

Del 7 al 10 de mayo de 2019

**CENTRO UNIVERSITARIO
SANTA ANA
ALMENDRALEJO**



**XLI JORNADAS
DE VITICULTURA Y ENOLOGÍA
TIERRA DE BARROS**

I Congreso Agroalimentario de Extremadura

**XLI Jornadas
de VITICULTURA Y ENOLOGÍA
de la Tierra de Barros
I Congreso Agroalimentario de Extremadura**

Edita:

Centro Universitario Santa Ana
C/ IX Marqués de la Encomienda, nº 2
Almendralejo
Tel. 924 661 689
<http://www.univsantana.com>

Ilustración de portada:

© Vito Cano.
Detalle del mural del mercado de abastos "Las mercedes"
Almendarlejo (Badajoz)

Diseño original:

Tecnigraf S.A.

Maquetación: Virginia Pedrero

ISBN: 84-7930-109-0

D.L.:

Imprime: Impresal

Estudio y desarrollo de un método de maceración acelerada de licor de café elaborado con holandas de vino mediante el uso de energía de ultrasonidos

DELGADO-GONZÁLEZ, M.J. *

MONTES-ROSALES, F.J.

JIMÉNEZ-CARMONA, Y.

GARCÍA-BARROSO, C.

GUILLÉN-SÁNCHEZ, D.A.

GARCÍA-MORENO, M.V.

Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Instituto Universitario de Investigación Vitivinícola y Agroalimentaria (IVAGRO), Universidad de Cádiz, Campus Universitario de Puerto Real, 11510 Puerto Real, Cádiz, Spain.

* Correo electrónico: manuel.delgado@uca.es

RESUMEN

Actualmente, la producción de licores de forma tradicional conlleva un proceso de maceración de un destilado alcohólico con diferentes tipos de materia prima que puede prolongarse en el tiempo desde pocos días hasta varios meses. Debido a ello, la industria productora de licores está buscando alternativas que aceleren este proceso de maceración. En el presente estudio, se ha llevado a cabo el desarrollo de un método que permita la aceleración de la maceración del licor de café me-

diante la aplicación de la energía de ultrasonidos. Como resultado, se ha obtenido en un tiempo de dos días un licor de café que presenta buenas impresiones organolépticas. Además, se ha llevado a cabo un diseño de experimentos de Youden-Steiner para determinar aquellas variables que influyen de forma positiva en el producto final, obteniendo como resultado que el aumento de aquellas variables que aportan energía al medio de extracción y de la relación superficie-volumen entre el café y el destilado mejoran sustancialmente el licor de café obtenido.

Palabras clave: Ultrasonidos, Holanda de vino, Café, Licor, Método de Youden-Steiner.

ABSTRACT

Nowadays, the liqueur's traditional production is carried out by means of a maceration process of an alcoholic distillate with different raw materials which could extend over time from few days to various months. For that reason, the liqueur production industry is looking for other ways to accelerate the maceration process. In the present study, a development of a method that accelerates the maceration of the coffee liqueur by applying ultrasound energy has been carried out. As a result, it has been obtained in two days a coffee liqueur which has good organoleptic impressions. In addition, a Youden-Steiner experimental design has been carried out in order to determine those variables which positively influence on the final product, obtaining as a result that the raising of those variables which add energy to the extraction media and the surface-volume relation between the coffee sample and the distillate improve the obtained coffee liqueur.

Keywords: Ultrasounds, Wine holandá, Coffee, Liqueur, Youden-Steiner method.

INTRODUCCIÓN

Según queda recogido en el Real Decreto 1416/1982¹ y en su modificación del 26 de marzo de 2014², "un licor es una bebida alcohólica obtenida por la maceración en alcohol de sustancias vegetales aromáticas, o por la simple adición de los extractos de aquellas a los alcoholes o aguardientes." Estas bebidas pueden ser coloreadas o no, y deben ser endulzadas con sacarosa,

azúcar de uva, mosto o miel hasta superar una riqueza en azúcares totales de 100 g/L. La graduación alcohólica de los licores debe estar comprendida entre el 30% y el 55% de contenido en alcohol por volumen (ABV).

Según la Federación Española de Bebidas Espirituosas³, el consumo de bebidas con alto contenido alcohólico ha aumentado desde el año 2014. Solo en el año 2018, el consumo de licores aumentó en un 2.4% con respecto al año anterior. Además, en ese mismo año, de todas las bebidas espirituosas demandadas en nuestro país un 21% fueron licores. Esta cifra solo se encuentra superada por el whisky, con un 24.1% del mercado total.

La producción de licores tradicionales comienza con una etapa de maceración, en la cual la materia prima se sumerge en alcohol de origen agrícola durante un determinado periodo de tiempo, que depende del licor producido y del tipo de materia prima^{4,5}, llegando a durar este proceso en algunos casos hasta varios meses. Debido a estos largos periodos de espera, algunas empresas productoras de licores han comenzado a buscar alternativas que permitan obtener macerados en una menor cantidad de tiempo.

Diversos estudios han demostrado que la aplicación de ultrasonidos favorece la extracción de compuestos presentes en una matriz sólida⁶, debido a la alta cantidad de energía liberada en los movimientos de compresión y rarefacción que se producen en el seno de un líquido cuando se somete a este tipo de energía. Previamente, nuestro grupo de investigación ha llevado a cabo estudios sobre la aceleración de la extracción de compuestos presentes en virutas de madera por parte de destilados de origen vínic⁷, obteniendo resultados positivos que ponen de manifiesto la mejora de la capacidad extractiva del alcohol al ser sometido a este tipo de energía. Además, varios autores han publicado resultados que demuestran esta mejora de la extracción en la producción de vinos, brandis y alcoholes⁸⁻¹⁰.

En el presente trabajo se ha estudiado la aceleración del proceso de maceración del licor de café, producido a partir de holandas de vino, mediante la aplicación de energía de ultrasonidos. Para ello, y con el objetivo de encontrar aquellas variables operativas más influyentes en el proceso de extracción, se ha llevado a cabo el diseño de experimentos de Youden-Steiner¹¹, con siete variables operativas y ocho experimentos.

MUESTRAS Y MÉTODOS

Muestras

Para llevar a cabo esta investigación, se utilizó como base una holanda procedente de una bodega asociada a la *Denominación de Origen Protegida "Jerez-Xérès-Sherry"* y *Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda*, obtenida mediante una doble destilación, que presentaba una graduación alcohólica de 75% ABV. Esta holanda fue diluida de forma previa a los experimentos hasta el 37.5% de alcohol. Como materia prima para la elaboración del licor se utilizó un grano de café natural adquirido en una superficie comercial de la zona. El azúcar blanco empleado en la elaboración del almíbar también fue adquirido en una superficie comercial de la zona.

Reactivos

Todos los reactivos empleados fueron de calidad para análisis (Merck, Darmstadt, Alemania). El disolvente empleado fue agua calidad Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos).

Métodos estadísticos

Todos los procedimientos estadísticos fueron realizados con el software Microsoft Excel 2010 (Redmond, Estados Unidos).

Maceración del licor de café por el método tradicional

Para llevar a cabo un licor de café elaborado de forma tradicional, se añadieron 10 g de granos de café enteros a un recipiente con 100 mL de holanda diluida a 37.5% ABV. Esta mezcla se mantuvo en una habitación termostatazada a 25 °C en oscuridad durante 15 días.

Aceleración del proceso de maceración mediante el uso de ultrasonidos

Para llevar a cabo el estudio de la aceleración del proceso de maceración, se introdujeron en recipientes de vidrio de 250 mL de capacidad, 10 g de granos de café con 100 mL de holanda diluida a 37.5% ABV. Esta mezcla se mantuvo sumergida en un baño de ultrasonidos P20 (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España) de 20 L de capacidad, una frecuencia de 40 KHz y una potencia nominal de 10 W/L, manteniendo una temperatura constante de

25 °C gracias a un equipo recirculador F12 (Julabo, Seelbach, Alemania). La energía en forma de ultrasonidos se aplicó en ciclos de 1 min de ultrasonidos y 4 min de reposo durante 15 días.

Diseño de experimentos

Con el objetivo de determinar la influencia de aquellas variables operativas que se consideraron relevantes sobre las características del licor de café producido en la maceración asistida por ultrasonidos, se llevó a cabo un diseño de experimentos factorial parcial de Youden y Steiner utilizando siete variables en dos condiciones (una condición “alta” y una condición “baja”), tal y como se puede observar en la Tabla 1. Ocho procesos de maceración fueron realizados en el mismo orden que se recoge en la Tabla 2, con las respectivas condiciones que se muestran en la misma tabla.

Una vez realizadas las maceraciones aceleradas, los licores obtenidos fueron analizados con el objetivo de cuantificar los parámetros enológicos de interés, y poder calcular las diferencias asociadas con cada variable en cada uno de los análisis realizados. De esta manera, la diferencia mínima que debe ser obtenida para considerar que una variable afecta de forma crítica a un parámetro enológico es el 10% de la media calculada de ese parámetro para todos los experimentos de maceración.

Además, según el procedimiento explicado por Youden y Steiner, obtener una diferencia positiva de una variable en un parámetro indica que dicha variable en la condición “alta” produce un resultado más alto del respectivo parámetro. En cambio, una diferencia negativa indica que la variable en condición “alta” produce un resultado más bajo en el resultado del análisis de dicho parámetro.

Para controlar las siete variables de interés, el procedimiento de maceración acelerada explicada en el apartado 2.5 se modificó tal y como se describe a continuación: para la variable “pulso de ultrasonidos”, se mantuvo como condición alta la aplicación de energía de ultrasonidos de forma continua, mientras que la condición baja seguía un ciclo de 1 min de ultrasonidos y 4 min de reposo; para la variable “temperatura”, la condición alta se fijó a 25 °C y la condición baja se fijó a 18 °C; para la variable “tamaño de la muestra”, la maceración con la condición alta se llevó a cabo con granos de café enteros, mientras que para la condición baja los granos se molieron de forma previa con un molinillo de mano; para la variable “potencia de

ultrasonido”, se varió el volumen de agua presente en el baño de ultrasonidos, de tal manera que se alcanzaban potencias nominales de 30 W/L (para la condición alta, con 15 L de agua en el baño) y 20W/L (para la condición baja, añadiendo solo 10 L de agua al baño de ultrasonidos); para la variable “luz” se llevaron a cabo los experimentos en frascos de color ámbar (en la condición alta) y en frascos transparentes (para la condición baja); para la variable “tapado”, los frascos se mantuvieron tapados (para la condición alta) o destapados (para la condición baja); y para la variable “volumen” se añadieron 100 mL de holanda en cada frasco para la condición alta y 80 mL para la condición baja. Todo el diseño experimental fue llevado a cabo por triplicado.

Determinación del índice de fenoles totales

Se llevó a cabo la determinación del índice de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu modificado por Alonso Borbarán¹², utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Cary 60 (Agilent technologies, Mulgrave, Australia). La recta de regresión fue llevada a cabo utilizando como patrón ácido cafeico, y los resultados están expresados en miligramos de ácido cafeico equivalente (ACE) por litro de muestra. Todas las medidas fueron llevadas a cabo por triplicado.

Determinación del contenido de cafeína

La cafeína puede ser analizada con un tratamiento previo de extracción líquido-líquido con cloroformo o diclorometano. En cambio, algunas publicaciones han dejado de manifiesto que las extracciones con cloroformo favorecen la obtención de otras sustancias interferentes, por lo que se usó diclorometano como fase orgánica de extracción¹³.

La determinación del contenido de cafeína, por lo tanto, se llevó a cabo tomando exactamente 0.1 mL de muestra y realizando tres extracciones sucesivas con 1.5 mL de diclorometano, centrifugando en cada extracción la mezcla producida, separando la fase orgánica y llevándola a un matraz de 5 mL. Posteriormente, se determinó la absorbancia del extracto a 272 nm, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Cary 60. La recta de regresión fue llevada a cabo utilizando como patrón cafeína. Todas las medidas fueron realizadas por triplicado.

Determinación de la evolución del color. Parámetro de diferencia de color CIEDE2000

Para llevar a cabo un estudio sobre la evolución del color producido en la maceración del licor de café, se llevó a cabo el procedimiento expuesto en la UNE-EN ISO 11664-6¹⁴, que versa sobre el cálculo de la diferencia numérica existente entre dos colores. Este cálculo realizó comparando siempre el color de la cada muestra con respecto al color de la holanda de partida, por lo que el valor de la diferencia del color se relaciona directamente con el color obtenido en el proceso de maceración. Para ello, se midieron los espectros de transmitancia entre las longitudes de onda de 830 nm y 360 nm, con una resolución de 1 nm de longitud de onda, con una velocidad de barrido de 600 nm/min, utilizando un espectrofotómetro UV-Vis Cary 60.

Análisis organoléptico

El análisis organoléptico se llevó a cabo en una sala de cata normalizada¹⁵ que minimiza los estímulos externos que pudiesen alterar el resultado de los juicios. La temperatura de la sala se fijó a 22 °C, y las muestras fueron llevadas a la misma temperatura previamente. La cata fue realizada por un total de diez jueces con experiencia previa en el análisis organoléptico. Las copas normalizadas¹⁶ se rellenaron con 10 mL de muestra cada una, tapadas para evitar la pérdida de aromas.

Los análisis fueron meramente descriptivos, empleando una ficha normalizada¹⁷ de cata en la que se evaluaron las intensidades percibidas de aquellos descriptores que se consideraron relevantes para el licor de café, tanto a nivel olfativo como a nivel gustativo y visual.

Antes de llevar a cabo los juicios sensoriales, las muestras fueron endulzadas tal y como marca la legislación¹ con 10 mL de almíbar elaborado con una concentración de azúcar blanca de 5 g/mL.

RESULTADOS

Estudio inicial. Determinación del tiempo de maceración

Con el objetivo de comprobar de forma previa si la aplicación de ultrasonidos favorece la velocidad de maceración del licor de café, se llevaron a cabo dos maceraciones por triplicado: una de ellas de forma tradicional

y otra mediante la aplicación de ultrasonidos, tal y como se recoge en los apartados correspondientes de “Muestras y Métodos”. Durante los quince días que duró cada proceso de maceración se obtuvieron muestras de forma diaria, analizándose su contenido fenólico mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados se pueden observar en la Figura 1. Como se puede comprobar, al segundo día de maceración con ultrasonidos se obtienen niveles de índices de fenoles totales semejantes a los obtenidos tras la primera quincena de maceración tradicional, por lo que podemos considerar que, en efecto, el uso de los ultrasonidos permite extraer con mayor rapidez los compuestos de interés del licor de café. Además, debido a los resultados obtenidos, el diseño de experimentos de Youden y Steiner se llevó a cabo con maceraciones de dos días de duración en presencia de ultrasonidos, ya que se consideró que era tiempo suficiente para obtener un resultado cercano al producto final.

Efectos de las variables operativas. Diseño de Youden-Steiner

Índice de fenoles totales: Los resultados obtenidos para el índice de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu pueden observarse en la Figura 2a. Como se puede observar, las muestras se encuentran muy dispares en el contenido fenólico. Es interesante remarcar que la muestra anotada como Y2, que tiene un contenido fenólico muy superior al resto, es aquella que se llevó en las mejores condiciones de extracción (mayor relación superficie/volumen, mayor temperatura y mejores condiciones de aplicación de energía de ultrasonidos).

Las diferencias obtenidas según el diseño de experimentos de Youden-Steiner para el contenido fenólico se pueden observar en la Figura 2b. Tal y como se puede comprobar, el tamaño de la muestra es la variable más influyente en la extracción de fenoles, cuya diferencia negativa marca que la extracción es mayor cuando el grano de café se encuentra molido. Además, la variable “volumen” también incide en la extracción de fenoles, siendo esta mayor cuanto menos volumen de alcohol introduzcamos en la mezcla. Ambas influencias pueden ser explicadas si nos atenemos a que la velocidad de extracción será mayor cuanto mayor sea la relación superficie/volumen entre el sólido y el líquido. Además, el aumento de temperatura afecta positivamente a la extracción, así como una mayor potencia de ultrasonido, y la aplicación de la energía de ultrasonidos en continuo en vez de en ciclos con reposo. Esto puede ser explicado debido a que los procesos

de extracción son más rápidos cuanto mayor sea la energía presente en el medio de extracción.

Contenido en cafeína: Los resultados de las determinaciones de contenido en cafeína pueden observarse en la Figura 3a. Los valores obtenidos son elevados. De hecho, según la bibliografía, la cantidad de cafeína de los licores tabulados como Y7 e Y8, aquellos con menores concentraciones de este compuesto, son semejantes a la cantidad de cafeína por litro de algunas bebidas energéticas de marcas conocidas¹⁸.

Las diferencias obtenidas según el diseño de experimentos de Youden-Steiner para el contenido en cafeína se pueden observar en la Figura 3b. Tal y como se puede comprobar, la cantidad de cafeína aumenta con aquellas variables que producen un aumento de energía en el medio de maceración (temperatura alta, aplicación de la energía de ultrasonidos en continuo, y una mayor potencia de ultrasonidos). Además, un menor volumen de holanda aumenta la cantidad de cafeína extraída, al aumentar la relación superficie/volumen del sistema de extracción.

En cambio, en este punto es interesante remarcar que el tamaño de la muestra (en grano o molida) no afecta al contenido en cafeína presente en el licor. Además, el ambiente reductor formado en los frascos tapados parece desfavorecer el contenido en cafeína de la muestra.

Evolución del color por CIEDE2000: Los resultados de las determinaciones de la evolución del color con respecto a la holanda de partida medidos mediante el parámetro CIEDE2000 pueden observarse en la figura 4a. A su vez, las diferencias obtenidas según el diseño de experimentos para la evolución del color se pueden observar en la figura 4b. En este caso, solo el tamaño de la muestra influye de forma crítica en el proceso de evolución del color: la maceración con café molido, al contar con una mayor relación superficie/volumen, produce una mayor extracción de los compuestos que dan color al licor.

Análisis organoléptico: Los resultados obtenidos para los juicios organolépticos de las muestras de licor de café pueden observarse en las figuras 5a para los descriptores olfativos y visuales, y 5b para los descriptores gustativos. Como se puede observar, en escalas del 0 al 4, las impresiones olfativas tienden a encontrarse en valores comprendidos entre 3 y 4, excepto la muestra Y7 que presentaba una menor intensidad aromática. Además, esta misma muestra es aquella que tiene una peor impresión

visual. En cuanto a las impresiones gustativas, la muestra Y2 destaca con respecto al resto, siendo ésta la que más gustó a todos los jueces. De nuevo, la muestra Y7 obtuvo valores de impresión gustativa por debajo del resto de licores.

Las diferencias obtenidas según el diseño de experimentos para la impresión visual se pueden observar en la figura 6a. En este caso, el tamaño de la muestra influye de forma negativa, algo que concuerda con los valores discutidos para la evolución del color por CIEDE2000, ya que aquellos licores llevados a cabo con café molido tienen un color mucho más intenso y oscuro que los licores llevados a cabo con café en grano. También influyen de forma positiva la temperatura, que aumenta la maceración debido a la energía presente en el medio de extracción, y el tapado del frasco en el que se lleva a cabo el proceso.

Las diferencias obtenidas según el diseño de experimentos para la impresión olfativa se pueden observar en la figura 6b. Para este caso, una mayor temperatura y la aplicación de ultrasonidos en continuo afectan de forma positiva, al favorecer la maceración debido a la mayor energía presente en el medio de extracción. Además, como en otros casos, un menor volumen de holanda favorece una mayor extracción de los compuestos aromáticos agradables al aumentar la relación superficie/volumen. Por último, es importante destacar que la oscuridad favorece la impresión olfativa del licor de café, por lo que producirlo a la luz puede favorecer la aparición de defectos u olores desagradables.

Por último, las diferencias obtenidas según el diseño de experimentos para la impresión gustativa se pueden observar en la figura 6c. Para este caso, una mayor temperatura y la aplicación de ultrasonidos en continuo afectan de forma positiva, y se produce una mejora del sabor con la extracción llevada a cabo con el grano de café molido. Las tres variables, tal y como se ha explicado anteriormente, favorecen la aceleración de la extracción de compuestos por parte de la holanda.

CONCLUSIONES

Tras este estudio ha quedado demostrada la mejora y la aceleración del proceso de maceración del licor de café a partir de Holanda mediante la aplicación de la energía de ultrasonidos. Además, las influencias de siete variables operativas sobre algunos parámetros de interés enológico quedan recogidas a modo de resumen en la Tabla 3.

Como se puede observar, en cuanto a los niveles de las variables óptimas para la producción del licor de café, aquellas variables que se relacionan con la energía presente en el medio de extracción (la temperatura, la aplicación de los ultrasonidos en continuo y la potencia de ultrasonidos) mejoran de forma notable las impresiones obtenidas en los análisis organolépticos, además de obtener mayores niveles de otros parámetros de interés. Además, las condiciones que aumentan la relación superficie/volumen de la mezcla (el volumen de Holanda y el tamaño de la muestra) también mejoran de forma general las impresiones en cata, así como la evolución del color hacia luminosidades más oscuras y mayores intensidades. Finalmente, el llevar a cabo el licor de café en oscuridad y en un frasco cerrado parece mejorar las impresiones olfativas y visuales del producto, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

A los autores les gustaría agradecer a la Universidad de Cádiz por el contrato predoctoral FpuUCA concedido al autor Manuel Jesús Delgado González.

BIBLIOGRAFÍA

1. Real Decreto 1416/1982, de 28 de mayo, por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria para la elaboración, circulación y comercio de aguardientes compuestos, licores, aperitivos sin vino base y otras bebidas derivadas de alcoholes naturales. *Boletín Oficial del Estado*, 153, 28 de junio de 1982.
2. Real Decreto 164/2014, de 14 de marzo, por el que se establecen normas complementarias para la producción, designación, presentación y etiquetado de determinadas bebidas espirituosas. *Boletín oficial del estado*, 74, 26 de marzo de 2014, 26570-26577.
3. Federación Española de Bebidas Espirituosas. "Informe socioeconómico 2018". Recuperado el 12 de abril de 2019, de <http://www.febe.es/El-sector-en-cifras/Datos-de-interes/>
4. NAVIGLIO, D.; MONTESANO, D.; GALLO, M. (2015). "Laboratory production of lemon liqueur (Limoncello) by conventional maceration and a two-syringe system to illustrate rapid solid-liquid dynamic extraction". *Journal of Chemical Educacion*, 92 (5), 911-915.
5. HERNÁNDEZ-GÓMEZ, L. F.; ÚBEDA, J.; ARÉVALO-VILLENA, M. (2009). "Novel alcoholic beverages: production of spirits and liqueurs using maceration of melon fruits in melon distillates". *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89 (6), 1018-1022.
6. CHEMAT, F.; KHAN, M.; ZILL-E-HUMA. (2011). "Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction". *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4), 813-835.
7. DELGADO-GONZÁLEZ, M.J.; SÁNCHEZ-GUILLÉN, M.M.; GARCÍA-MORENO, M.V. (2017). "Study of a laboratory-scaled new method for the accelerated continuous ageing of wine spirits by applying ultrasound energy". *Ultrasonics Sonochemistry*, 36, 226-235.
8. TAO, Y.; ZHANG, Z.; SUN, D.-W. (2014). "Experimental and modelling studies of ultrasound-assisted release of phenolics from oak chips into model wine". *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 1839-1848.
9. CHANG, A.C. (2005). "Study of ultrasonic wave treatments for accelerating the aging process in a rice alcoholic beverage". *Food Chemistry*, 92, 337-342.

10. SCHWARZ, M. (2010). "Estudio de nuevas estrategias para la caracterización y optimización del envejecimiento de Vinos y Brandies de Jerez". *Universidad de Cádiz*.
11. YODEN, W.J.; STEINER, E.H. (1984). "Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists". *AOAC International*.
12. ALONSO, Á.M.; CASTRO, R.; RODRÍGUEZ, M.C. (2004). "Study of the antioxidant power of brandies and vinegars derived from Sherry wines and correlation with their content in polyphenols". *Food Research International*, 37, 715-721.
13. BELAY, A.; TURE, K.; REDI, M. (2008). "Measurement of caffeine in coffee beans with UV/vis spectrometer". *Food Chemistry*, 108, 310-315.
14. UNE-EN ISO 11664-6: (2017). Colorimetría. Parte 6: Fórmula para la diferencia de color CIEDE2000.
15. ISO 8589: (2007), General guidance for the design of test rooms.
16. UNE ISO 87022: (1992). Análisis sensorial. Utensilios. Copa para la degustación del vino.
17. ISO 4121: (2003), Sensory analysis - Guidelines for the use of quantitative response scales.
18. MC CUSKER, R.R.; GOLDBERGER, B.A.; CONE, E.J. (2006). Caffeine content of energy drinks, carbonated sodas and other beverages. *Journal of Analytical Toxicology*, 38, 112-114.

Tabla 1. Variables controladas para el método de Youden-Steiner, con sus respectivas condiciones altas y bajas.

VARIABLE	NOMENCLATURA	CONDICIÓN "ALTA"	CONDICIÓN "BAJA"
Pulso de ultrasonido	A-a	En continuo	1 min US, 4 min reposo
Temperatura	B-b	25 °C	18 °C
Tamaño de la muestra	C-c	En grano	Molida
Potencia de ultrasonido	D-d	30 W/L	20 W/L
Luz	E-e	Sin luz	Con luz
Tapado	F-f	Sí	No
Volumen de holanda	G-g	100 mL	80 mL

Tabla 2. Experimentos de maceración acelerada llevados a cabo para el desarrollo del método de Youden-Steiner.

EXPERIMENTO	PARÁMETROS							RESULTADOS
Y 1	A	B	C	D	E	F	G	s
Y 2	A	B	c	D	e	f	g	t
Y 3	A	b	C	d	E	f	g	u
Y 4	A	b	c	d	e	F	G	v
Y 5	a	B	C	d	e	F	g	w
Y 6	a	B	c	d	E	f	G	x
Y 7	a	b	C	D	e	f	G	y
Y 8	a	b	c	D	E	F	g	z

Tabla 3. Experimentos de maceración acelerada llevados a cabo para el desarrollo del método de Youden-Steiner. Aquella casilla marcada con un (+) indica que su variable asociada es crítica para la característica analizada y que la diferencia absoluta es positiva. Aquella casilla marcada con un (-) indica que su variable asociada es crítica para la característica analizada y que la diferencia absoluta es negativa.

	IPT	CAFEÍNA	CIEDE 2000	IMPRESIÓN VISUAL	IMPRESIÓN OLFATIVA	IMPRESIÓN GUSTATIVA
Pulso de ultrasonido	+	+			+	+
Temperatura	+	+		+	+	+
Tamaño de la muestra	-		-	-		-
Potencia del ultrasonido	+	+				
Luz					+	
Tapado		-		+		
Volumen de la holanda	-	-			-	

Figura 1. Evolución del Índice de Fenoles Totales con respecto al tiempo. Comparativa entre la maceración sin ultrasonidos (-US) y la maceración con ultrasonidos (+US).

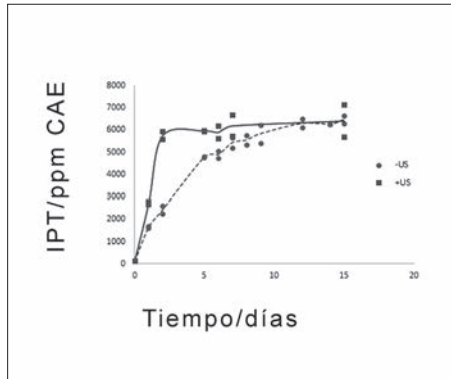


Figura 2: (a) Índice de Fenoles Totales determinados para los ocho experimentos llevados a cabo bajo diferentes condiciones operativas. (b) Diferencias obtenidas para cada variable estudiada según el Índice de Fenoles Totales al aplicar el diseño de experimentos de Youden-Steiner.

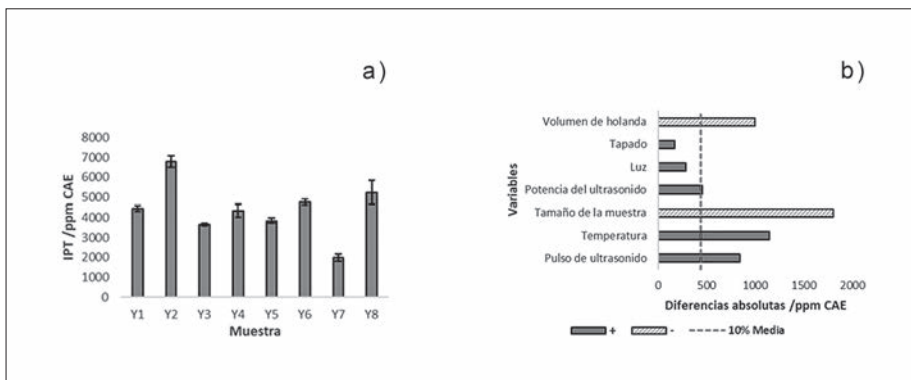


Figura 3. (a) Contenido en cafeína determinado para los ocho experimentos llevados a cabo bajo diferentes condiciones operativas. (b) Diferencias obtenidas para cada variable estudiada según el contenido en cafeína al aplicar el diseño de experimentos de Youden-Steiner.

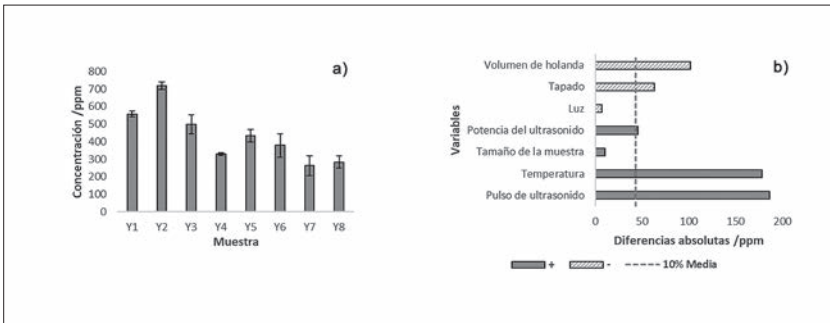


Figura 4. A) Diferencia de color CIEDE2000 determinada para los ocho experimentos llevados a cabo bajo diferentes condiciones operativas. B) Diferencias obtenidas para cada variable estudiada según el CIEDE2000 al aplicar el diseño de experimentos de Youden-Steiner.

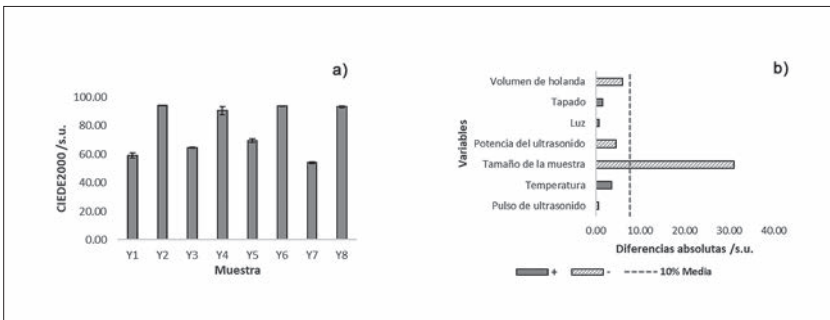


Figura 5. Resultados del análisis organoléptico de los ocho experimentos llevados a cabo bajo diferentes condiciones operativas, según (a) descriptores gustativos y (b) descriptores olfativos y visuales.

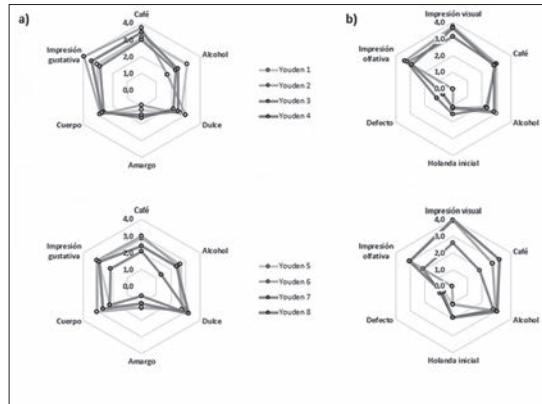


Figura 6. Diferencias obtenidas para cada variable estudiada al aplicar el diseño de experimentos de Youden-Steiner según (a) la impresión visual; (b) la impresión olfativa y (c) la impresión gustativa de las muestras.

