

Caracterización vibracional por espectroscopia Raman del grano de Café tipo comercial

Vibrational characterization by spectroscopy Raman of commercial coffee bean

G. Soler Barrera, J. D. Losada Losada, Carlos Vargas-Hernández

Laboratorio de Propiedades Ópticas de Materiales

Universidad Nacional de Colombia, Manizales, Colombia

gasolerb@unal.edu.co

jdlosadal@unal.edu.co

cvargash@unal.edu.co

Resumen— La almendra de la *coffea* es uno de los granos de mayor estudio en nuestro país dado que este representa un gran porcentaje de las exportaciones colombianas. Diversos estudios se han enfocado en la investigación de campo, estudio de suelos, tratamiento de plagas, fumigaciones, entre otras, pero son pocas las investigaciones realizadas en torno al grano (almendra) a nivel microscópico. En este trabajo se realiza el análisis de la estructura vibracional de los grupos funcionales presentes en el grano de café tipo comercial, a partir de las técnicas espectrométricas de Microscopía Raman *in situ* y Transformada de Fourier en el Infrarrojo (FTIR) para la determinación de sus propiedades organolépticas.

Palabras clave— Espectroscopia Raman, Coffea, FTIR.

Abstract— The coffee bean is object of researches in our country since this represents a greater percentage of Colombian exports. Several studies have focused on field research, soil survey, pest management, spraying, among other. But there are few researches about coffee beans at the microscopic level. In this paper is the analysis of the vibrational structure of commercial coffee beans, by spectrometric techniques Raman microscopy *in situ* and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) for determination of its organoleptic.

Key Word — Raman spectroscopy, Coffea, FTIR.

I. INTRODUCCIÓN

El café Colombiano es reconocido a nivel mundial por sus cualidades organolépticas dadas gracias a sus particulares condiciones geográficas. Colombia, por su demanda, ocupa los primeros lugares a nivel mundial. Uno de los principales factores que afectan la cantidad y la calidad de la producción colombiana es la presencia del hongo de la Hemileia Vastatrix y los picos característicos asociados a carotenoides (caroteno) que se encuentran presentes en este hongo se pueden determinar por microscopia Raman. Este hongo es comúnmente conocido como La Roya. La

almendra de la *coffea* es uno de los granos de mayor estudio en nuestro país dado que este representa un gran porcentaje de las exportaciones colombianas. Diversos estudios se han enfocado en la investigación de campo, estudio de suelos, tratamiento de plagas, fumigaciones, entre otras, pero son pocas las investigaciones realizadas al grano (almendra) a nivel microscópico.

En este trabajo se realiza el análisis vibracional de la estructura de la almendra de *coffea* que se reflejan en la calidad comercial del café proveniente de muestras de tipo comercial, el estudio es realizado mediante las técnicas espectroscópicas de tipo óptico, tales como Raman e infrarrojo.

La mayor parte de los estudios realizados hasta el momento se han centrado en los componentes activos de la cafeína, uno de los derivados de mayor importancia en la extracción de la almendra, extracción que introduce o elimina elementos contaminantes al producto final.

Se han realizado estudios por técnicas de Análisis químico como cromatografía líquida de alta resolución, cromatografía de gases con columna capilar de espacio de cabeza combinado con análisis de componentes principales, pero son pocas las investigaciones a partir de la técnica espectroscopia Raman.

El café Colombiano es reconocido a nivel mundial por sus cualidades organolépticas y ocupa los primeros lugares a nivel mundial. Tiene su reputación a nivel internacional debido a su calidad, sabor y aroma. Esto es posible gracias a las particulares condiciones geográficas con las que cuenta nuestro país además del esfuerzo, cuidado y dedicación de nuestros campesinos en el cultivo y recolección del grano. Existen diferentes especies de *coffea* pero las más reconocidas son el café arábigo (*Coffea arabica*, Cultivada en nuestra región) y el robusta (*Coffea Canephora*), representando la primera un mayor mercado a nivel internacional. Entre las principales diferencias a nivel molecular se han determinado que el café arábigo contiene una mayor concentración de trigonelina y sacarosa mientras que el café

robusta presenta porcentajes aproximados al 13% de ácido clorogénico (CGA) y cafeína [1].

La espectroscopia Raman ha sido también usada para suministrar información relacionada con la naturaleza de los estados electrónicos de los carotenoides, carotenos y polienos en general [2]. Los carotenoides son pigmentos orgánicos formados a través de la vía de isoprenoides y que se encuentran presentes en animales y plantas, también tienen funciones como antioxidantes, estabilizadores de membrana y como precursores metabólicos esenciales [3]. Los carotenoides tienen una transición $\pi-\pi^*$ permitida que ocurre en la región visible. El espectro de resonancia Raman se obtiene cuando esta transición electrónica de carotenoides coincide con la longitud de onda del laser de excitación.

Para la determinación de la concentración de ácido Clorogénico y sus lípidos, se ha utilizado la espectroscopia Raman y el análisis de componentes principales (ACP) [4]. El espectro Raman en la región entre 1100 y 1800 cm^{-1} tomados para muestras de café arábigo y robusto coincide con los del CGA puro. Dos vibraciones correspondientes al CGA en 1605 y 1630 cm^{-1} son asignadas a estiramientos de los anillos fenilos y a extensiones vibracionales de los etilenos $C=C$ [5]. Las bandas en 1120 y 1165 cm^{-1} corresponden a vibraciones en el ciclohexano y a enlaces CH y COH respectivamente. Los modos de vibración en 1193 y 1270 cm^{-1} han sido atribuidos a vibraciones del CH y COH en el anillo fenilo y a una distorsión en la vibración de éste. La banda en 1690 cm^{-1} es asignada a vibraciones de estiramiento del $C=O$ [ver tabla1].

También, es utilizada la técnica de transformada de Fourier en el Infrarrojo (FTIR) para la identificación de los compuestos en los granos de café molido [6]. La técnica foto acústica (FA) utilizada recientemente para diferenciar al café en polvo proveniente de café sin defectos con aquel que ha sido procesado usando granos afectados por la broca o granos negros [7].

En este trabajo se presenta el análisis de las vibraciones moleculares compatibles con los modos normales de vibración y comparadas con la literatura del grano de café tipo comercial de la región cafetera colombiana. Las técnicas empleadas en la caracterización fueron las espectroscopias Raman e infrarrojo, que son complementarias, ya que existen modos normales de vibración que son permitidos en Raman y no lo son en Infrarrojo y viceversa; esto es debido a las consideración de la configuración geométrica de los grupos funcionales y moleculares determinados por la teoría de grupos. Estas dos técnicas de caracterización tiene la ventaja de ser de tipo no destructiva con la muestra en estudio, además de que la técnica Raman permite la fácil preparación de la muestra.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Recolección y preparación de muestras

Las muestras de café en grano de tipo comercial provenientes de varios distribuidores de la región cafetera colombiana (Figura 1), fueron cortados en láminas de dimensiones de 0.08×0.3 pulgadas; para ser emplazadas en un *stage XY* del equipo de Microscopía Raman para la caracterización *in situ*.

Para el análisis FT-IR los granos de café fueron molidos y mezclados con bromuro de potasio (KBr) para luego ser triturados y prensados con el fin de formar una pastilla de 0.03 pulgadas de ancho por 0.51 pulgadas de radio. Las dos técnicas empleadas en este estudio: Raman e Infrarrojo, son complementarias y están relacionadas con los modos normales de vibración y dependen fuertemente de la simetría molecular de sus componentes. Una de las grandes diferencias de tipo procedimental, es que en la espectroscopia Infrarroja la muestra en estudio es mezclada con otros componentes transparentes a la radiación infrarroja, indicando una preparación previa de la muestra. Mientras que en la Espectroscopía Raman la muestra se mide sin ningún tipo de proceso previo.



Figura 1. Granos de café de la región cafetera de Colombia obtenidos de los distribuidores.

2.2 Microscopía Raman.

La espectroscopia Raman es una técnica fotónica que al hacer incidir un haz de luz monocromática tipo láser sobre la muestra permite analizar la pequeña fracción de luz dispersada que presenta cambios frecuenciales (bandas Raman) emitidos y que son característicos del material en estudio y representan información valiosa acerca de la composición química. Es una técnica inelástica debido a que no existe conservación de la energía, es decir la energía del fotón incidente del Laser es distinta a la del fotón emitido por la muestra y su diferencia energética representa la energía necesaria para activar los modos normales de vibración molecular. Como toda técnica espectroscópica, la información de los picos característicos obtenidos de la señal Raman para una sustancia; constituyen la

huella digital que permiten verificar la presencia de esta en una muestra y su respectiva cuantificación.

La mayor parte de la luz dispersada presenta la misma frecuencia que la luz incidente, pero una pequeña fracción presenta un cambio frecuencial debido a la interacción del fotón incidente con la materia, la luz emitida con frecuencia igual a la incidente se conoce con el fenómeno de dispersión Rayleigh sin aportar información química y estructural del material a analizar. La luz dispersada con frecuencias diferentes a la radiación incidente es conocida como el fenómeno de dispersión Raman que proporciona información sobre la composición molecular. Sin embargo, el análisis de esta información Raman no es tan sencillo debido a que los espectros encontrados, además de la señal Raman, presentan algún tipo de ruido ocultando la señal, para esto se utilizan diversas técnicas de procesamiento de señales.

De 10^7 fotones incidentes sólo uno es dispersión Raman, esto genera la necesidad de la utilización de dispositivos de detección de alta tecnología y fuentes de luz monocromática de alta potencia. Debido a las señales tan débiles que aparecen para ciertos compuestos y a la cantidad de muestra que se obtiene en los diferentes procesos para ser analizadas por medio de técnicas ópticas es necesario realizar modificaciones de la técnica Raman mediante la variante de la espectroscopia conocida como SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy). En la técnica SERS es necesario adicionar nanopartículas metálicas que amplifican la señal Raman mediante el acople a la muestra estudio con el plasmón del metal.

Las mediciones Raman se llevaron a cabo utilizando la línea de excitación de 473 nm de un láser DPSS a una potencia < 20 mW. El *spot* del láser es focalizado en la muestra utilizando un objetivo de x10 Optic Olymplus, en un microscopio Raman de alta resolución HR800 (Horiba - Jobin Yvon) con una resolución espectral de 0.1 cm^{-1} . Se debe tener especial cuidado en el uso de la potencia del Láser y del tiempo de exposición de la radiación sobre la muestra; debido a que puede ocasionar degradación de los componentes del café que se genera por las concentración de intensidad en una área de aproximadamente 1 mm^2 . Este efecto es visualizado en el microscopio óptico mediante los cambios de color en el grano de café.

2.3 Espectroscopia Infrarroja

Las mediciones por infrarrojo se realizaron en un equipo Perkin Helmer bx II en un rango de 400 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} por medio de el método de la absorbancia. Para las mediciones se hace necesaria la mezcla de los granos de café molido con bromuro de potasio (KBr) debido a que el sistema está configurado para realizar la transmisión a través de la muestra con la radiación infrarroja y es necesario que la señal capturada a

la salida tenga una relación señal-ruido adecuada. El KBr en la región espectral de estudio es transparente y representa la matriz de soporte que no interviene en la absorción de radiación incidente proveniente del láser.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 2 muestra el espectro Raman de una laminilla de almendra de café, las bandas en la región espectral entre 1000 y 1800 cm^{-1} son asignadas a la presencia de ácido Clorogénico, que es un éster del ácido cafeico y ácido quínico [4], este ácido está formado por metabolitos secundarios de gran interés debido a su degradación en compuestos fenólicos, responsables de la acidez en los granos tostados de café [8].

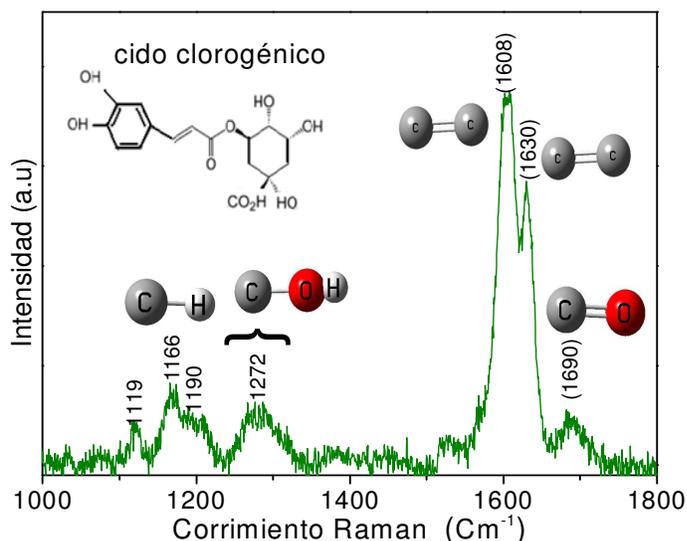


Figura 2. Espectro Raman de la sección transversal de la almendra de Café de tipo comercial.

Las bandas ubicadas en 1608 y 1630 cm^{-1} son asignadas a estiramientos de los anillos fenilos y a extensiones vibracionales de los etilenos $\text{C}=\text{C}$, respectivamente [10]. Las bandas en 1119 y 1166 se atribuyen a vibraciones en el ciclohexano y a las de los enlaces CH y COH . Los picos encontrados en 1190 cm^{-1} y 1272 cm^{-1} han sido atribuidos a vibraciones del CH y COH en el anillo fenilo y a una distorsión en la vibración de éste, respectivamente. La banda en 1690 cm^{-1} es asignada a vibraciones de estiramiento del $\text{C}=\text{O}$.

En la Figura 3 se muestra extendida la región espectral correspondiente a números de onda superiores a 2700 , en donde encontramos vibraciones asimétricas de CH_2 correspondientes a los lípidos presentes en la muestra [9]. Aunque esta región es característica de vibraciones moleculares asociadas a la presencia de agua. Cuando los picos son definidos y pronunciados en esta región se indica la inclusión de agua localizada y fuertemente atrapada, pero cuando los picos son anchos y poco pronunciados el agua es atrapada por los diferentes poros que posee el grano de café. El pico que da cuenta de este último efecto se encuentra alrededor de 2900 cm^{-1}

ya se puede observar en el hombro localizado a la izquierda de la forma de línea registrada en la figura 3.

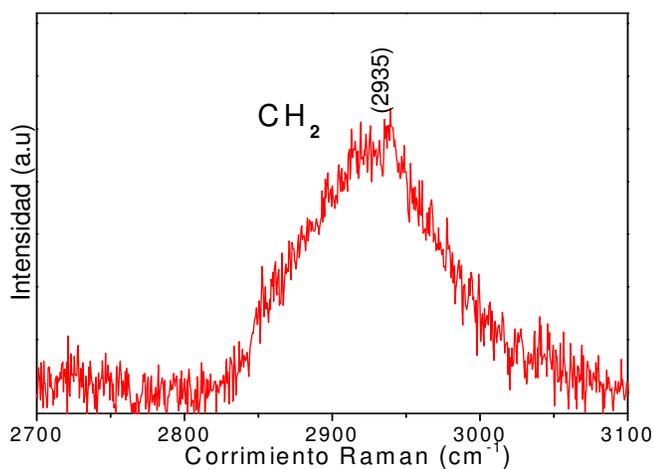


Figura 3. Espectro Raman de la sección transversal del grano de Café entre 2700-3100 cm^{-1}

El análisis complementario de espectroscopia de infrarrojo (FT-IR) mostrado en la figura 4 concuerda con los resultados obtenidos por medio del análisis Raman, confirmando la presencia de enlaces C-H, CH_2 y C=O asignados a cada vibración como se indica en la tabla 1.

Una de las características importantes y complementarias es la señal debida al ácido clorogénico, ya que este no presenta bandas apreciables en el espectro de infrarrojo pero si son de considerable amplitud en el registro Raman. En los casos de estudio en que sea necesario el cálculo de la concentración de este tipo de ácido presente en los granos de café y asignado como responsable de la acidez del grano, lo más aconsejable es el uso de la Espectroscopía Raman.

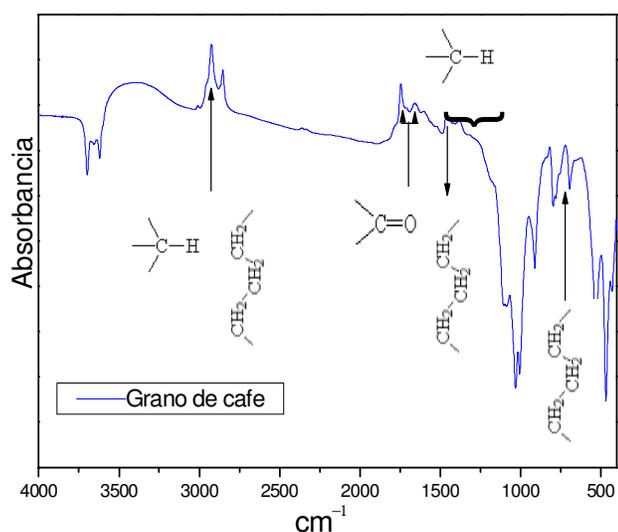


Figura 4. Espectro FT-IR entre 4000-400 Cm^{-1}

Tabla 1. Vibraciones moleculares asociadas y obtenidas por espectroscopia Raman y FT-IR

MODOS NORMALES DE VIBRACIÓN cm^{-1}		ASIGNADO RAMAN	ASIGNADO FTIR
En este trabajo	Reportado en referencia [4]		
Entre 730 y 715			Alquilo general de cadena larga
1031	1000		Doble anillo ciclohexano
1119 y 1166	1120 y 1165	el ciclohexano enlaces CH y COH	
Entre 1100 y 1800	Entre 1100 y 1800	Coinciden con ácido Clorogénico puro (CGA)	
1190 y 1272	1193 y 1270	CH y COH en el anillo fenilo y a una distorsión en la vibración	
Entre 1485-1415			Alquilo general
Entre 1470-1450			Alquilo general de cadena larga
1608 y 1630	1605 y 1630	Estiramientos de los anillos fenilos y a extensiones de los etilenos C=C	
1690	1690	estiramiento del C=O	
1750-1731 1620-1575			Compuesto carbonilo clase 15
Superiores a 2700	Entre 2905 y 2934	simétricas y asimétricas de CH_2 de los lípidos	
2940-2920 2870-2840 3030-3885			Alquilo general de cadena larga

IV. CONCLUSIONES

La espectroscopia Raman e Infrarrojo son herramientas importantes en la caracterización de muestras de tipo vegetal y son generalmente de tipo no destructivo, es sensible al medio ambiente en que las moléculas se encuentran inmersas, permitiendo valorar modificaciones de grupos funcionales o conformaciones. Estas dos técnicas se han empleado para determinar la composición de granos de café de tipo comercial de la región cafetera Colombiana.

A partir del análisis de los espectros Raman e Infrarrojo se determinó la composición vibracional de la almendra del cafeto, los espectros revelaron la presencia de compuestos fenilos, asociados con vibraciones moleculares de C-H C-OH y C=O.

Las bandas revelan la presencia del ácido clorogénico, responsable de la acidez del café y este ácido es empleado en algunos casos como determinante de la calidad del café y del tipo de café. Cuando se usa la concentración del ácido clorogénico como un indicativo de la calidad y acidez del café es

recomendable usar la espectroscopia Raman y si lo relevante es obtener información del Alquilo general de cadena larga y del doble anillo ciclohexano es aconsejable la técnica FT-IR.

En la tabla 1 se muestra la información obtenida por Raman e Infrarrojo y que es comparada con los reportes de la literatura para los diferentes modos normales de vibración asociados a las sustancias presentes en los granos de café.

Agradecimientos

Los autores agradecen al programa jóvenes investigadores “Virginia Gutiérrez de pineda” año 2011 por el apoyo económico del estudiante de maestría en Física Gabriel Alberto Soler Barrera. También manifestamos nuestro agradecimiento al DIMA de la Universidad Nacional de Colombia por el soporte económico para la realización del estudio respectivo.

REFERENCIAS

- [1] C. Campa, J. F. Ballester, S. Doulbeau, S. Dussert, S. Hamon and M. Noiro, (1995). Trigonelline and sucrose diversity in wild *Coffea* species. *Food chemistry*, (88), 39-43.
- [2] V. Igor Ermakov, G. Werner, Validation model for Raman based skin carotenoid detection, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 504 (2010) Pag. 40-49.
- [3] Michele Casella, Andrea Lucotti, Matteo Tommasini, Marzia Bedoni, Elena Forvi, Furio Gramatica, Giuseppe Zerbi. Raman and SERS recognition of beta-carotene and haemoglobin fingerprints in human whole blood. *Spectrochimica Acta Part A* 79 (2011) 915-919.
- [4] M. Rasha, El-Abassy, P. Donfack and A. Materny, Discrimination between Arabica and Robusta green coffee using visible micro Raman spectroscopy and chemometric analysis. *Food Chemistry* 126 (2011)1443-1448
- [5] N. Biswas, S. Kapoor, H. S. Mahal, , & T. Mukherjee, (2007). Adsorption of CGA on colloidal silver particles: DFT and SERS study. *Chemical Physics Letters*, 444(4–6), 338–345
- [6] R. Briandet, E. K. Kemsley and R. H. Wilson, Discrimination of Arabica and Robusta in instant coffee by Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44 (1) (1996), pp. 170–174.
- [7] F. Gordillo Delgado, A. J. García Salcedo, J. D. Duque Ocampo, Determinación de la calidad de Grano Usado en la Tostion y del Grado de pureza de café Tostado en Polvo. *Revista colombiana de fisica* vol. 40 No. 1 abril del 2008.
- [8] V. Leloup, A. Louvrier, , & R. Liardon, (1995). Degradation mechanisms of chlorogenic acids during roasting. *Proceedings of the International Congress of ASIC*, 16, 192–198.
- [9] R. C. Barthus and R. J. Poppi, Determination of the total unsaturation in vegetable oils by Fourier transform Raman spectroscopy and multivariate calibration, *Vibrational Spectroscopy* 26 (1) (2001), pp. 99–105
- [10] C. Campa, S. Doulbeau, S. Dussert, S. Hamon and M. Noirot.(1994). Qualitative relationship between caffeine and chlorogenic acid contents among wild *Coffea* species. *Food chemistry*, (93), 135-139