

UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS



**ESTUDIO DEL EFECTO DE LA VARIACIÓN DE PARÁMETROS
TÉRMICOS (TEMPERATURA Y GRADO DE TOSTADO) Y LA
APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS (*Candida krusei*) SOBRE
EL CONTENIDO DE FURANO Y 5-HIDROXIMETILFURFURAL,
COMPUESTOS BIOACTIVOS Y PERFIL SENSORIAL DEL CAFÉ
TOSTADO (VARIEDAD *Coffea arabica*)**

Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de
Magíster en Alimentos mención Gestión, Calidad e Inocuidad de los
Alimentos por:

ANDREA LIZETH DOBLADO MENDOZA

Director de Tesis: M.S.c Andrea Bunger Timmermann
Codirectora de Tesis: Dra. María Salomé Mariotti Celis
Codirector de Tesis: Dr. Franco Pedreschi Plasencia

Santiago – Chile

Agosto-2022

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

INFORME DE APROBACIÓN DE TESIS DE MAGÍSTER

Se informa a la Dirección de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis de Magíster y Memoria de Título presentada por el candidato

ANDREA LIZETH DOBLADO MENDOZA

Ha sido aprobada por la Comisión Evaluadora de Tesis como requisito para optar al grado de Magíster en Alimentos mención Gestión, Calidad e Inocuidad de los Alimentos, en el examen público rendido el día

Director de Tesis:

M.S.c Andrea Bunger T.

Codirectora de Tesis:

Dra. María Salomé Mariotti C.

Codirector de Tesis:

Dr. Franco Pedreschi Plasencia

Comisión Evaluadora de Tesis:

Dra. Marcela Medel Maraboli

Dra. Carolina Fredes González

Dr. Edwar Fuentes Pérez

AGRADECIMIENTOS

Quiero darle gracias a Dios primeramente porque me permitió cumplir este sueño, por nunca soltarme en los momentos difíciles y por abrirme las puertas necesarias para cumplir cada objetivo de este camino.

A mi mamá y a mi hermano por el apoyo incondicional que siempre me han brindado, por siempre esforzarse en mi formación, gracias a ustedes hoy soy la persona que soy. A Michelle Rosales, por ser esa hermana en mi vida que cree en mí y me apoya incondicionalmente, gracias por haberme acompañado en esta montaña rusa a la distancia.

A mi directora Msc. Andrea Bunger por su apoyo no solamente en el ámbito académico y profesional si no también en el ámbito personal. A mi codirectora Dra. María Salomé Mariotti por su apoyo, por creer en mi potencial y por la paciencia en este proceso que no fue fácil. A mi codirector Dr. Franco Pedreschi por su apoyo para el desarrollo de este proyecto. Gracias a los tres por transmitir su pasión y compartir sus conocimientos.

A mis amigos Marión Aguilar por ser inspiración, por acompañarme en esta aventura y por brindar palabras de aliento cuando lo necesitaba y hacerme sentir que no estaba sola en este proceso. A Roberto Esponda por haberme motivado en este sueño y porque aún a la distancia seguía brindándome su apoyo. Y a cada amigo que siempre me brindaba palabras de aliento cuando lo necesitaba, gracias por creer en mí.

A los amigos que Chile me permitió conocer y formar durante este tiempo. Adriana Ortiz por haberme acompañado en cada etapa de este camino, gracias por ser mi compañera de aventuras. A Yeison Barrios por ser ese amigo que necesite cuando quería rendirme, gracias por cada aventura, risa y conocimiento. Maykabeth García por ser esa compañera y amiga que me ayudo en el laboratorio, gracias por creer que el sol podía seguir brillando. A Paula Gálvez por ser esa compañera que me ayudó, brindó risas y enseñó un poco de su país, gracias por ser esa chilena que necesitaba conocer.

A Juan Pablo Gómez y Migdalia Arazo por el apoyo brindado durante el trabajo que realicé en el laboratorio, gracias por sus palabras de motivación en esos momentos cuando algún análisis no salía como se esperaba.

A cada compañero, conocido, amigo y familiar que me brindo su apoyo de una u otra forma para poder culminar esta meta.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	8
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUCCIÓN.....	12
2. MARCO TEÓRICO.....	13
2.1 Descripción del café.....	13
2.2 Procesamiento del café.....	14
2.3 Descripción de neo-contaminantes.....	17
2.4 Mecanismo de formación de furano y 5-hidroximetilfurfural en café.....	18
2.5 Tecnologías de mitigación y reducción en café y otros alimentos.....	20
2.6 Análisis sensorial.....	22
3. HIPOTESIS.....	24
4. OBJETIVOS.....	24
4.1 Objetivo General.....	24
4.2 Objetivo Específicos.....	24
5. MATERIALES Y EQUIPOS.....	25
5.1 Materia prima.....	25
5.2 Reactivos químicos.....	25
5.3 Insumos.....	25
5.4 Equipos e instrumentos.....	25
6. METODOLOGÍA.....	27
6.1 Diseño Experimental y Análisis Estadístico.....	27
6.2 Adición de microorganismos del género <i>Candida krusei</i> en el proceso de fermentación.....	27
6.2.1 Materia prima.....	27
6.2.2 Activación e inoculación de levadura.....	28
6.2.3 Fermentación y secado.....	28
6.3 Variación de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) en el proceso de tostado.....	29
6.4 Preparación de la materia prima.....	29
6.4.1 Materia prima.....	29
6.4.2 Molienda de los granos de café tostado.....	29
6.4.3 Caracterización química del café tostado molido.....	30
6.5 Análisis sensorial.....	34
6.5.1 Test triangular.....	34

6.5.2 Prueba con consumidores.....	35
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES	39
7.1 Caracterización química del café tostado molido	39
7.1.1 Contenido de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico.....	39
7.1.2 Polifenoles totales	46
7.1.3 Capacidad antioxidante.....	48
7.1.4 Contenido de furano	52
7.2 Proyecciones futuras en la investigación.....	53
7.3 Análisis sensorial	54
7.3.1 Test triangular	54
7.3.2 Test con consumidores.....	54
8. CONCLUSIONES	61
9. BIBLIOGRAFÍA.....	62
10. ANEXOS	73
10.1. Diseño experimental.	73
10.2. Análisis de varianza para 5-HMF, cafeína y ácido clorogénico.....	74
10.3. Análisis de varianza para polifenoles totales y capacidad antioxidante.....	75
10.4. Análisis de varianza para furano.....	76
10.5. Análisis diseño factorial multinivel.....	76
10.6. Hoja de respuesta para test triangular.....	77
10.7. Resultados de aciertos por jueces en test triangular.	78
10.8. Cuestionario para la evaluación sensorial con consumidores.	78
10.9. Evaluación sensorial con consumidores.	81
.....	82
10.10. Resultados de pruebas de múltiple rangos Tukey.....	82
10.11. Gráfico de justo agrado para intensidad de aroma.....	84
10.12. Análisis de coordenadas principales.....	84
10.13. Resultados de preferencia.....	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Diseño experimental factorial completo (2x2x3).....	27
Tabla 2. Condiciones de HPLC-DAD para la determinación de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico.	31
Tabla 3. Condiciones de GC-MS para la determinación de furano.	33
Tabla 4. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de 5-HMF.....	39
Tabla 5. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de 5-HMF, resultados del programa StatGraphics XVI.I.	40
Tabla 6. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de cafeína.....	43
Tabla 7. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de cafeína, resultados del programa StatGraphics XVI.I.	43
Tabla 8. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de ácido clorogénico.....	44
Tabla 9. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de ácido clorogénico, resultados del programa StatGraphics XVI.I.	44
Tabla 10. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de polifenoles totales.....	47
Tabla 11. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de polifenoles totales, resultados del programa StatGraphics XVI.I.	47
Tabla 12. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de capacidad antioxidante.	49
Tabla 13. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de capacidad antioxidante, resultados del programa StatGraphics XVI.I.	49
Tabla 14. Efecto del grado de tostado e inoculación sobre el contenido de furano.....	52
Tabla 15. Efecto del grado de tostado e inoculación sobre el contenido de furano, resultados del programa StatGraphics XVI.I.....	52
Tabla 16. Resumen de los resultados de ANOVA Multifactorial de 2 vías de la evaluación de agrado y justo agrado en muestras de café.....	55
Tabla 17. Resultados de las razones de agrado (pregunta abierta).....	58
Tabla 18. Resultados de Prueba Cochran's Q.	59
Tabla 19. Resultados de preferencia.....	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de procesamiento del café.....	16
Figura 2. Diferentes vías de formación del furano	19
Figura 3. Mecanismos de formación del 5-HMF	20
Figura 4. Granos de café tostados envasados al vacío (a) y café molido (b).	30
Figura 5. Bandeja para test triangular.....	35
Figura 6. Bandeja para prueba con consumidores.	37
Figura 7. Efecto del factor grado de tostado sobre 5-HMF.	41
Figura 8. Efecto del factor inoculación sobre 5-HMF.	42
Figura 9. Efecto de factores grado de tostado e inoculación sobre 5-HMF.	42
Figura 10. Efecto del factor grado de tostado sobre el ácido clorogénico.....	45
Figura 11. Efecto de la temperatura sobre el ácido clorogénico.	46
Figura 12. Efecto del factor grado de tostado sobre el contenido de polifenoles totales. ...	48
Figura 13. Efecto del factor grado de tostado sobre la capacidad antioxidante.	50
Figura 14. Efecto de la interacción grado de tostado e inoculación sobre la capacidad antioxidante.	51
Figura 15. Efecto del factor grado de tostado sobre el furano.	53
Figura 16. Gráfico de justo agrado.....	57
Figura 17. Análisis de correspondencia de datos CATA.....	60

RESUMEN

El café es uno de los alimentos de mayor consumo a nivel mundial debido a sus propiedades beneficiosas. Sin embargo, durante su tostado no solo se desarrollan atributos sensoriales a través de la reacción de Maillard, sino que, además se forman neo-contaminantes tales como el furano y 5-hidroximetilfurfural (5-HMF). Este estudio evaluó el efecto conjunto de (i) la aplicación de *Candida krusei* y (ii) la variación de los parámetros térmicos de tostado sobre la formación de furano y 5-HMF en granos de café tostado (variedad *Coffea arabica*) con el fin de reducir su presencia, sin afectar el contenido de compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y características sensoriales del producto original. Mediante un diseño factorial completo aleatorio, se evaluó el efecto de tres factores: (i) inoculación de levaduras (con y sin inoculación), (ii) temperatura de tostado (180°C y 210°C) y (iii) grado de tostado (bajo, medio y oscuro) sobre el contenido de 5-HMF, cafeína, ácido clorogénico, polifenoles totales y la capacidad antioxidante como variables de respuestas. Posteriormente se realizó la evaluación sensorial de 3 muestras que presentaron el menor contenido de 5-HMF y que mantuvieron el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante. Finalmente, a estas 3 muestras se les determinó el contenido de furano. El contenido de 5-HMF fue afectado significativamente por el grado de tostado y la inoculación. Mayores grados de tostado generaron menores contenidos de 5-HMF (415-471 mg kg⁻¹, 164-316 mg kg⁻¹, 35-45 mg kg⁻¹ para café tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente) probablemente debido a un menor contenido de precursores en el café tostado oscuro. Asimismo, se observó que en muestras de tostado medio inoculadas se produjo un 34% de mitigación de 5-HMF. Respecto al contenido de cafeína (8-9 mg g⁻¹), compuesto termoestable; no fue afectado por parámetros térmicos de tostado. Contrariamente, el ácido clorogénico disminuyó a mayores grados de tostado y temperatura (11-12 mg g⁻¹, 6-9 mg g⁻¹ y 1-2 mg g⁻¹ y 10 mg g⁻¹, 6 mg g⁻¹ y 2 mg g⁻¹ para bajo, medio y oscuro y 180°C y 210°C, respectivamente). El contenido de polifenoles totales disminuyó a mayores grados de tostado (25-30 mg EAC g⁻¹, 20-24 mg EAC g⁻¹ y 18-21 mg EAC g⁻¹ para bajo, medio y oscuro, respectivamente). Las muestras sometidas a un tostado oscuro sin inoculación presentaron la mayor capacidad antioxidante (IC₅₀:4-5g de café L⁻¹). Mayores grados de tostado generaron mayor contenido de furano (5019 ng g⁻¹ a 6507 ng g⁻¹ y de 7916 ng g⁻¹ en café tostado medio y oscuro, respectivamente), sin embargo, el contenido de furano disminuyó en un 14% en granos de café sometidos a proceso de inoculación. Las características sensoriales no se vieron afectadas por la

inoculación, pero si por el grado de tostado; finalmente no hubo una preferencia por alguna de las muestras. Por lo que un café bajo parámetros de grado de tostado medio- temperatura 210°C y la aplicación conjunta de microorganismos *Candida krusei* durante la fermentación de los granos, es una tecnología viable para la mitigación de 5-HMF y furano sin afectar negativamente los compuestos bioactivos y características sensoriales.

ABSTRACT

STUDY OF THE EFFECT OF VARYING THERMAL PARAMETERS (TEMPERATURE AND ROASTING DEGREE) AND THE APPLICATION OF MICROORGANISMS (*Candida krusei*) ON FURAN AND 5-HYDROXYMETHYLFURFURAL CONTENT, BIOACTIVE COMPOUNDS AND SENSORY PROFILE OF ROASTED COFFEE (*Coffea arabica*)

Coffee is one of the most consumed foods worldwide due to its beneficial properties. However, during roasting, not only sensory attributes are developed through the Maillard reaction, but also neo-formed such as furan and 5-hydroxymethylfurfural (5-HMF) are formed. This study evaluates the joint effect of (i) the application of *Candida krusei* and (ii) the variation of thermal roasting parameters on the formation of furan and 5-HMF in roasted coffee beans (*Coffea arabica* variety) in order to reduce their presence, without affecting the content of bioactive compounds, antioxidant capacity and sensory characteristics of the original product. Using a randomized complete factorial design, the effect of three factors was evaluated: (i) yeast inoculation (with and without inoculation), (ii) roasting temperature (180°C and 210°C) and (iii) degree of roasting (low, medium and dark) on the content of 5-HMF, caffeine, chlorogenic acid, total polyphenols and antioxidant capacity as response variables. Subsequently, the sensory evaluation of 3 samples that presented the lowest 5-HMF content and maintained the content of bioactive compounds and antioxidant capacity was carried out. Finally, the furan content was determined for these 3 samples. The 5-HMF content was significantly affected by roasting degree and yeast inoculation. Higher roasting degrees generated lower 5-HMF contents (415-471 mg kg⁻¹, 164-316 mg kg⁻¹, 35-45 mg kg⁻¹ for low, medium and dark roasted coffee, respectively) probably due to a lower content of precursors in dark roasted coffee. Likewise, it was observed that in inoculated medium roast samples there was an 34% of mitigation in 5-HMF content. Regarding the content of caffeine (8-9 mg g⁻¹), thermostable compound; was not affected by thermal parameters of roasting. Contrarily, chlorogenic acid decreased at higher degrees of roasting and temperature (11–12 mg g⁻¹, 6–9 mg g⁻¹ and 1–2 mg g⁻¹ and 10 mg g⁻¹, 6 mg g⁻¹ and 2 mg g⁻¹ for low, medium and dark and 180 °C and 210 °C, respectively). The content of total polyphenols decreased at higher degrees of roasting (25–30 mg EAC g⁻¹, 20 – 24 mg EAC g⁻¹ and 18 – 21 mg EAC g⁻¹ for low, medium and dark, respectively). The antioxidant capacity of the samples subjected to dark roasting without inoculation showed the highest antioxidant capacity (IC₅₀: 4 -5 g of coffee L⁻¹). Higher roasting degrees generated higher furan content (5019 ng g⁻¹ to 6507 ng g⁻¹ and

7915 ng g⁻¹ in medium and dark roasted coffee, respectively), however, the furan content decreased a 14% in coffee beans submitted to inoculation process. The sensory characteristics were not affected by inoculation but were affected by the degree of roasting; finally, there was no preference for any of the samples. Therefore, coffee under medium roasting degree parameters - temperature 210°C and the joint application of *Candida krusei* microorganisms during coffee beans fermentation is a viable technology for the mitigation of 5-HMF and furan without negatively affecting the bioactive compounds and sensory characteristics.

1. INTRODUCCIÓN

El procesamiento por altas temperaturas es el método de conservación más utilizado por la industria de los alimentos. Mediante la aplicación de altas temperaturas es posible; no solo garantizar la inocuidad y extensión en la vida útil de los alimentos, sino que además se desarrolla atributos sensoriales deseables, tales como: aroma, sabor, textura y color; característicos de los productos procesados. Sin embargo, las reacciones químicas en las que se generan estos atributos característicos también son responsables de la generación de algunos compuestos potencialmente nocivos para la salud, conocidos como neo-contaminantes. Dentro de los neo-contaminantes de proceso, se encuentra el furano y el 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF), generados a través de la reacción de Maillard (Arribas-Lorenzo & Morales, 2010; Birlouez-Aragon et al., 2010; Cheriot et al., 2009). La Agencia Internacional del Cáncer (IARC) ha categorizado al furano como compuesto posiblemente cancerígeno para los seres humanos (Grupo 2B).

Estos neo-contaminantes han sido detectados en una gran variedad de alimentos de consumo diario a nivel mundial tales como el café, el pan y los productos fritos (Goodman & Yeretizian, 2015), situación que ha encendido una alerta sanitaria en la industria y consumidores. Esta situación ha gatillado el desarrollo de investigación enfocada en mitigar la formación de furano y el 5-HMF en alimentos procesados térmicamente. Diversas técnicas han sido propuestas para la reducción del nivel de neo-contaminantes dietarios, destacando el uso combinado de: (i) cambios en los parámetros de proceso y (ii) la reducción del contenido de precursores (azúcares reductores y asparagina) en las materias primas. Sin embargo, actualmente continúa siendo un principal desafío tecnológico, el preservar la calidad sensorial del producto final.

Debido a su peculiar perfil sensorial e innumerables propiedades bioactivas, el café es una de las bebidas mayormente consumidas a nivel mundial (Seninde & Chambers, 2020; Wei & Tanokura, 2015). Sin embargo, estudios indicarían que aporta una gran cantidad de neo-contaminantes a la dieta total de la población. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto conjunto de (i) la aplicación de microorganismos metabolizadores de azúcares del género *Candida krusei*, y (ii) la variación de los parámetros térmicos de tostado; sobre la formación de furano y el 5-HMF en los granos de café tostado (variedad *Coffea arabica*) con el fin de reducir su presencia, conservando el contenido de los compuestos bioactivos y sin afectar negativamente las características sensoriales del producto original.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción del café

La planta de café (cafeto) es un árbol pequeño o arbusto perenne, lo que quiere decir que mantiene sus hojas a lo largo de todo el año. La cosecha de café se produce anualmente cuando el fruto o la cereza de café está en su estado óptimo de maduración. El fruto del cafeto es una drupa elipsoidal, el cual contiene dos semillas planoconvexas separadas por un tabique interno del ovario. Este fruto está constituido por el epicarpio también conocido como cáscara, al inicio es de color verde y a medida se va madurando va tomando un color amarillo y finalmente un color rojo, aunque esto depende de la variedad de café, a su vez cumple la función de envolver las otras partes del fruto, así como de protegerlo de factores biológicos. Luego se encuentra el mesocarpio también conocido como pulpa o mucílago, el cual es una sustancia viscosa que es rica en azúcares y pectinas. La siguiente capa es el endocarpio también conocido como pergamino, es de color crema a marrón y envuelve lo que son las semillas. Espermoderma es otra capa que también es conocida como película plateada o tegumento, siendo una capa fina transparente de color plateado que envuelve la semilla. Finalmente, la capa que contiene las dos semillas también conocidos como granos de consistencia dura y de color verdosa o amarillenta es llamada endospermo (Alvarado Soto & Rojas Cubero, 2007; Alves et al., 2017; Inglés, 2016).

El género *Coffea*, que pertenece a la familia Rubiaceae, abarca dos de las especies vegetales más importantes del comercio internacional de café: *Coffea arabica* Linneo y *Coffea canephora* Pierre, ampliamente conocidos como Arábica y Robusta, respectivamente (Alves et al., 2017). El café es una de las bebidas más populares en todo el mundo, haciéndolo un producto básico e importante a nivel mundial. El comercio del grano de café va en aumento cada año. Se ha registrado que las exportaciones mundiales de café en el periodo de (Octubre 2020- Agosto 2021) ascendieron de 118,96 millones de sacos en comparación con los 116,77 millones de sacos durante el periodo de (Octubre 2019- Agosto 2020) (ICO 2021), con un aumento de 1,9%.

Según la International Coffee Organization (ICO), los finlandeses, noruegos, islandeses y daneses consumen 11,6, 10, 8,9 y 8,7 kilos de café por persona al año, respectivamente. Este alto consumo de café en estos países se debe a las bajas temperaturas que tienen a lo largo del año. Dentro de los países productores, Brasil es el que más café produce seguido

de Colombia. La calidad del café va a depender de varios factores como las especies/variedades de los granos de café, zona geográfica, condiciones de cultivo, nivel de maduración en la cosecha, condiciones de fermentación y manejo postcosecha (di Donfrancesco et al., 2019).

Actualmente se está estudiando cada vez más el café y sus componentes con respecto a los efectos potencialmente beneficiosos y adversos para la salud. Dentro de los componentes más investigados están los alcaloides (cafeína y trigonelina), compuestos fenólicos (ácido clorogénico) y diterpenos (cafestol y kahweol) (Pahlke et al., 2019). Estos componentes del café influyen en el sabor, así como en las cualidades sensoriales distintivas del café, pero varían según la especie, ubicación geográfica, clima, prácticas agrícolas y método de procesamiento.

Debido a las propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antipiréticas que presentan estos componentes del café (Seninde & Chambers, 2020; Wei & Tanokura, 2015), se ha asociado que el consumo del café brinda beneficios para la salud, en cuanto a la reducción del riesgo de diversas enfermedades crónicas como diabetes tipo 2, enfermedad de Parkinson, ciertos cánceres, enfermedades de las arterias coronarias, arritmias cardíacas y accidente cerebrovascular (Dirks-Naylor, 2015; Lofffield et al., 2018; Pahlke et al., 2019). Sin embargo, siempre existe la preocupación del riesgo que puede generar el consumo de café. Estudios clínicos y epidemiológico han sugerido que los consumidores de café con polimorfismos genéticos comunes pueden tener un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Bodar et al., 2020; Lofffield et al., 2018).

2.2 Procesamiento del café

El proceso de café comienza por la recolección manual del fruto o cereza de café, cuando se encuentra en su estado óptimo de maduración. Posteriormente estas cerezas pasan por la etapa de clasificación, donde son eliminadas aquellas cerezas inmaduras, este proceso de clasificación se puede realizar por medio de mallas o por tanques de agua (Flores-Ortega et al., 2016; Ribeiro et al., 2017).

En el proceso de un café semi-seco estas cerezas pasan por la etapa de despulpado, lo que significa que se retira el epicarpio y el mesocarpio del fruto, para así dar lugar a la semilla la cual está contenida en el endocarpio que está cubierto por el mucílago. El despulpado da paso a lo que es el proceso de fermentación el cual se da manera natural en el café y este

puede durar aproximadamente 18 horas, en esta etapa lo que se quiere lograr es eliminar el mucílago. Una vez finalizada la fermentación, estas semillas pasan por una etapa de secado el cual se termina una vez que se ha alcanzado una humedad de un 10-12%.

Finalmente, en la etapa de trilla es donde se elimina el pergamino para así obtener las semillas o granos verdes que serán sometidos al proceso de tostado (Flores-Ortega et al., 2016; Mahmud et al., 2020; Ribeiro et al., 2017). En las semillas o granos verdes se encuentran componentes como polisacáridos, lípidos y proteínas, a su vez también se encuentran componentes como cafeína, trigonelina, ácido clorogénico, azúcares libres y ácidos orgánicos (Wei & Tanokura, 2015). Cada uno de estos componentes aportan diferentes características que hacen ser al café único. En los granos verdes se encuentran altos contenidos de ácidos orgánicos como ser: el ácido málico y cítrico, los cuales contribuyen a la acidez de la bebida, sin embargo, estos ácidos tienden a disminuir durante la maduración del fruto. La cafeína está asociada con el amargor y astringencia de la bebida de café, se forma en los frutos y esta se va acumulando a medida se va desarrollando, encontrándose contenidos de un 0,6-1,2% (Barbosa et al., 2019; Wei & Tanokura, 2015). La trigonelina también contribuye al sabor amargo del café, y a medida que el fruto va madurando el contenido de trigonelina cambia muy poco. El ácido clorogénico se relaciona con la astringencia y amargor del café, pero este disminuye a medida que el fruto va madurando. Y dentro de los alcoholes diterpénicos como el kahweol este contribuye al sabor amargo del café (Seninde & Chambers, 2020; Sunarharum et al., 2014). Estos granos verdes de café son almacenados en sacos hasta su tostado, cuando estos sacos son abiertos se someten nuevamente a un paso de limpieza para eliminar los granos defectuosos o inmaduros (Alves et al., 2017).

El proceso de tostado se suele realizar a una temperatura de aproximadamente 200°C durante menos de 20 min con variabilidad en el tiempo y la temperatura (Esposito et al., 2020). Las tecnologías modernas presentan como principio básico el paso de un flujo convectivo forzado de gases calientes a través de una cama móvil donde se encuentran los granos verdes de café. El movimiento de los granos se puede realizar por rotación o por el flujo de gases de tostado (Alves et al., 2017). Este proceso de tostado se basa en la deshidratación de los granos, seguido por el proceso de tostado en el cual se da principalmente a través de la reacción de Maillard, produciendo así el aroma del café, como el color y la composición típica de los granos de café. Durante este proceso los precursores y compuestos bioactivos se transforman, desarrollando y potenciando las cualidades

organolépticas del café. El ácido clorogénico se degrada hasta un 50% para un nivel de tostado medio aumentando así el amargor (Seninde & Chambers, 2020; Sunarharum et al., 2014). La trigonelina al ser sometida a este proceso de tostado se degrada produciendo compuestos volátiles como pirroles, pirazinas y piridinas los cuales son responsables de los atributos de aroma, como notas a nuez y tostado en el café (Mahmud et al., 2020; Seninde & Chambers, 2020). También durante este proceso de tostado son liberados compuestos volátiles como aldehídos, cetonas y alcoholes que provienen de la fracción lipídica del grano verde (semilla) del café los cuales influyen en la formación de aromas (Barbosa et al., 2019). A la vez durante este proceso se descomponen polisacáridos solubles los cuales producen furanos que son responsables de aromas dulces y a caramelo en el café, siendo también responsables estos polisacáridos de la viscosidad de la bebida de café (Seninde & Chambers, 2020; Sunarharum et al., 2014).

Una vez finalizada la etapa de tostado, los granos pasan a una etapa de molienda, la cual puede generar diferentes grados de molienda (gruesa, intermedia o fina) esto va a depender de la última etapa que es el método de preparación de la taza de café. Existen diversos métodos como ser: prensa francesa, chemex, sifón, aeropress, italiano, espresso, V60 entre otros, la selección del método de preparación dependerá de cada consumidor (Sanchez & Chambers, 2015).



Figura 1. Esquema de procesamiento del café.

2.3 Descripción de neo-contaminantes

Los neo-contaminantes son compuestos esencialmente formados a altas temperaturas durante la reacción de Maillard a partir de grupos amino reactivos de proteínas o aminoácidos libres y derivados carbonilados de azúcares (Arribas-Lorenzo & Morales, 2010; Birlouez-Aragon et al., 2010; Cheriot et al., 2009). Estos compuestos se encuentran comúnmente en todo tipo de alimentos que son ricos en carbohidratos, grasas y proteínas y que son sometidos a procesos de altas temperaturas como lo son las papas fritas, productos de panadería, y café (Goodman & Yeretizian, 2015).

Dentro de los principales neo-contaminantes está la acrilamida (AA), el furano y el 5-hidroxiacetilfurfural (5-HMF), los cuales son estudiados en la actualidad principalmente debido a su alto potencial toxicológico y su amplia incidencia en productos alimenticios (Rannou et al., 2016). Barrios-Rodríguez, (2021), evaluó el contenido de AA en esta misma variedad y origen de café tostado encontrando concentraciones ($43,55 - 207,14 \mu\text{g kg}^{-1}$) por debajo del límite establecido por la comisión europea ($400 \mu\text{g kg}^{-1}$), es por lo que en este estudio se evaluó solamente el furano y 5-HMF. Algunos estudios han evaluado el efecto nocivo de estos neo-contaminantes, el furano puede causar tumores en diversos tejidos y órganos de ratones y ratas (NTP, 2009; Scholz & Stadler, 2018), otros estudios en ratones demostraron que el 5-hidroxiacetilfurfural produce efectos de genotoxicidad, carcinogenicidad, neoplasia y es considerado un indicador del deterioro de la calidad causado por un calentamiento excesivo o almacenamiento inadecuado de los alimentos (Lee et al., 2019; Prata et al., 2021; Shapla et al., 2018; Zhao et al., 2018).

El furano es un líquido incoloro con una estructura de anillo de cinco miembros ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}$), con un peso molecular bajo de 68 y un punto de ebullición bajo de 31°C , debido a estas propiedades, es un compuesto muy volátil (Cha & Lee, 2020; Mariotti, Granby, et al., 2013). El furano está clasificado por el IARC como posiblemente cancerígeno para los seres humanos (Grupo 2B). En alimentos como, el café tostado, alimentos para bebé, papas fritas y cacao, se han reportado niveles de furano de 126,5-1990,9, 2,6-31, 12,7 y 10,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente (Scholz & Stadler 2018).

5-HMF ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_3$) es un aldehído cíclico (derivado del furano) que se forma en la reacción de Maillard (Sevenich et al., 2020), en alimentos como, café tostado, galletas, pan y miel se han encontrado niveles de HMF de 100-2186, 1,75- 35,21, 2,2- 87,7 y 0,34- 58,8 mg kg^{-1} , respectivamente (Lee et al., 2019), así mismo se ha reportado en otros alimentos para el

desayuno como tostadas, zumo de naranjas, zumo de manzana y mermeladas (Akillioglu & Gökmen, 2014).

Actualmente no existen reglamentos que regulen o establezcan límites permitidos de estos neo-contaminantes, sin embargo, diferentes organizaciones mundiales tales como la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, por sus siglas en inglés) y la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) sugieren el monitoreo de su ocurrencia en alimento de consumo masivo tales como el café.

2.4 Mecanismo de formación de furano y 5-hidroximetilfurfural en café

Se han propuesto diversos mecanismos de formación del furano como: (1) degradación térmica/ reacción de Maillard de azúcares reductores, en presencia o ausencia de aminoácidos (Batool et al., 2021; Perez Locas & Yaylayan, 2004; Scholz & Stadler, 2018), (2) degradación térmica de ciertos aminoácidos (Batool et al., 2021; Perez Locas & Yaylayan, 2004) y oxidación térmica de (3) ácido ascórbico (Batool et al., 2021; Perez Locas & Yaylayan, 2004) (4) ácidos grasos poliinsaturados (Batool et al., 2021; Perez Locas & Yaylayan, 2004; Scholz & Stadler, 2018) y (5) carotenoides (Mariotti, Granby, et al., 2013; Scholz & Stadler, 2018).

Los azúcares reductores como las hexosas o pentosas pasan por la reacción de Maillard en presencia de aminoácidos generando compuestos intermedios, así mismo los amino ácidos por sí solos también representan una ruta de formación (Batool et al., 2021; Mariotti, Granby, et al., 2013).

Por degradación térmica, aminoácidos como serina y cisteína también inducen la formación de furano. Durante la degradación de la serina se da la formación de acetaldehído y glicolaldehído la cual a su vez produce un producto intermedio cuya ciclación y deshidratación produce furano (Batool et al., 2021; Perez Locas & Yaylayan, 2004).

La vía oxidativa que involucra los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), por sus siglas en inglés) da origen al 4-hidroxi-2-butenal como producto intermedio de la degradación, se cicla a 2,5-dihidro-2-furfural, el cual produce furano después de la eliminación de agua (Batool et al., 2021; Kettlitz et al., 2019; Scholz & Stadler, 2018) (**Figura 2**). En el café verde se ha demostrado que la glucosa, la sacarosa y los ácidos grasos poliinsaturados, específicamente

los ácidos linoleico y linolénico, son posibles precursores de la formación de furano en el café tostado (Pavesi Arisseto et al., 2011).

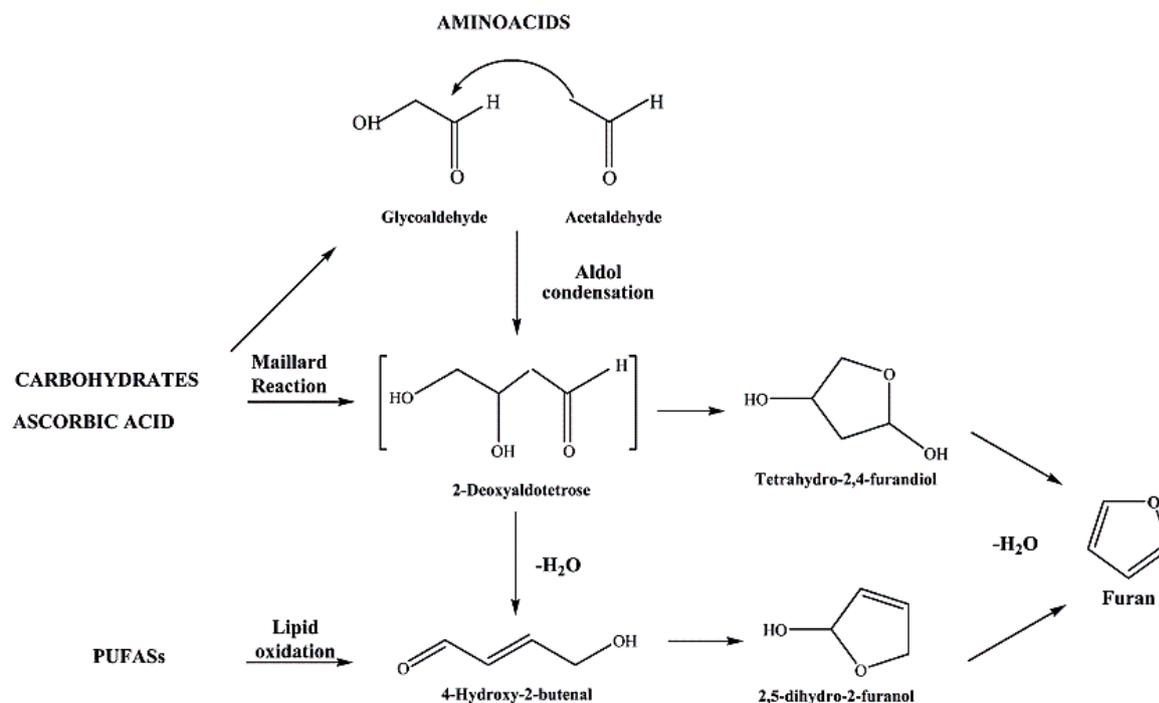


Figura 2. Diferentes vías de formación del furano (Mariotti, Granby, et al., 2013).

La **Figura 3.** muestra las dos vías de formación del 5-HMF. La primera es la descomposición de 3-desoxiglucosona (3-DG) en la reacción de Maillard, en presencia de calor, bajo pH, azúcares reductores y aminoácidos se forma una base Schiff, posteriormente por medio de la ciclación de la base Schiff se forman productos de reordenamiento de Heyns y Amadori los cuales se degradan a 1,2-eneaminnol por 1,2-enolización, luego este se deshidrata para formar (3-DG), y mediante otra deshidratación se forma 3,4-didesoxiglucosona (3,4-DGE), el cual producirá 5-HMF por medio de una deshidratación y ciclación. (Anese et al., 2014; Lee et al., 2019). La segunda vía de formación es la caramelización, en que ocurre una deshidratación de azúcares en condiciones ácidas. La degradación de fructosa catalizada por ácido da paso a la formación del catión fructofuranosilo, donde este se puede convertir en 5-HMF. Por otro lado, la glucosa y la fructosa también pueden formar 3-DG a través de

1,2-enolización, dando como producto 5-HMF después de la deshidratación y ciclación (Lee et al., 2019; Locas & Yaylayan, 2008).

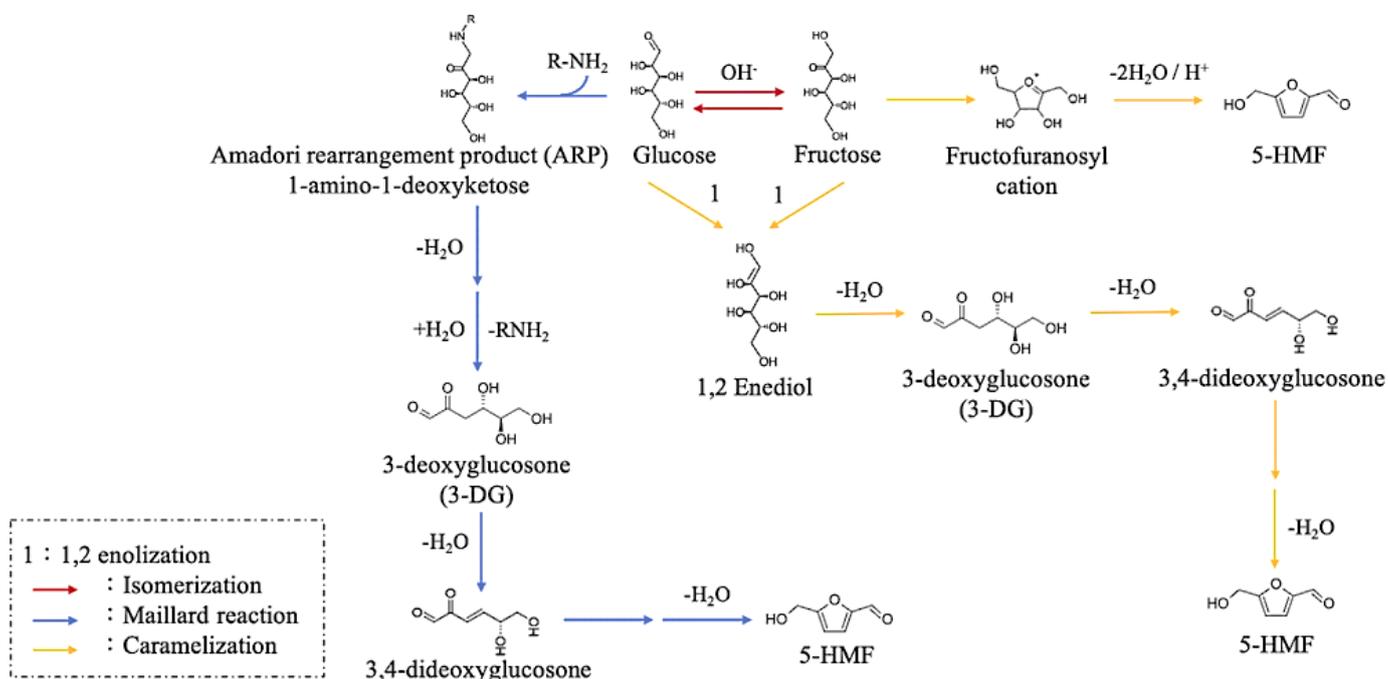


Figura 3. Mecanismos de formación del 5-HMF (Lee et al., 2019).

2.5 Tecnologías de mitigación y reducción en café y otros alimentos

Debido a la potencial toxicidad que presentan los neo-contaminantes, se han realizado diversos estudios colaborativos entre la industria y las autoridades de la Unión Europea para desarrollar posibles intervenciones tecnológicas que permitan reducir su exposición al consumidor (EFSA, 2011). En este sentido, uno de los mayores retos al momento de reducir los niveles de estos neo-contaminantes es mantener los atributos sensoriales (Pedreschi et al., 2014).

Las tecnologías de mitigación están enfocadas en intervenir el mecanismo de formación de estos neo-contaminantes. Estas tecnologías pueden agruparse en: i) selección de especies de café con bajos precursores, ii) modificaciones de las condiciones del proceso de tostado (temperatura y grado de tostado), iii) reducción del contenido de precursores y iv) adición de otros compuestos que compiten con los precursores (Barrios-Rodríguez et al., 2022). Moon & Shibamoto, (2009) investigaron la formación de compuesto volátiles en granos de café

bajo diferentes condiciones del proceso de tostado (230°C / 12min (light), 240°C / 14min (médium), 250°C / 17min (city) y 250°C / 21min (French)) encontrando que los niveles de 5-HMF disminuyen significativamente de 26,77% (light) a 0,32% (city) cuando hay un incremento en las condiciones (230°C/12min a 250°C /17min). Contrariamente, para el caso de furano en café tostado, se observó que a baja temperatura (140°C) y tiempo de tostado prolongado (20min) disminuye su contenido en el producto final (Pavesi Ariseto et al., 2011; Petisca et al., 2013). Albouchi & Murkovic, (2020) utilizaron 14 diferentes agentes de mitigación en un sistema modelo de café, evidenciando que para 5-HMF el sulfito de sodio tiene un 38,3% de acción como agente mitigador. Es posible que estas tecnologías de mitigación sean eficaces debido a la falta de precursores en un grado tostado más oscuro, así mismo el 5-HMF es un aldehído que es susceptible a la reducción y siendo el sulfito de sodio un agente reductor fuerte, causa una mitigación en el sistema modelo de café (Albouchi & Murkovic, 2020; Moro et al., 2012).

En el caso de las tecnologías de reducción estas se basan en reducir la concentración de los neo-contaminantes en las etapas posteriores al tostado. Quarta & Anese, (2012) en su investigación demostraron que la aplicación de un tratamiento al vacío a 60°C en un café previamente hidratado (actividad de agua de 0,7) bajo condiciones de 2,7 y 13,3 kPa durante 15 y 120 min, respectivamente, elimina el 10% de 5-HMF. Así mismo se ha utilizado el tratamiento al vacío en muestras de salsa de carne y galletas previamente hidratadas, obteniendo reducciones de furano de 67% y 94%, respectivamente después de 10 min de proceso (Anese, Bot, et al., 2014). Además, se ha considerado utilizar levaduras y bacterias ácido-lácticas (LAB, por sus siglas en inglés) como *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus*, respectivamente en el proceso de fermentación, y otros géneros de levaduras como *Candida parapsilosis*, para mejorar la calidad de fermentación y características sensoriales del producto final (Alves et al., 2017; Anese et al., 2014; Anese & Suman, 2013; Ribeiro et al., 2017; Vinícius de Melo Pereira et al., 2017). Akillioglu & Gökmen, (2014) determinaron la posibilidad de integrar el proceso de fermentación con *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de café instantáneo para reducir el contenido de 5-HMF en el producto final. En esa oportunidad se obtuvieron reducciones de 75,7%, 93,6% y 99,2% de 5-HMF en medios que contenían 1%, 5% y 10% de sacarosa fermentada con levadura después de 24 horas de fermentación.

Por otro lado, los métodos de preparación de la bebida de café también influyen en el contenido final de furano. Se ha evidenciado que, para los métodos de infusión, al usar moka

cafetera y máquina de expresso se obtiene una reducción del 57%, 67,5% y 63,3% de furano, respectivamente. En este sentido, EFSA ha evaluado el efecto de manipulación de alimentos y de tipos de recalentamiento en productos como café, comida para bebés, pan tostado y sopas, mediante el calentamiento y la agitación de estos en un recipiente abierto (Mariotti, Granby, et al., 2013), considerando que el furano es un compuesto volátil. Una limitación de esta técnica es que no es aplicable a todos los alimentos enlatados debido a temas de seguridad e inocuidad alimentaria.

2.6 Análisis sensorial

La División de Evaluación Sensorial del Instituto de Tecnólogos de Alimentos (IFT), define la evaluación sensorial como la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones de aquellas características de los alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído. En la actualidad, están surgiendo mayor variedad de nuevos productos alimenticios lo cual hace que las industrias estén forzadas a realizar estudios sensoriales para desarrollar productos que no solamente sean atractivos, sino que también satisfagan las expectativas de los consumidores. El análisis descriptivo (DA), es reconocido como una técnica adecuada para determinar el perfil sensorial de alimentos procesados, proporcionando así resultados detallados, sólidos y reproducibles. Sin embargo, una de sus desventajas es que es una técnica costosa y lleva mucho tiempo (Esmerino et al., 2017).

Es por ello, que los métodos descriptivos “rápidos” surgieron con tanta fuerza para así ahorrar tiempo y recursos. Entre los métodos rápidos se encuentran los métodos verbales como Flash Profiling, Rate All That Apply (RATA) y Check All That Apply (CATA), métodos basados en similitud como Free Sorting Task (FST) y Projective Mapping (PM) y los métodos basados en referencia como Polarised Sensory Positioning (PSP) y Pivot Profile (PP) (Esmerino et al., 2017).

El método CATA consiste en una lista de palabras o frases donde los participantes deben de seleccionar todas las palabras que consideren apropiadas para describir la muestra (Esmerino et al., 2017; Fleming et al., 2015). Las muestras son presentadas una a la vez de acuerdo con diseños aleatorizados para así evitar cualquier sesgo. Bocado salados, helados de crema, postres de chocolate, patatas fritas, refrescos con sabor a cítricos, panes

integrales y productos cosméticos son algunos de los productos en los cuales se ha aplicado este método de CATA (Delareu et al., 2015; Valentin et al., 2012). Dentro de las ventajas que tiene CATA en comparación con DA, es lo rápido, fácil para los participantes, se puede utilizar tanto con consumidores como con personas con poco entrenamiento (Delareu et al., 2015). Son pocos los estudios de café en donde se ha utilizado este método CATA, Giacalone et al., (2019) estudió los defectos de 6 diferentes perfiles de tostado, utilizando en la parte sensorial un DA y un CATA obteniendo resultados sensoriales similares entre ambos. Bemfeito et al., (2021) también utilizó el método CATA para evaluar la aceptación de los consumidores de café producidos a partir de diferentes tiempos de tueste.

Cabe destacar que, en la evaluación sensorial de productos con consumidores, no se utiliza solamente un método o un único test, generalmente la evaluación conlleva una combinación de estos. Dentro de esta combinación se considera el método hedónico (proporciona una medida de agrado) y de preferencia (determina qué productos se prefieren), estos ayudan a recopilar información sobre los atributos del producto, así mismo también se hace uso de escala de “Justo agrado” donde los consumidores deben asignar puntajes o proporcionar respuestas a preguntas relacionadas específicamente a un atributo en si esta menos o más fuerte de lo que le gusta o si esta justo como le gusta (Delareu et al., 2015), también se utilizan preguntas abiertas. Se hace toda esta combinación de métodos, pruebas o test con el fin de entender mejor cuál es la percepción del consumidor hacia el producto.

3. HIPOTESIS

Es factible mitigar los niveles de furano y 5-HMF y conservar el contenido de compuestos bioactivos presentes en el café tostado (variedad *Coffea arabica*) y sus propiedades antioxidantes, mediante la aplicación conjunta de microorganismos del género *Candida krusei* durante el proceso de fermentación del grano verde y el control de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado), sin afectar negativamente las características sensoriales del producto final.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Mitigar los niveles de furano y 5-HMF y conservar el contenido de compuestos bioactivos presentes en el café tostado (variedad *Coffea arabica*) y sus propiedades antioxidantes, mediante la aplicación conjunta de microorganismos del género *Candida krusei* durante el proceso de fermentación del grano verde y el control de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) , sin afectar negativamente las características sensoriales del producto final.

4.2 Objetivo Específicos

1. Evaluar el efecto de la variación de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) y la adición de microorganismos del género *Candida krusei* en el proceso de fermentación de los granos verdes de café, sobre la formación de furano y 5-HMF en el café tostado.
2. Evaluar el efecto de la variación de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) y la adición de microorganismos sobre el contenido de cafeína, ácido clorogénico, polifenoles totales y capacidad antioxidante en el café tostado.
3. Determinar mediante una prueba con consumidores, el efecto de la aplicación de microorganismos en el proceso de fermentación y la variación de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) sobre las propiedades sensoriales del café tostado.

5. MATERIALES Y EQUIPOS

5.1 Materia prima

- Granos de café cereza en óptima maduración.

5.2 Reactivos químicos

- Acetonitrilo grado para cromatografía líquida, Merck.
- Ácido acético glacial anhidro, Merck.
- Ácido gálico anhidro, Sigma.
- Agua desmineralizada.
- Carbonato de sodio anhidro, Merck.
- Cloruro de sodio anhidro, Merck.
- DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), Aldrich.
- Estándar Furano
- Estándar Furano d4, Isotec.
- Folin-Ciocalteu, Merck.
- Hexacianoferrato (ii) de potasio trihidrato, Merck.
- Metanol grado para cromatografía líquida, Merck.
- Sulfato de zinc heptahidrato, Merck.

5.3 Insumos

- Filtro de nylon 0,2 µm.
- Jeringas desechables, Cranberry de 3ml con aguja CALIBRE 21g X 1_{1/2}.
- Material de vidrio (vasos precipitados, matraz aforado, probeta, tazas).
- Papel filtro Watman No. 1.
- Tubos falcon cónicos 15ml.
- Viales 2 y 5 ml.

5.4 Equipos e instrumentos

- Agitador magnético con placa calefactora, IKA® C-MAG HS 7 S000.
- Balanza analítica, KERN ABJ220-4-NM.

- Cafetera Thomas TH-1381.
- Centrifuga, DLAB DM0412.
- Centrifuga, MIKRO 220R Hettich Zentrifugen.
- Columna Agilent
- Columna Agilent HPLC-DAD, C18 (5 μ M 129 A 4.6 X 150 mm).
- Cromatógrafo de Gas-MS, Agilent 7890^a / Agilent 597C XL EI/CI MSD.
- Cromatógrafo Líquido -DAD, Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000.
- Espectrofotómetro UV/vis, METASH UV-5100.
- Foodsaver V2860.
- Horno por convección, BIOBASE BJPX-SPRING.
- Micropipetas, DISCOVERY Comfort (20-200 μ L, 100-1000 μ L, 0.5-5ml).
- Molino de muelas, KitchenAid®.
- Refrigerador, Whirlpool.
- Vortex, DLAB MXF.

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Se desarrolló un diseño experimental factorial completo (2x2x3) con tres repeticiones para evaluar el efecto de la inoculación de microorganismos (con y sin inoculación), temperatura (180°C y 210°C) y grado de tostado (bajo, medio y oscuro) sobre el desarrollo de 5-HMF, cafeína, ácido clorogénico, polifenoles totales y capacidad antioxidante en el grano de café tostado (**Tabla 1**). Posteriormente, las muestras que presentaron menor contenido de 5-HMF y mantuvieron el contenido de compuestos bioactivos fueron sometidas a evaluación sensorial y se les determinó el contenido de furano.

Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante el software STATGRAPHICS Centurion XVI.I, para determinar por medio de ANOVA Multifactorial y Prueba de Múltiple Rangos de diferencias significativas según Tukey a un nivel de confianza del 95%, si existe diferencias significativas entre los factores y sus interacciones.

Tabla 1. Diseño experimental factorial completo (2x2x3).

Nivel de Tostado	Temperatura 180°C		Temperatura 210°C		Factores = 3 Muestras = 12 Réplicas = 3 Total de Corridas = 36
	Inoculación de M.O		Inoculación de M.O		
	Con	Sin	Con	Sin	
Bajo (L*=27.3)					
Medio (L*=23.5)					
Oscuro (L*=19)					

6.2 Adición de microorganismos del género *Candida krusei* en el proceso de fermentación

6.2.1 Materia prima

Se utilizaron granos de café cereza (*Coffea arabica*) en su estado óptimo de maduración los cuales fueron recolectados en la zona centro del departamento de Neiva Huila, Colombia a una altura de 1650 msnm. Estos granos de café fueron trasladados a la planta piloto del Centro Surcolombiano de Investigación en Café-CESURCAFÉ de la Universidad Surcolombiana de Neiva-Huila, Colombia en contenedores de poliestireno con gel

refrigerante que mantenían una temperatura promedio de 4°C para así evitar la fermentación temprana de los granos.

6.2.2 Activación e inoculación de levadura

La cepa de levadura *Candida krusei* se obtuvo de la colección de levaduras del Centro Surcolombiano de Investigación en Café-CESURCAFÉ de la Facultad de Ingeniería de la Universidad Surcolombiana-Colombia. La activación e inoculación de la cepa de levadura *Candida krusei* se realizó de acuerdo con lo recomendado por (Martinez et al., 2017), con algunas modificaciones. De esta manera la levadura se activó en el medio de cultivo de agar cloranfenicol (YGC) (Conda Pronadisa, España), en incubación a 30°C por 24 horas (Heratherm IMH60-S, Thermo scientific, Alemania). Una vez obtenido el cultivo, la levadura se suspendió en agua de peptona (Merck, Alemania) incubando bajo las mismas condiciones. Después, se realizó un proceso de centrifugado (Zentrifugen Hettich EBA 30 200/200, Alemania) a 5000 rpm durante 3 minutos, se eliminó el sobrenadante y las células se lavaron 3 veces con agua destilada. Se diluyeron en 2 ml de agua para la posterior inoculación en la masa de café. La concentración final obtenida de levadura inoculada fue de $1,2 \times 10^6$ células ml^{-1} correspondiente al estándar número 4 de la escala de McFarland con una densidad óptica teórica a 550 nm.

6.2.3 Fermentación y secado

Se estableció un tratamiento de fermentación con inoculación de levaduras (TL) y un tratamiento control (TC) sin ningún tipo de inoculación. Cada tratamiento se realizó por triplicado, con 15 kg de café despulpado por réplica en cubetas de poliestireno herméticamente cerradas. Culminado el tiempo de fermentación (18 horas) las muestras se llevaron a secado solar en marcos de madera en un secador parabólico, registrando la humedad de los tratamientos con un determinador de humedad para granos (KETT, PM450, USA), hasta llegar a una humedad final en el rango de 10-12% en base húmeda.

6.3 Variación de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) en el proceso de tostado

Una vez terminada la etapa de secado los granos (semillas) se sometieron a una etapa de trilla, con el fin de retirar el pergamino y obtener el denominado café verde. Posteriormente los granos de café verde se sometieron a una operación de limpieza, separación y clasificación para eliminar granos defectuosos. Los granos verdes de café obtenidos para cada tratamiento se sometieron a tostado a dos diferentes temperaturas 180°C y 210 °C en una tostadora de muestras Quantik (TC-150A R/G) con capacidad de 150 gramos, hasta alcanzar los niveles de tostado bajo, medio y oscuro, establecidos mediante el parámetro L* del Espacio de Color CIE L*a*b* con un colorímetro Konica Minolta (CR-410, N.J. USA), de acuerdo con los valores reportados por (Wei & Tanokura, 2015): L*=27.3 (bajo), L*=23.5 (medio) y L*=19 (oscuro).

6.4 Preparación de la materia prima

6.4.1 Materia prima

Se utilizaron los granos de café tostado de la variedad *Coffea arabica* proporcionados por el Centro Surcolombiano de Investigación en Café- CESURCAFÉ de la Universidad Surcolombiana de Neiva-Huila, Colombia.

6.4.2 Molienda de los granos de café tostado

Los granos de café tostado enviados por el Centro Surcolombiano de Investigación en Café- CESURCAFÉ de la Universidad Surcolombiana de Neiva-Huila, se recibieron envasados al vacío, con el fin de conservar sus propiedades químicas y sensoriales por un tiempo más prolongado. Se realizó la molienda de los granos de café tostado en un molino de muelas (KitchenAid®) hasta obtener un polvo, dicho polvo de café se almacenó en bolsas de polietileno selladas, a temperatura ambiente y sin luz para su posterior análisis. Cada muestra se codificó de acuerdo con los 3 factores, siendo la codificación la siguiente: TL (Tratamiento con Levadura), TC (Tratamiento Control), 180°C, 210°C (Temperatura) y B, M y O (grado de tostado Bajo, Medio y Oscuro).



Figura 4. Granos de café tostados envasados al vacío (a) y café molido (b).

6.4.3 Caracterización química del café tostado molido

El café tostado molido se caracterizó químicamente en triplicado por medio de los análisis de 5-HMF, cafeína, ácido clorogénico, compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante, los cuales están contemplados dentro del diseño experimental, posterior a la evaluación sensorial, se caracterizó químicamente por duplicado el furano.

6.4.3.1 Determinación 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico

El contenido de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico se realizó según el método desarrollado por (Vignoli et al., 2014), con algunas modificaciones.

A. Extracción de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico presentes en café tostado.

Se realizó la extracción de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico del café mediante el tratamiento de 0,1 g de muestra de café a la cual se le añadieron 10 ml de agua destilada, 0,75 ml de hexacianoferrato (ii) de potasio trihidrato (Carrez I) y 0,75 ml de sulfato de zinc heptahidrato (Carrez II) agitando por medio de un vortex en cada adición, posteriormente se centrifugó por 20 minutos a 4500 rpm. El sobrenadante obtenido se pasó por filtros de nylon de 0,22 μm a viales de 2 ml para su posterior inyección.

B. Condiciones del equipo HPLC-DAD para la medición de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico

La determinación de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico en el café se realizó por medio de cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD). Las condiciones cromatográficas se detallan en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Condiciones de HPLC-DAD para la determinación de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico.

Parámetro	Condición
Columna	Acclaim™ 120 C18 5 µm 120 A 4.6 x 150 mm
Fase móvil	Ácido acético al 1% / acetonitrilo (95:5)
Flujo de fase móvil / Presión	1 ml / min / 1.200psi
Longitud de onda	Ácido clorogénico 324 nm Cafeína 273 nm 5-Hidroximetilfurfural 280 nm
Temperatura del horno	30°C
Volumen de inyección	20 µl

6.4.3.2 Determinación de compuestos polifenólicos.

El contenido de polifenoles totales se determinó por medio del método Folin-Ciocalteu descrito por (Singleton et al., 1965) con algunas modificaciones.

A. Extracción de compuestos polifenólicos presentes en café tostado.

Se realizó una extracción metanólica con 0,1 g de muestra de café tostado con 15 ml de metanol/agua al 50% agitándose por medio de un vortex, posteriormente se centrifugó por 15 minutos a 4500 rpm. Una vez finalizada la centrifugación se filtró y recolecto el sobrenadante.

Del filtrado recolectado se tomaron 100 µL, se adicionaron 4,9 ml de agua destilada, 500 µL de reactivo Folin-Ciocalteu, se agitó por medio de un vortex y se dejó reposar por 3 minutos.

Posteriormente se adicionaron 1,7 ml de carbonato de sodio al 20% y 2,8 ml de agua destilada se agitó nuevamente por medio de un vortex y se dejó reposar por 30 minutos manteniéndolo lejos de la luz, pasados los 30 minutos se procedió a leer las muestras en un espectrofotómetro UV/vis a una longitud de onda de 765 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico por gramo de muestra de café.

6.4.3.3 Determinación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó por el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) según el método desarrollado por (Brand-Williams et al., 1995), con algunas modificaciones.

A. Extracción de compuestos antioxidantes presentes en café tostado.

Se realizó una extracción metanólica de 0,1 g de muestra de café tostado con 15 ml de metanol/agua al 50% agitándose por medio de un vortex, posteriormente se centrifugó por 15 minutos a 4500 rpm. Una vez finalizada la centrifugación se filtró y recolecto el sobrenadante. Del filtrado se construyó una curva para cada muestra con alícuotas de 0.5 ml, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml y 2,5 ml y se aforaron con metanol al 100%.

De cada una de las alícuotas realizadas anteriormente se tomaron 100 μ L realizando este procedimiento por triplicado, posteriormente se adicionaron 3,9 ml de la solución metanólica de DPPH, se agitó por medio de un vortex y dejó reposar por 30 minutos manteniéndolos lejos de la luz, pasados los 30 minutos se procedió a leer las muestras en un espectrofotómetro UV/vis a una longitud de onda de 517 nm. Los resultados se expresaron como IC₅₀ (mg de muestra de café que causa el 50% de la reducción de color de la solución de DPPH).

6.4.3.4 Determinación de furano

El contenido furano se realizó según el método desarrollado por (Mariotti, Toledo, et al., 2013), con algunas modificaciones. Se analizaron las muestras que presentaban menor contenido de neo-contaminante (5-HMF), y que a su vez mantenían sus compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

A. Extracción de furano presente en café tostado.

Se realizó la extracción de furano presente en el café mediante el tratamiento de 0,1g de muestra a la cual se le añadieron 5,5 ml de cloruro de sodio al 5 M (NaCl) obteniendo 7 viales por muestra, a estos se les adicionó 10 µL de una solución de estándar interno de furano d4 (1,5 ug/ml) y 0, 0, 0, 5, 5, 10 y 20 µL de una solución de furano (1,5 ug/ml), para cuantificar el contenido de furano mediante una curva de adición estándar. Posteriormente cada vial se llevó a un agitador por 30 segundos asegurando la homogenización para su posterior inyección.

B. Condiciones del equipo GC-MS para la medición de furano.

La determinación de furano en el café se realizó por medio de cromatografía gaseosa-acoplada a un espectrómetro de masas. Las condiciones cromatográficas se detallan en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Condiciones de GC-MS para la determinación de furano.

Condiciones Headspace	
Parámetro	Condición
Temperatura / tiempo de incubación	60°C / 20 min
Temperatura de jeringa	70°C
Volumen de inyección	1 ml
Condiciones GC-MS	
Columna	HP-PLOT / Q, 15 m x 0.32 mm ID x 20 µm
Flujo de columna	1.7 ml / min helio, 200°C
Rampa de temperatura del horno	50°C x 1 min y 10°C / min hasta 160°C
Temperatura de la fuente / cuadrupolo	230°C / 150°C
Volumen de inyección	1000 µl

6.5 Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó en dos etapas diferentes según como la situación sanitaria del país lo permitiera. En la primera etapa se realizó un test triangular para descartar el efecto del almacenamiento del café preparado, la segunda parte consistió en realizar una prueba con consumidores para la caracterización de las muestras.

6.5.1 Test triangular

Se evaluó si existía algún efecto significativo en los componentes aromáticos y temperatura, entre un café que se preparó una hora antes de la evaluación y que fue almacenado en un termo para café, con un café que fue preparado de 15 a 20 minutos antes de la evaluación, esto con el fin de que en la prueba con consumidores el tiempo de almacenamiento no influyera en la evaluación. Los datos recopilados se analizaron por medio de docimasia de hipótesis, aplicando una distribución binomial.

6.5.1.1 Ejecución del test

La evaluación sensorial se realizó en el Laboratorio de Evaluación Sensorial del Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química de la Universidad de Chile, el cual está diseñado de acuerdo con las especificaciones de la norma ISO 8586:2012. Se utilizaron muestras de granos de café tostado proporcionados por el Centro Surcolombiano de Investigación en Café- CESURCAFÉ de la Universidad Surcolombiana de Neiva-Huila, Colombia. Estos granos venían empacados al vacío para conservar sus características químicas y sensoriales.

Los granos de café tostado se molieron el día de la evaluación con un molino de muelas (KitchenAid®). Se utilizó agua filtrada con el objetivo de mantener el agua a pH neutro y así poder minimizar sabores no deseados que pudiesen afectar el sabor del café. La proporción de gramos de muestra de café por litro de agua se determinó de acuerdo con la ISO 6668:2008 la cual recomienda una proporción de 5 a 9 g de café por 100 ml. En esta investigación se utilizaron 70 g de muestra de café para 1000 ml de agua lo que equivale a 7 g / 100 ml, similar a la proporción óptima de (SCAA, 2015) de 8.25 g / 150 ml. Las muestras

de café se prepararon mediante el método automático de goteo por goteo con una cafetera (Thomas TH-1381).

Se prepararon y evaluaron dos muestras, una de las muestras se preparó con una hora de anticipación a la evaluación y se almacenó en un termo para café y la otra muestra se preparó con aproximadamente 15-20 minutos de anticipación a la evaluación. Las tazas que se utilizaron para la evaluación se etiquetaron con códigos de tres dígitos. En la **Figura 5**. se observa la bandeja la cual contenía tres tazas codificadas con aproximadamente 60 ml de muestra, de las cuales dos eran iguales y una distinta, siendo la tarea del juez sensorial determinar la muestra distinta. Además, se proporcionó una hoja de respuesta, lápiz, servilleta y agua purificada para neutralizar. El panel estuvo constituido por estudiantes y egresados de Ingeniería en Alimentos con el curso aprobado de Evaluación Sensorial de la Universidad de Chile, y con disponibilidad e interés en participar.

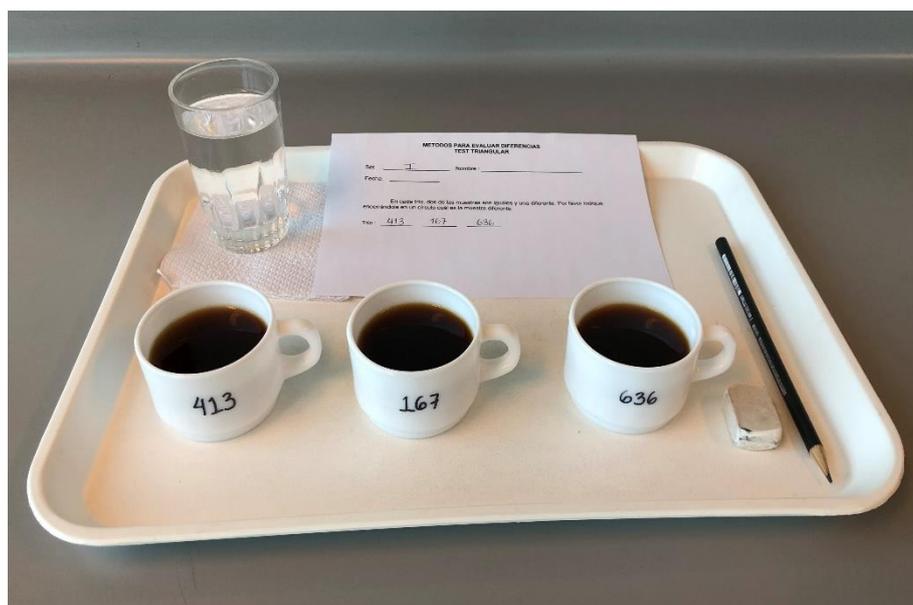


Figura 5. Bandeja para test triangular.

6.5.2 Prueba con consumidores

El objetivo de la prueba con consumidores fue obtener información sobre los atributos y la percepción de los consumidores sobre el café producido con variaciones en los parámetros térmicos (grado de tostado) y proceso de inoculación.

6.5.2.1 Selección y preparación de las muestras

Se evaluaron tres muestras de café las cuales fueron previamente seleccionadas según los criterios mencionados en la **Sección 6.4.3.4**. Estos granos de café tostado se molieron el día de la evaluación con un molino de muelas (KitchenAid®). Se utilizó agua purificada (Agua Benedictino) como medio de neutralización entre muestras. Se utilizaron 70 g de muestra de café para 1000 ml de agua lo que equivale a 7g / 100 ml. El café se preparó mediante el método automático de goteo por goteo con una cafetera (Thomas TH-1381), manteniendo así los mismos parámetros utilizados en el test triangular (**Sección 6.5.1.1**).

6.5.2.2 Ejecución de la prueba

La evaluación sensorial se realizó al aire libre en un espacio techado en la Facultad Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

Las tres muestras preparadas fueron almacenadas en termos para café codificados, se verificó que la temperatura del café estuviera entre 60-70°C al momento de ser servido, con el fin de que las muestras estuvieran a la misma temperatura. Estas muestras se mantuvieron máximo por una hora en el termo para café, pasada la hora se descartaron y prepararon nuevas muestras.

Se seleccionaron 35 consumidores hombres y mujeres, entre 20-50 años, siendo estos consumidores regulares de café puro y que tuvieran la disponibilidad e interés de participar en la evaluación sensorial. Previo a la evaluación se le envió a cada consumidor el cuestionario de la evaluación a través de Google Forms, posteriormente se les presento las muestras codificadas de manera monádica y aleatoria en una bandeja, evaluando el café como habitualmente lo consume. Se proporcionó azúcar, edulcorante líquido y edulcorante en tableta, pudiendo cada consumidor elegir el tipo de endulzante y cantidad adicionada, pero debió endulzar todas las muestras de la misma manera. Se llevó un registro de ello.

Las tazas que se utilizaron para la evaluación se etiquetaron con letras. En la **Figura 6**. se observa una bandeja, en la cual se presentaba cada taza con aproximadamente 60 ml de muestra, servilleta y agua para neutralizar (Agua Benedictino).



Figura 6. Bandeja para prueba con consumidores.

6.5.2.3 Cuestionario para prueba con consumidores

El cuestionario consistió en las siguientes partes:

- Filtro: Se les preguntó a los consumidores, si consume habitualmente alguna de las siguientes bebidas (té en bolsa, chocolate caliente, café instantáneo, café en grano y té a granel), cómo consume el café en grano habitualmente, con qué frecuencia consume el café puro, tipo de edulcorante y cantidad que le adicionó a la taza de café.
- Preguntas de agrado: En una escala hedónica de 7 puntos (7= me agrada mucho hasta 1= me desagrada mucho) se les preguntó sobre la apariencia, aroma, sabor y agrado general de las muestras.
- Preguntas de justo agrado (JAR): Se les preguntó en una escala de (-2 = mucho menos intenso de lo que me gusta hasta +2 = mucho más intenso de lo que me gusta) sobre la intensidad de aroma, acidez, amargor y cuerpo de las muestras.
- Preguntas abiertas: Debían indicar en forma espontánea las razones de por qué habían seleccionado esa opción de agrado en la escala hedónica.

- CATA: Se presentaron los descriptores (palabras o frases) de manera aleatoria para minimizar sesgos. Los descriptores utilizados en el cuestionario CATA, fueron obtenidos utilizando listas de atributos y referencias que se han desarrollado en estudios realizados por (Bolger et al., 2017; Chambers et al., 2016; Seninde & Chambers, 2020) para determinar los descriptores más importantes en la bebida de café.
- Preferencia, se les pidió que ordenaran las muestras de café del que más le gustó al que menos le gustó, como pregunta final.

En el **Anexo 10.8** se encuentra el cuestionario completo.

6.5.2.4 Evaluación estadística

Los datos recopilados se analizaron de la siguiente manera:

Los datos de la escala hedónica y justo agrado se analizaron por medio de ANOVA Multifactorial y prueba de rango múltiple Tukey a un nivel de confianza al 95% utilizando el programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I. Los resultados de justo agrado y de las preguntas abiertas fueron analizados por medio de comparación de frecuencias por distribución normal.

Los datos del cuestionario CATA se analizaron por medio del análisis de correspondencia para datos no paramétricos (CA) por medio de la prueba Cochran's Q, utilizando el programa XLSTAT Versión 2014.5.03 de la empresa Addinsoft.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Caracterización química del café tostado molido

Las respuestas fueron analizadas de acuerdo con lo expuesto en el diseño experimental (**Sección 6.1**). Primero se determinó el contenido de 5-HMF, cafeína, ácido clorogénico, polifenoles totales y la capacidad antioxidante en las 36 muestras de café tostado molido. Posteriormente se realizó la evaluación sensorial de las 3 muestras que presentaron el menor contenido de 5-HMF y que mantuvieron el contenido de compuestos bioactivos. Finalmente, a estas 3 muestras se les determinó el contenido de furano.

7.1.1 Contenido de 5-hidroximetilfurfural, cafeína y ácido clorogénico

Se encontró un efecto significativo ($p < 0,05$) para los factores grado de tostado e inoculación (**Tabla 4**), pero no para la temperatura, lo que indica que las diferentes temperaturas en el proceso de tostado no influyen sobre la formación del 5-HMF.

Tabla 4. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de 5-HMF.

Grado de Tostado	180°C		210°C	
	Sin Inoculación	Con Inoculación	Sin Inoculación	Con Inoculación
Bajo	471 ^{aA} ± 46	446 ^{bA} ± 16	417 ^{aA} ± 120	415 ^{bA} ± 64
Medio	316 ^{aB} ± 8	164 ^{bB} ± 6	194 ^{aB} ± 46	171 ^{bB} ± 61
Oscuro	41 ^{aC} ± 12	35 ^{bC} ± 6	45 ^{aC} ± 7	45 ^{bC} ± 3

*Los valores se muestran como la media [mg kg^{-1}] de doce experimentos replicados tres veces \pm sd (desviación estándar).

*Los diferentes superíndices en minúscula entre columna indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en inoculación y los diferentes superíndices en mayúscula entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en los diferentes grados de tostado.

Tabla 5. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de 5-HMF, resultados del programa StatGraphics XVI.I.

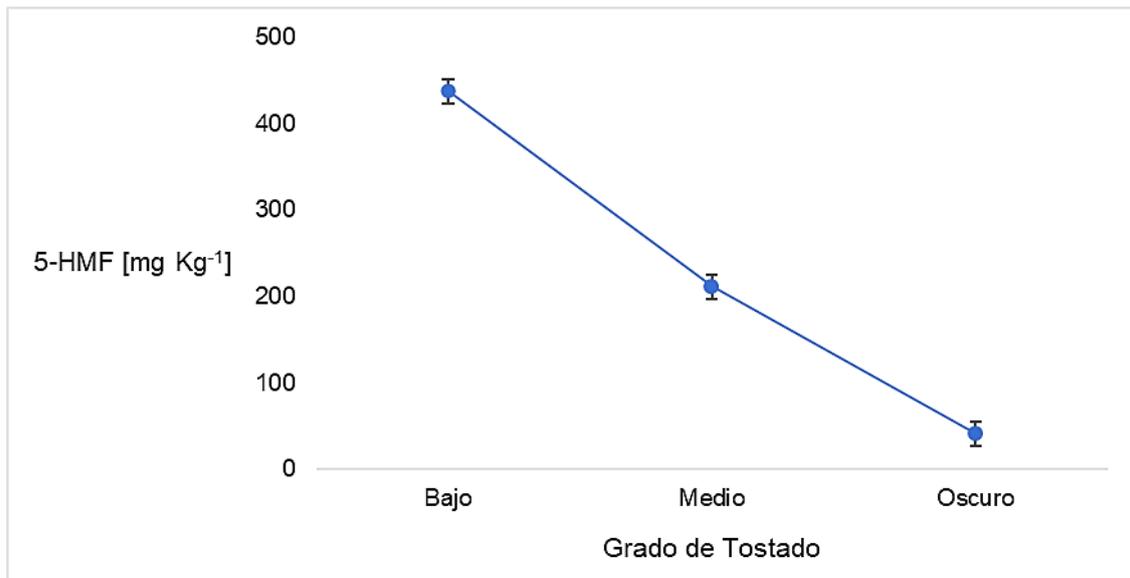
Factor	Nivel	[mg kg ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[mg kg ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[mg kg ⁻¹] ± SE
A	Sin	247 ^a ± 11	B	180°C	246 ^a ± 11	C	Bajo	437 ^a ± 14
	Con	213 ^b ± 11		210°C	215 ^a ± 11		Medio	211 ^b ± 14
							Oscuro	41 ^c ± 14

*La tabla muestra las medias [mg kg⁻¹] de 5-HMF para cada uno de los niveles de los factores ± SE (error estándar), estos son valores utilizados para realizar las gráficas de 5-HMF.

*Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican diferencia significativa (p<0,05) en los factores de inoculación y grado de tostado.

*Factor A: Inoculación; B: Temperatura y C: Grado de tostado.

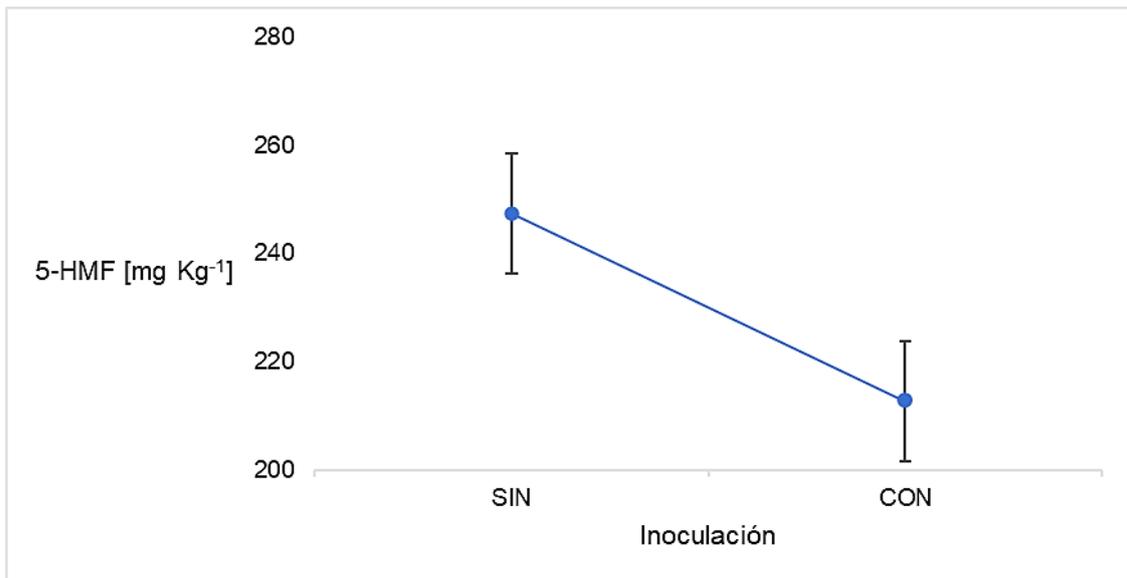
Se obtuvieron valores de 5-HMF en un rango de 415 mg kg⁻¹ a 471 mg kg⁻¹, 164 mg kg⁻¹ a 316 mg kg⁻¹, 35mg kg⁻¹ a 45 mg kg⁻¹ para grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente, observandose que a medida se aumentaba el grado de tostado el contenido de 5-HMF disminuía siguiendo la misma tendencia independientemente de la temperatura de tostado (**Figura 7**). Estos valores están dentro del rango de 5-HMF (24 mg g⁻¹ a 2186 mg kg⁻¹) previamente reportado por Arribas-Lorenzo & Morales, (2010) para tres diferentes tipos de café molido comercial: natural (granos de café sometidos a un proceso de tostado tradicional), torrefacto (se le adiciona sacarosa antes del proceso de tostado) y blend (una mezcla entre el natural y el torrefacto). Así mismo Akgün & Arıci, (2019) analizaron café molido turco con un grado de tostado medio reportando valores de 168,9 mg kg⁻¹ a 353,5 mg kg⁻¹ de 5-HMF. Estos resultados pueden atribuirse probablemente a la falta de precursores en esa etapa del tostado (oscuro) (Macheiner et al., 2021) o por la formación del ácido 5-hidroximetil-2-furoico (HMFA) por medio de la oxidación del grupo aldehído a un grupo ácido carboxílico (Murkovic & Bornik, 2007). Caso contrario a un grado de tostado bajo donde existe una mayor disponibilidad de precursores.



*Las barras de error muestran el error estándar.

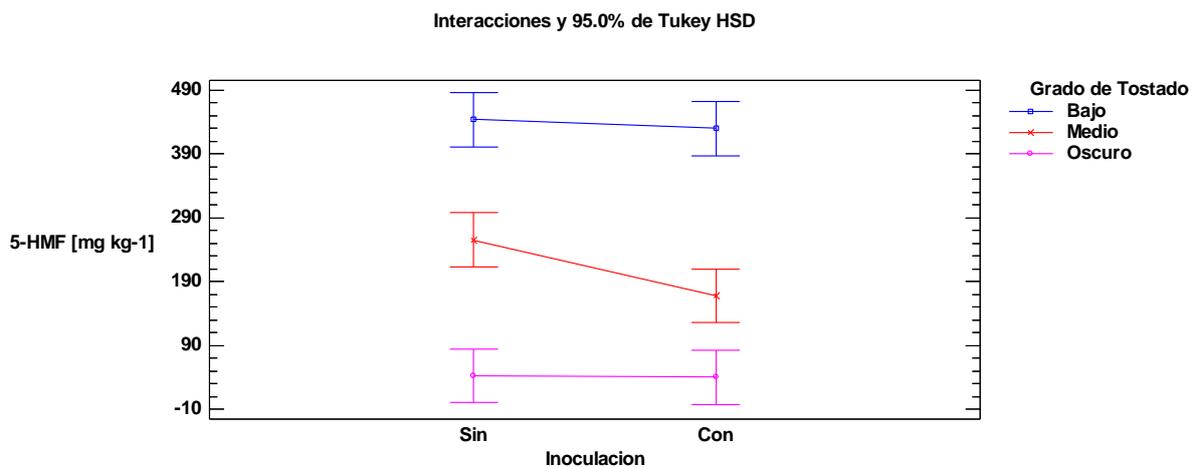
Figura 7. Efecto del factor grado de tostado sobre 5-HMF.

Por otro lado se observó que las muestras sometidas previamente a un tratamiento con levadura, producía un 14% (431 mg kg⁻¹, a 40 mg kg⁻¹) de mitigación en el contenido de 5-HMF (**Figura 8**), siendo mayor en un 34% en aquellas muestras sometidas a un grado de tostado medio (**Figura 9**). Akillioglu & Gökmen, (2014), utilizaron levadura *Saccharomyces cerevisiae* y diferentes concentraciones de sacarosa en el proceso de fermentación de café instantáneo, obteniendo reducciones de 5-HMF desde 61,2% (582 mg kg⁻¹) hasta un 99,2% (12 mg kg⁻¹) después de 24 horas de fermentación. Estos autores obtuvieron mayores porcentajes en comparación a los encontrados en este estudio. Sin embargo, la metodología que ellos utilizaron está enfocada en la reducción del neo-contaminante después del proceso de tostado, así mismo la matriz alimentaria era diferente (café instantáneo). El café instantáneo presenta una mayor disponibilidad de azúcares en el medio respecto del tostado. Esto probablemente favoreció la actividad de las levaduras, ya que estas utilizan el azúcar como su fuente primaria de energía metabólica (Akillioglu & Gökmen, 2014; Martinez et al., 2017).



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 8. Efecto del factor inoculación sobre 5-HMF.



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 9. Efecto de factores grado de tostado e inoculación sobre 5-HMF.

Para la cafeína que es uno de los compuestos bioactivos responsables del amargor y astringencia del café, ninguno de los factores experimentales mostró efecto significativo ($p > 0,05$) (**Tabla 6**), lo cual se atribuye que la cafeína es un compuesto termoestable (Pereira et al., 2018; Farah, 2012).

Tabla 6. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de cafeína.

Grado de Tostado	180°C		210°C	
	Sin Inoculación	Con Inoculación	Sin Inoculación	Con Inoculación
Bajo	8 ^a ± 0	9 ^a ± 0	9 ^a ± 0	9 ^a ± 1
Medio	9 ^a ± 0	9 ^a ± 0	9 ^a ± 0	9 ^a ± 1
Oscuro	9 ^a ± 0	9 ^a ± 0	9 ^a ± 1	9 ^a ± 1

*Los valores se muestran como la media [mg g⁻¹] de doce experimentos replicados tres veces ± sd (desviación estándar).

*Los mismos superíndices en minúscula entre columnas y filas indican que no hay diferencia significativa ($p > 0,05$) para los factores.

Tabla 7. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de cafeína, resultados del programa StatGraphics XVI.I.

Factor	Nivel	[mg g ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[mg g ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[mg g ⁻¹] ± SE
A	Sin	9 ^a ± 0	B	180°C	9 ^a ± 0	C	Bajo	9 ^a ± 0
	Con	9 ^a ± 0		210°C	9 ^a ± 0		Medio	9 ^a ± 0
							Oscuro	9 ^a ± 0

*La tabla muestra las medias [mg g⁻¹] de cafeína para cada uno de los niveles de los factores ± SE (error estándar).

*Los mismos superíndices en minúscula entre columnas y filas indican que no hay diferencia significativa ($p > 0,05$) para los factores.

*Factor A: Inoculación; B: Temperatura y C: Grado de tostado.

El contenido de cafeína obtenido osciló en un rango de 8 mg g⁻¹ a 9 mg g⁻¹, similar a los valores reportados por Pereira et al., (2018) 7,51 mg g⁻¹ a 9,14 mg g⁻¹ y Pereira et al., (2021) 3,84 mg g⁻¹ a 7,52 mg g⁻¹. Estos autores, evaluaron el efecto del proceso de fermentación con levaduras sobre las características químicas y sensoriales del café tostado, obteniendo incrementos significativos de cafeína entre los diferentes tratamientos de inoculación.

En el caso del contenido de ácido clorogénico, el grado de tostado y la temperatura presentaron un efecto significativo ($p < 0,05$) (**Tabla 8**).

Tabla 8. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de ácido clorogénico.

Grado de Tostado	180°C		210°C	
	Sin Inoculación	Con Inoculación	Sin Inoculación	Con Inoculación
Bajo	12 ^{aA} ± 1	11 ^{aA} ± 1	10 ^{bA} ± 3	10 ^{bA} ± 1
Medio	9 ^{aB} ± 0	6 ^{aB} ± 1	6 ^{bB} ± 1	6 ^{bB} ± 1
Oscuro	2 ^{aC} ± 0	1 ^{aC} ± 0	2 ^{bC} ± 0	2 ^{bC} ± 0

*Los valores se muestran como la media [mg g^{-1}] de doce experimentos replicados tres veces \pm sd (desviación estándar).

*Los diferentes superíndices en minúscula entre columna indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en temperatura y los diferentes superíndices en mayúscula entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en los diferentes grados de tostado.

Tabla 9. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de ácido clorogénico, resultados del programa StatGraphics XVI.I.

Factor	Nivel	[mg g^{-1}] ± SE	Factor	Nivel	[mg g^{-1}] ± SE	Factor	Nivel	[mg g^{-1}] ± SE
A	Sin	7 ^a ± 0	B	180°C	7 ^a ± 0	C	Bajo	11 ^a ± 0
	Con	6 ^a ± 0		210°C	6 ^b ± 0		Medio	7 ^b ± 0
							Oscuro	2 ^c ± 0

*La tabla muestra las medias [mg g^{-1}] de ácido clorogénico para cada uno de los niveles de los factores \pm SE (error estándar), estos son valores utilizados para realizar las gráficas de ácido clorogénico.

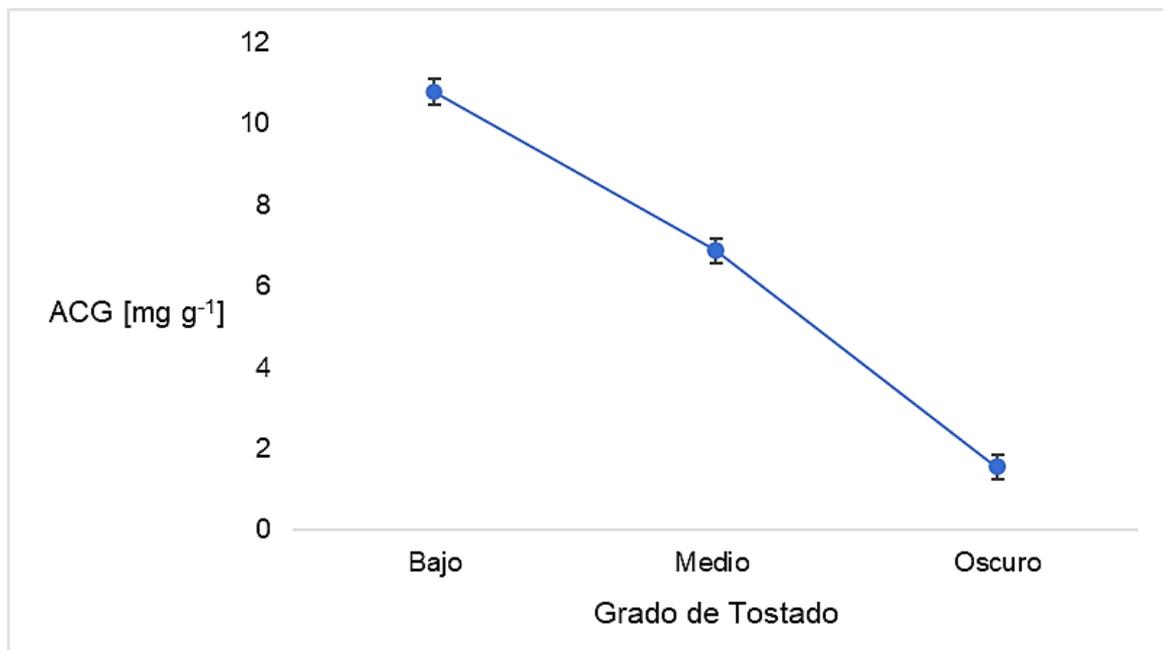
* Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican diferencia significativa ($p < 0,05$) en los factores de temperatura y grado de tostado.

*Factor A: Inoculación; B: Temperatura y C: Grado de tostado.

Para muestras sometidas a una temperatura de 180°C se obtuvieron valores de ácido clorogénico en un rango de 11 mg g^{-1} a 12 mg g^{-1} , 6 mg g^{-1} a 9 mg g^{-1} y 1 mg g^{-1} a 2 mg g^{-1} para grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente. Para muestras sometidas a una temperatura de 210°C se obtuvieron valores de 10 mg g^{-1} , 6 mg g^{-1} y 2 mg g^{-1} para

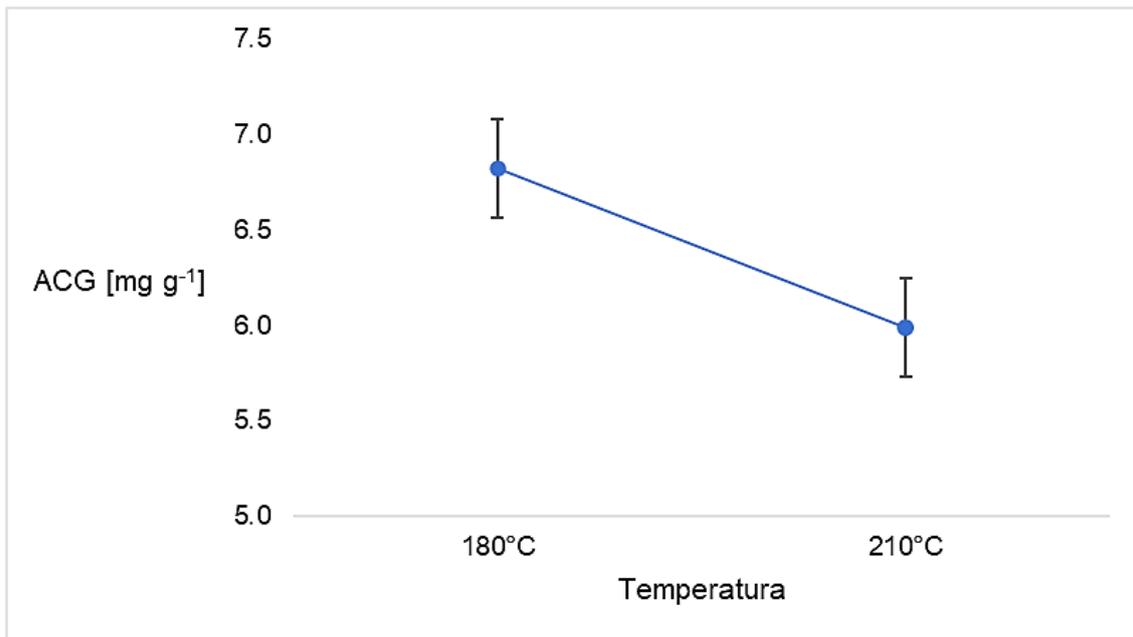
grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente; observándose que a medida que aumenta el grado de tostado y la temperatura el contenido ácido clorogénicos disminuye (**Figura 10 / Figura 11**). El ácido clorogénico es térmicamente inestable, luego al ser sometido al proceso de tostado puede degradarse en forma de ácido quínico libre y otros compuestos fenólicos de bajo peso molecular (Farah, 2012; Vignoli et al., 2014). Así mismo una parte del ácido clorogénico puede unirse a las melanoidinas en la reacción de Maillard al inicio del proceso del tostado (Marín & Puerta, 2008; Vignoli et al., 2014).

Los valores obtenidos son similares a los reportados previamente (12,26 mg g⁻¹ a 16,95 mg g⁻¹) en un estudio realizado con diferentes cepas de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis* y *Torulaspota delbrueckii*), a 190°C y grado de tostado medio sobre las características químicas y sensoriales del café (Pereira et al., 2018). Así mismo se corrobora con los resultados reportados por Rodriguez et al., (2019) de 9,7 mg g⁻¹ y 8,7 mg g⁻¹ quienes analizaron la composición química de granos de café de Colombia a grados de tostado medio y oscuro, observando que a media el grado de tostado aumenta el contenido de ácido clorogénico disminuye.



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 10. Efecto del factor grado de tostado sobre el ácido clorogénico.



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 11. Efecto de la temperatura sobre el ácido clorogénico.

La adición de *Candida krusei* tiene un efecto significativo en la mitigación de 5-HMF, aunque no sobre el contenido ácido clorogénico y cafeína, permitiendo cumplir con el objetivo de este estudio. Mediante la aplicación conjunta de esta levadura y la variación de los parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) fue factible, reducir los niveles de los neo-contaminantes y conservar o aumentar el contenido de compuestos bioactivos del café tostado.

7.1.2 Polifenoles totales

Para el contenido de polifenoles totales se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) para el factor grado de tostado (bajo-medio) y (bajo-oscuro). (**Tabla 10**). Esto es congruente con el comportamiento observado para el ácido clorogénico y capacidad antioxidante; ya que dentro de los compuestos fenólicos se encuentra el ácido clorogénico el cual presenta una gran capacidad antioxidante.

Tabla 10. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de polifenoles totales.

Grado de Tostado	180°C		210°C	
	Sin Inoculación	Con Inoculación	Sin Inoculación	Con Inoculación
Bajo	25 ^a ± 8	25 ^a ± 4	27 ^a ± 8	30 ^a ± 5
Medio	20 ^b ± 1	21 ^b ± 2	24 ^b ± 2	21 ^b ± 2
Oscuro	18 ^b ± 3	19 ^b ± 0	21 ^b ± 1	20 ^b ± 2

*Los valores se muestran como la media [mg EAC g⁻¹] de doce experimentos replicados tres veces ± sd (desviación estándar).

*Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican diferencia significativa (p<0,05) en los grados de tostado.

Tabla 11 .Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de polifenoles totales, resultados del programa StatGraphics XVI.I.

Factor	Nivel	[mg EAC g ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[mg EAC g ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[mg EAC g ⁻¹] ± SE
A	Sin	22 ^a ± 1	B	180°C	21 ^a ± 1	C	Bajo	27 ^a ± 1
	Con	23 ^a ± 1		210°C	24 ^a ± 1		Medio	21 ^b ± 1
					Oscuro		20 ^b ± 1	

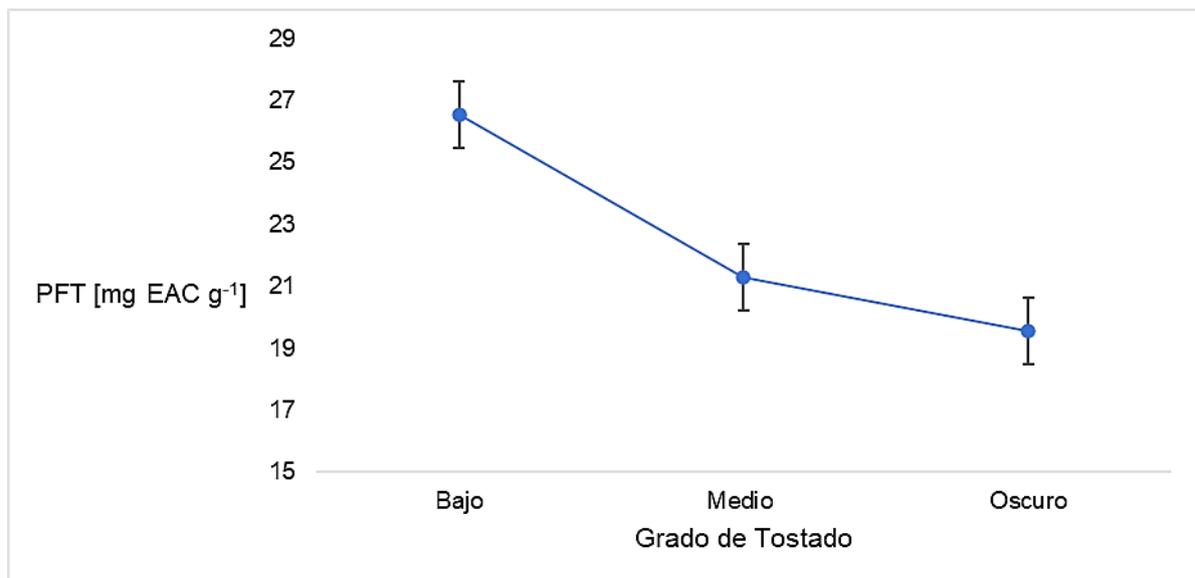
*La tabla muestra las medias [mg EAC g⁻¹] de polifenoles totales para cada uno de los niveles de los factores ± SE (error estándar), estos son valores utilizados para realizar las gráficas de polifenoles totales.

*Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican diferencia significativa (p<0,05) en el factor grado de tostado.

*Factor A: Inoculación; B: Temperatura y C: Grado de tostado.

Se obtuvieron valores en un rango de 25 mg EAC g⁻¹ a 30 mg EAC g⁻¹, 20 mg EAC g⁻¹ a 24 mg EAC g⁻¹ y 18 mg EAC g⁻¹ a 21 mg EAC g⁻¹ para grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente, observándose que a medida se aumentaba el grado de tostado el contenido de polifenoles totales disminuía (**Figura 12**). Estos valores son similares a los reportados por Contreras-Calderón et al., (2016) quien estudió la relación entre el contenido de polifenoles totales y los grados de tostado, reportando valores de 33,5 a 38,6 mg EAC g⁻¹ y 12,5 a 49,1 mg EAC g⁻¹ para grados de tostado bajo y medio, respectivamente. Así mismo,

Bobková et al., (2020) y Hečimović et al., (2011), también evaluaron el contenido de polifenoles totales con respecto a los diferentes grados de tostado, observando que a medida aumentaba el grado de tostado el contenido de compuestos fenólicos disminuía, debido probablemente a su termolabilidad. Esta disminución también se atribuye a la polimerización, y autooxidación durante el tostado lo que conduce una disminución en los polifenoles (Cheong et al., 2013).



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 12. Efecto del factor grado de tostado sobre el contenido de polifenoles totales.

7.1.3 Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante del café tostado fue afectada significativamente ($p < 0,05$) por el grado de tostado (bajo-medio) y por la interacción entre el grado de tostado y la inoculación (**Tabla 12**).

Tabla 12. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de capacidad antioxidante.

Grado de Tostado	180°C		210°C	
	Sin Inoculación	Con Inoculación	Sin Inoculación	Con Inoculación
Bajo	5 ^{aA} ± 1	5 ^{aA} ± 0	4 ^{aA} ± 1	4 ^{aA} ± 1
Medio	6 ^{bB} ± 0	5 ^{bA} ± 1	5 ^{bB} ± 1	5 ^{bA} ± 1
Oscuro	5 ^{abAC} ± 1	6 ^{abB} ± 1	4 ^{abAC} ± 1	6 ^{abB} ± 1

*Los valores se muestran como la media [g de café L⁻¹] de doce experimentos replicados tres veces ± sd (desviación estándar).

*Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican diferencia significativa (p<0,05) en grado de tostado y los diferentes superíndices en mayúscula entre filas y columnas indican diferencia significativa (p<0,05) en la interacción entre el grado de tostado y la inoculación.

Tabla 13. Efecto del grado de tostado, inoculación y temperatura sobre el contenido de capacidad antioxidante, resultados del programa StatGraphics XVI.I.

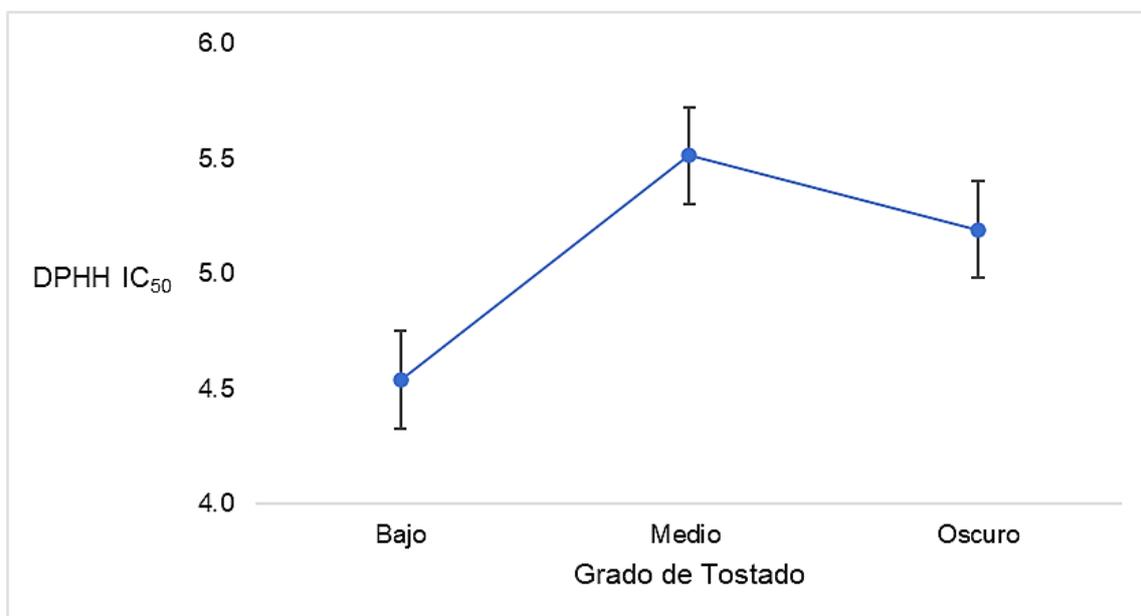
Factor	Nivel	[g de café L ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[g de café L ⁻¹] ± SE	Factor	Nivel	[g de café L ⁻¹] ± SE
A	Sin	5 ^a ± 0	B	180°C	5 ^a ± 0	C	Bajo	5 ^a ± 0
	Con	5 ^a ± 0		210°C	5 ^a ± 0		Medio	6 ^b ± 0
							Oscuro	5 ^{ab} ± 0
Interacción								
Factor		Nivel		[g de café L ⁻¹]				
A:C		Con-Bajo		5 ^a ± 0				
		Con-Medio		5 ^a ± 0				
		Con-Oscuro		6 ^b ± 0				
		Sin-Bajo		5 ^a ± 0				
		Sin-Medio		6 ^b ± 0				
		Sin-Oscuro		4 ^{ac} ± 0				

*La tabla muestra las medias [g de café L⁻¹] de capacidad antioxidante para cada uno de los niveles de los factores ± SE (error estándar), estos son valores utilizados para realizar las gráficas de capacidad antioxidante.

* Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican diferencia significativa (p<0,05) en grado de tostado e interacción entre el grado de tostado y la inoculación.

*Factor A: Inoculación; B: Temperatura y C: Grado de tostado.

En cuanto al grado de tostado se obtuvieron valores de capacidad antioxidante (IC_{50}) en un rango de 4 g de café L^{-1} a 5 g de café L^{-1} , 5 g de café L^{-1} a 6 g de café L^{-1} y 4 g de café L^{-1} a 6 g de café L^{-1} para grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente. Cabe destacar que en este estudio se encontró una diferencia significativa entre las capacidades antioxidantes de los cafés con grado de tostado bajo-medio y bajo-oscurio (**Figura 13**). A medida que el grado de tostado aumentó, la capacidad antioxidante disminuyó significativamente. Este comportamiento es el mismo observado para el ácido clorogénico. Las muestras de café tostado con mayor capacidad antioxidante fueron las que presentaron mayor contenido de ácido clorogénico. La principal propiedad de este y otros polifenoles es su capacidad antioxidante, luego un bajo tostado permitiría conservar esta propiedad ya que la degradación de los polifenoles es menor (Cheong et al., 2013).

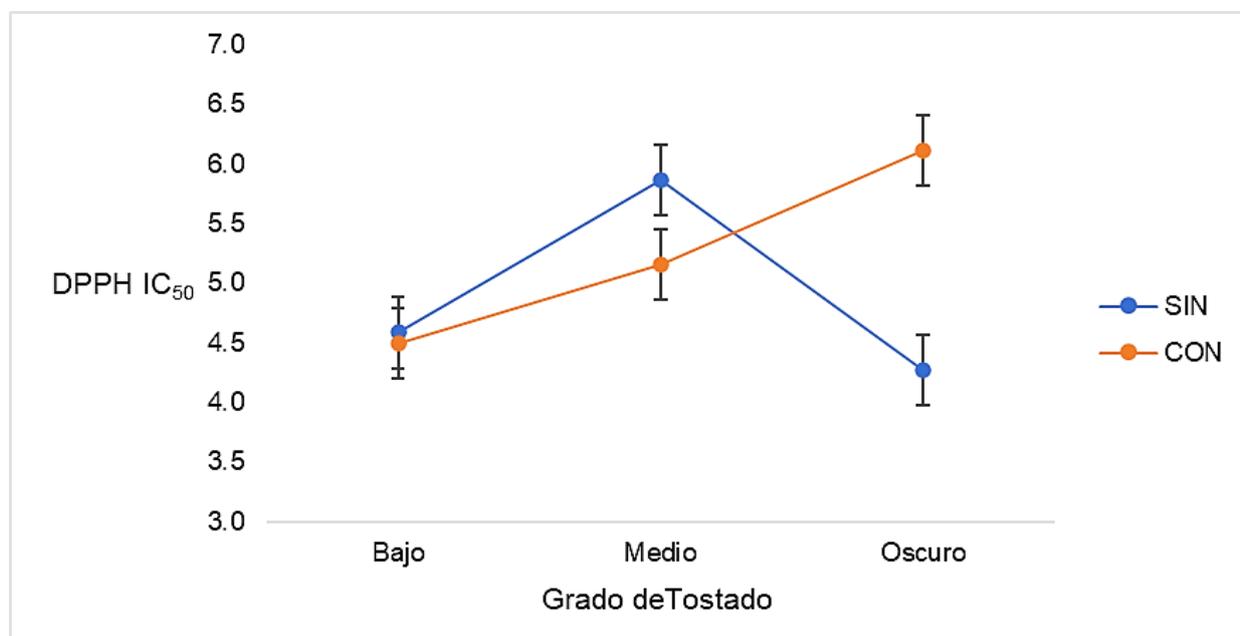


*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 13. Efecto del factor grado de tostado sobre la capacidad antioxidante.

Para muestras tratamiento control se obtuvieron valores de capacidad antioxidante (IC_{50}) 4 g de café L^{-1} a 5 g de café L^{-1} , 5 g de café L^{-1} a 6 g de café L^{-1} y 4 g de café L^{-1} a 5 g de café L^{-1} para grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente y para muestras con tratamiento de levadura se obtuvieron valores de a 5 g de café L^{-1} , 5 g de café L^{-1} y 6 g de café L^{-1} para grados de tostado bajo, medio y oscuro, respectivamente. A un tostado más oscuro sin inoculación las muestras presentaron una mayor capacidad antioxidante (**Figura 14**) Esto puede atribuirse a que en el café tostado oscuro ocurriría una la degradación del

ácido clorogénico y la formación de productos de la reacción de Maillard (melanoidinas), los cuales tienen una gran capacidad antioxidante (Mehaya & Mohammad, 2020).



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 14. Efecto de la interacción grado de tostado e inoculación sobre la capacidad antioxidante.

La relación entre el tratamiento sin o con inoculación y la capacidad antioxidante puede explicarse considerando que la formación de las melanoidinas en la reacción de Maillard es a partir de los azúcares. A un grado de tostado oscuro sin inoculación hay una mayor capacidad antioxidante, ya que hay una mayor disponibilidad de azúcares para la formación de melanoidinas de alto peso molecular.

Cabe mencionar, que respecto del grado de tostado sobre la capacidad antioxidante, no hay resultados concluyentes, lo cual es atribuible a factores experimentales tales como una falta de estandarización del grado de tueste-temperatura, variedades de café y métodos de extracción (Del Pino-García et al., 2012).

7.1.4 Contenido de furano

Se encontró un efecto significativo ($p < 0,05$) en el grado de tostado sobre el contenido de furano (**Figura 15**) para las muestras evaluadas, las cuales estaban sometidas a parámetros de proceso de: temperatura (210°C), grado de tostado (medio y oscuro) e inoculación (con y sin).

Tabla 14. Efecto del grado de tostado e inoculación sobre el contenido de furano.

Grado de Tostado	210°C	
	Sin Inoculación	Con Inoculación
Medio	6507 ^a ± 555	5019 ^a ± 170
Oscuro	N.D	7915 ^b ± 1041

*Los valores se muestran como la media [ng g^{-1}] de tres experimentos replicados dos veces ± error estándar.

*Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican que hay diferencia significativa ($p < 0,05$) para el factor grado de tostado.

*N.D (No Determinado)

Tabla 15. Efecto del grado de tostado e inoculación sobre el contenido de furano, resultados del programa StatGraphics XVI.I.

Factor	Nivel	[ng g^{-1}] ± SE	Factor	Nivel	[ng g^{-1}] ± SE
A	Sin	7544 ^a ± 528	C	Medio	5557 ^a ± 305
	Con	6467 ^a ± 305		Oscuro	8454 ^b ± 528

*La tabla muestra las medias [ng g^{-1}] de furano para cada uno de los niveles de los factores ± SE (error estándar), estos son valores utilizados para realiza la gráfica de furano.

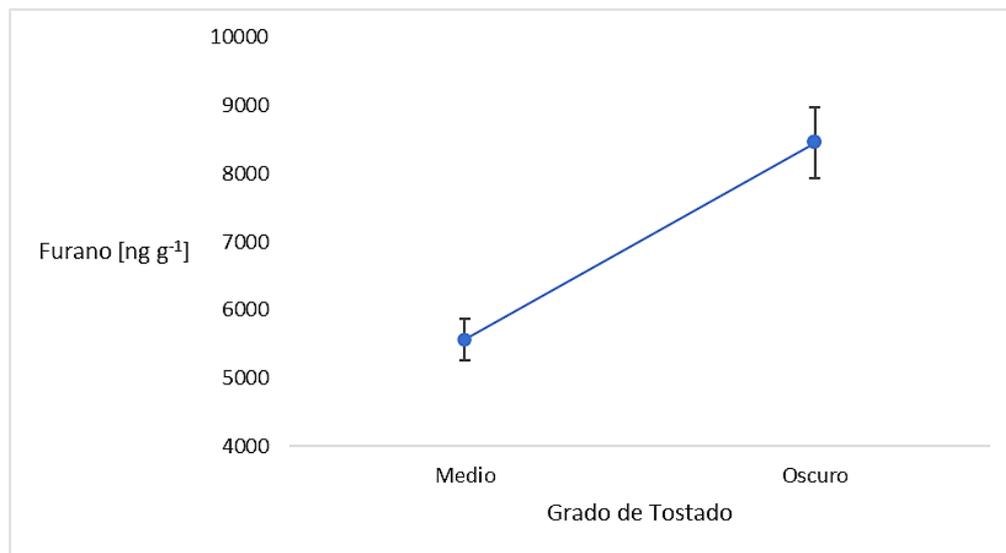
*Los diferentes superíndices en minúscula entre filas indican que hay diferencia significativa ($p < 0,05$) para el factor grado de tostado.

*Factor A: Inoculación y C: Grado de tostado.

El contenido de furano encontrado osciló entre 5019 ng g^{-1} a 6507 ng g^{-1} para un grado de tostado medio ($L^*=23,5$) y 7915 ng g^{-1} , para grado de tostado oscuro ($L^*=19$), observándose que a un mayor grado de tostado el contenido de furano incrementa. Este resultado es congruente con un estudio previo en el cuales se encontró un mayor contenido de furano en un grado de tostado oscuro ($L^*=20$) (3262 ug kg^{-1} - 4345 ug kg^{-1}) con respecto a un grado de tostado medio ($L^*=37$) (3226 ug kg^{-1} - 3631 ug kg^{-1}) Pavesi Arisseto (2011). Así mismo

(Altaki et al., 2011) evaluaron las condiciones de tostado y procedimientos de elaboración sobre el contenido de furano en bebidas de café reportando valores de 22 ng ml⁻¹, 53 ng ml⁻¹ y 138 ng ml⁻¹ para coordenadas CIE L*a*b* de (L*=47,4), (L*=39,98) y (L*=23.16), respectivamente, concluyendo que para un grado de tostado oscuro había un mayor contenido de furano (Altaki et al., 2011; Park et al., 2021; 2011),

Si bien la inoculación con levadura no produjo un efecto significativo en el contenido de furano de café tostado ($p>0,05$), esta tecnología logró mitigar en un 14% el contenido del neo-contaminante.



*Las barras de error muestran el error estándar.

Figura 15. Efecto del factor grado de tostado sobre el furano.

7.2 Proyecciones futuras en la investigación

Como otra alternativa de evaluación estadística, se consideró analizar los datos obtenidos por medio de un diseño Factorial Multinivel, con el objetivo de ver el efecto de los factores, sus interacciones y ajuste del modelo experimental. Obteniendo como resultados que a medida se iban excluyendo factores o interacciones que no eran significativas, con el fin de ajustar el modelo experimental, algunos factores que por ANOVA Multifactorial no eran significativos ahora sí lo eran como; el factor de temperatura sobre el contenido de 5-HMF, factor inoculación sobre el contenido de cafeína y factor temperatura sobre el contenido de polifenoles totales (**Anexo 10.5**). Siendo esto útil para hacer ajustes en las variaciones de parámetros térmicos (temperatura y grado de tostado) y fermentación de levaduras como tecnología de mitigación de neo-contaminantes para futuros trabajos con granos de café tostado.

7.3 Análisis sensorial

7.3.1 Test triangular

El test triangular se realizó con 10 alumnos y egresados de la carrera de Ingeniería en Alimentos de la Universidad de Chile con curso de Evaluación Sensorial aprobado; cada uno de ellos evaluaron 1 trío en una sola sesión, obteniendo como resultado 3 aciertos en 10 tríos. Es decir, sólo 3 de las 10 personas acertaron en identificar correctamente la muestra distinta en el trío.

Según la tabla de mínimos juicios correctos, esto indica que no hay diferencia significativa ($p \geq 0,05$) entre un café que se preparó con una hora de anticipación y un café que se preparó con 15-20 minutos antes de la evaluación.

7.3.2 Test con consumidores

Las muestras evaluadas sensorialmente, fueron las muestras que cumplieron con los criterios mencionados en la **Sección 6.4.3.4.**, considerando que estas muestras seleccionadas se procesaron bajo la misma temperatura (210°C), para esta parte sensorial se nombrarán como: TL-M, TC-M y TL-O, considerando diferencias en el tratamiento (con y sin levadura) y grado de tostado (medio y oscuro).

En el estudio participaron 16 mujeres, 18 hombres y 1 “sin declaración de género”, 29 de los consumidores estaban en un rango de edad entre 18-30, 5 entre los 31-40 años y 1 entre los 41-50 años. Todos cumplieron con el requisito básico de ser consumidores de café puro en grano al menos 1 vez por semana. Cada consumidor preparó su taza de café como habitualmente lo consume, 17 de ellos no lo endulzaron, 9 los endulzaron con edulcorante líquido y otros 9 con azúcar.

7.3.2.1 Agrado

En la **Tabla 16** se presentan los resultados del análisis de ANOVA multifactorial de la evaluación de agrado y justo agrado de las tres muestras de café.

Tabla 16. Resumen de los resultados de ANOVA Multifactorial de 2 vías de la evaluación de agrado y justo agrado en muestras de café.

Tipo de Escala	Atributos	Muestra TL-M	Muestra TC-M	Muestra TL-O	Valor-P Muestras
Hedónica (7= me gusta mucho a 1= me desagrada mucho)	Apariencia	5,5	5,8	5,8	0,4427
	Aroma	5,3	5,3	5,2	0,9536
	Sabor	4,5	4,5	4,9	0,3629
	Agrado General	4,2	4,3	5,1	0,0820
Justo Agrado (-2= mucho menos intenso de lo que me gusta a +2= mucho más intenso de lo que me gusta)	Intensidad de Aroma	-0,7	-0,5	-0,4	0,0925
	Acidez	0,6	0,8	0,3	0,0630
	Amargor	-0,2 ^a	0,2 ^{ab}	0,4 ^b	0,0069
	Cuerpo	-0,5 ^a	-0,1 ^{ab}	0,0 ^b	0,0214

*Valor-P en rojo, significa diferencia significativa ($p \leq 0,05$), los superíndices muestran diferencia significativa entre muestras.

En las muestras se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para los atributos de amargor y cuerpo, por medio de la prueba de múltiples rangos de Tukey se identificó que la diferencia se encontraba entre las muestras TL-M y TL-O, donde la muestra TL-O presentaba un mayor amargor y cuerpo (**Anexo 10.10**), lo cual es evidente ya que son muestras con diferentes grados de tostado. Estudios como los de Bemfeito et al., (2021), Frost et al., (2019) y Giacalone et al., (2019) muestran que el atributo de amargor está asociado a bebidas de café con un grado de tostado oscuro, por lo que la muestra TL-O es la muestra a la cual se le atribuye un mayor amargor, así mismo estos cafés con grado de tostado oscuro al presentar un mayor amargor también presentan un mayor cuerpo o textura. En cuanto a la adición de la levadura se han realizado algunos estudios como el de Ribeiro et al., (2017), que evaluaron las características sensoriales de dos variedades de café producidos con tres distintos cultivos de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 y CCMA 0200 y *Torulaspora delbrueckii* CCMA 0684) encontrando que una de las variedades de café presentó mejores características sensoriales después de la inoculación, así mismo la inoculación con *Saccharomyces cerevisiae* CCMA 0543 producía café con atributos de mayor calidad, ya que recibieron mayor puntuación en todos los atributos según la escala de calidad del protocolo SCAA, (2015).

Entre consumidores se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) en los atributos de apariencia, intensidad de aroma y cuerpo, esta dispersión puede estar influida por factores extrínsecos como: la preferencia de los consumidores y la edad.

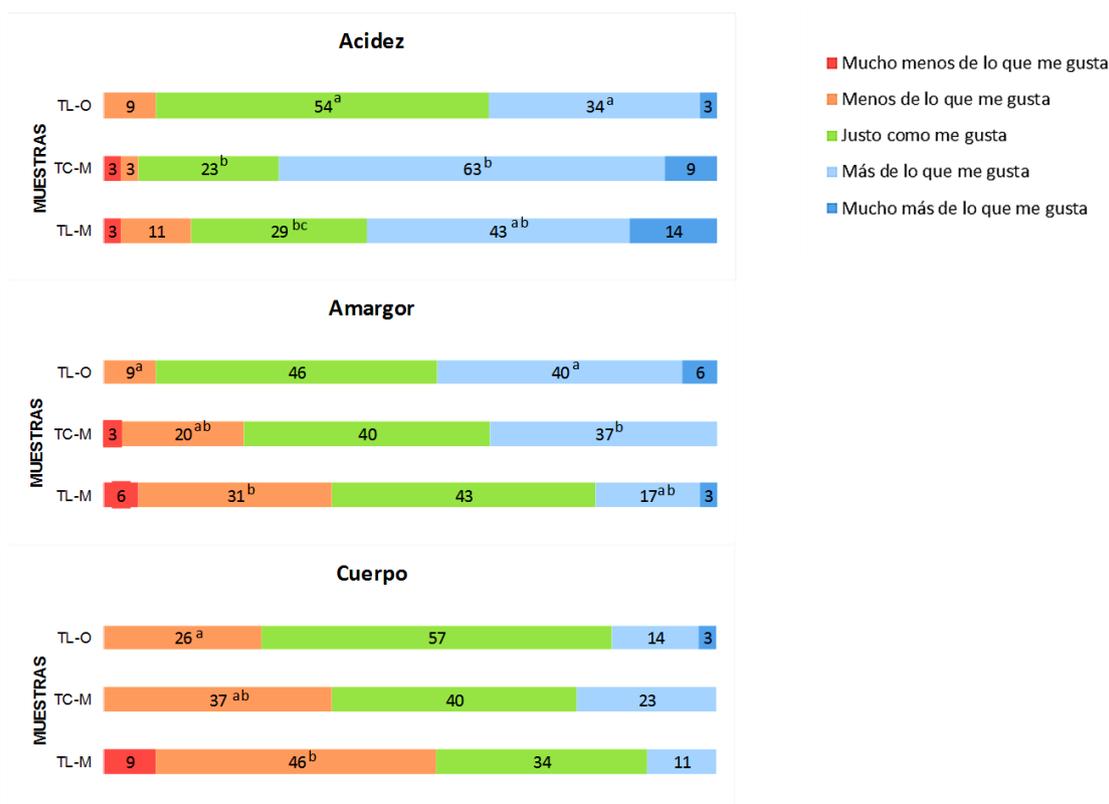
7.3.2.2 Justo Agrado (JAR)

Esta sección es un análisis complementario al resumen de resultados presentados en la **Tabla 16**. De los 4 atributos analizados en escala de justo agrado, se muestran los resultados para acidez, amargor y cuerpo. No se incluye, la intensidad de aroma que no presentó diferencias significativas entre muestras (**Anexo 10.11**), una explicación a esto podría ser que la evaluación sensorial se realizó al aire libre por lo que los consumidores no lograron percibir correctamente el atributo de aroma.

En la **Figura 16**. Se observa que en el atributo acidez, la muestra TL-O presenta mayor justo agrado que las dos muestras TL-M y TC-M, sin embargo, todas las muestras evaluadas fueron consideradas con una acidez mayor a la que les gusta a los consumidores. Esto puede deberse al grado de tostado, ya que estudios como de Córdoba et al., (2021) encontraron que para un grado de tostado bajo la bebida de café se asociaba a una intensidad mayor de acidez en comparación a la bebida de café preparada con un grado de tostado oscuro.

En el amargor, se observa que principalmente la muestra TL-O es más amarga de lo que les gusta a los consumidores, la muestra TL-M es intermedia y la muestra TC-M es menos amarga de lo que les gusta, es posible que la muestra TL-O sea más amarga debido al grado de tostado ya que a un grado más oscuro el ácido clorogénico se degrada en ácido cafeico y ácido quínico que son compuestos que contribuyen al amargor del café. Así mismo los métodos de preparación también influyen en lo que es la extracción de compuestos que son responsables del sabor amargo del café. Córdoba et al., (2020) demostraron que para un café preparado por el método expreso había una mayor extracción de cafeína y ácido clorogénico, que son los responsables del amargor del café.

En cuerpo, la muestra con mayor justo agrado es la TL-O, las muestras TL-M y TC-M presentan menos cuerpo de los que les gusta, especialmente la muestra TL-M. Es posible que esta tendencia esté relacionada al amargor ya que estos atributos se relacionan entre ellos.



*Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras.

Figura 16. Gráfico de justo agrado.

7.3.2.3 Preguntas abiertas

Luego de evaluar el agrado general, se le solicitó a cada consumidor que indicara lo más detalladamente posible las razones por las que había seleccionado esa opción de agrado dentro de la escala para cada una de las muestras. La **Tabla 17**. Detalla que un 37% de los consumidores encontraron a la muestra TC-M como “Mayor acidez/más ácido/muy ácido”, seguidamente por la muestra TL-M con un 31%, con diferencias significativas con respecto a la muestra TL-O. Así mismo, se encontró diferencia significativa para amargor entre TL-O (23%) y TC-M (6%). Dentro de los demás atributos no se encontró diferencia significativa, siendo las tres muestras descritas como con sabor agradable/equilibrado/buen sabor.

Tabla 17. Resultados de las razones de agrado (pregunta abierta).

ATRIBUTOS	TL-M (%)	TC-M (%)	TL-O (%)
SABOR			
Mayor acidez/más ácido/muy ácido	31 ^a	37 ^a	3 ^b
Sabor agradable/sabor equilibrado/buen sabor	23	17	26
Menos amargo/poco amargo	14	17	9
Acidez equilibrada/buena acidez	11	9	9
Muy amargo/más amargo	9 ^{ab}	6 ^a	23 ^b
Amargor agradable/amargor equilibrado/buen amargor	6	12	11
TEXTURA			
Cuerpo agradable/ cuerpo equilibrado/buen cuerpo	14	11	6
Menos cuerpo/cuerpo muy bajo/menor cuerpo/poco cuerpo/ cuerpo medio bajo	11	14	11
Diluido	3	3	11
AROMA			
Aroma no característico	17	6	17

*N= 35 consumidores

*Se consideraron aquellas respuestas que presentaban un % mayor al 10%.

*Los superíndices en minúscula muestran diferencia significativa entre muestras.

7.3.2.4 Check All That Apply (CATA)

La **Tabla 18.** Presenta los resultados del método de CATA por medio de la Prueba Cochran's Q, en el cual se encontró diferencia significativa ($p \leq 0,05$) para 4 de las 14 características referentes a los atributos, siendo estas características: aroma a tostado, sabor a tostado, gusto amargo y gusto ácido; manteniéndose la misma tendencia descrita anteriormente con respecto al amargor, donde las diferencias encontradas son entre las muestras con un grado de tostado medio y un grado de tostado oscuro, evidenciando que el grado de tostado influye mucho sobre el desarrollo de aromas y sabores del café.

Tabla 18. Resultados de Prueba Cochran's Q.

Atributos	TL-M	TC-M	TL-O	Valores-P
Aroma a tostado	0,286 ^a	0,457 ^{ab}	0,600 ^b	0,0191
Aroma a canela	0,057	0,000	0,029	0,3679
Sabor a tostado	0,286 ^a	0,457 ^{ab}	0,600 ^b	0,0106
Aroma a frutos secos	0,086	0,086	0,057	0,7165
Aroma a frutas	0,114	0,257	0,086	0,0755
Sabor a frutos secos	0,086	0,057	0,029	0,4724
Sabor a frutas	0,114	0,143	0,000	0,0498
Aroma a no fresco/ añejo	0,000	0,029	0,057	0,3679
Gusto amargo	0,371 ^a	0,514 ^{ab}	0,686 ^b	0,0263
Gusto ácido	0,571 ^{ab}	0,743 ^b	0,343 ^a	0,0027
Sabor a no fresco/añejo	0,143	0,086	0,029	0,2231
Sensación a grasa en la boca	0,086	0,086	0,086	1,0000
Lo tomaría diariamente	0,171	0,200	0,257	0,6625
Se lo recomendaría a mi familia o amigos.	0,171	0,257	0,343	0,2592
No lo tomaría	0,286	0,257	0,114	0,1787

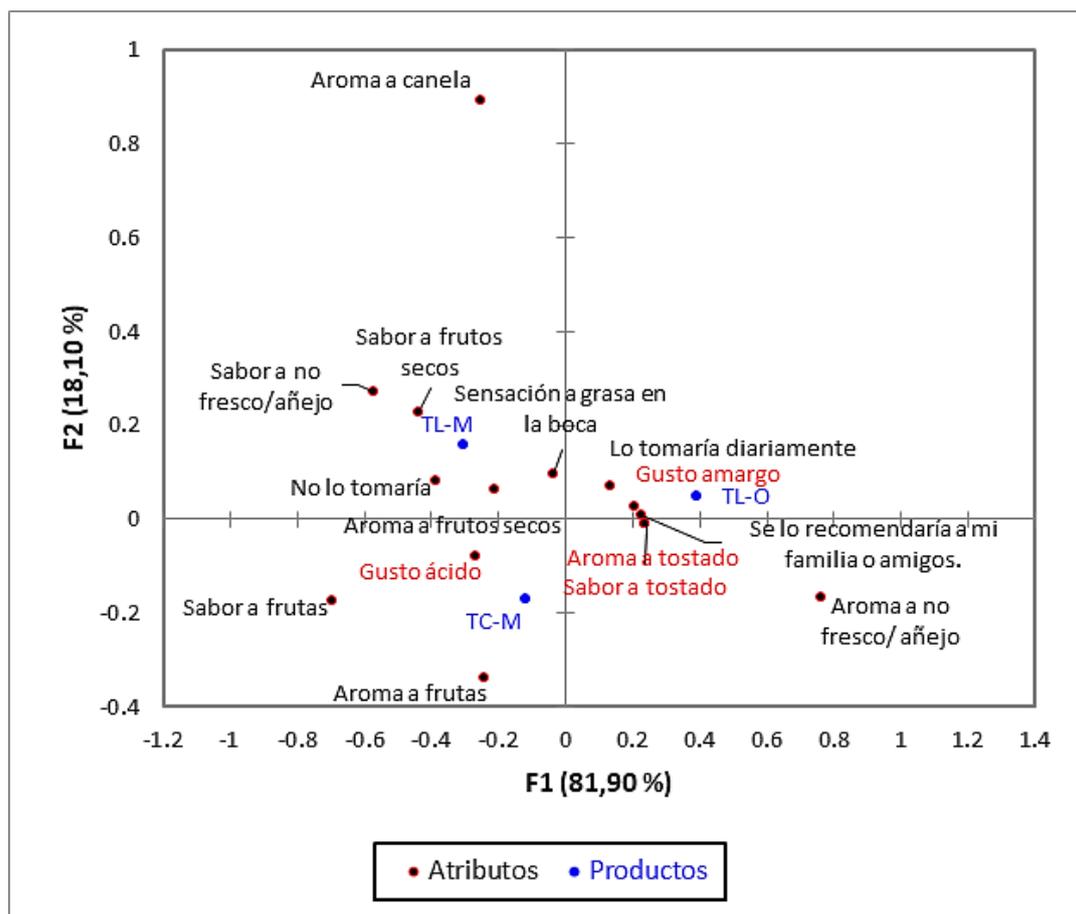
*Valor-P en rojo, significa diferencia significativa ($p \leq 0,05$)

*TL-M (Tratamiento con levadura y grado de tostado medio)

*TC-M (Tratamiento sin levadura y grado de tostado medio)

*TL-O (Tratamiento con levadura y grado de tostado oscuro)

La **Figura 17**, muestra el análisis de correspondencia para los datos CATA donde el eje horizontal es más importante ya que presenta un (81,90%) de la variabilidad de los datos, así mismo se puede observar que este eje separa la muestra TL-O de las muestras TL-M y TC-M, siendo los atributos en rojo (gusto amargo, gusto ácido, aroma a tostado y sabor a tostado) los que presentan diferencia significativa. Las muestras TL-M y TC-M se caracterizan por tener un gusto ácido por lo que un tratamiento con inoculación no influye sobre este atributo en el producto final, pero si el grado de tostado ya que la muestra TL-O que presenta un grado de tostado oscuro, no fue caracterizada por tener un gusto ácido. Caso contrario con los atributos aroma a tostado, sabor a tostado y gusto amargo que si son atribuidos a la muestra TL-O que presenta un grado de tostado oscuro, es posible que esta distribución de los atributos se deba al consumo de café que se da en Chile, ya que las personas prefieren un café con un grado de tostado más oscuro.



*Los descriptores en rojo son los que presentan diferencia significativa.

Figura 17. Análisis de correspondencia de datos CATA.

7.3.2.5 Preferencia

Se les pidió a los consumidores como última pregunta del cuestionario que ordenaran las muestras de café de la que “más le gustó” a la que “menos le gustó”. Como se muestra en la **Tabla 19**. No se encontró diferencia significativa entre las muestras.

Tabla 19. Resultados de preferencia.

	Muestra TL-M	Muestra TC-M	Muestra TL-O
Sumatoria de Ordenes*	72	73	65

*No hay diferencias significativas ($p < 0,05$) entre muestras por test de Friedman.

8. CONCLUSIONES

La variación del grado de tostado (medio) y la aplicación de levaduras (*Candida krusei*) durante la etapa de fermentación mitigó un 34% el contenido de 5-HMF. El análisis del contenido de furano de las muestras de café tostadas a 210°C, en grado medio y oscuro, con y sin inoculación permitió concluir que, en términos de mitigación, solo el grado de tostado era significativo. No obstante, las muestras inoculadas presentaron una mitigación del 14% en su contenido de furano.

A medida el grado de tostado y temperatura aumentan, el contenido de ácido clorogénico disminuye un 82% y 14%, respectivamente.

Sin embargo, el contenido de polifenoles totales disminuyó en un 26% solamente para un incremento del grado de tostado oscuro. Por otro lado, se obtuvo una mayor capacidad antioxidante en un grado de tostado oscuro sin inoculación. Así mismo, el contenido de cafeína no fue afectado significativamente por la temperatura ni por el grado de tostado debido a su termoestabilidad.

En cuanto al efecto de esta tecnología de mitigación sobre las características sensoriales del café, se pudo observar que el efecto de la adición de un proceso de fermentación de granos con levadura no afectó significativamente los atributos sensoriales de las muestras, pero si se vieron afectados por una variación en el grado de tostado, y eso se debe a que durante el proceso de tostado se desarrollan los compuestos aromáticos característicos del café. A pesar de las diferencias significativas de atributos entre muestras con diferente grado de tostado no hubo una diferencia significativa en preferencia por parte de los consumidores sobre alguna de las muestras.

En base a lo discutido anteriormente, un procesamiento de granos de café, bajo parámetros de grado de tostado medio- temperatura 210°C y la aplicación conjunta de microorganismos *Candida krusei* durante la etapa de fermentación, es una tecnología viable para la mitigación de 5-HMF y furano sin afectar negativamente los compuestos bioactivos y características sensoriales en el café tostado.

9. BIBLIOGRAFÍA

- (EFSA), E. F. S. A. (2011). Update on furan levels in food from monitoring years 2004–2010 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 9(9), 1–33.
<https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2347>
- (ICO), I. C. O. (2021). *Trade Statistics – August 2021*. <https://www.ico.org/>
- (NTP), N. T. P. (2009). *Furan*. 110, 1–3.
- Akgün, B., & Arıcı, M. (2019). Evaluation of acrylamide and selected parameters in some Turkish coffee brands from the Turkish market. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 36(4), 548–560.
<https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1586454>
- Akillioglu, H. G., & Gökmen, V. (2014). Mitigation of acrylamide and hydroxymethyl furfural in instant coffee by yeast fermentation. *Food Research International*, 61, 252–256.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.057>
- Albouchi, A., & Murkovic, M. (2020). Investigation on the mitigation effects of furfuryl alcohol and 5-hydroxymethylfurfural and their carboxylic acid derivatives in coffee and coffee-related model systems. *Food Research International*, 137(June), 109444.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109444>
- Altaki, M. S., Santos, F. J., & Galceran, M. T. (2011). Occurrence of furan in coffee from Spanish market: Contribution of brewing and roasting. *Food Chemistry*, 126(4), 1527–1532. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.134>
- Alvarado Soto, M., & Rojas Cubero, G. (2007). *Cultivo y beneficiado del Café* (pp. 11–15). <https://books.google.cl/books?id=15qrSG-51I4C&lpg=PA3&ots=OgW6n3W95K&dq=arbustos perennes cafe&lr&pg=PA13#v=onepage&q&f=false>
- Alves, R. C., Rodrigues, F., Antónia Nunes, M., Vinha, A. F., & Oliveira, M. B. P. P. (2017). State of the art in coffee processing by-products. In *Handbook of Coffee Processing By-Products: Sustainable Applications*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811290-8.00001-3>

- Anese, M., Bot, F., & Suman, M. (2014). Furan and 5-hydroxymethylfurfural removal from high- and low-moisture foods. *LWT - Food Science and Technology*, *56*(2), 529–532. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.12.030>
- Anese, M., & Suman, M. (2013). Mitigation strategies of furan and 5-hydroxymethylfurfural in food. *Food Research International*, *51*(1), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.024>
- Arribas-Lorenzo, G., & Morales, F. J. (2010). Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*, *48*(2), 644–649. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.046>
- Barbosa, M. de S. G., Scholz, M. B. dos S., Kitzberger, C. S. G., & Benassi, M. de T. (2019). Correlation between the composition of green Arabica coffee beans and the sensory quality of coffee brews. *Food Chemistry*, *292*(September 2018), 275–280. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.072>
- Barrios-Rodríguez, Y. F. (2021). *Diseño Integrado de Tecnologías para la Mitigación de Compuestos Neoformados en el Procesamiento de Café Tostado*. Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Barrios-Rodríguez, Y. F., Gutiérrez-Guzmán, N., Pedreschi, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2022). Rational design of technologies for the mitigation of neo-formed contaminants in roasted coffee. *Trends in Food Science and Technology*, *120*(December 2021), 223–235. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.034>
- Batool, Z., Xu, D., Zhang, X., Li, X., Li, Y., Chen, Z., Li, B., & Li, L. (2021). A review on furan: Formation, analysis, occurrence, carcinogenicity, genotoxicity and reduction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(3), 395–406. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1734532>
- Bemfeito, C. M., Guimarães, A. S., de Oliveira, A. L., Andrade, B. F., de Paula, L. M. A. F., & Pimenta, C. J. (2021). Do consumers perceive sensory differences by knowing information about coffee quality? *Lwt*, *138*(December 2020). <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110778>

- Birlouez-Aragon, I., Morales, F., Fogliano, V., & Pain, J. P. (2010). Les enjeux santé et technologiques d'une meilleure maîtrise des contaminants néoformés par les industriels du secteur alimentaire. *Pathologie Biologie*, *58*(3), 232–238. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.09.015>
- Bobková, A., Hudáček, M., Jakobová, S., Belej, L., Capcarová, M., Čurlej, J., Bobko, M., Árvay, J., Jakab, I., Čapla, J., & Demianová, A. (2020). The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, *55*(5), 495–500. <https://doi.org/10.1080/03601234.2020.1724660>
- Bodar, V., Chen, J., Sesso, H. D., Gaziano, J. M., & Djoussé, L. (2020). Coffee consumption and risk of heart failure in the Physicians' Health Study. *Clinical Nutrition ESPEN*, *40*. <https://doi.org/10.1016/j.clnesp.2020.09.216>
- Bolger, L., Bria, B., Civille, G. V., Ginn, B., Giuliano, P., Hallien, C., Hill, T., Johnston, A., Kerth, C., Langworthy, D., Miller, R., Owen, T., Romano, M., Rothgeb, T., Sage, E., & Thorns, C. (2017). *World coffee research sensory lexicon*. 54. https://worldcoffeeresearch.org/media/documents/20170622_WCR_Sensory_Lexicon_2-0.pdf
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bressani, A. P. P., Martinez, S. J., Evangelista, S. R., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2018). Characteristics of fermented coffee inoculated with yeast starter cultures using different inoculation methods. *LWT - Food Science and Technology*, *92*(October 2017), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.029>
- Cha, C. Y., & Lee, K. G. (2020). Effect of roasting conditions on the formation and kinetics of furan in various nuts. *Food Chemistry*, *331*(January), 127338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127338>

- Chambers, E., Karolina, I. V, Uyen, S., Rhonda, X. T. P., Civile, G. V, & Di, B. (2016). *Development of a “ living ” lexicon for descriptive sensory analysis of brewed coffee*. *June*, 465–480. <https://doi.org/10.1111/joss.12237>
- Cheong, M. W., Tong, K. H., Ong, J. J. M., Liu, S. Q., Curran, P., & Yu, B. (2013). Volatile composition and antioxidant capacity of Arabica coffee. *Food Research International*, 51(1), 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.058>
- Cheriot, S., Billaud, C., Pöchtrager, S., Wagner, K. H., & Nicolas, J. (2009). A comparison study between antioxidant and mutagenic properties of cysteine glucose-derived Maillard reaction products and neoformed products from heated cysteine and hydroxymethylfurfural. *Food Chemistry*, 114(1), 132–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.026>
- Contreras-Calderón, J., Mejía-Díaz, D., Martínez-Castaño, M., Bedoya-Ramírez, D., López-Rojas, N., Gómez-Narváez, F., Medina-Pineda, Y., & Vega-Castro, O. (2016). Evaluation of antioxidant capacity in coffees marketed in Colombia: Relationship with the extent of non-enzymatic browning. *Food Chemistry*, 209, 162–170. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.038>
- Cordoba, N., Fernandez-alduenda, M., Moreno, F. L., & Ruiz, Y. (2020). *Trends in Food Science & Technology Coffee extraction : A review of parameters and their influence on the physicochemical characteristics and flavour of coffee brews*. 96(July 2019), 45–60. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.12.004>
- Córdoba, N., Moreno, F. L., Osorio, C., Velásquez, S., & Ruiz, Y. (2021). *Chemical and sensory evaluation of cold brew coffees using different roasting profiles and brewing methods*. 141(January 2021). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110141>
- Cotter, A. R., Batali, M. E., Ristenpart, W. D., & Guinard, J. X. (2021). Consumer preferences for black coffee are spread over a wide range of brew strengths and extraction yields. *Journal of Food Science*, 86(1), 194–205. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15561>

- Del Pino-García, R., González-Sanjosé, M. L., Rivero-Pérez, M. D., & Muñiz, P. (2012). Influence of the degree of roasting on the antioxidant capacity and genoprotective effect of instant coffee: Contribution of the melanoidin fraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(42), 10530–10539. <https://doi.org/10.1021/jf302747v>
- Delareu, J., Lawlor, J. Ben, & Rogeaux, M. (2015). *Rapid Sensory Profiling Techniques and Related Methods*.
- di Donfrancesco, B., Gutierrez Guzman, N., & Chambers, E. (2019). Similarities and differences in sensory properties of high quality Arabica coffee in a small region of Colombia. *Food Research International*, *116*(August), 645–651. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.090>
- Dirks-Naylor, A. J. (2015). The benefits of coffee on skeletal muscle. *Life Sciences*, *143*, 182–186. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.11.005>
- Esmerino, E. A., Tavares Filho, E. R., Thomas Carr, B., Ferraz, J. P., Silva, H. L. A., Pinto, L. P. F., Freitas, M. Q., Cruz, A. G., & Bolini, H. M. A. (2017). Consumer-based product characterization using Pivot Profile, Projective Mapping and Check-all-that-apply (CATA): A comparative case with Greek yogurt samples. *Food Research International*, *99*(June), 375–384. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.001>
- Esposito, F., Fasano, E., De Vivo, A., Velotto, S., Sarghini, F., & Cirillo, T. (2020). Processing effects on acrylamide content in roasted coffee production. *Food Chemistry*, *319*(February), 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126550>
- Farah, A. (2012). Coffee Constituents. *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*, 21–58. <https://doi.org/10.1002/9781119949893.ch2>
- Fleming, E. E., Ziegler, G. R., & Hayes, J. E. (2015). Check-all-that-apply (CATA), sorting, and polarized sensory positioning (PSP) with astringent stimuli. *Food Quality and Preference*, *45*, 41–49. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.05.004>
- Flores-Ortega, C. A., Macchiavelli, R., Bosque, O., & Toledo, R. (2016). Quality and physiological state of coffee at harvest and its effect on yield in Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, *100*(1), 27–41.

- Frost, S. C., Ristenpart, W. D., & Guinard, J. X. (2019). Effect of Basket Geometry on the Sensory Quality and Consumer Acceptance of Drip Brewed Coffee. *Journal of Food Science*, *84*(8), 2297–2312. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14696>
- Giacalone, D., Degn, T. K., Yang, N., Liu, C., Fisk, I., & Münchow, M. (2019). Common roasting defects in coffee: Aroma composition, sensory characterization and consumer perception. *Food Quality and Preference*, *71*(July 2017), 463–474. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.03.009>
- Goodman, B. A., & Yeretjian, C. (2015). Free Radical Processes in Coffee II-Liquids. In *Processing and Impact on Active Components in Food*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404699-3.00068-8>
- Hečimović, I., Belščak-Cvitanović, A., Horžić, D., & Komes, D. (2011). Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. *Food Chemistry*, *129*(3), 991–1000. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.059>
- Inglés, M. F. M. (2016). *Morfología Del Cafeto*. 4.
- Kettlitz, B., Scholz, G., Theurillat, V., Cselovszky, J., Buck, N. R., O' Hagan, S., Mavromichali, E., Ahrens, K., Kraehenbuehl, K., Scozzi, G., Weck, M., Vinci, C., Sobieraj, M., & Stadler, R. H. (2019). Furan and Methylfurans in Foods: An Update on Occurrence, Mitigation, and Risk Assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *18*(3), 738–752. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12433>
- Lee, C. H., Chen, K. T., Lin, J. A., Chen, Y. T., Chen, Y. A., Wu, J. T., & Hsieh, C. W. (2019). Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods. *Trends in Food Science and Technology*, *93*(August), 271–280. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.021>
- Locas, C. P., & Yaylayan, V. A. (2008). Isotope labeling studies on the formation of 5-(hydroxymethyl)-2- furaldehyde (HMF) from sucrose by pyrolysis-GC/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(15), 6717–6723. <https://doi.org/10.1021/jf8010245>

- Lofffield, E., Cornelis, M. C., Caporaso, N., Yu, K., Sinha, R., & Freedman, N. (2018). Association of coffee drinking with mortality by genetic variation in caffeine metabolism: Findings from the UK Biobank. *JAMA Internal Medicine*, *178*(8), 1086–1097. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2018.2425>
- Macheiner, L., Schmidt, A., Karpf, F., & Mayer, H. K. (2021). A novel UHPLC method for determining the degree of coffee roasting by analysis of furans. *Food Chemistry*, *341*(September 2020), 128165. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128165>
- Mahmud, M. M. C., Shellie, R. A., & Keast, R. (2020). Unravelling the relationship between aroma compounds and consumer acceptance: Coffee as an example. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *19*(5), 2380–2420. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12595>
- Marín, C., & Puerta, G. I. (2008). Contenido de Ácidos Clorogénicos en Granos de Coffea Arabica y C. Canephora, según el desarrollo del fruto. *Cenicafé*, *59*(1), 7–28.
- Mariotti, M. S., Granby, K., Rozowski, J., & Pedreschi, F. (2013). Furan: A critical heat induced dietary contaminant. *Food and Function*, *4*(7), 1001–1015. <https://doi.org/10.1039/c3fo30375f>
- Mariotti, M. S., Toledo, C., Hevia, K., Gomez, J. P., Fromberg, A., Granby, K., Rosowski, J., Castillo, O., & Pedreschi, F. (2013). Are Chileans exposed to dietary furan? *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, *30*(10), 1715–1721. <https://doi.org/10.1080/19440049.2013.815807>
- Martinez, S. J., Bressani, A. P. P., Miguel, M. G. da C. P., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2017). Different inoculation methods for semi-dry processed coffee using yeasts as starter cultures. *Food Research International*, *102*(June), 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.096>
- Mehaya, F. M., & Mohammad, A. A. (2020). Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon*, *6*(11), e05508. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05508>

- Moon, J. K., & Shibamoto, T. (2009). Role of roasting conditions in the profile of volatile flavor chemicals formed from coffee beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(13), 5823–5831. <https://doi.org/10.1021/jf901136e>
- Moro, S., Chipman, J. K., Wegener, J. W., Hamberger, C., Dekant, W., & Mally, A. (2012). Furan in heat-treated foods: Formation, exposure, toxicity, and aspects of risk assessment. *Molecular Nutrition and Food Research*, 56(8), 1197–1211. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200093>
- Murkovic, M., & Bornik, M. A. (2007). Formation of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) and 5-hydroxymethyl-2-furoic acid during roasting of coffee. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(4), 390–394. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600251>
- Pahlke, G., Attakpah, E., Aichinger, G., Ahlberg, K., Hochkogler, C. M., Schweiger, K., Schipp, D., Somoza, V., & Marko, D. (2019). Dark coffee consumption protects human blood cells from spontaneous DNA damage. *Journal of Functional Foods*, 55(January), 285–295. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.02.008>
- Park, S. hyun, Jo, A., & Lee, K. G. (2021). Effect of various roasting, extraction and drinking conditions on furan and 5-hydroxymethylfurfural levels in coffee. *Food Chemistry*, 358(March), 129806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129806>
- Paula Pereira Bressani, A., Nara Batista, N., Ferreira, G., Juliana Martinez, S., Batista Pavesi Simão, J., Ribeiro Dias, D., & Freitas Schwan, R. (2021). Characterization of bioactive, chemical, and sensory compounds from fermented coffees with different yeasts species. *Food Research International*, 150(October), 110755. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110755>
- Pavesi Arisseto, A., Vicente, E., Soares Ueno, M., Verdiani Tfouni, S. A., & De Figueiredo Toledo, M. C. (2011). Furan levels in coffee as influenced by species, roast degree, and brewing procedures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 3118–3124. <https://doi.org/10.1021/jf104868g>
- Pedreschi, F., Mariotti, M. S., & Granby, K. (2014). Current issues in dietary acrylamide: Formation, mitigation and risk assessment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(1), 9–20. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6349>

- Perez Locas, C., & Yaylayan, V. A. (2004). Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan - A food toxicant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 6830–6836. <https://doi.org/10.1021/jf0490403>
- Petisca, C., Pérez-Palacios, T., Farah, A., Pinho, O., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2013). Furans and other volatile compounds in ground roasted and espresso coffee using headspace solid-phase microextraction: Effect of roasting speed. *Food and Bioproducts Processing*, 91(3), 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.10.003>
- Prata, R., Petrarca, M. H., Filho, J. T., & Godoy, H. T. (2021). Simultaneous determination of furfural, 5-hydroxymethylfurfural and 4-hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone in baby foods available in the Brazilian market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 99(March). <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103874>
- Quarta, B., & Anese, M. (2012). Furfurals removal from roasted coffee powder by vacuum treatment. *Food Chemistry*, 130(3), 610–614. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.083>
- Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C., & Sérot, T. (2016). Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International*, 90, 154–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.037>
- Ribeiro, L. S., Ribeiro, D. E., Evangelista, S. R., Miguel, M. G. da C. P., Pinheiro, A. C. M., Borém, F. M., & Schwan, R. F. (2017). Controlled fermentation of semi-dry coffee (*Coffea arabica*) using starter cultures: A sensory perspective. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.008>
- Rodriguez, Y. F. B., Guzman, N. G., & Hernandez, J. G. (2019). Effect of the Postharvest Processing Method On The Biochemical Composition and Sensory Analysis of Arabica Coffee. *Engenharia Agricola Jaboticabal*, 55(3), 175–281. <https://doi.org/10.1080/00140139.2011.642006>
- Sanchez, K., & Chambers, E. (2015). How Does Product Preparation Affect Sensory Properties? An Example with Coffee. *Journal of Sensory Studies*, 30(6), 499–511. <https://doi.org/10.1111/joss.12184>

- SCAA. (2015). SCAA Protocols Cupping Specialty Coffee. *Specialty Coffee Association of America*, 1–10. <http://www.scaa.org/?page=resources&d=coffee-protocols>.
- Scholz, G., & Stadler, R. H. (2018). Furan and alkylfurans: Occurrence and risk assessment. In *Encyclopedia of Food Chemistry* (Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21828-3>
- Seninde, D. R., & Chambers, E. (2020). Coffee flavor: A review. *Beverages*, 6(3), 1–25. <https://doi.org/10.3390/beverages6030044>
- Sevenich, R., Rauh, C., Belkova, B., & Hajslova, J. (2020). Effect of high-pressure thermal sterilization (HPTS) on the reduction of food processing contaminants (e.g., furan, acrylamide, 3-MCPD-esters, HMF). In *Present and Future of High Pressure Processing*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-816405-1.00006-6>
- Shapla, U. M., Solayman, M., Alam, N., Khalil, M. I., & Gan, S. H. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3>
- Singleton, V. L., Rossi Jr., J. A., & Rossi J A Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <http://www.ajevonline.org/cgi/content/abstract/16/3/144>
- Sunarharum, W. B., Williams, D. J., & Smyth, H. E. (2014). Complexity of coffee flavor: A compositional and sensory perspective. *Food Research International*, 62, 315–325. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.02.030>
- Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, H. (2012). Quick and dirty but still pretty good: A review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(8), 1563–1578. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03022.x>
- Vignoli, J. A., Viegas, M. C., Bassoli, D. G., & Benassi, M. de T. (2014). Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International*, 61, 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.006>

- Vinícius de Melo Pereira, G., Soccol, V. T., Brar, S. K., Neto, E., & Soccol, C. R. (2017). Microbial ecology and starter culture technology in coffee processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2775–2788.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067759>
- Wei, F., & Tanokura, M. (2015). Organic Compounds in Green Coffee Beans. In *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00017-6>
- Zhao, Q., Ou, J., Huang, C., Qiu, R., Wang, Y., Liu, F., Zheng, J., & Ou, S. (2018). Absorption of 1-Dicysteinethioacetal-5-Hydroxymethylfurfural in Rats and Its Effect on Oxidative Stress and Gut Microbiota. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b04260>

10. ANEXOS

10.1. Diseño experimental.

No. de Corrida	Inoculación de M.O	Temperatura (°C)	Grado de Tostado	Código de la Muestra
1	Con	210	Medio	TL1-210M
2	Sin	180	Oscuro	TC1-180O
3	Con	180	Bajo	TL1-180B
4	Con	180	Medio	TL1-180M
5	Con	210	Oscuro	TL1-210O
6	Sin	210	Medio	TC1-210M
7	Con	180	Oscuro	TL1-180O
8	Sin	180	Medio	TC1-180M
9	Con	210	Bajo	TL1-210B
10	Sin	180	Bajo	TC1-180B
11	Sin	210	Bajo	TC1-210B
12	Sin	210	Oscuro	TC1-210O
13	Con	210	Medio	TL2-210M
14	Sin	180	Oscuro	TC2-180O
15	Con	180	Bajo	TL2-180B
16	Con	180	Medio	TL2-180M
17	Con	210	Oscuro	TL2-210O
18	Sin	210	Medio	TC2-210M
19	Con	180	Oscuro	TL2-180O
20	Sin	180	Medio	TC2-180M
21	Con	210	Bajo	TL2-210B
22	Sin	180	Bajo	TC2-180B
23	Sin	210	Bajo	TC2-210B
24	Sin	210	Oscuro	TC2-210O
25	Con	210	Medio	TL3-210M
26	Sin	180	Oscuro	TC3-180O
27	Con	180	Bajo	TL3-180B
28	Con	180	Medio	TL3-180M
29	Con	210	Oscuro	TL3-210O
30	Sin	210	Medio	TC3-210M
31	Con	180	Oscuro	TL3-180O
32	Sin	180	Medio	TC3-180M
33	Con	210	Bajo	TL3-210B
34	Sin	180	Bajo	TC3-180B
35	Sin	210	Bajo	TC3-210B
36	Sin	210	Oscuro	TC3-210O

10.2. Análisis de varianza para 5-HMF, cafeína y ácido clorogénico.

Factor	5-HMF		Cafeína		Ácido Clorogénico	
	Razón-F	P-value	Razón-F	P-value	Razón-F	P-value
A	4.82	0.0381	3.73	0.0653	3.43	0.0763
B	3.82	0.0623	0.84	0.3672	5.21	0.0316
C	210.36	0.0000	1.33	0.2845	213.28	0.0000
A:B	2.78	0.1083	0.53	0.4755	3.13	0.0896
A:C	2.84	0.0783	0.49	0.6182	0.84	0.4431
B:C	1.49	0.2455	0.45	0.6442	1.61	0.2209
A:B:C	1.47	0.2500	0.52	0.6035	0.75	0.4825

*A=Inoculación, B=Temperatura C=Grado de tostado.

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Factor	Nivel	5-HMF		Cafeína		Ácido Clorogénico	
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar	Media	Error Estándar
A	Sin	247,36	11,17	8,65	0,10	6,74	0,26
	Con	212,67	11,17	8,94	0,10	6,07	0,26
B	180°C	245,47	11,17	8,72	0,10	6,82	0,26
	210°C	214,56	11,17	8,87	0,10	5,99	0,26
C	Bajo	437,18	13,69	8,63	0,13	10,78	0,32
	Medio	211,48	13,69	8,84	0,13	6,88	0,32
	Oscuro	41,39	13,69	8,92	0,13	1,56	0,32

10.3. Análisis de varianza para polifenoles totales y capacidad antioxidante.

Factor	Polifenoles Totales		Capacidad Antioxidante	
	Razón-F	P-value	Razón-F	P-value
A	0.01	0.9174	2.09	0.1613
B	3.86	0.0613	2.42	0.1329
C	9.83	0.0008	5.56	0.0104
A:B	0.25	0.6251	2.82	0.1060
A:C	0.16	0.8536	10.05	0.0007
B:C	0.26	0.7769	0.08	0.9226
A:B:C	0.52	0.6020	0.64	0.5361

*A=Inoculación, B=Temperatura C=Grado de tostado.

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Factor	Nivel	Polifenoles Totales		Capacidad Antioxidante	
		Media	Error Estándar	Media	Error Estándar
A	Sin	22,39	0,95	4,91	0,17
	Con	22,53	0,95	5,26	0,17
B	180°C	21,14	0,95	5,27	0,17
	210°C	23,78	0,95	4,89	0,17
C	Bajo	26,55	1,16	4,54	0,21
	Medio	21,29	1,16	5,51	0,21
	Oscuro	19,54	1,16	5,19	0,21
A:C	Con-Bajo	N.D	N.D	4,50	0,30
	Con-Medio	N.D	N.D	5,16	0,30
	Con-Oscuro	N.D	N.D	6,12	0,30
	Sin-Bajo	N.D	N.D	4,59	0,30
	Sin-Medio	N.D	N.D	5,87	0,30
	Sin-Oscuro	N.D	N.D	4,27	0,30

10.4. Análisis de varianza para furano.

Furano		
Factor	Razón-F	P-value
A	3.13	0.1751
B	22.61	0.0177

*A=Inoculación, B=Grado de tostado.

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual.

Furano			
Factor	Nivel	Media	Error Estándar
A	Sin	7544,18	527,52
	Con	6466,97	304,57
C	Medio	5557,39	304,57
	Oscuro	8453,76	527,52

10.5. Análisis diseño factorial multinivel

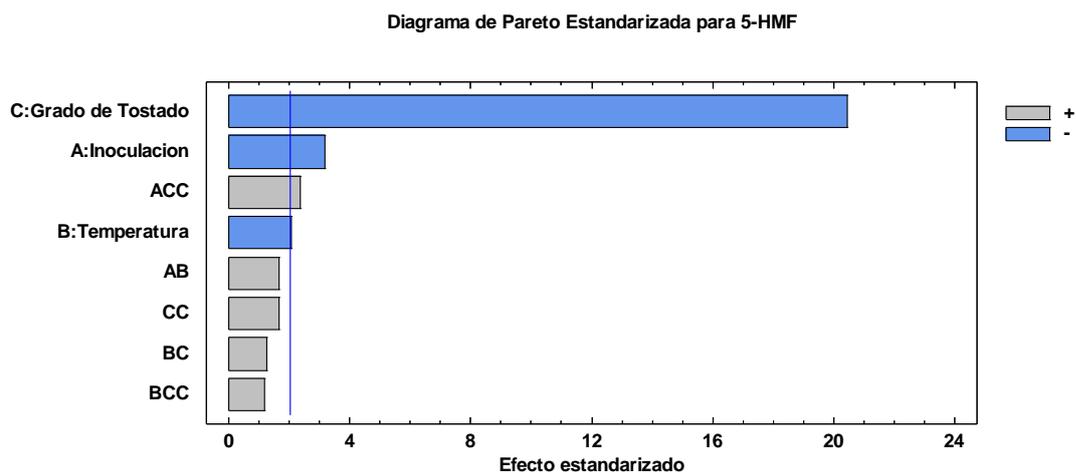


Diagrama de Pareto Estandarizada para Cafeína

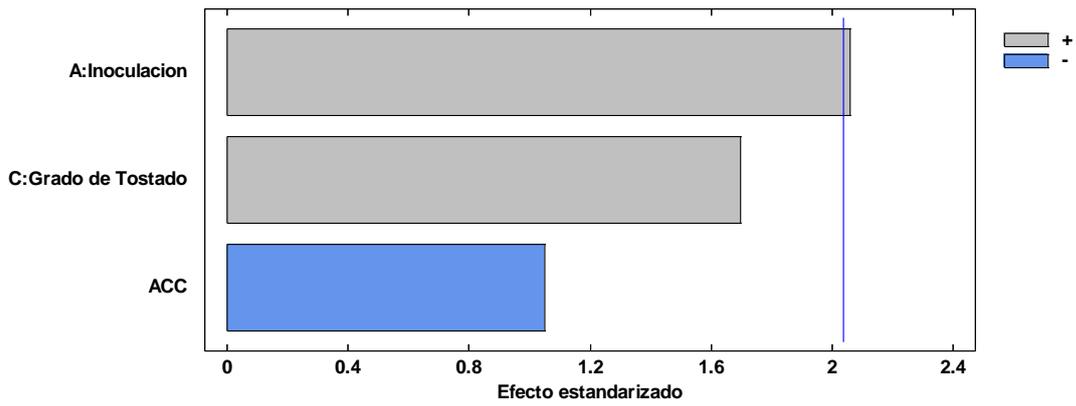
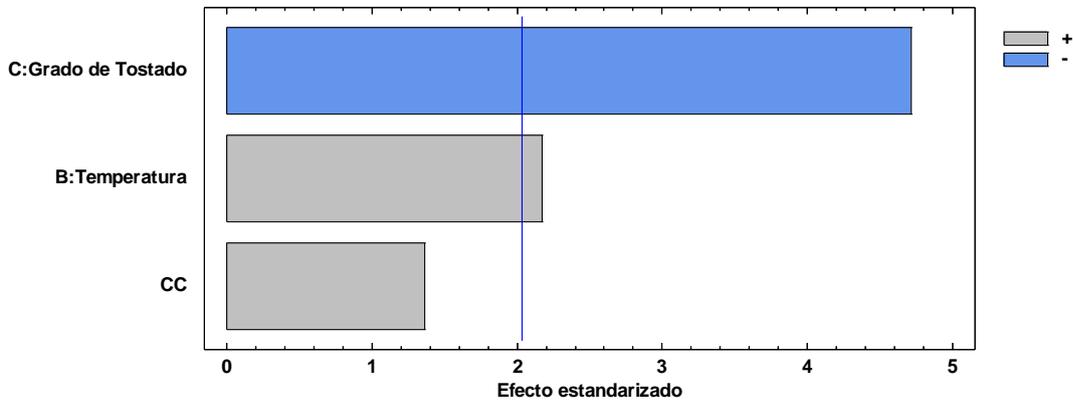


Diagrama de Pareto Estandarizada para PFT



10.6. Hoja de respuesta para test triangular.

**METODOS PARA EVALUAR DIFERENCIAS
TEST TRIANGULAR**

Set : _____ Nombre : _____

Fecha: _____

En cada trío, dos de las muestras son iguales y una diferente. Por favor indique encerrándola en un círculo cuál es la muestra diferente.

Trío: _____

10.7. Resultados de aciertos por jueces en test triangular.

Panelistas	Aciertos
Juez 1	0
Juez 2	0
Juez 3	0
Juez 4	0
Juez 5	0
Juez 6	0
Juez 7	1
Juez 8	1
Juez 9	1
Juez 10	0

10.8. Cuestionario para la evaluación sensorial con consumidores.

CUESTIONARIO PARA SELECCIÓN DE CONSUMIDORES (SCREENING)

1. Correo Electrónico
2. Nombre y Apellido
3. ¿Presenta usted alguna restricción alimentaria por alergia o intolerancia alimenticia? Si su respuesta es SÍ, por favor especificar.
4. Rango de edad (**selección única**)
18 – 30
30 – 40
40 – 50
50 o más
5. Genero (**selección única**)
Femenino
Masculino
Otros
6. Actividad (**selección única**)
Estudiante
Funcionario / Académico
Otro: _____
7. Consume usted habitualmente alguna de las siguientes bebidas: (marque todas las que corresponda) (**selección múltiple**)
Chocolate caliente
Café instantáneo
Té en bolsa
Café en grano
Té a granel
NOTA: Si selecciona café en grano, puede seguir participando en el estudio.

8. ¿Cómo consume el café en grano habitualmente? (marque todas las que corresponda) (selección múltiple)

- Puro
- Con leche
- Con crema

NOTA: Si selecciona puro, puede seguir participando en el estudio.

9. ¿Con qué frecuencia consume usted el café puro? (selección única)

- Cada dos semanas o menos
- 1 vez por semana
- 2 a 3 veces por semana
- 5 veces por semana
- Todos los días.

NOTA: Si la frecuencia es de 2 o 3 veces por semana, puede seguir participando en el estudio.

Escala Hedónica / Justo Agrado

Me desagrada mucho	Me desagrada	Me desagrada un poco	No me agrada ni me desagrada	Me agrada un poco	Me agrada	Me agrada mucho
1	2	3	4	5	6	7

Mucho menos de lo que me gusta	Menos de lo que me gusta	Justo como me gusta	Más de lo que me gusta	Mucho más de lo que me gusta
-2	-1	0	+1	+2

Instrucciones: A continuación, se le presentan 1 muestra de café en grano. Tendrá a su disposición azúcar, edulcorante en tabletas y edulcorante líquido, para que endulce el café como habitualmente lo hace. Considere que esta taza es pequeña para agregar el endulzante. Luego de este café evaluará otras dos muestras de café, endulzándolas de la misma manera que la primera.

MUESTRA 1

Seleccione lo que les adicionó a las tazas de café. (selección única)

- Azúcar
- Edulcorante en tabletas
- Edulcorante líquido
- No lo endulce

Especifique la cantidad cucharadas, tabletas o gotas de edulcorante. (selección única)

- 1
- 2
- 3 o más.
- No lo endulce

1. ¿Qué le parece la APARIENCIA del producto?, según la siguiente escala.

- Me desagrada mucho
- Me desagrada
- Me desagrada un poco
- No me agrada ni me desagrada
- Me agrada un poco
- Me agrada
- Me agrada mucho

2. ¿Qué le parece el AROMA del producto?, según la siguiente escala.

- Me desagrada mucho
- Me desagrada
- Me desagrada un poco
- No me agrada ni me desagrada
- Me agrada un poco
- Me agrada
- Me agrada mucho

3. ¿Cómo calificaría usted la INTENSIDAD DE AROMA del producto?, según la siguiente escala.

Mucho menos intenso en aroma de lo que me gusta
Menos intenso en aroma de lo que me gusta
Justo como me gusta
Más intenso en aroma de lo que me gusta
Mucho más intenso en aroma de lo que me gusta

4. ¿Qué le parece el SABOR del producto?, según la siguiente escala.

Me desagrada mucho
Me desagrada
Me desagrada un poco
No me agrada ni me desagrada
Me agrada un poco
Me agrada
Me agrada mucho

5. ¿Cómo calificaría la ACIDEZ del producto?, según la siguiente escala.

Mucho menos ácido de lo que me gusta
Menos ácido de lo que me gusta
Justo como me gusta
Más ácido de lo que me gusta
Mucho más ácido de lo que me gusta

6. ¿Cómo calificaría el AMARGOR del producto?, según la siguiente escala.

Mucho menos amargo de lo que me gusta
Menos amargo de lo que me gusta
Justo como me gusta
Más amargo de lo que me gusta
Mucho más amargo de lo que me gusta

7. ¿Cómo calificaría el CUERPO del producto?, según la siguiente escala. (Se entiende por cuerpo la consistencia y permanencia del café en la boca).

Mucho menos cuerpo de lo que me gusta
Menos cuerpo de lo que me gusta
Justo como me gusta
Más cuerpo de lo que me gusta
Mucho más cuerpo de lo que me gusta

8. Con todo lo evaluado anteriormente, evalúe el AGRADO GENERAL, según la siguiente escala.

Me desagrada mucho
Me desagrada
Me desagrada un poco
No me agrada ni me desagrada
Me agrada un poco
Me agrada

Me agrada mucho

NOTA: Copiar lo mismo para las otras muestras

¿Por qué seleccionó esa opción en la escala? Por favor detalle su respuesta lo más posible. **(dejar bastante espacio)**

Cuestionario Check All That Apply (CATA)

Instrucciones: A continuación, se le presenta un listado de atributos que pueden estar presentes en el café que usted recién probó, seleccione las palabras o frases que usted considere apropiadas para describir. **(Selección múltiple)**

- Aroma a tostado
- Aroma a canela
- Sabor a tostado
- Aroma a frutos secos
- Aroma a frutas
- Sabor a frutos secos
- Sabor a frutas
- Aroma a no fresco/ añejo
- Gusto amargo
- Gusto ácido
- Sabor a no fresco/añejo
- Sensación a grasa en la boca
- Lo tomaría diariamente
- Se lo recomendaría a mi familia o amigos.
- No lo tomaría.

10.9. Evaluación sensorial con consumidores.





10.10. Resultados de pruebas de múltiple rangos Tukey.

Pruebas de Múltiple Rangos para Amargor. J por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-M	35	-0.155509	0.129665	X
TC-M	35	0.158777	0.129665	XX
TL-O	35	0.44281	0.128786	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Cuerpo. J por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-M	35	-0.484325	0.117505	X
TC-M	35	-0.112897	0.117505	XX
TL-O	35	-0.0486111	0.116709	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Apariencia . H por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-M	35	5.52053	0.166319	X
TC-M	35	5.77767	0.166319	X
TL-O	35	5.78145	0.165192	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Aroma. H por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-O	35	5.20629	0.193255	X
TL-M	35	5.27982	0.194574	X
TC-M	35	5.27982	0.194574	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Intensidad de Aroma . J por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-M	35	-0.703338	0.105633	X
TC-M	35	-0.474767	0.105633	X
TL-O	35	-0.38317	0.104917	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Sabor . H por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TC-M	35	4.48735	0.251292	X
TL-M	35	4.51592	0.251292	X
TL-O	35	4.94281	0.249588	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez . J por Muestras

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

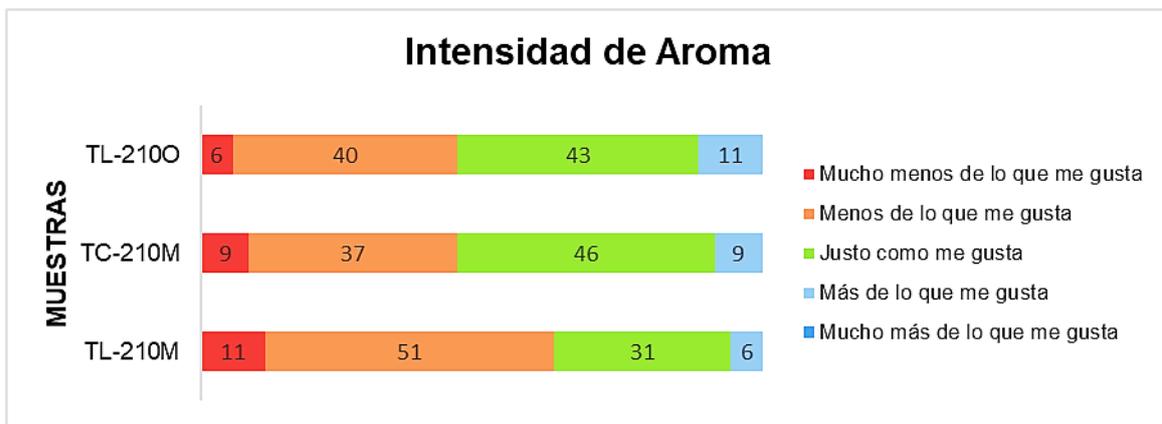
Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-O	35	0.309232	0.134097	X
TL-M	35	0.591165	0.135012	X
TC-M	35	0.762593	0.135012	X

Pruebas de Múltiple Rangos para Agrado General . H por Muestras

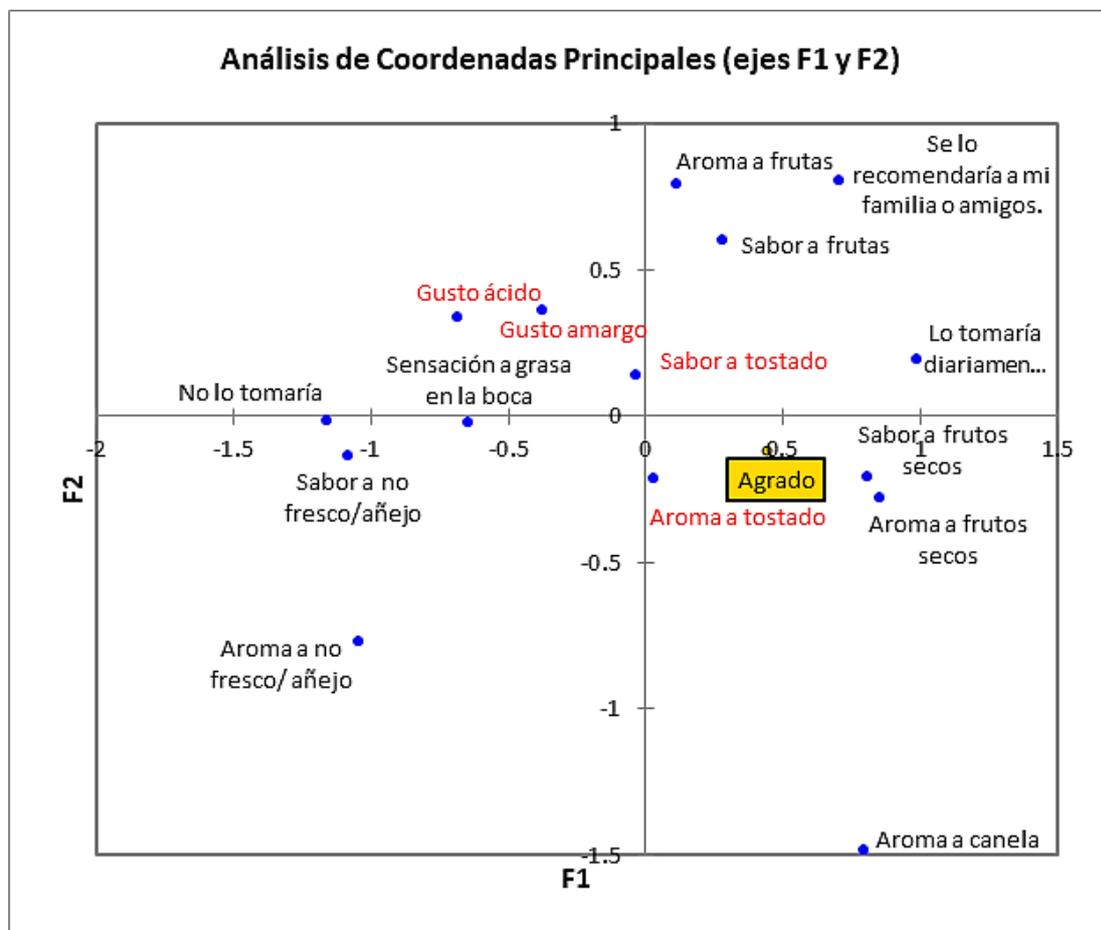
Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestras	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
TL-M	35	4.1961	0.326868	X
TC-M	35	4.25324	0.326868	X
TL-O	35	5.13644	0.324652	X

10.11. Gráfico de justo agrado para intensidad de aroma.



10.12. Análisis de coordenadas principales.



10.13. Resultados de preferencia.

Juez	Muestra TL-M	Muestra TC-M	Muestra TL-O
1	3	1	2
2	1	3	2
3	3	1	2
4	1	2	3
5	2	3	1
6	1	2	3
7	2	3	1
8	1	2	3
9	3	2	1
10	3	2	1
11	2	1	3
12	3	1	2
13	3	1	2
14	1	3	2
15	2	3	1
16	2	3	1
17	3	2	1
18	1	2	3
19	3	1	2
20	2	3	1
21	1	3	2
22	2	3	1
23	1	3	2
24	1	2	3
25	3	2	1
26	3	2	1
27	2	1	3
28	3	2	1
29	1	2	3
30	3	1	2
31	1	2	3
32	1	3	2
33	3	2	1
34	2	3	1
35	3	1	2
Sumatoria de Ordenes	72	73	65