

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

**Determinación de los umbrales sensoriales
de detección, de identificación, de
diferenciación y el umbral máximo en el
sabor ácido, mediante metodología de
elección forzada entre tres alternativas (3-
AFC)**

Yolby Milena Rodríguez Ariza

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
Bogotá D. C, Colombia

2017

Determinación de los umbrales sensoriales de detección, de identificación, de diferenciación y el umbral máximo en el sabor ácido, mediante metodología de elección forzada entre tres alternativas (3-AFC)

Yolby Milena Rodríguez Ariza

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:
Msc, Química, Luz Patricia Restrepo S.

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos
Bogotá D. C, Colombia

2017

Dedicatoria

*A Dios, por permitirme llegar hasta esta
instancia.*

*A mis hijos Paula Alejandra y Daniel Felipe y,
al amor de mi vida Alex por el amor y el apoyo
incondicional.*

*A mi madre por su ayuda y su esfuerzo
invaluables.*

*Y, a mi abuelita Sixta que, aunque ya no está
con nosotros, estaría feliz con este paso en mi vida.*

Agradecimientos

Quiero agradecer muy especialmente a la Profesora *Luz Patricia Restrepo Sánchez*, mi directora de tesis, porque a pesar de todas las adversidades, siempre tuvo una voz de aliento y dedicación para poder continuar.

Al panel experto de Almacafé- FNC, por su colaboración durante la parte experimental del trabajo.

A la Universidad Nacional de Colombia por acogerme y hacerme saber que sigo siendo y seré parte de ella.

Y, a todos aquellos profesores, amigos, compañeros y familiares que formaron parte de este camino que decidí seguir, mil gracias.

Resumen

Los umbrales sensoriales de detección, de identificación, de diferenciación y el umbral máximo en el sabor ácido fueron determinados por la metodología 3-AFC, de la norma ISO 13301:2002 (GTC 255/15). Siguiendo también esta norma, se determinó el umbral de diferenciación utilizando diversas metodologías tales como MUE, el método gráfico. Evaluación visual. P_d S diferente de 0,5, el cálculo de posibilidad máxima mediante hoja de cálculo en Excel y Solver y el cálculo alternativo de regresión lineal usando SAS, obteniendo los siguientes resultados: 0,075 g/L, 0,069 g/L, 0,069 g/L y 0,067 g/L, respectivamente. Adicionalmente, se observó que, los resultados son similares con excepción del MUE que presenta un valor más elevado que los otros métodos.

Palabras clave: 3-AFC, Umbral, Mejor Umbral Estimado (MUE), Análisis sensorial.

Abstract

The sensory thresholds of detection, identification, differentiation and the maximum threshold in acid taste were determined by the 3-AFC methodology, of Standard ISO 13301: 2002 (GTC 255/15). Following also this Standard, the differentiation threshold was determined using diverse methodologies such as BET, the graphical method. Visual evaluation. PdS other than 0.5, the maximum possibility calculation using Excel spreadsheet and Solver, and the alternative linear regression calculation using SAS, obtaining the following results: 0.075 g/L, 0.069 g/L, 0.069 g/L and 0.067 g/L, respectively. In addition, it was observed that, the results are similar with the exception of the Best Estimated Threshold (BET), that has a higher value than the other methods.

Keywords: 3-AFC, Threshold, Best Estimated Threshold (BET), Sensory Analysis.

Contenido

Resumen.....	V
Abstract.....	VI
Introducción.....	1
Objetivos	3
Objetivo General	3
Objetivos específicos	3
1. Revisión bibliográfica	4
1.1 Umbral	4
1.2 Tipos de umbral	4
1.3 Métodos de Umbral	5
1.3.1 Aplicaciones de las determinaciones de umbral.....	8
1.4 Preparación de las muestras.....	9
1.5 Selección de métodos	10
1.6 Pruebas de discriminación	10
1.6.1 Prueba triangular ^{(16), (17)}	10
1.7 Prueba de elección forzada entre tres alternativas 3-AFC.....	11
1.8 Análisis sensorial en café ⁽¹⁹⁾	16
2. Materiales y Métodos	18
2.1 Materias primas y materiales.....	18
2.2 Determinaciones de umbral.....	19
2.2.1 Validación de los integrantes del panel.....	19
2.2.2 Metodología sensorial y estadística de los umbrales	20

3. Resultados y Discusión.....	22
3.1 Validación de la metodología	22
3.2 Determinación de umbrales.....	23
3.2.1 Umbral de detección.....	23
3.2.2 Umbral de identificación (reconocimiento)	25
3.2.3 Umbral de diferenciación	27
3.2.4 Umbral máximo.....	29
3.2.5 Método gráfico. Evaluación visual. P_d S diferente de 0,5	31
3.2.6 Cálculo de posibilidad máxima mediante hoja de cálculo en Excel y <i>Solver</i> .	32
3.2.7 Calculo alternativo de regresión lineal usando SAS.....	33
4. Conclusiones	35
5. Recomendaciones	36
A. Anexo: Hoja maestra para realizar la prueba de repetibilidad. (Conc. en g/L)	40
B. Anexo: Hoja maestra para realizar las pruebas de reproducibilidad. (Concentración en g/L).....	42
C. Anexo: Hoja maestra para las pruebas de determinación del umbral de detección y de reconocimiento. (Concentración en g/L)	44
D. Anexo: Hoja maestra para la determinación del umbral de diferenciación. (Concentración en g/L)	46
E. Anexo: Hoja maestra para la determinación del umbral máximo. (Conc. en g/L)	48
F. Anexo: Fórmulas hoja cálculo y Solver	50
G. Anexo: Comandos para cálculo alternativo usando regresión lineal por SAS.....	53

Tablas

Tabla 1. Control periódico agua potable	18
Tabla 2. Repetibilidad de los integrantes del panel.....	22
Tabla 3. Reproducibilidad de los integrantes del panel.....	23
Tabla 4. Determinación de umbral de detección del grupo	24
Tabla 5. Determinación de umbral de identificación o reconocimiento del grupo.....	25
Tabla 6. Determinación de umbral de diferenciación individual y del grupo por MUE	27
Tabla 7. Determinación de umbral máximo del grupo.....	29
Tabla 8. Hoja de cálculo para ajustar los datos a la logística y calcular los límites de error del estimado del umbral	32
Tabla 9. Resultados análisis de Varianza SAS.....	33
Tabla 10. Resultados Estimadores de parámetros SAS	33
Tabla 11. Resultados Estimadores de parámetros y umbral SAS.....	34
Tabla 12. Umbral de diferenciación determinado por los diferentes métodos	34
Tabla 13. Fórmulas empleadas en la hoja de cálculo en Excel para estimar el umbral por la ejecución de <i>Solver</i>	50
Tabla 14. Datos parciales de la ejecución del <i>Solver</i>	51

Introducción

En Colombia no hay normas específicas para la determinación de umbrales por lo que se usan métodos simples y por consiguiente, de menor confiabilidad para hacerlo.

Sin embargo, el Instituto Colombiano de Normas Técnicas, ICONTEC tiene en revisión y ha publicado la Guía Técnica Colombiana GTC 255/15 con una base estadística compleja que ha dificultado su uso, lo cual hizo necesaria una interpretación que servirá de ayuda, en el sector de los alimentos, para la comprensión de los conceptos tanto procedimentales como del análisis estadístico.

Las pruebas para la determinación de umbrales fueron realizadas en la Federación Nacional de Cafeteros- Almacafé-, con el panel de expertos en análisis sensorial en café, tomando como ejemplo su determinación en el sabor ácido del café, mediante un procedimiento de elección forzada entre tres alternativas, 3-AFC, que es la prueba discriminativa forzada que actualmente ha demostrado que posee mayor robustez estadística. Se emplea el sabor ácido del café debido a que es uno de los descriptores más importantes en su evaluación sensorial y, bajo determinadas condiciones, puede ser corroborado y comparado mediante técnicas y análisis instrumentales.

El presente trabajo se realizó con la finalidad de elaborar una guía para la interpretación de la norma GTC 255/15 para la medición de los umbrales de detección, identificación, diferenciación y umbral máximo mediante un procedimiento de elección forzada entre tres alternativas con ejemplos reales que ayudarán a la mejor comprensión de los conceptos y a la aplicación adecuada del procedimiento del método.

Los umbrales determinados fueron el umbral de detección, umbral de reconocimiento, umbral de diferencia y umbral máximo o terminal, mediante los métodos tradicionales y por la metodología de la norma ISO 13301:2002 (GTC 255/15) con el fin de mostrar las diferentes posibilidades metodológicas.

Objetivos

Objetivo General

Interpretar y aplicar la norma ISO 13301:2002 para la medición de las diferentes clases de umbrales de sabor ácido en café mediante un procedimiento de elección forzada entre tres alternativas (3-AFC).

Objetivos específicos

Elaborar un procedimiento, basado en la norma ISO 13301:2002 que permita determinar los umbrales de detección, de identificación, de diferenciación y el umbral máximo para el descriptor acidez en muestras de café mediante el procedimiento 3- AFC.

Establecer los métodos estadísticos para calcular los umbrales de detección, de identificación, de diferenciación y el umbral máximo

Elaborar la guía para la interpretación de la norma ISO 13301:2002 para la medición de los umbrales de detección de olor, sabor y gusto mediante un procedimiento 3-AFC.

1. Revisión bibliográfica

1.1 Umbral

La Sociedad Americana para Pruebas y Materiales (ASTM) ofrece la siguiente definición que captura la esencia del concepto de umbral para la química sensorial: “Existe un intervalo de concentración por debajo del cual el olor o el sabor de una sustancia podría no ser detectable bajo ninguna circunstancia práctica, y por encima del cual los individuos con un sentido normal de olor o sabor podrían detectar fácilmente la presencia de la sustancia”.^(1, 2)

Los umbrales sensoriales son utilizados para determinar el potencial de las sustancias a bajas concentraciones para impartir olor, sabor, sensación en la piel, de alguna forma de materia.

Los umbrales se utilizan, por ejemplo, en el establecimiento de valores límite de los contaminantes del aire, en la reducción del ruido, en el tratamiento del agua y de los sistemas alimentarios.

También se utilizan para caracterizar y comparar la sensibilidad de los individuos o grupos a los estímulos dados, por ejemplo, en la medicina, estudios étnicos, y el estudio de las especies animales.

1.2 Tipos de umbral

Los umbrales son los límites de las capacidades sensoriales. Es conveniente distinguir entre el umbral absoluto, el umbral de reconocimiento, el umbral de diferencia, y el umbral terminal.⁽³⁾

El **umbral absoluto (umbral de detección)** es el estímulo más bajo capaz de producir una sensación- la luz más tenue, el sonido más suave, el peso más ligero, el sabor más débil.

El **umbral de reconocimiento** es el nivel de un estímulo en el que el estímulo específico puede ser reconocido e identificado. El umbral de reconocimiento suele ser mayor que el umbral absoluto.

Si una persona prueba agua que contiene niveles crecientes de sacarosa añadida, en algún momento se producirá una transición en la sensación de "sabor a agua o agua pura" a "un sabor muy suave". A medida que aumenta la concentración de sacarosa, una transición más se producirá de "un sabor muy suave" a "dulce suave" el nivel al que ésta segunda transición se produce se llama el umbral de reconocimiento.

El **umbral de diferencia** es la magnitud del cambio en el estímulo necesario para producir una diferencia apreciable. Se determina generalmente mediante la presentación de un estímulo estándar que luego se compara con un estímulo variable. Se utiliza el término diferencia apreciable (JND) cuando el umbral de diferencia se determina cambiando la variable del estímulo por pequeñas cantidades por encima y por debajo del estándar hasta que el sujeto se nota la diferencia.

El **umbral máximo** es la magnitud de un estímulo por encima del cual no se percibe un aumento en la intensidad de la calidad apropiada para ese estímulo, el dolor, se produce a menudo por encima de este nivel. Las diferencias apreciables (JND) aumentan a medida que se procede en la escala de concentración, y han sido utilizadas como pasos de la escala de intensidad sensorial.

1.3 Métodos de Umbral

Métodos de umbral están diseñados para fines específicos de la determinación de la fuerza o concentración de un estímulo requerido para producir: un efecto mínimo detectable (umbral de detección), un efecto reconocible (umbral de identificación), o el cambio en el efecto (umbral de diferencia). En cualquier método de umbral puede haber dos criterios para la respuesta: una es la detección, en el que el encuestado sólo tiene que responder a diferencias de algún producto o de fondo, y el otro es el reconocimiento,

en el que el encuestado deberá nombrar el estímulo específico, por ejemplo, "sal" o "fuerza".^{(4), (5)}

Los métodos de umbral necesitan trabajo intensivo y consumen mucho tiempo, y la cantidad medida, "la intensidad más baja que una persona puede detectar", es vaga y difícil de alcanzar; es afectada por variaciones aleatorias en el humor y en las condiciones físicas; es sorprendentemente variable de un momento a otro y día a día, y es muy variable entre los encuestados individuales. No se obtiene un valor definitivo, sino más bien una serie de resoluciones que ordenan tratamiento estadístico sofisticado para producir un valor y los límites de confianza. Una determinación del umbral puede tomar una semana y todavía estar fuera por un orden de magnitud, por lo que se necesitan muchas repeticiones (el número de repeticiones varía de acuerdo con el estímulo y con la experiencia y calificación de los panelistas) para establecer un valor confiable. Los métodos de umbral son herramientas de último recurso de un analista, pero hay situaciones en las que ningún otro método puede utilizarse.⁽⁴⁾

Los umbrales se determinan típicamente "por una sustancia adicionada", es decir, para un compuesto o un producto adicionado a un medio de referencia neutro. Los umbrales de detección en aire inodoro se usan para determinar los grados de contaminación del aire y para ajustar límites legales a los contaminantes. Los umbrales de sustancias puras adicionadas se utilizan con suministros de agua, alimentos, bebidas, cosméticos, pinturas, solventes, textiles, para determinar el punto en que los contaminantes conocidos comienzan a afectar la aceptabilidad. Estos son los usos más importantes, las pruebas pueden ser realizadas con cientos de encuestados con el fin de asignar las sensibilidades relativas de la población. El umbral de sustancias deseables adicionadas puede ser utilizado como una herramienta de investigación en la formulación de pinturas, fragancias, alimentos, bebidas, y otros sectores. Los efectos del umbral de diferencia pueden ser también determinados por la variación de un ingrediente o un proceso en un producto. Para hacer que los resultados de una prueba de umbral sean aplicables a uso general, la pureza sensorial de la sustancia adicionada, así como la pureza del medio de referencia neutro, debe ser tan alta como sea posible, o debe ser típica del componente. Los datos de pureza deben registrarse junto con el umbral. Es probable que muchos de los datos de umbral de la literatura sean artificialmente bajos debido a la presencia de impurezas altamente saborizadas en el estímulo usado. En la serie de pruebas de detección de umbrales en productos químicos puros, para ciertos compuestos

(mercaptano, pirazinas, y otros heterociclos) puede ser inferior en un factor de hasta 10^{12} en comparación con compuestos simples (alcoholes, lípidos, hidratos de carbono); por lo tanto, la pureza química, incluso del 99,99%, no es garantía de pureza sensorial. Los umbrales reportados en la literatura a menudo difieren en varios órdenes de magnitud^(3, 4)

El método por el cual se presenta el estímulo debe ser especificado, ya que puede afectar fuertemente el umbral.

El entrenamiento eleva la capacidad de reconocer y detectar el estímulo, a menudo por 100 veces en el caso de los olores o sabores menos conocidos. A pesar de estas limitaciones, los investigadores pueden encontrar datos útiles publicados para establecer aproximaciones de los niveles de estímulo necesarios para producir un efecto. Sin embargo, el uso de los datos publicados, por ejemplo, como los criterios de calidad del aire no es recomendable; para esto, debe hacerse una prueba en condiciones que simulan la exposición actual y el uso de encuestados de la población expuesta.

Los umbrales se pueden determinar: (a) para un solo encuestado o (b) para un grupo.

La experiencia muestra que los umbrales individuales pueden variar de 2 a 4 veces u ocasionalmente 10 veces de una prueba a otra. Las variaciones entre los individuos son mucho más grandes y pueden alcanzar 1000 veces o más. No pocas veces, se encuentra que un encuestado varíe más de lo normal, es decir, mostrando parcial o incluso anosmia completa o ageusia para un estímulo particular, y se desvía un millón de veces o más. ASTM toma la posición de que la determinación del umbral para un grupo es un proceso de dos pasos que debe comenzar con la determinación de los umbrales individuales.⁽⁶⁾

La distribución de frecuencias se examina y en función de su forma, el umbral de grupo se elige como medida de la tendencia central que mejor se adapte a los datos; por ejemplo, la mediana, la media, la moda, o la media geométrica; o, se puede encontrar que el grupo consiste en uno o más subgrupos, cada uno con un umbral de grupo diferente.

La determinación de umbrales solo se realiza con paneles seleccionados y entrenados y que han demostrado agudeza en el trabajo de análisis sensorial. Los panelistas deben ser entrenados y tener experiencia y entender el método y el objetivo de las pruebas. Lo aconsejable es que se seleccionen en función de su agudeza, sensibilidad y/o su

desempeño previo en discriminación. La formación debe consistir en la participación en pruebas reales para familiarizar a los panelistas con los métodos, la terminología, escalas, hojas de registro y rangos de concentración en que pueden encontrarse los productos. Esta formación es necesaria para asegurar que todos los panelistas entienden los criterios y la terminología y debe continuar hasta que suficientes jueces hayan demostrado un desempeño confiable y consistente.⁽⁷⁾

1.3.1 Aplicaciones de las determinaciones de umbral

Los umbrales pueden ser determinados por una variedad de diseños psicofísicos clásicos basados en el método de los límites, el método del error promedio o el método de frecuencia. En los últimos años la tendencia entre los psicofísicos ha sido elegir una ruta diferente aplicando la teoría de la detección de señales, SDT⁽⁸⁾. El SDT es un sistema de métodos basados en la idea de que el punto de interés no es el umbral como tal, sino más bien "el tamaño de la diferencia psicológica entre los dos estímulos", que tiene el nombre d' . La ventaja del SDT es que el proceso de decisión del sujeto se hace más explícito y se puede modelar estadísticamente. Sin embargo, los procedimientos SDT son de mayor consumo de tiempo que los diseños clásicos y se ha demostrado que para los métodos de elección forzada de presentación de la muestra, hay una relación 1: 1 entre d' y el umbral clásico⁽⁹⁾.

Por estas razones, tanto ASTM como la Organización Internacional de Normalización, ISO han decidido seguir con el método de los límites y lo que se conoce como el método de Elección Forzada de tres Alternativas (3-AFC) en el que se presentan tres muestras: dos son los controles y uno contiene la sustancia bajo prueba. El método rápido de la ASTM E679⁽¹⁾ tiene como objetivo determinar un valor práctico cerca del umbral, con base en un mínimo de esfuerzo de pruebas (por ejemplo, 50 a 150 presentaciones de 3-AFC). Esto hace una determinación muy aproximada "mejor estimación" del umbral de cada panelista. A cambio, el panel puede ser más grande, y el umbral de grupo resultante y la distribución llegar a ser más fiable en virtud del hecho de que la variación entre los individuos es mucho mayor (hasta 100 veces) que la variación entre las pruebas por un solo individuo (hasta 5 veces). El resultado está sesgado ligeramente en el mejor y puede ser muy sesgado si los sujetos comprendidos en los límites superior o inferior del rango bajo prueba no se volvieron a examinar.

El método intermedio del ASTM E1432⁽⁶⁾ determina los umbrales individuales y, a continuación, en una segunda etapa, el umbral de grupo. Para ello, se requiere muchas presentaciones de muestra por panelista como método rápido. La norma ISO 13301:2002^(10, 11), es en efecto, una combinación de los dos anteriores. Para la etapa de ajuste de curvas, el método intermedio utiliza regresión de mínimos cuadrados no lineal.

(El procedimiento ISO permite la regresión logística y un procedimiento de máxima verosimilitud para el que se ha introducido un procedimiento utilizando hojas de cálculo). Si se espera los resultados más precisos de lo que puede esperarse con estos métodos, se entra en el campo de los proyectos de investigación como tal, y cualquiera de una serie de diseños puede ser apropiado, por ejemplo, la prueba de múltiples pares de Powers^(12,13) o la teoría de detección de señales⁽⁸⁾. Algunos autores, proporcionan una revisión de estos métodos y proponen un procedimiento adicional para los umbrales de población, basado en la distribución binomial Beta, que tiene en cuenta el hecho de que los datos de un individuo tienden a tener una distribución mucho más estrecha que las de un grupo de individuos.^(14, 15)

1.4 Preparación de las muestras

En una determinación típica del umbral de un encuestado individual, se prepara una serie de muestras representativas a concentraciones crecientes del estímulo de interés en el diluyente seleccionado. La serie es tal que contiene el rango en el cual el umbral se encuentra con seis a diez pasos. Se recomienda el uso de una serie logarítmica de concentraciones (es decir, con proporciones fijas de dos o más). Se requiere control y ensayo preliminar para localizar el rango apropiado. Para un umbral de detección, el paso más bajo del rango se encuentra a una concentración cercana a cero.

Para umbrales de diferencia o reconocimiento, el rango puede comenzar en un punto más alto que el estándar. Se recomienda el uso de blancos (sin estímulo) dentro de una serie de prueba con el fin de reducir el sesgo de respuesta y los efectos supuestos sobre el resultado.⁽⁴⁾

1.5 Selección de métodos

En la determinación de umbrales son utilizadas con frecuencia estas tres pruebas: el método de estímulo constante, el método de los límites y técnicas de dilución. Cada método puede ser aplicado a los diferentes tipos de umbral, al de detección, al de reconocimiento, y al de diferencia; para el de reconocimiento el criterio de detección se convierte en "la concentración a la que el estímulo es correctamente identificado" y se entrena al entrevistado en lo que debe buscar.⁽⁴⁾

1.6 Pruebas de discriminación

1.6.1 Prueba triangular^{(16), (17)}

Esta es una prueba de discriminación que involucra tres muestras codificadas, dos son idénticas, y hay una diferente y se presentan simultáneamente o secuencialmente. Se le pide al panelista que elija la muestra "diferente".

La prueba triangular tiene una ventaja estadística sobre la prueba de comparación por parejas cuando las diferencias son pequeñas porque los encuestados pueden adivinar correctamente sólo una tercera parte del tiempo frente a la mitad del tiempo en la prueba de comparación pareada o dúo- trío.

El método es estadísticamente más eficiente que la prueba Duo-Trio⁽¹⁸⁾, pero tiene uso limitado con productos que presenten un fuerte residual y/o sabores persistentes.

El método es aplicable incluso cuando la naturaleza de las diferencias es desconocida (es decir, no se determina ni el tamaño o la dirección de la diferencia entre muestras, ni hay una indicación del atributo responsable de la diferencia). El método es aplicable solo si los productos son suficientemente homogéneos.

El método es efectivo para:

Determinar bien una diferencia perceptible o,

No resulta una diferencia perceptible cuando un cambio se efectúa en ingredientes, procesos, empaques, manipulación y almacenamiento.

O para seleccionar, entrenar y monitorear panelistas.

Algunas desventajas de la prueba son:

- No es económica debido a la evaluación de un gran número de muestras,

- Se puede afectar por la fatiga sensorial con muestras de sabor muy intenso,
- Si se conoce la naturaleza de la diferencia, estadísticamente es menos eficiente que algunas otras pruebas, y
- El método se aplica únicamente en muestras o productos muy homogéneos.

Procedimiento

Se presenta un grupo de tres muestras codificadas a cada uno de los panelistas, dos de las cuales son idénticas, y se les solicita que señalen la muestra diferente.

Las muestras deberían presentarse en un número igual de veces en cada uno de los dos grupos de tres combinaciones diferentes, las cuales son:

BAA	ABA	AAB
ABB	BAB	BBA

La hipótesis nula es que no es posible diferenciar los dos productos. En este caso, la probabilidad p de identificar la muestra que es diferente de las otras dos es igual a $p_0 = 1/3$. En términos estadísticos, la hipótesis nula H_0 se expresa $p_0 = 1/3$.

La prueba es de una cola. El coordinador de la prueba quiere conocer si es posible distinguir entre los dos productos, de modo que rechazará la hipótesis nula a favor de la hipótesis alterna $p > 1/3$.

1.7 Prueba de elección forzada entre tres alternativas 3-AFC

La prueba de elección forzada entre tres alternativas es una variante de la prueba triangular en donde la misma muestra se usa siempre como el par.

La prueba 3 -AFC se utiliza con mayor frecuencia cuando las muestras varían en fuerza, pero no de carácter. La muestra que se sospecha que es más fuerte, casi siempre se utiliza como la única o la muestra "diferente". Además, en lugar de pedir a los panelistas seleccionar la muestra impar o par, se les pide que seleccione la muestra "más fuerte". La prueba 3 -AFC elimina problemas de percepción que pueden surgir cuando la muestra que es " fuerte " se utiliza como el par. El análisis de datos es similar a la prueba triangular. ^(10, 11)

Los umbrales se determinan de las siguientes maneras, de acuerdo con la norma ISO 13301:2002⁽¹⁰⁾:

Modelos matemáticos y estadísticos: en una prueba 3 –AFC^(10, 11) la probabilidad de que una respuesta seleccionada aleatoriamente sea correcta, es de 1/3, ya que solamente una de las tres opciones disponibles es correcta. De acuerdo con el modelo de umbral, la probabilidad de una respuesta correcta p_c , está entonces relacionada con la probabilidad de detección p_d , mediante:

$$p_c = \frac{2}{3}p_d + \frac{1}{3} \quad \text{Ecuación 1}$$

Debido a que en una proporción p_d , de pruebas, el estímulo es detectado y se da una respuesta correcta, mientras que en la proporción restante, $1 - p_d$, los evaluadores no pueden detectar el estímulo y deben hacer una elección al azar, con 1/3 de probabilidad de dar la respuesta correcta. Debido a que el umbral se define como la concentración del estímulo para la cual $p_d = 0,5$, se deduce que este es el valor para el cual $p_c = 0,67$.

La cantidad p_c son los datos observados, mientras que p_d es una deducción del modelo de umbral.

$$p_d = 1,5p_c - 0,5 \quad \text{Ecuación 2}$$

Cuando la proporción de elecciones correctas, p_c , en una serie de pruebas de diferencias repetidas en varias ocasiones a cada una de las concentraciones de los estímulos, se grafica contra las concentraciones.

$$p_c = \frac{\frac{2}{3}}{1 + e^{b(t-x)}} + \frac{1}{3} \quad \text{Ecuación 3}$$

En donde la concentración del estímulo se designa mediante x , mientras que los valores de t y b dependen de los datos. Cuando $x = t$, $p_d = 0,5$, de manera que t es el valor umbral del estímulo. El parámetro b determina el tamaño del cambio en x requerido para producir cualquier cambio particular en p_d , y así determina la pendiente.

Inspección preliminar de los datos: se lleva a cabo una inspección de los datos, numéricamente o mediante una gráfica de proporción de respuestas correctas, p_c , contra el log de concentración. Se observa si los resultados se ajustan a una curva sigmoide, y si las concentraciones probadas están por encima y por debajo del umbral estimado, como debería ser para que el umbral determinado sea confiable. Se estima el umbral visualmente y se decide si es lo suficientemente aceptable para el propósito previsto. De no ser éste el caso se procede a ajustar el modelo empleando la transformación logit o el método de máxima posibilidad⁽¹⁰⁾:

Estimación del umbral y la pendiente mediante el uso de la transformación logit: Se usa un software, como SAS, para encontrar la recta que mejor se ajusta a los datos. En éste procedimiento se transforma p_d a su forma *logit* mediante:

$$L_d = \log_c \left[\frac{p_d}{1-p_d} \right] \quad \text{Ecuación 4}$$

se combina la ecuación 4 con la ecuación 2 para expresar L_d en términos de p_c :

$$L_d = \log_c \left[\frac{p_c - \frac{1}{3}}{1-p_c} \right] \quad \text{Ecuación 5}$$

Sustituyendo la ecuación 3 en la ecuación 5 se obtiene:

$$L_d = b(t - x) \quad \text{Ecuación 6}$$

Se observa que L_d aumenta proporcionalmente con la intensidad de estímulo si p_c se ajusta bien a una curva sigmoide logística. Al llegar a este punto, hay que decidir si se completan los cálculos utilizando datos transformados o datos sin transformar. La gráfica no transformada de p_c frente a $\log x$ es casi lineal en su rango medio (zona central de los datos observados), y para el propósito de localizar el umbral, que es el punto donde $p_c = 2/3$, la transformación presenta pocas ventajas respecto a una curva sigmoide ajustada visualmente o una línea recta ajustada numéricamente en el rango medio de los datos de p_c .

En la escala transformada, el umbral es el logaritmo de la concentración a la cual $L_d = 0$. Su valor se estima a partir de una recta ajustada manualmente o ajustando

numéricamente una recta de regresión lineal. Los valores transformados próximos a las asíntotas pueden ser erróneos debido a que en esas zonas, cambios pequeños en las proporciones tienen grandes efectos. Por lo tanto, se deben ignorar valores de p_c inferiores a 0,43 y superiores a 0,9 (valores transformados de L_d inferiores a - 1,75 o superiores a 1,75) al ajustar la línea a la gráfica, a menos que el interés del experimento se centre en esta zona. La gráfica transformada permite una interpretación directa de los parámetros de la ecuación 3 ya que t es la intensidad del estímulo (en concentración logarítmica) a la que $L_d = 0$ mientras que b es la pendiente de la recta.

Procedimiento de máxima posibilidad para el ajuste de datos a un modelo logístico y para la estimación de los límites de error:

El principio de éste procedimiento para estimar los parámetros t y b es buscar los valores que producen el valor máximo de la función de posibilidad (la mejor línea recta). El procedimiento se puede llevar a cabo y los límites de error se pueden estimar con la ayuda de programas especializados o con una hoja de cálculo en Excel (*Solver*) o software equivalente. El procedimiento de posibilidad máxima encuentra, por ejemplo, el límite superior como un valor de t , de manera que hay una probabilidad de 0,05 de que el estimado sea mayor que éste.

El parámetro b : es equivalente a la pendiente de la recta ajustada. Esto es, para un panelista en particular, la precisión en la discriminación de cambios en el estímulo. Una persona con un valor de b alto es sensible a cambios pequeños en intensidad y podría ser muy importante en tareas de control de calidad y de seguimiento.

Intervalos de confianza para los parámetros estimados: pueden ser considerados como un rango de valores donde es posible encontrar el valor verdadero. Entre más pequeño es el intervalo más confiable es la estimación. La confiabilidad de los resultados se puede ampliar con el aumento de los datos y con la escogencia de concentraciones uniformemente espaciadas a lo largo de 0,25 a 4 veces el umbral.

Interpretación de los resultados: Los umbrales se pueden determinar para una variedad de propósitos. Los resultados más fáciles de interpretar y de comparar son los obtenidos para un solo evaluador. Las estadísticas obtenidas se pueden comparar entre evaluadores o entre sustancias, para cada evaluador.

Los datos de diferentes evaluadores o de diferentes sustancias se pueden comparar. La comparación entre sustancias o entre paneles para una sustancia dada se puede llevar a cabo mediante técnicas ANOVA normalizadas que usan como datos de entrada los estimados de t y b para los evaluadores individuales, siempre que todos los estimados se hayan obtenido de la misma manera, usando el mismo número de presentaciones.

Los umbrales individuales se pueden estimar de diseños experimentales en los cuales cada evaluador hace al menos una prueba a cada intensidad. Entonces el experimentador puede calcular los umbrales medios al igual que el umbral de grupo a partir de los datos combinados, y examinar la distribución de los umbrales.

El umbral de grupo de datos combinados y sus límites de error se pueden estimar de los datos obtenidos de un diseño en el cual cada panelista evalúa una sola presentación a una concentración, pero se requiere que el evaluador haga al menos una prueba a cada concentración.

P_ds diferente de 0,5: los niveles de efecto se pueden calcular de la curva logística encontrando las intensidades del estímulo correspondientes a los valores L_d de -2,94 y 2,94 respectivamente, y el valor requerido de L_d . Si se van a determinar los valores altos o los bajos, se debe asegurar de que hay una cantidad adecuada de datos en la región de interés, de manera que las intensidades pertinentes estén dentro del rango para el cual se obtienen los datos. El valor 0,5 está relacionado con la proporción de detección del 50%. Sin embargo, debe tenerse en cuenta la proporción de selecciones correctas, que para el caso de una metodología 3- AFC es igual a 2/3.

Por tanto, para determinar algún tipo de umbral mediante éste método debe graficarse la proporción de selecciones correctas contra el log de la concentración. El log de la concentración correspondiente a una proporción de selecciones correctas de 2/3 es el log del umbral.

Mejor umbral estimado (MUE): Este procedimiento se puede describir como un método riesgoso e impreciso para obtener un estimado aproximado del umbral de un panel. En la prueba 3- AFC hay una probabilidad de 1/3 de hacer una elección correcta a concentraciones por debajo del umbral, y una probabilidad de 1,0 a concentraciones por encima de él. El procedimiento es económico ya que solamente se entrega una presentación por concentración a cada evaluador. Los datos se tabulan en orden ascendente de concentración. Se calcula la MUE como la media geométrica de la mayor

concentración que falta y la concentración siguiente más alta. Se calcula el MUE para el grupo como la media geométrica del MUE individual.

1.8 Análisis sensorial en café ⁽¹⁹⁾

Este tipo de análisis es una técnica reproducible para identificar, cuantificar y describir las características de un producto y determinar su calidad sensorial; este es un método que permite evaluar tanto individualmente como integralmente las características sensoriales del café y las relaciones entre ellas.

En este análisis se evalúan características como aroma y sabor, tanto de atributos como de defectos y se emite adicionalmente una calificación integral que resume y agrupa el concepto del juez entrenado sobre la calidad de la muestra.

Para aplicar esta técnica es necesario realizar una selección inicial de las personas que participarán como catadores quienes posteriormente deben ser sometidos a un entrenamiento constante y exhaustivo, para garantizar la participación de personal idóneo que permita obtener resultados confiables para una interpretación adecuada.

Aplicaciones

Evaluar y caracterizar sensorialmente muestras de café verde, tostado y/o molido, extracto de café y café soluble.

Realizar el control de calidad de materias primas, del proceso o del producto terminado.

Mejorar o desarrollar un producto por mezclas o condiciones del proceso.

Estudiar la influencia de las condiciones de almacenamiento y conservación en el café y el efecto de las variaciones de los procesos a los que sea sometido.

Comparar una muestra de un producto con aquellos del mismo tipo existentes en el mercado.

La acidez es una de las principales cualidades del café, junto con otros atributos como el cuerpo y el aroma. Es una sensación originada por las sustancias ácidas del café que pasan a la bebida y son detectados en la cavidad bucal (donación del protón del ácido a los receptores de la lengua humana). Depende de la variedad, sistema de beneficio, región de cultivo, grado de tueste y materia prima, entre otros factores. Entre mayor sea el grado de tueste la acidez disminuye.⁽¹⁹⁾

Los ácidos encontrados en café tostado pueden ser clasificados en tres grupos: clorogénicos, carboxílicos alicíclicos y ácidos fenólicos.

La determinación de umbrales solo se realiza con paneles seleccionados y entrenados y que han demostrado agudeza en el trabajo de análisis sensorial. Los panelistas deben tener experiencia y entender el método y el objetivo de las pruebas. Lo aconsejable es que se seleccionen en función de su agudeza, sensibilidad y/o su desempeño previo en discriminación. La formación debe consistir en la participación en pruebas reales para familiarizar a los panelistas con los métodos, la terminología, escalas, hojas de registro y rangos de concentración en que pueden encontrarse los productos. Esta formación es necesaria para asegurar que todos los panelistas entienden los criterios y la terminología y debe continuar hasta que suficientes jueces hayan demostrado un desempeño confiable y consistente.⁽⁷⁾

Es importante conocer los umbrales de los catadores entrenados para conocer cuál es la concentración mínima a la que pueden detectar y diferenciar un estímulo determinado de un alimento y cuál es su concentración de saturación adicionalmente son criterios muy importantes para la selección del panel, ya que es importante que los catadores que conforman el panel tengan la capacidad de detección y discriminación necesaria de los estímulos en evaluación.

2. Materiales y Métodos

2.1 Materias primas y materiales

Las pruebas de determinación de los umbrales de detección, de reconocimiento, de diferencia y máximo, de sabor ácido, se realizaron con el panel entrenado de la Federación Nacional de Cafeteros – Almacafe-, allí suministraron el ácido cítrico, calidad grado USP, materia prima para preparar las soluciones del sabor ácido. El ácido cítrico que es uno de los componentes generadores de la acidez de café, fue obtenido a través de un distribuidor nacional. Se prepararon soluciones, con agua potable del acueducto de Bogotá, que se prefiltró a través de zeolitas y luego se pasó por un filtro con resina de intercambio catiónico. La calidad del agua utilizada se presenta en la tabla 1. Con éste tipo de agua se prepararon todas las soluciones de ácido cítrico. Las soluciones se prepararon en las siguientes concentraciones: 0,06, 0,12, 0,18, 0,24 y 0,30 g/L de ácido cítrico, para determinar los umbrales de detección, de determinación y de diferenciación. Para el umbral máximo se prepararon las siguientes concentraciones: 0,30, 0,60, 1,2, 2,4 y 4,8 g/L.

Tabla 1. Control periódico agua potable

pH	Cloro libre mg Cl ₂ /L	Alcalinidad total*	Dureza Total*	Hierro mg Fe/L	O ₂
7,12	0,82	78,60	14,24	0,15	1,1

* Concentración en mg CaCO₃/L. Información proporcionada por la Federación Nacional de Cafeteros- Almacafé-

2.2 Determinaciones de umbral

2.2.1 Validación de los integrantes del panel

Antes de la realización de los ensayos de determinación de umbral se validó la metodología para demostrar que los resultados de cada uno de los catadores y del grupo ⁽²³⁾, ⁽²⁴⁾ son repetibles y reproducibles.

La validación del método (Repetibilidad y Reproducibilidad) se llevó a cabo en seis sesiones diferentes.

Determinación de repetibilidad: Las presentaciones a los panelistas se realizaron de acuerdo con la metodología 3-AFC: Tres muestras en donde dos son iguales (sin el estímulo) y una tercera con el estímulo ácido en la concentración de 0,30 g/L de ácido cítrico que es una concentración promedio de ácido encontrada en los diferentes tipos de café y con la cual se asegura que los panelistas pueden identificarla y detectarla. Todas las muestras fueron identificadas con códigos aleatorios de tres dígitos. Se sirvieron el mismo día en cinco ocasiones. Ver A. Anexo.

Determinación de reproducibilidad: se presentaron juegos de tres muestras en donde dos son iguales (sin el estímulo) y una tercera con el estímulo ácido en la concentración de 0,30 g/L de ácido cítrico, Todas las muestras fueron identificadas con códigos aleatorios de tres dígitos. Se sirvieron el mismo día en tres ocasiones por cinco días diferentes. Ver B. Anexo.

- **Repetibilidad:** la desviación estándar de repetibilidad es calculada como el promedio de las desviaciones estándar en una sesión con cada concentración de ácido en café para cada panelista. Un panelista es considerado repetible cuando la desviación estándar de repetibilidad es menor o igual al valor de referencia en 50% del número total de aciertos.

- **Reproducibilidad:** la desviación estándar de reproducibilidad es calculada como la raíz cuadrada de la suma de las varianzas entre las cinco (5) sesiones más la varianza debida a la repetibilidad. La varianza entre sesiones es considerada como la varianza correspondiente al promedio de los valores registrados en las sesiones. Un panelista se considera calificado en reproducibilidad cuando se encuentra en 50% del número total de

aciertos, el valor de la desviación estándar de reproducibilidad es menor que el valor de referencia tomado.

La capacidad de discriminación se analizó por el método 3-AFC y se evaluó mediante la prueba Thurstoniana.

2.2.2 Metodología sensorial y estadística de los umbrales

Los umbrales se determinan de acuerdo con los parámetros del numeral 1.7.

3.2.2.1 Umbral de detección y Umbral de reconocimiento: se presentaron cinco sets de tríos con muestras con concentraciones ascendentes de acidez (0,06, 0,12, 0,18, 0,24, 0,30 g/L de ácido cítrico), codificadas con números de tres dígitos escogidos aleatoriamente, cada trio estaba conformado por dos muestras sin el estímulo ácido (agua potable para análisis sensorial) y la otra era una de las soluciones de ácido cítrico preparadas. Los panelistas escogieron la muestra en donde se detecta un sabor diferente y adicionalmente debían definir cuál es el sabor y lo consignaron. Ver C. Anexo.

3.2.2.2 Umbral de diferencia: se presentaron cinco sets de tríos, en donde se comparó la sensación de acidez, utilizando la metodología 3-AFC, la concentración de ácido se presentó en cada set de forma ascendente (0,06, 0,12, 0,18, 0,24, 0,30 g/L de ácido cítrico). Las muestras fueron codificadas con números de tres dígitos escogidos aleatoriamente. Cada trio estaba conformado por dos muestras sin el estímulo ácido (agua potable para análisis sensorial) y la tercera era una de las soluciones de ácido cítrico preparadas. Los panelistas escogieron de cada set la muestra que presentaba sabor ácido. Ver D. Anexo.

3.2.2.3 Umbral terminal o umbral máximo: se presentaron cinco sets de tríos, en los cuales se comparó la sensación de acidez utilizando la metodología 3-AFC, en donde la concentración de ácido fue cada vez el doble de la anterior, comenzando por la concentración más alta utilizada en 3.2.2.2., codificadas con números de tres dígitos escogidos aleatoriamente, con concentraciones ascendentes (0,30, 0,60, 1,20, 2,40 y 4,80 g/L de ácido cítrico). Cada trio estaba conformado por dos muestras sin el estímulo ácido (agua potable para análisis sensorial) y la tercera era una de las soluciones de ácido cítrico preparadas. La finalidad de esta prueba era determinar desde cuál

concentración cada panelista no encuentra diferencia con la siguiente concentración. Ver E. Anexo.

En cuanto es posible, se realiza estadística Thurstoniana de acuerdo con la Norma ASTM E 2262-03⁽²⁵⁾. Para ello se debe tener el número de aciertos de los panelistas (x), el número total de pruebas (n), se calcula una proporción ($p_c = x/n$) y se hace uso de las tablas X 1.5 y X1.6 de la norma mencionada anteriormente. Luego, se calcula un intervalo de confianza y se puede determinar si hay diferencias perceptibles entre cada una de las muestras y los blancos.

3. Resultados y Discusión

3.1 Validación de la metodología

La Tabla 2 muestra los resultados promedio de cinco determinaciones, para los siete integrantes del panel experto, y su respectiva desviación estándar.

Tabla 2. Repetibilidad de los integrantes del panel.

	Catador 1	Catador 2	Catador 3	Catador 4	Catador 5	Catador 6	Catador 7
Promedio	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DE	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

*Promedio de cinco determinaciones

En este caso, debido a que todos los panelistas tuvieron el 100% de aciertos, se puede decir que tienen respuestas repetibles en la determinación de ácido.

La Tabla 3 muestra los resultados promedio de tres determinaciones por día durante cinco días, para los siete integrantes del panel experto, y su respectiva desviación estándar. En todos los casos la desviación estándar fue cero ya que todos los panelistas tuvieron el 100% de aciertos en las presentaciones de las tres muestras (identificadas aleatoriamente con códigos numéricos de tres dígitos) en donde dos eran muestras blanco y una tercera con una concentración de ácido cítrico de 0,30 g/L que es una concentración promedio de ácido encontrada normalmente en café.

Tabla 3. Reproducibilidad de los integrantes del panel

	Catador 1	Catador 2	Catador 3	Catador 4	Catador 5	Catador 6	Catador 7
Promedio	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
DE	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

*Promedio por catador de cinco días, tres presentaciones por día.

En este caso, debido a que todos los panelistas tuvieron el 100% de aciertos, se puede decir que tienen respuestas reproducibles en la determinación de ácido. La explicación para que se hubiera obtenido el 100 % de aciertos tanto en repetibilidad como en reproducibilidad es que se trabajó con panelistas expertos y que la concentración trabajada para ésta validación es una concentración alta, de fácil percepción entre los participantes del panel.

3.2 Determinación de umbrales

3.2.1 Umbral de detección

La Tabla 4 contiene los aciertos de los panelistas para la determinación, en las concentraciones en orden ascendente, para la determinación del umbral de detección y el correspondiente valor del umbral para cada uno.

Tabla 4. Determinación de umbral de detección del grupo

	Concentraciones (g/L)						Umbral
	0	0,06	0,12	0,18	0,24	0,30	
Catador 1	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Catador 2	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Catador 3	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Catador 4	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Catador 5	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Catador 6	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Catador 7	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	+	0,060
Umbral de detección del grupo							0,060

En la determinación del umbral de detección, todos los panelistas detectaron algún estímulo desde la concentración más baja presentada (0,06 g/L de ácido cítrico), aun cuando varios de ellos no determinaron el estímulo al cual correspondía. En este caso el umbral de grupo corresponde al promedio de los umbrales determinados para cada uno de los panelistas.

Distancias Thurstonianas:

$$x=21$$

$$n=21$$

$$p_c=1$$

Cuando el número de aciertos de los panelistas es el mismo número de pruebas no se pueden calcular las distancias thurstonianas ya que no es posible explicar los resultados obtenidos puesto que la varianza da un valor más alto que δ .

3.2.2 Umbral de identificación (reconocimiento)

La Tabla 5 contiene todos los aciertos y desaciertos obtenidos por los panelistas en la identificación del sabor ácido en las concentraciones ascendentes presentadas y el respectivo valor del umbral individual y del grupo. El signo (+) indica los aciertos y el número cero (0), los desaciertos por parte de los panelistas.

Tabla 5. Determinación de umbral de identificación o reconocimiento del grupo

	Concentraciones (g/L)					Umbral
	0,06	0,12	0,18	0,24	0,30	
Catador 1	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	0,060
Catador 2	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	0,060
Catador 3	0	+	+	+	+	
	0	+	+	+	+	
	0	+	+	+	+	0,120
Catador 4	0	+	+	+	+	
	0	0	+	+	+	
	0	+	+	+	0	0,140
Catador 5	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	0,060
Catador 6	0	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	
	+	0	+	+	+	0,120
Catador 7	0	+	+	+	+	
	0	+	+	+	+	
	+	+	+	+	+	0,100
Umbral de grupo						0,089

Para la determinación del umbral de reconocimiento, éste se calcula como un promedio de las concentraciones en donde cada catador pudo reconocer el sabor ácido. Por ejemplo, el catador 2, en los tres sets de muestras reconoció el sabor ácido desde la concentración de 0,06 g/L, por tanto, el umbral de reconocimiento es de 0,06 g/L. El catador 4 reconoció el sabor ácido en dos ocasiones desde 0,12 g/L y una ocasión desde 0,18 g/L, entonces el umbral de reconocimiento para el catador 4 es:

$$\text{Umbral de reconocimiento} = \sqrt[3]{0,12 \times 0,12 \times 0,18} = 0,14 \frac{g}{L}.$$

El umbral para el grupo es la media geométrica de los umbrales de todos los catadores y corresponde a 0,089 g/L.

Cálculo de distancias Thurstonianas:

$$x=12$$

$$n= 21$$

$$p_c= 12/21= 0,5714 \text{ (x}10^4\text{)}= 5714$$

Se buscó en la tabla X1.5 en la norma ASTM E 2262⁽²⁵⁾ y el valor más cercano a 5714 y éste se encontró en la fila 0,7 y en la columna 0,09 por lo que el valor estimado de $\bar{d}$ es $d'=0,79$. Para calcular la varianza de d' se buscó el valor de B en la tabla X1.6, B= 2,6783.

$$\text{Y se completó el cálculo con: } S^2(d') = B/n = 2,6783/21= 0,1275$$

Prueba si $\bar{d}$ es significativamente diferente de cero= Se asume hipótesis nula de no haber diferencias perceptibles en acidez (Esto es, $\bar{d} = 0$), la probabilidad de una respuesta correcta en una prueba 3-AFC H_0 : $P = 1/3$. La probabilidad binomial de observar $x = 12$ o más respuestas correctas de $n = 21$ cuando no existen diferencias es P-Valor = 0,014 (Calculado por medio de DISTR.BINOM.N de Excel). Se elige para la prueba el 10 % del nivel de significancia. Puesto que el P-valor observado es menor que 0,10, se llega a la conclusión de que las muestras son notablemente diferentes y que la muestra de ensayo es más ácida que la muestra control. Se calculó el límite de confianza 90% de dos colas, con:

$$LCL_{90\%} = d' \pm Z_{\alpha/2} \times S(d')$$

$$= 0,79 \pm 1,65 * \sqrt{0,1275}$$

$$= 0,79 \pm 0,5892 (0,20, 1,379)$$

El valor más bajo del límite de confianza es mayor a cero, es decir que hay una diferencia perceptible entre las muestras y los blancos (o muestras control).

3.2.3 Umbral de diferenciación

La Tabla 6 incluye los aciertos y desaciertos de cada uno de los panelistas, así como los valores de los umbrales de diferenciación obtenidos individualmente y en forma grupal.

Tabla 6. Determinación de umbral de diferenciación individual y del grupo por MUE

	Concentraciones (g/L)					MUE	log10	Promedio	Umbral
	0,06	0,12	0,18	0,24	0,30				
Catador 1	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222	-1,222	0,060
Catador 2	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222	-1,222	0,060
Catador 3	0	+	+	+	+	0,085	-1,071		
	0	+	+	+	+	0,085	-1,071		
	0	+	+	+	+	0,085	-1,071	-1,071	0,085
Catador 4	0	+	+	+	+	0,085	-1,071		
	0	0	+	+	+	0,147	-0,833		
	0	+	+	+	0	0,085	-1,071	-0,992	0,102
Catador 5	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222	-1,222	0,060
Catador 6	0	+	+	+	+	0,085	-1,071		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222		
	+	0	+	+	+	0,147	-0,833	-1,042	0,091
Catador 7	0	+	+	+	+	0,085	-1,071		
	0	+	+	+	+	0,085	-1,071		
	+	+	+	+	+	0,060	-1,222	-1,122	0,076
Umbral de grupo							-23,677	-1,127	0,075
Desviación estándar									0,017

Los MUE para cada evaluador se calculan como la media geométrica de la concentración faltante y la concentración siguiente más alta. Los logaritmos de las concentraciones se suman, se promedian y el antilogaritmo es el umbral del grupo, 0,075 g/L. La desviación estándar, 0,017 g/L, de los umbrales de los catadores es una medida de la dispersión de los umbrales de diferenciación entre panelistas.

Cálculo de distancias Thurstonianas:

$$x=12$$

$$n= 21$$

$$p_c= 12/21= 0,5714 \text{ (} \times 10^4 \text{)}= 5714$$

Se buscó en la tabla X1.5 en la norma ASTM E 2262⁽²⁵⁾ y el valor más cercano a 5714 y éste se encontró en la fila 0,7 y en la columna 0,09 por lo que el valor estimado de δ es $d'=0,79$. Para calcular la varianza de d' se buscó el valor de B en la tabla X1.6, B= 2,6783.

Y se completó el cálculo con: $S^2(d') = B/n = 2,6783/21= 0,1275$

Prueba si δ es significativamente diferente de cero= Se asume hipótesis nula de no haber diferencias perceptibles en acidez (Esto es, $\delta = 0$), la probabilidad de una respuesta correcta en una prueba 3-AFC $H_0: P = 1/3$. La probabilidad binomial de observar $x = 12$ o más respuestas correctas de $n = 21$ cuando no existen diferencias es P-Valor = 0,014 (Calculado por medio de DISTR.BINOM.N de Excel). Se elige para la prueba el 10 % del nivel de significancia. Puesto que el P-valor observado es menor que 0,10, se llega a la conclusión de que las muestras son notablemente diferentes y que la muestra de ensayo es más ácida que la muestra control. Se calculó el límite de confianza 90% de dos colas, con:

$$LCL_{90\%} = d' \pm Z_{\alpha/2} \times S(d')$$

$$= 0,79 \pm 1,65 * \sqrt{0,1275}$$

$$= 0,79 \pm 0,5892 \text{ (0,20, 1,379)}$$

El valor más bajo del límite de confianza es mayor a cero, es decir que hay una diferencia perceptible entre las muestras y los blancos (o muestras control).

3.2.4 Umbral máximo

La Tabla 7 contiene los aciertos y desaciertos de los panelistas, en la determinación del umbral máximo.

Tabla 7. Determinación de umbral máximo del grupo

	Concentraciones (g/L)				
	0,30	0,60	1,2	2,4	4,8
Catador 1	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
Catador 2	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
Catador 3	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
Catador 4	+	+	+	+	0
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
Catador 5	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
Catador 6	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
Catador 7	+	+		+	
	+	+	+		+
	+	+	+	+	+

De acuerdo con los resultados obtenidos por el panel certificado de la Federación Nacional de Cafeteros –Almacafé-, el umbral máximo no puede determinarse ya que todos coinciden en que las concentraciones siguen aumentando desde 0,30 g/L hasta 4,8 g/L. Lo siguiente sería preparar concentraciones superiores que aumentan dos veces la anterior; es decir, una concentración de 9,6 g/L, de 19,2 g/L y así sucesivamente. Sin embargo, en la concentración máxima permitida de ácido no supera los 5,0 g/L, de

acuerdo con el Codex alimentarius⁽²⁶⁾, lo que significa que estas concentraciones tan elevadas no deben ser utilizadas para trabajos en análisis sensorial.

Prueba si δ es significativamente diferente de cero= Se asume hipótesis nula de no haber diferencias perceptibles en acidez (Esto es, $\delta = 0$), la probabilidad de una respuesta correcta en una prueba 3-AFC $H_0: P = 1/3$. La probabilidad binomial de observar $x = 12$ o más respuestas correctas de $n = 21$ cuando no existen diferencias es P-Valor = 0,014 (Calculado por medio de DISTR.BINOM.N de Excel).. Se elige para la prueba el 10 % del nivel de significancia. Puesto que el P-valor observado es menor que 0,10, se llega a la conclusión de que las muestras son notablemente diferentes y que la muestra de control es más ácida que la muestra de ensayo. Se calculó el límite de confianza 90% de dos colas, con:

Cálculo de distancias Thurstonianas:

$$x=19$$

$$n= 21$$

$$p_c= 19/21= 0,9048 \text{ (} \times 10^4 \text{)}=9048$$

Se buscó en la tabla X1.5 en la norma ASTM E 2262⁽²⁵⁾ y el valor más cercano correspondió en la fila a 2,2 y en la columna a 0,07 por lo que el valor estimado de δ es $d'=2,27$. Para calcular la varianza de d' se buscó el valor de B en la tabla X1.6, $B= 5,2346$.

Y se completó el cálculo con: $S^2(d') = B/n = 5,2346/21= 0,2493$

Prueba si δ es significativamente diferente de cero = Se asume hipótesis nula de no haber diferencias perceptibles en acidez (Esto es, $\delta = 0$), la probabilidad de una respuesta correcta en una prueba 3-AFC $H_0: P = 1/3$. La probabilidad binomial de observar $x = 19$ o más respuestas correctas de $n = 21$ cuando no existen diferencias es P-Valor = 0,0081. Se elige para la prueba el 10 % del nivel de significancia. Puesto que el P-valor observado es menor que 0,10, se llega a la conclusión de que las muestras son notablemente diferentes y que la muestra de ensayo es más ácida que la muestra control. Se calculó el límite de confianza 90% de dos colas, con:

$$LCL_{90\%} = d' \pm Z_{\alpha/2} \times S(d')$$

$$= 2,27 \pm 1,65 * \sqrt{0,2493}$$

$$= 2,27 \pm 0,8238 (1,45, 3,0938)$$

El valor más bajo del límite de confianza es mayor a cero, es decir que hay una diferencia perceptible entre las muestras y los blancos (o muestras control)

3.2.5 Método gráfico. Evaluación visual. P_dS diferente de 0,5

El umbral de diferenciación se determinó por el método gráfico por evaluación visual. El gráfico 1 se construyó con la proporción del número de aciertos vs el logaritmo de las concentraciones presentadas y el umbral se determinó, haciendo uso de la ecuación de la recta.

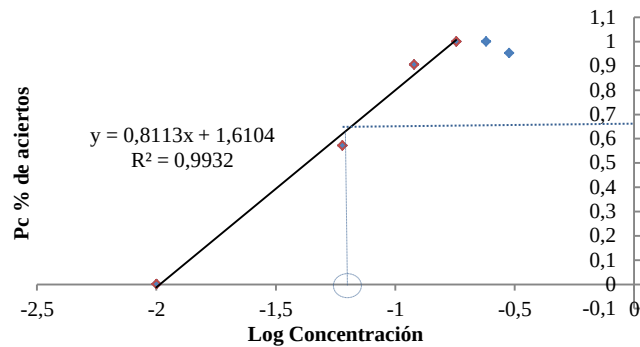


Gráfico 1. Evaluación visual. Pc vs Log concentración.

El umbral es el punto donde $p_c = 2/3$.

$$\text{Umbral de diferenciación} = (0,6666 - 1,6104) / 0,8113 = -1,1633$$

$$\text{Umbral de diferenciación} = \text{Potencia}(10; -1,1633) = 0,069 \text{ g/L de ácido cítrico.}$$

3.2.6 Cálculo de posibilidad máxima mediante hoja de cálculo en Excel y Solver

Mediante este método se pudo determinar el umbral de diferenciación y los límites usando una hoja de cálculo en Excel y la herramienta de análisis Solver. La Tabla 8 incluye los resultados de los cálculos realizados de acuerdo con el F. Anexo.

Tabla 8. Hoja de cálculo para ajustar los datos a la logística y calcular los límites de error del estimado del umbral

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
					<i>Modelo óptimo</i>		<i>Límite inferior</i>						<i>Límite superior</i>			
Conc (g/L)	ln(C)	n	r	P _{obs}	P _{est}	Posibilidad	P _{est}	Posibilidad	P _{est}	Posibilidad	P _{est}	Posibilidad	P _{est}	Posibilidad	P _{est}	Posibilidad
0,06	-2,81	21	12	0,571	0,500	-14,557	0,793	-16,959	0,786	-16,766	0,701	-15,129	0,601	-14,379	0,599	-14,374
0,12	-2,12	21	19	0,905	0,599	-11,558	0,881	-6,665	0,928	-6,682	0,881	-6,665	0,896	-6,613	0,895	-6,615
0,18	-1,71	21	21	1,000	0,667	-8,515	0,918	-1,797	0,966	-0,726	0,94	-1,299	0,966	-0,726	0,966	-0,726
0,24	-1,43	21	21	1,000	0,713	-7,103	0,937	-1,367	0,98	-0,424	0,964	-0,770	0,985	-0,317	0,985	-0,317
0,30	-1,20	21	20	0,952	0,750	-7,143	0,949	-4,023	0,987	-4,605	0,976	-4,216	0,992	-4,989	0,992	-4,989
				Suma Posibilidad		-48,875		-30,811		-29,203		-28,079		-27,024		-27,021
						Desviación		-36,12846		-3,216		-2,248		-2,11		-0,006
					Ln(t)	b	x	b	x	b	x	b	x	b	x	b
					-1,71	1	-3,5627	1,0575	-3,19	1,9722	-2,92	1,9156	-2,679	3,025	-2,6737	3,0241
Umbral (g/L)							0,0284		0,0412		0,0540		0,0686		0,0690	

3. Resultados y Discusión

En la Tabla 8. Hoja de cálculo para ajustar los datos a la logística y calcular los límites de error del estimado del umbral, las columnas de la A a D contienen los datos experimentales. En la columna A están las concentraciones de ácido cítrico en g/L. En la columna B, los logaritmos naturales de las concentraciones. En la columna C se encuentra el número de muestras presentadas en cada concentración y en D, el número de aciertos. En la columna E se calculó la proporción de selecciones correctas (P_{obs}) y en las columnas F y G los cálculos para ajustar la logística que está definida por los parámetros t y b .

Para aplicar el *Solver* se ingresaron unos estimados preliminares de umbral y de la pendiente. El estimado preliminar de umbral se ajustó aproximadamente al punto medio del rango de concentraciones y la pendiente a 1 debido a que se usaron logaritmos naturales en la columna B. El *Solver* se activó desde las opciones de Excel, en complementos, en donde fue necesario dar las especificaciones de las celdas variables y la celda que contiene el valor que se maximiza. Se realizaron iteraciones hasta que el *Solver* se detuvo. El umbral de diferenciación determinado con el uso de *Solver* fue:

$$Umbral\ de\ diferenciación = 0,069\ g/L$$

3.2.7 Calculo alternativo de regresión lineal usando SAS

Se realizó un cálculo alternativo del umbral de diferenciación haciendo uso de SAS (Ver G. Anexo). Los resultados obtenidos, haciendo uso del software se muestran en las Tabla 9, 10 y 11.

Tabla 9. Resultados análisis de Varianza SAS

Análisis de la varianza					
Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	1	4,70840	4,70840	6,81	0,2330
Error	1	0,69153	0,69153		
Total corregido	2	5,39994			

Tabla 10. Resultados Estimadores de parámetros SAS

Estimadores de parámetros					
Variable	DF	Estimador del parámetro	Error estándar	Valor t	Pr > t
Intercept	1	5,14471	1,56562	3,29	0,1881
LOG_C	1	1,90060	0,72838	2,61	0,2330

Tabla 11. Resultados Estimadores de parámetros y umbral SAS

Obs	Intercept	LOG_C	LOG_T	UMBRAL
1	5,14471	1,90060	-2,70689	0,066744

De los resultados anteriores se puede decir que el modelo de regresión es:

$$LOGIT = 1,90060 \log(C) + 5,144471$$

El umbral es la concentración a la cual LOGIT=0, por lo tanto:

$$Umbral\ de\ diferenciación = 0,067\ g/L$$

En la Tabla 12 se presentan los resultados obtenidos para los umbrales de diferenciación por los diferentes métodos trabajados en la norma ISO 13301.

Tabla 12. Umbral de diferenciación determinado por los diferentes métodos

MUE, g/L	Método gráfico, g/L	Solver, g/L	SAS, g/L
0,075	0,069	0,069	0,067

Se puede observar que los resultados del método gráfico, el obtenido por Solver y por SAS son muy similares, mientras que el obtenido por MUE está un poco más alejado porque este valor depende directamente de los umbrales de los panelistas, en cambio los otros métodos dependen del número de aciertos sin importar los umbrales individuales y además se basan en el mismo principio que es el de encontrar la mejor línea recta que dé explicación a los resultados obtenidos.

Todos los métodos pueden ser utilizados para determinar los umbrales de los catadores y del grupo de panelistas lo importante es tener un número considerable de determinaciones por catador para así realizar su aplicación.

4. Conclusiones

- Se realizó un trabajo que sirve como instrumento para que los jueces - evaluadores sensoriales puedan determinar los umbrales de los diferentes atributos de un alimento.
- Un panel debe estar entrenado en el atributo y mostrar repetibilidad y reproducibilidad para realizar la determinación de los umbrales de ese atributo.
- La determinación de los umbrales por el método 3- AFC es mejor método por que el indicar a los panelistas una sola sensación permite mayor concentración y posee mayor robustez estadística que los métodos 2-AFC ya que se aumenta la confiabilidad de los resultados obtenidos.
- De acuerdo con los resultados obtenidos, se puede inferir que los diferentes tipos de umbrales pueden ser calculados: por MUE, el método gráfico, Evaluación visual, PdS diferente de 0,5, el cálculo de posibilidad máxima mediante hoja de cálculo en Excel, Solver y, el cálculo alternativo de regresión lineal usando SAS, debido a que el valor numérico obtenido es estadísticamente comparable.
- Es esencial la determinación de todos los umbrales en cada evaluador y cada atributo, para conocer si se tiene un buen catador puesto que el umbral de detección permite determinar la concentración en la cual el atributo se pueda percibir aunque no identificar, el de identificación para determinar la concentración en la cual el catador percibe e identifica el estímulo, el de diferenciación para determinar la concentración en la cual se pueden diferenciar concentraciones del estímulo y el umbral máximo, la concentración en la cual los panelistas son saturados por el estímulo.

5. Recomendaciones

- Evaluar repetibilidad y reproducibilidad en diferentes niveles de concentración del intervalo de trabajo, preferiblemente en concentraciones bajas, con el fin de asegurar previamente a los ensayos de determinación de umbral, que los evaluadores tienen la capacidad de discriminación del atributo en cuestión y se pueda decidir en la calidad y cantidad de evaluadores para determinar un umbral confiable.
- Utilizar el método 4- AFC en la determinación de umbrales y comparar los resultados con los obtenidos con 3-AFC.
- Aplicar este trabajo como una guía para la determinación de umbrales de atributos sensoriales de un alimento de acuerdo a lo reglamentado por la Norma ISO 13301:2002.
- Revisar el uso del software R, en lugar de SAS, para la determinación de los Umbrales sensoriales.

Bibliografía

1. American Society for Testing Materials, ASTM. (2004) E679. Standard Practice for Determination of Odor and Taste Thresholds By a Forced-Choice Ascending Concentration Series Method of Limits. ASTM International; p. 7. DOI: 10.1520/E0679-04R11
2. Lawless H., Heymann H. (2010) Measurement of Sensory Thresholds. In: Series FST, editor. Sensory Evaluation of Food. Second ed. New York: Springer, p. 603. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7843-7_6
3. American Society for Testing Materials, ASTM (2013). E253. Standard Terminology Relating to Sensory Evaluation of Materials and Products. ASTM International; p. 6. DOI: 10.1520/E0253-17
4. American Society for Testing Materials, ASTM. (2005) Sensory Testing Methods, MNL 26. Second ed. Lancaster: ASTM International. p. 120.
5. Lawless H. (2013) Quantitative Sensory Analysis - Psychophysics, Models and Intelligent Design. John Wiley & Sons, Ltd. p 416.
6. American Society for Testing Materials, ASTM. (2004) E1432. Standard Practice for Defining and Calculating Individual and Group Sensory Thresholds from Forced-Choice Data Sets of Intermediate Size. ASTM International; p. 8. DOI: 10.1520/E1432-04R11
7. American Society for Testing Materials, ASTM. (2004) STP 758. Guidelines for the Selection and Training of Sensory Panel Members. ASTM International; p. 43.
8. Macmillan N., Creelman C. (2005). Detection Theory, A User's Guide. Second ed. London: Lawrence Erlbaum Associates, publishers. p 391.

9. Frijters J. (1980) Three-stimulus procedures in olfactory psychophysics: An experimental comparison of Thurstone-Ura and Three-Alternative Forced-Choice models of Signal Detection Theory. *Percept. Psychophys.* 28(5), 390–397. DOI: <https://doi.org/10.3758/BF03204882>
10. International Organization for Standardization, ISO. (2002) ISO 13301:2002. Sensory analysis - Methodology - General guidance for measuring odour, flavour and taste detection thresholds by a three-alternative forced-choice (3-AFC) procedure. ISO. Available from: <http://www.iso.org/iso/home/search.htm?qt=13301&sort=rel&type=simple&published=on>.
11. ICONTEC, Normas Técnicas Colombianas GTC 255:2015. Análisis sensorial. Metodología. Guía general para la medición de los umbrales de detección de olor, sabor y gusto mediante un procedimiento de elección forzada entre tres alternativas (3-AFC). Icontec; p. 33.
12. Powers J., Ware G. (1976) Comparison of Sigmpplot, Probit and Extreme-Value methods for the analysis of threshold data. *Chem. Senses and Flavor.* 2(2), 241–253. DOI: <https://doi.org/10.1093/chemse/2.2.241>
13. Kelly F., Heymann H. (1989) Contrasting the effect of ingestion and expectoration in sensory difference tests. *J. Sensory Stud.* 3(4), 249–255. DOI: 10.1111/j.1745-459X.1989.tb00448.x
14. Bi J., Ennis D. (1998) Sensory thresholds: Concepts and methods. *J. Sensory Stud.* 13, 133–148. DOI: 10.1111/j.1745-459X.1998.tb00079.x
15. Meilgaard M., Carr T. Civille G. (1999) *Sensory Evaluation Techniques*. Third Ed. New York. CRC Press. p. 382
16. American Society for Testing Materials, ASTM. (2004) E1885. Standard Test Method for Sensory Analysis – Triangle Test. ASTM International; p. 8. DOI: 10.1520/E1885-04R11
17. ICONTEC, Normas Técnicas Colombianas (2007) GTC 615 . Análisis Sensorial. Metodología. Guía General. Icontec; p. 32.
18. American Society for Testing Materials, ASTM (2008). E2610. Standard Test Method for Sensory Analysis – Duo Trio Test. ASTM International; p. 10. DOI: 10.1520/E2610-08R11

19. ICONTEC, Normas Técnicas Colombianas (2010) NTC 4883. Análisis Sensorial Café. Metodología para Análisis Sensorial Cuantitativo Descriptivo del Café. Icontec; p. 10.
20. ICONTEC, Normas Técnicas Colombianas (2009) NTC 3930. Análisis Sensorial. Metodología. Ordenamiento de Acuerdo con un Criterio Específico. Icontec; p. 25.
21. ICONTEC, Normas Técnicas Colombianas (2004) NTC 5247. Café Tostado, en Grano o Molido. Determinación de la Acidez Titulable. Icontec; p. 7.
22. ICONTEC, Normas Técnicas Colombianas (1997) NTC 4159. Café Soluble. Icontec; p. 10.
23. Etaio I.; Albisu M. (2010) Sensory quality control for food certification: A case study on wine. Panel training and qualification, method validation and monitoring. Food Control 21; p. 6. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.08.011>
24. Pérez E.; Ojeda M. (2007) Food quality certification: An approach for the development of accredited sensory evaluation methods. Food Quality and Preference 18. p. 14. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2006.05.002>
25. American Society for Testing Materials (2003), ASTM. E2262-03. Standard Practice for Estimating Thurstonian Discriminal Distances. ASTM International; p. 47. DOI: 10.1520/E2262-03R14.
26. Norma General del Codex para Zumos (jugos) y Néctares de Frutas. CODEX STAN 247-2005.

A. Anexo: Hoja maestra para realizar la prueba de repetibilidad. (Conc. en g/L)

Fecha Prueba N°

Grupo	Concentración, g/L		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	<i>0</i>	<i>0,30</i>	<i>0</i>
	123	245	878
2	<i>0,30</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
	347	786	798
3	<i>0,30</i>	<i>0</i>	<i>0</i>
	098	056	149
4	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>0,30</i>
	198	067	987
5	<i>0</i>	<i>0,30</i>	<i>0</i>
	563	223	765

Formato para consignar resultados para repetibilidad.

Nombre

Fecha

Prueba N°

Hoja de respuesta

Pruebe las muestras de izquierda a derecha. (Compruebe que los números de la clave coinciden con los de sus muestras.)

Marque con un círculo el número de la muestra en cada trio que presenta el estímulo ácido. Espere unos 30 segundos antes de pasar al siguiente.

1	123	245	878
2	347	786	798
3	098	056	149
4	198	067	987
5	563	223	765

Comentarios

GRACIAS POR SU COLABORACION

B. Anexo: Hoja maestra para realizar las pruebas de reproducibilidad. (Concentración en g/L)

Fecha Prueba N°

Grupo	Concentración, g/L		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	0,30	0	0
	310	427	280
2	0	0	0,30
	602	389	725
3	0	0,30	0
	313	918	015

Formato para consignar resultados para reproducibilidad.

Nombre

Fecha

Prueba N°

Hoja de respuesta

Pruebe las muestras de izquierda a derecha. (Verifique que los números de la clave coinciden con los de sus muestras.)

Marque con un círculo el número de la muestra en cada trio que presenta el sabor ácido. Espere unos 30 segundos antes de pasar al siguiente.

1 310 427 280

2 602 389 725

3 313 918 015

Comentarios

GRACIAS POR SU COLABORACION

C.Anexo: Hoja maestra para las pruebas de determinación del umbral de detección y de reconocimiento. (Concentración en g/L)

Fecha Prueba N°

Grupo	Concentración, g/L		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	0	0,06	0
	580	555	454
2	0	0	0,12
	416	860	810
3	0,18	0	0
	302	722	955
4	0	0	0,24
	024	083	861
5	0	0,30	0
	932	185	570

Formato para consignar resultados para umbral de detección y de reconocimiento.

Nombre

Fecha

Prueba N°

Hoja de respuesta

Pruebe las muestras de izquierda a derecha. (Compruebe que los números de la clave coinciden con los de sus muestras.)

Marque con un círculo el número de la muestra en cada trio que considera que tiene sabor diferente y especifique qué tipo de estímulo considera que es. Espere unos 30 segundos antes de pasar al siguiente.

1	580	555	454	defina qué sabor es.	_____
2	416	860	810	defina qué sabor es.	_____
3	302	722	955	defina qué sabor es.	_____
4	024	083	861	defina qué sabor es.	_____
5	932	185	570	defina qué sabor es.	_____

Comentarios

GRACIAS POR SU COLABORACION

D.Anexo: Hoja maestra para la determinación del umbral de diferenciación. (Concentración en g/L)

Fecha Prueba N°

Grupo	Concentración, g/L		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	0	0,06	0
	010	474	994
2	0,12	0	0
	286	874	876
3	0	0	0,18
	184	748	717
4	0	0,24	0
	515	201	031
5	0,30	0	0
	837	856	600

Formato para consignar resultados para umbral de diferenciación.

Nombre

Fecha

Prueba N°

Hoja de respuesta

Pruebe las muestras de izquierda a derecha. (Compruebe que los números de la clave coinciden con los de sus muestras.)

Marque con un círculo el número de la muestra en cada trio que presenta sabor ácido. Espere unos 30 segundos antes de pasar a la siguiente solución.

1	010	474	994
2	286	874	876
3	184	748	717
4	515	201	031
5	837	856	600

Comentarios

GRACIAS POR SU COLABORACION

E. Anexo: Hoja maestra para la determinación del umbral máximo. (Concentración en g/L)

Fecha Prueba N°

Grupo	Concentración, g/L		
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
1	0,30	0	0
	128	029	375
2	0	0	0,60
	722	398	865
3	0	1,20	0
	702	410	256
4	0	0	2,40
	972	010	896
5	0	4,80	0
	084	362	508

Formato para consignar resultados para umbral máximo.

Nombre

Fecha

Prueba N°

Hoja de respuesta

Pruebe las muestras de izquierda a derecha. (Compruebe que los números de la clave coinciden con los de sus muestras.)

Marque con un círculo el número de la muestra en cada trio que presenta sabor ácido e indique dónde comienza a percibir constante éste estímulo. Espere unos 30 segundos antes de pasar al siguiente.

1	128	029	375	_____
2	722	398	865	_____
3	702	410	256	_____
4	972	010	896	_____
5	084	362	508	_____

Comentarios

GRACIAS POR SU COLABORACION

F. Anexo: Fórmulas hoja cálculo y Solver

Tabla 13. Fórmulas empleadas en la hoja de cálculo en Excel para estimar el umbral por la ejecución de *Solver*.

Columna	Fórmula
A	Concentración
B	=Ln(A)
C	# Presentaciones
D	# Aciertos
E	=D3/C3
F	$(2/3)/(\text{EXP}(G\$12*(F\$12-\$B3))+1)+(1/3)$
G	$\$D3*\text{LN}(F3)+(\$C3-\$D3)*\text{LN}(1-F3)$
H	$(2/3)/(\text{EXP}(I\$12*(H\$12-\$B3))+1)+(1/3)$
I	$\$D3*\text{LN}(H3)+(\$C3-\$D3)*\text{LN}(1-H3)$
J	$(2/3)/(\text{EXP}(K\$12*(J\$12-\$B3))+1)+(1/3)$
K	$\$D3*\text{LN}(J3)+(\$C3-\$D3)*\text{LN}(1-J3)$

Tabla 14. Datos parciales de la ejecución del Solver.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1						Modelo óptimo		Límite inferior	
2	Conc (g/L)	ln(C)	n	r	P_{obs}	P_{est}	Posibilidad	P_{est}	Posibilidad
3	0,06	-2,81	21	12	0,571	0,500	-14,557	0,793	-16,959
4	0,12	-2,12	21	19	0,905	0,599	-11,558	0,881	-6,665
5	0,18	-1,71	21	21	1,000	0,667	-8,515	0,918	-1,797
6	0,24	-1,43	21	21	1,000	0,713	-7,103	0,937	-1,367
7	0,30	-1,20	21	20	0,952	0,750	-7,143	0,949	-4,023
8				Suma Posibilidad			-48,875		-30,811
9									
10							Desviación		-36,12846
11						Ln(t)	b	x	b
12						-1,71	1	-3,5627	1,0575
13									
14	Umbral (g/L)							0,0284	

Cálculos empleados para la concentración de 0,06 g/mL:

B: $\ln(0,06) = -2,81$

C: $n=21$

D: $r=12$

E: $P_{obs} = \left(\frac{12}{21}\right) = 0,571$

F: $P_{est} = \frac{\left(\frac{2}{3}\right)}{\left(\text{EXP}\left(1*(-1,71-(-2,81))\right)+1\right)} + \frac{1}{3} = 0,500$

G: $\text{Posibilidad} = [12 * \ln(0,500)] + [(21 - 12) * \ln(1 - 0,500)] = -14,557$

Con estos primeros datos se ejecutó el Solver y de allí se derivan dos estimados que son utilizados para el cálculo en H y en I. Luego se ejecutó nuevamente el solver y hay dos estimados más para los cálculos en J y en K, y así sucesivamente hasta que la ejecución se detuvo.

H: $P_{est} = \frac{\left(\frac{2}{3}\right)}{\left(\text{EXP}\left(1,0575*(-3,5627-(-2,81))\right)+1\right)} + \frac{1}{3} = 0,793$

$$\text{I: Posibilidad} = [12 * \ln(0,793)] + [(21 - 12) * \ln(1 - 0,793)] = -16,959$$

$$\text{J: } P_{est} = \frac{\binom{2}{3}}{\left(\text{EXP}\left(\textcolor{red}{1,9722} * (\textcolor{red}{-3,19} - (-2,81))\right) + 1\right)} + \frac{1}{3} = 0,786$$

$$\text{K: Posibilidad} = [12 * \ln(0,786)] + [(21 - 12) * \ln(1 - 0,786)] = -16,766$$

G. Anexo: Comandos para cálculo alternativo usando regresión lineal por SAS

```
TITLE "Logistic Regression of Threshold Data";
DATA INPUT;
INPUT CONC R N;
P=MAX((R/N), (1/3));
LOGIT=LOG((P-(1/3))/(1-P));
LOG_C=LOG(CONC);
CARDS;
0.06 12 21
0.12 19 21
0.18 21 21
0.24 21 21
0.30 20 21
;
RUN;
DATA TRIMMED;
SET INPUT;
IF LOGIT GE -1.75 AND LOGIT LE 2.84;
RUN;
PROC REG DATA=TRIMMED OUTEST=EST;
MODEL LOGIT=LOG_C;
RUN;
DATA EST;
SET EST;
LOG_T=-INTERCEPT/LOG_C;
UMBRAL=EXP(LOG_T);
RUN;
PROC PRINT DATA=EST;
VAR INTERCEPT LOG_C LOG_T UMBRAL;
RUN;
```