezclas) y los productos comerciales. Los análisis se realizaron por triplicado. Se utilizó un cromatógrafo de gases (Agilent 6890, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) equipado con espectrómetro de masas (Agilent 5973N, Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). El manejo y el análisis de los datos se realizaron a través del programa MSD ChemStation D.01.00 SP1. Se usó una columna capilar de polímero de fenil arileno equivalente a (5 % fenil)-metilpolisiloxano (30 m  $\times$  0,25 mm  $\times$  0,25  $\mu\text{m}$ ) con un flujo de 1 mL/min de helio, con pureza igual o superior a 99,999 % (Indura, Ecuador). Se utilizaron las condiciones cromatográficas descritas por Franca et al. (2009). La integración de las áreas se hizo utilizando el cromatograma de iones totales, a través del programa MSD ChemStation. El espectrómetro de masas se configuró para monitorear un rango de masas entre 40-200 m/z, con un voltaje de ionización de 70 eV y corriente de ionización de 10  $\mu\text{A}$ . Las temperaturas de la línea de transferencia, cuadrupolo y fuente de iones fueron 250 °C, 150 °C y 230 °C, respectivamente. La identificación de compuestos se realizó de acuerdo con lo descrito por Figueroa y Vargas (2016):

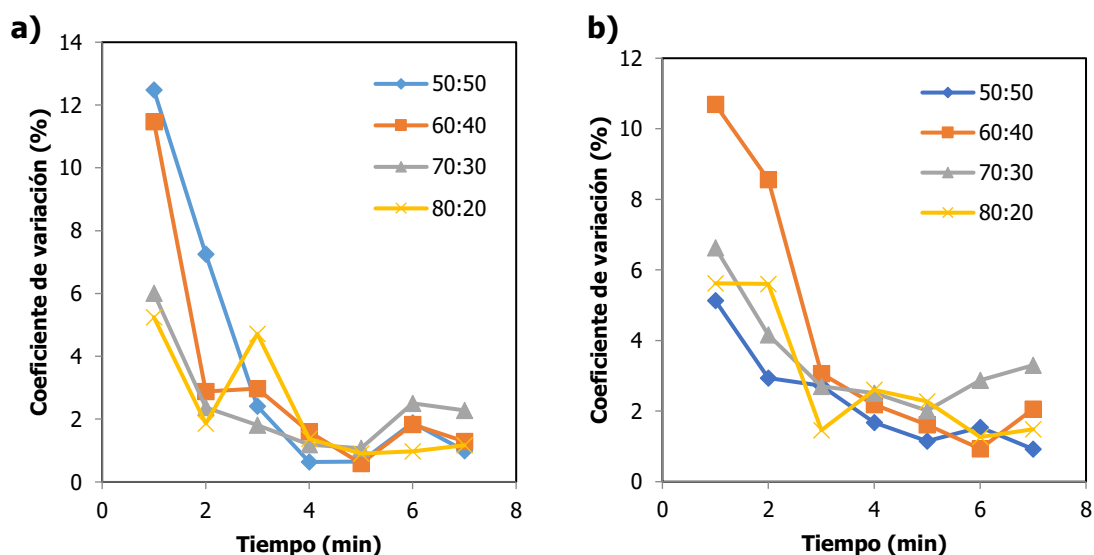
- a) Comparación de los espectros de masas con la biblioteca de espectros de masas Wiley séptima edición. Con este fin, el programa MSD ChemStation realiza la comparación y con base en el nivel de similitud de los espectros de masas se calcula el índice de similitud (QM). Los compuestos se consideran identificados con un QM mayor al 80 %.
- b) Cálculo del índice de Kovats (IK) utilizando como patrón una mezcla de hidrocarburos (C5 a C20) y posterior comparación con referencias bibliográficas. En este caso, los compuestos se consideraron identificados cuando el IK no difiere en  $\pm 20$  con valores de las referencias bibliográficas.

### **Análisis estadístico**

Para optimizar el proceso de extracción se utilizó la metodología de superficie de respuesta con un diseño central compuesto. Respecto a la identificación de adulterantes, se realizó un análisis de componentes principales (PCA), empleando las señales (áreas del pico del cromatograma de iones totales) registradas de los compuestos: 3-metilbutanal, 2-metilbutanal, 2-metiltetrahidrofurano-3-ona, furfural, alcohol furfurílico, 5-metilfurfural, furfural acetato, 4-hidroxi-3-metilacetofenona y 2-metoxi-4-vinilfenol. El programa estadístico Minitab 16 (PA, USA) se empleó para llevar a cabo todos los análisis estadísticos.

### **Resultados y discusión**

En esta investigación se desarrolló un método para identificar la adulteración de café con haba, cebada y la combinación de las dos. Sin embargo, al tratarse de materiales sólidos, es necesario optimizar el tiempo de mezclado entre ellos para obtener muestras homogéneas que nos permitan alcanzar resultados reproducibles. En este sentido, se prepararon muestras de café con cebada y café con haba con diferentes tiempos de mezclado y se utilizó como variable respuesta la desviación estándar relativa del potencial eléctrico. En las figuras 1a y 1b se presentan los resultados alcanzados para el haba y la cebada, respectivamente.



**Figura 1.** Tiempo óptimo de mezclado. a. Café con haba; b. Café con cebada.

Fuente: Elaboración propia

En la figura 1 se puede apreciar un comportamiento habitual en la mezcla de sólidos, donde la variable respuesta disminuye hasta alcanzar el tiempo óptimo de mezclado, y con tiempos más prolongados la homogeneidad de la mezcla disminuye. En tal sentido, el tiempo óptimo para las diferentes mezclas se encontró entre 4 y 6 min. Sin embargo, para el 60 % de las mezclas evaluadas, el tiempo óptimo de mezclado fue de 5 min. Por lo tanto, se seleccionó este tiempo para preparar todas las muestras.

### Optimización de la extracción de compuestos volátiles

Previo al estudio de detección de adulterantes en café, se optimizó el proceso de SPME mediante la metodología de superficie de respuesta (RSM). Las principales variables que afectan a esta técnica para la extracción de compuestos volátiles del café son: material de la fibra, cantidad de muestra, velocidad de agitación, temperatura de extracción, adición de soluto (cloruro de sodio), tiempo de equilibrio y tiempo de extracción. Respecto al material de la fibra, se seleccionó la fibra tres fases DVB/CAR/PDMS, debido a que esta combinación permite obtener un perfil aromático representativo del café, mejor que el que se puede obtener con fibras de PDMS, PDMS/DVB, PA (Figueroa & Vargas, 2016).

Asimismo, Risticovic et al. (2008) optimizaron una metodología para maximizar la extracción de compuestos volátiles de café, y encontraron que las variables cantidad de muestra y velocidad de agitación no presentaron efecto significativo. De tal forma que estos parámetros se mantuvieron constantes, con valores de 2 g de café y una velocidad de agitación de 500 rpm. Además, en estudios previos se ha encontrado que el uso de altas temperaturas maximiza la extracción de compuestos volátiles del café (Costa et al., 2001; Risticovic et al., 2008). Por lo tanto, se utilizó

como temperatura de extracción 93 °C, condición que se usa en la catación de café (Specialty Coffee Association, 2003).

Finalmente, en pruebas preliminares, se evaluó el efecto del tiempo de equilibrio, tiempo de extracción y adición de cloruro de sodio (solución sin sal - solución saturada) mediante RSM, y se encontró que solo las dos primeras variables presentaron efecto significativo. Por lo cual, la adición de soluto se fijó en su máximo valor (solución saturada de NaCl). En este contexto, se seleccionó como variables independientes el tiempo de equilibrio y el tiempo de extracción. Los rangos evaluados para estas dos variables se definieron con base en estudios previos (tabla 1).

Respecto a las variables respuesta, Korhoňová et al. (2009) encontraron en su estudio estadístico sobre el aroma del café que los compuestos: ácido acético, 2-metil pirazina, furfural, alcohol furfurílico, 2,6-dimetilpirazina y 5-metilfurfural, proveen suficiente información para diferenciar 30 muestras de café. En este sentido, se seleccionó la concentración de estos compuestos (áreas) como variables respuesta. Los resultados alcanzados con las distintas condiciones se muestran en la tabla 1.

**Tabla 1.** Diseño central compuesto para optimizar la SPME

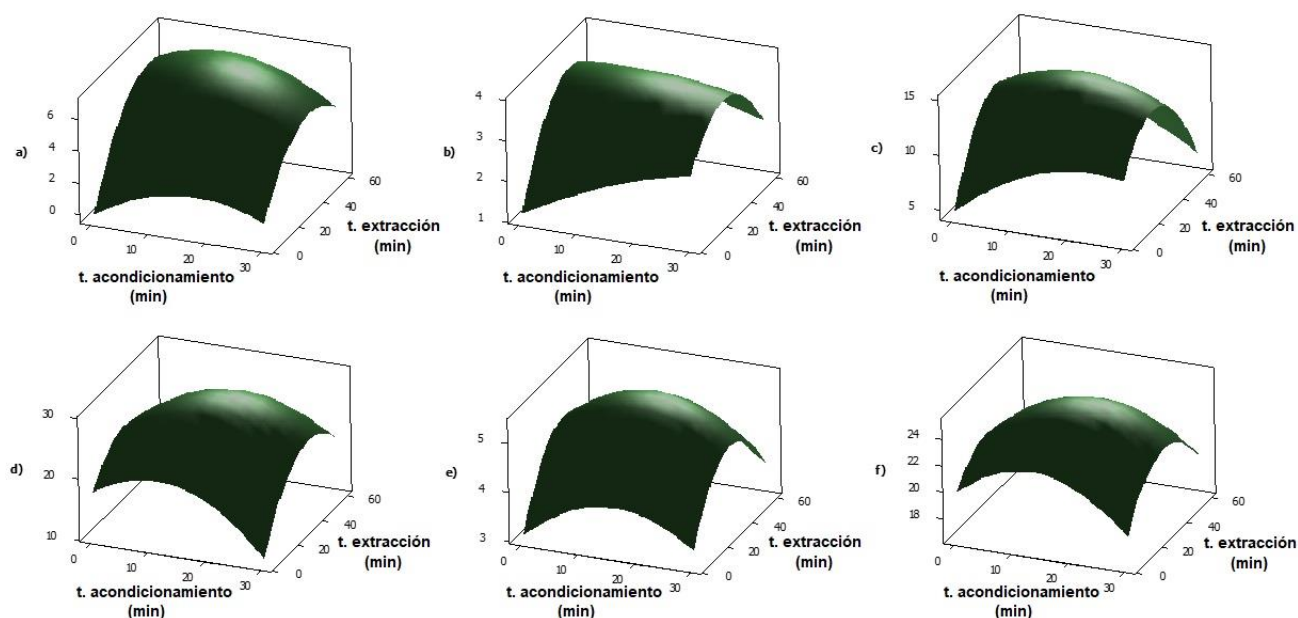
Tiempo de equilibrio (min)	Tiempo de extracción (min)	Área de pico x 10 <sup>6</sup>					
		Ácido acético	2-metil pirazina	Furfural	Alcohol furfurílico	2.6-dimetil pirazina	5-metil furfural
15	2	2,7	1,9	7,8	19,3	3,5	22,4
26	10	2,9	3,4	13,4	21,0	4,7	21,7
15	60	5,4	2,8	8,6	19,7	4,5	20,0
15	31	7,5	3,8	13,8	31,0	5,4	24,8
15	31	5,0	3,9	15,5	27,6	5,7	25,1
15	31	7,8	3,7	14,3	29,6	5,3	24,7
4	52	6,6	3,6	12,8	24,5	4,6	21,5
4	10	1,9	2,6	11,4	24,6	4,5	22,6
26	52	6,1	3,2	10,8	26,7	4,6	22,4
15	31	6,9	3,5	15,1	28,8	5,6	26,3
15	31	4,9	3,9	15,3	28,0	4,8	24,3
30	31	4,6	3,7	12,9	20,4	4,4	22,2
0	31	5,4	3,1	10,5	20,7	4,5	21,2
<b>Modelo matemático</b>							
Falta de ajuste		0,74	0,15	0,05	0,05	0,35	0,42
R <sup>2</sup>		75 %	91 %	82 %	78 %	76 %	89 %
<b>Coefficientes</b>							
b <sub>0</sub>		-0,77	0,883	3,74	16,42	2,913	19,38
b <sub>1</sub>		0,245	0,0838	0,453	0,62	0,1042	0,358
b <sub>2</sub>		0,2775	0,1253	0,4759	0,484	0,0985	0,2068
b <sub>1</sub> <sup>2</sup>		-0,00664	-0,000878	-0,009	-0,02828	-0,00321	-0,01351
b <sub>2</sub> <sup>2</sup>		-0,00291	-0,001483	-0,00657	-0,00881	-0,001394	-0,004209

$b_1b_2$	-0,00172	-0,001379	-0,0046	0,00667	-0,00023	0,00207
<b>Optimización</b>						
Deseabilidad	0,79	0,94	0,90	0,83	0,85	0,79
Deseabilidad compuesta	0,85					
<b>Condiciones óptimas</b>	Tiempo de equilibrio: 16 min			Tiempo de extracción: 35 min		
Modelo	6,7 <sup>a</sup>	3,8 <sup>a</sup>	14,7 <sup>a</sup>	28,9 <sup>a</sup>	5,4 <sup>a</sup>	24,9 <sup>a</sup>
Experimental (n = 3)	7,2±0,6 <sup>a</sup>	3,9±0,3 <sup>a</sup>	15,0±0,8 <sup>a</sup>	29,4±1,2 <sup>a</sup>	5,7±0,5 <sup>a</sup>	24,8±0,9 <sup>a</sup>

Nota: Las medias dentro de una fila seguidas de la misma letra minúscula no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ) según la prueba t de Student.  $b_0$  = término constante;  $b_1$  = tiempo de equilibrio;  $b_2$  = tiempo de extracción.

Fuente: Elaboración propia

Como se puede apreciar en la figura 2, las variables independientes tiempo de equilibrio y tiempo de extracción presentaron efecto significativo cuadrático para los distintos compuestos marcadores evaluados. Además, se aprecia que se maximiza la concentración (áreas) con valores cercanos al punto central de 15 min y 31 min, para el tiempo de equilibrio y el tiempo de extracción, respectivamente.



**Figura 2.** Superficie de respuesta para la SPME de compuestos marcadores. a. Ácido acético; b. 2-metil pirazina; c. Furfural, d. Alcohol furfurílico; e. 2,6-dimetilpirazina; f. 5-metilfurfural.

Fuente: Elaboración propia

Las variables respuesta se ajustaron a una ecuación polinomial de segundo orden (ecuación 1) estimada por el RSM, de manera que los modelos encontrados presentaron una alta correlación entre los factores y la variable respuesta. Además, para todos los compuestos se encontró un



buen ajuste del modelo matemático. Los coeficientes para cada compuesto se presentan en la tabla 1.

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{12}x_1x_2 \quad \text{Ecuación 1}$$

Modelo matemático para optimizar el proceso de extracción.

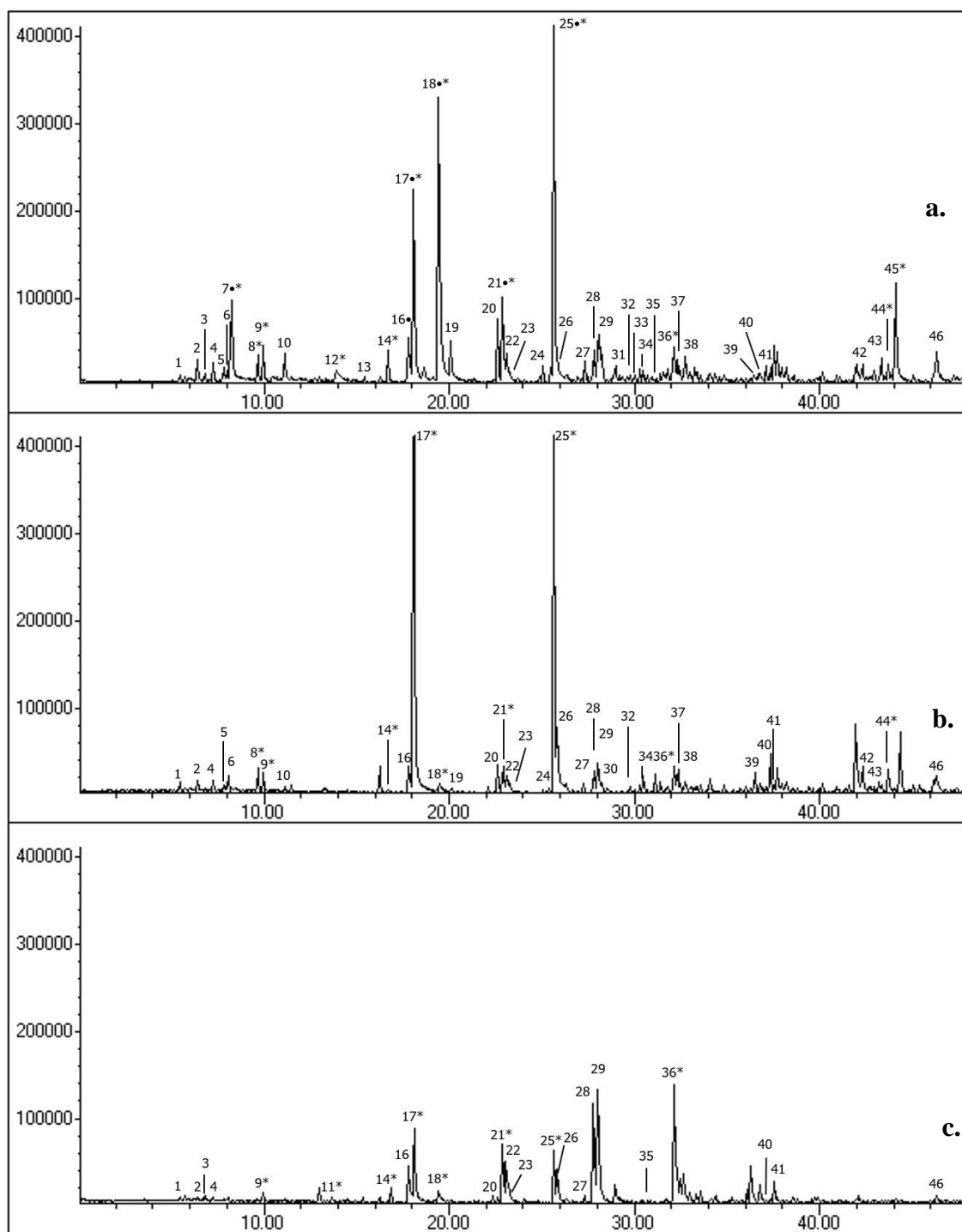
Donde  $y$  representa la variable respuesta (áreas),  $x_1$  y  $x_2$  son las variables independientes tiempo de equilibrio y tiempo de extracción, respectivamente. Los coeficientes del modelo se presentan como:  $b_0$ ,  $b_1$ ,  $b_2$ ,  $b_{11}$ ,  $b_{22}$  y  $b_{12}$ .

Para optimizar las condiciones de extracción, se utilizó la función deseabilidad. Los resultados para cada compuesto se presentan en la tabla 1, siendo la deseabilidad compuesta de 0,85. En este sentido, las condiciones óptimas para el tiempo de equilibrio y el tiempo de extracción fueron 16 min y 35 min, respectivamente. Además, para comprobar la validez del modelo matemático, se ensayó el proceso de SPME de compuestos volátiles del café con las condiciones óptimas; los valores encontrados se detallan en la tabla 1. En este sentido, no existió diferencia estadística entre los valores predichos y los experimentales, lo cual confirma la validez de los modelos encontrados.

### Identificación de compuestos por CG-MS

Una vez optimizado el proceso de SPME de los compuestos volátiles del café, se realizó la caracterización del perfil volátil del café, la cebada y el haba, mediante GC-MS (figura 3). La identificación se realizó con base en el índice de similitud (QM) y el índice de Kovats (IK) (Figueroa & Vargas, 2016). Se encontró que todos los compuestos presentaron un QM superior a 80. Sin embargo, se confirmó la identidad de los analitos a través del IK. Los valores experimentales y de referencia se detallan en la tabla 2. Cabe indicar que no se pudo localizar un IK (columna no polar) para el 2-(metoximetil)-furano. Por lo tanto, esta investigación se convierte en la primera referencia para este compuesto.

En total se identificaron 46 compuestos, los cuales fueron clasificados en 11 grupos, siendo los furanos, pirazinas, aldehídos, cetonas, fenoles y pirroles los grupos mayoritarios con 12, 7, 5, 5, 5 y 5 compuestos, respectivamente. Estos grupos han sido detectados previamente en el perfil volátil del café tostado (Flament, 2001). En el café se identificaron 45 compuestos, 44 de estos fueron previamente descritos por Flament (2001) y Risticovic et al. (2008). Sin embargo, el pentilbenceno fue identificado en café tostado por primera vez. Respecto a la cebada, se identificaron 36 compuestos, de los cuales el 1-(acetiloxi) acetato-2-propanona, 4-metil-3-pentanona, 2-formil-1-metilpirrol, 3,3,5-trimetilciclohexeno, 2-[(2-furilmetoxi) metil] furano, 4-hidroxi-3-metilacetofenona y eugenol, fueron identificados por primera vez en cebada. Además, el 2-propionilfurano fue identificado previamente, pero en cebada malteada (Beal & Mottram, 1994). El resto de compuestos han sido detectados en cebada por Bianchi et al. (2007), Maga (1978), Majcher et al. (2013), Oliveira et al. (2009) y Wang et al. (1968).



**Figura 3.** Cromatograma de iones totales. a. Café tostado; b. Cebada tostada; c. Haba tostada. • Compuestos utilizados para la optimización del método de SPME. \* Compuestos marcadores utilizados para el PCA.

Fuente: Elaboración propia

Finalmente, en el haba se identificaron 24 compuestos (tabla 2), los cuales fueron identificados por primera vez en haba tostada. Únicamente el 2-propanona, 2-metil propanal, 2-metilbutanal

y benzaldehído fueron identificados previamente por Akkad et al. (2019) y Oomah et al. (2014) en haba sin tostar. Por otra parte, es importante mencionar que este es el primer estudio que evalúa los compuestos volátiles del haba tostada utilizando SPME combinado con GC-MS.

**Tabla 2.** Identificación de compuestos volátiles en café, haba y cebada

#	Tr (min)	Nombre	Café	Cebada	Haba	IK exp.	IK ref.	Columna	Fuente
1	5,46	Acetaldehído	√	√	√	426	412	VF-5 MS	Leffingwell y Alford (2011)
2	6,39	2-Propanona	√	√	√	495	500	HP-5MS	Kotowska et al. (2012)
3	6,78	Acetato de metilo	√		√	521	515	HP-5	Leffingwell y Alford (2005)
4	7,25	2-metilpropanal	√	√	√	551	554	DB-5 MS	Su et al. (2009)
5	7,80	2,3-butanodiona	√	√		586	599	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
6	8,09	2-metilfurano	√	√		602	608	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
7	8,25	Ácido acético	√			607	602	HP-5MS	Pino et al. (2010)
8	9,65	3-metilbutanal	√	√		650	658	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
9	9,96	2-metilbutanal	√	√	√	659	667	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
10	11,10	2,3-pentanodiona	√	√		694	697	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
11	13,65	Pirrol			√	746	758	DB-5MS	Liu et al. (2007)
12	13,93	Piridina	√			752	762	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
13	15,43	2,3-hexanodiona	√			781	781	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
14	16,68	2-metiltetrahidro-3-furanona	√	√	√	805	812	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
15	17,71	2-(metoximetil)-furano	√			823			No disponible
16	17,79	2-metilpirazina	√	√	√	824	833	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
17	18,08	Furfural	√	√	√	829	845	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
18	19,42	Alcohol furfurílico	√	√	√	853	860	HP-5	Risticovic et al. (2008)
19	20,06	1-(acetiloxi)acetato-2-propanona	√	√		864	882	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
20	22,60	2-Acetilfurano	√	√	√	908	888	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
21	22,87	2,6-dimetilpirazina	√	√	√	912	916	DB-5MS	Figueroa & Vargas (2016)

#	Tr (min)	Nombre	Café	Cebada	Haba	IK exp.	IK ref.	Columna	Fuente
22	23,08	2-etilpirazina	√	√	√	916	900	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
23	23,22	2,3-dimetilpirazina	√	√	√	919	902	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
24	25,49	4-metil-3-pentanona	√	√		959	982	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
25	25,63	5-metilfurfural	√	√	√	962	973	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
26	25,83	Benzaldehído	√	√	√	965	961	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
27	27,31	Acetato de furfurilo	√	√	√	991	1004	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
28	27,82	2-etil-6-metilpirazina	√	√	√	1001	1014	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
29	28,08	2-etil-3-metilpirazina	√	√	√	1005	1015	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
30	28,20	2-formil-1-metilpirrol	√	√		1007	1020	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
31	28,80	2-formilpirrol	√			1018	1022	DB-5MS	Figueroa & Vargas (2016)
32	29,75	3,3,5-trimetilciclohexeno	√	√		1036	1049	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
33	30,05	2,2'-bifurano	√			1041	1047	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
34	30,31	2-propionilfuranol	√	√		1046	1022	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
35	31,56	2-acetilpirrol	√		√	1069	1073	DB-5MS	Figueroa et al. (2016)
36	32,14	2-etil-3,5-dimetilpirazina	√	√	√	1079	1094	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
37	32,35	2-furfurilfuranol	√	√		1083	1090	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
38	32,75	2-metoxifenol	√	√		1090	1102	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
39	36,46	Pentilbenceno	√	√		1161	1159	DB-5	Jeleń et al. (2005)
40	37,34	2-furfuril-5-metilfuranol	√	√	√	1178	1184	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
41	37,56	1-furfurilpirrol	√	√	√	1183	1189	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
42	42,31	4-etil-2-metoxifenol	√	√		1280	1285	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
43	43,34	2-[(2-furilmetoxi)metil]furanol	√	√		1301	1305	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
44	43,69	4-hidroxi-3-metilacetofenona	√	√		1309	1292	PONA	Ramalho et al. (1999)

#	Tr (min)	Nombre	Café	Cebada	Haba	IK exp.	IK ref.	Columna	Fuente
45	44,10	2-metoxi-4-vinilfenol	√			1318	1325	SLB-5	Risticovic et al. (2008)
46	46,34	Eugenol	√	√	√	1367	1374	SLB-5	Risticovic et al. (2008)

Nota: Tr = tiempo de retención; IK exp. = índice de Kovats experimental; IK ref. = índice de Kovats de referencia.

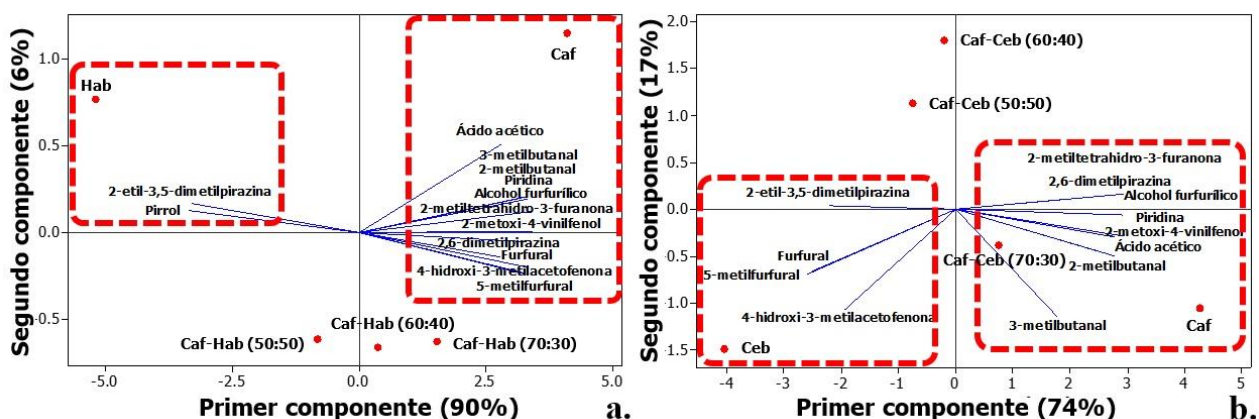
Fuente: Elaboración propia

### DetECCIÓN DE ADULTERACIÓN DE CAFÉ CON HABA Y/O CEBADA

En Ecuador se consume una gran cantidad de café. Sin embargo, mucha gente disfruta su sabor y aroma sin pensar en la posibilidad del consumo de una bebida adulterada, principalmente porque se acostumbra a consumir un café con un nivel de tueste elevado. En este sentido, en la presente investigación se evaluó el uso de la SPME combinado con GC-MS, para identificar la presencia de haba y/o cebada en muestras comerciales. Como variables independientes se seleccionaron los siguientes compuestos: ácido acético, 3-metilbutanal, 2-metilbutanal, pirrol, piridina, 2-metiltetrahydro-3-furanona, furfural, alcohol furfurílico, 2,6-dimetilpirazina, 5-metilfurfural, 2-etil-3,5-dimetilpirazina, 4-hidroxi-3-metilacetofenona y 2-metoxi-4-vinilfenol. Para interpretar la gran cantidad de información que proporciona la GC-MS, se aplicó el análisis de componentes principales (PCA).

En primera instancia, se verificó el potencial del PCA para detectar la presencia de adulterantes (haba y cebada) en café por separado. En este aspecto, en la figura 4a se presenta la gráfica de doble proyección resultante del PCA de café tostado, haba tostada y sus mezclas. En ella se evidencia que los dos primeros componentes retienen el 96 % de toda la información de los trece compuestos marcadores, lo cual permitió lograr una clara separación entre café tostado, haba tostada y sus mezclas. Además, debido a que el primer componente aporta el 90 % de la información, solamente con base en este se pudo también discriminar las diferentes proporciones de 30 %, 40 % y 50 % de haba en café.

Respecto a la relación de cada compuesto con las muestras, en la figura 4a se evidencia que la mayoría de los compuestos están próximos al café tostado, con excepción de pirrol (compuesto 11) y 2-etil-3,5-dimetilpirazina (compuesto 36), que tienen una contribución negativa respecto al primer componente y, por lo tanto, están más relacionados con el haba tostada. Esto se debe a que el pirrol no fue detectado en el café, y la señal del analito 36 en el haba tostada fue aproximadamente cinco veces mayor que el área encontrada en el café. Todo esto permitió discriminar la presencia de esta leguminosa. Cabe mencionar que este es el primer estudio que evaluó la detección de haba en café.



**Figura 4.** PCA para café con adición de (a) haba y (b) cebada.

Fuente: Elaboración propia

Asimismo, en la figura 4b se presenta la gráfica de doble proyección entre el café tostado, cebada tostada y sus mezclas. En este caso, los dos primeros componentes agrupan el 91 % de toda la información, lo que permitió separar entre muestras puras y sus mezclas. De igual manera, únicamente con la información del primer componente se logró diferenciar entre las proporciones de 30 %, 40 % y 50 % de cebada en café.

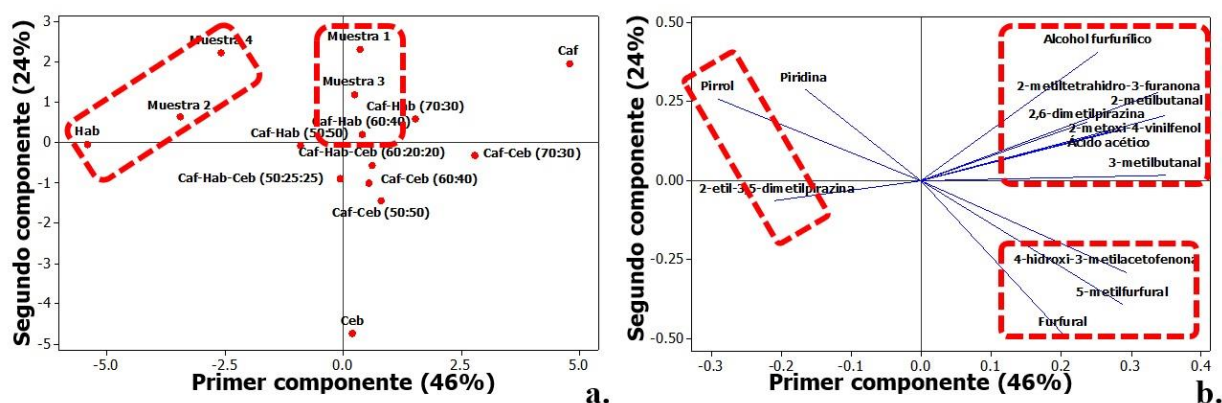
Resultados similares fueron encontrados por Oliveira et al. (2009), quienes evaluaron el potencial de la combinación de SPME, GC-MS y PCA para diferenciar entre café, cebada y sus mezclas (1 %, 10 % y 50 % de cebada en café) con diferentes niveles de tostado (suave, medio y oscuro). Cabe indicar que realizaron el análisis de PCA por separado para cada concentración de adulterante. Como resultado principal, hallaron que con solo la información del primer componente se logró diferenciar café tostado de cebada tostada y de sus mezclas, pero esto únicamente para el nivel de tostado oscuro. Sin embargo, en la presente investigación sí se logró detectar la presencia de cebada en café con un nivel de tostado medio (disco #55 de la escala Roast Color Classification System) en concentraciones de 30 %, 40 % y 50 %. Y aún más, esto se alcanzó con un solo PCA, en el cual se analizaron todas las señales de las diferentes concentraciones de cebada en café.

Respecto al aporte de cada compuesto, en la figura 4b se evidencia que los analitos 2-etil-3,5-dimetilpirazina (compuesto 36), furfural (compuesto 17), 5-metilfurfural (compuesto 25) y 4-hidroxi-3-metilacetofenona (compuesto 44) contribuyeron a diferenciar la presencia de cebada tostada en café tostado. Todos estos compuestos presentaron una mayor área en la cebada tostada comparada con la señal en la muestra de café (figura 3). Finalmente, respecto al segundo componente, para ambos casos café-haba (figura 4a) y café-cebada (figura 4b), no contribuyeron para diferenciar entre las proporciones de adulterante, principalmente debido a la limitada información que acumulan de 6 % y 17 % para café-haba y café-cebada, respectivamente.

Una vez comprobado el potencial de la metodología para detectar la presencia de haba o cebada tostadas en café tostado, se realizó otro PCA para analizar los resultados obtenidos en las muestras de café, haba, cebada, mezclas de café con haba, mezclas de café con cebada y cuatro

muestras comerciales. El resultado de este análisis se presenta en la figura 5. En esta gráfica, la combinación de los dos primeros componentes proporciona el 70 % de la información correspondiente a los trece compuestos marcadores. El PC<sub>1</sub> sirve para separar las muestras puras de café, haba y cebada. En cambio, el PC<sub>2</sub> proporciona la información para separar las muestras en función del contenido de haba y/o cebada adicionada al café.

Asimismo, en la figura 5 se observa que las muestras analizadas poseen un perfil volátil similar al haba, especialmente las muestras 2 y 4 (M2 y M4), es decir, pueden contener una adulteración mayor al 50 % de haba. Adicionalmente, las M1 y M3 se encuentran próximas al café con adición de haba del 40 %, razón por la cual se puede considerar que estas muestras probablemente fueron adulteradas con esta leguminosa en una proporción mayor al 40 %. En adición, tentativamente se puede descartar la posible adulteración de estas muestras con cebada, ya que según la gráfica las muestras analizadas solo aparecen en la zona donde predominan las muestras de café con haba. Es importante mencionar que muy pocos estudios evalúan el nivel de adulteración en muestras comerciales, pues la mayor parte solo analizan muestras de laboratorio.



**Figura 5.** Diagrama de dispersión para identificar café adulterado. a. Puntuaciones para los primeros dos componentes; b. Cargas para los dos primeros componentes.

Fuente: Elaboración propia

Respecto al aporte de cada analito en el PCA, en la figura 5 se pueden apreciar tres grupos de compuestos responsables de la separación de las muestras puras, es decir, para el haba los compuestos pirrol y 2-etil-3,5-dimetilpirazina, mientras que para la cebada: furfural, 5-metilfurfural y 4-hidroxi-3-metilacetofenona, y finalmente para el café: alcohol furfúrico, 2-metiltetrahidrofurano-3-ona, 2-metilbutanal, 2,6-dimetilpirazina, 2-metoxi-4-vinilfenol, ácido acético y 3-metilbutanal. Esta clasificación se debe principalmente a la concentración de estos compuestos en las muestras puras, lo que concuerda con los resultados encontrados en el PCA individual para cada adulterante (figura 4).

Asimismo, debido a que las muestras comerciales M2 y M4 presentan un alto contenido de piridina, 7 y 6 veces mayor que el área encontrada para el café, este compuesto se encuentra fuera de los grupos indicados en la figura 5. Cabe indicar que este es el único compuesto que presenta una concentración mayor en las muestras comerciales comparado con las muestras puras de café,

cebada y haba. Esta concentración alta se puede atribuir al grado de tostado de las muestras comerciales (tostado oscuro). Franca et al. (2009) encontraron que el contenido de piridina en café se incrementa con el nivel de tostado.

## Conclusiones

Se logró optimizar el proceso de microextracción en fase sólida de compuestos volátiles de café, a partir de lo cual se encontró que un tiempo de equilibrio de 16 min y tiempo de extracción de 35 min permiten maximizar la concentración de compuestos volátiles del café extraídos por SPME. Además, mediante GC-MS se identificaron 44, 36 y 24 compuestos en café, cebada y haba, respectivamente. Cabe resaltar que este es el primer estudio que evalúa los compuestos volátiles del haba tostada mediante SPME combinado con GC-MS.

Asimismo, se desarrolló un método que permite detectar adulteraciones en café con haba y/o cebada, con concentraciones de entre 30 % y 50 % del adulterante respecto al café. Finalmente, después de analizar las cuatro muestras comerciales, los resultados reflejaron una composición de compuestos volátiles semejante al haba tostada. Por lo tanto, se puede considerar una probable adulteración con esta leguminosa en una proporción cercana al 40 % de haba tostada en café tostado.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Técnica Particular de Loja (UTPL) por la financiación del estudio. Agradecen también a los revisores pares y a los editores de esta revista por sus comentarios, los cuales ayudaron a mejorar este trabajo.

## Descargos de responsabilidad

Todos los autores realizaron aportes significativos al documento, están de acuerdo con su publicación y manifiestan que no existen conflictos de interés en este estudio.

## Referencias

- Akkad, R., Kharraz, E., Han, J., House, J. D., & Curtis, J. M. (2019). Characterisation of the volatile flavour compounds in low and high tannin faba beans (*Vicia faba* var. minor) grown in Alberta, Canada. *Food Research International*, (120), 285-294. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.044>.
- Aquino, F. J. T., Augusti, R., Alves, J. d. O., Diniz, M. E. R., Morais, S. A. L., Alves, B. H. P., Nascimento, E. A., & Sabino, A. A. (2014). Direct infusion electrospray ionization mass spectrometry applied to the detection of forgeries: Roasted coffees adulterated with their



- husks. *Microchemical Journal*, 117, 127-132. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2014.06.016>.
- Bansal, S., Singh, A., Mangal, M., Mangal, A. K., & Kumar, S. (2017). Food adulteration: sources, health risks, and detection methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(6), 1174-1189. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.967834>.
- Beal, A. D., & Mottram, D. S. (1994). Compounds contributing to the characteristic aroma of malted barley. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(12), 2880-2884. <https://doi.org/10.1021/jf00048a043>.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Bianchi, F., Careri, M., Conti, C., Musci, M., & Vreuls, R. (2007). Comparison of comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry for the qualitative characterisation of roasted barley by solid-phase microextraction. *Journal of Separation Science*, 30(4), 527-533. <https://doi.org/10.1002/jssc.200600380>.
- Cai, T., Ting, H., & Jin-lan, Z. (2016). Novel identification strategy for ground coffee adulteration based on UPLC–HRMS oligosaccharide profiling. *Food Chemistry*, 190, 1046-1049. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.084>.
- Costa Freitas, A., Parreira, C., & Vilas-Boas, L. (2001). Comparison of two SPME fibers for differentiation of coffee by analysis of volatile compounds. *Chromatographia*, 54, 647-652. <https://doi.org/10.1007/BF02492193>.
- de Moura Ribeiro, M. V., Borallo, N., Pezza, H. R., Pezza, L., & Toci, A. T. (2017). Authenticity of roasted coffee using <sup>1</sup>H NMR spectroscopy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 57, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.004>.
- Figueroa, J. G., & Vargas, L. F. (2016). Evaluación de DES, FSC Y SPME/CG-MS para la extracción y determinación de compuestos responsables del aroma de café tostado de Vilcabamba-Ecuador. *Química Nova*, 39(6), 712-719. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160077>.
- Flament, I. (2001). *Coffee flavor chemistry*. John Wiley & Sons.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (2020). *FAOSTAT*. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>.
- Franca, A. S., Oliveira, L. S., Oliveira, R. C., Agresti, P. C. M., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.12.012>.
- International Coffee Organization. (2018). Historical data on the global coffee trade. [http://www.ico.org/new\\_historical.asp](http://www.ico.org/new_historical.asp).
- International Trade Centre. (2011). *The Coffee Exporter's Guide*. International Trade Centre. Geneva, Switzerland. [https://www.intracen.org/uploadedFiles/intracenorg/Content/Publications/ITC\\_Coffee\\_4th\\_Report\\_20210930\\_web\\_pages.pdf](https://www.intracen.org/uploadedFiles/intracenorg/Content/Publications/ITC_Coffee_4th_Report_20210930_web_pages.pdf)
- Jeleń, H., Krawczyk, J., Larsen, T., Jarosz, A., & Gołębiak, B. (2005). Main compounds responsible for off-odour of strawberries infected by *Phytophthora cactorum*. *Letters in Applied Microbiology*, 40, 255-259. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01668.x>.

- Jham, G. N., Winkler, J. K., Berhow, M. A., & Vaughn, S. F. (2007).  $\gamma$ -Tocopherol as a marker of Brazilian coffee (*Coffea arabica* L.) adulteration by corn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(15), 5995-5999. <https://doi.org/10.1021/jf070967n>.
- Korhoňová, M., Hron, K., Klimčíková, D., Müller, L., Bednář, P., & Barták, P. (2009). Coffee aroma—statistical analysis of compositional data. *Talanta*, 80(2), 710-715. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.07.054>.
- Kotowska, U., Żalikowski, M., & Isidorov, V. A. (2012). HS-SPME/GC–MS analysis of volatile and semi-volatile organic compounds emitted from municipal sewage sludge. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184, 2893-2907. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2158-8>.
- Leffingwell, J. C., & Alford, E. (2005). Volatile constituents of perique tobacco. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 4(2), 899-915. <https://www.leffingwell.com/download/Volatile%20Constituents%20of%20Perique%20Tobacco4.pdf>
- Leffingwell, J. C., & Alford, E. (2011). Volatile constituents of the giant puffball mushroom (*Calvatia gigantea*). *Leffingwell Reports*, 4, 1-17. [https://www.researchgate.net/publication/245024388\\_Volatile\\_Constituents\\_of\\_the\\_Giant\\_Puffball\\_Mushroom\\_Calvatia\\_gigantea](https://www.researchgate.net/publication/245024388_Volatile_Constituents_of_the_Giant_Puffball_Mushroom_Calvatia_gigantea)
- Liu, Y., Xu, X., & Zhou, G. (2007). Comparative study of volatile compounds in traditional Chinese Nanjing marinated duck by different extraction techniques. *International Journal of Food Science & Technology*, 42(5), 543-550. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01264.x>.
- Maga, J. A. (1978). Cereal volatiles, a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(1), 175-178. <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/jf60215a055>
- Majcher, M. A., Klensporf-Pawlik, D., Dziadas, M., & Jeleń, H. H. (2013). Identification of aroma active compounds of cereal coffee brew and its roasted ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(11), 2648-2654. <https://doi.org/10.1021/jf304651b>.
- Oliveira, R. C., Oliveira, L. S., Franca, A. S., & Augusti, R. (2009). Evaluation of the potential of SPME-GC-MS and chemometrics to detect adulteration of ground roasted coffee with roasted barley. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(3), 257-261. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.015>.
- Oomah, B. D., Razafindrainibe, M., & Drover, J. C. (2014). Headspace volatile components of Canadian grown low-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(3), 473-481. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6272>.
- Pauli, E. D., Barbieri, F., Garcia, P. S., Madeira, T. B., Junior, V. R. A., Scarminio, I. S., da Camara, C. A. P., & Nixdorf, S. L. (2014). Detection of ground roasted coffee adulteration with roasted soybean and wheat. *Food Research International*, 61, 112-119. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.032>.
- Pino, J. A., Márquez, E., Quijano, C. E., & Castro, D. (2010). Compostos voláteis em noni (*Morinda citrifolia* L.) em dois estágios de maturação. *Food Science and Technology*, 30(1), 183-187. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000100028>.
- Ramalho, P. S., de Freitas, V. A., Macedo, A., Silva, G., & Silva, A. M. (1999). Volatile components of *Cistus ladanifer* leaves. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(5), 300-302. [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199909/10\)14:5%3C300::AID-FFJ830%3E3.0.CO;2-X](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1099-1026(199909/10)14:5%3C300::AID-FFJ830%3E3.0.CO;2-X)

- Reis, N., Botelho, B. G., Franca, A. S., & Oliveira, L. S. (2017). Simultaneous detection of multiple adulterants in ground roasted coffee by ATR-FTIR spectroscopy and data fusion. *Food Analytical Methods*, *10*, 2700-2709. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0832-3>.
- Risticcevic, 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. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.009>.
- Sezer, B., Apaydin, H., Bilge, G., & Boyaci, I. H. (2018). *Coffea arabica* adulteration: Detection of wheat, corn and chickpea. *Food Chemistry*, *264*, 142-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.05.037>.
- Song, H. Y., Jang, H. W., Debnath, T., & Lee, K. G. (2019). Analytical method to detect adulteration of ground roasted coffee. *International Journal of Food Science & Technology*, *54*(1), 256-262. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13942>.
- Souto, U. T. d. C. P., Barbosa, M. F., Dantas, H. V., de Pontes, A. S., da Silva Lyra, W., Diniz, P. H. G. D., de Araújo, M. C. U., & da Silva, E. C. (2015). Identification of adulteration in ground roasted coffees using UV–Vis spectroscopy and SPA-LDA. *LWT-Food Science and Technology*, *63*(2), 1037-1041. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.003>.
- Specialty Coffee Association. (2003). Cupping Protocols. <https://sca.coffee/research/protocols-best-practices>.
- Su, Y., Wang, C., & Guo, Y. (2009). Analysis of volatile compounds from *Mentha hapioealyx* Briq by GC-MS based on accurate mass measurement and retention index. *Acta Chimica Sinica*, *67*, 546-554. [https://www.researchgate.net/publication/286396280\\_Analysis\\_of\\_volatile\\_compounds\\_from\\_Mentha\\_hapioealyx\\_Briq\\_by\\_GC-MS\\_based\\_on\\_accurate\\_mass\\_measurement\\_and\\_retention\\_index](https://www.researchgate.net/publication/286396280_Analysis_of_volatile_compounds_from_Mentha_hapioealyx_Briq_by_GC-MS_based_on_accurate_mass_measurement_and_retention_index)
- Tavares, K. M., Lima, A. R., Nunes, C. A., Silva, V. A., Mendes, E., Casal, S., & Pereira, R. G. A. (2016). Free tocopherols as chemical markers for Arabica coffee adulteration with maize and coffee by-products. *Food Control*, *70*, 318-324. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.06.011>.
- Toci, A. T., Farah, A., Pezza, H. R., & Pezza, L. (2016). Coffee adulteration: More than two decades of research. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, *46*(2), 83-92. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.966185>.
- Villarreal Andrade, A. E. (2013). *Obtención de un sucedáneo del café a partir de haba y fréjol tostados* [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/892/1/T-UCE-0017-21.pdf>.
- Wang, P. S., Kato, H., & Fujimaki, M. (1968). Studies on flavor components of roasted barley: Part II. The major volatile carbonyl compounds. *Agricultural and Biological Chemistry*, *32*(4), 501-506. <https://doi.org/10.1080/00021369.1968.10859083>.