

UCUENCA

Facultad de Ciencias Químicas

Maestría en Biociencias Aplicadas con Mención en Biodescubrimiento

Evaluación de la influencia de los diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha en la calidad del café de especialidad (*Coffea arábica L.*).

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Magíster en Biociencias Aplicadas con mención en Biodescubrimiento

Autora:

Valeria Fernanda Arévalo Lata

CI: 0107458861

Correo electrónico: valefarevalo@gmail.com

Directora:

Silvia Johana Ortiz Ulloa PhD

CI: 0301082897

Cuenca, Ecuador

05-diciembre-2022

Resumen

El café es una bebida comercial muy consumida a nivel mundial y su demanda de calidad también ha crecido en los últimos años, por lo que los caficultores buscan la innovación de sus técnicas de procesamiento de café apuntando a obtener la máxima calidad. En este estudio se evaluó la influencia de diferentes tipos de secado y distintos periodos de cosecha sobre la concentración de los componentes químicos de los granos verdes y tostados de café de especialidad (*Coffea arabica* L.). Las muestras de café fueron obtenidas de la Hacienda La Papaya, ubicada a 1700 m.s.n.m en el cantón Saraguro, provincia de Loja-Ecuador. Los principales compuestos analizados fueron polifenoles, aminoácidos y compuestos aromáticos. El análisis sensorial se realizó utilizando la metodología propuesta por la Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA). Un total de 29 compuestos fueron identificados en los granos de café verde y 20 compuestos adicionales en los granos tostados. Los datos fueron evaluados mediante el análisis de componentes principales (PCA) y el 73% de la variabilidad de los datos de composición se explicó con 3 componentes principales. No se observó una asociación entre la concentración de los biocompuestos y el tipo de secado, mientras que se encontró una ligera relación con el periodo de cosecha sin llegar a ser estadísticamente significativa ($p > 0.05$). Los métodos de secado con flujo de aire mínimo (001) y medio (002) fueron asociados con la descripción de la catación final, donde el balance y el valor general fueron los atributos con mayor influencia dentro de la cata.

Luego de la evaluación del periodo de cosecha y el tipo de secado de los granos de café verde se concluye que no pueden considerarse como variables de escala predictora para describir la composición de biocompuestos que influyen en las características organolépticas del café, por lo que deberían identificarse otras variables a lo largo del procesamiento y/o cultivo.

Palabras clave: Café de especialidad. *Coffea arabica* L. Análisis cromatográfico. Análisis sensorial.

Abstract

Coffee is a widely consumed commercial beverage worldwide and its demand for quality has also grown in recent years, which is why coffee growers seek innovation in their coffee processing techniques, aiming to obtain the highest quality. In this study, the influence of different types of drying and different harvest periods on the concentration of chemical components of green and roasted specialty coffee beans (*Coffea arabica* L.) was evaluated. The coffee samples were obtained from Hacienda La Papaya, located at 1700 m.a.s.l. in the Saraguro canton, province of Loja-Ecuador. The main compounds analyzed were polyphenols, amino acids and aromatic compounds. Sensory analysis was performed using the methodology proposed by the Specialty Coffee Association of America (SCAA). A total of 29 compounds were identified in green coffee beans and an additional 20 compounds in roasted beans. The data was evaluated using principal component analysis (PCA) and 73% of the variability in the compositional data was explained by 3 principal components. No association was observed between the concentration of the biocompounds and the type of drying, while a slight relationship was found with the harvest period without being statistically significant ($p>0.05$). The drying methods with minimum (001) and medium (002) airflow were associated with the description of the final cupping, where the balance and the general value were the attributes with the greatest influence within the cupping.

After the evaluation of the harvest period and the type of drying of green coffee beans, it is concluded that they cannot be considered as predictive scale variables to describe the composition of biocompounds that influence the organoleptic characteristics of coffee, so other variables should be identified throughout the processing and/or cultivation.

Keywords: Specialty coffee. *Coffea arabica* L. Chromatographic analysis. Sensory analysis.

Índice

1. Introducción.....	11
1.1. Composición química del café verde.....	12
1.2. Procesamiento del café verde.....	13
1.3. Propiedades sensoriales y catación del café	14
1.4. Objetivos.....	15
1.4.1. Objetivo General	15
1.4.2. Objetivos específicos	16
2. Materiales y métodos.....	16
2.1. Muestras de grano de café verde.....	16
2.2. Procesamiento de las muestras de café	16
2.3. Diseño experimental	17
2.4. Análisis de los biocompuestos responsables del aroma del café.....	17
2.4.1. Reactivos.....	17
2.4.2. Instrumentación.....	18
2.4.3. Análisis de ácidos orgánicos por HPLC-DAD	19
2.4.4. Análisis de compuestos fenólicos y alcaloides por HPLC-DAD.....	19
2.4.5. Análisis de aminoácidos por HPLC-FLD.....	20
2.4.6. Análisis de compuestos volátiles por GC-MS	20
2.4.7. Análisis de azúcares por espectroscopía infrarroja	21
2.4.8. Catación	21
2.4.9. Análisis de datos	22
3. Resultados y discusión.....	23
3.1. Composición química de los granos de café de especialidad (<i>Coffea arábica L.</i>).....	23
3.2. Análisis de ácidos orgánicos por HPLC-DAD.....	24
3.3. Análisis de compuestos fenólicos y alcaloides por HPLC-DAD	26
3.4. Análisis de aminoácidos por HPLC.....	27

3.5.	Análisis de azúcares por espectroscopía infrarroja.....	28
3.6.	Análisis de compuestos volátiles por GC-MS.....	30
3.7.	Resultados de la catación.....	31
3.8.	Análisis exploratorio de datos	32
3.9.	Correlación entre los tipos de secado y tiempo de cosecha sobre la composición química de los granos de café.....	32
3.10.	Correlación entre los compuestos aromáticos y los precursores responsables del aroma del café.....	33
3.11.	Correlación entre la catación y el tipo de secado	35
4.	Conclusiones.....	38
5.	Referencias	39
6.	Anexos	47

Índice de tablas

Tabla 1.	Tipos experimentales de secado de granos de café verde	17
Tabla 2.	Parámetros analíticos de los compuestos analizados en los granos de café verde (<i>Coffea arábica</i> L.)	23
Tabla 3.	Composición de ácidos orgánicos en granos de café verde ($\mu\text{g/g}$).....	24
Tabla 4.	Composición de alcaloides y compuestos fenólicos en granos de café verde ($\mu\text{g/g}$).....	26
Tabla 5.	Composición de aminoácidos en granos de café verde ($\mu\text{g/g}$)	27
Tabla 6.	Compuestos volátiles identificados en los granos de café tostado y tiempos de retención (tR)	31
Tabla 7.	Puntajes del análisis sensorial de las muestras de café por tipo de secado	32

Índice de figuras

Figura 1. Dendograma del conjunto de datos obtenidos de las regresiones lineales.	33
Figura 2. Mapa de calor del conjunto de datos obtenidos de las regresiones lineales para muestras de café sometidas a diferentes métodos de secado y con distintos tiempos de cosecha.	34
Figura 3. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 001	36
Figura 4. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 002	36
Figura 5. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 003	37
Figura 6. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 004	37

Anexos

A. Correlación entre el componente principal 1 y 2.....	47
B. Correlación entre el componente principal 2 y 3.....	47
C. Correlación entre el componente principal 1 y 3.....	48
D. Mapa de calor de todos los compuestos identificados en las muestras de café sometidas a diferentes métodos de secado y con distintos tiempos de cosecha..	49

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Valeria Fernanda Arévalo Lata en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“Evaluación de la influencia de los diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha en la calidad del café de especialidad (*Coffea arábica L.*)”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 5 de diciembre del 2022.



Valeria Fernanda Arévalo Lata

C.I: 0107458861

Cláusula de Propiedad Intelectual

Valeria Fernanda Arévalo Lata, autora del trabajo de titulación **“Evaluación de la influencia de los diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha en la calidad del café de especialidad (*Coffea arábica L.*)”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 5 de diciembre del 2022



Valeria Fernanda Arévalo Lata

C.I: 0107458861

Agradecimientos

Quiero agradecer de manera muy especial a la Dra. Johana Ortiz, por su paciencia, por enseñarme el manejo del HPLC, por darme la confianza para perder el miedo a usar el equipo y sobre todo por siempre ser una persona tan cálida y dulce con todos aquellos que la rodeamos, principalmente con los estudiantes. Gracias por todo su apoyo durante todo este proceso.

Le agradezco al Dr. Juan Manuel Cevallos de la sede de Guayaquil y cotutor de mi trabajo de titulación quién me ayudó con los análisis de los compuestos volátiles. No me pueden faltar Michelle y Gabriela quienes siempre estuvieron al pendiente de mí en el laboratorio instruyéndome y ayudándome cuando estaba perdida y no sabía cómo proceder en el manejo de los equipos o en el desarrollo de alguna técnica, gracias infinitas por siempre tratarme bien y con cariño. A Jorge quien fue la persona que me ayudó en los inicios, por ayudarme a dejar a punto las técnicas de análisis. Al ingeniero William ya que gracias a él y su amplio conocimiento pudimos culminar exitosamente todo este proceso.

Gracias a todas las personas que conforman el Laboratorio de Alimentos y Nutrición, de la Universidad de Cuenca.

Dedicatoria

A mi familia que incluye a mi mamá, mis tíos, mis abuelitos y mis primos que son el pilar fundamental de mi vida, las personas que siempre están a mi lado, apoyándome en todo momento y que son las personas que más amo.

De manera especial a mi mamá que siempre ha estado cuidándome y protegiéndome, que es la mujer más fuerte, valiosa y trabajadora, quién siempre me ha reprendido cuando ha sido necesario, pero más que nada me ha llenado de amor y me ha enseñado la importancia de la educación y nunca ha dejado de apoyarme.

Evaluación de la influencia de los diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha en la calidad del café de especialidad (*Coffea arábica* L.)

Valeria Arévalo¹, Johana Ortiz¹, Juan Manuel Cevallos-Cevallos²

¹ Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Bicociencias.

Universidad de Cuenca, valefarevalo@gmail.com

Universidad de Cuenca, johana.ortiz@ucuenca.edu.ec

² Escuela Superior Politécnica del Litoral. Centro de Investigaciones Biotecnológicas del Ecuador (CIBE)

Escuela Superior Politécnica del Litoral, jmceva@espol.edu.ec

1. Introducción

El café es una planta arbustiva que pertenece a la familia *Rubiaceae* (González Sánchez et al., 2011). Existen alrededor de 500 especies de café, de las cuales las especies *Coffea arabica* y *Coffea canephora* (*robusta*) tienen el mayor interés alimenticio y comercial (Jeszka, Zgola, & Grzeskowiak, 2014). El café ocupa el segundo lugar como uno de los productos más comercializados después del petróleo (Rodrigues & Bragagnolo, 2013). Además, el café como bebida, es uno de los alimentos de mayor consumo en el mundo, siendo su aroma el factor más determinante de su calidad final y aceptación (Borrella et al., 2015; H. M. González Sánchez et al., 2011).

En Ecuador, el cultivo de café es una de las principales actividades agrícolas de pequeños y medianos productores en varias provincias del país, en donde se producen principalmente las variedades arábica y robusta (Andrade Santacruz, 2017). En cuanto al impacto económico en el país, tras una severa caída de 7.8 puntos durante el 2020, se espera que el producto interno bruto crezca un 2.8% durante este año (BCE, 2021). En particular, el mercado del café de especialidad (variedad arábica) es muy elitista en la bolsa de valores, en donde una libra de café puede llegar a costar desde 30 a más de 500 USD (Anthony, 2014; Transparent Trade Coffee, 2020).

El procesamiento del grano del café es fundamental para obtener un producto de alta calidad (Bressanello et al., 2017). Entre los varios procesos para la obtención del grano verde para tostar, destacan los procesos de lavado y secado (Gonzalez-Rios et al., 2007) pues se ha determinado su influencia sobre la composición química del café y consecuentemente sobre su aroma (Puerta & Echeverry, 2015). A pesar de que ha existido un gran avance tecnológico y de conocimiento respecto al café, existen falencias en el control y entendimiento de la influencia de tenues variaciones en la fermentación y secado sobre la calidad sensorial del café de especialidad, que podría conllevar a considerables defectos de calidad y grandes pérdidas económicas. Por otro lado, son muy pocas las haciendas cafeteras que

identifican las características de los procesos que influyen en la calidad de café pues estos análisis incrementan los costos de producción (Wintgens, 2004), que ya son altos para el café arábigo de especialidad.

1.1. Composición química del café verde

La composición química de los granos de café verde es muy compleja, destacándose los ácidos orgánicos y ciertos compuestos bioactivos que han sido identificados como posibles descriptores de la calidad sensorial del café (Borém et al., 2016) (Farah & Marino Donangelo, 2006).

La mayor parte de los ácidos orgánicos presentes en el café son compuestos volátiles que influyen directamente en los atributos del aroma, y altas concentraciones de estos ácidos podrían afectar significativamente su acidez (Ribeiro et al., 2018). En los granos de café verde, los ácidos más importantes son el cítrico, málico y quínico (Ginz et al., 2000).

Existen diversos compuestos bioactivos en el café, tales como compuestos fenólicos (tales como ácido clorogénico y derivados), metilxantinas (cafeína, teofilina y teobromina), diterpenos (incluidos cafestol y kahweol), ácido nicotínico (vitamina B3) y su trigonelina precursora, así como también los minerales magnesio y potasio (Gómez-Ruiz et al., 2007). En particular, los ácidos bioactivos, la trigolenina, la cafeína y los ácidos clorogénicos influyen considerablemente en la calidad sensorial del café. La trigonelina y los ácidos clorogénicos actúan como precursores de otros compuestos volátiles que se producen durante el tostado del café y contribuyen directamente al aroma (Ribeiro et al., 2016). Por otro lado, la cafeína se asocia con un amargor indeseable que, dependiendo de su concentración, puede hacer desprezable a la bebida (Borém et al., 2016).

Además de estos compuestos, en los granos de café verde también se encuentran otros precursores del aroma tales como azúcares, proteínas y aminoácidos libres (Poisson et al., 2017).

Los carbohidratos constituyen aproximadamente el 50% del peso seco de los granos de café verde, entre los que se encuentran presentes están la sacarosa, glucosa, fructosa, arabinosa, galactosa y manosa (Mussatto et al., 2011; Cid & de Peña, 2016). Además de la sacarosa, no hay evidencia de la presencia de oligosacáridos naturales en los granos de café verde (Tian et al., 2017). Dentro de estos también destaca la presencia de polisacáridos que incluyen galactomananos, arabinogalactanos y celulosa (Garg, 2016).

Las proteínas representan el 8-12% de los granos secos de café verde y la mayoría se degrada a aminoácidos durante la maduración, lo cual es acelerado por los ácidos clorogénicos y sus derivados (Chu, 2012). Los granos de café contienen varios aminoácidos libres como alanina, arginina, asparagina, cisteína, ácido glutámico, histidina, glicina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, tirosina, treonina y valina (Grembecka et al., 2007). El contenido promedio de aminoácidos es de 4 mg/g en café robusta y 4.5 mg/g en café arábica.

Se ha sugerido también que el perfil de aminoácidos influye en el rendimiento de ciertos volátiles durante el tostado y, por lo tanto, en el carácter y quizás en la aceptabilidad de la bebida (Arya & Rao, 2007).

Los compuestos lipídicos están presentes en la superficie y en la matriz interior de los granos de café verde. El componente graso representa, el 15-18% de la materia seca del grano. La mayoría de los ácidos grasos en el café son insaturados, siendo los más abundantes el ácido linoleico (46% de lípidos libres totales), ácido palmítico (30-35% de los lípidos libres totales), ácido oleico y ácido linolénico (Garg, 2016; Mussatto et al., 2011; Cid & Peña, 2016).

La formación de aroma de café ocurre predominantemente durante el tostado a través de una serie compleja de reacciones de Maillard y otras reacciones térmicas como la degradación de los polisacáridos y azúcares simples que están presentes en los granos de café verde, y que son responsables de la formación de productos de caramelización (Lee et al., 2015; Petisca et al., 2013). En particular, la trigonelina es un alcaloide presente en los granos de café verde que también se degrada considerablemente, produciendo importantes aromas de café como las piridinas y los pirroles (Arruda et al., 2012). Las reacciones de Maillard constituyen la principal vía para la generación de diversos compuestos que influyen directamente sobre el desarrollo del aroma del café. En particular, los compuestos pirazinas, pirrol, tioles, furanonas, piridinas y tiofenos son considerados como los responsables de los atributos del café tostado (Lee et al., 2015).

1.2. Procesamiento del café verde

El proceso de fermentación del café promueve cambios significativos en la carga y diversidad de los microorganismos propios del café (Gonzalez-Rios et al., 2007). Durante el proceso de fermentación del mucílago estos microorganismos (levaduras, bacterias y hongos) desempeñan un papel importante en la producción de varias enzimas, alcoholes y ácidos que, a su vez, produce diversos cambios fisiológicos como la disminución del contenido de agua y los azúcares simples y el desarrollo de precursores de aromas (Vaast et al., 2006).

Tradicionalmente, se determina el punto final de la fermentación del mucílago por inspección manual de la masa fermentada. Antes de que este proceso se complete, la capa intacta de mucílago es resbaladiza y el café pergamino se desliza fácilmente sobre sí mismo (Jackels & Jackels, 2005). Al finalizar la fermentación, el café ya no es resbaladizo y la capa de mucílago es removida y se puede lavar por completo (Avallone et al., 2002). La “sobre-fermentación” del café, o tiempo excesivo para quitar el mucílago, se considera perjudicial para la calidad del café y, por lo general, su control es parte de los programas de mejora de la calidad con fines de acceso a mercados especializados (Jackels et al., 2007).

En Latinoamérica, la fermentación suele realizarse en medio acuoso, proceso conocido simplemente como lavado. A pesar de que, por la maquinaria necesaria, esta tendencia es mucho más costosa que una fermentación seca o natural, el uso de agua permite al café desarrollar características organolépticas más deseables

en el producto terminado, incluyendo un sabor con menos cuerpo, más ácido y con más aroma (FAO & ICO, 2006; Puerta & Echeverry, 2015; Rodríguez et al., 2015).

Entre las varias operaciones de procesamiento, el secado es uno de los pasos de postcosecha con mayor influencia en la calidad del café. Este proceso se puede realizar mediante secado al sol o mediante diversas técnicas de secado mecánico (de Melo Pereira et al., 2019). El secado al sol se realiza en patios de cemento con pendiente de un grado de inclinación, elbas (cajas de madera con piso de madera o cemento y techo de zinc), en marquesinas (losa de cemento cubierta con una estructura plástica en forma de cúpula). El tiempo requerido para el secado es de 7 a 15 días para estado pergamino y de 12 a 21 días para estado cereza (contienen pulpa) y podrá variar de acuerdo a la temperatura media y precipitaciones (Olmos et al., 2017). Existen algunos inconvenientes relacionados a esta técnica de secado, como un tiempo de secado prolongado, un alto costo de mano de obra, el requisito de una gran área de superficie para el secado (Kulapichitr et al., 2019) y riesgos biológicos y químicos debido a que los granos de café permanecen con altos contenidos de humedad por largos períodos. El hongo *aspegillus ochraceus* puede producir ocratoxina A (OTA) en el café húmedo la cual es una sustancia tóxica y cancerígena (Bruce et al., 2009).

En el secado mecánico los granos son calentados por el paso de aire caliente que reduce el contenido de humedad. La temperatura del grano de café durante el secado no debe exceder los 40 °C para pergamino y los 45 °C para cerezas. En el caso de los secadores mecánicos, el tiempo de secado varía de 20 a 60 horas según el tipo de secadores utilizados (Haile & Hee Kang, 2020). Existen ventajas de este método en comparación con la técnica de secado al sol, como la eliminación de variables ambientales no controladas que pueden afectar la calidad del café, reducción al mínimo de los retrasos al reducir el tiempo de secado y emplear menos mano de obra para revolver los cafés (Castellano, 2020).

Independientemente del método de secado, el café debe secarse hasta un contenido de humedad menor al 12% para inhibir el deterioro durante el almacenamiento y distribución (Kulapichitr et al., 2019; Dong et al., 2017), lo que conlleva a la pérdida de los atributos de calidad obtenidos en el campo y, consecuentemente menor valor comercial (Santos et al., 2020).

1.3. Propiedades sensoriales y catación del café

Los sistemas de producción de café de especialidad están diseñados con la finalidad de producir café de alta calidad para los mercados internacionales, así como también del desarrollo de nuevas formas de consumo que permitan evaluar la calidad, diferenciación y características sensoriales del café (Sepúlveda et al., 2016).

La catación de café suele realizarse por medio de un panel de catadores entrenados para identificar, definir y comprender plenamente las características sensoriales que determinan la calidad del café. La Asociación de Cafés Especiales de América (SCAA, por sus siglas en inglés) estableció un procedimiento de

evaluación, denominado “protocolos de catación” para determinar el perfil sensorial de los granos de café, con la finalidad de ofrecer la distinción de “café especiales” a los diferentes cafés que provienen de cualquier parte del mundo (Gutiérrez-Guzmán et al., 2018). El instrumento que emplean los miembros del panel de catadores para el registro de los resultados de la prueba de cata es el formulario de cata de la SCAA (SCAA, 2018).

Los atributos que son evaluados en la catación del café de acuerdo con la SCAA son la fragancia/aroma, el sabor, el sabor residual/postgusto, la acidez, el cuerpo, el equilibrio, el dulzor, la uniformidad, la taza limpia y el conjunto. Los atributos específicos de sabor son puntuaciones positivas de calidad determinadas por la opinión del catador. Estos atributos son evaluados en una escala de 10 puntos. Los defectos por otro lado, son puntuaciones negativas que denotan las sensaciones de sabor no agradables, se califican con puntuaciones de dos a cuatro puntos para cada taza en donde se percibe el defecto. Con la sumatoria de todos los atributos se obtiene el puntaje final, de este se restan los puntos que se haya obtenido de los defectos (Dávila, 2018).

La escala de calificación va de cero a cien puntos y, de acuerdo al puntaje total que se obtenga, los cafés pueden ser clasificados como pasable, bueno, muy bueno, excelente, extraordinario, ejemplar o único si obtienen puntajes entre 70-74, 75-79, 80-84, 85-89, 90-94 y 95-100, respectivamente. La denominación de café sin especialidad es el grado con que se define a un café cuyo puntaje ha sido inferior a los 80 puntos, mientras que aquellos que superan esta puntuación son denominados especiales (Vilca, 2014).

La composición química y las propiedades sensoriales son características muy importantes en lo que se refiere a la calidad de café (Kulapichitr et al., 2019). Estas características pueden verse influenciadas por diferentes factores tales como variedad del café, factores ambientales/climáticos (suelo, altitud, exposición solar, lluvia, temperatura), método de cosecha, prácticas agrícolas (Yisak et al., 2018), el método de secado utilizado es un parámetro muy importante que ha ido tomando relevancia en los últimos años (Dong et al., 2017; Kulapichitr et al., 2019). Por esta razón en este trabajo se realizó la caracterización de los compuestos del aroma derivados de la combinación de diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha de grano verde de café, y la influencia de dichas variables sobre la calidad sensorial del producto final.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Evaluar la influencia de los diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha en la calidad del café de especialidad en grano verde, mediante la caracterización de los compuestos responsables del aroma, y su relación con la cata del producto del café preparado.

1.4.2. Objetivos específicos

Optimizar los métodos cromatográficos (HPLC y GC) para el análisis de los compuestos más importantes responsables del aroma del café.

Evaluar la influencia de los diferentes procesos de secado del café verde y los tiempos de cosecha sobre la composición química de compuestos de aroma a través de la aplicación de un diseño experimental.

Establecer la relación entre la evaluación química del aroma del café con la valoración de cata profesional de la infusión final.

2. Materiales y métodos

2.1. Muestras de grano de café verde

Las muestras de granos verde de café del tipo *Coffea arábica L.* variedad típica fueron obtenidas de la Hacienda La Papaya, ubicada a 1700 m.s.n.m en el cantón Saraguro de la provincia de Loja-Ecuador. En esta hacienda se produce café de especialidad y se lleva control de los parámetros y de cada uno de los procesos aplicados hasta obtener el café pergamino.

Las muestras fueron recolectadas y procesadas durante el periodo Julio-Agosto 2019. Los granos de café se recolectaron como frutos maduros (17 - 22 °Brix) de forma manual y selectiva. Para la fermentación húmeda o lavado se utilizaron solo los granos maduros y densos. Para seleccionar los granos, se sumergieron en agua y se separaron por diferencia de densidad, excluyendo aquellos granos flotaron en el agua.

2.2. Procesamiento de las muestras de café

Los granos maduros de café fueron sometidos al procesamiento de fermentación húmeda o lavado que comprende el despulpado y desmantelamiento mecánico, seguido de la eliminación completa del mesocarpio adherido al endocarpio. Luego se removió la pulpa y la cáscara más externa, obteniéndose un grano envuelto en una capa llamada pergamino que, a su vez, está cubierta por una capa de mucílago de consistencia melosa. Para remover el mucílago, los granos de café fueron colocados en piscinas de agua o tanques de lavado de 1.8 m³ por un tiempo de 15 horas (tiempo de fermentación).

El proceso de secado se llevó a cabo en la hacienda en cuartos de secado experimental tipo invernadero, para proteger a los granos de daños ambientales como heladas, fuertes vientos, granizo, plagas e insectos. El proceso de secado duró entre 7 y 10 días, dependiendo de las condiciones climáticas. Los granos se homogenizaron cuatro veces al día utilizando una paleta de madera. Las muestras fueron secadas hasta llegar a un porcentaje de humedad entre el 10 - 12% para evitar la contaminación con hongos. Durante el proceso de secado se controló la temperatura, humedad relativa y aireación.

Después del secado, las muestras fueron almacenadas en una cámara con temperatura controlada a 10 °C y humedad relativa del 60% durante un período de

30 días. Posteriormente, los granos fueron separados por tamaño y forma. Además, con la ayuda de una lámpara de fluorescencia, se identificaron y retiraron del lote de estudio a todos los granos defectuosos, los cuales emiten un reflejo fluorescente bajo esta luz.

El tamaño de cada muestra experimental fue de 250 g. Las muestras de granos verdes secos fueron empacadas hasta su análisis en fundas herméticas metalizadas para evitar la influencia de la humedad, la luz solar y la temperatura que podría alterar la química del grano.

2.3. Diseño experimental

El estudio se basó en un diseño experimental de tipo factorial desbalanceado 4 x 3 en el que se consideraron como variables experimentales a los cuatro tipos de secado codificados como 001 a 004 (Tabla 1) y tres tiempos de cosecha de los granos 1) mediados de julio, 2) primeros días de agosto y 3) mediados de agosto. En total, se recolectaron 36 muestras (12 condiciones establecidas por triplicado para considerar el error experimental). Las variables respuesta consideradas fueron los contenidos de compuestos químicos involucrados en el desarrollo del aroma del café, específicamente ácidos orgánicos, polifenoles, carbohidratos, aminoácidos y compuestos volátiles.

Tabla 1. Tipos experimentales de secado de granos de café verde

Método de secado	Condiciones
001	Flujo de aire mínimo: movimiento interno del aire producido por aire forzado proveniente de los ventiladores.
002	Flujo de aire medio: ventanas altas y bajas cerradas al 50%; puertas cerradas durante el día y la noche.
003	Flujo de aire nulo: ventanas altas y bajas cerradas al 100%; puertas cerradas durante el día y la noche.
004	Flujo de aire máximo: ventanas altas y bajas abiertas al 100%; puertas abiertas durante el día y cerradas durante la noche.

2.4. Análisis de los biocompuestos responsables del aroma del café

2.4.1. Reactivos

Los reactivos metanol y acetonitrilo grado HPLC, cloruro fluorenil-metiloxycarbonil (FMOC; > 99%) y orto-ftalaldehído (OPA; > 99%) fueron suministrados por Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA); fosfato dibásico de sodio anhidro por Mallincroudt AR (Phillipsburg, USA); ácido acético glacial y ácido clorhídrico fumante por Merck

KGaA (Darmstadt, Alemania), buffer de borato y ácido 3-mercaptopropiónico y agua ultrapura obtenida de un sistema NANOpure Diamond (Barnstead, USA).

Los estándares ácido 3-O-cafeoilquínico, ácido 4-O-cafeoilquínico, ácido 5-O-cafeoilquínico, ácido cítrico, ácido acético, cafeína, ácido málico, ácido láctico, ácido succínico, trigonelina, ácido cafeico, ácido gálico, ácido ferúlico, apigenina, epicatequina, luteolina, rutina, DL-norvalina suministrados por Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.) y quercetina por ROTH Carl (Karlsruhe, Alemania).

Soluciones patrón de los estándares de ácidos orgánicos (ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido succínico y ácido gálico) fueron preparados a una concentración de 10000 µg/ml con agua ultrapura. A partir de las soluciones patrón frescas, se realizaron diluciones a 100, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 3000, 6000 µg/ml de concentración.

Soluciones patrón de los estándares de compuestos fenólicos (ácido gálico, ácido ferúlico, ácido cafeico, apigenina, ácido 4-O-cafeoilquínico (ácido criptoclorogénico o 4CQA), ácido 3-O-cafeoilquínico (ácido clorogénico o 3-CQA), ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido neoclorogénico o 5-CQA), epicatequina, luteolina, quercetina, rutina) y alcaloides (cafeína y trigonelina) fueron preparados a una concentración de 1 mg/ml en metanol puro grado HPLC. Las soluciones fueron almacenadas a -20°C hasta su utilización. Para las curvas de calibración, se mezclaron de las soluciones patrón individuales con metanol puro hasta una concentración 100 µg/ml, de la cual se partió para realizar diluciones de 1, 1.5, 2, 2.5, 5, 10, 20, 25, 50, 75 µg/ml.

Una solución patrón de los estándares de aminoácidos (L-alanina, cloruro amónico, L-arginina, ácido L-aspartico, L-cisteína, ácido L-glutámico, L-leucina, L-lisina, L-serina, L-treonina, L-tirosina, L-valina, L-histidina, L-iso-leucina, L-metionina, L-fenilalanina, L-prolina y glicina) fueron provistos como solución mixta a una concentración de 2500 pmol/µl. La solución fue almacenada a -20 °C hasta su utilización. Para las curvas de calibración la solución madre fue diluida con ácido clorhídrico 0.1 N hasta una concentración de 2000 pmol/ µl, de la cual se partió para realizar diluciones de 2.5, 5, 7.5, 10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 750, 1000 pmol/ µl.

2.4.2. Instrumentación

Para la determinación de ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y derivados, y aminoácidos se empleó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Agilent serie 1200), equipado con una bomba cuaternaria, detector de arreglo de diodos (DAD) y detector de fluorescencia (FLD) (Agilent Technologies, USA).

Para la determinación de los compuestos volátiles se empleó un cromatógrafo de gases (GC) 7890A acoplado a un espectrómetro de masas (MS) 5975C (Agilent Technologies, Santa Clara, CA).

2.4.3. Análisis de ácidos orgánicos por HPLC-DAD

La extracción se realizó a partir de 250 mg de granos verdes de café seco y molido con 2.5 ml de agua ultrapura. La solución se agitó con un homogenizador vortex (VELP Scientifica, Italia) tres veces durante 1 minuto. Después se procedió a agitar durante 15 minutos con un agitador horizontal. Luego se centrifugó dos veces a 6000 rpm por 10 minutos (Hettich MIRKO 220R, Alemania). Finalmente, se tomó una alícuota de sobrenadante y se filtró a través de filtros de membrana PVDF de 0.45 µm.

La separación cromatográfica de los ácidos orgánicos (láctico, málico, succínico, cítrico y acético) se llevó a cabo de acuerdo al método descrito en Pereira et al., (2010) con algunas modificaciones. La separación se consiguió con una columna Zorbax Eclipse C18 (150 x 4.6 mm; 5 µm) (Agilent Technologies, USA) a 30 °C con una elución tipo gradiente a un caudal de 1 ml/min. Las fases móviles empleadas fueron A: 10 mM de solución de Na₂HPO₄ a pH 2.7 (ajustado con ácido sulfúrico concentrado), B: 100% acetonitrilo y C: agua ultrapura. La elución inició con una etapa isocrática de 100% de A durante 9 min; luego se cambió a 50% B y 50% C en 1 min y se mantuvo así hasta el min 15. Se cambió a 100% C en 1 min y se mantuvo por 4 min (para limpieza de la columna). Finalmente, la columna fue reequilibrada hasta los 23 min. El volumen de inyección de la muestra fue de 50 µl. La detección se realizó con un detector DAD a 210 nm.

2.4.4. Análisis de compuestos fenólicos y alcaloides por HPLC-DAD

La extracción se realizó a partir de 250 mg de granos verdes de café seco y molido con 10 ml de una solución acuosa de metanol al 70%. Se agitó la solución durante 1 minuto con un homogenizador vortex y se sonicó (BRANSONIC 3510, México) durante 1 hora, agitando vigorosamente cada 10 minutos. Luego se centrifugó a 6000 rpm por 10 minutos (Hettich MIRKO 220R, Alemania), se tomó 1 ml del sobrenadante y se diluyó con 9 ml de agua ultrapura. El extracto fue filtrado a través de filtros de membrana PVDF de 0.45 µm previo a su análisis.

La separación cromatográfica de ácidos clorogénicos (5-CQA, 3-CQA y 4-CQA), cafeína, ácido cafeico, ácido gálico, ácido ferúlico, apigenina, epicatequina, luteolina, quercetina, rutina y trigonelina se realizó con el método HPLC-DAD para análisis de polifenoles optimizado en el Laboratorio de Alimentos y Nutrición, Dep. Biociencias, Universidad de Cuenca (Saquicela, 2018). La separación se consiguió con una columna Zorbax Eclipse C18 (250 x 4.6 mm; 5 µm) (Agilent Technologies, USA) a 30 °C con una elución tipo gradiente a un caudal de 1ml/min. Se emplearon como fases móviles A: agua acidificada al 0.3% con acético, B: agua/Fase móvil A, 50:50 v/v y C: acetonitrilo 100%. La elución inició con 10% B durante 2 min, luego se incrementó a 55% B hasta los 27 min y se mantuvo así hasta el min 37. Hacia los 39 min se cambió a 100% C y se mantuvo hasta los 42 min (para lavar la columna). Finalmente, se reequilibró la columna hasta el min 43.5. El volumen de inyección fue de 10 µl. La detección se realizó con un detector DAD a 254 nm (trigonelina, rutina, luteolina y quercetina), 280 nm (ácido gálico, cafeína y

epicatequina) y 320 nm (5-CQA, 3-CQA, 4-CQA, ácido cafeico, ácido ferúlico y apigenina).

2.4.5. Análisis de aminoácidos por HPLC-FLD

La extracción se realizó según el método descrito en Murkovic & Derler, 2006. Brevemente, la extracción se realizó a partir de 200 mg de granos verde de café seco y molido con 10 ml de una solución HCl 0,1 N. La solución se agitó durante 1 minuto con un homogenizador vortex y se sonicó durante 15 minutos. Finalmente, el extracto se filtró con un filtro de membrana PVDF de 0.45 μm previo a su análisis.

Los extractos fueron sometidos a una derivatización pre-columna programada en el autoinyector del HPLC. Los aminoácidos primarios se derivatizaron con OPA (5,12 mg en 1 ml de MeOH, adicionando 4 ml de buffer de borato 0,4 M) y 10 μl de 3-MPA. La derivatización de los aminoácidos secundarios (particularmente prolina) se realizó con FMOC (2.5 mg/ml en ACN), pues no reaccionan con OPA (Kerkaert et al., 2011). Se debe considerar que la incorporación de 3-MPA en los indoles disminuye su hidrofobicidad por lo que los derivados de OPA eluyen antes que los derivados de FMOC. Además, el exceso de FMOC y sus productos de degradación eluyen después de los últimos aminoácidos secundarios y no interfieren con el análisis (Limam et al., 2016).

Los aminoácidos derivatizados se separaron cromatográficamente con una columna ZorbaxEclipse AAA de resolución rápida (4.6 x 150 mm; 5 μm) (Agilent Technologies, USA), a 40 °C y se aplicó un caudal de 2 ml/min. Se emplearon como fases móviles A: 40 mM Na₂HPO₄, pH 7.8 y B: metanol/acetonitrilo/agua 45:45:10 v/v/v. La elución inició con 100% A de 0 a 1.9 min, seguido de un incremento de B de 0-57% hasta el min 18.1 y luego se incrementó hasta 100% al min 18.6 manteniéndose hasta el min 22.3 para finalmente reequilibrarse hasta el min 26. Los compuestos fueron detectados fluorométricamente. Los compuestos eluidos hasta el min 10 se detectaron a 340 nm de excitación y 450 nm de emisión; mientras que los eluidos hasta el min 15 se detectaron a 266 nm de excitación y 305 nm de emisión (Henderson et al., 2000).

2.4.6. Análisis de compuestos volátiles por GC-MS

Los compuestos volátiles fueron evaluados en las muestras experimentales de café tras un proceso de tostado realizado en una tostadora modelo Ikawa V2 con capacidad para 50 gramos, bajo parámetros estandarizados de temperatura, velocidad del grano y flujo de aire controladas mediante el software Ikawa Roast.

Los compuestos volátiles se extrajeron por microextracción en fase sólida en espacio de cabeza (SPME). La extracción se realizó a partir de granos tostados molidos en nitrógeno líquido. Se transfirió aproximadamente 1 g de material molido a viales de 50 ml de SPME. Las muestras fueron equilibradas a 60 - 70°C durante 10 minutos en un baño de agua. Finalmente, se colocaron en una fibra SPME 50/30 μm de Divinylbenzene / Carboxen / Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (Supleco, Bellefonte, PA, EE. UU.) en el espacio de cabeza de cada vial con muestra durante 40 minutos a 60-70 °C. La fibra SPME recibió un

acondicionamiento inicial a 270°C durante 1 hora y un acondicionamiento de mantenimiento diario de 240°C durante 10 min.

La fibra SPME fue retirada del vial y se inyectó en modo Split a 240°C en el GC-MS. La separación cromatográfica se realizó con una columna DB5-MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm). La rampa de temperatura del horno inició a 70°C y se elevó hasta a 310°C en una tasa de aumento de 7 °C/min. Se utilizó helio ultrapuro como gas portador a un flujo 0.8 ml/min. El MS fue ajustado a la sensibilidad máxima en el modo de impacto electrónico, polaridad positiva y se registró la corriente iónica total para un rango de masa de 40 a 750 amu.

2.4.7. Análisis de azúcares por espectroscopía infrarroja

La extracción se realizó de acuerdo a Murkovic & Derler (2006) con algunas modificaciones. Se emplearon 500 mg de granos verdes de café seco y molido y 5 ml de agua ultrapura. La mezcla se agitó durante 30 segundos en el vortex y se sonicó durante 15 minutos a 60 °C. Posteriormente, la mezcla se centrifugó a 6000 rpm durante 10 minutos. Se extrajo el sobrenadante y se agregaron 2 ml de agua al sedimento, se mezcló y se centrifugó bajo las mismas condiciones. Se repitió este procedimiento y se combinaron los sobrenadantes. Finalmente, el extracto se diluyó con agua hasta un volumen de 20 ml y se filtró a través de una membrana de 0,45 μm .

La cuantificación de los azúcares se realizó en el Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias Químicas. Se utilizó un equipo Thermo Nicolet™ iS™ 5 (Thermo Scientific, USA), que utiliza un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) de ZnSe acoplado al FTIR. Se construyeron curvas de calibración para sacarosa, glucosa y fructosa en las siguientes concentraciones 2.5, 5, 10, 20, 30, 50 % p/V. La adquisición de espectros se realizó mediante el software OMNIC® (Thermo Fisher Scientific, 2015). Se realizaron tres repeticiones por cada muestra. Los espectros IR se obtuvieron en modo absorbancia, con 32 repeticiones por cada espectro a una resolución espectral de 4 cm^{-1} en el rango de número de onda de 4000 a 600 cm^{-1} . Adicionalmente se utilizó el software TQ Analyst® para realizar las regresiones lineales.

2.4.8. Catación

El proceso de catación de las muestras de café se realizó de acuerdo a las normas del SCAA. Inicialmente, las muestras fueron tostadas (Ikawa V2, Londres) con un perfil de tostado adaptado a 2500 msnm y luego se molieron (Molino de café Mahlkönig Guatemal, Alemania). Se pesó 12,5 g de café molido y cada muestra fue colocada en un vaso de vidrio de 200 ml. El aroma y la fragancia fueron los primeros parámetros que se evaluaron. Para esto, el vaso de vidrio con el café fue agitado y aspirado por los catadores las veces que se consideraron necesarias para darle la puntuación. Luego, se adicionó agua purificada caliente sobre el café en el vaso hasta llenarlo casi completamente. Después de 4 minutos se retiró la espuma de la parte superior del vaso y se aspiró el olor que desprende de éste (proceso conocido como “romper taza”). La degustación se realizó después de 12 minutos de que el café entró en contacto con el agua. Para la degustación, el café fue absorbido con

una cuchara y después de unos segundos se expectoró el café, lo cual, se realiza para determinar el sabor, acidez, cuerpo, postgusto y balance. El proceso de absorción puede repetirse las veces que se consideren necesarias para evaluar cada parámetro. Para disminuir la subjetividad de la catación, las muestras de café fueron codificadas.

Al finalizar la cata, se realizó una discusión e intercambio de opiniones sobre los puntajes con la finalidad de conocer los puntos de vista y observaciones de cada catador con respecto a las muestras evaluadas, sin que esto influya en los puntajes ya establecidos. Las muestras se clasificaron de acuerdo a los puntajes dentro de la siguiente escala 65-74.99, 75-79, 99, 80-84.99, 85-94.99 y 95-100 que corresponde a una calidad de taza buena, muy buena, especialidad, excelente y excepcional, respectivamente.

2.4.9. Análisis de datos

Los datos cromatográficos fueron procesados mediante el software Chemstation. Los compuestos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de los estándares. Las concentraciones de cada compuesto se calcularon interpolando el valor de las áreas en las curvas de calibración correspondientes.

Para la obtención de las curvas de calibración de los azúcares se utilizó un modelo lineal obtenido a partir de soluciones estándar de sacarosa, glucosa y fructosa. Se realizó un barrido para determinar la zona en donde existe un incremento de la absorción para las soluciones preparadas en donde se cumpla la Ley de Beer. Con la finalidad de verificar la relación lineal entre los estándares y la absorbancia registrada en los espectros se utilizó el software TQ Analyst® (Thermo Scientific). Los espectros IR de estas soluciones, obtenidos en modo absorbancia, permitieron aplicar la Ley de Beer.

Para evaluar posibles diferencias en la composición química del café con respecto a los métodos de secado y tiempos de cosecha, primero se realizó un pre-procesamiento de los datos, que incluyó el manejo de datos perdidos mediante una imputación, específicamente en los resultados de análisis por GC-MS. Para acelerar la convergencia de los métodos estadísticos empleados, los datos fueron transformados mediante dos métodos de escalado: 1) Método de escalado mínimo-máximo, utilizado para escalar los datos en un rango entre 0 y 1 y 2) Método de escalado estándar, en el que la media de los valores se transforma en cero y la desviación estándar en 1. Luego se realizó una regresión lineal por Mínimos Cuadrados Ordinarios con la finalidad de identificar a los compuestos influenciados por tipo de secado, y por el tiempo de cosecha y/o por la interacción entre los mismos. Finalmente, se aplicó un análisis de los componentes principales (PCA), construido solamente con los compuestos que fueron sensibles a las variables de estudio. Para la evaluación de los datos de catación y su relación con el tipo de secado, se usó el método de Random Forest y shap plots. Todos los análisis fueron realizados con un nivel de confianza del 95%. Además, se realizó un análisis de conglomerados jerárquicos, obteniendo mapas de calor con las variables

significativas. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Python versión 3.9.0 y R versión 4.1.2.

3. Resultados y discusión

3.1. Composición química de los granos de café de especialidad (*Coffea arábica L.*)

En este estudio se evaluaron varios compuestos relacionados directa o indirectamente a las características organolépticas del café *Coffea arábica L.* En la Tabla 2 se presentan los compuestos analizados por HPLC y sus parámetros analíticos. Debido a que los resultados estuvieron bajo los límites de detección para los azúcares y que no se disponía de estándares para realizar la cuantificación de los compuestos aromáticos, estos no fueron incluidos dentro de los parámetros analíticos.

Tabla 2. Parámetros analíticos de los compuestos analizados por HPLC en los granos de café verde (*Coffea arábica L.*)

Compuesto	Tiempo de retención tR (min)	Ventana de tR (min)	Límite de detección (µg/g)	Límite de cuantificación (µg/g)	Linealidad (R ²)
Ácidos Orgánicos					
A. Málico	3.21	3.13 - 3.29	0.86	1.72	0.9921
A. Láctico	2.65	2.58 - 2.71	0.10	0.21	0.9999
A. Acético	2.84	2.77 - 2.91	0.34	0.67	0.9988
A. Cítrico	3.69	3.6 - 3.78	0.46	0.91	0.9986
A. Succínico	4.77	4.65 - 4.89	0.37	0.74	0.9986
Compuesto fenólicos y alcaloides					
Trigonelina	2.43	2.37 - 2.49	358.8	717.6	0.9993
Rutina	22.46	21.89 - 23.02	7.6	15.1	0.9984
Luteolina	34.87	33.99 - 35.74	29.5	59.0	0.9934
Quercetina	35.31	34.43 - 36.19	27.5	55.1	0.9943
A. Gálico	5.45	5.31 - 5.58	10.4	20.8	0.9970
Cafeína	15.52	15.13 - 15.91	492.2	984.5	0.9987
Procianidina B2	17.67	17.23 - 18.11	77.7	155.3	0.9995
Epicatequina	17.83	17.38 - 18.27	21.1	42.3	0.9966
Procianidina C1	20.06	19.56 - 20.56	146.6	293.2	0.9984
Ácido 5-CQA	11.2	10.92 - 11.48	77.0	154.1	0.9996
Ácido 3-CQA	14.33	13.97 - 14.69	3183.7	6367.4	0.9944
Ácido 4-CQA	15.22	14.84 - 15.6	4.1	8.1	0.9987
Ácido cafeico	17.97	17.52 - 18.4	36.7	73.4	0.992
Ácido ferulico	23.4	22.82 - 23.99	1.4	2.7	0.9999

Apigenina	41.06	40.04	-	42.09	10.1	20.1	0.9972
Aminoácidos							
A. Aspartico	6.67	1.63	-	1.7	3.3	6.6	0.9973
A. Glutámico	3.52	3.45	-	3.59	5.7	11.4	0.9998
Serina	6.17	6.05	-	6.29	5.1	10.2	0.9992
Histidina	7.09	6.95	-	7.23	10.1	20.1	0.9982
Glicina	7.37	7.28	-	7.46	3.3	6.7	0.9995
Treonina	7.56	7.47	-	7.66	5.2	10.4	0.9964
Arginina	8.22	8.06	-	8.39	7.0	14.0	0.9993
Alanina	8.75	8.58	-	8.93	48.2	96.4	0.9995
Tirosina	10.79	10.57	-	11.01	3302.1	6604.3	0.9986
Valina	11.76	11.53	-	12.00	8.7	17.4	0.9988
Metionina	11.98	11.83	-	12.13	9.1	18.3	0.9979
Fenilalanina	13.16	12.9	-	13.42	7.5	15.0	0.9992
Isoleucina	13.32	133.06	-	13.59	6.2	12.3	0.9992
Leucina	13.92	13.64	-	14.2	5.3	10.7	0.9993
Lisina	14.32	14.03	-	14.6	51.0	102.0	0.9951
Prolina	17.44	17.09	-	17.79	31.9	63.9	0.9917

Los azúcares fueron analizados por FTIR, pero al no obtener resultados óptimos sobre los límites de detección, no fue posible calcular y reportar los parámetros analíticos. Con respecto a los compuestos aromáticos, estos fueron identificados por SPME- GC-MS mediante librerías de espectros, por lo que no se reportan parámetros analíticos de cuantificación.

3.2. Análisis de ácidos orgánicos por HPLC-DAD

Los resultados de la cuantificación de ácidos orgánicos se presentan en la Tabla 3. Desafortunadamente, los límites de detección del método fueron relativamente altos y en algunas muestras los ácidos acético y succínico no fueron detectables, mientras que el ácido láctico estuvo entre el límite de detección y el límite de cuantificación. Los valores de ácido acético y succínico estuvieron entre el límite de detección y 2.01 y 2.09 respectivamente. La presencia de los ácido málico y cítrico fueron mayores en comparación a los otros ácidos, y sus valores estuvieron sobre los límites de cuantificación.

Tabla 3. Composición de ácidos orgánicos en granos de café verde ($\mu\text{g/g}$)

Compuesto	Promedio \pm DE	Min - Max
Ácido Málico	143.72 \pm 90.68	4.56 - 341.09
Ácido Láctico	0.40 \pm 0.13	0.22 - 0.67
Ácido Acético	1.21 \pm 0.40	0.75 - 2.01
Ácido Cítrico	1.88 \pm 0.36	1.23 - 2.90
Ácido Succínico	1.38 \pm 0.50	0.80 - 2.29

Los ácidos orgánicos son compuestos volátiles que poseen propiedades organolépticas que influyen en los atributos sensoriales del café, siendo la acidez una de las más importantes (Ribeiro et al., 2018). Ácidos como el cítrico, málico y acético están relacionados con el proceso de desarrollo, así como de la madurez de los frutos, el ácido láctico por otro lado se vincula con la actividad metabólica de los microorganismos (Peñuela-Martínez et al., 2018).

Dong et al., (2017) reportaron concentraciones de 4170.15 - 5525.58, 1445.24 - 1905.66 y 560.54 - 1799.42 $\mu\text{g/g}$ para los ácidos málico, cítrico y succínico, respectivamente. En el mencionado estudio se emplearon distintos métodos de secado y se observó que el método de secado en frío presentaba el contenido más alto de ácido orgánico total, mientras que los granos tratados con el método de secado a temperatura ambiente tuvieron el contenido más bajo. En Evangelista et al., (2014) analizaron la producción de ácidos orgánicos por levaduras en café natural con y sin lavado al inicio y al final del proceso de fermentación obteniendo concentraciones entre 20 - 590, 490 - 2030 y 110 - 3060 $\mu\text{g/g}$ para los ácidos cítrico málico y succínico, respectivamente. En el caso de los ácidos acético y láctico la mayoría estuvieron bajos los límites de detección. Lo mismo sucedió en el estudio de Jham et al., (2002) donde la mayor parte de las muestras estuvieron bajo los límites de detección, para los ácidos succínico y acético se cuantificaron cantidades en rangos de 11000 - 13000 y 3100 - 4700 $\mu\text{g/g}$ para el ácido cítrico y málico, respectivamente.

Peñuela-Martínez et al., (2018) evaluaron diferentes métodos de fermentación y como estos influyen en la composición de ácidos orgánicos, en donde los ácidos málico y succínico no presentaron variaciones que se atribuyan a los métodos de fermentación, presentando concentraciones entre 1130 - 2010 y 430 - 1480 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Tratamientos con tiempos más extensos de fermentación mostraron un nivel mayor de concentración de ácidos acético y cítrico (12000 - 24890 $\mu\text{g/g}$, respectivamente) mientras que la acumulación más elevada de ácido láctico (2930 - 9930 $\mu\text{g/g}$) se relacionó con el retardo de despulpado (6 o 16 horas).

Douglas et al., (2020) determinaron las siguientes concentraciones 7480 - 13430, 3080 - 4420, 1500 - 3720, 530 - 1150 y 9320 - 12630 $\mu\text{g/g}$ para los ácidos cítrico, málico, succínico, láctico y acético, respectivamente. Así mismo, en Lee et al., (2020) se reportan concentraciones entre 6650 - 6790 de ácido cítrico, 3670 - 4750 de ácido málico, 3460 - 3710 de ácido succínico y 2960 - 4120 $\mu\text{g/g}$ de ácido láctico.

En general, el método analítico empleado en el presente estudio permitió determinar la cantidad de los ácidos orgánicos en las muestras de granos de café verde de especialidad (*Coffea arabica L.*). Sin embargo, la baja sensibilidad del método podría ser la causa de la pobre detección de estos ácidos cuyas concentraciones fueron considerablemente menores a lo reportado en otros estudios. Por otro lado, no fue posible evaluar la precisión intra e inter-día del método debido a la rápida degradación de los estándares; ni tampoco se pudo evaluar la exactitud del método por no contar con matrices de referencia. Por lo

expuesto se sugiere continuar con la optimización del método para ser usado con fines cuantitativos o explorar otras técnicas alternativas.

3.3. Análisis de compuestos fenólicos y alcaloides por HPLC-DAD

La composición química del café, las características sensoriales y la concentración de alcaloides presentes en los granos de café depende de una serie de factores tales como propiedades genéticas de los cultivos, variedad de café, factores ambientales y climáticos, madurez del grano en la cosecha, método de cosecha y prácticas agrícolas (Yisak et al., 2018 y Mehari et al., 2016).

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos para los alcaloides y compuestos fenólicos. Se destaca la presencia de cafeína en un rango de 7580.04 - 9482.43 $\mu\text{g/g}$ y de trigonelina en un rango entre 8653.24 – 10322.03 $\mu\text{g/g}$. Estos resultados son comparables con otros estudios en donde se obtuvieron concentraciones en un rango de 7100 - 13200 $\mu\text{g/g}$ para la trigonelina y de 500 - 24300 $\mu\text{g/g}$ para la cafeína (Mehari et al., 2016; Atlabachew et al., 2021; Macheiner et al., 2019; Demissie et al., 2016 & Yisak et al., 2018).

Tabla 4. Composición de alcaloides y compuestos fenólicos en granos de café verde ($\mu\text{g/g}$)

Compuesto	Promedio \pm DE	Min - Max
Rutina	34.32 \pm 27.15	0.00 - 87.81
Epicatequina	314.91 \pm 19.94	273.02 - 355.22
Apigenina	137.06 \pm 32.26	89.82 - 250.53
Ácido Cafeico	89.72 \pm 2.20	85.73 - 94.63
3-CQA	28482.84 \pm 1252.65	26250.39 - 31912.57
4-CQA	4302.02 \pm 277.13	3861.64 - 5044.66
5-CQA	3336.98 \pm 267.23	2744.60 - 4054.43
Trigonelina	9476.75 \pm 448.57	8653.24 - 10322.03
Cafeína	8389.49 \pm 521.23	7580.04 - 9482.43

Entre los compuestos fenólicos de destacan las altas concentraciones de 3-CQA (26250.39 - 31912.57 $\mu\text{g/g}$), 4-CQA (3861.64 – 5044.66 $\mu\text{g/g}$) y 5-CQA (2744.60 - 4054.43 $\mu\text{g/g}$).

Se obtuvieron resultados similares en De Luca et al., (2018) principalmente para el ácido 3CQA en donde se obtuvieron concentraciones entre 24.200 - 149.200 $\mu\text{g/g}$ y también para la cafeína concentraciones cuyos rangos fueron de 7760 - 44420 $\mu\text{g/g}$, para variedades de Arabica de diferentes orígenes geográficos. Lee et al., (2016) determinaron concentraciones de 22350 - 24310 $\mu\text{g/g}$ para el ácido 3-CQA cuantificaron, para el ácido cafeico obtuvieron cantidades mayores al presente estudio con rangos entre 170 – 190 $\mu\text{g/g}$ para muestras de café verde obtenidas en Sulawesi, Indonesia.

En Jeszka-Skowron et al., (2016) cuantificaron concentraciones más elevadas para los ácidos 4-CQA y 5-CQA con rangos entre 17720 - 23000 y 92670 - 123400

µg/g respectivamente. En lo que se refiere al ácido 3-CQA determinaron concentraciones de 12440 - 18310 µg/g que son menores al presente estudio. Craig et al., (2016) determinaron concentraciones más elevadas de ácidos clorogénicos cuyos rangos fueron 65700 – 87300, 111500 – 263600 y 70500 – 101900 µg/g para los ácidos 3-CQA, 5-CQA y 4-CQA respectivamente. También en Ribeiro et al., (2016) analizaron muestras de café recolectadas en diferentes períodos en plantaciones comerciales de Brasil obteniendo concentraciones de 4930 - 6440 µg/g para el ácido 3-CQA, 7020 - 8430 µg/g para el ácido 4-CQA y 57330 – 68740 µg/g para el ácido 5-CQA.

El procesamiento poscosecha da lugar a varios procesos metabólicos que ocurren en el interior de los granos de café, lo que va a alterar significativamente su composición química (Ribeiro et al., 2018). Además, factores ambientales y la variabilidad genética entre las especies del café también podría explicar la diferencia entre las concentraciones obtenidas para los ácidos clorogénicos en los diferentes estudios mencionados (Ribeiro et al., 2016; Avelino et al., 2005; Decazy et al., 2003). De acuerdo con Ribeiro et al., (2016) hacen falta más estudios que hablen también sobre la correlación entre estos factores y la química del grano.

3.4. Análisis de aminoácidos por HPLC

La Tabla 5 muestra la concentración de aminoácidos para las muestras de café verde. Se cuantificaron un total de 14 aminoácidos, de los cuales la prolina fue el más abundante (4931.48 - 8704.18 µg/g), seguido por el ácido glutámico (852.10 - 2377.78 µg/g) y ácido aspártico (274.22 - 1279.43 µg/g).

Tabla 5. Composición de aminoácidos en granos de café verde (µg/g)

Compuesto	Promedio ± DE	Min - Max
A. Aspártico	616.74 ± 166.08	274.22 - 1279.43
A. Glutámico	1463.39 ± 222.40	852.10 - 2377.78
Serina	197.40 ± 34.84	105.70 - 336.16
Histidina	58.70 ± 17.22	51.39 - 99.06
Glicina	913.98 ± 201.70	511.97 - 1233.38
Treonina	18.94 ± 8.61	15.39 - 43.01
Arginina	254.03 ± 65.36	162.81 - 433.78
Alanina	254.70 ± 46.12	140.84 - 406.96
Valina	64.42 ± 10.64	36.16 - 100.64
Fenilalanina	145.19 ± 33.90	87.26 - 251.68
Isoleucina	51.93 ± 8.93	28.72 - 79.90
Leucina	41.24 ± 8.71	23.43 - 60.63
Lisina	70.10 ± 42.08	74.79 - 113.01
Prolina	6879.15 ± 987.33	4931.48 - 8704.18

Wei & Tanokura, (2015) reportó 29 tipos de aminoácidos libres en extractos de granos de café verde y establecieron cantidades comparables con el presente estudio para el ácido aspártico, ácido glutámico, serina, glicina, valina, fenilalanina

y lisina. Por otro lado, las concentraciones de histidina, treonina y alanina fueron superiores; mientras que la arginina, isoleucina, leucina y prolina fueron inferiores a lo determinado en el presente estudio. Casal et al., (2003) obtuvieron concentraciones de 53.7 y 271.2 $\mu\text{g/g}$ para la glicina y la prolina cuyos valores fueron inferiores a los de esta investigación y en el caso de la leucina su concentración fue mayor. Por otro lado, Lee et al., (2017) emplearon muestras de café provenientes de la región de Toraja de Sulawesi, Indonesia. Obtuvieron como resultados concentraciones inferiores para el ácido glutámico, glicina y prolina con rangos de 550.1, 198.19 y 195.59 $\mu\text{g/g}$ y cantidades elevadas de 631.75 y 280.96 para la serina y la valina, respectivamente.

Kulapichitr et al., (2019) evaluaron diferentes métodos de secado de los granos de café obtenidos en Doi Chang, Tailandia. Las muestras sometidas al secado con bomba de calor presentaron niveles ligeramente más altos a la mayoría de los aminoácidos, remarcando que las temperaturas más altas utilizadas en el secado con bomba de calor y secado en bandeja tenían un efecto moderado sobre los aminoácidos, posiblemente porque solo se requería un tiempo de secado corto en comparación con el secado al sol. Por otro lado, se cuantificaron concentraciones de prolina en un rango de 5420 - 5610 $\mu\text{g/g}$ que son similares al presente estudio. Los demás aminoácidos fueron determinados a concentraciones muy superiores a las de esta investigación. Por otro lado, en Dong et al., (2015) estudiaron los contenidos de aminoácidos en siete cultivares diferentes de café de la variedad Robusta obtenido en la provincia de Hainan, China. Obtuvieron concentraciones similares también para la prolina con rangos entre 4600 - 5900 $\mu\text{g/g}$. Para los otros aminoácidos los valores determinados fueron más altos. El contenido tanto del ácido aspártico como del glutámico fueron similares en estos dos estudios mencionados con valores de 9400 - 13600 $\mu\text{g/g}$ y 18400 - 24800 $\mu\text{g/g}$, respectivamente. De forma general las concentraciones de aminoácidos son similares, aunque las variedades son diferentes Arábica y Robusta.

Dong et al. (2017) sugieren que la diferencia en la concentración de los compuestos presentes en el café puede atribuirse a diferentes factores tales como la variedad de café, el origen geográfico o los métodos analíticos utilizados. Esto puede ser reafirmado por lo descrito en el estudio de Wei et al., (2012) en donde emplearon metabolómica basada en ^{13}C NMR como una herramienta útil para distinguir las especies y los orígenes de muestras de granos de café verde de arábica y robusta de seis regiones geográficas diferentes. Utilizaron granos de café arábica de cuatro orígenes (Brasil, Colombia, Guatemala y Tanzania) y granos de café robusta de dos orígenes (Indonesia y Vietnam). Los niveles de los metabolitos identificados diferían entre las muestras de diferentes especies y de diferente origen.

3.5. Análisis de azúcares por espectroscopía infrarroja

Para la presente investigación se utilizó FTIR-ATR para determinar los azúcares. A pesar de los mínimos volúmenes usados en la extracción, los resultados obtenidos no fueron cuantificables por esta técnica.

Se ha reportado que la concentración de azúcares en *C. arabica* está en un rango de 6 – 9 g/100 g para la sacarosa (Arya & Rao, 2007; da Silva et al., 2005); mientras que para la fructosa y glucosa la concentración es inferior al 1 g/100 g (Knopp et al., 2005). En particular, se han reportado contenidos en granos de café verde (*C. arabica*) de 7.07, 0.23, and 0.39 g/100 g para la sacarosa, glucosa y fructosa, respectivamente, medidos por detección amperométrica pulsada por cromatografía de intercambio aniónico de alto rendimiento (HPAEC-PAD) (Knopp et al., 2005). En otro estudio, la sacarosa ha sido cuantificada por colorimetría en rangos similares (7.3 a 9.1 g/100 g) (Da Silva et al., 2005). En Constantino et al (2019) se cuantificaron los azúcares por HPLC aplicando diferentes métodos extractivos. La cantidad de muestra (300, 400 y 500 mg), el tiempo (30, 60 y 90 min) y la temperatura (30, 45 y 60 ° C) fueron los factores y niveles analizados. Los azúcares fueron extraídos con agua ultrapura a partir de muestras de café molido. Al utilizar un agitador de incubadora orbital se determinaron contenidos de 14.4, 0.40 y 0.80 g/100 g de sacarosa, glucosa y fructosa, respectivamente; mientras que siguiendo una extracción asistida por microondas se obtuvieron concentraciones de 15.7, 0.40 y 0.28 g/100 g para sacarosa, glucosa, y fructosa. Por otro lado, en Murkovic & Deler (2006) se reportan contenidos de 6.3 - 9 g/100 g de sacarosa, <LOQ (- 0.2 g/100 g) de fructosa y <LOQ (- 0.19 g/100 g) de glucosa.

Para la extracción de azúcares del café se empleó la metodología de Murkovic & Deler (2006) y se realizaron algunas modificaciones que incluía aumentar la cantidad de muestra molida de 100 a 500 mg en un volumen proporcional. Además, durante la ultrasonificación se cambió de temperatura ambiente a 60°C, y después de la centrifugación, se realizó una menor dilución del sobrenadante (2.5 veces menos). Esta metodología de extracción se eligió ya que se obtuvieron resultados favorables en otro estudio, pero analizado por HPLC (Constantino et al., 2020). Se esperaba que al emplear volúmenes mínimos para la extracción de los azúcares influyera positivamente en su cuantificación, ya que la concentración de los mismos estaría en niveles elevados facilitando así su detección por FTIR-ATR.

La espectroscopia FTIR ofrece una alternativa rápida y no destructiva a las técnicas de medición química para la determinación de compuestos en alimentos (Sivakesava & Irudayaraj, 2000). Una desventaja del FTIR en sistemas complejos como mezclas de azúcares donde los espectros de los componentes individuales son muy similares, no se puede usar la calibración simple de Beer-Lambert de las absorbancias máximas frente a la concentración porque los espectros de los componentes individuales se superponen, el efecto de superposición es tal que pueden ser necesarios enfoques más sofisticados (Chatjigakis et al., 1997; Sivakesava & Irudayaraj, 2000; Grassi et al., 2014).

Chatjigakis et al., (1997) determinaron los azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) presentes en jugos de frutas utilizaron el FTIR en combinación con el método de mínimos cuadrados parciales (PLS) cuyos resultados fueron superiores en comparación con los resultados obtenidos con el método clásico de mínimos cuadrados (CLS) o el método inverso de mínimos cuadrados (ILS). Sivakesava &

Irudayaraj, (2000) en su estudio realizaron la determinación de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa) de mezclas acuosas por FTIR y empleando adicionalmente regresión de componentes principales (PCR) y la regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS) para desarrollar modelos de calibración para la determinación del contenido de azúcar (% p/v) en alimentos líquidos. Obteniendo los mejores resultados con la regresión de PLS. Duarte et al., (2002) también utilizaron la regresión de PLS para cuantificar los azúcares presentes en el jugo de mango en función de la maduración, en donde la sacarosa y la fructosa se cuantificaron con precisión durante todo el proceso de maduración, mientras que la determinación de glucosa puede tener un error de predicción de hasta un 25% después del día 9 (cuando la fruta está lista para el consumo). Por su parte Grassi et al., (2014) evaluaron el desarrollo de azúcares y etanol en la fermentación de cerveza con FT-IR y modelos de resolución de curva multivariante-mínimos cuadrados alternos (MCR-ALS). Destacan a MCR-ALS como un método perfecto para obtener información cualitativa y cuantitativa útil de los espectros recopilados durante cualquier proceso y que es especialmente útil en sistemas complejos donde las especies en evolución están muy superpuestas o en presencia de interferencias que dificultan la elucidación perfecta de los analitos que se están transformando. Demostraron que el uso combinado de la espectroscopia FT-IR y la técnica MCR-ALS facilita el estudio de un complejo bioproceso de bebidas, como es la elaboración de cerveza.

3.6. Análisis de compuestos volátiles por GC-MS

El perfil de compuestos volátiles depende de una serie de factores como la especie y variedad del grano, el origen geográfico, las condiciones del suelo y almacenamiento de los granos, así como el tiempo y la temperatura del proceso de tostado, entre otros (Amanpour et al., 2015; Lee et al., 2017). Los compuestos volátiles identificados en los granos de café luego del tostado estandarizado se presentan en la Tabla 6. Se identificaron un total de 20 compuestos volátiles incluyendo piridinas, pirazinas, alcoholes, pirroles, ciclohexanos, aldehídos, furanos y cetonas, así como se ha reportado previamente (Petisca et al., 2013; Cheong et al., 2013). De estos, los compuestos heterocíclicos nitrogenados, como las piridinas, pirazinas y pirroles, son los responsables de las características de tostado en el café (Petisca et al., 2013). Cheong et al., (2013) determinaron compuestos volátiles azufrados en café tostado, los cuales mostraron tener impacto sobre el aroma de acuerdo a la evaluación sensorial realizada. Adicionalmente, reportaron que los furanos, pirazinas, piridinas, pirroles y furanonas son los principales contribuyentes en el aroma del café tostado. En el estudio de Amanpour & Selli (2015) se identificó la presencia de furanos, lactonas, pirazinas, piridinas, ácidos, ciclopentanos, pirroles furanonas, cetonas, tioles, alcoholes, aldehídos, entre otros, siendo los furanos y lactonas los que se encontraron en los niveles más elevados. Lee et al. (2017) evaluaron el efecto del proceso inverso de molienda y tostado del café sobre los perfiles de compuestos volátiles, identificando 50 compuestos en el café tostado con el método convencional y 39 empleando el método inverso de moler y tostar, destacando la presencia de ácidos, alcoholes, aldehídos, furanos, furfurales, indoles, cetonas, fenoles, pirazinas, piridinas y pirroles. En Laukaleja et al., (2019)

los principales compuestos volátiles fueron furanos, pirazinas, aldehídos y cetonas, atribuyéndose a los tres últimos una asociación con un agradable aroma y sabor en cafés de especialidad. Heo et al., 2020 identificaron un total de 36 compuestos volátiles, incluidos compuestos fenólicos como guayacol, pirazinas, piridinas y pirroles, resaltando que el método de extracción y la temperatura podrían influir en los perfiles de compuestos volátiles.

Tabla 6. Compuestos volátiles identificados en los granos de café tostado y tiempos de retención (tR)

tR	Compuesto	Grupo Funcional	Porcentaje \pm DE
1.679	Monóxido de carbono	Carbonilo	12.6 \pm 12.8
1.968	2,3-Pentanediona	Cetona	33.2 \pm 27.4
1.978	Butano	Cetona	5.3 \pm 6.7
2.262	Piridina	Piridina	0.9 \pm 0.4
2.586	Dihidro-2-metil 3(2H)-Furanona	Furanona	1.0 \pm 0.5
2.730	2-metil pirazina	Pirazina	4.0 \pm 2.2
2.754	Metilpirazina	Pirazina	17.7 \pm 11.8
2.775	2-Furancarboxaldehído	Furanona	0.5 \pm 0.3
2.934	2-Furanmetanol	Alcohol	2.3 \pm 0.9
2.999	2-Propanona, 1-(acetiloxi)	Cetona	5.1 \pm 2.9
3.519	1-(2-furanil)-etanona	Furano	4.1 \pm 1.9
3.541	2,6-Dimetil pirazina	Pirazina	3.0 \pm 3.1
3.578	2-Etilpirazina	Pirazina	1.1 \pm 1.0
4.150	5-metil 2-Furancarboxaldehído	Aldehído	4.5 \pm 1.6
4.502	2-Furanmetanol, acetato	Alcohol	2.5 \pm 0.9
4.630	2-Etil-6-metilpirazina	Pirazina	0.4 \pm 0.1
4.692	2-Etil-3-metilpirazina	Pirazina	1.3 \pm 0.5
5.198	1-metil-4-(1-metiletenil)-ciclohexano	Ciclohexano	0.2 \pm 0.1
5.869	2-Etil-3,5-dimetilpirazina	Pirazina	0.3 \pm 0.1
7.802	Pirrol N-furfurilo	Pirrol	0.2 \pm 0.1

3.7. Resultados de la catación

La calidad de la bebida, dada por sus atributos sensoriales, es la principal característica que diferencia al café de especialidad del café común (Ribeiro et al., 2018; De Souza et al., 2016). De acuerdo a la SCAA, para que un café sea considerado de especialidad debe tener un puntaje mayor o igual a 80 en el análisis sensorial (Santos et al., 2020). En la Tabla 7 se muestran los puntajes del análisis sensorial otorgados por los catadores para las muestras de café estudiadas por tipo de secado.

Tabla 7. Puntajes del análisis sensorial de las muestras de café por tipo de secado

Atributos	Método de Secado (Promedio \pm DE)			
	001	002	003	004
Fragancia/Aroma	8.04 \pm 0.17	7.96 \pm 0.17	8.00 \pm 0.20	8.04 \pm 0.17
Sabor	8.00 \pm 0.20	7.96 \pm 0.09	8.04 \pm 0.09	8.00 \pm 0.14
Posgusto	8.00 \pm 0.14	7.96 \pm 0.09	8.04 \pm 0.17	8.00 \pm 0.14
Acidez	7.86 \pm 0.13	7.96 \pm 0.17	7.96 \pm 0.17	8.04 \pm 0.22
Cuerpo	7.93 \pm 0.12	7.89 \pm 0.13	8.00 \pm 0.20	8.00 \pm 0.14
Balance	7.86 \pm 0.24	8.07 \pm 0.19	8.00 \pm 0.14	8.14 \pm 0.20
General	7.89 \pm 0.24	8.07 \pm 0.19	7.96 \pm 0.17	8.07 \pm 0.19
Puntaje Final	85.54 \pm 0.99	85.89 \pm 0.66	86.07 \pm 0.28	86.11 \pm 0.24

Desafortunadamente, no fue posible obtener los resultados de la catación segregados por tiempo de cosecha. Esto hubiese permitido establecer una relación entre la concentración de los compuestos químicos determinados en cada unidad experimental, el puntaje de cada uno de los atributos y el puntaje final del análisis sensorial.

3.8. Análisis exploratorio de datos

Inicialmente, se realizó un pre-procesamiento de los datos de composición de polifenoles, ácidos orgánicos, aminoácidos y compuestos aromáticos. Para los compuestos aromáticos, no se obtuvieron datos experimentales de algunas de las réplicas de los métodos de secado 002, 003, 004, mientras que para el método de secado 001 no se obtuvieron datos de ninguna de las réplicas. Considerando el diseño experimental utilizado, fue posible realizar una imputación de los datos previo al análisis de componentes principales.

Luego de la imputación de datos, se realizaron los procesos de escalado o normalización, que permitieron organizar los datos, minimizar la redundancia (datos duplicados), garantizar el almacenamiento de datos lógicos y eliminar una serie de anomalías que pueden complicar el análisis de los datos. Al realizar la normalización se cambió la escala de los datos del rango original para que todos los valores estén dentro del nuevo rango de 0 y 1. Los análisis subsecuentes se trabajaron con los valores de todas las repeticiones.

3.9. Correlación entre los tipos de secado y tiempo de cosecha sobre la composición química de los granos de café

Con la finalidad de comprobar si las variables tipo de secado y tiempo de cosecha influían sobre la concentración de los compuestos del café, primero se realizaron regresiones lineales simples por Mínimos Cuadrados Ordinarios para cada compuesto. Los compuestos significativos en los modelos de regresión lineal fueron un polifenol (apigenina), cinco aminoácidos (arginina, alanina, valina, isoleucina y leucina) y 10 aromáticos (2,3-pentanediona, monóxido de carbono, butano, dihidro-2-metil 3(2H)-furanona, 2-metil pirazina, 2-furancarboxaldehído, 2,6-dimetil pirazina, 2-etilpirazina, 2-etil-6-metilpirazina y 2-etil-3-metilpirazina). Con estos compuestos

significativos se realizó un PCA y se definieron tres componentes principales que explicaban el 73% de la variación de los datos en función del tiempo de cosecha. Los dos primeros componentes principales representaron el 39% y el 24 % de la varianza total. En la Figura 1 se puede observar cómo estas 16 variables obtenidas en los modelos de regresión lineal se están asociando en tres grandes grupos, sin definir cuáles son las variables agrupadas. Estos componentes principales podrían servir como variables predictoras que podrían ayudar a clasificar, mediante una regresión, los resultados de la catación.

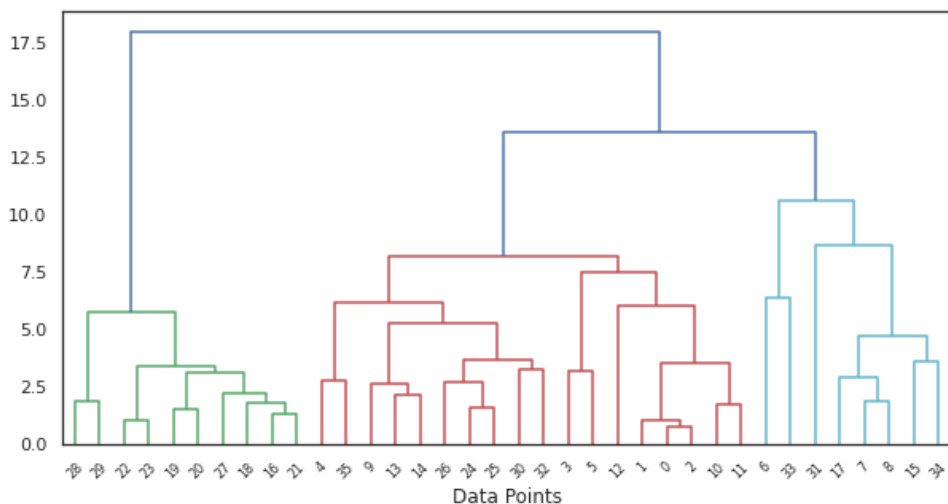


Figura 1. Dendrograma del conjunto de datos obtenidos de las regresiones lineales.

En otros estudios se ha evaluado la relación entre las concentraciones de biocompuestos en el café y las condiciones de secado. En Dong et al. (2017) se evaluaron cinco métodos de secado y, mediante PCA, se determinó que tanto las muestras secadas con aire caliente y las muestras secadas en frío se ubicaron en la dirección positiva de PC1. Por el contrario, las muestras tratadas con los métodos de secado con bomba de calor, secado solar y secado a temperatura ambiente estaban próximas entre sí y en la dirección PC1 negativa, lo que indica que los diferentes métodos de secado sí influyen sobre el contenido de compuestos químicos del café. En Kulapichitr et al. (2019) se estudiaron tres tipos de secado y, mediante PCA, se determinó una diferencia entre las muestras de café secadas al sol y las muestras secadas con bomba de calor y secado en bandeja, evidenciando una estrecha relación entre estos dos últimos pues comparten el mismo perfil y contenido de compuestos.

3.10. Correlación entre los compuestos aromáticos y los precursores responsables del aroma del café

Las variables fueron normalizadas empleando la metodología de Escalado Mínimo-Máximo y se elaboró un mapa de calor y dendrograma sobre la variación de la composición los granos de café según el tipo de secado y el tiempo de cosecha, utilizando la distancia euclidiana como medida de similitud (Figura 2). Se distinguieron claramente dos agrupaciones, una para los aminoácidos y otra para

los compuestos aromáticos, con independencia del butano y monóxido de carbono. Al considerar los periodos en los que se forman ciertos biocompuestos, los metabolitos primarios como los aminoácidos se forman en los primeros estadios del fruto, lo que podría asociarse con periodo de la cosecha; mientras que los metabolitos secundarios como polifenoles y ácidos orgánicos presentan su máximo desarrollo en su periodo de maduración después de la cosecha. Las agrupaciones observadas confirman que aquellos metabolitos que están relacionados con el periodo de maduración y secado no son significativos en el modelo del PCA, y que el tipo de secado no tiene influencia sobre la composición química del café. En relación a los compuestos aromáticos, estos se forman después del proceso de secado; sin embargo, estos son resultado de la reacción de Maillard en donde van a depender principalmente de los precursores como son aminoácidos y carbohidratos. Con estos resultados se corrobora el hecho que el tiempo de cosecha es la variable que tiene mayor influencia sobre los datos analizados.

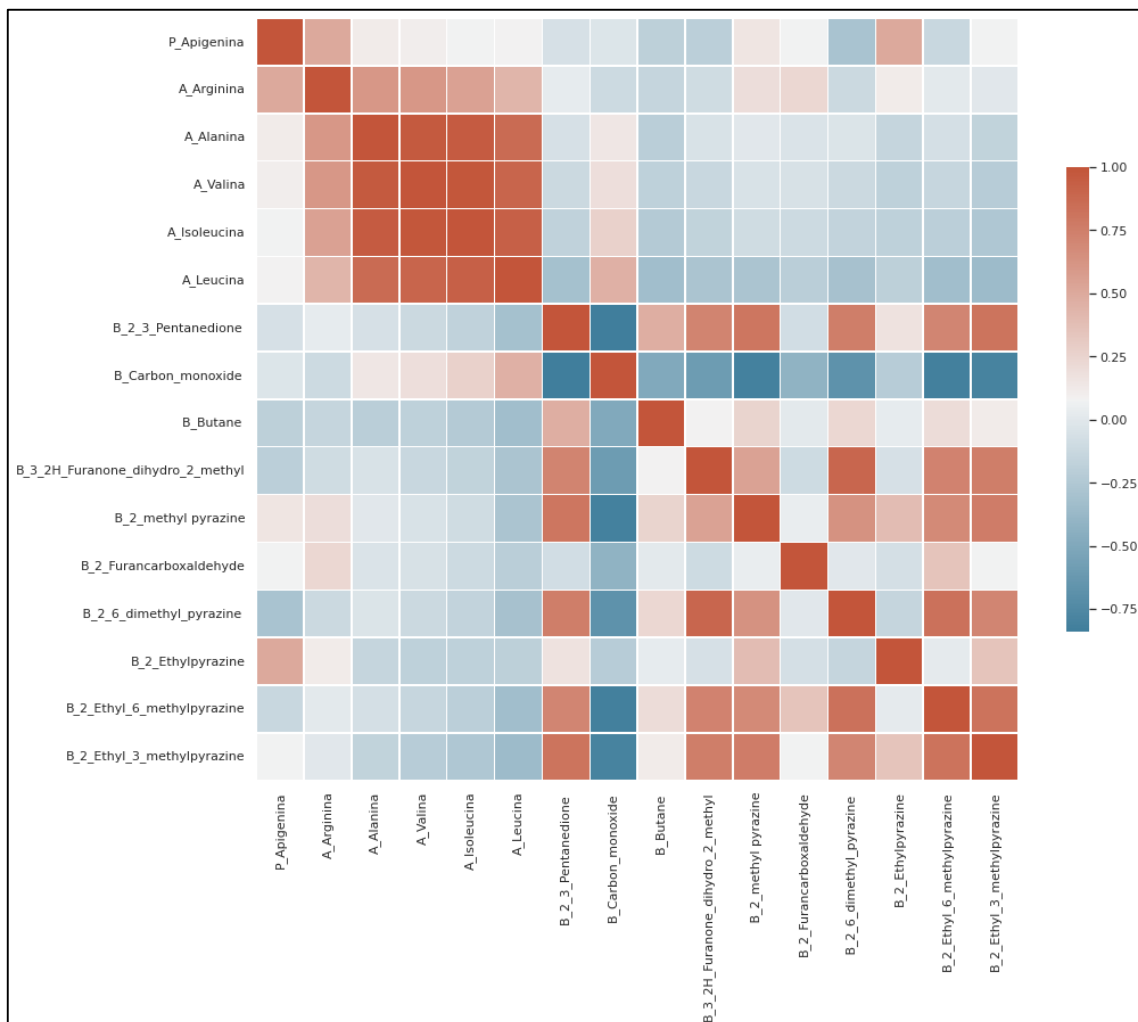


Figura 2. Mapa de calor del conjunto de datos obtenidos de las regresiones lineales para muestras de café sometidas a diferentes métodos de secado y con distintos tiempos de cosecha.

El aroma es un atributo importante que define la calidad y el nivel de aceptación del café por parte del consumidor (Lee et al., 2015). La composición química del grano de café verde juega un papel primordial en la formación del aroma durante el proceso de tostado (Fisk et al., 2012). Entre los principales precursores del aroma tenemos azúcares, proteínas, aminoácidos libres, trigonelina y ácidos clorogénicos (Poisson et al., 2017). El proceso de tostado del café ocurre principalmente través de una serie compleja de reacciones de Maillard, caramelización, entre otras reacciones térmicas que ocurren a temperaturas generalmente superiores a los 200 °C (Lee et al., 2015). La degradación térmica de polisacáridos y azúcares simples permitirá, controlar la generación de aromas y el sabor final del café (Wong et al., 2008), además De Melo Pereira et al., (2019) mencionan que los cafés de proceso húmedo presentan mayor acidez y más aroma que los cafés de proceso seco, hecho que se puede atribuir a las diferentes actividades metabólicas del azúcar y los aminoácidos libres. Los ácidos clorogénicos también se hidrolizan fácilmente, dando derivados del ácido hidroxicinámico. La trigonelina es un alcaloide presente en los granos de café verde que también se degrada en gran medida, lo que produce importantes odorantes del café, como piridinas y pirroles (Liu et al., 2019). Por otro lado, diferentes factores tales como los ambientales, la variedad del café, orígenes geográficos o tratamientos postcosecha, pueden dar lugar a diferentes aromas, incluso cuando se tuestan en condiciones idénticas (Caporaso et al., 2022; Martinez et al., 2019).

3.11. Correlación entre la catación y el tipo de secado

Para determinar si existen una correlación entre el tipo de secado y los resultados de catación finales se empleó el análisis denominado Random Forest, en el cuál se realizó una clasificación de los puntajes obtenido de la cata para determinar su asociación con el tipo de secado, de tal manera que los resultados de la cata puedan predecir el tipo de secado al que fue sometido. Al evaluar todos los descriptores de la cata, se determinó que el balance y el valor general fueron las variables de mayor peso dentro de la catación.

En la Figura 3 se puede observar los resultados obtenidos para el tipo de secado 001 o de flujo de aire mínimo, en el que los descriptores más representativos fueron el balance, el sabor y el puntaje final. El tipo de secado 001 se caracterizó por un valor bajo de balance y un valor alto atribuido al sabor. En la Figura 4 se definió al tipo de secado 002 o de flujo de aire medio, en el que el balance, el valor general y el cuerpo fueron los descriptores con mayor peso. Este tipo de secado se definió con un resultado de cata con valores altos de balance y general, y valores bajos de cuerpo.

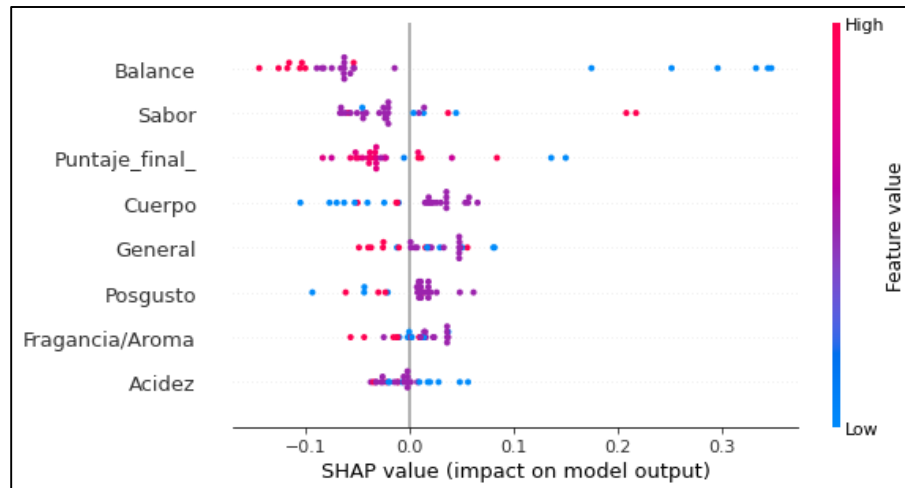


Figura 3. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 001

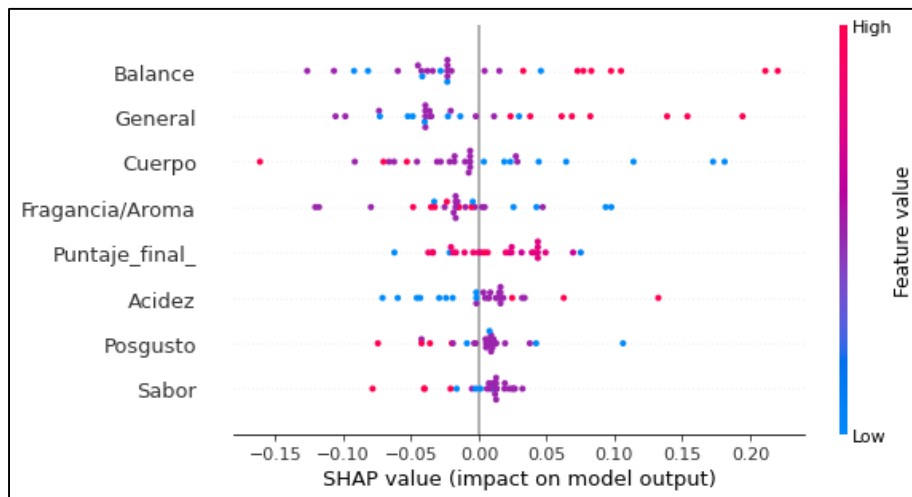


Figura 4. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 002

Para el tipo de secado 003 o flujo de aire nulo, nuevamente el balance, el valor general y el cuerpo fueron los descriptores de mayor relevancia, sin definir ninguna tendencia ya que los valores medios y bajos estaban mezclados, como se observa en la Figura 5. Solo para el aroma se definen valores altos con respecto al secado 003. Para el tipo de secado 004 o flujo de aire máximo, se observó algo similar que para el secado 003, es decir, descriptores de catación sin una tendencia clara de sus valores (Figura 6). Para este tipo de secado solamente se distinguieron los descriptores más representativos fueron el cuerpo, el balance y el valor general, con valores relativamente medios.

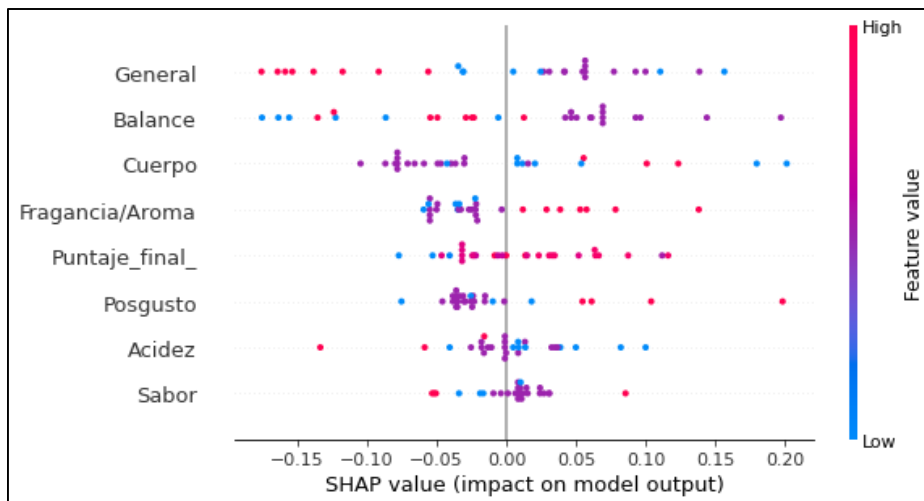


Figura 5. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 003

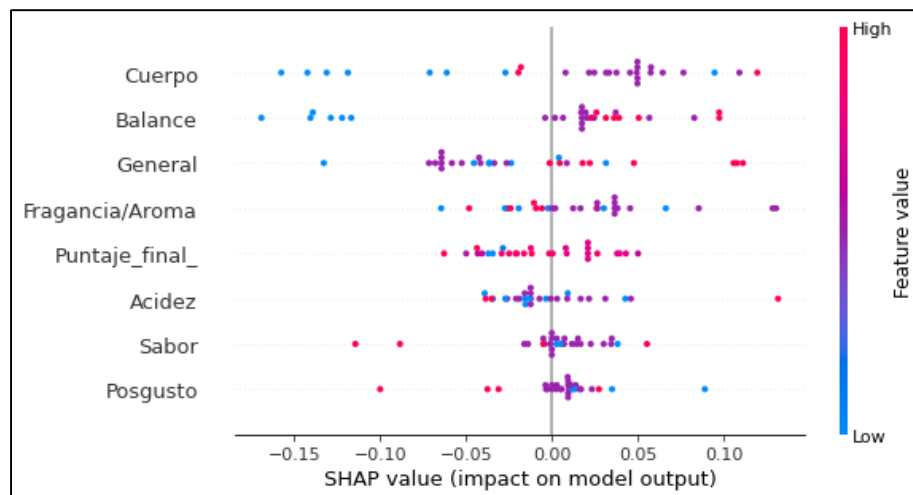


Figura 6. Parámetros de cata con mayor influencia dentro del método de secado 004

Estos resultados permiten asociar los tipos de secado 001 y 002 con la cata final. Por otro lado, al parecer las condiciones de los métodos de secado con flujo de aire nulo (003) y máximo (004) permiten una serie de procesos que podrían desencadenar en la formación de diversos compuestos que confunden los resultados de las características de la cata final.

Cabe indicar que este modelo predictivo funciona solamente para el rango de catación entre 8 y 9.5, por lo que únicamente si el café es catado dentro de este rango se podría aplicar esta descripción de cada uno de los tipos de secado. A pesar de que la calificación de la cata debería ser continua, los resultados no se comportaban de esta manera sino de manera categórica. Esto, sumado al hecho de que el rango de los resultados de catación fue muy estrecho, no permitió realizar otro tipo de correlaciones que sean más sensibles.

Estudios anteriores evalúan la relación del análisis sensorial del café con el tipo de procesamiento al que haya sido sometido, así en Pinto et al., (2013) establecieron que para los atributos sensoriales evaluados en su estudio (claridad de bebida, dulzura, acidez, cuerpo, sabor, postgusto, balance, valor general y puntuación final) existe una diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el lavado superior a los cafés naturales con puntuaciones finales de entre 78.12 - 75.65 y 82.93 – 82.95 respectivamente, con excepción de la dulzura. Por su parte Rodriguez et al., (2020) determinaron que el método de procesamiento poscosecha del café no afectó el puntaje total en taza, obteniendo un valor medio para el método de procesamiento semiseco de $85,938 \pm 0,569$, mientras que para el procesamiento húmedo fue $84,125 \pm 0,415$. Además, ninguno de los atributos analizados individualmente para la cata final presentó diferencia significativa ($p > 0.05$), sin embargo, notaron una ligera diferencia para los atributos de fragancia/aroma, posgusto, acidez y cuerpo que en promedio para el procesamiento húmedo fueron superiores a las muestras procesadas con el método semiseco. También observaron que los parámetros de uniformidad, equilibrio, taza limpia y dulzura incrementaron la calificación general. Ribeiro et al., (2016) obtuvieron resultados contrarios a los estudios mencionados anteriormente, en donde los valores promedio más altos del puntaje final de la bebida de café se encontraron en el café procesado por el método seco con valor de 85.57, mientras que por el método húmedo se obtuvo 84.61 determinándose que si existió una diferencia significativa entre estos.

4. Conclusiones

En este estudio se evaluó la influencia de los diferentes procesos de secado y los tiempos de cosecha en la calidad del café de especialidad en grano verde, mediante la caracterización de los compuestos responsables del aroma, y su relación con la cata del producto del café preparado. Se evaluaron cuatro métodos de secado y tres tiempos de cosecha para un total de 36 muestras de café en grano. Se optimizaron las técnicas de extracción y análisis de compuestos químicos del café. Las concentraciones de los polifenoles, aminoácidos y compuestos aromáticos fueron cuantificados y difirieron de lo reportado en la literatura, atribuyéndose a una serie de factores como el origen geográfico, factores ambientales, prácticas agrícolas, especie y variedad del grano, tratamientos poscosecha, tipo de tostado, entre otros. Por otro lado, las técnicas de análisis de ácidos orgánicos y azúcares no fueron lo suficientemente sensibles por lo que se sugiere emplear técnicas alternativas para la cuantificación de estos compuestos. Para la cuantificación de azúcares si bien se usaron volúmenes mínimos para la extracción de los mismos en las muestras de café para que su detección fuera óptima, la aplicación de FTIR-ATR no dio buenos resultados mediante la aplicación de la Ley de Beer, atribuido al posible solapamiento de las bandas espectrales de los diferentes azúcares por la similitud de sus estructuras químicas. También se debe considerar que, en concentraciones altas, la proximidad entre las moléculas de una solución es tan cercana que hay desviaciones en la absorptividad. Se sugiere emplear métodos analíticos alternativos como método de mínimos cuadrados parciales (PLS) o regresión de componentes principales (PCR), entre otros.

Los resultados de la catación no fueron distinguidos por el tiempo de cosecha por lo que no fue posible establecer una relación entre la composición química del aroma del café con la valoración de cata de la infusión final. La cata según el tipo de secado permitió establecer un modelo predictivo, particularmente para los tipos de secado de flujo de aire mínimo y medio, siempre que los valores de cata se encuentren dentro de un rango 8-9.5. Considerando que las puntuaciones de catación para el café de especialidad deben ser altas, se sugiere crear una nueva escala de catación a nivel interno para obtener un mayor rango de catación y la variabilidad de cada una de las características de catación, lo que permitiría evaluar con mayor sensibilidad la correlación con variables del proceso e incluso con la composición química del café.

Se estableció una ligera diferencia en el contenido de los compuestos químicos del café en relación al tiempo de cosecha, pero estas diferencias no fueron significativas. El tipo de secado tampoco influyó significativamente en la concentración de los biocompuestos determinados en el café de especialidad. Por lo tanto, tanto el tiempo de cosecha como el tipo de secado no pueden ser consideradas como variables de escala predictora que ayude a explicar las diferencias sensoriales del café de especialidad obtenido bajo diferentes condiciones. Se sugiere analizar todo el proceso de producción del café de especialidad para definir otras variables que expliquen de una forma adecuada esas diferencias de composición para los compuestos químicos del café.

5. Referencias

- Amanpour, A., & Selli, S. (2016). Differentiation of Volatile Profiles and Odor Activity Values of Turkish Coffee and French Press Coffee: Turkish Coffee and French Press Coffee Volatiles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(5), 1116–1124. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12692>
- Andrade Santacruz, A. L. (2017). *Análisis y perspectivas de las empresas ecuatorianas exportadoras de productos industrializados de café, periodo 2009-2015* [Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. <http://repositorio.puce.edu.ec:80/xmlui/handle/22000/14147>
- Anthony, J. (2014, April 11). *Top 10 Most Expensive Coffee In The World: Luwak Coffee Is Not The No. 1*. Financesonline.Com. <https://financesonline.com/top-10-most-expensive-coffee-in-the-world-luwak-coffee-is-not-the-no-1/>
- Arruda, N. P., Hovell, A. M. C., Rezende, C. M., Freitas, S. P., Couri, S., & Bizzo, H. R. (2012). Correlação entre precursores e voláteis em café arábica brasileiro processado pelas vias seca, semiúmida e úmida e discriminação através da análise por componentes principais. *Química Nova*, 35, 2044–2051. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001000026>
- Arya, M., & Rao, L. J. M. (2007). An impression of coffee carbohydrates. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(1), 51–67. <https://doi.org/10.1080/10408390600550315>

- Atlabachew, M., Abebe, A., Alemneh Wubieneh, T., & Tefera Habtemariam, Y. (2021). Rapid and simultaneous determination of trigonelline, caffeine, and chlorogenic acid in green coffee bean extract. *Food Science & Nutrition*, 9(9), 5028–5035. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2456>
- Avallone, S., Brillouet, J., Guyot, B., Olguin, E., & Guiraud, J. (2002). Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 191–198. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00556.x>
- BCE. (2021). *La economía ecuatoriana inicia la recuperación económica con una expansión del 2,8% en 2021*. <https://www.bce.fin.ec/index.php/boletines-de-prensa-archivo/item/1431-la-economia-ecuatoriana-inicia-la-recuperacion-economica-con-una-expansion-del-2-8-en-2021>
- Borém, F. M., Figueiredo, L. P., Ribeiro, F. C., Taveira, J. H. S., Giomo, G. S., & Salva, T. J. G. (2016). The relationship between organic acids, sucrose and the quality of specialty coffees. *African Journal of Agricultural Research*, 11(8), 709–717. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10569>
- Borrella, I., Mataix, C., & Carrasco Gallego, R. (2015). Smallholder Farmers in the Speciality Coffee Industry: Opportunities, Constraints and the Businesses that are Making it Possible. *IDS Bulletin*, 46(3). <https://doi.org/10.1111/1759-5436.12142>
- Bressanello, D., Liberto, E., Cordero, C., Rubiolo, P., Pellegrino, G., Ruosi, M. R., & Bicchi, C. (2017). Coffee aroma: Chemometric comparison of the chemical information provided by three different samplings combined with GC-MS to describe the sensory properties in cup. *Food Chemistry*, 214, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.088>
- Bruce, A., Agudelo, L. A., Navarro, J. F., Ruiz, J. F., Molina, J., Aguilera, G., Klein, A., & Quiñones, M. L. (2009). Relationship between coffee cultivation practices in Colombia and exposure to infection with Leishmania. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(12), 1263–1268. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2009.04.018>
- Caporaso, N., Whitworth, M. B., & Fisk, I. D. (2022). Prediction of coffee aroma from single roasted coffee beans by hyperspectral imaging. *Food Chemistry*, 371, 131159. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131159>
- Casal, S., Alves, M. R., Mendes, E., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, M. A. (2003). Discrimination between Arabica and Robusta Coffee Species on the Basis of Their Amino Acid Enantiomers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6495–6501. <https://doi.org/10.1021/jf034354w>
- Castellano, N. (2020, November 24). A Complete Guide To Coffee Drying. *Perfect Daily Grind*. <https://perfectdailygrind.com/2020/11/a-guide-to-coffee-drying/>
- 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>
- Chu, Y.-F. (2012). *Coffee: Emerging Health Effects and Disease Prevention*. John Wiley & Sons.

- Cid, M. C., & de Peña, M.-P. (2016). Coffee: Analysis and Composition. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 225–231). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00185-9>
- Constantino, L. V., Zeffa, D. M., Koltun, A., Urbano, M. R., Santos, A. W., & Nixdorf, S. L. (2020). Extraction of soluble sugars from green coffee beans using hot water and quantification by a chromatographic method without an organic solvent. *Acta Chromatographica*, 32(4), 242–246. <https://doi.org/10.1556/1326.2020.00704>
- Craig, A. P., Fields, C., Liang, N., Kitts, D., & Erickson, A. (2016). Performance review of a fast HPLC-UV method for the quantification of chlorogenic acids in green coffee bean extracts. *Talanta*, 154, 481–485. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.101>
- Dávila, J. C. (2018). *Influencia de parámetros de tostado de café especial sobre el puntaje de taza obtenido mediante un panel de jueces certificados* [Universidad Nacional Agraria La Molina]. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/3401/davila-romero-juan-carlos.pdf?sequence=1>
- De Luca, S., Ciotoli, E., Biancolillo, A., Bucci, R., Magrì, A. D., & Marini, F. (2018). Simultaneous quantification of caffeine and chlorogenic acid in coffee green beans and varietal classification of the samples by HPLC-DAD coupled with chemometrics. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(29), 28748–28759. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1379-6>
- Demissie, E. G., Woyessa, G. W., & Abebe, A. (2016). *Uv/Vis spectrometer determination of caffeine in green coffee beans from Hararghe, Ethiopia, using beer-lambert's law and integrated absorption coefficient techniques*. 16.
- Dong, W., Hu, R., Chu, Z., Zhao, J., & Tan, L. (2017). Effect of different drying techniques on bioactive components, fatty acid composition, and volatile profile of robusta coffee beans. *Food Chemistry*, 234, 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.156>
- Dong, W., Tan, L., Zhao, J., Hu, R., & Lu, M. (2015). Characterization of Fatty Acid, Amino Acid and Volatile Compound Compositions and Bioactive Components of Seven Coffee (*Coffea robusta*) Cultivars Grown in Hainan Province, China. *Molecules*, 20(9), 16687–16708. <https://doi.org/10.3390/molecules200916687>
- Eggleston, G., & Côté, G. (2003). Oligosaccharides in Food and Agriculture. In *Oligosaccharides in Food and Agriculture* (Vol. 849, pp. 1–14). <https://doi.org/10.1021/bk-2003-0849.ch001>
- Evangelista, S. R., Silva, C. F., Miguel, M. G. P. da C., Cordeiro, C. de S., Pinheiro, A. C. M., Duarte, W. F., & Schwan, R. F. (2014). Improvement of coffee beverage quality by using selected yeasts strains during the fermentation in dry process. *Food Research International*, 61, 183–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.11.033>
- FAO, & ICO. (2006). *Fermentation of Coffee—Control of Operation. En Good hygiene practices along the coffee chain*. Good hygiene practices along the

- coffee chain. https://www.ico.org/projects/Good-Hygiene-Practices/cnt/cnt_en/sec_3/docs_3.3/fermentation.pdf
- Farah, A., & Marino Donangelo, C. (2006). Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18, 23–36. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202006000100003>
- Fisk, I. D., Kettle, A., Hofmeister, S., Virdie, A., & Kenny, J. S. (2012). Discrimination of roast and ground coffee aroma. *Flavour*, 1(1), 14. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-1-14>
- Garg, S. (2016). *Green Coffee Bean* (pp. 653–667). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00047-4>
- Ginz, M., Balzer, H. H., Bradbury, A. G. W., & Maier, H. G. (2000). Formation of aliphatic acids by carbohydrate degradation during roasting of coffee. *European Food Research and Technology*, 211(6), 404–410. <https://doi.org/10.1007/s002170000215>
- Gómez-Ruiz, J. A., Leake, D. S., & Ames, J. M. (2007). In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(17), 6962–6969. <https://doi.org/10.1021/jf0710985>
- González Sánchez, H., Gonzales Palomares, S., & Rosales Reyes, T. (2011). Café (*Coffea arabica* L.): Compuestos volátiles relacionados con el aroma y el sabor. *Unacar Tecnociencia*, 5(2), 35–45.
- Gonzalez-Rios, O., Suarez- Quiroz, M., Renaud, B., Barel, M., Guyot, B., Guiraud, J.-P., & Schorr-Galindo, S. (2007). Impact of “ecological” post-harvest processing on coffee aroma: II. Roasted coffee. *Journal of Food Composition and Analysis - J FOOD COMPOS ANAL*, 20, 297–307. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.12.004>
- Grembecka, M., Malinowska, E., & Szefer, P. (2007). Differentiation of market coffee and its infusions in view of their mineral composition. *The Science of the Total Environment*, 383(1–3), 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.04.031>
- Gutiérrez-Guzmán, N., Cortés-Cabezas, A., & Chambers IV, E. (2018). A novel tasting platform for sensory analysis of specialty coffee. *Coffee Science - ISSN 1984-3909*, 13(3), 401–409.
- Henderson, J. W., Ricker, R. D., Bidlingmeyer, B. A., & Woodward, C. (2000). Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino acids. Amino acid analysis using Zorbax Eclipse-AAA columns and the Agilent, 1100. *Agilent Technologies*, 1–10.
- Heo, J., Adhikari, K., Choi, K. S., & Lee, J. (2020). Analysis of Caffeine, Chlorogenic Acid, Trigonelline, and Volatile Compounds in Cold Brew Coffee Using High-Performance Liquid Chromatography and Solid-Phase Microextraction—Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Foods*, 9(12), 1746. <https://doi.org/10.3390/foods9121746>
- Jackels, S. C., & Jackels, C. F. (2005). Characterization of the Coffee Mucilage Fermentation Process Using Chemical Indicators: A Field Study in Nicaragua. *Journal of Food Science*, 70(5), C321–C325. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09960.x>

- Jackels, S. C., Jackels, C., Vallejos, C., Kleven, S., Rivas, R., & Fraser-Dauphinee, S. (2007). Control of the coffee fermentation process and quality of resulting roasted coffee: Studies in the field laboratory and on small farms in Nicaragua during the 2005-06 harvest. *In COLLOQUE Scientifique internationale sur le café*, 1–9.
- Jeszka, M., Zgoła, A., & Grzeskowiak, T. (2014). Analytical methods applied for the characterization and the determination of bioactive compounds in coffee. *Eur Food Res Technol*, 240(1). <https://cyberleninka.org/article/n/286181>
- Jeszka-Skowron, M., Sentkowska, A., Pyrzyńska, K., & De Peña, M. P. (2016). Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: Influence of green coffee bean preparation. *European Food Research and Technology*, 242(8), 1403–1409. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2643-y>
- Jham, G. N., Fernandes, S. A., Garcia, C. F., & Silva, A. A. da. (2002). Comparison of GC and HPLC for the quantification of organic acids in coffee. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 99–104. <https://doi.org/10.1002/pca.629>
- Kerkaert, B., Mestdagh, F., Cucu, T., Aedo, P. R., Ling, S. Y., & De Meulenaer, B. (2011). Hypochlorous and peracetic acid induced oxidation of dairy proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(3), 907–914. <https://doi.org/10.1021/jf1037807>
- Kulapichitr, F., Borompichaichartkul, C., Suppavorasatit, I., & Cadwallader, K. R. (2019). Impact of drying process on chemical composition and key aroma components of Arabica coffee. *Food Chemistry*, 291, 49–58. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.152>
- Laukaleja, I., & Kruma, Z. (2019). *Phenolic and volatile compound composition influence to specialty coffee cup quality* [PDF]. 441.8Kb. <https://doi.org/10.15159/AR.19.074>
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., & Liu, S. Q. (2015). Coffee fermentation and flavor—An intricate and delicate relationship. *Food Chemistry*, 185, 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.124>
- Lee, L. W., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., & Liu, S. Q. (2016). Modulation of coffee aroma via the fermentation of green coffee beans with *Rhizopus oligosporus*: I. Green coffee. *Food Chemistry*, 211, 916–924. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.076>
- Lee, L. W., Tay, G. Y., Cheong, M. W., Curran, P., Yu, B., & Liu, S. Q. (2017). Modulation of the volatile and non-volatile profiles of coffee fermented with *Yarrowia lipolytica*: I. Green coffee. *LWT*, 77, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.047>
- Limam, I., Medimagh, R., & Hellal, F. (2016). Determination of Amino Acids in Tunisian Animal Feedstuffs by HPLC-FLD. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 11(4), 211–224.
- Liu, C., Yang, N., Yang, Q., Ayed, C., Linforth, R., & Fisk, I. D. (2019). Enhancing Robusta coffee aroma by modifying flavour precursors in the green coffee bean. *Food Chemistry*, 281, 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.080>

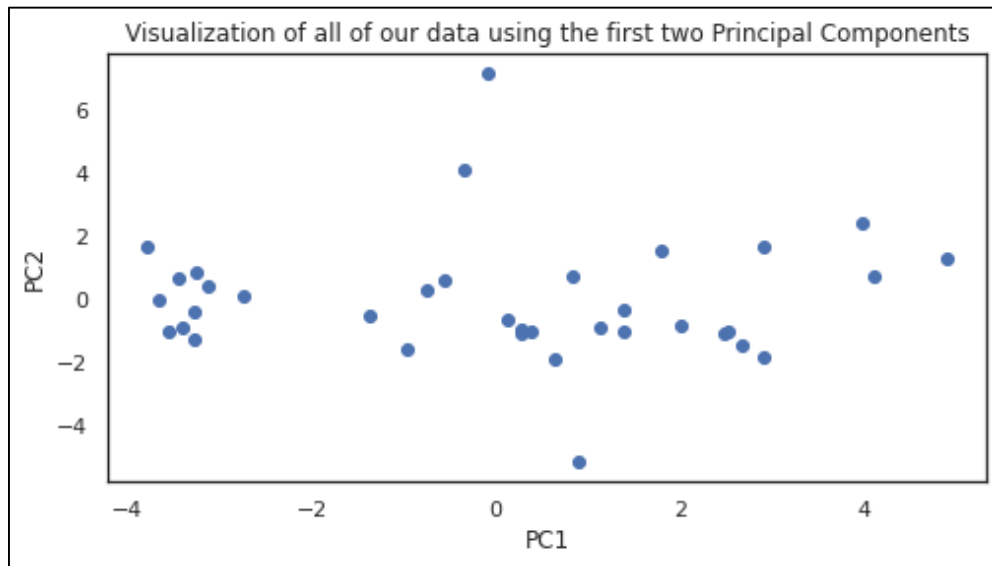
- Macheiner, L., Schmidt, A., Schreiner, M., & Mayer, H. K. (2019). Green coffee infusion as a source of caffeine and chlorogenic acid. *Journal of Food Composition and Analysis*, *84*, 103307. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103307>
- Martinez, S. J., Bressani, A. P. P., Dias, D. R., Simão, J. B. P., & Schwan, R. F. (2019). Effect of Bacterial and Yeast Starters on the Formation of Volatile and Organic Acid Compounds in Coffee Beans and Selection of Flavors Markers Precursors During Wet Fermentation. *Frontiers in Microbiology*, *10*. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.01287>
- Mehari, B., Redi-Abshiro, M., Chandravanshi, B. S., Atlabachew, M., Combrinck, S., & McCrindle, R. (2016). Simultaneous Determination of Alkaloids in Green Coffee Beans from Ethiopia: Chemometric Evaluation of Geographical Origin. *Food Analytical Methods*, *9*(6), 1627–1637. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0340-2>
- Murkovic, M., & Derler, K. (2006). Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, *69*(1–2), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2006.02.001>
- Mussatto, S., Machado, E., Martins, S., & Teixeira, J. (2011). Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food and Bioprocess Technology*, *4*, 661–672. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0565-z>
- Olmos, L. C., Duque, E. A., & Rodriguez, E. (2017). State of the art of coffee drying technologies in Colombia and their global development. *Revista ESPACIOS*, *38*(29). <https://www.revistaespacios.com/a17v38n29/17382927.html>
- Peñuela-Martínez, A. E., Zapata-Zapata, A. D., & Durango-Restrepo, D. L. (2018). Performance of different fermentation methods and the effect on coffee quality (*Coffea arabica* L.). *Coffee Science - ISSN 1984-3909*, *13*(4), 465–476.
- Pereira, V., Câmara, J. S., Cacho, J., & Marques, J. C. (2010). HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. *Journal of Separation Science*, *33*(9), 1204–1215. <https://doi.org/10.1002/jssc.200900784>
- 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 Bioprocess Technology*, *91*(3), 233–241. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2012.10.003>
- Pinto, G., Silva, Q., Ribeiro, M., & De Souza, S. (2013). Quality of coffee produced in the Southwest region of Bahia, Brazil subjected to different forms of processing and drying. *African Journal of Agricultural Research*, *8*(20), 2334–2339. <https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7038>
- Poisson, L., Blank, I., Dunkel, A., & Hofmann, T. (2017). Chapter 12—The Chemistry of Roasting—Decoding Flavor Formation. In B. Folmer (Ed.), *The Craft and Science of Coffee* (pp. 273–309). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803520-7.00012-8>

- Puerta, G., & Echeverry, J. (2015). *Fermentación controlada del café: Tecnología para agregar valor a la calidad*. FNC - Cenicafé. <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/558/1/avt0454.pdf>
- Ribeiro, D. E., Borém, F. M., & Nunes, C. A. (2018). Sensory quality discrimination of *Coffea arabica*. *Coffee Science*, 13(2), 11.
- Ribeiro, D. E., Borém, F. M., Nunes, C. A., Alves, A. P. de C., Santos, C. M. dos, Taveira, J. H. da S., & Dias, L. L. de C. (2018). Profile of organic acids and bioactive compounds in the sensory quality discrimination of arabica coffee. *Coffee Science - ISSN 1984-3909*, 13(2), 187–197.
- Ribeiro, D. E., Meira Borém, F., Cirillo, M., Bernardes, M. V., Ferraz, V., Ramos Alves, H., & da Silva Traviera, J. H. (2016). Interaction of genotype, environment and processing in the chemical composition expression and sensorial quality of Arabica coffee. *African Journal of Agricultural Research*, 11, 2412–2422. <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10832>
- Rodrigues, N., & Bragagnolo, N. (2013). Identification and quantification of bioactive compounds in coffee brews by HPLC-DAD-MS. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32, 105–115. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.09.002>
- Rodríguez, N., Sanz, J., Oliveros, C., & Ramírez, C. (2015). *Beneficio del café en Colombia: Prácticas y estrategias para el ahorro, uso eficiente y el control de la contaminación hídrica en el proceso de beneficio húmedo del café*. FNC - Cenicafé. <https://www.cenicafe.org/es/publications/Beneficio-del-cafe-en-Colombia.pdf>
- Rodriguez, Y. F. B., Guzman, N. G., & Hernandez, J. G. (2020). Effect of the postharvest processing method on the biochemical composition and sensory analysis of Arabica coffee. *Engenharia Agrícola*, 40, 177–183. <https://doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v40n2p177-183/2020>
- Santiago, W. D., Teixeira, A. R., Santiago, J. de A., Lopes, A. C. A., Brandão, R. M., Caetano, A. R., Cardoso, M. das G., & Resende, M. L. V. (2020). Development and validation of chromatographic methods to quantify organic compounds in green coffee (*Coffea arabica*) beans. *Australian Journal of Crop Science*, 14(08):2020, 1275–1282. <https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.08.p2433>
- Santos, D. F., Franco Junior, K. S., da Silva, C. H., da Silva Neto, J. F., Paiva, L. C., & Brigante, G. P. (2020). *Effect of Inf (cna—Cnb) enzyme complex in the drying process and the coffee quality*. <https://doi.org/10.25186/v15i.1677>
- Saquicela, J. E. (2018). “Optimización experimental de un método cromatográfico HPLC-DAD para el análisis de polifenoles en frutas.” [Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/30853/1/TRABAJO%20DE%20TITULACION%20N.pdf>
- Sepúlveda, W. S., Chekmam, L., Maza, M. T., & Mancilla, N. O. (2016). Consumers' preference for the origin and quality attributes associated with production of specialty coffees: Results from a cross-cultural study. *Food Research International*, P2(89), 997–1003. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.039>

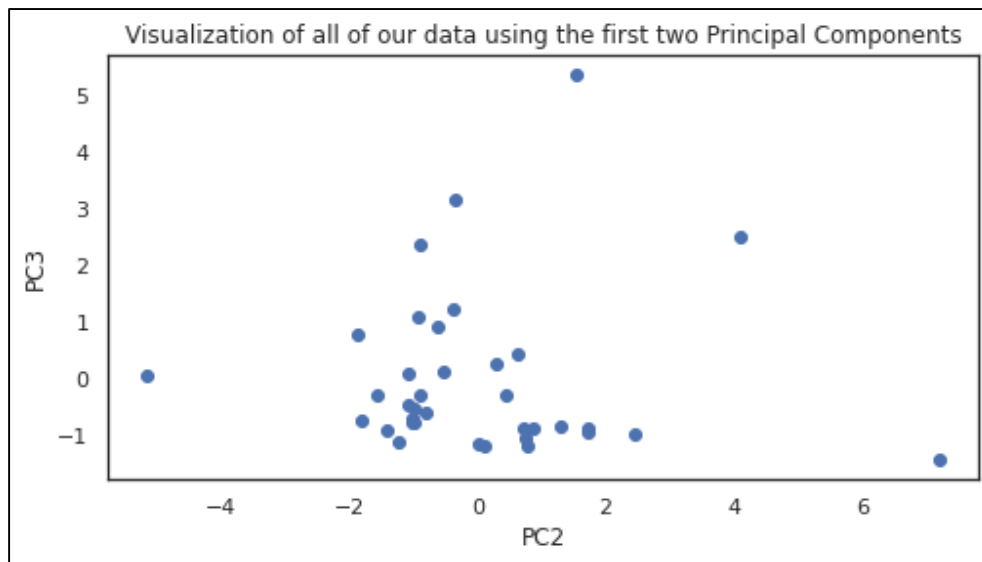
- Silveira, A. de S., Pinheiro, A. C. T., Ferreira, W. P. M., Silva, L. J. da, Rufino, J. L. dos S., & Sakiyama, N. S. (2016). 'Sensory analysis of specialty coffee from different environmental conditions in the region of Matas de Minas, Minas Gerais, Brazil. *Revista Ceres*, 63(4), 436–443. <https://doi.org/10.1590/0034-737X201663040002>
- Specialty Coffee Association of America. SCAA. (2018). *Coffee Standards*. <https://static1.squarespace.com/static/584f6bbef5e23149e5522201/t/5d936fa1e29d4d5342049d74/1569943487417/Coffee+Standards-compressed.pdf>
- Tian, T., Freeman, S., Corey, M., German, J. B., & Barile, D. (2017). Chemical Characterization of Potentially Prebiotic Oligosaccharides in Brewed Coffee and Spent Coffee Grounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(13), 2784–2792. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04716>
- Transparent Trade Coffee. (2020). *SCRPI*. Transparent Trade Coffee. <https://www.transparenttradecoffee.org/scrpi>
- Vaast, P., Bertrand, B., Perriot, J.-J., Guyot, B., & Génard, M. (2006). Fruit thinning and shade improve bean characteristics and beverage quality of coffee (*Coffea arabica* L.) under optimal conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(2), 197–204. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2338>
- Wei, F., Furihata, K., Koda, M., Hu, F., Kato, R., Miyakawa, T., & Tanokura, M. (2012). ¹³C NMR-Based Metabolomics for the Classification of Green Coffee Beans According to Variety and Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(40), 10118–10125. <https://doi.org/10.1021/jf3033057>
- Wei, F., & Tanokura, M. (2015). Organic Compounds in Green Coffee Beans. In *Coffee in Health and Disease Prevention* (pp. 149–162). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409517-5.00017-6>
- Wintgens, J. N. (2004). The Coffee Plant. In *Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production* (pp. 1–24). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9783527619627.ch1>
- Wong, K. H., Abdul Aziz, S., & Mohamed, S. (2008). Sensory aroma from Maillard reaction of individual and combinations of amino acids with glucose in acidic conditions. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(9), 1512–1519. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01445.x>
- Yisak, H., Redi-Abshiro, M., & Chandravanshi, B. S. (2018). Selective determination of caffeine and trigonelline in aqueous extract of green coffee beans by FT-MIR-ATR spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 97, 33–38. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.05.003>

6. Anexos

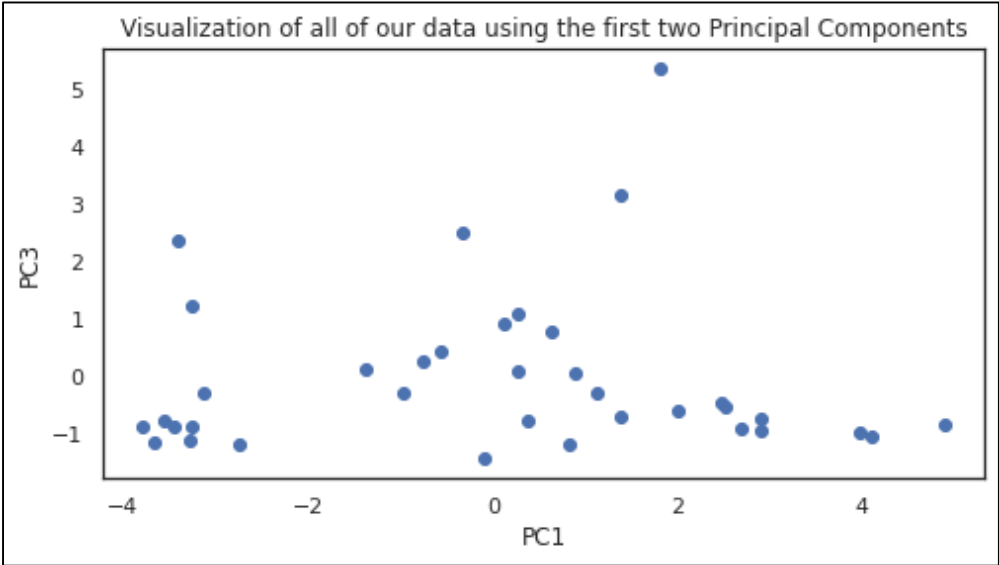
A. Correlación entre el componente principal 1 y 2.



B. Correlación entre el componente principal 2 y 3.



C. Correlación entre el componente principal 1 y 3.



D. Mapa de calor de todos los compuestos identificados en las muestras de café sometidas a diferentes métodos de secado y con distintos tiempos de cosecha.

