

TESIS DE LA UNIVERSIDAD
DE ZARAGOZA

2023 204

Ignacio Arias Pérez

Estudio químico-sensorial del verdor aromático en vinos tintos

Director/es

Ferreira González, Vicente
Escudero Carra, Ana

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>

ISSN 2254-7606



Premsas de la Universidad
Universidad Zaragoza

Tesis Doctoral

ESTUDIO QUÍMICO-SENSORIAL DEL VERDOR
AROMÁTICO EN VINOS TINTOS

Autor

Ignacio Arias Pérez

Director/es

Ferreira González, Vicente
Escudero Carra, Ana

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA
Escuela de Doctorado

Programa de Doctorado en Ciencia Analítica en Química

2021



Ignacio
Arias Pérez



Estudio químico-sensorial del verdor aromático en vinos tintos

Estudio químico-sensorial del verdor aromático en vinos tintos



2021

Tesis Doctoral
Ignacio Arias Pérez



Estudio químico-sensorial del verdor aromático en vinos tintos



Departamento de
Química Analítica
Universidad Zaragoza

Tesis Doctoral

Ignacio Arias Pérez

Para optar al Grado de Doctor

Abril 2021

Directores:

Dra. Ana Escudero Carra

Dr. Vicente Ferreira González





Departamento de
Química Analítica
Universidad Zaragoza

Dña. ANA ESCUDERO CARRA, Profesora Titular del Departamento de Química Analítica y D. VICENTE FERREIRA GONZÁLEZ, Catedrático del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Zaragoza,

CERTIFICAN

Que la presente memoria, titulada “*Estudio químico-sensorial del verdor aromático en vinos tintos*”, correspondiente al Proyecto de Tesis aprobado por el Departamento de Química Analítica y presentada para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo nuestra dirección por *D. Ignacio Arias Pérez*, autorizando su presentación para proseguir los trámites oportunos y proceder a su calificación por el tribunal correspondiente.

Zaragoza, 22 de abril de 2021

Fdo. Dra. Ana Escudero Carra

Fdo. Dr. Vicente Ferreira González

Este trabajo ha sido realizado gracias a la siguiente Beca Pre-doctoral que le ha sido concedida a D. Ignacio Arias Pérez:

Ayudas para la formación de profesorado universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. FPU15/03695

Los proyectos en los que se ha enmarcado la presente Tesis son:

RTC 2015-3379 del Ministerio de Economía y Competitividad (2015-2017): Fracciones fenólicas y aromáticas (FFAs) de uvas y vinos. Caracterización, modelización y predicción de su potencial enológico, variabilidad natural y plasticidad tecnológica.

RTC 2016-4935-2 del Ministerio de Economía y Competitividad (2016-2018): Verdor, astringencia y dureza en vinos tintos de las variedades Garnacha y Moristel. Caracterización sensorial y molecular y gestión integral en bodega.

AGL2017-87373-C3-1-R del Ministerio de Economía y Competitividad (2018-2021): Combinación de estrategias científico-enológicas para la caracterización, previsión y corrección del problema de perfiles aromáticos defectuosos (reductores y/o herbáceos) en vinos de la Ribera del Duero (HERBWINE).

La tesis doctoral que se presenta ha dado lugar a las siguientes publicaciones:

- Arias-Pérez, I., Ontañón, I., Ferreira, V., Escudero, A. Maturation in different vineyards from Moristel. Amino acid and aroma composition of grapes and wines with particular emphasis in Strecker aldehydes. Submitted to *Food Chemistry*.
- Arias-Pérez, I., Sáenz-Navajas, M. P., de-la-Fuente-Blanco, A., Ferreira, F., Escudero, A. Insights on the role of acetaldehyde and other aldehydes in the odour and tactile nasal perception of red wine. Submitted to *Food Chemistry*.
- Arias-Pérez, I., Ferrero-Del-Teso, S., Sáenz-Navajas, M. P., Fernández-Zurbano, P., Lacau, B., Astraín, J., Barón, C., Ferreira, V., & Escudero, A. (2020). Some clues about the changes in wine aroma composition associated to the maturation of “neutral” grapes. *Food Chemistry*, 320, 126610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126610>
- Arias, I., Lacau, B., Astrain, J., Barón, C., Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V., & Escudero, A. (2019). Effects of vineyard ‘potential’ and grape maturation on the aroma-volatile profile of Grenache wines. *OENO One*, 53(4), 695–707. <https://doi.org/10.20870/oenone.2019.53.4.2381>
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias-Pérez, I., Ferrero-del-Teso, S., Escudero, A., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Valentin, D. (2021). Access to wine experts’ long-term memory to decipher an ill-defined sensory concept: the case of green red wine. *OENO One*, 55(1), 69–79. <https://doi.org/https://doi.org/10.20870/oenone.2021.55.1.4475>
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias, I., Ferrero-del-Teso, S., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Chemo-sensory approach for the identification of chemical compounds driving green character in red wines. *Food Research International*, 109, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.037>

Además, el trabajo en la presente tesis ha ayudado a la publicación de:

- Ferrero-del-Teso, S., Arias, I., Escudero, A., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2020). Effect of grape maturity on wine sensory and chemical features: The case of Moristel wines. *LWT-Food Science and Technology*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108848>
- Alegre, Y., Arias-Pérez, I., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020). Development of a new strategy for studying the aroma potential of winemaking grapes through the accelerated hydrolysis of phenolic and aromatic fractions (PAFs). *Food Research International*, 127, 108728. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108728>

Agradecimientos

Siempre me ha parecido un poco forzada la formalidad de los agradecimientos. Creo que *en mí fue siempre menor la intensidad de las sensaciones que la intensidad de la conciencia de ellas* (*Livro do Desassossego* - Fernando Pessoa). Pero realmente pocas veces nos paramos en la vida a dar las gracias, y si *la vida es perdonar y agradecer* («Perdonar y agradecer» Sharif) habrá que ponerse manos a la obra.

A la hora de escribir estos renglones, frena mi mano un temor adquirido desde la niñez, el temor de parecer sentimental y ridículo. Cuando quiero mostrarme algo afable no consigo ser franco. A causa de ese temor y esa falta de hábito no puedo expresar con entera claridad lo que entonces desarrolla en mi alma (*Razskas neznakomca* - Antón Chéjov). Ya lo decía Cortázar (*Rayuela*), que *de los buenos sentimientos nace la mala literatura*, y de ésta *no nos podemos fiar* (*La Nausée* - Jean Paul Sartre). Por toda esta desconfianza tomaré una serie de referencias para dar las gracias, ya que *siempre hay alguien que lo ha hecho mejor que tú, y como no vas a poder superarlo, róbaselo y aprovéchate* (*American History X*).

En primer lugar, gracias a mis directores de tesis y todos los miembros y profesores del LAAE por *enseñarme a desenredar los ovillos de aromas, a obtener los hilos sueltos de olores invisibles fundamentales, desentramarlos e hilarlos de nuevo* (*Das Parfum* - Patrick Süskind). Gracias por *ayudarme a mirar*, como ese niño que enmudeció ante la inmensidad del mar (*El libro de los abrazos* - Eduardo Galeano).

A las personas que conocí en Zaragoza, aunque en el laboratorio *quemamos con malas artes el espíritu del vino* («El camino del exceso» Héroes del Silencio), *hay una calle que lleva vuestro nombre en la ciudad del viento* («La ciudad del viento» Quique González). *En Zaragoza el frío quema los rosales, por eso cuando salía el sol celebramos carnavales* («100 frases» Sharif). Con vosotros no importa *poner cara fea para repetir hasta la toma buena* («Matemática de la carne» Rayden). Gracias por *permitirme olvidarme del hoy hasta mañana* («Mr Tambourine Man» Bob Dylan). Y a los que todavía seguís por allí, cuidaros entre vosotros ya que *el último es el que lleva la esperanza* («Last one goes the hope» Gogol bordello).

Gracias a todas las personas que he ido conociendo en el devenir de los años de estudios y en tiempos no tan académicos. Desde Logroño a Santiago, buscando *sentir el tiempo en toda su lentitud* (*La peste* - Albert Camus), cuando *el sábado nos daba lo que el domingo nos quitaba* («Tupelo» Nick cave). *Comandantes con ingenio disparatado y voracidad lírica, capaces de crear paraísos de desastres* (*Cien años de soledad* - Gabriel García Márquez). Personas que me enseñaron *drunken lullabies* («Drunken lullabies» Flogging Molly) con un *piano embriagado* («The piano has been drinking» Tom Waits) y que me demostraron que *los beneficios sociales de la bebida en colectividad superan los desastres individuales que puedan precipitar* (*Everyday's*

Drinking - Kingsley Amis). Muchas gracias. Pensaba que *no se tenían amigos como los que se tienen a los 12 años* (*Stand by Me*), pero siempre hay sorpresas. *Os sigo soñando* («Te sigo soñando» De Pedro).

Gracias a los míos que me acompañan desde la felicidad de la infancia, cuando coincidimos en esa *vieja y sucia ciudad* («Dirty old town» The Pogues), nuestro *Mundo verde* («Mundo verde» Fluzo), *donde se funde orballo y sol* («Marquesita» Nacho Vegas). Mi gente común («Common people» Pulp), *cuántas veces hemos bebido juntos y compartido pensamientos* («I see the darkness» Bonnie "Prince" Billy). *Experimentando esa tristeza para la que nuestros mayores no tuvieron tiempo y una felicidad que nunca vi en ellos* (*Beginners*). *Siempre próximos y lejanos con la ternura y el desconsuelo de una amistad infranqueable* (*La Vie mode d'emploi* - George Perec). *Definitivamente iremos al infierno, pero tendremos las mejores historias que contar* («The ballad of me and my Friends» Frank Turner).

Gracias a esa persona con la que es tan difícil elegir una canción, verso o cita. A día de hoy no se puede definir mejor que *un verso en rversa* («Ojos color sol» Calle 13), del que *basta su aliento para que me sienta como el viento* («Como el viento» De Pedro). *Chica de ojos verdes, somos feos, pero tenemos la música* («Chelsea Hotel No. 2» Leonard Cohen) y *ese frío y roto aleluya que por ahora nos basta* («Hallelujah» Leonard Cohen).

Muchas gracias a mi familia. *Basta el presentimiento de la felicidad que me brindasteis para hacerme gozar en mis horas inefables* (*Faust* - Johann Wolfgang von Goethe) y es que *aprendí sin darme cuenta, que os debo mucho más de lo que puedo dar* («One Sunday morning» Wilco). *Vuestro amor es el lugar de donde yo vengo* («Your Love Is the Place Where I Come From» Teenage Fanclub) y a veces *es necesario mover la cabeza y mirar quien se partido el espinazo para tenerte entre los brazos y eso no se puede devolver* («Lo que te mereces» Viva Suecia). Pero *si hay algo que es cierto es que os quiero más de lo que el mundo puede contener* («John my beloved» Sufjan Stevens).

Así que, gracias a todos, *gracias por el abrazo constante y por aguantar mis disparates, aunque nunca os diga lo que os quiero, tengo tantas ganas ya de veros* («Sabéis quiénes sois» El Kanka).

Índice



*¿Qué tiene en común escuchar música, jugar al béisbol
y resolver una ecuación complicada? Todo ello activa
menos materia gris que un sorbo de vino*

Gordon Shepherd

Índice

Índice	1
Lista de abreviaturas	11
Presentación	15
Introducción	21
1. Generalidades	23
2. Definición del verdor en vino, ¿Qué es un vino vegetal?	26
2.1. El verdor en diccionarios enológicos	26
2.2. El verdor en la literatura científica	27
2.2.1. El verdor en la literatura científica. La percepción aromática	27
2.2.2. El verdor en la literatura científica. La percepción en boca	29
2.2.3. El verdor en la literatura científica. La percepción de los consumidores	29
3. La importancia del olfato en la percepción sensorial	30
4. Verdor en el aroma de la fruta	32
4.1. El aroma en las plantas	32
4.2. El verdor en las frutas	33
4.2.1. El verdor como falta de madurez en la fruta	33
4.2.1.1. Odorantes derivados de la oxidación de ácidos grasos (FAOs)	34
4.2.1.2. Ésteres	35
4.2.1.3. Terpenos y lactonas	35
4.2.1.4. Otros compuestos volátiles (norisoprenoides, azufrados y derivados del furano)	35
4.2.2. El verdor como problema fitosanitario en la fruta	36
5. El aroma de la uva	36
5.1. Compuestos responsables del aroma de uvas neutras	37
5.2. Compuestos clave en las variedades aromáticas	38
5.3. Compuestos clave en la sobremaduración y pasificación de la uva	38
5.4. Compuestos aromáticos responsables de aromas y sabores verdes	39
5.5. La acción de hongos y otros factores exógenos sobre el aroma real de la uva	40
6. Compuestos aromáticos del vino	41
6.1. Tampón aromático	42
6.2. Vectores aromáticos	43
6.2.1. Disolvente alcohólico	45
6.2.2. Ácido - Láctico	45
6.2.3. Reducción	46
6.2.4. Levadura, oxidación	46
6.2.5. Floral	47
6.2.6. Frutal	48
6.2.7. Cítrico-fresco-mentolado	49
6.2.8. Vegetal	49
6.2.9. Especiado y aroma a madera	51
6.2.10. Empireumático	52
7. Orígenes del verdor y tratamientos tecnológicos	52
7.1. Influencia ambiental – Cambio climático	53
7.2. Maduración	54
7.2.1. Madurez Sensorial	56

7.2.2. Madurez tecnológica	56
7.2.3. Madurez fenólica	57
7.2.4. Madurez aromática	58
7.3. Equilibrio Vegetativo	60
7.4. Otras fuentes del verdor	61
7.5. Tratamientos contra el verdor	63
8. Métodos de análisis del aroma	67
8.1. Análisis Químico	67
8.2. Técnicas de tratamiento de muestra	68
8.3. Técnicas de separación y análisis cromatográfico	69
8.4. Olfatometría	70
8.5. Análisis Sensorial	73
8.5.1. Análisis Sensorial Descriptivo	74
8.5.2. Métodos hedónicos	74
8.5.3. Métodos discriminantes-comparativos	75
8.6. Análisis Estadístico	75
9. Referencias	76
Objetivos	97
SECTION I. Definition of the concept, origin and solutions of green character based on long-term memory studies	101
Introduction	103
Chapter 1. Acceding long-term memory of wine experts to decipher an ill-defined sensory concept: the case of green wine	107
1. Objectives	107
2. Material and methods	107
2.1. Participants	107
2.2. Procedure	108
2.3. Data analysis	108
3. Results and discussion	109
3.1. Categories, subcategories and terms linked to the concept of green wine	109
3.2. Effect of expert's region on the terms linked to green wine concept	112
4. Conclusions	114
5. References	115
Chapter 2. Approach to Spanish wine professionals' long-term memory: origin and solution of wines with green character	117
1. Objectives	117
2. Material and methods	117
2.1. Participants	117
2.2. Procedure	117
2.3. Data analysis	117
3. Results and discussion	118
3.1. Origin of green character	118
3.2. Improve quality of green wines	121
3.3. Elaboration of green grapes	125
4. Conclusions	128
5. References	129

SECCIÓN II. Estudios químico-sensoriales para caracterizar el verdor en vinos tintos	133
Introducción	135
Capítulo 3. Estudios sensoriales, olfatométricos y químicos de vinos tintos con carácter verde	137
1. Objetivos	137
2. Material y métodos	137
2.1. Reactivos, disolventes y estándares	137
2.2. Cribado de vinos con diferentes niveles de carácter verde	137
2.2.1. Muestras, participantes y procedimiento	137
2.2.2. Análisis de los datos	140
2.3 Estudios olfatométricos	140
2.3.1. Extracción	140
2.3.1.1. Sistema de purga y trampa (HS-SPE)	140
2.3.1.2. Microextracción en fase sólida (HS-SPME)	141
2.3.2. Procedimientos olfatométricos	141
2.3.2.1. Cromatografía de gases-olfatometría (GC-O)	141
2.3.2.2. Cromatografía de gases multidimensional – Olfatometría – Espectrometría de masas (GCO-GCO-MS)	142
2.3.3. Análisis de los datos.	143
2.4. Fraccionamiento de vinos de interés y caracterización sensorial	143
2.4.1. Preparación de fracciones volátiles	143
2.4.2. Caracterización sensorial de las fracciones - sorting task	144
2.4.2.1. Análisis de los datos.	144
2.4.3. Análisis olfatométrico de fracciones de interés	145
2.5. Análisis cuantitativo	145
2.5.1. Análisis cuantitativo de metoxipirazinas y rotundona	145
2.5.2. Análisis cuantitativo de mercaptanos polifuncionales	145
2.5.3. Análisis cuantitativo de compuestos aromáticos mayoritarios	145
2.5.4. Análisis cuantitativo de compuestos aromáticos minoritarios y trazas	146
2.5.5. Determinación de Aldehídos de Strecker totales	146
2.5.6. Análisis cuantitativo de compuestos azufrados volátiles (VSC)	146
3. Resultados y discusión	146
3.1. Cribado de vinos con diferentes niveles de carácter verde	146
3.1.1. Primera sesión sensorial – Análisis del verdor global	146
3.1.2. Segunda sesión sensorial – Análisis del verdor orthonasal	149
3.2. Estudios olfatométricos de los vinos	150
3.2.1. Olfatometrías de los compuestos más volátiles	150
3.2.2. Olfatometrías Globales	150
3.3. Estudio del fraccionamiento de los vinos	155
3.3.1. Estudio olfatométrico de fracciones de los vinos	156
3.4. Análisis cuantitativo	159
4. Conclusiones	163
5. Referencias	164
Capítulo 4. Estudios químico-sensoriales para buscar compuestos aromáticos responsables de notas verdes en vinos de la DO Ribera del Duero	167
1. Objetivos	167
2. Material y métodos	167
2.1. Grupo de vinos A	167

2.2. Grupo de vinos B	169
2.3. Grupo de vinos C	169
3. Resultados y discusión	170
3.1. Resultados Vinos A	170
3.1.1. Análisis sensorial	170
3.1.2. Análisis Olfatométrico	171
3.1.3. Análisis Cuantitativo	174
3.1.4. Otros experimentos	177
3.2. Resultados Vinos B	178
3.2.1. Resultados GC-O	178
3.2.2. Resultados cuantitativos	182
3.3. Resultados Vinos C	183
3.3.1. Datos olfatométricos	183
3.3.2. Datos Cuantitativos	184
4. Conclusiones	185
5. Referencias	186
SECCIÓN III. Estudios de la influencia de madurez de la uva y del potencial vegetativo del viñedo en el perfil aromático de los vinos tintos	189
Chapter 5. Effects of vineyard ‘potential’ and grape maturation on the aroma-volatile profile of Grenache wines	191
1. Introduction	191
2. Material and methods	192
2.1. Reagents, solvents and standards	192
2.2. Preparation of wine samples	192
2.2.1. Vineyard potential study	192
2.2.2. Grape maturation study	195
2.3. Methods	195
2.3.1. Oenological variables	195
2.3.2. Quantitative analysis of methoxypyrazinas and rotundone	196
2.3.3. Quantitative analysis of major compounds	196
2.3.4. Quantitative analysis of minor and trace compounds	197
2.4. Data analysis	197
3. Results and discussion	198
3.1. Vineyard potential study	198
3.2. Grape maturation study	200
3.2.1. Ester to acid ratio	201
3.2.2. Acetaldehyde concentration	203
4. Conclusions	204
5. References	205
Chapter 6. Some clues about the changes in wine aroma composition associated to the maturation of "neutral" grapes	209
1. Introduction	209
2. Material and methods	210
2.1. Reagents, solvents and standards	210
2.2. Wine Samples	210
2.3. Methods	213
2.3.1. Oenological parameters	213

2.3.2. Quantitative analysis of methoxypyrazines and rotundone	213
2.3.3. Quantitative analysis of polyfunctional mercaptans	213
2.3.4. Quantitative analysis of major compounds	214
2.3.5. Quantitative analysis of minor and trace compounds	214
2.3.6. Quantitative analysis of volatile sulphur compounds (VSCs)	214
2.3.7. Quantitative analysis of total acetaldehyde	214
2.4. Data analysis	214
3. Results and discussion	215
3.1. Acetaldehyde	219
3.2. Some relevant ratios between metabolites	220
3.2.1. Branched acid/branched alcohol ratios	221
3.2.2. Branched ester/ branched acid ratios	222
3.2.3. Branched ester/branched alcohol ratio	223
3.3. Individual maturation markers	223
4. Conclusions	225
5. References	225
Chapter 7. Maturation in different vineyards from Moristel. Amino acid and aroma composition of grapes and wines with particular emphasis in Strecker aldehydes	229
1. Introduction	229
2. Material and methods	230
2.1. Reagents, solvents and standards	230
2.2. Samples	231
2.2.1. Grape samples-ethanolic musts (mistelles)	231
2.2.2. Wine Samples	231
2.3. Methods	232
2.3.1. Oenological parameters	232
2.3.2. Quantitative analysis of major aroma compounds	233
2.3.3. Quantitative analysis of minor and trace aroma compounds	233
2.3.4. Determination of total Strecker aldehydes	233
2.3.5. Quantitative analysis of amino acids	233
2.4. Data analysis	234
3. Results and discussion	234
3.1. Chemical changes in grapes during maturation	234
3.1.1. Amino acid profiles	234
3.1.2. Volatile fraction	237
3.2. Wines and their relationship to original mistelles	239
3.2.1. Amino acid changes during fermentation	239
3.2.2. Amino acid consumption and wine volatiles	244
3.2.3. Amino acid profiles in wines	245
3.2.4. Strecker aldehydes	246
4. Conclusions	249
5. References	249
Capítulo 8. Estudio de la influencia del vigor vegetativo y el índice de maduración fenólico en la composición aromática de vinos Tempranillo	253
1. Introducción	253
2. Material y métodos	254
2.1. Reactivos, disolventes y estándares	254

2.2. Muestras	254
2.2.1. Puntos de Maduración	254
2.2.2. Grados de vigor vegetativo	255
2.3. Metodologías de análisis de los vinos	256
2.4. Análisis de datos	256
3. Resultados y discusión	256
3.1. Diferencias experimentales entre añadas	256
3.2. Estudio de la composición química de los vinos	257
3.2.1. Comparación entre ambas añadas	258
3.2.2. Estudio de madurez	258
3.2.3. Estudio de vigor vegetativo	262
4. Conclusiones	263
5. Referencias	263
SECCIÓN IV. Estudios sensoriales de compuestos que pueden estar modulando el verdor	265
Capítulo 9. Influencia sensorial de concentraciones elevadas de metionol y alcohol isoamílico en vinos tintos	267
1. Introducción	267
2. Material y métodos	267
2.1. Reactivos	268
2.2. Análisis sensorial alcohol isoamílico y metionol	268
2.3. Evaluación del impacto sensorial de fracciones y compuestos sobre el carácter verde	269
2.3.1. Muestras, participantes y procedimiento	269
2.3.2. Análisis de los datos	270
3. Resultados y discusión	271
3.1. Estudio sensorial de compuestos volátiles que podrían generar caracteres verdes	271
3.2. Impacto sensorial del alcohol isoamílico y las fracciones no volátiles en el carácter verde	272
4. Conclusiones	274
5. Referencias	274
Capítulo 10. Cambios aromáticos ligados a variaciones en las concentraciones de compuestos del tampón aromático. Caso de vinos Moristel elaborados con uvas de distinto grado de madurez	277
1. Introducción	277
2. Material y métodos	278
2.1. Reactivos	278
2.2. Métodos	279
2.2.1. Preparación de los vinos	279
2.2.2. Pruebas sensoriales	280
3. Resultados	281
4. Conclusiones y propuestas para futuro	281
5. Referencias	281
Chapter 11. Insights on the role of acetaldehyde and other aldehydes in the odour and tactile nasal perception of red wine	283
1. Introduction	283

2. Material and methods	285
2.1. Reagents, materials, solvents and standards	285
2.2. Preparation of wine models	286
2.2.1. Isolation and purification of compounds	286
2.2.2. Wine model (WM) preparation	286
2.3. Sensory analysis	288
2.3.1. Participants	288
2.3.2. Generation of sensory descriptors and panel training	288
2.3.3. Evaluation of sample sets	289
2.3.4. Data analysis	291
2.4. Chemical analysis	291
2.4.1. Oenological parameters	291
2.4.2. Quantitative Analysis of free acetaldehyde	292
2.4.3. Quantitative Analysis of Strecker aldehydes	292
3. Results and Discussion	292
3.1. Quantitative chemical study of free acetaldehyde levels	292
3.2. The different aromatic contexts: influence of selected aroma chemicals on sensory profiles	294
3.3. Influence of acetaldehyde concentration on the sensorial descriptors	296
3.3.1. Effects of low levels of acetaldehyde	296
3.3.2. Effects of high levels of acetaldehyde	298
3.3.2.1. Descriptors “cooked vegetables” and “dried fruit”	298
3.3.2.2. Descriptor “Green vegetable”	300
3.3.2.3. Itchiness and burning effects	302
4. Conclusions	304
5. References	305
Conclusiones Generales	309
Anexos	315
Anexo 1. Información suplementaria de la Sección 1	317
Anexo 2. Información suplementaria del Capítulo 3	321
Anexo 3. Información suplementaria del Capítulo 4	327
Annex 4. Supplementary information of Chapter 5	337
Annex 5. Supplementary information of Chapter 6	343
Annex 6. Supplementary information of Chapter 7	357
Anexo 7. Información suplementaria del Capítulo 8	367
Anexo 8. Información suplementaria del Capítulo 9	377
Annex 9. Supplementary information of Chapter 11	389

Lista de abreviaturas

3MH	3-Mercaptohexanol
3MHA	3-Mercaptohexylacetate
4M4MP	4-Methyl-4-mercapto pentan-2-one
AEDA	Aroma Extract Dilution Analysis
AENOR	Asociación Española de Normalización y Certificación
AI	Alcohol isoamílico
ALA	Alanine
ANOVA	Analysis of variance
AQC	6-Aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate
ARG	Arginine
ARP	Aldehyde Reactive Polyphenols
ASN	Asparagine
ASP	Aspartic acid
ASTM	American Society for Testing and Materials
au	Absorbance units
B	Benzaldehyde
C	Cabernet
C, CT	Control
CA	Correspondence Analysis
CAR	Carboxen
CAS	CAS (Chemical Abstracts Service) registry number
CATA	Check-all-that-apply
CHARM	Combined Hedonic Aroma Response Measurements
CI	Colour index
Cont	Continuation
CVRVV	Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes
CYS	Cysteine
D	Defecto
DA	Descriptive analysis
di	Diametro interno
DMS	Dimethyl sulfide
DNPH	2,4-Dinitrophenylhydrazine
DO	Denominación de Origen
DOCa	Denominación de Origen Calificada
DVB	Divinylbenzene
ECD	Electron capture detector
ELA	Exposed leaf area
EtSH	Ethanethiol
F	Fraction or free
F%	Frecuencia
FAOs	Fatty acid oxidation-derived odorants
FFT	2-Furfurylthiol
FID	Flame Ionization Detector
FM	Frecuencia modificada

FML	Fermentación maloláctica
FSCM	Finger Span Cross Modality
FTIR	Fourier Transform Infrared
GABA	γ -Aminobutyric acid
GC	Gas chromatography
GC x GC	Comprehensive two dimensional-gas chromatography
GC-MS	Gas-chromatography mass spectrometry
GC-O	Gas chromatography olfactometry
GLN	Glutamine
GLU	Glutamic acid
GLV	Green leaf volatiles
GLY	Glycine
HCA	Hierarchical cluster analysis
HIS	Histidine
HLB	Huanglongbing o "greening"
HPLC	High-Performance Liquid Chromatography
HS	Head Space
HS-SPME	Headspace solid-phase micro-extraction
IA	Isoamyl alcohol
IBMP	3-Isobutyl-2-methoxypyrazine
IBMP	3-Isobutyl-2-methoxypyrazine
IC	Índice de color
IFM	Índice de maduración fenólica
ILE	Isoleucine
IPMP	3-Isopropyl-2-methoxypyrazine
IRL	Índices de retención lineal
IS	Internal standard
ISO	International Organization for Standardization
IPT	Índice de Polifenoles Totales
ITEX	In-Tube Extraction
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
J	Judge
L	Libre
LAAE	Laboratorio de Analisis del aroma y Enología
LBT	Ladybug taint
LC	Liquid chromatography
LD	Limit of detection
LEU	Leucine
LQ	Limit of quantitation
LRI	Linear retention indices
LYS	Lysine
m/z	Mass to charge ratio
Max	Máximo
Mdna	Mediana
MDS	Multidimensional scaling
MeSH	Methanethiol

MET	Methionine
Min	Mínimo
MOG	Material other than grapes
MPs	Methoxypyrazines
MS	Mass spectrometry
n	Sample number
na	Not available
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide
NADPH	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NCI	Negative Chemical Ionization
nd	No disponible
NDVI	Normalised Differential Vegetation Index
ni	Not identified
NIF	Nasal Impact Frequency
NIST	National Institute of Standards and Technology
NPD	Nitrogen-phosphorus detector
ns	No significant differences
OAV	Odour Activity Value
OIV	Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
ORN	Ornithine
OSME	Odour Specific Magnitude Estimation
P	Production/yield
PAF	Fracciones aromáticas y fenólicas
PCA	Principal component analysis
PDC	Plant cell density
PDMS	Polydimethylsiloxane
PFBBBr	2,3,4,5,6-Pentafluorobenzylbromide
PFPD	Pulsed Flame Photometric Detector
PHE	Phenylalanine
PLSR	Partial Least Squares Regression
PRO	Proline
PTV	Program Temperature Vaporizing injector
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidone
R	Replicate
RAE	Real Academia Española
RATA	Rate-all-that-apply
RLW	Reconstituted lyophilised wine
RSD	Relative standard deviation
S	Samples
s	Standard deviation
SA	Saturated aldehydes
SBMP	3- <i>Sec</i> -butyl-2-methoxypyrazine
SBSE	Stir bar sorptive extraction
SCD	Sulfur Chemiluminescence Detector
SER	Serine
SFE	Superficie foliar expuesta

SIM	Selected ion monitoring
SNIF	Surface Nasal Impact Frequency
SPE	Solid phase extraction
SPME	Solid phase microextraction
SW	Sintetic wine
T	Total
TA	Total acidity
TBA	2,4,6-Tribromoanisoole; 1,3,5-tribromo-2-methoxybenzene
TCA	2,4,6-Trichloroanisoole; 1,3,5-trichloro-2-methoxybenzene
TCD	Thermal Conductivity Detector
TD	Thermal desorption
TDN	1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene
THR	Threonine
TPB	(<i>E</i>)-1-(2,3,6-Trimethylphenyl)-buta-1,3-diene
TPI	Total Polyphenol Index
TSS	Total soluble solids content
TYR	Tyrosine
UA	Unsaturated aldehydes
UV-VIS	Ultraviolet-Visible
V	Vino
VA	Volatile acidity
VA	Vigor alto
VAL	Valine
VB	Vigor bajo
VC	Vino tinto crianza
VJ	Vino tinto joven
VOCs	Volatiles odour compounds
VSCs	Volatile sulfur compounds
W	Wine
WM	Wine model
YAN	Yeast assimilable nitrogen
ZO	(<i>Z</i>)-1,5-Octadien-3-one

Presentación



*Quien controla su olfato se convierte en un
sabueso de sus deseos*

Pushing Daisies

Presentación de la tesis

La presente tesis busca caracterizar, sensorial y químicamente, la percepción del verdor en el aroma de vinos tintos, así como estudiar aquellos factores implicados en su origen y posible remediación. Para ello, el estudio se ha abordado desde diferentes puntos de vista y diversos campos del conocimiento, desde la psicología social y análisis sensorial, hasta el estudio químico del aroma pasando por la viticultura y enología.

La memoria está estructurada en los siguientes apartados:

Introducción: Incluye una introducción general en la que se hace un repaso al estado del arte en lo referente al verdor en vinos y frutas, recapitulando las moléculas odorantes más importantes relacionadas con estos fenómenos, presentes en la uva y el vino. Finaliza con una breve revisión sobre los métodos y técnicas de análisis químico, olfatométrico y sensorial más comúnmente utilizadas en el estudio del aroma del vino.

Objetivos: Se exponen los objetivos principales y se enumeran los objetivos específicos que se han propuesto a lo largo de esta tesis.

Capítulos: Agrupados en 4 secciones se presentan 11 capítulos en los cuales se exponen los trabajos realizados.

Los estudios de la primera sección (*Definición del concepto de verdor, origen y soluciones mediante estudios basados en la memoria a largo plazo*) se plantearon para definir el concepto de verdor mediante una tarea de descripción libre sin cata, basada en la memoria a largo plazo de enólogos españoles de cuatro regiones vinícolas diferentes. El primer capítulo se centra en conocer y profundizar en la definición que los profesionales tienen acerca del concepto de vino con notas verdes y el segundo se centra en conocer lo que dichos profesionales piensan acerca del origen y solución de este defecto.

En la siguiente sección (Sección II: *Estudios químico-sensoriales para caracterizar el verdor en vinos tintos*) se realizaron una serie de trabajos que combinan estudios sensoriales para describir y cuantificar la intensidad de verdor de una amplia selección de vinos, con el análisis químico y olfatométrico posterior, con la finalidad de hallar qué compuestos son los responsables de dicho atributo. En el capítulo tres, enólogos de la región de Somontano llevaron a cabo la evaluación sensorial de una diversa lista de vinos en la que tenían que definir la intensidad de verdor. Mientras que el capítulo cuarto se centra en Ribera del Duero, donde se dieron varios casos en los que diferentes elaboradores encontraron defectos asociados al verdor en varios de sus vinos.

En la sección III (*Estudios de la influencia de madurez de la uva y del potencial vegetativo del viñedo en el perfil aromático de los vinos tintos*) se presentan diferentes estudios de maduración para tratar de dilucidar su influencia, junto con la de un concepto denominado “potencial” del viñedo, relacionado con el estado vegetativo y fisiológico de la viña, sobre la generación de problemas de verdor en diferentes variedades de uva tinta. El capítulo cinco estudia diferentes puntos de madurez y diferentes viñedos de la variedad Garnacha. Mientras que los dos capítulos siguientes estudian la variedad Moristel. El sexto se centra en los perfiles aromáticos generales de los vinos y el séptimo pone el foco en la evolución de los aminoácidos y el desarrollo de aldehídos de Strecker en esta variedad. El último capítulo de esta sección, el octavo, estudia los factores madurez y vigor en la variedad Tempranillo.

Finalmente, en la sección IV (*Estudios sensoriales de compuestos que pueden estar modulando el verdor*) se emplean diferentes estrategias sensoriales para esclarecer si la presencia de las moléculas aromáticas y de los perfiles aromáticos específicos que, a lo largo de la tesis, han mostrado relación con el verdor o la madurez, presentaban realmente consecuencias organolépticas y si éstas están relacionadas con la percepción de verdor. El capítulo nueve se centra en el metionol y alcohol isoamílico. El décimo en las diferencias en el perfil fermentativo (tampón aromático) encontradas en los experimentos previos de maduración. Por último, en el capítulo once se evalúa la importancia sensorial del acetaldehído en las sensaciones aromáticas y quemestésicas del vino en la nariz y se evalúa también su posible interacción sensorial con otros grupos de compuestos volátiles sensoriales activos.

Conclusiones: Incluye las conclusiones generales más destacadas de la tesis y su importancia en la industria del vino.

Anexos: Se presentan 9 anexos que recogen información suplementaria o que complementan los resultados obtenidos en algunos de los capítulos. Como material suplementario con datos cuantitativos o las instrucciones de los diferentes test sensoriales realizados durante esta tesis.

Sección I: Definición del concepto de verdor, origen y soluciones mediante estudios basados en la memoria a largo plazo

- **Chapter 1.** Accessing long-term memory of wine experts to decipher an ill-defined sensory concept: the case of green wine
- **Chapter 2.** Approach to Spanish wine professionals' long-term memory: origin and solution of wines with green character

Sección II: Estudios químico-sensoriales para caracterizar el verdor en vinos tintos

- **Capítulo 3.** Estudios sensoriales, olfatométricos y químicos de vinos tintos con carácter verde
- **Capítulo 4.** Estudios químico-sensoriales para buscar compuestos aromáticos responsables de notas verdes en vinos de la DO Ribera del Duero

Sección III: Estudios de la influencia de madurez de la uva y del potencial vegetativo del viñedo en el perfil aromático de los vinos tintos

- **Chapter 5.** Effects of vineyard 'potential' and grape maturation on the aroma-volatile profile of Grenache wines
- **Chapter 6.** Some clues about the changes in wine aroma composition associated to the maturation of "neutral" grapes
- **Chapter 7.** Maturation in different vineyards from Moristel. Amino acid and aroma composition of grapes and wines with particular emphasis in Strecker aldehydes
- **Capítulo 8.** Estudio de la influencia del vigor vegetativo y el índice de maduración fenólico en la composición aromática de vinos Tempranillo

Sección IV: Estudios sensoriales de compuestos que pueden estar modulando el verdor

- **Capítulo 9.** Influencia sensorial de concentraciones elevadas de metionol y alcohol isoamílico en vinos tintos
- **Capítulo 10.** Cambios aromáticos ligados a variaciones en las concentraciones de compuestos del tampón aromático. Caso de vinos Moristel elaborados con uvas de distinto grado de madurez
- **Chapter 11.** Insights on the role of acetaldehyde and other aldehydes in the odour and tactile nasal perception of red wine

Introducción



Una comprensión completa del aroma (...) puede que no parezca un problema lo suficientemente profundo como para dominar todas las ciencias de la vida, pero contiene, pieza por pieza, todos los misterios

Lewis Thomas

Introducción

1. Generalidades

Si buscamos el vocablo verde en el diccionario encontramos 22 acepciones. Las primeras hacen referencia al color: *Se denomina verde a los colores que se perciben entre el amarillo y el azul, lo que corresponde a una fotorrecepción de luz cuya longitud de onda dominante mide entre 495 y 570 nm* (Kelley, 2020) o bien, *dicho de un color: Semejante al de la hierba fresca o al de la esmeralda y que ocupa el cuarto lugar en el espectro luminoso* (R.A.E, 2020). Si continuamos leyendo, las siguientes entradas del diccionario se refieren al mundo vegetal: *Dicho de una planta, un árbol, de leña y de legumbres* (R.A.E, 2020). La sexta entrada nos dice: *Dicho especialmente de un fruto: Que aún no está maduro* (R.A.E, 2020). La octava acepción, sorprendentemente, es una reseña enológica: *Dicho de un vino: Que hace entender, por su sabor áspero, que en su elaboración se mezcló uva agraz con la madura* (R.A.E, 2020). Lo que inicialmente definía un color también se puede emplear, aunque sea vagamente, para describir sensorialmente un vino. Esta *unión de dos imágenes o sensaciones procedentes de diferentes dominios sensoriales* se conoce como sinestesia. Esta figura retórica se emplea diariamente, un ejemplo claro se da cuando hablamos de colores cálidos y fríos (Sully, 1879), pero también ha sido immortalizada por artistas, como en el poema de “Voyelles” de Rimbaud, donde el poeta asocia colores y sensaciones a cada una de las vocales o la obras de Kandinski, donde se dice que el artista era capaz de pintar el sonido.

Sin embargo, la sinestesia no es solo una figura literaria, sino que también se refiere a que estímulos sensoriales de un tipo provocan una respuesta sensorial o percepción relacionada con otro sentido. Un fenómeno del cerebro muy curioso, que todavía hoy sigue siendo motivo de estudio (Seo y Hummel, 2017). De hecho, esta conexión entre los sentidos en su forma leve es más frecuente de lo que parece y evidencia que hay una unidad sensorial cognitiva más allá de lo que percibimos a través de sentidos separados e independientes (Gibson, 1966; Martino y Marks, 2001). Por tanto, es posible que la terminología de verdor entrañe una complejidad más profunda de lo que en principio cabe esperar. Solamente con las definiciones que nos aporta la RAE encontramos desde distintas dimensiones sensoriales y perceptivas (un sabor *áspero*, que engloba gusto y olfato), a un posible origen de dicho problema, la inmadurez de la uva que le aporta un carácter *agraz*.

En psicología de la percepción a la interacción entre sentidos se le denomina interacción “cross modal” (Marks, 1975). Ésta se refiere a la compatibilidad de atributos o dimensiones de un estímulo en modalidades sensoriales diferentes. Es decir, a través de diferentes percepciones creamos una construcción mental, pero no tiene por qué ser estrictamente real, sino una manera en la que nuestro cerebro interpreta la realidad (Prescott, 2012; Small y Prescott, 2005). Pruebas del peso de la construcción cerebral superior son el síndrome del miembro fantasma o la

prosopagnosia. Las percepciones cross-modales son universales y se da entre todos los pares posibles de modalidades sensoriales como la percepción del gusto, aroma, color, textura, sonido, irritación y temperatura (Delwiche, 2004). Son asociaciones muy estables, duraderas y se desarrollan por aprendizaje perceptual y cultural, expresándose a través del lenguaje y de la similitud perceptual (Prescott, 2012; Small y Prescott, 2005).

De esta forma, si pensamos en un limón se nos viene también a la cabeza el color amarillo, la acidez o un sonido agudo. Tanto es así, que al incrementar el color amarillo en una lata de refresco de limón también se incrementa la percepción de sabor a limón por los catadores (Cheskin, 1957). Existen numerosos ejemplos, especialmente en aquellos casos donde han existido intereses económicos.

Los olores más fuertes se asocian típicamente con colores más oscuros (Kemp y Gilbert, 1997) y se suelen calificar hedónicamente como más desagradables (Maric y Jacquot, 2013). Alternativamente, los aromas florales se asocian a colores más claros (Fiore, 1993), o brillantes que tienden a ser calificados como agradables (Maric y Jacquot, 2013).

Por otra parte, las formas angulares se asocian generalmente a aromas más intensos y desagradables (Dematte y col., 2006) con percepciones gustativas amargas y ácidas (Ngo y col., 2011), como la de los cítricos (Blazhenkova y Kumar, 2017). Mientras que las formas redondas se asocian más con aromas menos intensos y más agradables (Hanson-Vaux y col., 2013) como la vainilla (Blazhenkova y Kumar, 2017) y con percepciones más ricas y dulces en boca (Ngo y col., 2011).

Si nos centramos en el color que nos ocupa, el verde, existen ejemplos muy curiosos. Cuando se viste una botella de cerveza con una etiqueta verde se califica significativamente mejor en términos de calidad, sabor y predominio de notas afrutadas/cítricas en comparación con una etiqueta marrón (Barnett y Spence, 2016). Mientras que en pruebas sensoriales llevadas a cabo en sidra se vio que, si en la etiqueta predominaban los colores rojos en vez de verdes, se asociaba a que ésta poseería más cuerpo y un sabor más afrutado (Sugrue y Dando, 2018).

Pero donde la crossmodalidad es especialmente patente es en la asociación gusto y olfato, principales vectores del sabor (Small y Prescott, 2005). De hecho, se ha propuesto considerar la percepción del sabor como un sistema perceptivo distinto (Auvray y Spence, 2008). Es tan fuerte, que muchas veces definimos olores con etiquetas de gustos: “huele dulce”. Existe una congruencia entre ambos estímulos, de manera que olores congruentes aumentan la intensidad percibida de estímulos gustativos y olfativos como que la fresa o vainilla aumenta la sensación de dulzor (Clark y Lawless, 1994; M. Cliff y Noble, 1990; Frank y Byram, 1988).

Sin embargo, la complejidad y las características multidimensionales que subyacen a las distintas percepciones aún no se comprenden completamente (Jacquot y col., 2016), como ocurre con el atributo vegetal en el vino. En el trabajo de Heatherly y col., (2019) se estudió si los colores y las formas presentes en la etiqueta se relacionaban con diferentes caracteres de

vinos Chardonnay modificados (mantecoso, cítrico, floral, ahumado y vegetal) y encontraron correlaciones entre el aroma vegetal y las formas afiladas en las etiquetas, pero no se relacionó este atributo con la etiqueta de color verde.

Toda esta complejidad sensorial implicará un proceso psicolingüístico que constará de percepción, memoria y lenguaje (Parr, 2008); estando sesgada por las limitaciones de cada una de estas partes, especialmente de nuestro lenguaje. Resulta muy difícil proporcionar descripciones inteligibles adecuadas a las experiencias sensoriales (Paradis y Eeg-Olofsson, 2013), especialmente en las percepciones aromáticas o gustativas. Como dice Bach (2007) tenemos muchas palabras para describir matices de color muy específicos, sin embargo, nuestro vocabulario con respecto al gusto y el olfato es mucho más reducido. Así, existen cientos de tipologías del color azul, pero solo una palabra para definir el olor de una rosa. En parte, esto es así por que las percepciones olfativas y gustativas son por naturaleza extraordinariamente complejas, fugaces, subjetivas y se basan esencialmente en la memorización (Coutier, 1994). El estudio de estas dificultades a la hora de describir las etiquetas semánticas de ciertas percepciones sensoriales se ha tratado en varias ocasiones, especialmente con respecto a los olores con el fenómeno de “tips of the nose” (Lawless y Engen, 1977) (cuando olemos algo que conocemos, pero no sabemos ponerle un nombre o definirlo adecuadamente).

Además, el lenguaje de los profesionales y críticos del mundo del vino está marcado por el uso de analogías, metáforas, metonímias, símiles, simbologías, palabras que comprenden diferentes dominios sensoriales, impresiones que no corresponden a una realidad referencial objetivable y que están sujetas a una fuerte subjetividad, además de un vocabulario reforzado por el componente hedónico de la degustación (Coutier, 1994; Paradis y Eeg-Olofsson, 2013). Todas estas características propician el origen y el uso de conceptos mal definidos.

Desde una corta edad sabemos cuando una fruta está “verde”, porque carecerá de aroma y dulzor, o en casos más concretos, una manzana será excesivamente ácida, un plátano estará duro o un caqui mostrará una gran astringencia. Pero el caso de un vino es mucho más complejo por diversas razones, como la complejidad intrínseca de la matriz del vino (Ferreira y col., 2019) o por sus especiales prácticas de consumo, íntimamente ligadas tanto a las representaciones mentales y culturales como a las dimensiones simbólicas y rituales de este producto (Amine y Lacoëuilhe, 2007). Pero especialmente porque, a diferencia de la descripción sensorial de otros tipos de alimentos, la descripción del vino no se limita a las herramientas clásicas de análisis sensorial, con la producción de descriptores unidimensionales. La mayoría de las veces, la evaluación sensorial de los vinos da lugar a descripciones multidimensionales, como el verdor. La dificultad para comprender estos descriptores es que presentan una doble faceta que incluye las múltiples dimensiones y la falta de consenso en este tipo de terminología (Lesschaeve, 2006).

El verdor parece ser un concepto multifactorial muy complejo, con una importante carga de “cross modalidad”, cuyo consenso a nivel técnico no parece estar claro. Es un término que puede describir un vino aromáticamente (aroma a pimienta, espárrago, geranio, hierba...). Puede ser un atributo definido desde el gusto (ácido, amargo...) o desde otras sensaciones menos estudiadas como son las percepciones quemoestésicas (astringencia). Puede estar describiendo que las uvas con el que se elaboró no estaban maduras. O puede estar describiendo varias de estas alusiones simultáneamente. A pesar de que todavía quedan muchos interrogantes en la percepción del verdor, en la actualidad este término se emplea de forma cotidiana en el lenguaje técnico del sector vitivinícola de todo el mundo.

Todavía no se conocen todos los agentes que juegan un papel en la percepción del verdor, por lo que se abre ante nosotros un fascinante, a la par que complejo, proyecto con el fin de comprender este término y los factores que pueden tener una influencia sobre él. Por tanto, el objetivo de la presente tesis será comprender el concepto de verdor desde diferentes puntos de vista y diversos campos del conocimiento que irán desde la psicología social y el análisis sensorial, hasta la viticultura y la química analítica.

2. Definición del verdor en vino, ¿Qué es un vino vegetal o con notas verdes?

El uso del descriptor “vegetal” o “verde” es común y ampliamente utilizado durante la cata de vinos, tanto en blancos como en tintos. En este sentido, es una parte integral del léxico de la degustación, definiendo una de las principales categorías o familias de descriptores (OIV, 2016). Su uso se extiende tanto en el léxico de consumidores como de expertos y profesionales, constituyendo uno de los descriptores más generales durante la evaluación de vinos.

Cuando hablamos del concepto verdor en vinos, ¿a qué nos referimos exactamente? ¿Qué es el verdor y que implica este calificativo? ¿Existe una definición consensuada a nivel técnico o científico? ¿Existen notas claras y definitorias sobre este concepto? Lo que sí es evidente, es que se trata de una terminología empleada constantemente en el mundo de la Enología.

2.1. El verdor en diccionarios enológicos

El concepto de verdor ha sido descrito de manera vaga e inconsistente por diferentes diccionarios enológicos: *Es un término de cata empleado para describir vinos demasiado ácidos o con aromas herbáceos* (Collin, 2010), aunque algunos autores hacen referencia a que son *vinos jóvenes* (Lehrer, 1975), otros lo consideran *un atributo generalmente asociado a descriptores como hierba, musgo o vegetales. Que se puede encontrar en vinos elaborados con uvas poco maduras y que se considera un defecto en la mayoría de las variedades tintas. Sin embargo, cierto matiz de verdor puede ser característico y, por lo tanto, positivo en algunas notas varietales de vinos elaborados con Sauvignon blanc* (MacNeil, 2015) o un *término de degustación peyorativo para vinos elaborados con uvas que no alcanzaron la plena madurez*.

(Robinson y Harding, 2015). Se puede observar como las definiciones tratan al verdor como un defecto, que se suele achacar a una falta de madurez, pero que en algunas variedades de uva puede ser considerado como un carácter varietal positivo.

2.2. El verdor en la literatura científica

Lawless y Heymann (2010) definen el vocabulario científico como una forma de lenguaje creada específicamente con fines científicos. Este vocabulario debería estar formado por términos bien definidos que correspondiesen inequívocamente a percepciones sensoriales identificadas y enumeradas (Coutier, 1994).

2.2.1. El verdor en la literatura científica. La percepción aromática

En la literatura científica, existe una ausencia de conformidad y consenso en la definición del carácter verde o vegetal de los vinos. El trabajo de Noble y col. (1987), que reagrupó y clasificó los principales atributos aromáticos del vino en familias y subfamilias para facilitar la comunicación entre los miembros de la industria del vino, otorga al término “vegetal” una gran importancia relativa (**Figura 1**). De hecho, esta familia aparece como la tercera más grande en número de descriptores. Los autores la dividieron en tres subfamilias: vegetales frescos, vegetales cocidos y vegetales secos. La subfamilia "verdura fresca" incluye los aromas a tallo, hierba cortada y pimiento verde, al tiempo que engloba también los aromas más frescos como eucalipto y menta. La subfamilia "vegetales cocidos" reúne los descriptores de judías verdes, espárragos, aceitunas verdes y negras y alcachofa. Finalmente, la subfamilia de "vegetales secos" contiene las notas de té, tabaco y heno.

Encontramos otros trabajos donde se emplean descriptores parejos, pero varía su distribución, como el propuesto por Sáenz-Navajas y col., (2011). En este estudio se divide la “familia vegetal” en dos; la primera engloba los términos de alcachofas, espárragos, repollo, judía verde, apio, aceitunas y pimiento verde; y la otra categoría incluye heno/hoja seca, pino/resina, herbáceo y tabaco fresco.

Estas discordancias se repiten en la gran mayoría de trabajos que emplean diferentes y variados descriptores del aroma indistintamente para referirse al verdor o atributos vegetales: vegetales verdes o afrutado-boj (Green y col., 2011a); pimiento, hierba, hojas de tomate y espárragos (Makhotkina y col., 2012); eucalipto, pimiento, aceituna y verdura cocida (Preston y col., 2008); aroma a cilantro o humedad (Mohekar y col., 2017a) y aroma herbáceo (Mozzon y col., 2016; Slabizki y col., 2016) o herbal, pimiento, a hojas o tallos vegetales (Parr y col., 2007).

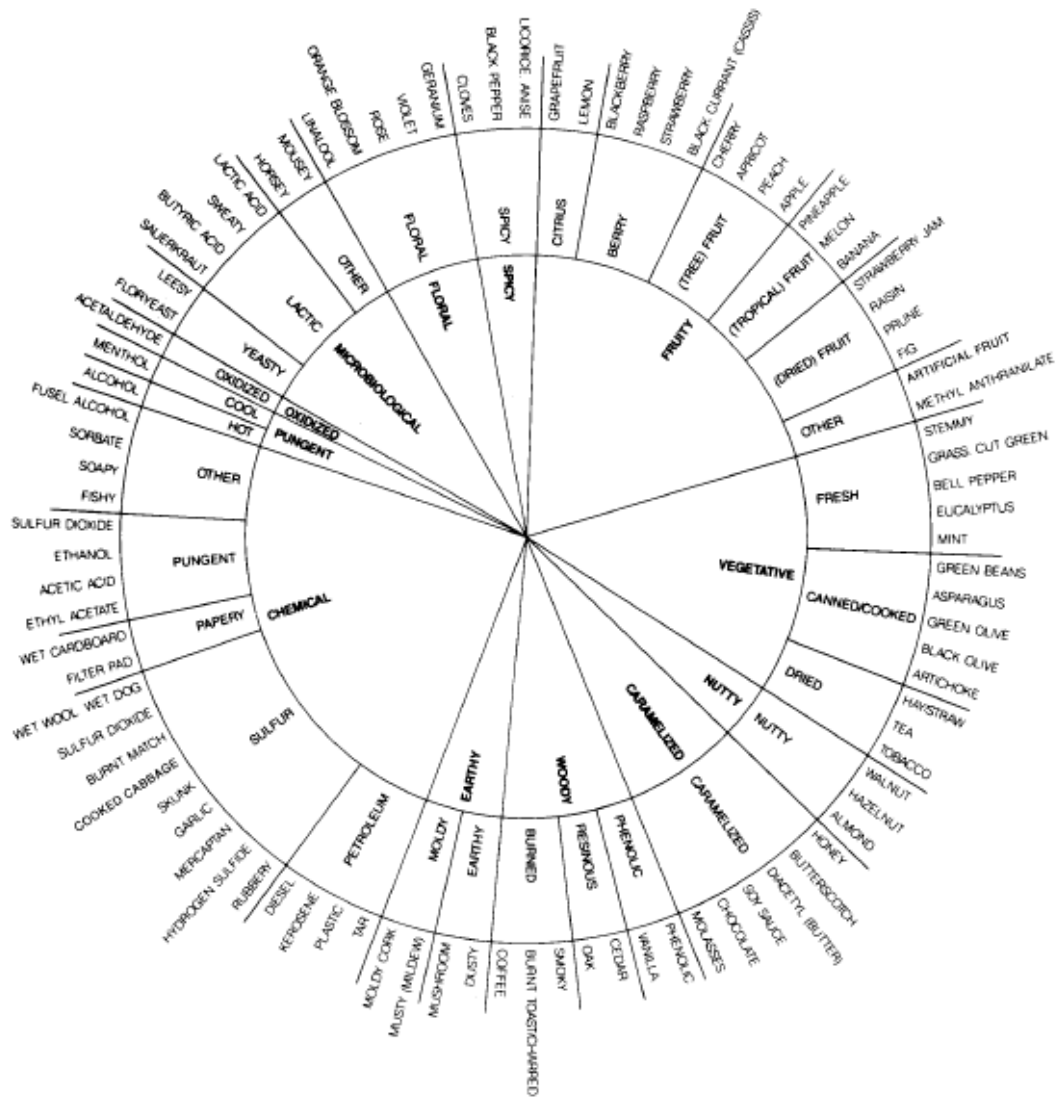


Figura 1. Rueda de los atributos aromáticos del vino clasificados por familias y subfamilias (Noble y col., 1987)

Al igual que los diccionarios del vino, la literatura científica considera que los aromas vegetales pueden contribuir a dotar de carácter y complejidad algunos vinos; con el aporte de aromas varietales positivos distintivos de variedades como las Cabernet, Merlot, Shyras o Camenere (Allen y col., 1991, 1994; Augustyn y col., 1985; Belancic y Agosin, 2007; Heymann y col., 1986; Y Kotseridis y col., 1998; Lacey y col., 1991), o definiendo zonas vitivinícolas determinadas, como es el caso de la Sauvignon blanc en Nueva Zelanda (Green y col., 2011b; Parr y col., 2007). Sin embargo, en niveles altos, estas notas vegetales pueden considerarse indeseables o sugerir posibles defectos como problemas de maduración (Roujou de Boubee y col., 2000). Una dualidad discutida desde hace tiempo en la propia bibliografía (Allen y col., 1994).

Existen múltiples publicaciones en las que la percepción sensorial de un vino se explica como una dualidad entre los aromas frutales y vegetales (Hein y col., 2009; Heymann y Noble, 1987;

Robinson y col., 2011), con un efecto de enmascaramiento entre ambos (Hein y col., 2009). De esta forma se han citado múltiples compuestos volátiles como contribuyentes a los matices vegetales, por ejemplo, pirazinas con aromas a pimienta o terroso (Bayonove y col., 1975), aldehídos y alcoholes derivados de la oxidación de ácidos grasos que pueden dotar al vino de matices herbáceos (Escudero y col., 2007), 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona para aromas de boj (Darriet y col., 1995), dimetil sulfuro para notas de oliva en Syrah y Garnacha (Segurel y col., 2004), 3-metiltio-propan-1-al para sabores a vegetales cocidos (Escudero y col., 2000), 1,8-cineol para aromas de eucalipto (Capone y col., 2012; Poitou y col., 2017) o aromas herbáceos o verdes de algunos terpenos (Marais, 1983; Picard y col., 2018) como la fragancia a menta de la piperitona (Picard y col., 2016a; Picard y col., 2016b).

2.2.2. El verdor en la literatura científica. La percepción en boca

Pero esta terminología no se limita a los atributos empleados en nariz. Es común encontrar descriptores de sensaciones verdes en boca en trabajos científicos (Sáenz-Navajas y col., 2016). Por ejemplo, cuando se habla de los taninos, (Grainger, 2009) los describen como maduros/suaves o, por el contrario, inmaduros/verdes o vinos con acideces muy marcadas (Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Gawel y col. (2000) llevaron a cabo un exhaustivo trabajo para identificar diferentes categorías de sensaciones en boca para la descripción de vinos tintos (**Figura 2**). En esta rueda de sensaciones en boca aparece el concepto verde, que se definió como *el efecto combinado de exceso de acidez y astringencia*, vinculándolo directamente con el término inmadurez. Estos descriptores de sensaciones verdes en boca se vinculan con vinos de baja calidad (Sáenz-Navajas y col., 2016).

2.2.3. El verdor en la literatura científica. La percepción de los consumidores

La falta de consenso en cuanto al atributo verde también se puede encontrar en los estudios con consumidores, donde el término se puede considerar como positivo o negativo, en función de la idiosincrasia y contexto de los consumidores. Por ejemplo, Bidon y col. (2014) ponen de manifiesto que los consumidores tienden a rechazar vinos relacionados con el atributo "verde fresco", que a su vez asocian con los descriptores hoja de tomate, pimienta verde, hierba, hoja con una marcada acidez y la falta de madurez de la uva. Sin embargo, Lattey y col. (2010) muestran otro punto de vista en el caso de vinos tintos australianos, donde un cierto tipo de notas vegetales ("verde fresco" o "mentolado") pueden ser apreciadas por ciertos grupos de consumidores como atributos varietales característicos de los vinos de Cabernet sauvignon.

Además de toda la complejidad que entraña esta terminología, no debemos olvidar que existe la DOC Vinho Verde. Una gran región productora de vino en el noroeste de Portugal conocida por producir vinos blancos, frescos y afrutados con las variedades Albariño y Loureiro (CVRVV, 2021).

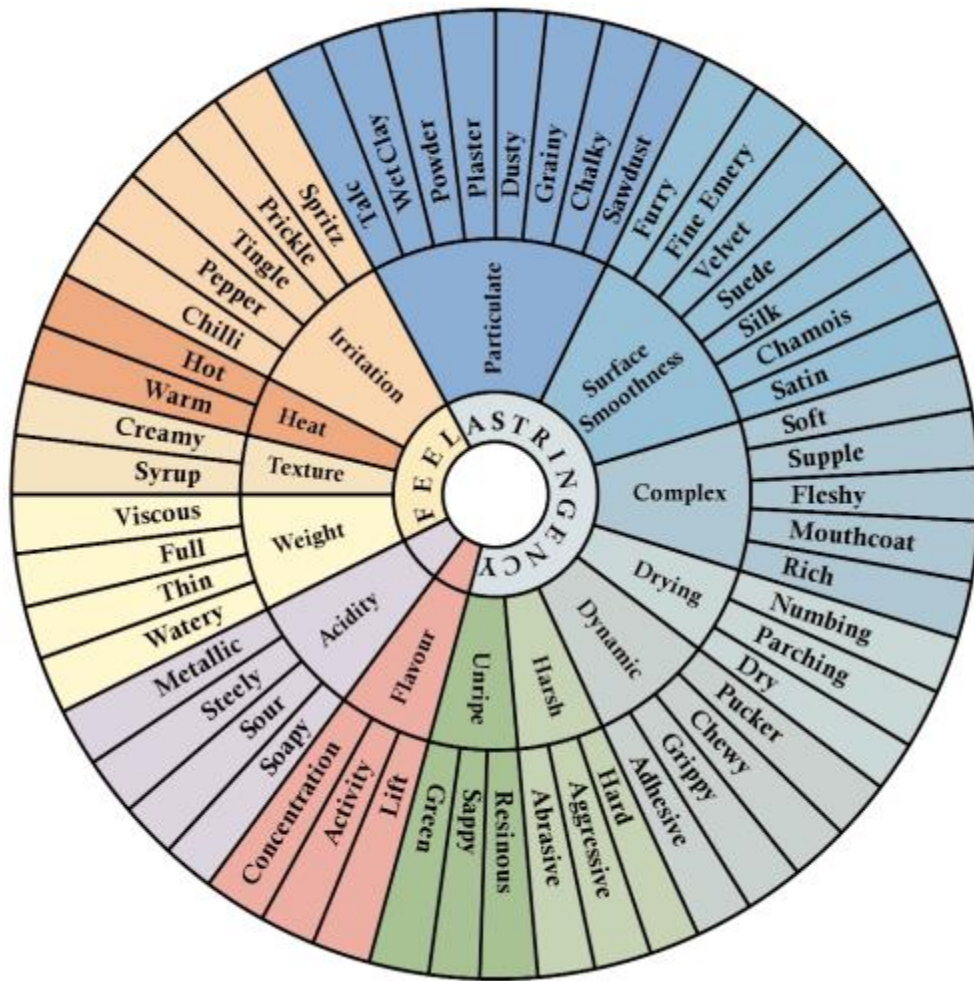


Figura 2. Rueda que muestra una representación jerárquica de los términos que se pueden utilizar para describir las características de sensación en boca del vino tinto (Gawel y col., 2000).

Por tanto, actualmente, es muy complejo encontrar una definición única y satisfactoria para el concepto de verdor en vinos. Esta dificultad parece deberse a dos razones principales. La primera razón es su naturaleza multidimensional y multimodal, ya que se asocia con diferentes modalidades sensoriales (olfato, gusto y quemestesis). Y la segunda razón es la aparente ausencia de consenso en su uso.

3. La importancia del olfato en la percepción sensorial

Principalmente cuatro sistemas sensoriales diferentes participan en la percepción cuando consumimos un alimento o bebida: visión, olfato, gusto y tacto. La respuesta sensorial es el resultado de la integración de las señales provocadas por los diferentes sentidos, ya que existe un gran grado de interacción entre ellos. Por ejemplo, el sabor del vino surge de múltiples interacciones entre los compuestos del vino con nuestros órganos sensoriales (olfativo, gustativo

y trigeminal), produciendo una respuesta neuronal que se procesa en el cerebro y resulta en una percepción psicofísica que describimos diariamente como "vino" (Auvray y Spence, 2008).

Entre estas percepciones el olfato, en ocasiones es infravalorado en comparación con otros sentidos del ser humano, o descrito como mucho menos agudo en comparación al olfato de otras especies de mamíferos. Sin embargo, el sistema olfativo humano es mucho más potente de lo que nos han hecho creer (McGann, 2017; Shepherd, 2004). De los cuatro sentidos tratados, el olfato es, por naturaleza, el que lleva mucha más información. De hecho, se ha descrito recientemente que el sistema olfativo humano es capaz de identificar un número prácticamente infinito de olores (Bushdid y col., 2014). Esto contrasta fuertemente con la baja dimensionalidad de los otros sentidos, especialmente el gusto y el tacto, y tiene que ver con la función específica de cada sentido. Nuestros sistemas sensoriales son el garante de nuestra percepción del mundo circundante, es decir, de nuestra capacidad de percibir los objetos que nos rodean, tomar conciencia de lo real y comprender e interactuar con nuestro entorno. De esta forma, el olfato está diseñado para interactuar con un paisaje complejo en constante cambio de moléculas de olor (Gottfried, 2009), nuestro entorno circundante, y es increíblemente eficiente en la detección y discriminación de olores. Tanto es así que ha desempeñado un papel decisivo en la búsqueda y selección de alimentos (Fallon y Rozin, 1983), en la prevención de posibles peligros y también en otras funciones, como el reconocimiento materno-filial (Schaal y col., 2009).

De esta forma, los olores de los alimentos tienen un papel primordial en la conducta alimentaria, induciendo el apetito. Por otro lado, el gusto es solo un sistema de detección de nutrientes que, junto con la textura, es responsable de la tasa de ingestión y la duración de la exposición oral, lo que contribuye a la saciedad (Boesveldt y de Graaf, 2017). De manera similar, el sistema del trigémino proporciona información sobre la irritación química, así como información sobre la temperatura, textura y consistencia de los alimentos, y parece estar relacionado principalmente con la prevención de la ingestión de sustancias nocivas (Green, 2012). A pesar de ello, muchas percepciones sensoriales originadas durante el consumo de un producto se ubican erróneamente en la boca. Sin embargo, esto es una ilusión, el sabor es percibido por receptores principalmente en la lengua (papilas gustativas) y en la nariz (receptores olfativos), pero el cerebro interpreta que la sensación general proviene del interior de la boca para que pueda asociarse con el alimento que se consume (Auvray y Spence, 2008).

El órgano olfativo humano presenta una gran complejidad fisiológica y constituye un sentido indudablemente poderoso, ya que podría detectar, según estimaciones recientes, 10^{12} olores diferentes (Bushdid y col., 2014), con una sensibilidad a veces mucho mayor que la de los detectores instrumentales actuales. La olfacción se describe como un proceso biológico y electrofisiológico que convierte la información molecular de un olor en una respuesta perceptiva (Hasin-Brumshtein y col., 2009). El epitelio olfatorio humano aloja millones de neuronas

sensoriales olfativas que están unidas a receptores olfativos, cada una de las cuales es capaz de detectar múltiples compuestos con grupos funcionales comunes. Al mismo tiempo, múltiples receptores diferentes pueden reconocer el mismo compuesto de olor si están presentes múltiples grupos funcionales (Firestein, 2001; Hasin-Brumshtein y col., 2009). Lo que explicaría porque el ser humano es capaz de detectar un número inabarcable de aromas.

Los últimos estudios parecen indicar que el sistema olfativo humano presenta un enorme potencial, sin embargo, debemos tener en cuenta que dependerá de los criterios empleados. Por ejemplo, los perros pueden ser mejores que los humanos para discriminar la orina en una boca de incendios y los humanos pueden ser mejores que los perros para discriminar los olores del buen vino, pero pocas comparaciones de este tipo tienen apoyo experimental real (McGann, 2017). Cuando se prueba adecuadamente, el sistema olfativo de los primates ha resultado ser tremendamente sensible a muchos olores, pudiendo ejercer una fuerte influencia en el comportamiento, la fisiología y las emociones (McGann, 2017; Schaal y Porter, 1991; Shepherd, 2004).

La consecuencia práctica es que una gran parte de las percepciones que se sienten durante el consumo de una bebida o alimento proceden de los olores percibidos por los receptores olfativos, lo que pone un especial interés en el estudio de estas moléculas para comprender como un simio puede detectar el estado de madurez de una fruta o un ser humano la calidad de un vino.

4. Verdor en el aroma de la fruta

4.1. El aroma en las plantas

En la naturaleza, los compuestos orgánicos volátiles (VOCs) juegan un papel sumamente importante durante el ciclo de vida de las plantas, dado que pueden proporcionar ventajas adaptativas bajo una fuerte selección ambiental (Schwab y col., 2008). Estos metabolitos secundarios, que no son esenciales para la supervivencia, desempeñan funciones claves en las respuestas al estrés abiótico y en las interacciones bióticas de las plantas, especialmente durante la reproducción sexual en órganos específicos como flores y frutos. Durante la floración se producen VOCs para atraer insectos polinizadores y en el proceso de maduración del fruto se darán otros perfiles de odorantes dirigidos a los dispersores de semillas (Rodríguez y col., 2013). Otras funciones de estos compuestos químicos incluyen la producción de elementos disuasorios frente a consumidores de semillas, comunicación entre plantas o incluso entre partes de la misma planta, la atracción de depredadores o parásitos sobre los herbívoros, acción antimicrobiana y la protección contra hongos y bacterias (Becerra y Venable, 1999; Gershenson y Dudareva, 2007; Kappers y col., 2005; Kessler y col., 2008).

Las flores, hojas y frutos a menudo muestran distintos perfiles de VOCs, lo que sugiere que sus funciones en diferentes tejidos u órganos también pueden ser diferentes. En las frutas

encontramos cientos de VOCs y esta diversidad es parcialmente responsable del aroma único que se encuentra en diferentes especies y cultivos frutales.

De esta forma, las propiedades aromáticas de las frutas dependen de la combinación de numerosos VOCs producidos, cada uno en una determinada concentración y en proporciones equilibradas (Zhu y col., 2010).

Desde un punto de vista químico, los VOCs son sustancias de bajo peso molecular derivadas de los grupos de ácidos grasos, aminoácidos y carbohidratos. Constituyen un grupo heterogéneo de moléculas con estructuras saturadas e insaturadas, de cadena lineal, de cadena ramificada y cíclicas, que pueden llevar varios grupos funcionales y también nitrógeno o azufre. Los VOCs más importantes se pueden clasificar en ésteres, alcoholes, aldehídos, cetonas, lactonas y terpenoides (Defilippi y col., 2009).

4.2. El verdor en las frutas

4.2.1. El verdor como falta de madurez en la fruta

La gran mayoría de autores cuando hablan del atributo sensorial del “verdor” en la fruta se refieren a que ésta no ha alcanzado su grado óptimo de madurez, es decir, que no han alcanzado las cantidades de compuestos que caracterizan el aroma de ese fruto en su estado maduro. Durante la madurez de la fruta se producen cambios en la percepción sensorial de fruto, normalmente caracterizados por un descenso o requilibrado de las notas verdes o inmaduras y un incremento de la intensidad de las notas frutales ligadas a la fruta en cuestión. En algunos casos, destaca el primer proceso, como en el tomate (Baldwin y col., 2000) o el aguacate (Obenland y col., 2012) y en otros el segundo, como ocurre en la piña (Steingass y col., 2016). Sin embargo, lo más habitual es que ambos procesos sean importantes y se den simultánea o secuencialmente con el incremento de la madurez. De esta forma, los frutos inmaduros, descritos como “verdes” o “herbáceos”, que producen un rechazo en el consumidor (Calin-Sánchez y col., 2011; Jaeger y col., 1998), tornarán en frutas caracterizadas por sus aromas frutales y descriptores asociados al propio fruto, atributos mejor valorados por los consumidores (Jaeger y col., 1998). Este proceso se da en múltiples ejemplos como higos (King y col., 2012), manzanas (Cliff y Toivonen, 2017), mangos (Suwonsichon y col., 2012), grosellas (Pour-Nikfardjam y col., 2013), fresas (Forney y col., 2000), etc.

La influencia de la etapa de **maduración** en el aroma de la fruta es claramente evidente y no sólo a nivel sensorial, sino que se ha documentado ampliamente que la composición de VOCs cambia tanto cuantitativa como cualitativamente durante la maduración (Fellman y col., 2000; Forney y col., 2000; Mattheis y col., 1991). De esta forma, la producción de VOCs aumenta entre 1 y más de 1000 veces durante la maduración de la mayoría de las frutas. Al mismo tiempo, se producen cambios cualitativos en el perfil de VOCs durante la maduración (Rodríguez y col., 2013).

Los siguientes ejemplos, sin ser una revisión extensa de la literatura publicada, ilustran cómo cambian los perfiles de VOCs durante la maduración de algunas frutas.

4.2.1.1. Odorantes derivados de la oxidación de ácidos grasos (FAOs)

Una de las familias de compuestos más reconocida que varían con la madurez de la fruta son los llamados derivados de oxidación de ácidos grasos (**fatty acid oxidation-derived odorants - FAOs**) o **volátiles de "hoja verde" (GLV)** debido a su olor "verde fresco". Este grupo comprende aldehídos y alcoholes lineales de cadena corta (principalmente de seis átomos de carbono-C6 y o nueve-C9). Éstos compuestos, donde destacan los aldehídos por su repercusión sensorial, son producidos por plantas de la mayoría de los taxones como respuesta a la herida a través del metabolismo enzimático de ácidos grasos poliinsaturados, jugando un papel importante como señales de defensa directas o indirectas (de Bruxelles y Roberts, 2001; Kishimoto y col., 2005) como estrategias de protección de las plantas y en la resistencia a las plagas (Matsui, 2006; Stumpe y Feussner, 2006).

Los GLV son abundantes en frutas inmaduras, donde pueden alcanzar el 70% de volátiles totales (Zhu y col., 2010). Con la madurez estas concentraciones caerán drásticamente en frutas como manzanas (Fellman y col., 2000; Mattheis y col., 1991), grosella (Pour-Nikfardjam y col., 2013), piña (Umano y col., 1992), fresas (Azodanlou y col., 2004; Menager y col., 2004; Pérez y col., 1992), nectarina (Engel y col., 1988), plátano (Zhu y col., 2010), melón (Beaulieu y Grimm, 2001), aguacate (Obenland y col., 2012), uvas de mesa (Yang y col., 2011) y kiwis (Wang y col., 2011).

Por ello, se ha sugerido en innumerables ocasiones que estos compuestos son los responsables del verdor en las frutas inmaduras (Forney y col., 2000; Ortiz y col., 2011; Pérez y col., 1992). Sin embargo, estos compuestos catalogados como verdes y herbáceos, muchas veces con connotaciones sensoriales negativas (Calín-Sánchez y col., 2011; Obenland y col., 2012) son importantes contribuyentes a los sabores característicos de algunas frutas como el tomate (Schwab y col., 2008), donde Buttery (1993) ha sugerido que una combinación de (*Z*)-3-hexenal, (*Z*)-3-hexenol, hexanal, 1-penten-3-ona, 3-metilbutanal, (*E*)-2-hexenal, 6-metil-5-hepten-2-ona, salicilato de metilo, 2-isobutiltiazol y β -ionona, en las concentraciones adecuadas, produce el aroma de un tomate fresco y maduro. Pero no es el único ejemplo, el hexenal y el (*E*)-2-hexenal son importantes contribuyentes del sabor del kiwi "Hayward" y pueden explicar por qué esta variedad se describe tanto aromática como gustativamente como más fresca y herbácea (Wang y col., 2011). También se encuentran en el melón maduro (Beaulieu y Grimm, 2001) y la presencia de alguno de estos compuestos ((*Z*)-3-hexenal y hexanal) es valorada positivamente en la granada por algunos consumidores (Melgarejo y col., 2011). Por ello no es de sorprender que algunos GLV, como hexanal, hexanol, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-

hexenol y (Z)-3-hexenol se emplean ampliamente como aditivos alimentarios debido a su carácter "verde fresco" (Schwab y col., 2008; Tijet y col., 2001).

4.2.1.2. Ésteres

La concentración **de ésteres**, responsables del aroma especiado floral y afrutado de muchas frutas, aumenta extraordinariamente durante la maduración. En las frutas como la manzana (Defilippi y col., 2009; Fellman y col., 2000; Mattheis y col., 1991; Ortiz y col., 2011; Villatoro y col., 2008), fresa (Azodanlou y col., 2004; Forney y col., 2000; Menager y col., 2004; Pérez y col., 1992), mango (Lalel y col., 2003; Singh y col., 2004), plátano (Zhu y col., 2010), kiwi (Wang y col., 2011), guayaba (Soares y col., 2007), grosella (Pour-Nikfardjam y col., 2013), piña (Umamo y col., 1992), uvas de mesa (Yang y col., 2011) y melón (Beaulieu y Grimm, 2001), la producción de ésteres puede aumentar exponencialmente durante la maduración y, en la etapa madura, los ésteres pueden representar más del 90% del total de VOCs.

4.2.1.3. Terpenos y lactonas

El perfil **de monoterpenos** también cambia durante la maduración de diferentes frutas. Por ejemplo, en las naranjas, hay una reducción en el contenido de linalool a medida que avanza la maduración, mientras que el contenido de limoneno aumenta de 30 a 100 veces entre las etapas verde y de ruptura del color (Rodríguez y col., 2011). En la guayaba blanca, los **mono y sesquiterpenos**, que están ausentes en los tejidos del fruto inmaduro, se acumulan y aumentan durante la maduración (Soares y col., 2007). Estos compuestos que pueden suponer una contribución de entre el 70 y el 90% del total de los compuestos volátiles del aroma del mango, también se incrementan en la madurez de otras frutas (Lalel y col., 2003; Singh y col., 2004). Su importancia sensorial es más limitada en otras frutas como las nectarinas (en forma de glicóxidos), pero también se incrementan con la madurez (Aubert y col., 2003). Sin embargo, en esta fruta, los compuestos característicos de la madurez son **las lactonas**, y su concentración aumenta durante la maduración hasta alcanzar el 45,7% del total de VOCs (Engel y col., 1988).

4.2.1.4. Otros compuestos volátiles (norisoprenoides, azufrados y derivados de las furanonas)

También existen otros compuestos volátiles de aromas frutales más específicos que se incrementan con la madurez como norisoprenoides, compuestos volátiles de azufre y compuestos relacionados con las furanonas. En la mayoría de las frutas carotenógenas, el perfil de pigmento cambia durante la maduración, cambiando así también el perfil de **norisoprenoides**. En el tomate, los VOCs de norisoprenoides no se emiten hasta relativamente tarde en la maduración de la fruta y, durante este proceso, la cantidad de norisoprenoides aumenta notablemente (factor 40) (Mathieu y col., 2009). En los melocotones y nectarinas, el

nivel de norisoprenoides también aumenta durante la maduración de la fruta, lo que representa el 40-60% del total de VOCs en la etapa de madurez (Aubert y col., 2003; Brandi y col., 2011). En las fresas, la mayoría de los **volátiles de azufre** aumentan drásticamente con la madurez, hasta llegar a duplicar su concentración entre la etapa de plena madurez y la etapa de fruta sobremadura (Du y col., 2011). Los compuestos de metilsulfanilo aumentan considerablemente en el kiwi con la maduración (García y col., 2012). Por último, los compuestos derivados de la **furanona** también aumentan en concentración con la maduración de algunas frutas. En los melocotones y fresas, la acumulación de VOCs relacionados con la furanona comienza justo antes del cambio de color y su concentración alcanza un máximo en la etapa de madurez (Brandi y col., 2011), llegando a incrementar su contenido hasta 100 veces durante la maduración de las fresas (Defilippi y col., 2009; Forney y col., 2000; Menager y col., 2004; Pérez y col., 1992).

4.2.2. El verdor como problema fitosanitario en la fruta

Además de la inmadurez existen problemas fitosanitarios que pueden condicionar la percepción del verdor en frutas. Uno de los casos más claros es el conocido como huanglongbing (HLB) o “greening”, que ha sido ampliamente detallado en un trabajo recientemente (Dala-Paula y col., 2019). Se trata de una de las enfermedades más graves de los cítricos, que actualmente está devastando la industria de estas frutas en todo el mundo. El presunto agente bacteriano causante de la enfermedad es el *Candidatus Liberibacter spp.* que afecta a la salud de los árboles, así como el desarrollo, la maduración y la calidad de las frutas y el zumo de los cítricos. Entre otras sintomatologías, como un cambio en la morfología y una mayor acidez, las naranjas sintomáticas presentan cambios en su perfil aromático, como un descenso en los niveles de ésteres etílicos y un incremento en monoterpenos y aldehídos como el hexanal. La enfermedad también provoca un aumento de metabolitos secundarios en la cáscara y pulpa de naranja, incluidos los ácidos hidroxicinámicos, limonina, nomilina, narirutina y hesperidina. Como resultado de estos cambios químicos, el zumo elaborado a partir de frutas sintomáticas se describe como claramente amargo, ácido, metálico, verde, mohoso y carente del dulzor y sabor afrutado característico de la naranja.

Por lo tanto, parece que en las diferentes frutas la presencia del carácter verde se explica directamente por la inmadurez o por una consecuencia secundaria de enfermedades que impiden que este proceso se dé de manera óptima.

5. El aroma de la uva

El estudio de las uvas de vinificación (*Vitis vinifera*) es un caso único porque esta fruta no se cultiva para su consumo inmediato, sino que se cosecha para elaborar vino con ella. Desde este punto de vista, el estudio del aroma de esta baya no se puede limitar al conjunto de moléculas

directamente responsables de los olores y sabores de la uva y del mosto, sino que también debe incluir aquellas otras estructuras químicas que, más o menos directamente, son precursores específicos relevantes del aroma del vino.

La fracción de aroma libre en la mayoría de las variedades de uva es muy pequeña, de hecho, la mayoría de ellas muestran olores y sabores débiles y bastante neutros. Esto no debería ser una sorpresa, ya que las uvas son frutas extremadamente ricas en agua y no contienen estructuras celulares o vacuolares especiales en las que almacenar de forma segura las moléculas no polares, como los compuestos aromáticos. Las moléculas hidrófobas, que incluyen muchos componentes aromáticos, se estabilizan en la pulpa y la piel formando enlaces covalentes con moléculas polares, como azúcares o aminoácidos, que constituyen fracciones de precursores aromáticos específicos. Para su estudio existen diferentes técnicas de hidrólisis enzimática o ácida, donde cabe destacar una novedosa metodología basada en la hidrólisis acelerada de fracciones aromáticas y fenólicas reconstituidas (PAF) extraídas de la uva, que proporciona hidrolizados de mayor calidad aromática que las metodologías clásicas (Alegre y col., 2020a).

Ferreira y López (2019) dividen los compuestos aromáticos de las uvas en 5 categorías: los compuestos responsables del aroma de uvas neutras, los compuestos clave de las variedades aromáticas, los compuestos clave de la pasificación y sobremaduración, los compuestos responsables de aromas vegetales y los procedentes de factores exógenos.

5.1. Compuestos responsables del aroma de uvas neutras

El sabor sutil de las uvas neutras es la consecuencia de la presencia de cantidades muy pequeñas de una lista relativamente grande de compuestos aromáticos. Estas uvas neutras no contienen ningún olor en concentraciones que puedan considerarse importante ni que actúe como compuesto aromático de impacto. De esta forma, en las uvas se encuentran bajas cantidades de terpenos (linalool, geraniol, limoneno, etc.) que presentan un aroma floral-cítrico (Genovese y col., 2013; Wu y col., 2016, 2019) o el sesquiterpeno rotundona que, en ciertas condiciones, puede dotar de un aroma característico a pimienta a variedades como la Shiraz o Duras (Geffroy y col., 2019; Zhang y col., 2015). Existen norisoprenoides como la β -damascenona que se caracteriza por notas a compota o mermelada, o la β -ionona con descriptores dulces o florales, entre otros (Fan y col., 2010; Wu y col., 2016, 2019). También hay ésteres (isobutirato de etilo, butirato de etilo, 3-metilbutirato de etilo, hexanoato de etilo y octanoato de etilo, entre otros) que son responsables de notas frutales (Genovese y col., 2013; Wu y col., 2016, 2019). Algunos fenoles volátiles, como los derivados de la vainillina (como la vainillina o el etil vanillato) y furaneol presentan matices especiado-florales o muy dulces, respectivamente (Fan y col., 2010; Genovese y col., 2013). También destaca la presencia de derivados de la oxidación de ácidos grasos (FAOs) como el hexanal, (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal, (*Z*)-3-hexenol, (*E*)-2-nonenal, (*E*, *Z*)-2,6-nonadienal, que son responsables de aromas herbáceos (Fan y col., 2010; Genovese y col.,

2013; Wu y col., 2016, 2019). Todos estos compuestos contribuyen de forma conjunta al sutil sabor general de las uvas neutras. Sin un compuesto aromático de impacto presente, pero con una gama relativamente amplia de compuestos aromáticos frutales, dulces, cítricos y con olor a flores presentes en niveles bajos, existe una cooperación entre todos ellos cuyo resultado es la percepción de un sutil aroma dulce-afrutado de la uva, como lo describen Loscos y col. (2007).

5.2. Compuestos clave en las variedades aromáticas

Uvas de la familia Moscatel contienen importantes cantidades de terpenos, siendo los responsables del aroma característico de este tipo de uvas (Ribéreau-Gayon y col., 1975). Estos terpenos también están presentes en otras variedades como Weisser, Riesling, Bukettraube, Gewürztraminer, Fernao Pires y Scheurebe (Marais, 1983). Los compuestos más importantes son el linalool y el geraniol, aunque también caben destacar otros como el (*Z*)-óxido de rosa, responsable del aroma a lichi o rosa de la variedad Gewürztraminer (Guth, 1997; Ong y Acree, 1999) y otros compuestos como el citral, el citronellol, el nerol y el α -terpineol. Se trata de una familia de compuestos muy extendida en el reino vegetal. Pueden encontrarse en forma libre, en cantidades bastantes inferiores a los terpenos combinados, generalmente en forma de glicósidos, que no son aromáticos (Ribéreau-Gayon y col., 2000b). En uva y vinos podemos encontrar monoterpenos (C10) y sesquiterpenos (C15), que son los representantes de menor peso molecular de los componentes terpenoides y se conforman a partir de dos y tres unidades de isopreno, respectivamente (Marais, 1983).

5.3. Compuestos clave en la sobremaduración y pasificación de la uva

Las pasas pueden contener odorantes relevantes o grupos de odorantes producidos o acumulados bien durante el propio proceso de pasificación, durante las últimas etapas de maduración de la uva e incluso durante el almacenamiento de la uva ya pasificada. En esta categoría se engloban la β -damascenona, los aldehídos de Strecker, lactonas, pirazinas y compuestos derivados de la oxidación de ácidos grasos (FAOs).

El primer compuesto aromático particularmente relevante en el proceso de pasificación es la β -damascenona, que parece ser un componente aromático bastante ubicuo y clave en uvas (Mendes-Pinto, 2009; Yuan y Qian, 2016) y en muchas uvas secadas al sol (Wang y col., 2015, 2017). La β -damascenona es un norisoprenoide derivado de la degradación de los carotenoides. Este compuesto, que tiene un umbral de percepción bastante bajo (cerca al ng L^{-1} (Guth, 1997)) y un aroma que recuerda a ciruelas pasas o a compota de fruta, juega un papel destacado en las características de aroma afrutado del vino (Ferreira y López, 2019).

Otro grupo de compuestos aromáticos que se pueden formar durante la deshidratación de la uva son los aldehídos de Strecker. Éstos derivan de la degradación de aminoácidos por la ruta de Ehrlich (Ehrlich, 1907) y la degradación de Strecker. Los más relevantes desde el punto de vista

aromático son el fenilacetaldehído, con un característico aroma a miel (Sarrazin y col., 2007) y el metional que se describe con un olor a patata cocida (Escudero y col., 2000).

El tercer grupo de componentes aromáticos que aparecen en el proceso de pasificación está formado por dos lactonas derivadas de los lípidos de la uva, γ -nonalactona y massoia lactona. La γ -nonalactona es un componente del vino bien conocido (Ferreira y col., 2000) pero la massoia lactona (5,6-dihidro-6-pentil-2H-piran-2-ona) ha sido identificada recientemente. Sin embargo, ambas participarán en el aroma con descriptores maduros como ciruelas o higos secos (Pons y col., 2008, 2017a).

El cuarto grupo de compuestos aromáticos relevantes formados durante la deshidratación de la uva son algunas pirazinas con aromas tostados derivados de las reacciones de Maillard entre azúcares y aminoácidos. Wang y col. (2015) identificó a niveles sensorialmente relevantes 3-etil-2,5-dimetilpirazina y 2,6-dietilpirazina en uvas pasificadas.

Finalmente, y en común con cualquier tipo de uva, contienen una gama relativamente amplia de aldehídos y alcoholes derivados de la oxidación de los ácidos grasos de la uva (FAOs), sin embargo, en las pasas sus concentraciones pueden superar su umbral sensorial (Wang y col., 2015, 2017). Se profundizará más en detalle en los compuestos de esta familia en el siguiente apartado.

5.4. Compuestos aromáticos responsables de aromas y sabores vegetales y verdes

Hay dos familias de compuestos aromáticos que desempeñan un papel fundamental en la percepción de caracteres vegetales, herbáceos, verdes e inmaduros de las uvas, mostos y vinos. Se trata de las metoxipirazinas junto con aldehídos y alcoholes derivados de la oxidación de ácidos grasos (FAOs).

Las metoxipirazinas son moléculas aromáticas extremadamente potentes que se acumulan especialmente en algunas variedades de uva. Se encontraron por primera vez en vinos de Cabernet sauvignon (Bayonove y col., 1975) y se identificaron también en mostos y vinos de Sauvignon blanc (Lacey y col., 1991), Merlot (Sala y col., 2000), Cabernet franc (Roujou de Boubee y col., 2000) y Camenere (Belancic y Agosin, 2007). Los compuestos principales son 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP), 3-*sec*-butil-2-metoxipirazina (SBMP) y 3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP). Se les ha atribuido el carácter específico de pimiento verde o aromas terrosos asociados con las variedades Cabernet, con un umbral para este carácter estimado a niveles de ng L^{-1} (Roujou de Boubee y col., 2000). Estos compuestos se acumulan preferiblemente en viñedos cultivados en condiciones frías y sus niveles disminuyen durante la maduración de la uva (Lacey y col., 1991; Roujou de Boubee y col., 2000).

La segunda familia de compuestos está formada por un número relativamente grande de compuestos aromáticos, la mayoría de ellos aldehídos, derivados de la oxidación de ácidos grasos o FAO. A veces reciben el nombre de alcoholes y aldehídos C6, pero no todos tiene 6

átomos de carbono (Ferreira y López, 2019), o compuestos de hoja verde (GLV- Green Leaf Volatiles), pero no todos presentan esos aromas vegetales (Culleré y col., 2011; Gürbüz y col., 2006). Son comunes en el aroma basal de las uvas neutras y otros tejidos vegetales, como se ha visto anteriormente. De hecho, representan los principales compuestos volátiles de la uva (Gómez y col., 1995; Kalua y Boss, 2009; Yang y col., 2009; Yuan y Qian, 2016).

Son formados por procesos enzimáticos/catalíticos casi instantáneos desencadenados durante la ruptura de los tejidos vegetales y de la fruta (Noordermeer y col., 2001; Podolyan y col., 2010), como los que ocurren durante el procesado de la vendimia (Joslin y Ough, 1978). Dado que cuantitativamente los más abundantes fueron los alcoholes y aldehídos C6, la familia se denominó primero la familia C6 (Hatanaka, 1993; Joslin y Ough, 1978). Cabe señalar, sin embargo, que algunos compuestos aromáticos potentes con un número diferente de átomos de carbono también se pueden formar de esta manera, como (*E*)-2-nonenal (Wang y col., 2017) o (*E*, *Z*)-2,6-nonadienal (Fan y col., 2010; Slegers y col., 2015). Estos poderosos compuestos aromáticos tienen umbrales de olor mucho más pequeños que los compuestos C6, de modo que algunos de los olores verdes generalmente atribuidos a los aldehídos y alcoholes C6 podrían ser causados por los aromas C9. Por ejemplo, el compuesto aromático más relevante del mosto de Cabernet sauvignon, según lo evaluado por el análisis de dilución de extracto de aroma fue (*E*, *Z*)-2,6-nonadienal (Kotseridis y Baumes, 2000).

También hay pruebas sólidas que demuestran la implicación del 1,8-cineol, un terpineol de olor a eucalipto, en los caracteres verdes y mentolados del vino. En muchos casos, el origen de esta molécula es exógeno, proveniente de las hojas de los árboles, como del género *Eucalyptus* (Capone y col., 2012). Los niveles más altos están relacionados con la presencia de hojas de eucalipto o de pequeñas cantidades de otras plantas (como *Artemisia verlotiorum*) en los tanques de fermentación, sin embargo, se ha demostrado que la molécula se puede encontrar en las bayas verdes de Cabernet sauvignon y Merlot (Poitou y col., 2017), lo que podría contribuir a la percepción del carácter verde a través de la interacción con las pirazinas. También se ha informado de una tercera ruta de formación de 1,8-cineol en el vino como producto de la reacción del limoneno y otros terpenoles durante el envejecimiento (Fariña y col., 2005; Slaghenaufi y Ugliano, 2018).

5.5. La acción de hongos y otros factores exógenos sobre el aroma real y potencial de la uva

Finalmente, el aroma del mosto o las uvas que llegan a la bodega puede verse fuertemente afectado por la presencia de hongos u otros factores exógenos. Los vinos elaborados con uvas afectadas por la podredumbre noble tienen niveles más altos de 3-mercaptohexanol, furaneol, sotolón, metional y fenilacetaldehído (Campo y col., 2008a; Sarrazin y col., 2007; Tosi y col., 2012). Los vinos elaborados con uvas afectadas por ataques fúngicos no controlados pueden

desarrollar olores negativos considerados como defectos como 3-octanona, 1-octen-3-ona, (*E*) - 2-octenol, 1-octen-3-ol, (*Z*)-1,5-octadien-3-one, 2-metil isoborneol, TCA, geosmina, TBA y pentacloroanisol (Darriet y col., 2002; Morales-Valle y col., 2011; Pons y col., 2018; Sadoughi y col., 2015).

También cabe destacar que después de la exposición de viñedos a incendios forestales, se ha detectado repetidamente la presencia de aromas a humo (Krstic y col., 2015). De esta forma, los fenoles volátiles, como el fenol, el guaiacol y sus derivados, que generalmente aparecen en los vinos como consecuencia del tostado de barriles o la contaminación con *Brettanomyces*, están presentes en mayores cantidades en los vinos producidos con uvas expuestas al humo (Kennison y col., 2007).

6. Compuestos aromáticos del vino

A partir de la uva, cuya complejidad aromática es limitada, mediante los numerosos procesos químicos y bioquímicos que suponen la fermentación se elabora un producto como el vino, que contiene una fracción volátil muy compleja en la que se han llegado a describir más de 800 componentes (Rapp, 1998). De ellos, un número más limitado de moléculas (en torno a 75) se encuentran en concentraciones suficientes para impactar en los receptores olfativos. A su vez, de estas 75 moléculas tan sólo poco más de una docena alcanzan potencia suficiente como para ser reconocidas en el aroma global (Ferreira y col., 2019). Pero no debemos conferir este aroma global como una simple mezcla de compuestos odorantes. Para comprender la relación entre la química del aroma del vino y su percepción sensorial se requieren dos elementos principales: el tampón aromático y los vectores de aroma (Ferreira y col., 2019). El tampón aromático se refiere a las propiedades sensoriales específicas del grupo de moléculas de aroma derivadas de la fermentación alcohólica. Esta mezcla de compuestos se conoce como tampón por el notable poder de supresión que ejerce sobre muchas notas sensoriales, como frutales, florales, de madera o incluso las percepciones aromáticas a humedad (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016). Por otra parte, los vectores de aroma se refieren a las propiedades sensoriales vinculadas a las moléculas o al grupo de moléculas que pueden considerarse como las "unidades de aroma" básicas. Estos vectores son los responsables de la diversidad sensorial de los vinos ya que son capaces de romper el tampón aromático y percibirse por encima de éste.

6.1. Tampón aromático

El tampón aromático está compuesto por los 27 componentes que se encuentran en la **Tabla 1**. Todas esas moléculas son subproductos característicos de la fermentación alcohólica y muchas de ellas están presentes en niveles superiores al umbral. Forman una mezcla aromática que se puede definir sensorialmente como vinosa, ligeramente dulce y afrutada, alcohólica y punzante.

Sólo estos compuestos, en concentraciones normales en vino, proporciona la firma aromática de lo que comúnmente conocemos como vino (Fairbairn, 2018).

Como son productos metabólicos primarios o secundarios, su variabilidad no es tan grande como la observada en otros componentes del aroma del vino, como los derivados de la uva o la madera. A pesar de eso, existen notables diferencias cuantitativas relacionadas con el tipo de vinificación, la variedad de uva (Ferreira y col., 1996), la cepa de levadura empleada (Swiegers y col., 2005) y con el envejecimiento del vino, debido a la evolución de los diferentes equilibrios de esterificación/hidrólisis. Por tanto, la composición del tampón no es siempre estática, los niveles de algunos ésteres aumentan con el tiempo, especialmente los ésteres etílicos de los ácidos ramificados, mientras que los acetatos de alcoholes de fusel prácticamente desaparecen. Los niveles de ésteres etílicos de ácidos grasos cambian en menor medida ya que durante la fermentación se produjeron a niveles cercanos a los de equilibrio.

Tabla 1. Compuestos volátiles que integran el tampón aromático del vino (Ferreira y col., 2019).

Compuestos	
Miscelanea	Etanol, diacetilo y acetaldehído
Alcoholes fusel	Isobutanol, alcohol isoamílico, hexanol, β -feniletanol y metionol
Ácidos orgánicos	Ácido acético, ácido butírico, ácido hexanoico, ácido octanoico y ácido decanoico
Isoácidos	Ácido isobutírico, ácido 2-metil butírico y ácido isovalérico
Ésteres etílicos de ácidos orgánicos	Acetato de etilo, butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo
Acetatos de alcohol fusel	Acetato de isobutilo, acetato de isoamilo y acetato de β -feniletilo
Ésteres etílicos de isoácidos	Isobutirato de etilo, 2-metilbutirato de etilo y isovalerato de etilo

Las propiedades específicas del tampón se explican por (1) el escaso impacto sensorial vinculado a la omisión de uno de sus componentes en las pruebas de omisión aromática (Ferreira y col., 2002) y (2) la capacidad de suprimir la intensidad aromática de otros compuestos, o grupos de compuestos, añadidos a la mezcla (Escudero y col., 2004, 2007). Estudios más recientes han demostrado que los efectos de supresión pueden estar asociados a algunos componentes específicos del tampón como el etanol (Escudero y col., 2007); el ácido acético (Campo y col., 2005; San Juan y col., 2011) o a unos de los componentes más activos del tampón, como los alcoholes superiores o de fusel (Cameleyre y col., 2015; Ferreira y col., 2016), particularmente los alcoholes isobutilo e isoamílico (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016). Todos ellos ejercen un efecto supresor sobre las notas frutales; mientras que el etanol también lo hace con los matices a caramelo, el ácido acético con notas florales y los alcoholes superiores

con los descriptores aromáticos de madera (Campo y col., 2005; Escudero y col., 2007; Ferreira y col., 2016; San Juan y col., 2011).

Consecuencias bastante negativas que se contraponen a los efectos, sorprendentemente positivos de los ácidos grasos, también componentes amortiguadores, que pueden mejorar las notas frutales (San Juan y col., 2011). Incluso los ácidos ramificados, como los isobutíricos y los ácidos 2 y 3-metilbutírico, a pesar de sus olores fuertes y desagradables, no suprimen las notas frutales, sino que específicamente suprimen o enmascaran los matices aromáticos de los etilfenoles (Romano y col., 2009).

Algunos componentes del tampón aromático pueden alcanzar concentraciones lo suficientemente altas como para ser percibidos específicamente. Esta es una de las razones por las cuales los componentes del tampón también están presentes en vectores de aroma, como se discute en la siguiente sección. Este es el caso de vinos demasiado alcohólicos, o con demasiado acetato de etilo o con grandes cantidades de ésteres etílicos o de acetatos de alcoholes de fusel.

6.2. Vectores aromáticos

Un vector aromático es una unidad perceptiva constituida por una o varias moléculas con descriptores de aroma similares, que en conjunto y en una forma integrada, son responsables de un conjunto específico de características sensoriales de un tipo de productos; en este caso vino (Ferreira y col., 2019). Todos los vectores de aroma cuando están presentes en sus niveles máximos de ocurrencia, comunican al producto un conjunto bien definido de características de aroma específico del vector.

Ferreira y col. (2019) describen hasta 35 vectores de aroma de vino, que se pueden clasificar en las 10 categorías sensoriales que se muestran en la **Tabla 2**. Las primeras cuatro categorías: alcohólico-disolvente, ácido láctico, reducido y oxidado, incluyen odorantes formados durante la fermentación alcohólica, muchos de los cuales están relacionadas con las propiedades sensoriales del tampón aromático. Las dos categorías siguientes, floral y frutal, son cuantitativamente las más importantes e incluyen odorantes formados tanto en la uva como en la fermentación. La séptima categoría agrupa algunos vectores de aroma con características cítricas y frescas. La octava categoría está formada por metoxipirazinas y los FAOs, compuestos aromáticos derivados principalmente de la uva, y los dos últimos, especiados, leñosos y empireumáticos incluyen vectores aromáticos derivados de la madera o formados durante el proceso de envejecimiento a través de una amplia gama de precursores. En los siguientes párrafos, se resumirá brevemente el estado del conocimiento sobre la composición y el papel desempeñado por los diferentes vectores dentro de cada categoría.

Tabla 2. Vectores aromáticos en el vino (Ferreira y col., 2019).

Categoría	Nombre	Compuestos dentro del vector	Contribución sensorial
Alcohólico-disolvente	Etanol	Etanol	Dulce, disolvente
	Alcoholes superiores	Alcohol isobutílico, alcohol isoamílico, β -feniletanol y metionol	Punzante, disolvente, espirituoso
	Acetato de etilo	Acetato de etilo	Pegamento
Láctico - ácido	Diacetilo	Diacetilo y 2,3 pentanodiona	Lacteo, mantequilla
	Ácidos grasos	Ácido butírico, ácido hexanoico, ácido octanoico y ácido decanoico	Queso, jabonoso
	Ácidos ramificado	Ácido isobutírico, ácido isovalérico y ácido 2-metilbutírico	Queso, sudor
Reducción	Sulfuro de hidrógeno y mercaptanos	Ácido sulfhídrico (H ₂ S), metanotiol (MeSH), etanotiol (EtSH)	Huevo podrido, col cocida, goma
Levadura, oxidación	Acetaldehído	Acetaldehído	Manzana verde, oxidación
	Isoaldehídos	Isobutanal, 2-metilbutanal y 3-metilbutanal	Malta, levadura
	Metional	Metional	Patata, oxidación
Floral	Fenilacetaldehído	Fenilacetaldehído	Miel, oxidación
	Acetato de feniletilo	Acetato de feniletilo	Floral, rosa, dulce
	Cinamatos	Cinamato de etilo y dihidrocinamato de etilo	Dulce, balsamico
	β -ionona	β -ionona	Violetas
	Terpenos	Linalool, geraniol, nerol, citronellol y α -terpineol	Jazmín, moscatel, azahar
	(Z)-óxido de rosa	(Z)-óxido de rosa	Rosa, lichi
Frutal	Ésteres estílico	Butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo, propanoato de etilo, isobutirato de etilo, 2- metilbutirato de etilo, 3- metilbutirato de etilo, 4- metilpentanoato de etilo, hidroxibutirato de etilo, 2- metilpentanoato de etilo, 3- metilpentanoato de etilo, ciclohexanoato de etilo y 2- hidroxil-4- metilpentanoato	Frutal, manzana, fresa
	β -damascenona	β -damascenona	Manzana compotada, ciruela pasa
	Furaneol	Furaneol, homofuraneol, maltol	Fresa, azúcar
	Acetato de isoamilo	Acetato de isoamilo y acetato de isobutilo	Plátano
	δ -lactonas	δ -octalactona, δ -nonalactona, δ -decalactona, δ -undecalactona y δ -dodecalactona	Melocotón
Cítrico fresco	3MHA	Acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA)	Fruta de la pasión
	3MH	3-mercaptohexanol (3MH)	Pomelo
	4M4MP	4-metil-4-mercaptopentan-2-ona (4M4MP)	Boj, fresco
	Piperitona	Piperitona	Menta, fresco
Vegetal	Metoxipirazinas	3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP), 3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP) y 3-sec-butil-2-metoxipirazina (SBMP)	Verde, terroso, pimienta verde
	Compuestos relacionados con oxidación de ácidos grasos	Hexanal, (Z)-3-hexenal, (E)-2-hexenal, (E,E)-2,4-hexadienal, (Z)-3-hexenol, (E)-2-hexenol, 1-hexanol, (E)-2-nonenal, (E,Z)-2,6-nonadienal	Verde, herbáceo
	(Z)-1,5-octadien-3-ona	(Z)-1,5-octadien-3-ona	Metálico, geranio
Especiado y madera	Derivados de vainillina	Vainillina, etil vanillato, metil vanillato y acetovanillona	Vainilla
	whiskylactonas	(Z)-whiskylactona y (E)-whiskylactona	Coco
	metoxifenoles	Eugenol, isoeugenol y guaiacol	Clavo, ahumado
	Sotolón	Sotolón	Curry, regaliz
	Rotundona	Rotundona	Pimienta
	DMS	Sulfuro de dimetilo (DMS)	Trufa, aceituna negra
TDN	1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN)	Queroseno	

Tabla 2. (cont.)

Empireumático	Furfuriltiol Bencilmercaptano	Furfuriltiol Bencilmercaptano	Café tostado Quemado-tostado
---------------	----------------------------------	----------------------------------	---------------------------------

6.2.1. Disolvente alcohólico

Esta primera categoría incluye tres vectores de aroma muy comunes: etanol, alcoholes de fusel y acetato de etilo. Si bien las propiedades de supresión de aroma del etanol y los alcoholes fusel se describieron previamente y han sido objeto de investigaciones específicas, debe reconocerse que el papel sensorial específico de algunos de estos vectores no se comprende completamente. La presencia del etanol es esencial en la percepción aromática del vino, sin embargo, altos niveles de este compuesto se han asociado a un carácter metálico desagradable, ardiente o amargo (Jones y col., 2008), que también podría estar relacionado con las notas herbáceas o químicas descritas en algunos otros trabajos (Goldner y col., 2009; King y col., 2013; Villamor y col., 2013). Tal carácter agresivo parece estar contrarrestado por la presencia de polisacáridos. Los alcoholes fusel, por su parte, dotan al vino de esa nota aromática espirituosa (de-la-Fuente-Blanco y col., 2017) considerada un aroma áspero y desagradable en las concentraciones que generalmente se encuentran en el vino. Sin embargo, se considera que por debajo de 300 mg L^{-1} contribuyen a la complejidad deseable del vino, mientras que cuando sus concentraciones superan los 400 mg L^{-1} , presentarán una influencia negativa en la calidad del vino (Rapp y Mandery, 1986).

Finalmente, y con respecto al acetato de etilo, su nota característica como disolvente se puede apreciar en algunos vinos tintos envejecidos. En vinos estropeados por bacterias acéticas, junto con el ácido acético, el acetato de etilo impartirá ese carácter avinagrado al vino (Corison y col., 1979). Sin embargo, puede tener efectos favorables sobre el aroma del vino en concentraciones inferiores a 80 mg L^{-1} (Ribéreau-Gayon y col., 2000b).

6.2.2. Ácido - Láctico

Dentro de la categoría de ácido - láctico, hay tres vectores diferentes: diacetilo, ácidos grasos y ácidos ramificados. El diacetilo, que se formará principalmente en la fermentación maloláctica, aportará un característico olor a mantequilla y cuyo umbral presenta una fuerte dependencia de la matriz del vino (Martineau y col., 1995). Los otros dos vectores en la categoría, ácidos grasos y ácidos ramificados, son controvertidos, ya que, afortunadamente, las notas sensoriales de estos compuestos no se perciben en la mayoría de los vinos. Sin embargo, ambos vectores juegan papeles esenciales en el aroma del vino, aunque el conocimiento al respecto sigue siendo limitado. Se sabe que los ácidos grasos son esenciales para la percepción frutal (San Juan y col., 2011), mientras que los ácidos ramificados podrían estar implicados en el tipo de fruta percibida, mejorando la fruta roja y deprimiendo las notas de fruta negra (Ferreira y col., 2016).

6.2.3. Reducción

Tres compuestos principales integran esta categoría: sulfuro de hidrógeno (H_2S), metanotiol (MeSH) y etanotiol (EtSH). Todos ellos son olores desagradables, a menudo descritos como huevos podridos (H_2S), putrefacción (MeSH) o cebolla (EtSH) (Mestres y col., 2000). Además, niveles bajos de H_2S y MeSH pueden ejercer un efecto de supresión sobre las notas frutales, florales y de madera en el vino (Franco-Luesma y col., 2016). Estos compuestos son una familia bien conocida debido a que son responsables de un defecto habitual en el vino, conocido como reducción. Sin embargo, pequeñas cantidades de ellos pueden tener un papel sensorial relevante, ya que se encuentran inevitablemente en todos los vinos (Mestres y col., 2000; Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Estos compuestos se forman durante la fermentación: el H_2S está relacionado con el metabolismo de la levadura, específico para azufre y sus niveles están relacionados con múltiples factores, mientras que los dos mercaptanos están relacionados con el metabolismo de los aminoácidos (Smith y col., 2015).

6.2.4. Levadura, oxidación

Se pueden encontrar tres vectores principales en esta categoría: acetaldehído, isoaldehídos y metional. El acetaldehído es un componente omnipresente del vino formado durante la fermentación y también durante la oxidación del vino (Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Tiene un aroma característico a manzana verde, manzana oxidada, claramente percibido en vinos oxidados o en elaboraciones especiales como las de Jerez, donde forma parte de su aroma característico (Zea y col., 2015). Se sabe que el acetaldehído y otros aldehídos forman aductos fuertes con SO_2 , lo que explica por qué normalmente está presente en varios $mg\ L^{-1}$ (30 - 130 $mg\ L^{-1}$ (Ribéreau-Gayon y col., 2000b)) en casi todos los vinos, pero no se puede percibir claramente a menos que los niveles de SO_2 libre sean muy bajos.

Los isoaldehídos son tres compuestos con aroma descrito como a malta y a levadura. Su función sensorial específica no se ha estudiado adecuadamente, ya que su poder aromático generalmente es superado por los otros dos aldehídos de Strecker más potentes: el metional y el fenilacetaldéhid. El metional es el compuesto aromático más potente de la categoría y es uno de los principales responsable del deterioro oxidativo del vino (Culleré y col., 2007; Escudero y col., 2000) en combinación con isoaldehídos y con fenilacetaldéhid. Éste último se ha incluido en la categoría floral, pero junto con el metional e isoaldehídos dotarán al vino de un aroma a verduras cocidas (Escudero y col., 2000), descriptor donde también parece jugar un papel importante el metionol (Moreira y col., 2002). Los aldehídos citados, contrariamente a lo que se ha pensado durante muchos años, se forman principalmente durante la fermentación (Oliveira, 2019) y permanecen en el vino formando aductos estables con SO_2 , que se liberan cada vez que este antioxidante disminuye por oxidación (Bueno y col., 2016). Se pueden formar cantidades adicionales de estos compuestos por oxidación catalizada por metales, a partir de los

aminoácidos precursores una vez que el SO₂ se ha agotado por completo (Bueno y col., 2016; Monforte y col., 2018).

6.2.5. Floral

Esta categoría está integrada por seis vectores de aroma diferentes: fenilacetaldehído, acetato de feniletilo, cinamatos de etilo, β-ionona, terpenoles y óxido de rosa. El primero de ellos, el fenilacetaldehído es un aldehído de Strecker formado principalmente en fermentación como se describió anteriormente. La molécula tiene un agradable olor a miel, muy apreciado en el perfil sensorial de algunos vinos dulces, como Sauternes o Pedro Ximénez, en los que está presente en altas concentraciones (Campo y col., 2008a; Sarrazin y col., 2007). Sin embargo, se considera perjudicial en vinos secos, donde se ha demostrado que es un fuerte supresor de notas frutales (Culleré y col., 2007; San Juan y col., 2011). El fenilacetaldehído es menos reactivo a los polifenoles del vino que los diferentes aldehídos alifáticos, lo que explica por qué esta molécula puede acumularse fácilmente en vinos jóvenes (Bueno y col., 2018).

El acetato de feniletilo también tiene un fuerte carácter floral-miel que a menudo se puede percibir en el aroma de los vinos jóvenes secos. Sus niveles pueden aumentar mucho en fermentaciones coinoculadas con diferentes levaduras no *Saccharomyces* como se describe en la literatura pertinente (Rojas y col., 2003; Stribny y col., 2015). Como la mayoría de los acetatos, este compuesto aromático tiene una vida corta en el vino, ya que se hidroliza lentamente para formar el alcohol.

Los cinamatos son una serie de odorantes, donde destacan el cinamato de etilo y dihidrocinnamato de etilo, con un fuerte aroma dulce-floral cuyo origen y papel en el vino son poco conocidos. Son componentes normales del aroma del vino y parecen derivarse de precursores glucosídicos de la uva (López y col., 2004; Loscos y col., 2007; Moio y Etievant, 1995; Ugliano y Moio, 2008). Sus niveles parecen aumentar con la maduración (Lukic y col., 2016).

La β-ionona es una molécula con olor a violeta derivada de los carotenoides cuya función sensorial exacta en el vino no se ha estudiado en profundidad (Mendes-Pinto, 2009). Podría ser un vector de aroma eficaz responsable de esta nota floral.

Aunque los vinos contienen pequeñas cantidades de cinco terpenoles (linalool, geraniol, nerol, citronelol y a-terpineol), solo los dos primeros a veces se encuentran por encima de sus umbrales de olor correspondientes. Estos compuestos se identificaron por primera vez como odorantes claves de uvas y vinos de Moscatel (p. ej., Moscatel de grano menudo o Moscatel de Alejandría) (Ribéreau-Gayon y col., 1975) y son responsables de las notas florales, de jazmín y de azahar de diferentes vinos blancos (Arrhenius y col., 1996; Campo y col., 2005; Versini y col., 1994).

El último compuesto en esta categoría es el (Z)-óxido de rosa, un terpeno con un agradable carácter floral parecido al aroma de las rosas que se identificó por primera vez como compuesto aromático impactante en vinos elaborados con Gewürztraminer (Guth, 1997), como responsable de su nota característica de lichi (Ong y Acree, 1999). Curiosamente, los efectos sensoriales de este compuesto y de linalool y geraniol, parecen ser fuertemente dependientes del contexto aromático.

6.2.6. Frutal

Se trata de la categoría más importante donde se han incluido cinco vectores aromáticos diferentes: ésteres etílicos, β -damascenona, furaneol, acetato de isoamilo y γ -lactonas.

Los ésteres etílicos constituyen el vector de aroma más grande y complejo de los vinos. Este vector incluye hasta 14 compuestos aromáticos importantes (de-la-Fuente-Blanco y col., 2020). La mayoría de éstos son producidos por levaduras durante la fermentación alcohólica. Sin embargo, los ésteres también pueden derivarse de la uva o de la esterificación química de alcoholes y ácidos durante la crianza del vino (Etiévant, 1991; Lambrechts y Pretorius, 2000). Múltiples factores influyen en las concentraciones de los ésteres: la fuente de carbono, suministro de nitrógeno, pH, madurez de la uva, temperatura de fermentación, oxigenación del medio, concentración de dióxido de azufre, la cepa de levadura, etc. (Lambrechts y Pretorius, 2000; Rapp y Versini, 1991).

De los 14 ésteres, solo algunos de ellos, como 2 y 3-metilbutirato, butirato de etilo, hexanoato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo pueden estar en algunos vinos tintos a concentraciones superiores a los umbrales. Recientemente se ha demostrado (de-la-Fuente-Blanco y col., 2020) que los 14 compuestos funcionan como una sola unidad perceptiva. Actuando de manera concertada e integrada, contribuyendo al carácter frutal general de los vinos tintos.

La β -damascenona es un compuesto aromático potente y omnipresente en vino. Este derivado de diferentes productos de descomposición de carotenoides, que está presente en la mayoría de los vinos en concentraciones de 1 a 4 $\mu\text{g L}^{-1}$, mejora las notas afrutadas con matices a miel, frutas tropicales, membrillo y manzana (Escudero y col., 2007; Ferreira y col., 2002; Pineau y col., 2007) mientras que a niveles más altos puede inducir notas de frutas demasiado maduras (San Juan y col., 2011).

El siguiente vector de aroma está formado por furaneol, homofuraneol y maltol. Las tres moléculas tienen aromas muy dulces típicamente relacionados con el azúcar quemado y el caramelo, y contribuyen de manera concertada a las notas frutales y a caramelo en los vinos (Depinho y Bertrand, 1995; Ferreira y col., 2002; Ferreira y col., 2016).

El acetato de isoamilo tiene una nota característica de plátano que a veces se puede percibir en vinos tintos jóvenes elaborados con uvas Tempranillo (Ferreira y col., 2000) o Pinotage

(Vanwyk y col., 1979) o en vinos fermentados con algunas levaduras no *Saccharomyces* (Plata y col., 2003; Rojas y col., 2001).

El último vector de aroma de la categoría frutal está formado por δ -lactonas. Se trata de un grupo de cinco compuestos aromáticos homólogos con un fuerte olor a melocotón y coco que también actúan de manera conjunta (Jarauta y col., 2006). La mayoría de las veces no superan el umbral de percepción, pero pueden interactuar con otros vectores de aroma como los terpenoles para inducir notas florales dulces (Loscos y col., 2007).

6.2.7. Cítrico-fresco-mentolado

Esta categoría de vectores de aroma está formada por los tres mercaptanos polifuncionales más importantes de origen varietal, acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA), 3-mercaptohexanol (3MH) y 4-metil-4-mercaptopentan-2-ona (4M4MP), y una serie de terpenos o derivados de los mismos, donde destaca la piperitona. Las tres primeras moléculas tienen un origen común y parecen ser importantes contribuyentes generales a la frescura y notas frutales en muchos vinos blancos (Mateo-Vivaracho y col., 2010). Aunque también se ha reportado que pueden influir en las percepciones verdes (Green y col., 2011a).

Se trata de compuestos aromáticos muy potentes con aromas tropicales como maracuyá (Tominaga y col., 1996), boj (Tominaga y col., 2006), pomelo (Ferreira y col., 2002) o incluso menta en el caso de la piperitona (Picard y col., 2016a; Picard y col., 2016b).

Están presentes en la uva en forma de precursores conjugados al glutatión (Des Gachons y col., 2002) o a la cisteína (Tominaga y col., 1998) y luego son liberados por la actividad β -liasa de la levadura durante la fermentación alcohólica (Dubourdieu y col., 2006). Aunque la formación de 3MH también se puede dar por una reacción de sustitución nucleofílica entre H_2S y (*E*)-2-hexenal (Harsch y col., 2013; Schneider y col., 2006).

El otro vector de la categoría está formado por terpenos y/o derivados de los mismos. Cabe destacar una molécula recientemente identificada, la piperitona. Es una cetona monoterpénica, que parece contribuir eficazmente al aroma positivo a menta de los vinos tintos de Burdeos (Picard y col., 2016a; Picard y col., 2016b). En este grupo, otros compuestos que pueden jugar un papel importante en la percepción de estas notas frescas y mentoladas son las *p*-menta lactonas (mentalactona, isomentalactona y mentofurolactona) (Picard y col., 2017) y otros terpenos y/o derivados del limoneno como mentona, mentol, pulegona y carvona (Picard y col., 2018).

6.2.8. Vegetal

Los vectores de aroma más importantes que constituyen este grupo son las metoxipirazinas y FAOs, de las que ya se ha hablado anteriormente. Aunque existen algunos ejemplos más.

Las pirazinas presentan aromas a pimiento verde y notas terrosas, responsables de caracteres vegetales que, en general, se consideran poco positivos para la calidad, ya que son marcadores de inmadurez de algunas variedades de uva (Roujou de Boubee y col., 2000) y supresores del carácter frutal en vinos (Campo y col., 2005). Su origen puede ser endógeno o exógeno, en la uva algunas fuentes sitúan su génesis en el metabolismo de aminoácidos (Dunlevy y col., 2013), mientras que su procedencia exógena puede provenir de la inclusión de mariquitas (*Harmonia axyridis*) en la vendimia (Galvan y col., 2008). Los niveles de estos compuestos están relacionados con el vigor y el sombreado de la vid (Ryona y col., 2008) y son notablemente altos en las uvas Cabernet sauvignon y Carmenere (Belancic y Agosin, 2007). A niveles bajos, contribuyen a la expresión típica de algunos de estos vinos, pero a niveles más altos se consideran un defecto (Allen y col., 1991).

Cabe señalar que se han encontrado fuertes correlaciones negativas entre los niveles de estos compuestos, en particular IBMP, y los diferentes atributos afrutados y de regaliz de los vinos (Gracia-Moreno, 2015). Esta correlación negativa sugiere que estos compuestos pueden funcionar como supresores relevantes a nivel subumbral.

Como se ha visto, las moléculas aromáticas derivadas de la FAO son bien conocidas por el olor a hojas verdes (Hatanaka, 1993), donde destacan la potencia aromática de los aldehídos, ya que sus umbrales aromáticos son cientos de veces más pequeños que los de los alcoholes correspondientes. Seguramente, estos aldehídos son responsables de las características notas herbáceas de algunos mostos, particularmente de los producidos a partir de uvas inmaduras (Gómez y col., 1995; Yuan y Qian, 2016). Sin embargo, los aldehídos se eliminan principalmente durante la fermentación, en la que se reducen enzimáticamente a los alcoholes correspondientes. En consecuencia, el papel de estos compuestos en las características de aroma verde y herbáceo (negativo) de los vinos aún no se ha demostrado claramente. Cabe destacar que los niveles de los FAOs están fuertemente relacionados con la variedad de uva (Oliveira y col., 2006) y también con la posición de la baya en el racimo (Noguerol-Pato y col., 2012) siendo más ricas en estos compuestos las situadas en el hombro.

Los aromas vegetales de Cabernet sauvignon y otros vinos son, sin embargo, mucho más complejos y no pueden explicarse completamente analizando simplemente las metoxipirazinas y los derivados de la FAO (Preston y col., 2008). Si bien algunos trabajos (Allen y col., 1991; Bindon y col., 2014) muestran una alta correlación entre las notas sensoriales de aroma vegetativo de algunas variedades de uvas y las metoxipirazinas. Sin embargo, existen trabajos que no han podido encontrar ninguna correlación (Preston y col., 2008; Scheiner y col., 2012). También hay investigaciones que suman más compuestos a la compleja ecuación de aromas verdes, como es el caso del 1,8-cineol (Poitou y col., 2017). Algunos trabajos sugieren que (a) los alcoholes FAOs junto con IBMP pueden impartir notas herbáceas al vino tinto (Escudero y col., 2007); (b) la acción concertada del hexanol, el principal alcohol derivado de la FAO, con

sulfuro de dimetilo y metanetiol, opuesto a la acción del acetaldehído y los ácidos grasos lineales, podría estar relacionado con el carácter vegetal del vino (San Juan y col., 2011).

Además, se continúan encontrando compuestos con aromas vegetales provenientes de diferentes orígenes y con estructuras químicas dispares. Como puede ser la (*Z*)-1,5-octadien-3-ona, una cetona relacionada con potentes sensaciones metálicas y un aroma a hoja de geranio, que se ha vinculado estrechamente con enfermedades fúngicas (Darriet y col., 2002; Pons y col., 2018), pero que podría tener una notable relevancia en la percepción de notas vegetales (Alegre y col., 2020a). Otro ejemplo es el (*E*)-1-(2,3,6-trimetilfenil)-buta-1,3-dieno (TPB), un norisoprenoide C13, asociado a vinos blancos, especialmente Semillon envejecidos, cuyo aroma se describió como "verde" o "hierba cortada", mientras que a concentraciones más altas, los descriptores se tornan menos favorables como "punzante" o "químico" (Cox y col., 2005; Janusz y col., 2003).

6.2.9. Especiado y aroma a madera

Esta categoría comprende una amplia gama de diferentes vectores de aroma responsables de diferentes matices de aroma relacionados con la madera y el bouquet de envejecimiento.

El primer vector de aroma se llama vainillas y está integrado por una serie de aldehídos aromáticos, de los cuales los más relevantes son la vainillina, el vanillato de etilo, el vanillato de metilo y la acetovanilona. Todos ellos están presentes en concentraciones por debajo de los umbrales, pero incluso a niveles muy bajos, ejercen una acción concertada con otros vectores de aroma (Loscos y col., 2007) que contribuyen a las notas dulces y especiadas.

El segundo vector de aroma está formado por whiskylactonas, que son los componentes aromáticos de madera de roble más fuertes con un olor a coco muy característico. La (*E*)-whiskylactona es la principal responsable, junto con los fenoles volátiles de la madera, de la nota aromática a madera (Ferreira y col., 2016).

El siguiente vector está formado por algunos metoxifenoles, de los cuales los más importantes son eugenol, isoeugenol y guaiacol. Estos compuestos aromáticos también se derivan principalmente de la madera y tienen notas características a clavo y ahumados claramente perceptibles en vinos envejecidos con barricas de roble con un tostado intenso.

El cuarto vector es el sotolón, una molécula fuerte de olor a curry-regaliz que puede tener un especial impacto aromático en la oxidación de vinos blancos (Pons y col., 2010) y en determinadas elaboraciones especiales, como los vinos de Oporto (Ferreira y col., 2003). Recientemente se ha demostrado que incluso a niveles bajos puede ejercer potentes efectos sensoriales (Caille y col., 2017).

La rotundona, es un sesquiterpeno responsable de las notas a pimienta que se identificó por primera vez en los vinos tintos Syrah australianos (Wood y col., 2008).

El siguiente vector en esta categoría es el sulfuro de dimetilo (DMS), que es una molécula de aroma altamente volátil con descriptores de aroma de trufa, aceituna o espárrago (Escudero y

col., 2007; Segurel y col., 2004). En un inicio se asoció como un defecto de crianza, pues se identificó por primera vez en vinos blancos de cosecha tardía almacenados durante mucho tiempo en la botella (Loubser y DuPlessis, 1976). Más tarde, sin embargo, se describió que el DMS era un potenciador significativo de las notas frutales de los vinos tintos (Escudero y col., 2007; Lytra y col., 2014; Segurel y col., 2004). Sin embargo, en algunos contextos aromáticos pobres, se puede asociar a notas vegetales, en asociación con metanotiol (San Juan y col., 2011), o vegetales enlatados (Franco-Luesma y col., 2016).

El último vector en esta categoría es el 1,1,6-trimetil-1,2-dihidronaftaleno (TDN), un hidrocarburo derivado de los carotenoides que le confiere a los vinos Riesling envejecidos un carácter muy característico de un aroma a queroseno, aunque en niveles más bajos, también está presente en otras variedades, por lo que podría ser sensorialmente relevante (Sacks y col., 2012).

6.2.10. Empireumático

Esta última categoría comprende dos vectores de aroma diferentes. El primero está compuesto de furfuriol, con un umbral de olor muy bajo de $0,4 \text{ ng L}^{-1}$ y un olor a café tostado muy característico (Tominaga y col., 2000). El segundo vector de aroma es el bencilmercaptano con un fuerte olor a tostado carbonizado y un umbral de olor de sólo $0,3 \text{ ng L}^{-1}$ (Tominaga y col., 2003).

7. Orígenes del verdor y tratamientos tecnológicos

Las buenas calidades de uva solamente pueden ser obtenidas en viñedos bien establecidos, sobre terrenos adecuados, con variedades idóneas y en las que el equilibrio vegetativo entre el conjunto de posibilidades de producción, madurez, vigor y cosecha sean favorable, mantenidos en condiciones de buena sanidad (Hidalgo e Hidalgo, 2011).

De todos estos factores la bibliografía relaciona principalmente la aparición del verdor con la ausencia de madurez en las uvas. En el apartado 2 de la presente introducción se vio como el concepto de inmadurez aparecía en múltiples ocasiones a la hora de describir el verdor. Desde un diccionario normal; *Dicho de un vino: Que hace entender, por su sabor áspero, que en su elaboración se mezcló uva agraz con la madura* (R.A.E, 2020) hasta la literatura científica que define la inmadurez sensorialmente como: *una agrupación hedónica negativa que consiste en una sensación astringente asociada con una acidez excesiva y aromas verdes* (Gawel y col., 2000). De esta forma, los términos “verde” y “maduro” se excluyen mutuamente, hasta el punto de que la madurez se define como ausencia de notas verdes más que por la presencia notas frutales (Parr y col., 2007) y varios trabajos científicos describen los vinos elaborados con uvas inmaduras como vinos con notas verdes (Llaudy y col., 2008; Pineau y col., 2017).

La uva constituye la materia prima para la elaboración de los vinos, por ello se debe prestar especial atención a la influencia ambiental en la producción de esta fruta. Si bien es cierto que el

estado de maduración parece ser uno de los factores principales que condicionan estrechamente la calidad de la uva y en consecuencia del vino (Ribéreau-Gayon y col., 2000a); no se puede olvidar que también habrá otros factores y procesos que pueden condicionar la aparición del verdor, como el potencial vegetativo del viñedo, la mecanización de la vendimia o tratamientos en bodega.

7.1. Influencia ambiental – Cambio climático

El viñedo es el punto clave que determina la calidad de la uva y por ello una de las claves para gestionar verdoros en el vino. En este punto se deben tener en cuenta un considerable número de factores, que, al expresarse, determinarán las características de la vendimia producida y, como consecuencia, la calidad y características del vino elaborado. Como agroecosistema complejo, el viñedo se ve afectado por las condiciones ambientales-orográficas-edafoclimáticas (Hidalgo e Hidalgo, 2011; Reynolds y Heuvel, 2009; Segade y col., 2019) que se resumen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Factores ambientales-orográficos-edafoclimáticos del viñedo que condicionarán las características y calidad de la uva.

Factores permanentes	Clima, mesoclima, microclima, suelo (profundidad, textura, nutrientes y agua), altura, variedad de uva y portainjerto, densidad y disposición del viñedo, densidad de plantas, sistema de conducción...
Factores variables	Temperatura, exposición solar, humedad, edad del viñedo, añada...
Factores accidentales	Plagas, enfermedades, accidentes meteorológicos, patologías del viñedo, calidad...
Factores modificables	Fecha de la vendimia, podas y otras operaciones en verde, abonados y enmiendas, riego, labores y otros trabajos de gestión del viñedo.

Pequeñas variaciones en los parámetros mencionados anteriormente, se pueden traducir en diferencias notables en las características cuantitativas o cualitativas de la cosecha vendimiada. Ya que, aproximadamente, un 18% de los genes de la vid pueden verse afectados por las condiciones ambientales durante el desarrollo de la uva (Dal Santo y col., 2013). Estas condiciones ambientales, desde hace años, están sufriendo importantes variaciones por las vicisitudes asociadas al cambio climático. Estas variaciones las podemos observar en los patrones de precipitaciones, con un mayor riesgo de sequía; un aumento de la temperatura media de la superficie del planeta, cambios en la calidad y disponibilidad del agua del suelo; aumento de la concentración de CO₂ y los cambios en la radiación solar, entre otras consideraciones (Schultz, 2008; Webb y col., 2012). Todo esto está ejerciendo una influencia cada vez más profunda en la fenología de la vid y la composición de la uva y, en última

instancia, afectando a las vinificaciones, la microbiología y química del vino y los aspectos sensoriales (de Orduña, 2010).

Entre los efectos más importantes relacionados con el cambio climático se encuentran los cambios en el rendimiento y la producción de uva; el avance de tiempos y temperaturas de cosecha, el aumento de las concentraciones de azúcar de la uva que conducen a altos niveles de alcohol en el vino, menor acidez y modificación de los compuestos aromáticos y color del vino (de Orduña, 2010; Edwards y col., 2017; Petrie y Sadras, 2008; Schultz, 2008; Webb y col., 2012), es decir, un impacto significativo tanto en las características organolépticas de los vinos como en su potencial de envejecimiento (Pons y col., 2017b).

Algunas consecuencias se podrían controlar, como la acidez de un mosto (de Orduña, 2010). Sin embargo, otros factores pueden ser muy complejos de manejar, como una descompensación entre la madurez de los distintos componentes de la uva, ya que podemos tener frutas con unas concentraciones de azúcar elevadas sin haber alcanzado la madurez sus compuestos fenólicos (Jones y Davis, 2000). También es imposible gestionar la temperatura del viñedo, que podría influenciar las propiedades sensoriales de la uva como aromas frutales y herbáceos (Sadras y col., 2013). Otro factor imposible de manejar es el incremento de la radiación solar, que tendrá un impacto directo en la composición de la uva, a través de la alteración de metabolitos secundarios como flavonoides, aminoácidos y carotenoides (Schultz, 2008).

A medida que los impactos del cambio climático se hagan más patentes en el metabolismo de la vid se incrementará la importancia y la premura en comprender las interrelaciones entre el clima y el viñedo. Los cambios previstos en el clima de las regiones vitivinícolas durante las próximas décadas pueden alterar significativamente tanto el espectro como la distribución de las variedades de uva utilizadas actualmente (Schultz, 2008). Promover la diversidad clonal dentro de las variedades puede ser un punto de partida para la adaptación (Pons y col., 2017b). Es posible que las prácticas del suelo deban adaptarse para tener en cuenta los cambios en la humedad del mismo. Y parece importante en estas circunstancias escoger con cuidado las fechas de vendimia y la adaptación de los sistemas de conducción, tener en consideración las tasas de descomposición de la materia orgánica y el rendimiento de los cultivos y labores en campo (limitar el aclareo, gestionar la nutrición mineral y nitrogenada, asegurarse de que el vigor de la planta sea suficiente...) (Pons y col., 2017b; Schultz, 2008; Webb y col., 2012).

7.2. Maduración

Parece que deficiencias en el proceso de maduración de la uva es una de las principales fuentes de verdor en los vinos. De forma que vinos elaborados con uvas vendimiadas de forma prematura producen vinos con un carácter menos afrutado y especiado, con menos color, cuerpo y con atributos más frescos, vegetales y ácidos, en general, más verdes y menos complejos en

comparación con los vinos elaborados con uva más madura (Casassa y col., 2013; Pineau y col., 2017).

De manera general la maduración de la uva es el resultado de múltiples transformaciones bioquímicas, que no son necesariamente correlativas entre sí, en donde pasamos de un racimo verde, duro y ácido, con el mismo aspecto y metabolismo que un órgano verde más de la vida; hacia un fruto coloreado, aromático y azucarado (Hidalgo e Hidalgo, 2011). Todo ello requiere una serie de procesos que incluyen la translocación, acumulación y metabolismo de los componentes principales dentro de la baya que finalmente establecerán la base de composición del vino. Estos cambios incluyen:

- El almacenamiento de glucosa y fructosa (Coombe, 1992); así como una dilución de los ácidos predominantes en la baya (ácido tartárico y ácido málico) (Ruffner, 1982); procesos que determinarán la “madurez tecnológica”. Ésta se define como el máximo peso de vendimia con la mayor concentración de azúcares o también cuando la relación azúcares/acidez es máxima.
- Una disminución de la síntesis de fenoles y una acumulación de taninos condensados en la piel y las semillas (Downey y col., 2003; Ribéreau-Gayon y col., 2000b); así como una acumulación de flavanoles y antocianinas en las pieles (Boss y col., 1996; Fernández-López y col., 1992); que se comenzará a apreciar con el cambio de color de la baya (envero) hasta alcanzar un cierto equilibrio en la concentración de polifenoles, lo que estipulará la “madurez fenólica” de la uva.
- La acumulación de otros metabolitos como aminoácidos, particularmente arginina y prolina (Hernández-Orte y col., 1999; Kliewer, 1968; Stines y col., 2000) y cambios en la concentración y diversidad de precursores aromáticos y compuestos volátiles (Marais y col., 2017; Razungles y col., 1993; Ribéreau-Gayon y col., 2000b) alcanzando un equilibrio que determinará la “maduración aromática” (Le Moigne y col., 2008).

Tradicionalmente la fecha de la vendimia se establecía según la experiencia del viticultor, basándose en el análisis organoléptico de los granos de uva (“madurez sensorial”), es decir, en la impresión visual que nos producen, así como en la táctil, gustativa y olfativa.

Por lo tanto, podemos hablar de diferentes tipos de madurez (sensorial, tecnológica, fenólica, aromática, etc.), lo que convierte este concepto en un estado fisiológico un tanto difuso e impreciso. Para alcanzar ciertos niveles de calidad y de control en los procesos de elaboración, fue preciso establecer una sistemática para estimar la maduración, mediante la determinación de índices de maduración. Se trata de ciertas fórmulas que se proponen para estimar el momento óptimo de vendimia.

Para complicar aún más el problema, es bien sabido que las variaciones en el tiempo y el grado de maduración no ocurre simultáneamente, sino que existen diferencias entre las bayas de un

mismo racimo, entre los racimos de una cepa de vid y entre diferentes cepas en un viñedo de un solo cultivo (Belviso y col., 2017; Noguerol-Pato y col., 2012; Tarter y Keuter, 2005).

7.2.1. Madurez Sensorial

Cuando las uvas están maduras están más dulces, menos ácidas, han cambiado de color las pieles y las pepitas, se separan con facilidad las bayas del raspón, las semillas de la pulpa, el pincel se colorea quedando unido al pedicelo. Modificaciones que también implican cambios a nivel organoléptico. Por eso, encontramos métodos de evaluación sensorial basados en la degustación de bayas y semillas de uva, en los que se establecen protocolos para la determinación sensorial de la maduración de la vendimia. Por ejemplo, el método presentado por Rousseau y Delteil (2000), o el desarrollado por Le Moigne (2008). Estas metodologías requieren mucha experiencia, un panel rigurosamente entrenado, un muestreo laborioso y una compleja parametrización.

7.2.2. Madurez tecnológica

Como se ha dicho anteriormente, la **madurez tecnológica** corresponde a la etapa en la que la acumulación de azúcar en la pulpa es máxima, la acidez baja y la relación azúcar/acidez alta (Carbonneau y col., 1991). Los índices que miden la maduración tecnológica son los más empleados y extendidos pues se determinan compuestos muy significativos con la madurez y su cuantificación es sencilla. Sin embargo, solo nos está dando información de la pulpa de la uva. De esta forma, encontramos diferentes índices y fórmulas empíricas que juegan con parámetros como pH, acidez, alcalinidad, concentración de azúcares o ácidos: evolución del contenido de azúcar y acidez, relación glucosa/fructosa, índice de maduración de De Cillis y Odifredi, índice de maduración de Baragiola y Scuppli, coeficiente de maduración de Ferré, coeficiente de saturación de ácidos de Ferré, índice de maduración de Goded, índice de maduración Suizzera, índice de Benvegnin y Peyer, índice de maduración R.J. Weaver, índice de maduración de Garino y Canina (Hidalgo e Hidalgo, 2011). Todos tienen en cuenta la cocentración de azúcar, ácidos o ambos.

Cabe destacar que también existen índices de maduración de la uva basados en métodos físicos, aunque por si solos no revelan de un modo claro y determinante este estado, pueden ser muy útiles cuando se asocia a otros índices. Algunos ejemplos son: el peso del racimo o de granos de uva, la resistencia del cabello o pedicelo, la firmeza de la pulpa y el hollejo, el rendimiento de mosto y la densidad del mosto. También se podrían incluir en este grupo aquellos métodos que relacionan la superficie del hollejo con el volumen de vendimia o la evaluación de las pepitas respecto de la pulpa (Hidalgo e Hidalgo, 2011). Hubo otras tentativas para describir el estado de madurez, teniendo en cuenta las variaciones respectivas del ácido málico y tartárico, el descenso de clorofila, respiración del racimo, el análisis del etileno, o la acumulación de cationes... Se

han desarrollado diferentes modelos matemáticos (Maujean, Blouin o Duteau) y otros tipos indicadores como la “madurez oxidativa” o “indicadores de estrés” (Hidalgo e Hidalgo, 2011). Pero ninguno de los índices desarrollados ha resuelto completamente la evaluación del nivel de madurez.

7.2.3. Madurez fenólica

La **madurez fenólica** se define como la etapa en la que las antocianinas alcanzan la concentración máxima en la piel y cuando la contribución de los taninos de las semillas al contenido total de taninos (semillas y piel) es débil (Kennedy y col., 2006). La piel y semillas de la uva son la principal fuente de compuestos fenólicos en el vino (Canals y col., 2005; Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Los antocianos, moléculas responsables del color del vino tinto, se acumulan gradualmente en la piel durante la maduración (Fernández-López y col., 1992) y las proantocianidinas, tienen un papel importante en la calidad del vino porque contribuyen a la estabilidad del color y se asocian con sensaciones de textura como el cuerpo y la astringencia (Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Por tanto, la madurez fenólica se trata de un concepto de vital importancia a la hora de valorar la madurez de la uva, especialmente en vendimias tintas, ya que uvas inmaduras producirán vinos más ricos en taninos de semillas y con una marcada astringencia (Llaudy y col., 2008). En consecuencia, la medición de la madurez fenólica es tremendamente útil para saber cuál será la intensidad del color y la composición final de polifenoles del vino.

Se puede medir el color del mosto mediante métodos sencillos de laboratorio, como el índice de permanganato o el de Folin-Ciocalteu, el índice de polifenoles totales (IPT) o el índice de color (IC). Aunque también existen otras técnicas, como la medición directa de la absorción de color de la piel de la uva (Celotti y col., 2007; Cerovic y col., 2008; Diago y col., 2016) e incluso el análisis de imágenes multiespectrales de alta resolución desde el aire (Lamb y col., 2004) dentro de la viticultura de precisión. Estas técnicas reducen drásticamente el tiempo de análisis, pero necesitan más experimentación para demostrar su confiabilidad y repetibilidad. También existen métodos más sofisticados, como el sistema Dyosystem [®] (Dyosystem, 2020), basado en fotogrametría, que es capaz de medir automáticamente el tamaño de los granos de uva, así como el color de las mismas, indicando de una manera aproximada su grado de maduración.

Sin embargo, las antocianinas no siempre se extraen fácilmente de los hollejos y los niveles bajos de extracción pueden dar lugar a vinos con poco color. Las uvas pueden presentar un potencial de extracción variable, en función de la variedad (Hidalgo e Hidalgo, 2011), que va aumentando con el incremento de la madurez de la uva (Llaudy y col., 2008). Por tanto, la extractabilidad de las antocianinas es también uno de los principales factores que afectan a su concentración futura en el vino (Canals y col., 2005). Se han propuesto varios métodos para medir la madurez fenólica teniendo en consideración esta extractabilidad, como la medición de

la textura de la piel (Río Segade y col., 2008). Actualmente, los métodos más aplicados se basan en la obtención de extractos de uva mediante maceración en diferentes disolventes, como el método Glories (Glories y Agustin, 1993) y el método ITV (Lamadon, 1995) que son probablemente los más empleados. También destacar el método Cromoenos (*Cromoenos*, 2002), con una metodología más rápida y sencilla basada en un tratamiento térmico.

Por último, cabe señalar que las técnicas FTIR (Fourier Transform Infrared) ya se están aplicando en el análisis de los extractos, lo que permite obtener resultados analíticos complejos de forma rápida (Dubernet y col., 2000).

7.2.4. Madurez aromática

La madurez aromática corresponde con la desaparición de notas vegetales (Schneider y col., 2002). Lo que lo convierte en un concepto de gran interés, pero su medición con un método fácil y rápido no existe en la actualidad. Esto se debe a la complejidad del aroma de la uva, que no se limita al estudio de sus compuestos aromáticos sino también al de sus precursores y todos los factores que pueden afectar a dichas concentraciones. Además, dado que los análisis actuales se realizan mediante técnicas cromatográficas, la preparación de muestras o su extracción y análisis requieren un trabajo especializado y un elevado coste, que sólo se permiten en centros de investigación, laboratorios especializados o bodegas muy bien equipadas.

De hecho, el estudio del potencial aromático de las variedades de uva, es decir el estudio de la química del aroma y precursores, durante la maduración continúa siendo uno de los retos de la enología a día de hoy (Ribéreau-Gayon y col., 2000a). Actualmente se ha avanzado en el conocimiento de algunas familias y en el estudio de precursores, como se ha visto en el apartado 5 de esta introducción (Alegre y col., 2020a; Alegre y col., 2020b). Una de las primeras familias que se estudiaron durante la madurez de la uva fueron los terpenos en variedades florales como la Moscatel (Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Las formas libres y glicosiladas de terpenoles se acumulan en las uvas durante la maduración a partir del envero en las diferentes variedades de Moscatel (Fenoll y col., 2009; Hardy, 1970; Ribéreau-Gayon y col., 2000b). Algunos autores encontraron una acumulación continua de monoterpenos, incluso en uvas demasiado maduras (Wilson y col., 1984). Otros comparten la opinión más generalizada de que los monoterpenos libres comienzan a disminuir antes de alcanzar el nivel máximo de azúcar (Marais, 1983).

Según algunos estudios los derivados de norisoprenoides C13, como β -damascenona o la β -ionona, se desarrollan de acuerdo al mismo patrón (Strauss y col., 1987). Los carotenoides, precursores de estos compuestos, se sintetizan principalmente desde la primera etapa de formación del fruto hasta el envero, y luego se degradan entre el envero y la madurez para producir norisoprenoides C13 glicosilados y otros compuestos (Baumes y col., 2002). En uva Baga los norisoprenoides se incrementan con la madurez (Coelho y col., 2006), al igual que la β -damascenona en estudios con Pinot noir (Fang y Qian, 2006; Yuan y Qian, 2016). Sin

embargo, este hecho no tiene por qué traducirse en que vinos elaborados con uvas más maduras contengan más norisoprenoides C13, ya que hay estudios en los que los norisoprenoides decaen con la madurez de la uva (Kalua y Boss, 2010), o se mantienen estables (Bindon y col., 2013; Schelezki y col., 2018). Se debe considerar que la concentración de estos compuestos dependerá de múltiples factores, como el compuesto en cuestión, la luz que ha recibido el racimo o el periodo de crianza del vino (Asproudi y col., 2018; Mendes-Pinto, 2009).

Las concentraciones más altas de metoxipirazinas se encuentran en las uvas inmaduras, hasta 100–200 ng L⁻¹ en el jugo de Sauvignon blanc o Cabernet sauvignon (Lacey y col., 1991; Roujou de Boubée y col., 2000). Posteriormente, con el transcurso de la maduración estas concentraciones disminuirán gradualmente. En este descenso también jugará un papel importante la incidencia de luz (Heymann y col., 1986) y la temperatura del viñedo (Lacey y col., 1991). Otro compuesto que puede tener incidencia en el verdor, como el 1,8-cineol, también disminuye con la madurez de la uva (Poitou y col., 2017).

Peyrot des Gachons y col. (2000) mostraron que, a medida que uvas de Sauvignon blanc maduraban en viñedos de Burdeos, sus concentraciones de precursores de 4-mercapto-4-metilpentan-2-ol se mantenían estables o aumentaban mientras que los precursores de 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona y 3-mercaptohexan-1-ol variaban de forma menos regular, sin una tendencia marcada a acumularse o degradarse. Estas variaciones en la concentración dependieron del precursor cisteínico, el tipo de suelo, el clima y las técnicas de manejo del viñedo (clones, portainjertos, poda, fertilización, tipo de conducción, etc.).

El vínculo entre aldehídos y alcoholes derivados de la oxidación de ácidos grasos (FAOs) y la madurez de la uva no se ha establecido claramente, aunque existen varios estudios que han intentado establecer una relación. De esta forma, algunos trabajos muestran una disminución de los alcoholes C6 durante la maduración (Bindon y col., 2013; Schelezki y col., 2018), hasta incluso tomar alguno de ellos como marcadores de madurez (Gómez y col., 1995). Otros revelan tendencias menos lineales durante el ciclo de la baya (Kalua y Boss, 2009; Mendez-Costabel y col., 2013; Schelezki y col., 2018). Parece claro que no existe un comportamiento consistente de esta familia con la madurez. Una conclusión lógica debido al gran número de compuestos que conforman este grupo, así como los múltiples procesos de reducción e isomerización que se establecen entre ellos (García y col., 2003; Iglesias y col., 1991), además de otra serie de factores que pueden afectar a su concentración como variedad de uva, procesos mecánicos de la vendimia, temperatura, presencia de oxígeno y presencia de hojas, entre otros (Cordonnier y Bayonove, 1981; Mendez-Costabel y col., 2013; Schelezki y col., 2018).

Otros compuestos que no presentan un comportamiento claro, posiblemente derivado de la gran cantidad de factores que afectan a su concentración, son los ésteres. Existen trabajos en los que estas evoluciones dependerán de los compuestos en cuestión, pues no se aprecia una tendencia común (Schelezki y col., 2018). Otros estudios describieron que la mayoría de los ésteres de

ácidos grasos de cadena corta tampoco presentaron tendencias obvias; sin embargo, las concentraciones de 2-metilpropanoato de etilo y 3-metilbutanoato de etilo disminuyeron constantemente con la madurez de la uva Pinot noir (Yuan y Qian, 2016).

Existen un número limitado de trabajos sobre la evolución de los alcoholes superiores con la madurez. Bindon y col. (2013) detectaron un aumento general de las concentraciones de alcoholes en los vinos Cabernet sauvignon elaborados con uvas más maduras, mientras que Šuklje y col. (2016) no encontraron efectos de la madurez de la uva sobre el contenido de alcoholes en vinos de Shiraz.

7.3. Equilibrio Vegetativo

Los diferentes factores edafoclimáticos del ecosistema vitícola determinarán el desarrollo de la vid, que finalmente se traduce e integra en lo que se denomina potencial vegetativo, que dará lugar a la producción de fruto, madera (incluyendo todas las partes de la cepa sin incluir el fruto) y calidad, en un complejo equilibrio vegetativo. De manera que, las tres modalidades parciales de producción están íntimamente relacionadas entre sí. Poniendo un ejemplo muy simplificado del proceso, si se fuerza el incremento de la producción de uva disminuirá el vigor de la cepa, que se refleja en el peso de la madera de poda o sarmientos y en el resto de partes vivaces de la planta, como asimismo la calidad del fruto y las reservas depositadas en éste (Hidalgo e Hidalgo, 2011). De una manera general, la cantidad de vendimia se suele contraponer con su calidad.

Por lo tanto, se debe buscar una armonía, definida hace más de 100 años, que se alcanzará cuando el vigor vegetativo y la carga fructífera están en equilibrio y son consistentes con una buena calidad de la uva (Howell, 2001). Actualmente, para definir este concepto de calidad sostenible con el máximo rendimiento se suele emplear, entre otros índices, la relación entre la superficie foliar expuesta (SFE, expresada en metros cuadrados) y la producción de fruta (P, expresada en kilogramos de uva). La relación SFE: P, es uno de los indicadores más utilizados para controlar este equilibrio y en consecuencia la calidad de la uva. Por ejemplo, para las conducciones en espaldera, la relación SFE: P requerida para ser considerados equilibrados y capaces de producir uvas y vinos de alta calidad estaría entre 0,8 y 1,2 m² kg⁻¹ (Kliewer y Dokoozlian, 2005). Sin embargo, existen numerosas formas de determinar el equilibrio del viñedo, desde índices físicos (como las dimensiones de la masa foliar, número de capas de la mismas o el peso de los sarmientos) hasta técnicas de teledetección como NDVI (normalised differential vegetation index) y PDC (plant cell density) (Bramley, 2010; Hidalgo e Hidalgo, 2011).

Las consecuencias de posibles desequilibrios son diversas y se han tratado ampliamente en la bibliografía, afectando a todo el microclima de la vid: al estado hídrico de la vid, al desarrollo de yemas, a la fisiología de las hojas, modificando la retención de clorofila, las tasas

fotosintéticas, a su transpiración y senescencia de las hojas, la cinética de maduración de las bayas, la exposición de racimos y en definitiva la composición de los metabolitos de la uva y el vino y en consecuencia a las propiedades sensoriales del vino (Howell, 2001; Katjašuklje y col., 2013; Reynolds y Heuvel, 2009).

De esta manera, un área foliar inadecuada o un exceso de vigor o cosecha, que se plasmará en una relación SFE: P más baja, retrasará el envero, alargará el tiempo de la maduración, que en ocasiones no conseguirá completarse por completo (Howell, 2001), produciendo bayas y racimos de mayor tamaño y compacidad (Gatti y col., 2017). También se ha demostrado que a partir de viñedos con diferente vigor se elaboran vinos significativamente diferentes desde el punto de vista sensorial (Johnson y col., 2001), ya que a medida que aumenta el vigor y el rendimiento, los azúcares reductores del mosto y los rasgos fenólicos disminuían sus valores (Gatti y col., 2017) variando también su composición aromática (Hernández-Orte y col., 2015) y sus sensaciones en boca como la astringencia (Cortell y col., 2008).

El desequilibrio vegetativo puede estar relacionado con la aparición de fenómenos de verdor. Se ha demostrado que un elevado vigor, producido por elevadas temperaturas durante la primavera (Mendez-Costabel y col., 2013), alto estado hídrico de la planta (Scheiner y col., 2012) y, por consiguiente, sombreado de las uvas, puede ser un impulsor de los compuestos aromáticos verdes (IBMP y compuestos FAOs con notas verdes). Dicho exceso de vigor puede ser modulado por la poda y la carga de la cosecha, procesos que también tienen un efecto sobre los aromas verdes de la uva (Chapman y col., 2004a, 2004b).

7.4. Otras fuentes del verdor

El carácter herbáceo perceptivo general de los vinos está relacionado principalmente con la etapa de maduración de la uva, pero existen otros factores que pueden jugar un papel relevante en su aparición en diferentes puntos de la elaboración, desde la vendimia hasta tratamientos de determinantes coadyuvantes enológicos en bodega.

La acumulación de compuestos derivados de la oxidación enzimática de ácidos grasos, que presentan un marcado carácter herbáceo, puede surgir en el mosto debido a un tratamiento mecánico intenso de la vendimia que propicia procesos de laceración o rotura del material vegetal. Este hecho se puede reducir limitando u optimizando ciertas operaciones mecánicas en el proceso de elaboración del vino, desde el tipo vendimia, el transporte, el procesado (tolvas, despalladoras, estujadoras...), el tipo y grado de prensado (de Boubee y col., 2002) o el tipo de bombas. Será importante también el tiempo y temperatura de maceración (Ferreira y col., 1995), el grado de oxigenación (Mozzon y col., 2016), entre otros.

Por ejemplo, una mala gestión de una vendimia mecánica o de la maquinaria de recepción de vendimia puede aumentar el carácter herbáceo debido a un exceso en la rotura del material vegetal o a una oxidación enzimática incontrolada (Nardin y col., 2006), ya que se han

encontrado mayores concentraciones de alcoholes derivados de la FAO, como el hexanol y el (Z)-3-hexenol, y sus correspondientes ésteres, en vinos elaborados con uvas recolectadas a máquina (Herbst-Johnstone y col., 2013). Aunque cabe destacar que, otros trabajos no encontraron detrimento en la calidad de vinos procedentes de vendimias realizadas mecánicamente (Arfelli y col., 2010; Clary y col., 1990; Noble y col., 1975). Pudiendo incluso llegar a incrementar los caracteres varietales en algunos casos, como en el Sauvignon blanc (Allen y col., 2011; Herbst-Johnstone y col., 2013).

También pueden aparecer verdores debido a posibles contaminaciones incluidas en la vendimia y ajenas a la uva. Por ello, la producción de vinos de alta calidad puede requerir la selección en bodega de uva vendimiada a mano con el objetivo de reducir, no solo la presencia de bayas inmaduras, dañadas o podridas, sino también toda la materia distinta de la uva (material other than grapes - MOG), como los pecíolos, raquis y hojas de la propia vid, que pueden afectar la calidad percibida sensorialmente y la composición química de los vinos resultantes (Ward y col., 2015; Capone y col., 2021). Se ha demostrado que la inclusión de este tipo de elementos pueden incrementar los niveles de derivados de la FAO, pirazinas y terpenos (Capone y col., 2021; Cordonnier y Bayonove, 1981; Marais, 1983; Ward y col., 2015) que podrían producir desequilibrios organolépticos en el vino, como un incremento de las notas vegetales por el efecto de pirazinas (Hashizume y Samuta, 1997; Capone y col., 2021), los derivados de la FAO (Cordonnier y Bayonove, 1981) o el conocido como “defecto floral” (Wang y col., 2019).

Cabe destacar que en la vendimia se puede dar la inclusión de material vegetal ajeno al género *Vitis*, como es el caso de hojas de árboles del género *Eucalyptus* o de plantas invasoras (*Artemisia verlotiorum*) (Capone y col., 2012; Poitou y col., 2017). Ésta es la causa principal del incremento de 1,8-cineol en vinos, como se vio anteriormente. Pero no solo se ha observado en el caso de este género de árboles, sino que también han aparecido aromas herbales o a pino en los vinos elaborados a partir de viñedos plantados cerca de otros árboles como de cipreses de Monterrey (*Cupressus macrocarpa*) (Capone y col., 2018, 2017).

Otros elementos que pueden tener un fuerte impacto sensorial en los vinos son las mariquitas. Éstos pequeños coleópteros de la familia *Coccinellidae* han sido identificadas como una fuente muy importante de metoxipirazinas en el vino, especialmente la IPMP, produciendo un defecto que se denomina "ladybug taint" (LBT) (Pickering y col., 2005). *Harmonia axyridis* y *Coccinella septempunctata* son las especies principales consideradas responsables de causar esta contaminación, que se produce cuando estos insectos se incorporan inadvertidamente durante el proceso de elaboración del vino (Botezatu y col., 2013; Pickering y col., 2005). EL LBT se caracteriza por una mayor intensidad de aromas y sabores a pimienta, espárragos, cacahuets y notas terrosas y verdes con un marcado detrimento de la calidad del vino (Botezatu y col., 2013).

Las mariquitas no son los únicos insectos que pueden afectar a la calidad del vino, también se ha estudiado la presencia de la chinche parda marmorada o chinche hedionda marrón marmoleada en la vendimia (*Halyomorpha halys*) (Mohekar y col., 2017a). Este hemíptero de la familia de Pentatomidae puede aportar e incrementar los niveles de compuestos como (*E*)-2-decenal y el tridecano que incrementan las percepciones verdes, a cilantro, o sensaciones mohosas provocando el rechazo del vino por profesionales y consumidores (Mohekar y col., 2017a, 2017b).

Cabe destacar también ciertos tratamientos prefermentativos como el “hot break” que consiste en someter a altas temperaturas el mosto inmediatamente después del triturado. Produce elevadas concentraciones de (*E*)-2-hexenal en el jugo de uva Concord (*Vitis labrusca*), dando como resultado persistentes aromas verdes en el mosto (Iyer y col., 2010).

Ya en fermentación, una práctica que se ha vuelto habitual en las elaboraciones de tinto en los últimos años ha sido la de fermentar la uva sin despalillar, es decir, con el racimo entero. La finalidad es ganar complejidad, sin embargo en algunas variedades, puede inducir un incremento de la percepción de verdor, ya sea a nivel de nariz que se relaciona con una subida en los niveles de pirazinas (Hashizume y Samuta, 1997) o de derivados de la FAO (Capone y col., 2018; Day y col., 2020; Suriano y col., 2016), o un incremento de astringencia al incrementar la carga tánica (Suriano y col., 2016).

Determinados tratamientos en bodega también pueden desarrollar verdores en vino. Por ejemplo, por la aparición de 5-etoxi-1,3-hexadieno, un compuesto con un fuerte aroma a la hoja de geranio, que presenta también una desagradable percepción metálica. Presenta un umbral de olfacción muy pequeño, en torno a 1 ng L^{-1} , y cuyo origen se vincula con el metabolismo del ácido sórbico por las bacterias lácticas (Chisholm y Samuels, 1992). Era un defecto común cuando se empleaba el ácido sórbico para prevenir la refermentación en vinos con azúcares residuales.

7.5. Tratamientos contra el verdor

Actualmente y debido a que los principales factores que parecen afectar a la ausencia de verdores en vino son cuestiones como llevar a cabo la vendimia en un estado óptimo de madurez de la uva, que el viñedo presente un equilibrio vegetativo manteniendo una armonía entre la producción y la calidad de la uva y otros agentes puntuales, parece que la principal herramienta que se puede emplear para solventar el verdor sería un estricto trabajo preventivo. Sin embargo, es de sobra conocido que esto no es tan simple ya que existen consideraciones de diversas índoles, como logísticas, climáticas, fitosanitarias o incluso psicológicas, que pueden alterar tanto la calidad como el momento óptimo de vendimia, con la consecuente aparición de verdores. Por ello, es necesario disponer de una serie de herramientas para poder solventar este

problema más allá de la prevención, aunque los principales estudios se han basado en los compuestos que tradicionalmente se les ha achacado el problema del verdor, como las pirazinas. Si existe algún tipo de predisposición a la generación de verdores o se tiene la convicción que determinada parte de la vendimia puede generar este defecto, existen una serie de técnicas para mitigar estos defectos.

Antes de comenzar la fermentación se puede replantear el *co-winemaking* que se trata de llevar a cabo la elaboración de vino con distintas variedades de uva conjuntamente. De manera que la maceración y fermentación de determinadas variedades podrían beneficiarse de moléculas adicionales aportadas por otras variedades (Gómez Gallego y col., 2012; Gómez García-Carpintero y col., 2010), dando como resultado unos vinos más complejos y mejor valorados sensorialmente (Lorenzo y col., 2008a, 2008b). De esta forma se ha demostrado que se puede modular el carácter herbáceo (Lorenzo y col., 2008a) o la astringencia (Gómez Gallego y col., 2012).

Ya en la vinificación se pueden emplear estrategias para reducir el contacto de las pieles y el líquido. Por lo tanto, se debe minimizar el tiempo de las maceraciones, descubrir cuanto antes, reducir el número de remontados, etc. para tratar de no tener altas concentraciones de algunos compuestos como pirazinas (Sala y col., 2005), derivados de la FAO (Ferreira y col., 1995; Mozzon y col., 2016) y sensaciones herbáceas y astringentes (Llaudy y col., 2008; Reynolds y col., 2001). Del mismo modo, se debe tener en consideración la temperatura de fermentación, ya que podría afectar a la aparición de caracteres herbáceos en función del tipo de vino a elaborar (Reynolds y col., 2001). También se puede intentar clarificar o desfangar cuanto antes en el caso de mostos de variedades blancas, ya que esta práctica puede reducir hasta la mitad los niveles de 3-isobutil-2-metoxipirazina en mostos de Sauvignon blanc (Roujou de Boubée y col., 2000).

Es de sobra conocida la importancia de la levadura empleada en los resultados finales del proceso fermentativo. Tanto es así que se pueden emplear para modular las percepciones verdes de un vino. Trabajos anteriores mostraron como en función de la cepa de levadura se puede enmascarar (Pickering y col., 2008a) o incrementar los atributos aromáticos vegetales (Molina y col., 2009). Además, las cepas de levadura se diferencian en su capacidad de liberar polisacáridos, que pueden combinarse con antocianos y taninos en el vino, estabilizando el color y disminuyendo la astringencia (Escot y col., 2008). De hecho, se pueden encontrar en el mercado levaduras específicas para la elaboración de vino a partir de uvas verdes o inmaduras.

Una vez concluida la fermentación alcohólica, se ha considerado que los complejos cambios que se producen en la composición química del vino durante la fermentación maloláctica (FML) implican una mejora del aroma afrutado y la nota "láctea" y una disminución del carácter herbáceo, posiblemente por el catabolismo de aldehídos responsables de estas notas (Liu, 2002). Si después de la FML no se ha conseguido eliminar esas notas herbáceas, una medida habitual dentro de una bodega sería mezclar el vino defectuoso con otro lote sin defecto para tratar de

mitigar o enmascarar el problema. El *coupage* o ensamblaje de vinos es una de las técnicas enológicas más antiguas para equilibrar la composición de los vinos, mejorar su calidad y complejidad, aumentar su estabilidad y/o estandarizar un producto con unas características particulares, así como para ocultar algunas carencias o defectos de algunos vinos (Escudero-Gilete y col., 2010; Singleton y Ouch, 1962). Se ha demostrado que esta técnica permite modificar la composición y el perfil sensorial de los vinos (Monagas y col., 2007; Singleton y Ouch, 1962), pudiendo tener lugar efectos supresores o amplificadores (Hopfer y col., 2012) muy útiles para reducir el aroma herbáceo o vegetal y la astringencia en los vinos (Dooley y col., 2012; Hopfer y col., 2012). Ya que no existe una herramienta eficaz para solucionar el problema, una de las opciones más socorridas será enmascarar el defecto.

Otra alternativa es la crianza en barrica de roble, ya que se conoce que el aporte de la madera y el proceso natural de microoxigenación producido en las barricas a lo largo del tiempo puede suponer una mejora en las percepciones organolépticas de los vinos (Puech y col., 1999). Sin embargo, este procedimiento es costoso y laborioso, por lo que no es adecuado para todas las gamas y estilos de vino, y mucho menos para un vino con un defecto de verdor. Actualmente se disponen de técnicas que reproducen, emulan e incluso aceleran el efecto de la barrica, como la microoxigenación y el uso de alternativos de madera (Parish y col., 2000).

La microoxigenación es una técnica que aporta un flujo controlado de oxígeno en los depósitos simulando las complejas reacciones que ocurren durante el envejecimiento del vino en barrica. Mientras que el uso de alternativos (chips, duelas, virutas o polvo de madera de roble) supone el aporte de la madera al vino, optimizando tiempo y coste.

De esta manera se han descrito los cambios sensoriales que ocurren en vinos tintos expuestos a diferentes regímenes de microoxigenación y con diferentes maderas, disminuyendo la astringencia y los caracteres herbáceos del vino. La microoxigenación se ha mostrado como una alternativa asequible para acelerar la estabilización del color y los compuestos fenólicos y para mejorar la calidad sensorial de los vinos tintos reduciendo sensaciones astringentes en boca (Llaudy y col., 2006; Parish y col., 2000). De esta forma, la adición de oxígeno condujo a un aumento de las notas frutales y florales, mientras que el carácter herbáceo disminuyó significativamente también en los vinos tintos de Tempranillo (Cejudo-Bastante y col., 2011). Sin embargo, se ha reportado una fuerte dependencia de los efectos de la microoxigenación en función de la variedad de uva (Cabernet sauvignon o Tempranillo), el período de crianza de los vinos y el uso de barricas o depósitos de acero (Hernández-Orte y col., 2009). De forma que la microoxigenación no siempre inducirá cambios significativos en los compuestos volátiles varietales y de fermentación, incluso los herbáceos (Hernández-Orte y col., 2009; Ortega-Heras y col., 2008).

De igual modo, también se ha demostrado que los tratamientos con alternativos aumentaron los compuestos aromáticos derivados del roble, como vainillina, whiskylactonas y guaicol y las

percepciones aromáticas a vainilla, tostados y torrefactos (Arfelli y col., 2011), que podrían llegar a enmascarar defectos asociados al verdor (Pickering y col., 2006).

Una vez que el vino está terminado también existen una serie de tratamientos que pueden ser efectivos contra el verdor como el uso de manoproteínas, polisacáridos, lías de vino, cortezas de levadura, taninos, clarificaciones severas con PVPP (polivinilpolipirrolidona), gelatinas o carbones, o clarificaciones específicas, como las realizadas con proteínas vegetales (guisante, soja, arroz, patata o lenteja, entre otras). Muchos de estos tratamientos han resultado efectivos por si solos, como las manoproteínas que mejoran las percepciones en boca reduciendo el amargor y la astringencia (Dupin y col., 2000; Escot y col., 2008). Otra opción sería el uso de polisacáridos para reducir la astringencia (Escot y col., 2008). También se ha demostrado que el extracto de semillas puede reducir las notas vegetales en vino rosado y reducir sensaciones de acidez y astringencia (Gazzola y col., 2017). También la patatina, una proteína extraída de la patata (*Solanum tuberosum*), es un potencial sustituto de las gelatinas como un clarificante eficiente de vinos tintos, que puede reducir los matices aromáticos vegetales (Gazzola y col., 2017) y las percepciones astringentes en boca (Gambutí y col., 2012). Sin embargo, muchas veces se usan diferentes aditivos y técnicas a la vez, con el fin de mejorar la calidad del vino final. Por ejemplo, la microoxigenación combinada con el uso de madera y lías de levadura redujo la astringencia, aumentó el equilibrio y mejoró percepciones consideradas positivas como la de vainilla (Arfelli y col., 2011).

Pero hay soluciones más drásticas, como el uso de carbón activo en vinos blancos para reducir los niveles de IPMP asociado al LBT, aunque afectando también a otros volátiles (Pickering y col., 2006). Esta falta de selectividad a la hora de disminuir los volátiles también se observa una vez se envasa el vino. Con todos los tipos de envases y cierres se observa una disminución de los niveles de odorantes, sin embargo con determinados materiales este proceso se da en mayor medida, como en el tetrapak, lo que puede suponer una herramienta útil para disminuir los niveles de pirazinas (Blake y col., 2009).

Se encontró que el tratamiento del mosto con silicona (un sorbente no polar) antes de la fermentación reduce la concentración de compuestos pirazínicos sin alterar las concentraciones de los principales compuestos volátiles derivados de la fermentación (Ryona y col., 2012).

Los tratamientos térmicos son procesos que se suelen emplear para aumentar la productividad, modificar el perfil de aroma y reducir el riesgo de contaminaciones microbianas. Muchos de éstos tratamientos, como la termovinificación, tienen el potencial de reducir el carácter herbáceo, disminuyendo los niveles de pirazinas (Kögel y col., 2015; Pickering y col., 2008b) y derivados de la FAO, al inactivar térmicamente los sistemas enzimáticos de la lipoxigenasa (Fischer y col., 2000). Pero este proceso supondrá importantes cambios sensoriales en el vino final (Jackson, 2008), que no se suelen relacionar con vinos de alta calidad. Otro tratamiento

térmico interesante para reducir verdoros es la técnica flash-détente, por su capacidad de eliminar volátiles perjudiciales (Razungles, 2010).

También cabe citar metodologías más experimentales como la Columna Spinning Cone. Se trata de una tecnología moderna, rápida y eficiente para la extracción de componentes volátiles, generalmente empleada para desalcoholizar (Pickering, 2000). Pero ya se ha comentado la posibilidad de que se podría adaptar este método para eliminar verdoros del vino (Mozzon y col., 2016).

Como se pudo ver hay un amplio abanico de posibilidades que pueden originar y/o aminorar el problema del verdor, pero en cualquier caso es necesario conocer cual es la causa de nuestro problema para poder solventarlo. Para llegar a ese conocimiento una herramienta muy eficaz será la química analítica.

8. Métodos de análisis del aroma

8.1. Análisis Químico

La determinación de compuestos volátiles de interés está basada en la cromatografía de gases combinada con un sistema de detección adecuado, como puede ser la espectrometría de masas o el propio olfato humano mediante GC-Olfatometría. De esta forma, el análisis cromatográfico de los compuestos aromáticos del vino y otros alimentos es una herramienta muy útil, tanto para la cuantificación, la clasificación, como para el control de calidad y la comprensión de sus propiedades sensoriales.

Los compuestos volátiles presentes en el vino se pueden clasificar de acuerdo a la facilidad para obtener una señal analítica específica de los mismos (Culleré y col., 2019; López y col., 2002). De esta manera, se pueden establecer dos categorías.

En la primera estarían los compuestos más “fácilmente accesibles”, ya que la mayoría de ellos están presentes en casi todos los vinos a concentraciones superiores a $\mu\text{g L}^{-1}$, no son muy reactivos y no forman complejos fuertes con componentes de la matriz. Todos ellos podrían analizarse fácilmente mediante GC con detectores de ionización de llama (FID) y de espectrometría de masas (MS), en función de su concentración. A su vez esta primera categoría se podría subdividir en dos grupos. Los llamados compuestos mayoritarios, como alcoholes superiores y sus acetatos, ácidos grasos volátiles y sus ésteres etílicos, ácidos grasos ramificados y sus ésteres etílicos, acetoina, diacetilo y acetaldehído, que están en concentraciones en el intervalo $0,2 - 400 \text{ mg L}^{-1}$ (Ortega y col., 2001). Y un segundo grupo de compuestos minoritarios o traza que se encuentran en concentraciones de entre $0,1$ y $200 \mu\text{g L}^{-1}$, como fenoles volátiles, lactonas, ésteres minoritarios, norisoprenoides y derivados de la vainilla (López y col., 2002).

Los compuestos de la segunda categoría requieren métodos específicos de análisis debido a diferentes razones. Aquellos compuestos como los azufrados volátiles (VSC) (Franco-Luesma y

Ferreira, 2014; López y col., 2007) y aldehídos (Bueno y col., 2014) que forman complejos con diferentes componentes del vino y, por lo tanto, su análisis requiere romper estas uniones y usar estrategias de especiación. O compuestos altamente polares que, aunque son compuestos de diversos orígenes, su alta polaridad dificulta su aislamiento del vino. O los mercaptanos polifuncionales (Mateo-Vivaracho y col., 2008), rotundona y metoxipirazinas (Wen y col., 2018) que son compuestos aromáticos muy potentes presentes en niveles por debajo de $\mu\text{g L}^{-1}$ en muchos casos y, por lo tanto, requieren estrategias analíticas altamente selectivas y sensibles. En la actualidad, para poder determinar la gran mayoría de los compuestos del aroma presentes en el vino son necesarios métodos distintos por la diferente naturaleza y concentración en la que se encuentran los compuestos. Se necesitan diferentes técnicas para el aislamiento de las moléculas aromáticas, así como diferentes métodos de análisis cromatográfico, que vamos a explicar a continuación.

8.2. Técnicas de tratamiento de muestra

En matrices complejas, como el vino, antes del análisis instrumental se requiere de un trabajo especializado de extracción y preparación de la muestra.

De forma general, debido a la complejidad del vino el aislamiento de las moléculas requiere diferentes etapas de tratamiento. Generalmente son: muestreo, extracción, limpieza y concentración. Las técnicas de aislamiento empleadas van a depender de ciertas características de los analitos que queremos analizar, como su volatilidad, su solubilidad y su capacidad de ser retenidos.

Una de las técnicas de referencia es la **extracción líquido-líquido**, metodología clásica que ya se empleó para la extracción de compuestos volátiles de mostos hace más de cuarenta años (Schreier y col., 1976). La técnica consiste en poner en contacto nuestra muestra con un disolvente orgánico, a la que previamente puede añadirse una sal para modificar la fuerza iónica, evitar las emulsiones y favorecer el paso de los analitos desde la fase acuosa a la orgánica.

Más recientemente, los investigadores han empleado métodos de muestreo del **espacio de cabeza (HS)**, ya sea directamente o mediante metodologías de purga y trampa. Se ha observado que, si los compuestos responsables de los aromas deben llegar hasta nuestra nariz para poderlos percibir, serán los que están presentes en el espacio de cabeza del producto, por lo que el muestreo de estos volátiles es lo más adecuado para la química del aroma (Escudero y col., 2014).

La técnica de la purga y trampa implica atrapar y concentrar componentes volátiles en un soporte, generalmente sólido. Esta **extracción en fase sólida** acoplada al espacio de cabeza (HS-SPE) ha sustituido en muchos casos los métodos analíticos clásicos del aroma. La SPE, también aplicada al vino directamente, aísla los analitos siguiendo los mismos principios que la

cromatografía de líquidos, permite reducir el volumen de disolvente, simplificar los pasos de lavado y muchas veces llevar a cabo una elución selectiva. Se confirmó la eficacia de esta técnica al analizar diferentes familias de compuestos aromáticos del vino, reduciendo el nivel de interferencias y obteniendo un alto factor de concentración maximizando la sensibilidad (López y col., 2002). Otra de las ventajas de esta técnica es la amplia variedad de lechos o sorbentes, que nos permite separaciones muy efectivas.

En los años 90 Pawliszyn desarrolló la que se conoce como **microextracción en fase sólida (SPME)** (Arthur y Pawliszyn, 1990). Se trata de una técnica sencilla y automatizable comúnmente empleada en el análisis de moléculas volátiles. Esta se basa en la capacidad de sorción/desorción de un sorbente adherido a una microfibra de sílice fundida. Sus mayores desventajas son que la extracción es extremadamente dependiente de la matriz (Ferreira y col., 2015) y la variedad de fibras en el mercado es bastante limitada.

Cabe destacar que tanto la SPE como la SPME permiten llevar a cabo la derivatización de los analitos cuando se necesita mejorar la sensibilidad y/o la selectividad del método empleado (Mateo-Vivaracho y col., 2008; Zapata y col., 2010).

Otras técnicas de aislamiento empleadas para el análisis de compuestos aromáticos son **Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)** o **In-Tube Extraction (ITEX)**. La SBSE es una técnica desarrollada por Baltussen y col. (1999) a finales del pasado siglo, que se basa en una pequeña barra magnética encapsulada por una camisa de vidrio y recubierta por un sorbente, como el polidimetilsiloxano (PDMS). La barra se introduce en la muestra en agitación y pasado un cierto tiempo se introduce en un tubo de vidrio para llevar a cabo la desorción térmica en el puerto de inyección de un cromatógrafo.

8.3. Técnicas de separación y análisis cromatográfico

La cromatografía engloba a todo un conjunto de técnicas de separación dinámicas que tienen en común la migración y distribución diferencial de los analitos entre dos fases con una amplia superficie de contacto, una de las cuales es móvil y la otra permanece estacionaria. En función de la naturaleza de estas fases podemos hablar de diferentes tipos de cromatografía. En el análisis del aroma hay que destacar por encima de todas, aquellas en las que las fases móviles son gases inertes o líquidos.

La cromatografía de gases es una de las técnicas que mejores prestaciones ofrece para el análisis de compuestos volátiles, siendo la metodología de referencia en los estudios del aroma del vino. Su gran capacidad de separación, la gran variedad de columnas cromatográficas, las distintas técnicas de inyección y los distintos detectores multiplican las posibilidades de análisis.

La variedad comercial de tipos de fase estacionaria de columnas cromatográficas, sumado a la posibilidad de acoplar dos columnas, nos permite elegir el sistema cromatográfico más adecuado para obtener la mayor eficiencia posible.

El tipo de inyección nos permite solucionar problemas de intensidad, se podría aumentar en el caso de la inyección en modo splitless o evitar problemas de ensuciamiento o de señal al trabajar en modo Split, preconcentrar la muestra con sistemas de criofocalización, desorbedores donde se decide que cantidad de muestra se introduce en el sistema, entre otras alternativas.

Además, la elección de detector la haremos dependiendo de la concentración y la naturaleza de nuestros analitos, pudiendo elegir un detector no específico como lo son los detectores de ionización a la llama (FID), los de conductividad térmica (TCD) o los espectrómetros de masas (MS); en el último caso su no especificidad queda compensada con su sensibilidad. O bien podemos elegir detectores selectivos como el fotométrico de llama pulsante (PFPD), detector de quimioluminiscencia de azufre (SCD), el de captura de electrones (ECD), detector Nitrógeno-Fósforo (NDP) o el detector olfatométrico (O).

Los nuevos desarrollos en las fuentes de ionización para compuestos volátiles, junto con las sorprendentes sensibilidades de los espectrómetros de masas de alta resolución (Tiempo de vuelo y Orbitraps), sumada a la selectividad adicional proporcionada por la cromatografía de gases, sugieren que llegar a entender mejor el aroma del vino está cada vez más cerca.

Aunque la cromatografía de gases es la técnica por antonomasia en el análisis del aroma. Sin embargo, desde la reciente incorporación del MS como detector en la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), esta técnica ha revolucionado el análisis orgánico. Hace unos años la HPLC era una técnica complementaria en los estudios del aroma del vino, a veces interesante en vista de la simplificación de los extractos orgánicos, como una alternativa a la cuantificación de compuestos volátiles o con el fin de estudiar otros compuestos que podemos encontrar en el vino en forma de precursores, como es el caso de los aminoácidos. Ahora, el acoplamiento de HPLC a sistemas de detección de masas de alta resolución puede cuantificar moléculas presentes en el vino a niveles de concentración extremadamente bajos. Las perspectivas de estas nuevas técnicas pueden suponer un importante salto cuantitativo y cualitativo en el conocimiento del aroma en general y del vino en particular. Estas expectativas se pueden multiplicar cuando estas técnicas se ligan a estudios metabolómicos.

8.4. Olfatometría

Entonces, existen metodologías eficientes a la hora de identificar y cuantificar los compuestos aromáticos, sin embargo, no sabemos cual es su aportación o contribución al aroma del producto que estamos analizando. En los primeros trabajos de investigación sobre el aroma, se asumía que todos los compuestos aromáticos encontrados contribuían a formar parte del mismo. Esto significaba una enorme inversión de tiempo y trabajo para caracterizar un producto. De este modo, al principio los trabajos se focalizaban en identificar la mayor cantidad de odorantes posibles. Se estima que a principios de los 90 los compuestos volátiles identificados en alimentos rondaban los 8000 (Maarse, 1991). Además, se asumía que los odorantes con mayor

valor de actividad olfativa (OAV), que es la relación entre la concentración de odorante en un producto y el umbral de olfacción (o gustativo en su caso) en una matriz lo más parecida posible a la del producto, eran los que contribuían en mayor medida al aroma (Guth y Grosch, 1999), pero esta premisa no tiene por qué cumplirse. Los OAVs pueden ser empleados para hacerse una primera idea de qué odorantes son los más importantes en una mezcla. Pero es muy importante darse cuenta de que es sólo una primera idea, la importancia real de un odorante depende de muchos otros factores además del cociente concentración/umbral. Como por ejemplo la presencia de otras sustancias aromáticas o la posible interacción físico-química con los elementos de la matriz (Ferreira y col., 2019). Además, se ha demostrado que los humanos no somos capaces de distinguir más de tres o cuatro compuestos en mezclas, por ello una mezcla con más compuestos como el vino produce un aroma global, más allá de sus aromas individuales (Laing, 1994). Después de muchos estudios de reconstitución del aroma, se ha podido llegar a la conclusión de que sólo el 5% de los compuestos volátiles identificados contribuyen al aroma (Grosch, 2001).

La dificultad de que muchos compuestos que contribuyen al aroma fuesen complejos de detectar por las técnicas desarrolladas y la necesidad de desarrollar una metodología que diese más importancia a la percepción sensorial hizo que a comienzos de los años 50 surgiera otra técnica, la olfatometría. Su germen se da cuando algunos investigadores decidieron empezar a oler los compuestos que salían al final de una columna cromatográfica, pues estaban interesados en los compuestos odorantes, independientemente de que no obtuviesen señal con ningún detector de la época (Acree, 1997). Pero no fue hasta 1964 cuando apareció lo que se podría considerar el primer olfatómetro de gases, que no era más que un cromatógrafo de gases con puerto olfatométrico (Fuller y col., 1964). Incluso a día de hoy, a pesar de los avances tecnológicos, la nariz humana sigue siendo uno de los detectores más potentes de los que disponemos. Por ello sigue siendo una técnica de enorme utilidad.

Actualmente existen diferentes métodos de análisis de CG-O, que se han desarrollado con el fin de recopilar y procesar los datos olfatométricos para poder jerarquizar los odorantes en función de su potencial aromático. De esta forma, podemos discernir entre diferentes técnicas:

Métodos de dilución: consisten en analizar olfatométricamente una serie de diluciones sucesivas de un extracto hasta que ningún odorante es detectado. Como resultado se obtiene una jerarquización de los compuestos aromáticos de acuerdo con su ratio de concentración en el extracto y su umbral de olfacción. Dentro de esta categoría destacan AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) y CHARM (Combined Hedonic Aroma Response Measurements). El AEDA, desarrollado por Gosch y colaboradores en 1987, calcula el factor de dilución umbral para cada una de las zonas de olor correspondientes, que es la última dilución donde el olor es perceptible. El CHARM diseñado en 1984 por Acree y colaboradores (1984), se basa en el mismo principio, pero tiene en consideración la duración de la percepción olfativa para cada

zona de olor. De esta forma, el CHARM tiene más poder discriminatorio, pero a su vez tiene mayor irreproducibilidad (Delahunty y col., 2006).

El principal inconveniente de las técnicas de dilución es que la intensidad de un olor no varía linealmente con la concentración ni con la misma pendiente para todos los compuestos, su relación sigue las leyes de Stevens y Fechner (Frijters, 1978; Stevens, 1961). Además, se tratan de metodologías largas, por lo que el número de catadores queda reducido a una o dos personas, lo que supondrá una gran variabilidad/sesgos en función del juez, por la propia variabilidad interpersonal que esto entraña o por la presencia de anosmias en los catadores (Doty y col., 1984). Un último inconveniente es la dificultad de estudiar diferencias entre muestras por medio de análisis estadístico clásico.

Métodos de estimación de la intensidad: se basan en que el catador evalúa la intensidad de los odorantes a la salida de la columna de un único extracto y existen dos tipos: tiempo-intensidad o post-intensidad. Al primer grupo pertenece el método OSME (Odour Specific Magnitude Estimation) desarrollado por McDaniel y colaboradores a principios de los años 90 en la que el juez describe el odorante y evalúa su intensidad en una escala de 15cm con la ayuda de un potenciómetro. También pertenece a este tipo la técnica denominada FSCM (Finger Span Cross Modality), donde el catador mueve un potenciómetro abriendo más o menos los dedos en función de la intensidad del olor, de esta forma también se calcula el tiempo que ha durado la elución (Guichard y col., 1995). El segundo tipo, post-intensidad, tiene como característica que el catador evaluará la intensidad aromática en una escala preestablecida de 5, 7 o 9 puntos (Campo y col., 2005).

Métodos de frecuencia de detección: es una técnica propuesta por Pollien y col. (1997), en la cual un panel de catadores indica la presencia/ausencia de una zona de olor. El número de veces que un aroma es detectado se normaliza a 100, lo que representa su intensidad conocida como NIF (Nasal Impact Frequency) o SNIF (Surface Nasal Impact Frequency) cuando se tiene en cuenta la duración del estímulo. Sus principales ventajas son su simplicidad, no son necesarios panelistas especializados y permiten superar las diferencias en las sensibilidades individuales dentro de una población.

Los métodos de estimación de intensidad y de frecuencia de detección sí cumplen las leyes psicofísicas, y se pueden emplear para cuantificar y comparar entre muestras, ya que es posible aplicar tratamientos estadísticos clásicos. Los inconvenientes derivan de la dificultad de los jueces en cuantificar la intensidad de las zonas de olor y además se necesitan al menos 6 catadores para obtener resultados reproducibles en este tipo de técnicas.

En los estudios olfatométricos del presente trabajo se ha empleado la frecuencia modificada (%FM), una combinación entre dos técnicas: el método de frecuencia de detección y el método de estimación de la intensidad postintensidad, usando la fórmula de Dravnieks (Dravnieks, 1985):

$$\% FM = \sqrt{F(\%) \cdot I(\%)}$$

siendo F(%) la frecuencia de detección de la nota aromática expresada en porcentaje e I(%) la intensidad media expresada en porcentaje de la máxima intensidad.

Uno de los parámetros más importantes en olfatometría son los índices de retención, que nos permiten identificar a las sustancias odorantes usando bases de datos, es una de las partes más críticas. Cuando se trabaja en isoterma se usan los índices de Kovats y cuando se trabaja con rampa de temperaturas se usan los índices de retención lineal (IRL). En ambos índices los tiempos de retención de las distintas zonas de olor se normalizan en función de los tiempos de retención de los alcanos lineales, que se deben inyectar en el cromatógrafo bajo las mismas condiciones que el extracto. El índice de retención se calcula con la siguiente fórmula:

$$IRL = 100 \cdot \left[\frac{t_i - t_{alc}}{t_{alc-1} - t_{alc}} + z \right]$$

donde t_i es el tiempo de retención de nuestra zona de olor, t_{alc} y t_{alc-1} el tiempo de retención de los alcanos inmediatamente anterior y posterior a nuestra zona de olor y z es el número de carbonos del alcano inmediatamente anterior a nuestra zona de olor. Obtener los índices de retención para una misma zona en dos columnas de diferente polaridad nos puede ayudar significativamente en la identificación, lo habitual es en una columna polar y en una apolar.

Si bien, los métodos olfatométricos son imprescindibles para localizar los compuestos responsables de los aromas, no es menos importante el tipo de extracto que se inyecta en el sistema olfatométrico. Debe ser un extracto representativo del aroma del producto, por lo que los muestreos del espacio de cabeza es lo más apropiado (Escudero y col., 2014).

Pero la olfatometría no es suficiente para concluir el efecto de un compuesto oloroso en una matriz compleja, como es el vino. El impacto olfativo de una molécula en una mezcla compleja sigue siendo globalmente impredecible debido a los muchos fenómenos de interacciones fisicoquímicas que pueden ocurrir. Además, un efecto matriz y las interacciones entre compuestos no volátiles y volátiles también pueden afectar la percepción del compuesto (Robinson y col., 2009; Sáenz-Navajas y col., 2012).

8.5. Análisis Sensorial

La evaluación sensorial es una disciplina científica que se emplea para medir, analizar e interpretar estímulos sensoriales de un producto por un panel de cata (Lawless y Heymann, 2010). Esta práctica es un elemento inseparable de la enología como un vínculo directo que permite conectar la ciencia, la técnica y al consumidor.

La evaluación sensorial es una herramienta multifacética que se adaptará a los retos presentados. A continuación, se realizará un somero acercamiento a las técnicas más interesantes desde el ámbito enológico. Para comenzar se pueden clasificar en tres tipos de pruebas: pruebas discriminantes-comparativos, descriptivas y hedónicas.

8.5.1. Análisis Sensorial Descriptivo

El análisis sensorial descriptivo es una técnica utilizada para caracterizar los atributos sensoriales de un producto y, por lo tanto, permitir la construcción del perfil sensorial después de un análisis cualitativo y/o cuantitativo que permitirá diferenciar entre muestras (Stone y col., 2004). Por ello, se aplica a productos con notables desviaciones sensoriales. Su implementación requiere un panel capacitado con respecto a los criterios sensoriales estudiados (Lawless y Heymann, 2010). Existen diferentes metodologías de análisis descriptivo, se presentarán las más comúnmente utilizadas.

Análisis descriptivo clásico (DA). Esta prueba se basa en la búsqueda, selección y cuantificación de descriptores que permitan dar la máxima información sobre las propiedades sensoriales del producto analizado. Para este tipo de análisis se requiere un panel entrenado bien capacitado. Para ello es necesario un entrenamiento previo con estándares de referencia, hecho que permite implementar una terminología adecuada y consensuada (Rainey, 1986). Tras este periodo de entrenamiento específico, los panelistas deben cuantificar la intensidad percibida de cada atributo sobre una escala continua.

Perfil de libre elección (free-profiling). En este caso cada panelista escoge y cuantifica sus propios descriptores para caracterizar las propiedades sensoriales de un grupo de muestras (Williams y Langron, 1984). Flash Profile o Free Choice Profiling son metodologías incluidas en este grupo. Su ventaja principal es que no requieren un vocabulario consensuado por lo que el panel puede no estar entrenado. Sin embargo, la libre descripción de los panelistas puede suponer ciertas desventajas, ya que los catadores pueden generar términos muy personales y difíciles de interpretar.

Método de elección entre atributos o de citación. Permite la descripción de un producto a partir de una lista de términos que se facilita a los panelistas (Campo y col., 2008b), como el método “Check-all-that-apply” (CATA) que tiene sus orígenes en el trabajo de Coombs (1964) (Coombs, 1964). Existen otras variantes, como Pick-K (selecciona-K) cuya principal diferencia es que se limita el número de términos que los panelistas deben de seleccionar para describir los productos (Campo y col., 2008b) o el “Rate-all-that-apply” (RATA), donde los consumidores identifican primeramente si los descriptores de la lista predefinida aplican a un producto dado, y de ser el caso, evalúan la intensidad de esos descriptores (Ares y col., 2014).

8.5.2. Métodos hedónicos

Estas pruebas son empleadas para evaluar el grado de aceptación y preferencia de un producto determinado (Parpinello y col., 2009; Sáenz-Navajas y col., 2013). Estas técnicas cada vez gozan de mayor relevancia centrándose en paneles de consumidores no entrenados, lo que supone un primer paso para la optimización de cualquier producto.

8.5.3. Métodos discriminantes-comparativos

Las pruebas de discriminación se utilizan para determinar si hay diferencias sensoriales entre dos o más muestras. Entre estas pruebas, la más conocidas son la comparación por pares, la prueba triangular, el dúo trío y el test de clasificación (Lawless y Heymann, 2010).

La comparación por pares es la más simple de estas. Se presentan dos muestras y se pide al juez que determine si son diferentes o no. Esta técnica se usa poco por la elevada posibilidad de dar una respuesta correcta por azar.

Con los test triangulares (según la norma AENOR 87-006-92) se determina si existen diferencias entre tres muestras: dos de ellas son iguales y una diferente. Ante las muestras se solicita al catador que señale la diferente. Para determinar la concentración de los umbrales de percepción se usa la norma E-679-04 (2011) publicada por La Sociedad Estadounidense para pruebas y materiales (ASTM) que emplea una sucesión ascendente de pruebas triangulares forzadas.

En el caso del test duo-trío (según la norma AENOR 87-010-93) se les presenta a los catadores una referencia y dos copas (una de ellas igual a la referencia) y se les pide que señalen qué muestra se parece más a la referencia. La principal ventaja frente a las otras técnicas es que desde el inicio se les evita la confusión de diferenciar muestras.

Por último, el test de clasificación por ordenación (según la norma AENOR 87-023:1995) permite, por ejemplo, comparar el efecto de la adición de diferentes concentraciones de uno o más compuestos sobre una nota aromática. Se presenta a los jueces 3 o 4 muestras y se les pide que las ordenen de modo creciente según la percepción de la nota sensorial dada (normalmente una de las muestras no contiene el analito a estudiar y se considera la muestra inicial).

8.6. Análisis Estadístico

Una de las mayores aplicaciones del análisis sensorial es establecer relaciones entre los datos cuantitativos químicos y los datos sensoriales con el fin de encontrar los compuestos responsables de las características sensoriales más destacadas. Para esto, el análisis estadístico es una herramienta muy valiosa a la hora de relacionar variables cuantitativas y sensoriales ya que nos permite modelizar y analizar diferentes variables a la vez, ayudándonos a conocer cómo se relacionan entre sí. Los análisis de la varianza (ANOVA) nos permiten conocer los atributos más diferenciadores y los compuestos con variabilidad significativa. Así mismo resultan útiles, el análisis de componentes principales (PCA) y el análisis clúster jerárquico (HCA), que nos ayudan a situar las muestras más allá de las 3 dimensiones de un plano y a establecer relaciones. La regresión parcial por mínimos cuadrados (PLSR) también nos puede ayudar en esta tarea ya que nos permite construir modelos matemáticos capaces de predecir una respuesta a partir de una matriz de variables exploratorias.

9. Referencias

- Acree, T. E. (1997). Peer Reviewed: GC/Olfactometry GC With a Sense of Smell. *Analytical Chemistry*, 69(5), 170–175. <https://doi.org/10.1021/ac971560s>
- Acree, T. E., Barnard, J., & Cunningham, D. G. (1984). A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *Food Chemistry*, 14(4), 273–286. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0308-8146\(84\)90082-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0308-8146(84)90082-7)
- Alegre, Y., Arias-Pérez, I., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020a). Development of a new strategy for studying the aroma potential of winemaking grapes through the accelerated hydrolysis of phenolic and aromatic fractions (PAFs). *Food Research International*, 127(September 2019), 108728. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108728>
- Alegre, Y., Sáenz-Navajas, M.-P., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020b). Sensory, olfactometric and chemical characterization of the aroma potential of Garnacha and Tempranillo winemaking grapes. *Food Chemistry*, 331, 127207. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127207>
- Allen, M. S., Lacey, M. J., & Boyd, S. (1994). Determination of Methoxypyrazines in Red Wines by Stable Isotope Dilution Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(8), 1734–1738. <https://doi.org/10.1021/jf00044a030>
- Allen, M. S., Lacey, M. J., Harris, R. L. N., & Brown, W. V. (1991). Contribution of Methoxypyrazines to Sauvignon blanc Wine Aroma. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), 109–112.
- Allen, T., Herbst-Johnstone, M., Girault, M., Butler, P., Logan, G., Jouanneau, S., Nicolau, L., & Kilmartin, P. A. (2011). Influence of Grape-Harvesting Steps on Varietal Thiol Aromas in Sauvignon blanc Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(19), 10641–10650. <https://doi.org/10.1021/jf2018676>
- Amine, A., & Lacoëuilhe, J. (2007). Les pratiques de consommation du vin: rôle des représentations et des situations de consommation. *XXIIIème Congrès International de l'AFM*.
- Ares, G., Bruzzone, F., Vidal, L., Silva Cadena, R., Gimenez, A., Pineau, B., Hunter, D. C., Paisley, A. G., & Jaeger, S. R. (2014). Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). *Food Quality and Preference*, 36, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.03.006>
- Arfelli, G., Sartini, E., Bordini, F., Caprara, C., & Pezzi, F. (2010). Mechanical harvesting optimization and postharvest treatments to improve wine quality. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 44(2), 101–115.
- Arfelli, G., Sartini, E., Corzani, C., & Fabiani, A. (2011). Chips, lees, and micro-oxygenation: Influence on some flavors and sensory profile of a bottled red Sangiovese wine. *European Food Research and Technology*, 233(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1480-2>
- Arrhenius, S. P., McCloskey, L. P., & Sylvan, M. (1996). Chemical markers for aroma of Vitis vinifera var Chardonnay regional wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(4), 1085–1090. <https://doi.org/10.1021/jf9505943>
- Arthur, C. L., & Pawliszyn, J. (1990). Solid Phase Microextraction with Thermal Desorption Using Fused Silica Optical Fibers. *Analytical Chemistry*, 62(19), 2145–2148. <https://doi.org/10.1021/ac00218a019>
- Asproudi, A., Ferrandino, A., Bonello, F., Vaudano, E., Pollon, M., & Petrozziello, M. (2018). Key norisoprenoid compounds in wines from early-harvested grapes in view of climate change. *Food Chemistry*, 268, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.069>
- Aubert, C., Ambid, C., Baumes, R., & Gunata, Z. (2003). Investigation of bound aroma constituents of yellow-fleshed nectarines (Prunus persica L. Cv. Springbright). Changes in bound aroma profile during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6280–6286. <https://doi.org/10.1021/jf034613h>
- Augustyn, O. P. H., Rapp, A., & van Wyk, C. J. (1985). Some Volatile Aroma Components of Vitis Vinifera L. cv. Sauvignon blanc. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 3(2), 53–60. <https://doi.org/https://doi.org/10.21548/3-2-2382>
- Auvray, M., & Spence, C. (2008). The multisensory perception of flavor. *Consciousness and Cognition*, 17(3), 1016–1031. <https://doi.org/10.1016/j.concog.2007.06.005>
- Azodanlou, R., Darbellay, C., Luisier, J. L., Villettaz, J. C., & Amado, R. (2004). Changes in flavour and texture during the ripening of strawberries. *European Food Research and Technology*, 218(2), 167–172. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0822-0>
- Bach, K. (2007). Knowledge, wine and taste: What good is knowledge (in enjoying wine)? In B. C. Smith (Ed.), *Questions of Taste: The Philosophy of Wine* (pp. 21–40). Oxford University Press.
- Baldwin, E. A., Scott, J. W., Shewmaker, C. K., & Schuch, W. (2000). Flavor trivia and tomato aroma: Biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components. *Hortscience*, 35(6), 1013–1022. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.6.1013>

- Baltussen, E., Sandra, P., David, F., & Cramers, C. (1999). Stir bar sorptive extraction (SBSE), a novel extraction technique for aqueous samples: Theory and principles. *Journal of Microcolumn Separations*, 11(10), 737–747. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-667X\(1999\)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-667X(1999)11:10<737::AID-MCS7>3.0.CO;2-4)
- Barnett, A., & Spence, C. (2016). Assessing the Effect of Changing a Bottled Beer Label on Taste Ratings. *Nutrition and Food Technology: Open Access*, 2. <https://doi.org/10.16966/2470-6086.132>
- Baumes, R., Wirth, J., Bureau, S., Gunata, Y., & Razungles, A. (2002). Biogenesis of C-13-norisoprenoid compounds: experiments supportive for an apo-carotenoid pathway in grapevines. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 3–14. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01589-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01589-6)
- Bayonove, C., Cordonnier, R., & Dubois, P. (1975). Study of an aromatic characteristic fraction of Cabernet sauvignon grape variety, identification of 2-methoxy-3-isobutyl-pyrazine. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances de l'Académie Des Sciences*, 281(1), 75–78.
- Beaulieu, J. C., & Grimm, C. C. (2001). Identification of volatile compounds in cantaloupe at various developmental stages using solid phase microextraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1345–1352. <https://doi.org/10.1021/jf0005768>
- Becerra, J. X., & Venable, D. L. (1999). Macroevolution of insect-plant associations: The relevance of host biogeography to host affiliation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(22), 12626–12631. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.22.12626>
- Belancic, A., & Agosin, E. (2007). Methoxypyrazines in grapes and wines of *Vitis vinifera* cv. Carmenere. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58(4), 462–469.
- Belviso, S., Torchio, F., Novello, V., Giacosa, S., de Palma, L., Segade, S. R., Gerbi, V., & Rolle, L. (2017). Modeling of the evolution of phenolic compounds in berries of “Italia” table grape cultivar using response surface methodology. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.04.006>
- Bindon, K., Holt, H., Williamson, P. O., Varela, C., Herderich, M., & Francis, I. L. (2014). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 2. Wine sensory properties and consumer preference. *Food Chemistry*, 154, 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.099>
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., & Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1696–1705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.146>
- Blake, A., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Inglis, D., Sears, M., & Pickering, G. J. (2009). Effect of Closure and Packaging Type on 3-Alkyl-2-methoxypyrazines and Other Impact Odorants of Riesling and Cabernet Franc Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4680–4690. <https://doi.org/10.1021/jf803720k>
- Blazhenkova, O., & Kumar, M. (2017). Angular Versus Curved Shapes: Correspondences and Emotional Processing. *Perception*, 47, 030100661773104. <https://doi.org/10.1177/0301006617731048>
- Boesveldt, S., & de Graaf, K. (2017). The Differential Role of Smell and Taste For Eating Behavior. *Perception*, 46(3–4, SI), 307–319. <https://doi.org/10.1177/0301006616685576>
- Boss, P. K., Davies, C., & Robinson, S. P. (1996). Analysis of the expression of anthocyanin pathway genes in developing *Vitis vinifera* L cv Shiraz grape berries and the implications for pathway regulation. *Plant Physiology*, 111(4), 1059–1066. <https://doi.org/10.1104/pp.111.4.1059>
- Botezatu, A. I., Kotseridis, Y., Inglis, D., & Pickering, G. J. (2013). Occurrence and contribution of alkyl methoxypyrazines in wine tainted by *Harmonia axyridis* and *Coccinella septempunctata*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 803–810. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5800>
- Bramley, R. G. V. (2010). Precision Viticulture: managing vineyard variability for improved quality outcomes. In Andrew G Reynolds (Ed.), *Managing Wine Quality* (pp. 445–480). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845699284.3.445>
- Brandi, F., Bar, E., Mourgues, F., Horvath, G., Turcsi, E., Giuliano, G., Liverani, A., Tartarini, S., Lewinsohn, E., & Rosati, C. (2011). Study of ‘Redhaven’ peach and its white-fleshed mutant suggests a key role of CCD4 carotenoid dioxygenase in carotenoid and norisoprenoid volatile metabolism. *BMC Plant Biology*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-24>
- Bueno, M., Carrascón, V., & Ferreira, V. (2016). Release and Formation of Oxidation-Related Aldehydes during Wine Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(3), 608–617. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04634>
- Bueno, M., Marrufo-Curtido, A., Carrascón, V., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Formation and Accumulation of Acetaldehyde and Strecker Aldehydes during Red Wine Oxidation. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00020>
- Bueno, M., Zapata, J., & Ferreira, V. (2014). Simultaneous determination of free and bonded forms of odor-active carbonyls in wine using a headspace solid phase microextraction strategy. *Journal of*

- Chromatography A*, 1369, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.004>
- Bushdid, C., Magnasco, M. O., Vosshall, L. B., & Keller, A. (2014). Humans Can Discriminate More than 1 Trillion Olfactory Stimuli. *Science*, 343(6177), 1370–1372. <https://doi.org/10.1126/science.1249168>
- Buttery, R. G. (1993). Quantitative and sensory aspects of flavor of tomato and other vegetables and fruits. In T. E. Acree & R. Teranishi (Eds.), *Flavor science: Sensible principles and techniques* (pp. 259–286). American Chemical Society.
- Caille, S., Salmon, J.-M., Bouvier, N., Roland, A., & Samson, A. (2017). Modification of the olfactory sensory characteristics of Chardonnay wine through the increase in sotolon concentration. *Food Quality and Preference*, 56(A), 225–230. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2016.08.001>
- Calín-Sánchez, A., Martínez, J. J., Vazquez-Araujo, L., Burlo, F., Melgarejo, P., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2011). Volatile composition and sensory quality of Spanish pomegranates (*Punica granatum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 586–592. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4230>
- Cameleyre, M., Lytra, G., Tempere, S., & Barbe, J.-C. (2015). Olfactory Impact of Higher Alcohols on Red Wine Fruity Ester Aroma Expression in Model Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(44), 9777–9788. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03489>
- Campo, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008a). The chemical characterization of the aroma of dessert and sparkling white wines (Pedro Ximenez, Fino, Sauternes, and Cava) by gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(7), 2477–2484. <https://doi.org/10.1021/jf0729681>
- Campo, E., Do, B. V., Ferreira, V., & Valentin, D. (2008b). Aroma properties of young Spanish monovarietal white wines: a study using sorting task, list of terms and frequency of citation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(2), 104–115. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00010.x>
- Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., & Cacho, J. (2005). Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic-headspace gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5682–5690. <https://doi.org/10.1021/jf047870a>
- Canals, R., Llaudy, M. del C., Valls, J., Canals, J. M., & Zamora, F. (2005). Influence of ethanol concentration on the extraction of color and phenolic compounds from the skin and seeds of tempranillo grapes at different stages of ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4019–4025. <https://doi.org/10.1021/jf047872v>
- Capone, D. L., Jeffery, D. W., & Sefton, M. A. (2012). Vineyard and Fermentation Studies To Elucidate the Origin of 1,8-Cineole in Australian Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(9), 2281–2287. <https://doi.org/10.1021/jf204499h>
- Capone, D., Pearson, W., Bindon, K., Kassara, S., Solomon, M., Bey, L., Francis, L., Herderich, M., & Johnson, D. (2018). AWRI report: What makes a red wine green? *Wine & Viticulture Journal*, 33(2), 33–35. <https://doi.org/https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.274935195731327>
- Capone, D., Bey, L., Barker, A., Espinase, D., Williamson, P., Solomon, M., & Francis, L. (2017). Trees and vines: can different types of local vegetation contribute to wine flavour? *AWRI Technical Review*, 229, 7–10. https://www.awri.com.au/wp-content/uploads/2011/07/Technical_Review_Issue_229_Capone.pdf
- Capone, D. L., Barker, A., Pearson, W., & Francis, I. L. (2021). Influence of inclusion of grapevine leaves, rachis and peduncles during fermentation on the flavour and volatile composition of *Vitis vinifera* cv. Shiraz wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ajgw.12489>
- Carbonneau, A., Moueix, A., Leclair, N., & Renoux, J. L. (1991). Proposition d'une methode de prelevement de raisins a partir de l'analyse de l'heterogeneite de maturation sur un cep. *Bulletin de l'OIV*, 64, 679–690. <https://hal.inrae.fr/hal-02715599>
- Casassa, L. F., Beaver, C. W., Mireles, M., Larsen, R. C., Hopfer, H., Heymann, H., & Harbertson, J. F. (2013). Influence of Fruit Maturity, Maceration Length, and Ethanol Amount on Chemical and Sensory Properties of Merlot Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(4), 437 LP – 449. <https://doi.org/10.5344/ajev.2013.13059>
- Cejudo-Bastante, M. J., Pérez-Coello, M. S., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2011). Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 866–874. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.015>
- Celotti, E., Della Vedova, T., Ferrarini, R., & Martinand, S. (2007). The use of reflectance for monitoring phenolic maturity curves in red grapes. *Italian Journal of Food Science*, 19(1), 91–100.
- Cerovic, Z. G., Moise, N., Agati, G., Latouche, G., Ben Ghazlen, N., & Meyer, S. (2008). New portable

- optical sensors for the assessment of winegrape phenolic maturity based on berry fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 650–654. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.03.012>
- Chapman, D M, Matthews, M. A., & Guinard, J. X. (2004a). Sensory attributes of cabernet sauvignon wines made from vines with different crop yields. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55(4), 325–334.
- Chapman, Dawn M., Thorngate, J. H., Matthews, M. A., Guinard, J. X., & Ebeler, S. E. (2004b). Yield effects on 2-methoxy-3-isobutylpyrazine concentration in cabernet sauvignon using a solid phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(17), 5431–5435. <https://doi.org/10.1021/jf0400617>
- Cheskin, L. (1957). *How to Predict what People Will Buy*. Liveright Publishing Corporation.
- Chisholm, M. G., & Samuels, J. M. (1992). Determination of the Impact of the Metabolites of Sorbic Acid on the Odor of a Spoiled Red Wine. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 40). <https://doi.org/10.1021/jf00016a021>
- Clark, C. C., & Lawless, H. T. (1994). Limiting response alternatives in time-intensity scaling - an examination of the halo-dumping effect. *Chemical Senses*, 19(6), 583–594. <https://doi.org/10.1093/chemse/19.6.583>
- Clary, C. D., Steinhauer, R. E., Frisinger, J. E., & Peffer, T. E. (1990). Evaluation of Machine-vs. Hand-Harvested Chardonnay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(2), 176–181.
- Cliff, M. A., & Toivonen, P. M. A. (2017). Sensory and quality characteristics of 'Ambrosia' apples in relation to harvest maturity for fruit stored up to eight months. *Postharvest Biology and Technology*, 132, 145–153. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.05.015>
- Cliff, M., & Noble, A. C. (1990). Time-intensity evaluation of sweetness and fruitiness and their interaction in a model solution. *Journal of Food Science*, 55(2), 450–454. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1990.tb06784.x>
- Coelho, E., Rocha, S. M., Delgadillo, I., & Coimbra, M. A. (2006). Headspace-SPME applied to varietal volatile components evolution during *Vitis vinifera* L. cv. 'Baga' ripening. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.11.018>
- Collin, S. (2010). *Dictionary of Wine*. Bloomsbury Publishing.
- Coombe, B. G. (1992). Research on development and ripening of the grape berry. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(1), 101–110.
- Coombs, C. H. (1964). *Theory of Data*. John Wiley.
- Cordonnier, R., & Bayonove, C. (1981). Etude de la phase préfermentaire de la vinification: extraction et formation de certains composés de l'arôme; cas des terpenols, des aldehydes et des alcools en C6 *. *OENO One*, 15(4), 269–286. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.1981.15.4.1365>
- Corison, C. A., Ough, C. S., Berg, H. W., & Nelson, K. E. (1979). Must acetic acid and ethyl acetate as mold and rot indicators in grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30(2), 130–134.
- Cortell, J. M., Sivertsen, H. K., Kennedy, J. A., & Heymann, H. (2008). Influence of Vine Vigor on Pinot noir Fruit Composition, Wine Chemical Analysis, and Wine Sensory Attributes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(1), 1 LP – 10. <http://www.ajevonline.org/content/59/1/1.abstract>
- Coutier, M. (1994). Tropes et termes : le vocabulaire de la dégustation du vin. *Meta*, 39(4), 662–675. <https://doi.org/10.7202/002423ar>
- Cox, A., Capone, D. L., Elsey, G. M., Perkins, M. V., & Sefton, M. A. (2005). Quantitative analysis, occurrence, and stability of (E)-1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3584–3591. <https://doi.org/10.1021/jf0479057>
- Cromoenos. (2002). <https://cromoenos.es/>. (Septiembre, 2020).
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- Culleré, L., Ferreira, V., & Cacho, J. (2011). Analysis, occurrence and potential sensory significance of aliphatic aldehydes in white wines. *Food Chemistry*, 127(3), 1397–1403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.133>
- Culleré, L., López, R., & Ferreira, V. (2019). The Instrumental Analysis of Aroma-Active Compounds for Explaining the Flavor of Red Wines. In *Red Wine Technology* (pp. 283–307). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814399-5.00020-7>
- CVRVV. (2021). *Comissão de Viticultura da Região dos Vinhos Verdes*. <https://www.vinhoverde.pt/> (Outubre/2020)
- Dal Santo, S., Tornielli, G. B., Zenoni, S., Fasoli, M., Farina, L., Anesi, A., Guzzo, F., Delledonne, M., & Pezzotti, M. (2013). The plasticity of the grapevine berry transcriptome. *Genome Biology*, 14(6). <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-6-r54>

- Dala-Paula, B. M., Plotto, A., Bai, J., Manthey, J. A., Baldwin, E. A., Ferrarezi, R. S., & Gloria, M. B. A. (2019). Effect of Huanglongbing or Greening Disease on Orange Juice Quality, a Review. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01976>
- Darriet, P., Pons, M., Henry, R., Dumont, O., Findeling, V., Cartolaro, P., Calonnec, A., & Dubourdiou, D. (2002). Impact odorants contributing to the fungus type aroma from grape berries contaminated by powdery mildew (*Uncinula necator*); incidence of enzymatic activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3277–3282. <https://doi.org/10.1021/jf011527d>
- Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J.-N., & Dubourdiou, D. (1995). Identification of a powerful aromatic component of *Vitis vinifera* L. var. sauvignon wines: 4-mercapto-4-methylpentan-2-one. *Flavour and Fragrance Journal*, 10(6), 385–392. <https://doi.org/10.1002/ffj.2730100610>
- Day, M., Bindon, K., Capone, D., Kassara, S., Bilogrevic, E., Espinase, D., Watson, F., Francis, L., & Krstic, M. (2020). AWRI report: Going green with whole bunches. *Wine & Viticulture Journal*, 35(2), 29–32.
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2017). Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(2), 162–169. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12273>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M.P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, 210, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., Valentin, D., & Ferreira, V. (2020). Fourteen ethyl esters of wine can be replaced by simpler ester vectors without compromising quality but at the expense of increasing aroma concentration. *Food Chemistry*, 307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125553>
- de Boubée, D. R., Cumsille, A. M., Pons, M., & Dubourdiou, D. (2002). Location of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(1), 1–5.
- de Bruxelles, G. L., & Roberts, M. R. (2001). Signals regulating multiple responses to wounding and herbivores. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 20(5), 487–521. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(02\)00029-2](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(02)00029-2)
- de Orduña, R. M. (2010). Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International*, 43(7, SI), 1844–1855. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.05.001>
- Defilippi, B. G., Manríquez, D., Luengwilai, K., & González-Agueero, M. (2009). Aroma Volatiles: Biosynthesis and Mechanisms of Modulation During Fruit Ripening. In M. Kader, JC and Delseny (Ed.), *Advances in Botanical Research* (Vol. 50, pp. 1–37). Academic Press LTD - Elsevier Science LTD. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)00801-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)00801-X)
- Delahunty, C. M., Eyres, G., & Dufour, J.-P. (2006). Gas chromatography-olfactometry. *Journal of Separation Science*, 29(14), 2107–2125. <https://doi.org/10.1002/jssc.200500509>
- Delwiche, J. (2004). The impact of perceptual interactions on perceived flavor. *Food Quality and Preference*, 15(2), 137–146. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(03\)00041-7](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(03)00041-7)
- Dematte, M. L., Sanabria, D., & Spence, C. (2006). Cross-modal associations between odors and colors. *Chemical Senses*, 31(6), 531–538. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjj057>
- Depinho, P. G., & Bertrand, A. (1995). Analytical determination of furaneol (2,5-dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone). Application to differentiation of white wines from hybrid and various *Vitis vinifera* cultivars. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(2), 181–186.
- des Gachons, C. P., Tominaga, T., & Dubourdiou, D. (2000). Measuring the aromatic potential of *Vitis vinifera* L. Cv. Sauvignon blanc grapes by assaying S-cysteine conjugates, precursors of the volatile thiols responsible for their varietal aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3387–3391.
- Des Gachons, C. P., Tominaga, T., & Dubourdiou, D. (2002). Sulfur aroma precursor present in S-glutathione conjugate form: Identification of S-3-(hexan-1-ol)-glutathione in must from *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon blanc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4076–4079. <https://doi.org/10.1021/jf020002y>
- Diago, M. P., Rey-Carame, C., Lemoigne, M., Fadaili, E. M., Tardaguila, J., & Cerovic, Z. G. (2016). Calibration of non-invasive fluorescence-based sensors for the manual and on-the-go assessment of grapevine vegetative status in the field. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(3), 438–449. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12228>
- Dooley, L. M., Threlfall, R. T., Meullenet, J.-F., & Howard, L. R. (2012). Compositional and Sensory Impacts from Blending Red Wine Varietals. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(2), 241–250. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.11086>

- Doty, R. L., Shaman, P., Kimmelman, C. P., & Dann, M. S. (1984). University of pennsylvania smell identification test: A rapid quantitative olfactory function test for the clinic. *The Laryngoscope*, 94(2), 176–178. <https://doi.org/10.1288/00005537-198402000-00004>
- Downey, M. O., Harvey, J. S., & Robinson, S. P. (2003). Analysis of tannins in seeds and skins of Shiraz grapes throughout berry development. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 9(1), 15–27. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2003.tb00228.x>
- Dravnieks, A. (1985). *Atlas of odor character profiles*. ASTM.
- Du, X., Song, M., & Rouseff, R. (2011). Identification of New Strawberry Sulfur Volatiles and Changes during Maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(4), 1293–1300. <https://doi.org/10.1021/jf104287b>
- Dubernet, V., Traineau, I., Lerch, M., Dubernet, M., & Sylvain, C. (2000). Analyse objective de la qualité des vendanges par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et réseaux de neurones. *Revue Française d'oenologie*, 185, 18–21.
- Dubourdieu, D., Tominaga, T., Masneuf, I., des Gachons, C., & Murat, M. L. (2006). The Role of Yeasts in Grape Flavor Development during Fermentation: The Example of Sauvignon blanc. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(1), 81–88. <https://www.ajevonline.org/content/57/1/81>
- Dunlevy, J. D., Soole, K. L., Perkins, M. V., Dennis, E. G., Keyzers, R. A., Kalua, C. M., & Boss, P. K. (2013). Two O-methyltransferases involved in the biosynthesis of methoxypyrazines: grape-derived aroma compounds important to wine flavour (vol 74, pg 77, 2010). *Plant Molecular Biology*, 81(4–5), 523. <https://doi.org/10.1007/s11103-013-0012-9>
- Dupin, I. V. S., McKinnon, B. M., Ryan, C., Boulay, M., Markides, A. J., Jones, G. P., Williams, P. J., & Waters, E. J. (2000). *Saccharomyces cerevisiae* mannoproteins that protect wine from protein haze: Their release during fermentation and lees contact and a proposal for their mechanism of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3098–3105. <https://doi.org/10.1021/jf0002443>
- Dyostem. (2020). <https://www.vivelys.com/en/content/vine>. (Septiembre, 2020).
- Edwards, E. J., Unwin, D., Kilmister, R., Treeby, M., & Ollat, N. (2017). Multi-seasonal effects of warming and elevated CO₂ on the physiology, growth and production of mature, field grown, Shiraz grapevines. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 51(2), 127–132. <https://doi.org/10.20870/oenone.2016.0.0.1586>
- Engel, K. H., Ramming, D. W., Flath, R. A., & Teranishi, R. (1988). Investigation of Volatile Constituents in Nectarines. 2. Changes in Aroma Composition during Nectarine Maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36(5), 1003–1006. <https://doi.org/10.1021/jf00083a024>
- Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., & Charpentier, C. (2008). Release of polysaccharides by yeast and the influence of polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 153–159. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00204.x>
- Escudero-Gilete, M. L., González-Miret, M. L., & Heredia, F. J. (2010). Implications of blending wines on the relationships between the colour and the anthocyanic composition. *Food Research International*, 43(3), 745–752. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.11.004>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Escudero, A., San Juan, F., Franco-Luesma, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2014). Is orthonasal olfaction an equilibrium driven process? Design and validation of a dynamic purge and trap system for the study of orthonasal wine aroma. *Flavour and Fragrance Journal*, 29(5), 296–304. <https://doi.org/10.1002/ffj.3204>
- Escudero, A., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2000). Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4268–4272. <https://doi.org/10.1021/jf991177j>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Fairbairn, S. C. (2018). *Defining the chemical features of wine perception*. PhD thesis, Stellenbosch University, South Africa.
- Fallon, A. E., & Rozin, P. (1983). The psychological bases of food rejections by humans. *Ecology of Food and Nutrition*, 13(1), 15–26. <https://doi.org/10.1080/03670244.1983.9990728>
- Fan, W., Xu, Y., Jiang, W., & Li, J. (2010). Identification and quantification of impact aroma compounds

- in 4 nonfloral vitis vinifera varieties grapes. *Journal of Food Science*, 75(1). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01436.x>
- Fang, Y., & Qian, M. C. (2006). Quantification of selected aroma-active compounds in Pinot noir wines from different grape maturities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8567–8573. <https://doi.org/10.1021/jf061396m>
- Fariña, L., Boido, E., Carrau, F., Versini, G., & Dellacassa, E. (2005). Terpene compounds as possible precursors of 1,8-cineole in red grapes and wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1633–1636. <https://doi.org/10.1021/jf040332d>
- Fellman, J. K., Miller, T. W., Mattinson, D. S., & Mattheis, J. P. (2000). Factors that influence biosynthesis of volatile flavor compounds in apple fruits. *Hortscience*, 35(6), 1026–1033. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.6.1026>
- Fenoll, J., Manso, A., Hellin, P., Ruiz, L., & Flores, P. (2009). Changes in the aromatic composition of the Vitis vinifera grape Muscat Hamburg during ripening. *Food Chemistry*, 114(2), 420–428. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.060>
- Fernández-López, J., Hidalgo, V., Almela, L., & Roca, J. (1992). Quantitative changes in anthocyanin pigments of Vitis vinifera cv Monastrell during maturation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 153–155. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740580127>
- Ferreira, A. C. S., Barbe, J. C., & Bertrand, A. (2003). 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2(5H)-furanone: A key odorant of the typical aroma of oxidative aged Port wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4356–4363. <https://doi.org/10.1021/jf0342932>
- Ferreira, B., Hory, C., Bard, M. H., Taisant, C., Olsson, A., & Lefur, Y. (1995). Effects of skin contact and settling on the level of the C18/2, C18/3 fatty-acids and C6 compounds in burgundy chardonnay musts and wines. *Food Quality and Preference*, 6(1), 35–41. [https://doi.org/10.1016/0950-3293\(94\)P4210-W](https://doi.org/10.1016/0950-3293(94)P4210-W)
- Ferreira, V., de-la-Fuente-Blanco, A., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2019). Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In A. G. Reynolds (Ed.), *Managing wine quality: Viticulture and wine quality* (p. 620). Elsevier.
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V., Fernández, P., & Cacho, J. F. (1996). A study of factors affecting wine volatile composition and its application in discriminant analysis. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 29(3), 251–259.
- Ferreira, V., Herrero, P., Zapata, J., & Escudero, A. (2015). Coping with matrix effects in headspace solid phase microextraction gas chromatography using multivariate calibration strategies. *Journal of Chromatography A*, 1407, 30–41. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.06.058>
- Ferreira, V., & López, R. (2019). The actual and potential aroma of winemaking grapes. *Biomolecules*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/biom9120818>
- Ferreira, V., Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Herrero, P., de-la-Fuente, A., & Fernández-Zurbano, P. (2016). Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances. *Food Chemistry*, 199, 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.048>
- Fiore, A. (1993). Multisensory Integration of Visual, Tactile, and Olfactory Aesthetic Cues of Appearance. *Clothing and Textiles Research Journal*, 11, 45–52. <https://doi.org/10.1177/0887302X9301100207>
- Firestein, S. (2001). How the olfactory system makes sense of scents. *Nature*, 413(6852), 211–218. <https://doi.org/10.1038/35093026>
- Fischer, U., Strasser, M., & Gutzler, K. (2000). Impact of fermentation technology on the phenolic and volatile composition of German red wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(1), 81–94. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00365.x>
- Forney, C. F., Kalt, W., & Jordan, M. A. (2000). The composition of strawberry aroma is influenced by cultivar, maturity, and storage. *Hortscience*, 35(6), 1022–1026. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.35.6.1022>
- Franco-Luesma, E., & Ferreira, V. (2014). Quantitative analysis of free and bonded forms of volatile sulfur compounds in wine. Basic methodologies and evidences showing the existence of reversible cation-complexed forms. *Journal of Chromatography A*, 1359, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.011>

- Franco-Luesma, E., Sáenz-Navajas, M.-P., Valentin, D., Ballester, J., Rodrigues, H., & Ferreira, V. (2016). Study of the effect of H₂S, MeSH and DMS on the sensory profile of wine model solutions by Rate-All-That-Apply (RATA). *Food Research International*, 87, 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.07.004>
- Frank, R. A., & Byram, J. (1988). Taste smell interactions are tastant and odorant dependent. *Chemical Senses*, 13(3), 445–455. <https://doi.org/10.1093/chemse/13.3.445>
- Frijters, J. E. R. (1978). A critical analysis of the odour unit number and its use. *Chemical Senses*, 3, 227–233.
- Fuller, G. H., Tisserand, G. A., & Steltenkamp, R. (1964). The gas chromatograph with human sensor: perfumer model. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 116(A2), 711–724. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1964.tb45106.x>
- Galvan, T. L., Kells, S., & Hutchison, W. D. (2008). Determination of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in lady beetle-infested wine by solid-phase microextraction headspace sampling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 1065–1071. <https://doi.org/10.1021/jf072382z>
- Gambuti, A., Rinaldi, A., & Moio, L. (2012). Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine. *European Food Research and Technology*, 235(4), 753–765. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1791-y>
- García, E., Chacon, J. L., Martínez, J., & Izquierdo, P. M. (2003). Changes in volatile compounds during ripening in grapes of Airen, Macabeo and Chardonnay white varieties grown in La Mancha Region (Spain). *Food Science and Technology International*, 9(1), 33–41. <https://doi.org/10.1177/1082013203009001006>
- García, C. V., Quek, S.-Y., Stevenson, R. J., & Winz, R. A. (2012). Kiwifruit flavour: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 24(2), 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.08.012>
- Gatti, M., Garavani, A., Vercesi, A., & Poni, S. (2017). Ground-truthing of remotely sensed within-field variability in a cv. Barbera plot for improving vineyard management. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(3), 399–408. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12286>
- Gawel, R., Oberholster, A., & Francis, I. L. (2000). A ‘Mouth-feel Wheel’: terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(3), 203–207. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00180.x>
- Gazzola, D., Vincenzi, S., Marangon, M., Pasini, G., & Curioni, A. (2017). Grape seed extract: the first protein-based fining agent endogenous to grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(2), 215–225. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12268>
- Geffroy, O., Descotes, J., Levasseur-García, C., Debord, C., Denux, J.-P., & Dufourcq, T. (2019). A 2-year multisite study of viticultural and environmental factors affecting rotundone concentration in Duras red wine. *Oeno One*, 53(3), 457–470. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2019.53.3.2341>
- Genovese, A., Lamorte, S. A., Gambuti, A., & Moio, L. (2013). Aroma of Aglianico and Uva di Troia grapes by aromatic series. *Food Research International*, 53(1), 15–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.03.051>
- Gershenzon, J., & Dudareva, N. (2007). The function of terpene natural products in the natural world. *Nature Chemical Biology*, 3(7), 408–414. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2007.5>
- Gibson, J. J. (1966). The senses considered as perceptual systems. In *The senses considered as perceptual systems*. Houghton Mifflin.
- Glories, Y., & Agustin, M. (1993). *Proceedings Colloque Journée Technique du CIVB*. 56.
- Goldner, M. C., Zamora, M. C., Di Leo Lira, P., Gianninoto, H., & Bandoni, A. (2009). Effect of ethanol level in the perception of aroma attributes and the detection of volatile compounds in red wine. *Journal of Sensory Studies*, 24(2), 243–257. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2009.00208.x>
- Gómez, E., Martínez, A., & Laencina, J. (1995). Changes in volatile compounds during maturation of some grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(2), 229–233. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670213>
- Gómez Gallego, M. A., Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., González Viñas, M. A., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2012). Effect of co-winemaking in phenolic composition, color and antioxidant capacity of young red wines from La Mancha region. *European Food Research and Technology*, 235(1), 155–167. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1745-4>
- Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., & González Viñas, M. A. (2010). Influence of co-winemaking technique in sensory characteristics of new Spanish red wines. *Food Quality and Preference*, 21(7, SI), 705–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.05.013>
- Gottfried, J. A. (2009). Function follows form: ecological constraints on odor codes and olfactory percepts. *Current Opinion in Neurobiology*, 19(4), 422–429. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2009.07.012>
- Gracia-Moreno, E. (2015). *Nuevos Métodos Analíticos para la Determinación Selectiva de Pirazinas*,

- Ácidos y Otros Compuestos de Interés Aromático Presentes en Cantidades Traza. PhD thesis, Universidad de Zaragoza, Spain.
- Grainger, K. (2009). *Wine Quality: Tasting and Selection*. Wiley. <https://books.google.es/books?id=ILxkmrg8mgcC>
- Green, B. G. (2012). Chemesthesis and the Chemical Senses as Components of a “Chemofensor Complex.” *Chemical Senses*, 37(3), 201–206. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjr119>
- Green, J. A., Parr, W. V., Breitmeyer, J., Valentin, D., & Sherlock, R. (2011a). Sensory and chemical characterisation of Sauvignon blanc wine: Influence of source of origin. *Food Research International*, 44(9), 2788–2797. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.005>
- Green, J. A., Parr, W. V., Breitmeyer, J., Valentin, D., & Sherlock, R. (2011b). Sensory and chemical characterisation of Sauvignon blanc wine: Influence of source of origin. *Food Research International*, 44(9), 2788–2797. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.005>
- Grosch, W. (2001). Evaluation of the key odorants of foods by dilution experiments, aroma models and omission. *Chemical Senses*, 26(5), 533–545. <https://doi.org/10.1093/chemse/26.5.533>
- Guichard, H., Guichard, E., Langlois, D., Issanchou, S., & Abbott, N. (1995). GC sniffing analysis: olfactive intensity measurement by two methods. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung*, 201(4), 344–350. <https://doi.org/10.1007/BF01192730>
- Gürbüz, O., Rouseff, J. M., & Rouseff, R. L. (2006). Comparison of aroma volatiles in commercial merlot and Cabernet Sauvignon wines using gas chromatography-olfactometry and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(11), 3990–3996. <https://doi.org/10.1021/jf053278p>
- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>
- Guth, H., & Grosch, W. (1999). Evaluation of important odorants in foods by dilution techniques. In I. Teranishi, R and Wick, EL and Hornstein (Ed.), *Flavor Chemistry* (pp. 377–386). KLUWER ACADEMIC/PLENUM PUBL.
- Hanson-Vaux, G., Crisinel, A.-S., & Spence, C. (2013). Smelling Shapes: Crossmodal Correspondences Between Odors and Shapes. *Chemical Senses*, 38(2), 161–166. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjs087>
- Hardy, P. J. (1970). Changes in volatiles of Muscat grapes during ripening. *Phytochemistry*, 9(4), 709–715. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)85169-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)85169-9)
- Harsch, M. J., Benkwitz, F., Frost, A., Colonna-Ceccaldi, B., Gardner, R. C., & Salmon, J. M. (2013). New precursor of 3-mercaptohexan-1-ol in grape juice: Thiol-forming potential and kinetics during early stages of must fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(15), 3703–3713. <https://doi.org/10.1021/jf3048753>
- Hashizume, K., & Samuta, T. (1997). Green odorants of grape cluster stem and their ability to cause a wine stemmy flavor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1333–1337. <https://doi.org/10.1021/jf960635a>
- Hasin-Brumshtein, Y., Lancet, D., & Olender, T. (2009). Human olfaction: from genomic variation to phenotypic diversity. *Trends in Genetic*, 25(4), 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2009.02.002>
- Hatanaka, A. (1993). The Biogenesis of Green Odour by Green Leaves. *Phytochemistry*, 34(5), 1201–1218. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)80003-J](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)80003-J)
- Heatherly, M., Dein, M., Munafo, J. P., & Luckett, C. R. (2019). Crossmodal correspondence between color, shapes, and wine odors. *Food Quality and Preference*, 71, 395–405. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.08.019>
- Hein, K., Ebeler, S. E., & Heymann, H. (2009). Perception of fruity and vegetative aromas in red wine. *Journal of Sensory Studies*, 24(3), 441–455. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2009.00220.x>
- Herbst-Johnstone, M., Araujo, L. D., Allen, T. A., Logan, G., Nicolau, L., & Kilmartin, P. A. (2013). Effects of Mechanical Harvesting on ‘Sauvignon Blanc’ Aroma. In S. Poni (Ed.), *I International Workshop on Vineyard Mechanization and Grape and Wine Quality* (Vol. 978). International Society for Horticultural Science.
- Hernández-Orte, P., Concejero, B., Astraín, J., Lacau, B., Cacho, J., & Ferreira, V. (2015). Influence of viticulture practices on grape aroma precursors and their relation with wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), 688–701. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6748>
- Hernández-Orte, P., Guitart, A., & Cacho, J. (1999). Changes in the concentration of amino acids during the ripening of *Vitis vinifera* Tempranillo variety from the Denomination d’Origine Somontano (Spain). *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(2), 144–154.
- Hernández-Orte, P., Lapena, A. C., Escudero, A., Astraín, J., Barón, C., Pardo, I., Polo, L., Ferrer, S., Cacho, J., & Ferreira, V. (2009). Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic

- compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in wood. *LWT-Food Science and Technology*, 42(1), 391–401. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.020>
- Heymann, H., & Noble, A. C. (1987). Descriptive Analysis of Commercial Cabernet Sauvignon Wines from California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(1), 41–44.
- Heymann, H., Noble, A. C., & Boulton, R. B. (1986). Analysis of Methoxypyrazines in Wines. 1. Development of a Quantitative Procedure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(2), 268–271. <https://doi.org/10.1021/jf00068a029>
- Hidalgo, J., & Hidalgo, L. H. (2011). *Tratado de viticultura I*. Mundi prensa. <https://books.google.es/books?id=YA3KBQAAQBAJ>
- Hopfer, H., Ebeler, S. E., & Heymann, H. (2012). How Blending Affects the Sensory and Chemical Properties of Red Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(3), 313–324. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.11112>
- Howell, G. S. (2001). Sustainable grape productivity and the growth-yield relationship: A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(3), 165–174.
- Iglesias, J. L. M., Dabila, F. H., Marino, J. I. M., Gordillo, C. D., & Expósito, J. M. (1991). Biochemical aspects of the lipids in *Vitis-vinifera* grapes (Macabeo variety). I. Linoleic and linolenic acids as aromatic precursors. *Nahrung-Food*, 35(7), 705–710.
- Iyer, M. M., Sacks, G. L., & Padilla-Zakour, O. I. (2010). Impact of Harvesting and Processing Conditions on Green Leaf Volatile Development and Phenolics in Concord Grape Juice. *Journal of Food Science*, 75(3), 297–304. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01559.x>
- Jackson, R. S. (2008). Fermentation. In *Wine science* (Third Edit, pp. 332–417). Academic Press.
- Jacquot, M., Noel, F., Velasco, C., & Spence, C. (2016). On the Colours of Odours. *Chemosensory Perception*, 9(2), 79–93. <https://doi.org/10.1007/s12078-016-9209-z>
- Jaeger, S. R., Andani, Z., Wakeling, I. N., & MacFie, H. J. H. (1998). Consumer preferences for fresh and aged apples: A cross-cultural comparison. *Food Quality and Preference*, 9(5), 355–366. [https://doi.org/10.1016/S0950-3293\(98\)00031-7](https://doi.org/10.1016/S0950-3293(98)00031-7)
- Janusz, A., Capone, D. L., Puglisi, C. J., Perkins, M. V., Elsey, G. M., & Sefton, M. A. (2003). (E)-1-(2,3,6-trimethylphenyl)buta-1,3-diene: A potent grape-derived odorant in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(26), 7759–7763. <https://doi.org/10.1021/jf0347113>
- Jarauta, I., Ferreira, V., & Cacho, J. (2006). Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Developments in Food Science*, 43. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(06\)80049-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(06)80049-X)
- Johnson, L. F., Bosch, D. F., Williams, D. C., & Lobitz, B. M. (2001). Remote sensing of vineyard management zones: Implications for wine quality. *Applied Engineering in Agriculture*, 17(4), 557–560.
- Jones, P. R., Gawel, R., Francis, I. L., & Waters, E. J. (2008). The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference*, 19(6), 596–607. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.03.005>
- Jones, G. V., & Davis, R. E. (2000). Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3), 249–261.
- Joslin, W. S., & Ough, C. S. (1978). Cause and fate of certain c6 compounds formed enzymatically in macerated grape leaves during harvest and wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29(1), 11–17.
- Kalua, C. M., & Boss, P. K. (2010). Comparison of major volatile compounds from Riesling and Cabernet Sauvignon grapes (*Vitis vinifera* L.) from fruitset to harvest. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(2), 337–348. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2010.00096.x>
- Kalua, Curtis M., & Boss, P. K. (2009). Evolution of volatile compounds during the development of cabernet sauvignon grapes (*vitis vinifera* l.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3818–3830. <https://doi.org/10.1021/jf803471n>
- Kappers, I. F., Aharoni, A., van Herpen, T., Luckerhoff, L. L. P., Dicke, M., & Bouwmeester, H. J. (2005). Genetic engineering of terpenoid metabolism attracts, bodyguards to Arabidopsis. *Science*, 309(5743), 2070–2072. <https://doi.org/10.1126/science.1116232>
- Katjašuklje, Helenabašačesnik, Lucijajaneš, Veronikakmecl, Andrejavanzo, Alaindeloire, & Paolosivilotti. (2013). The effect of leaf area to yield ratio on secondary metabolites in grapes and wines of *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc. In *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* (Vol. 47).
- Kelley, T. (2020). *Green*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/science/green-color> [20-09-2020]
- Kemp, S. E., & Gilbert, A. N. (1997). Odor intensity and color lightness are correlated sensory

- dimensions. *American Journal of Psychology*, 110(1), 35–46. <https://doi.org/10.2307/1423699>
- Kennedy, J. A., Saucier, C., & Glories, Y. (2006). Grape and wine phenolics: History and perspective. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3), 239–248.
- Kennison, K. R., Wilkinson, K. L., Williams, H. G., Smith, J. H., & Gibberd, M. R. (2007). Smoke-derived taint in wine: Effect of postharvest smoke exposure of grapes on the chemical composition and sensory characteristics of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10897–10901. <https://doi.org/10.1021/jf072509k>
- Kessler, D., Gase, K., & Baldwin, I. T. (2008). Field experiments with transformed plants reveal the sense of floral scents. *Science*, 321(5893), 1200–1202. <https://doi.org/10.1126/science.1160072>
- King, E. S., Dunn, R. L., & Heymann, H. (2013). The influence of alcohol on the sensory perception of red wines. *Food Quality and Preference*, 28(1), 235–243. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.08.013>
- King, E. S., Hopfer, H., Haug, M. T., Orsi, J. D., Heymann, H., Crisosto, G. M., & Crisosto, C. H. (2012). Describing the Appearance and Flavor Profiles of Fresh Fig (*Ficus carica* L.) Cultivars. *Journal of Food Science*, 77(12), S419–S429. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02994.x>
- Kishimoto, K., Matsui, K., Ozawa, R., & Takabayashi, J. (2005). Volatile C6-aldehydes and allo-ocimene activate defense genes and induce resistance against *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology*, 46(7), 1093–1102. <https://doi.org/10.1093/pcp/pci122>
- Kliwer, W. M. (1968). Changes in the Concentration of Free Amino Acids in Grape Berries During Maturation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 19(3), 166–174. <https://www.ajevonline.org/content/19/3/166>
- Kliwer, W. M., & Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf area/crop weight ratios of grapevines: Influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(2), 170–181.
- Kögel, S., Botezatu, A., Hoffmann, C., & Pickering, G. (2015). Methoxypyrazine composition of Coccinellidae-tainted Riesling and Pinot noir wine from Germany. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(3), 509–514. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6760>
- Kotseridis, Y., Beloqui, A. A., Bertrand, A., & Doazan, J. P. (1998). An Analytical Method for Studying the Volatile Compounds of Merlot noir Clone Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(1), 44–48. <https://www.ajevonline.org/content/49/1/44>
- Kotseridis, Y., & Baumes, R. (2000). Identification of impact odorants in Bordeaux red grape juice, in the commercial yeast used for its fermentation, and in the produced wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2), 400–406. <https://doi.org/10.1021/jf990565i>
- Krstic, M. P., Johnson, D. L., & Herderich, M. J. (2015). Review of smoke taint in wine: smoke-derived volatile phenols and their glycosidic metabolites in grapes and vines as biomarkers for smoke exposure and their role in the sensory perception of smoke taint. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1, SI), 537–553. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12183>
- Lacey, M. J., Allen, M. S., Harris, R. L. N., & Brown, W. V. (1991). Methoxypyrazines in Sauvignon Blanc Grapes and Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), 103–108.
- Laing, D. G. (1994). Perceptual odour interactions and objective mixture analysis. *Food Quality and Preference*, 5(1), 75–80. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0950-3293\(94\)90010-8](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0950-3293(94)90010-8)
- Lalel, H. J. D., Singh, Z., & Tan, S. C. (2003). Aroma volatiles production during fruit ripening of 'Kensington Pride' mango. *Postharvest Biology and Technology*, 27(3), 323–336. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(02\)00117-5](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(02)00117-5)
- Lamadon, F. (1995). Protocole pour l'évaluation de la richesse polyphénolique des raisins. *Revue Des Oenologes*, 76, 37–38.
- Lamb, D. W., Weedon, M. M., & Bramley, R. G. V. (2004). Using remote sensing to predict grape phenolics and colour at harvest in a Cabernet Sauvignon vineyard: Timing observations against vine phenology and optimising image resolution. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(1), 46–54.
- Lambrechts, M. G., & Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its Importance to Wine Aroma - A Review. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 21(1). <https://doi.org/10.21548/21-1-3560>
- Lathey, K. A., Bramley, B. R., & Francis, I. L. (2010). Consumer acceptability, sensory properties and expert quality judgements of Australian Cabernet Sauvignon and Shiraz wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1), 189–202. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00069.x>
- Lawless, H., & Engen, T. (1977). Associations to Odors - Interference, Mnemonics, and Verbal Labeling. *Journal of Experimental Psychology-Human Learning and Memory*, 3(1), 52–59. <https://doi.org/10.1037/0278-7393.3.1.52>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices* (2nd ed.). Springer Science & Business Media. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- Le Moigne, M., Symoneaux, R., & Jourjon, F. (2008). How to follow grape maturity for wine

- professionals with a seasonal judge training? *Food Quality and Preference*, 19(8), 672–681. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.06.006>
- Lehrer, A. (1975). Talking About Wine. *Language*, 51(4), 901–923. <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/412700>
- Lesschaeve, I. (2006). The Use of Sensory Descriptive Analysis to Gain a Better Understanding of Consumer Wine Language. *Proceedings for the 3rd International Wine Business and Marketing Research Conference*.
- Liu, S. Q. (2002). Malolactic fermentation in wine - beyond deacidification. *Journal of Applied Microbiology*, 92(4), 589–601. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01589.x>
- Llaudy, M. del C., Canals, R., González-Manzano, S., Canals, J. M., Santos-Buelga, C., & Zamora, F. (2006). Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4246–4252. <https://doi.org/10.1021/jf052842t>
- Llaudy, M. del C., Canals, R., Canals, J.M., & Zamora, F. (2008). Influence of ripening stage and maceration length on the contribution of grape skins, seeds and stems to phenolic composition and astringency in wine-simulated macerations. *European Food Research and Technology*, 226(3), 337–344. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0542-3>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- López, R., Ezpeleta, E., Sánchez, I., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Analysis of the aroma intensities of volatile compounds released from mild acid hydrolysates of odourless precursors extracted from Tempranillo and Grenache grapes using gas chromatography-olfactometry. *Food Chemistry*, 88(1), 95–103. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.01.025>
- López, R., Lapeña, A. C., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Quantitative determination of wine highly volatile sulfur compounds by using automated headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-pulsed flame photometric detection. Critical study and optimization of a new procedure. *Journal of Chromatography A*, 1143(1–2), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.053>
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2008a). Complementary effect of Cabernet Sauvignon on Monastrell wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(1), 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.06.003>
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2008b). Differentiation of co-winemaking wines by their aroma composition. *European Food Research and Technology*, 227(3), 777–787. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0786-6>
- Loscos, N., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Release and formation of varietal aroma compounds during alcoholic fermentation from nonfloral grape odorless flavor precursors fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 6674–6684. <https://doi.org/10.1021/jf0702343>
- Loubser, G. J., & DuPlessis, C. S. (1976). The quantitative determination and some values of dimethyl sulphide in white table wines. *Vitis*, 15(4), 248–252.
- Lukic, I., Radeka, S., Grozaj, N., Staver, M., & Persuric, D. (2016). Changes in physico-chemical and volatile aroma compound composition of Gewurztraminer wine as a result of late and ice harvest. *Food Chemistry*, 196, 1048–1057. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.061>
- Lytra, G., Tempere, S., Zhang, S., Marchand, S., de Revel, G., & Barbe, J.-C. (2014). Olfactory impact of dimethyl sulfide on red wine fruity esters aroma expression in model solution. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 48(1), 75–85.
- Maarse, H. (1991). *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Taylor & Francis.
- MacNeil, K. (2015). *The wine Bible*. Workman Publishing.
- Makhotkina, O., Pineau, B., & Kilmartin, P. A. (2012). Effect of storage temperature on the chemical composition and sensory profile of Sauvignon Blanc wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(1), 91–99. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2011.00175.x>
- Marais, J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4(2), 49–58. <https://doi.org/10.21548/4-2-2370>
- Marais, J., van Wyk, C. J., & Rapp, A. (2017). Carotenoid Levels in Maturing Grapes as Affected by Climatic Regions, Sunlight and Shade. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 12(2). <https://doi.org/10.21548/12-2-2209>
- Maric, Y., & Jacquot, M. (2013). Contribution to understanding odour-colour associations. *Food Quality and Preference*, 27(2, SI), 191–195. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.05.001>
- Marks, L. (1975). On Colored-Hearing Synesthesia: Cross-Modal Translations of Sensory Dimensions.

- Psychological Bulletin*, 82, 303–331. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.82.3.303>
- Martineau, B., Acree, T. E., & Henickkling, T. (1995). Effect of wine type on the detection threshold for diacetyl. *Food Research International*, 28(2), 139–143. [https://doi.org/10.1016/0963-9969\(95\)90797-E](https://doi.org/10.1016/0963-9969(95)90797-E)
- Martino, G., & Marks, L. E. (2001). Synesthesia: Strong and weak. *Current Directions in Psychological Science*, 10(2), 61–65. <https://doi.org/10.1111/1467-8721.00116>
- Mateo-Vivaracho, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). Improved solid-phase extraction procedure for the isolation and in-sorbent pentafluorobenzyl alkylation of polyfunctional mercaptans Optimized procedure and analytical applications. *Journal of Chromatography A*, 1185(1), 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.01.037>
- Mateo-Vivaracho, L., Zapata, J., Cacho, J., & Ferreira, V. (2010). Analysis, Occurrence, and Potential Sensory Significance of Five Polyfunctional Mercaptans in White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(18), 10184–10194. <https://doi.org/10.1021/jf101095a>
- Mathieu, S., Cin, V. D., Fei, Z., Li, H., Bliss, P., Taylor, M. G., Klee, H. J., & Tieman, D. M. (2009). Flavour compounds in tomato fruits: identification of loci and potential pathways affecting volatile composition. *Journal of Experimental Botany*, 60(1), 325–337. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern294>
- Matsui, K. (2006). Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(3), 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2006.03.002>
- Mattheis, J. P., Fellman, J. K., Chen, P. M., & Patterson, M. E. (1991). Changes in Headspace Volatiles during Physiological Development of Bisbee Delicious Apple Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(11), 1902–1906. <https://doi.org/10.1021/jf00011a002>
- McDaniel, M. R., Miranda-López, R., Watson, B. T., Micheals, N. J., & Libbey, L. M. (1990). Pinot noir aroma: a sensory/gas chromatographic approach. *Developments in Food Science.*, 24, 23–36. <http://europemc.org/abstract/AGR/IND92010727>
- McGann, J. P. (2017). Poor human olfaction is a 19th-century myth. *Science*, 356(6338). <https://doi.org/10.1126/science.aam7263>
- Melgarejo, P., Calin-Sánchez, A., Vazquez-Araujo, L., Hernández, F., Jose Martínez, J., Legua, P., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2011). Volatile Composition of Pomegranates from 9 Spanish Cultivars Using Headspace Solid Phase Microextraction. *Journal of Food Science*, 76(1), 114–120. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01945.x>
- Menager, I., Jost, M., & Aubert, C. (2004). Changes in physicochemical characteristics and volatile constituents of strawberry (Cv. cigaline) during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1248–1254. <https://doi.org/10.1021/jf0350919>
- Mendes-Pinto, M. M. (2009). Carotenoid breakdown products the-norisoprenoids-in wine aroma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 483(2), 236–245. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2009.01.008>
- Mendez-Costabel, M. P., Wilkinson, K. L., Bastian, S. E. P., McCarthy, M., Ford, C. M., & Dokoozlian, N. (2013). Seasonal and Regional Variation of Green Aroma Compounds in Commercial Vineyards of *Vitis vinifera* L. Merlot in California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(4), 430–436. <https://doi.org/10.5344/ajev.2013.12109>
- Mestres, M., Busto, O., & Guasch, J. (2000). Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. *Journal of Chromatography A*, 881(1–2), 569–581. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00220-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00220-X)
- Mohekar, P., Osborne, J., Wiman, N. G., Walton, V., & Tomasino, E. (2017a). Influence of Winemaking Processing Steps on the Amounts of (E)-2-Decenal and Tridecane as Off-Odorants Caused by Brown Marmorated Stink Bug (*Halyomorpha halys*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 872–878. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04268>
- Mohekar, P., Lapis, T. J., Wiman, N. G., Lim, J., & Tomasino, E. (2017b). Brown Marmorated Stink Bug Taint in Pinot noir: Detection and Consumer Rejection Thresholds of trans-2-Decenal. *American Journal of Enology and Viticulture*, 68(1), 120–126. <https://doi.org/10.5344/ajev.2016.15096>
- Moio, L., & Etievant, P. X. (1995). *Ethyl Anthranilate, Ethyl Cinnamate, 2,3-Dihydrocinnamate, and Methylanthranilate: Four Important Odorants Identified in Pinot noir Wines of Burgundy.*
- Molina, A. M., Guadalupe, V., Varela, C., Swiegers, J. H., Pretorius, I. S., & Agosin, E. (2009). Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related commercial wine yeast strains. *Food Chemistry*, 117(2), 189–195. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.116>
- Monagas, M., Martín-Álvarez, P. J., Gómez-Cordovés, C., & Bartolomé, B. (2007). Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. II. Colour and overall appreciation. *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 107–115. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.009>

- Monforte, A. R., Martins, S. I. F. S., & Silva Ferreira, A. C. (2018). Strecker Aldehyde Formation in Wine: New Insights into the Role of Gallic Acid, Glucose, and Metals in Phenylacetaldehyde Formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(10), 2459–2466. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00264>
- Morales-Valle, H., Silva, L. C., Paterson, R. R. M., Venancio, A., & Lima, N. (2011). Effects of the origins of *Botrytis cinerea* on earthy aromas from grape broth media further inoculated with *Penicillium expansum*. *Food Microbiology*, 28(5), 1048–1053. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.005>
- Moreira, N., Mendes, F., Pereira, O., de Pinho, P. G., Hogg, T., & Vasconcelos, I. (2002). Volatile sulphur compounds in wines related to yeast metabolism and nitrogen composition of grape musts. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 157–167. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01618-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01618-X)
- Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E., & Thorngate, J. H. (2016). The herbaceous character of wines. *Italian Journal of Food Science*, 28(2), 190–207. <https://doi.org/https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v304>
- Nardin, G., Gaudio, A., Antonel, G., & Simeoni, P. (2006). *Impiantistica Enologica*. Hoepli.
- Ngo, M. K., Misra, R., & Spence, C. (2011). Assessing the shapes and speech sounds that people associate with chocolate samples varying in cocoa content. *Food Quality and Preference*, 22(6), 567–572. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.03.009>
- Noble, A. C., Arnold, R. A., Buechsenstein, J., Leach, E. J., Schmidt, J. O., & Stern, P. M. (1987). Modification of a standardized system of wine aroma terminology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(2), 143–146.
- Noble, A. C., Ough, C. S., & Kasimatis, A. N. (1975). Effect of leaf content and mechanical harvest on wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 26(3), 158–163.
- Noguerol-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Martínez, M. C., Santiago, J. L., & Simal-Gándara, J. (2012). Floral, spicy and herbaceous active odorants in Gran Negro grapes from shoulders and tips into the cluster, and comparison with Brancellao and Mouraton varieties. *Food Chemistry*, 135(4), 2771–2782. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.104>
- Noguerol-Pato, R., González-Barreiro, C., Cancho-Grande, B., Santiago, J. L., Martínez, M. C., & Simal-Gándara, J. (2012). Aroma potential of Brancellao grapes from different cluster positions. *Food Chemistry*, 132(1), 112–124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.042>
- Noordermeer, M. A., Veldink, G. A., & Vliegthart, J. F. G. (2001). Fatty acid hydroperoxide lyase: A plant cytochrome P450 enzyme involved in wound healing and pest resistance. *Chembiochem*, 2(7–8), 494–504. [https://doi.org/10.1002/1439-7633\(20010803\)2:7/8<494::AID-CBIC494>3.3.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1439-7633(20010803)2:7/8<494::AID-CBIC494>3.3.CO;2-T)
- Obenland, D., Collin, S., Sievert, J., Negm, F., & Arpaia, M. L. (2012). Influence of maturity and ripening on aroma volatiles and flavor in 'Hass' avocado. *Postharvest Biology and Technology*, 71, 41–50. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.03.006>
- OIV. (2016). *Documento de revisión del análisis sensorial del vino*. Paris: Office International de la Vigne et du Vin. (p. 30).
- Oliveira, I. (2019). *Contribution of wine microorganisms to the aroma composition of wine and its sensory impact*. PhD thesis, Universidad de Zaragoza, Spain.
- Oliveira, J. M., Faria, M., Sá, F., Barros, F., & Araújo, I. M. (2006). C6-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2 SPEC. ISS.), 300–309. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.12.029>
- Ong, P. K. C., & Acree, T. E. (1999). Similarities in the aroma chemistry of Gewurztraminer variety wines and lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2), 665–670. <https://doi.org/10.1021/jf980452j>
- Ortega-Heras, M., Dolores Rivero-Pérez, M., Pérez-Magariño, S., González-Huerta, C., & Luisa González-Sanjosé, M. (2008). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*, 226(6), 1485–1493. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0680-2>
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, 923(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- Ortiz, A., Graell, J., & Lara, I. (2011). Volatile ester-synthesising capacity throughout on-tree maturation of 'Golden Reinders' apples. *Scientia Horticulturae*, 131, 6–14. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.09.020>
- Paradis, C., & Eeg-Olofsson, M. (2013). Describing Sensory Experience: The Genre of Wine Reviews. *Metaphor and Symbol*, 28(1, SI), 22–40. <https://doi.org/10.1080/10926488.2013.742838>
- Parish, M., Wollan, D., & Paul, R. (2000). Micro-oxygenation: A review. *Annual Technical Issue. The*

- Australian Grapegrower & Winemaker*, 438a, 47–50.
- Parpinello, G. P., Versari, A., Chinnici, F., & Galassi, S. (2009). Relationship among sensory descriptors, consumer preference and color parameters of Italian Novello red wines. *Food Research International*, 42(10), 1389–1395. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.005>
- Parr, W. V., Green, J. A., White, K. G., & Sherlock, R. R. (2007). The distinctive flavour of New Zealand Sauvignon blanc: Sensory characterisation by wine professionals. *Food Quality and Preference*, 18(6), 849–861. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2007.02.001>
- Parr, W. (2008). Application of cognitive psychology to advance understanding of wine sensory evaluation and wine expertise. In *Applied Psychology Research Trends* (pp. 55–76).
- Pérez, A. G., Rios, J. J., Sanz, C., & Olías, J. M. (1992). Aroma Components and Free Amino Acids in Strawberry Variety Chandler during Ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(11), 2232–2235. <https://doi.org/10.1021/jf00023a036>
- Petrie, P. R., & Sadras, V. O. (2008). Advancement of grapevine maturity in Australia between 1993 and 2006: putative causes, magnitude of trends and viticultural consequences. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(1), 33–45. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00005.x>
- Picard, M., de Revel, G., & Marchand, S. (2017). First identification of three p-menthane lactones and their potential precursor, menthofuran, in red wines. *Food Chemistry*, 217, 294–302. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.070>
- Picard, M., Franc, C., de Revel, G., & Marchand, S. (2018). Dual solid-phase and stir bar sorptive extraction combined with gas chromatography-mass spectrometry analysis provides a suitable tool for assaying limonene-derived mint aroma compounds in red wine. *Analytica Chimica Acta*, 1001, 168–178. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.11.074>
- Picard, M., Lytra, G., Tempere, S., Barbe, J.-C., de Revel, G., & Marchand, S. (2016a). Identification of Piperitone as an Aroma Compound Contributing to the Positive Mint Nuances Perceived in Aged Red Bordeaux Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 451–460. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04869>
- Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., & Marchand, S. (2016b). Piperitone Profiling in Fine Red Bordeaux Wines: Geographical Influences in the Bordeaux Region and Enantiomeric Distribution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(40), 7576–7584. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02835>
- Pickering, G. J., Lin, Y., Reynolds, A., Soleas, G., Riesen, R., & Brindle, I. (2005). The influence of *Harmonia axyridis* on wine composition and aging. *Journal of Food Science*, 70(2), S128–S135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07117.x>
- Pickering, G. J., Spink, M., Kotseridis, Y., Inglis, D., Brindle, I. D., Sears, M., & Beh, A.-L. (2008a). Yeast strain affects 3-isopropyl-2-methoxypyrazine concentration and sensory profile in Cabernet Sauvignon wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(3), 230–237. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00026.x>
- Pickering, G. J., Spink, M., Kotseridis, Y., Brindle, I. D., Sears, M., & Inglis, A. (2008b). Morbidity of *Harmonia axyridis* mediates ladybug taint in red wine. *Journal of Food Agriculture & Environment*, 6(3–4), 133–137.
- Pickering, G., Lin, J., Reynolds, A., Soleas, G., & Riesen, R. (2006). The evaluation of remedial treatments for wine affected by *Harmonia axyridis*. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 77–86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01039.x>
- Pickering, G. (2000). Low and Reduced-alcohol Wine: A Review. *Journal of Wine Research*, 11, 129–144. <https://doi.org/10.1080/09571260020001575>
- Pineau, B., Grose, C., Beresford, M., Sherman, E., Raw, V., Parker, A. K., Wohlers, M. W., & Trought, M. C. T. (2017). Influence of grapevine canopy trimming and maturity variability within fruit population on the sensory properties of Pinot noir wine. *Vitis*, 56(1), 1–10. <https://doi.org/10.5073/vitis.2017.56.1-10>
- Pineau, B., Barbe, J.-C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2007). Which impact for beta-damascenone on red wines aroma? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(10), 4103–4108. <https://doi.org/10.1021/jf070120r>
- Plata, C., Millan, C., Mauricio, J. C., & Ortega, J. M. (2003). Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts. *Food Microbiology*, 20(2), 217–224. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00101-6](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00101-6)
- Podolyan, A., White, J., Jordan, B., & Winefield, C. (2010). Identification of the lipoxygenase gene family from *Vitis vinifera* and biochemical characterisation of two 13-lipoxygenases expressed in grape berries of Sauvignon Blanc. *Functional Plant Biology*, 37(8), 767–784. <https://doi.org/10.1071/FP09271>
- Poitou, X., Thibon, C., & Darriet, P. (2017). 1,8-Cineole in French Red Wines: Evidence for a

- Contribution Related to Its Various Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(2), 383–393. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03042>
- Pollien, P., Ott, A., Montigon, F., Baumgartner, M., MunozBox, R., & Chaintreau, A. (1997). Hyphenated headspace gas chromatography sniffing technique: Screening of impact odorants and quantitative aromagram comparisons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2630–2637. <https://doi.org/10.1021/jf960885r>
- Pons, A., Allamy, L., Lavigne, V., Dubourdiou, D., & Darriet, P. (2017a). Study of the contribution of massoia lactone to the aroma of Merlot and Cabernet Sauvignon musts and wines. *Food Chemistry*, 232, 229–236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.151>
- Pons, A., Allamy, L., Schüttler, A., Rauhut, D., Thibon, C., & Darriet, P. (2017b). What is the expected impact of climate change on wine aroma compounds and their precursors in grape? *Oeno One*, 51(2), 141–146. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.0.0.1868>
- Pons, A., Lavigne, V., Eric, F., Darriet, P., & Dubourdiou, D. (2008). Identification of volatile compounds responsible for prune aroma in prematurely aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(13), 5285–5290. <https://doi.org/10.1021/jf073513z>
- Pons, A., Lavigne, V., Landais, Y., Darriet, P., & Dubourdiou, D. (2010). Identification of a Sotolon Pathway in Dry White Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(12), 7273–7279. <https://doi.org/10.1021/jf100150q>
- Pons, A., Mouakka, N., Deliere, L., Crachereau, J. C., Davidou, L., Sauris, P., Guilbault, P., & Darriet, P. (2018). Impact of *Plasmopara viticola* infection of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes on wine composition and flavor. *Food Chemistry*, 239, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.087>
- Pour-Nikfardjam, M., Kopp, M., Hempfling, K., & Engel, K.-H. (2013). Analysis of aroma compounds in fresh gooseberry fruit (*Ribes uva-crispa* L.) by means of Headspace HRGC-MS. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 63, 108–116.
- Prescott, J. (2012). Multimodal chemosensory interactions and perception of flavor. In M. M. Murray & M. T. Wallace (Eds.), *The neural bases of multisensory processes*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis.
- Preston, L. D., Block, D. E., Heymann, H., Soleas, G., Noble, A. C., & Ebeler, S. E. (2008). Defining vegetal aromas in Cabernet Sauvignon using sensory and chemical evaluations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 59(2), 137–145.
- Puech, J. L., Feuillat, F., & Mosedale, J. R. (1999). The tannins of oak heartwood: Structure, properties, and their influence on wine flavor. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50(4), 469–478.
- R.A.E. (2020). *Diccionario de la lengua española*. Real Academia Española: 23.^a Ed., [Versión 23.3 En Línea]. <<https://Dle.Rae.Es>> [20-09-2020].
- Rainey, B. (1986). Importance of reference standards in training panelists. *Journal of Sensory Studies*, 1, 149–154. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1986.tb00167.x>
- Rapp, A. (1998). Volatile flavour of wine: Correlation between instrumental analysis and sensory perception. *Nahrung-Food*, 42(6), 351–363. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-3803\(199812\)42:06<351::AID-FOOD351>3.3.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-3803(199812)42:06<351::AID-FOOD351>3.3.CO;2-U)
- Rapp, A., & Mandery, H. (1986). Wine Aroma. *Experientia*, 42(8), 873–884. <https://doi.org/10.1007/BF01941764>
- Rapp, A., & Versini, G. (1991). Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In J. Rantz (Ed.), *Proceedings of the international symposium on nitrogen in grapes and wine* (pp. 156–164). American Society Enology & Viticulture.
- Razungles, A. (2010). Extraction technologies and wine quality. In AG Reynolds (Ed.), *Managing Wine Quality, vol. 2: Oenology and Wine Quality* (Vol. 192, pp. 589–630). ELSEVIER SCIENCE BV. <https://doi.org/10.1533/9781845699987.2.589>
- Razungles, A., Gunata, Z., Pinatel, S., Baumes, R., & Bayonove, C. (1993). Quantitative studies on terpenes, norisoprenoids and their precursors in several varieties of grapes. *Sciences Des Aliments*, 13(1), 59–72.
- Reynolds, A., Cliff, M., Girard, B., & Kopp, T. G. (2001). Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(3), 235–240.
- Reynolds, A. G., & Heuvel, J. E. Vanden. (2009). Influence of Grapevine Training Systems on Vine Growth and Fruit Composition: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(3), 251–268.
- Ribéreau-Gayon, P., Boidron, J. N., & Terrier, A. (1975). Aroma of Muscat Grape Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 23(6), 1042–1047. <https://doi.org/10.1021/jf60202a050>
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdiou, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2000a). *Handbook of Enology*,

- volumen 1: *The Microbiology of Wine and Vinifications* (2th ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2000b). *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments* (2th ed., Vol. 2). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0470010398>
- Río Segade, S., Rolle, L., Gerbi, V., & Orriols, I. (2008). Phenolic ripeness assessment of grape skin by texture analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(8), 644–649. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.06.003>
- Robinson, A. L., Adams, D. O., Boss, P. K., Heymann, H., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2011). The relationship between sensory attributes and wine composition for Australian Cabernet Sauvignon wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(3), 327–340. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2011.00155.x>
- Robinson, A. L., Ebeler, S. E., Heymann, H., Boss, P. K., Solomon, P. S., & Trengove, R. D. (2009). Interactions between Wine Volatile Compounds and Grape and Wine Matrix Components Influence Aroma Compound Headspace Partitioning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10313–10322. <https://doi.org/10.1021/jf902586n>
- Robinson, F., & Harding, J. (2015). *The Oxford Companion to Wine* (4th ed.). Oxford University Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/acref/9780198705383.001.0001>
- Rodríguez, A., Alquézar, B., & Pena, L. (2013). Fruit aromas in mature fleshy fruits as signals of readiness for predation and seed dispersal. *New Phytologist*, 197(1), 36–48. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04382.x>
- Rodríguez, A., San Andrés, V., Cervera, M., Redondo, A., Alquézar, B., Shimada, T., Gadea, J., Jesús Rodrigo, M., Zacarías, L., Palou, L., López, M. M., Castañera, P., & Pena, L. (2011). Terpene Down-Regulation in Orange Reveals the Role of Fruit Aromas in Mediating Interactions with Insect Herbivores and Pathogens. *Plant Physiology*, 156(2), 793–802. <https://doi.org/10.1104/pp.111.176545>
- Rojas, V., Gil, J. V., Pinaga, F., & Manzanares, P. (2001). Studies on acetate ester production by non-Saccharomyces wine yeasts. *International Journal of Food Microbiology*, 70(3), 283–289. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00552-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00552-9)
- Rojas, V., Gil, J. V., Pinaga, F., & Manzanares, P. (2003). Acetate ester formation in wine by mixed cultures in laboratory fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 86(1–2), 181–188. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00255-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00255-1)
- Romano, A., Perello, M. C., Lonvaud-Funel, A., Sicard, G., & de Revel, G. (2009). Sensory and analytical re-evaluation of “Brett character.” *Food Chemistry*, 114(1), 15–19. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.006>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- Rousseau, J., & Delteil, D. (2000). Présentation d’une méthode d’analyse sensorielle des raisins. Principe, méthode et grille d’interprétation. *Revue Française d’oenologie*, 183, 10–13.
- Ruffner, H. P. (1982). Metabolism of tartaric and malic acids in Vitis: A review, Part A. *Vitis*, 21(3), 247–259.
- Ryona, I., Pan, B. S., Intrigliolo, D. S., Lakso, A. N., & Sacks, G. L. (2008). Effects of Cluster Light Exposure on 3-Isobutyl-2-methoxypyrazine Accumulation and Degradation Patterns in Red Wine Grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet Franc). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10838–10846. <https://doi.org/10.1021/jf801877y>
- Ryona, I., Reinhardt, J., & Sacks, G. L. (2012). Treatment of grape juice or must with silicone reduces 3-alkyl-2-methoxypyrazine concentrations in resulting wines without altering fermentation volatiles. *Food Research International*, 47(1), 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.012>
- Sacks, G. L., Gates, M. J., Ferry, F. X., Lavin, E. H., Kurtz, A. J., & Acree, T. E. (2012). Sensory Threshold of 1,1,6-Trimethyl-1,2-dihydronaphthalene (TDN) and Concentrations in Young Riesling and Non-Riesling Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(12), 2998–3004. <https://doi.org/10.1021/jf205203b>
- Sadoughi, N., Schmidtke, L. M., Antalick, G., Blackman, J. W., & Steel, C. C. (2015). Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method Optimized Using Response Surface Modeling for the Quantitation of Fungal Off-Flavors in Grapes and Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(11), 2877–2885. <https://doi.org/10.1021/jf505444r>
- Sadras, V. O., Moran, M. A., & Bonada, M. (2013). Effects of elevated temperature in grapevine. I Berry sensory traits. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 19(1), 95–106. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12007>

- Sáenz-Navajas, M.-P., Martín-López, C., Ferreira, V., & Fernández-Zurbano, P. (2011). Sensory properties of premium Spanish red wines and their implication in wine quality perception. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(1), 9–19. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2010.00115.x>
- Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Sutan, A., Ballester, J., & Valentin, D. (2013). Perception of wine quality according to extrinsic cues: The case of Burgundy wine consumers. *Food Quality and Preference*, 27(1), 44–53. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.06.006>
- Sáenz-Navajas, M.-P., Fernández-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Contribution of Nonvolatile Composition to Wine Flavor. *Food Reviews International*, 28(4), 389–411. <https://doi.org/10.1080/87559129.2012.660717>
- Sáenz-Navajas, M.-P., Avizcuri, J. M., Echavarri, J. F., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Valentin, D. (2016). Understanding quality judgements of red wines by experts: Effect of evaluation condition. *Food Quality and Preference*, 48(A), 216–227. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.10.001>
- Sala, C., Mestres, M., Marti, M. P., Busto, O., & Guasch, J. (2000). Headspace solid-phase microextraction method for determining 3-alkyl-2-methoxypyrazines in musts by means of polydimethylsiloxane-divinylbenzene fibres. *Journal of Chromatography A*, 880(1–2), 93–99. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00262-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00262-4)
- Sala, C., Busto, O., Guasch, J., & Zamora, F. (2005). Contents of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in musts and wines from *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon: Influence of irrigation and plantation density. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1131–1136. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2068>
- San Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., & Escudero, A. (2011). Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7916–7924. <https://doi.org/10.1021/jf1048657>
- Sarrazin, E., Dubourdieu, D., & Darriet, P. (2007). Characterization of key-aroma compounds of botrytized wines, influence of grape botrytization. *Food Chemistry*, 103(2), 536–545. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.026>
- Schaal, B., & Porter, R. H. (1991). “Microsmatic Humans” Revisited - the Generation and Perception of Chemical Signals. *Advances in the Study of Behavior*, 20, 135–199. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(08\)60321-6](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(08)60321-6)
- Schaal, B., Coureaud, G., Doucet, S., Allam, M. D.-E., Moncomble, A.-S., Montigny, D., Patris, B., & Holley, A. (2009). Mammary olfactory signalisation in females and odor processing in neonates: Ways evolved by rabbits and humans. *Behavioural Brain Research*, 200(2, SI), 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.02.008>
- Scheiner, J. J., Vanden Heuvel, J. E., Pan, B., & Sacks, G. L. (2012). Modeling Impacts of Viticultural and Environmental Factors on 3-Isobutyl-2-Methoxypyrazine in Cabernet franc Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(1), 94–105. <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.11002>
- Schelezki, O. J., Suklje, K., Boss, P. K., & Jeffery, D. W. (2018). Comparison of consecutive harvests versus blending treatments to produce lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon grapes: Impact on wine volatile composition and sensory properties. *Food Chemistry*, 259, 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.118>
- Schneider, R., Charrier, F., Razungles, A., & Baumes, R. (2006). Evidence for an alternative biogenetic pathway leading to 3-mercaptohexanol and 4-mercapto-4-methylpentan-2-one in wines. *Analytica Chimica Acta*, 563(1–2), 58–64. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.01.057>
- Schneider, R., Razungles, A., Charrier, F., & Baumes, R. (2002). Effet du site, de la maturité et de l'éclaircissement des grappes sur la composition aromatique des baies de *Vitis vinifera* L. cv. Melon B. dans le vignoble du Muscadet. *Bulletin de l'OIV*, 75, 269–282.
- Schreier, P., Drawert, F., & Junker, A. (1976). Identification of volatile constituents from grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24(2), 331–336. <https://doi.org/10.1021/jf60204a032>
- Schultz, H. (2008). Climate change and viticulture: A European perspective on climatology, carbon dioxide and UV-B effects. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 2–12. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00156.x>
- Schwab, W., Davidovich-Rikanati, R., & Lewinsohn, E. (2008). Biosynthesis of plant-derived flavor compounds. *Plant Journal*, 54(4), 712–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03446.x>
- Segade, S. R., Giacosa, S., Gerbi, V., & Rolle, L. (2019). Grape Maturity and Selection: Automatic Grape Selection. In A. Morata (Ed.), *Red Wine Technology* (pp. 1–16). Academic Press LTD - Elsevier Science LTD. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814399-5.00001-3>
- Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., Salles, M., & Baumes, R. L. (2004). Contribution of dimethyl

- sulfide to the aroma of Syrah and Grenache Noir wines and estimation of its potential in grapes of these varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 7084–7093. <https://doi.org/10.1021/jf049160a>
- Seo, H.-S., & Hummel, T. (2017). Cross-Modal Integration in Olfactory Perception. In A. Buettner (Ed.), *Springer Handbook of Odor* (pp. 897–917). Springer International Publishing AG.
- Shepherd, G. M. (2004). The human sense of smell: Are we better than we think? *Plos Biology*, 2(5), 572–575. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020146>
- Singh, Z., Lalel, H. J. D., & Nair, S. (2004). A review of mango fruit aroma volatile compounds - State of the art research. In R. Pinto, ACQ and Pereira, MEC and Alves (Ed.), *Proceedings of the Seventh International Mango Symposium* (Issue 645, pp. 519–527). International Society for Horticultural Science. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.645.68>
- Singleton, V. L., & Ouch, C. S. (1962). Complexity of Flavor and Blending of Wines. *Journal of Food Science*, 27(2), 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1962.tb00080.x>
- Slabizki, P., Legrum, C., Wegmann-Herr, P., Fischer, C., & Schmarr, H.-G. (2016). Quantification of cork off-flavor compounds in natural cork stoppers and wine by multidimensional gas chromatography mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 242(6), 977–986. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2604-x>
- Slaghenaufi, D., & Ugliano, M. (2018). Norisoprenoids, Sesquiterpenes and Terpenoids Content of Valpolicella Wines During Aging: Investigating Aroma POtential in Relationship to Evolution of Tobacco and Balsamic Aroma in Aged Wine. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00066>
- Slegers, A., Angers, P., Ouellet, É., Truchon, T., & Pedneault, K. (2015). Volatile compounds from grape skin, juice and wine from five interspecific hybrid grape cultivars grown in Québec (Canada) for wine production. *Molecules*, 20(6), 10980–11016. <https://doi.org/10.3390/molecules200610980>
- Small, D. M., & Prescott, J. (2005). Odor/taste integration and the perception of flavor. *Experimental Brain Research*, 166(3–4), 345–357. <https://doi.org/10.1007/s00221-005-2376-9>
- Smith, M. E., Bekker, M. Z., Smith, P. A., & Wilkes, E. N. (2015). Sources of volatile sulfur compounds in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1, SI), 705–712. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12193>
- Soares, F. D., Pereira, T., Marques, M. O. M., & Monteiro, A. R. (2007). Volatile and non-volatile chemical composition of the white guava fruit (*Psidium guajava*) at different stages of maturity. *Food Chemistry*, 100(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.061>
- Steingass, C. B., Dell, C., Lieb, V., Mayer-Ullmann, B., Czerny, M., & Carle, R. (2016). Assignment of distinctive volatiles, descriptive sensory analysis and consumer preference of differently ripened and post-harvest handled pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.) fruits. *European Food Research and Technology*, 242(1), 33–43. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2515-x>
- Stevens, S. S. (1961). To honor Fechner and repeal his law - A power function, not a log function, describes operating characteristic of a sensory system. *Science*, 133(344), 80-. <https://doi.org/10.1126/science.133.3446.80>
- Stines, A. P., Grubb, J., Gockowiak, H., Henschke, P. A., Hoj, P. B., & Van Heeswijck, R. (2000). Proline and arginine accumulation in developing berries of *Vitis vinifera* L. in Australian vineyards: Influence of vine cultivar, berry maturity and tissue type. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(2), 150–158. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00174.x>
- Stone, H., Sidel, J., Oliver, S., Woolsey, A., & Singleton, R. C. (2004). Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. In *Descriptive Sensory Analysis in Practice* (pp. 23–34). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470385036.ch1c>
- Strauss, C. R., Wilson, B., Anderson, R., & Williams, P. J. (1987). Development of Precursors of C13 Nor-Isoprenoid Flavorants in Riesling Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(1), 23–27.
- Stribny, J., Gamero, A., Pérez-Torrado, R., & Querol, A. (2015). *Saccharomyces kudriavzevii* and *Saccharomyces uvarum* differ from *Saccharomyces cerevisiae* during the production of aroma-active higher alcohols and acetate esters using their amino acidic precursors. *International Journal of Food Microbiology*, 205, 41–46. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.003>
- Stumpe, M., & Feussner, I. (2006). Formation of oxylipins by CYP74 enzymes. *Phytochemistry Reviews*, 5(2), 347–357. <https://doi.org/10.1007/s11101-006-9038-9>
- Sugrue, M., & Dando, R. (2018). Cross-modal influence of colour from product and packaging alters perceived flavour of cider. *Journal of the Institute of Brewing*, 124(3), 254–260. <https://doi.org/10.1002/jib.489>
- Suklje, K., Zhang, X., Antalick, G., Clark, A.C., Deloire, A., & Schmidtke, L.M. (2016). Berry Shriveling Significantly Alters Shiraz (*Vitis vinifera* L.) Grape and Wine Chemical Composition. *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry*, 64(4), 870–880. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05158>
- Sully, J. (1879). Harmony of colours. *Mind*, 1879, 4, 172–191. *Mind*, 4, 172–191.
- Suriano, S., Alba, V., Di Gennaro, D., Basile, T., Tamborra, M., & Tarricone, L. (2016). Major phenolic and volatile compounds and their influence on sensorial aspects in stem-contact fermentation winemaking of Primitivo red wines. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 53(8), 3329–3339. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2310-0>
- Suwonsichon, S., Chambers, E., Kongpensook, V., & Oupadissakoon, C. (2012). Sensory Lexicon for Mango as Affected by Cultivars and Stages of Ripeness. *Journal of Sensory Studies*, 27(3), 148–160. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2012.00377.x>
- Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., & Pretorius, I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 139–173. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x>
- Tarter, M. E., & Keuter, S. E. (2005). Effect of rachis position on size and maturity of Cabernet Sauvignon berries. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(1), 86–89.
- Tijet, N., Schneider, C., Muller, B. L., & Brash, A. R. (2001). Biogenesis of volatile aldehydes from fatty acid hydroperoxides: Molecular cloning of a hydroperoxide lyase (CYP74C) with specificity for both the 9- and 13-hydroperoxides of linoleic and linolenic acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 386(2), 281–289. <https://doi.org/10.1006/abbi.2000.2218>
- Tominaga, T., Blanchard, L., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2000). A powerful aromatic volatile thiol, 2-furanmethanethiol, exhibiting roast coffee aroma in wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1799–1802. <https://doi.org/10.1021/jf990660r>
- Tominaga, T., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (1996). Identification of 3-mercaptohexyl acetate in Sauvignon wine, a powerful aromatic compound exhibiting box-tree odor. *Vitis*, 35(4), 207–210.
- Tominaga, T., des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5215–5219. <https://doi.org/10.1021/jf980481u>
- Tominaga, T., Guimbertau, G., & Dubourdieu, D. (2003). Contribution of benzenemethanethiol to smoky aroma of certain *Vitis vinifera* L. wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5), 1373–1376. <https://doi.org/10.1021/jf020756c>
- Tominaga, T., Niclass, Y., Frerot, E., & Dubourdieu, D. (2006). Stereoisomeric distribution of 3-mercaptohexan-1-ol and 3-mercaptohexyl acetate in dry and sweet white wines made from *Vitis vinifera* (var. Sauvignon blanc and Semillon). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7251–7255. <https://doi.org/10.1021/jf061566v>
- Tosi, E., Fedrizzi, B., Azzolini, M., Finato, F., Simonato, B., & Zapparoli, G. (2012). Effects of noble rot on must composition and aroma profile of Amarone wine produced by the traditional grape withering protocol. *Food Chemistry*, 130(2), 370–375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.053>
- Ugliano, M., & Moio, L. (2008). Free and hydrolytically released volatile compounds of *Vitis vinifera* L. cv. Fiano grapes as odour-active constituents of Fiano wine. *Analytica Chimica Acta*, 621(1), 79–85. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.03.002>
- Umano, K., Hagi, Y., Nakahara, K., Shoji, A., & Shibamoto, T. (1992). Volatile constituents of green and ripened pineapple (*Ananas comosus* [L.] Merr.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(4), 599–603. <https://doi.org/10.1021/jf00016a014>
- Vanwyk, C. J., Augustyn, O. P. H., Dewet, P., & Joubert, W. A. (1979). Isoamyl Acetate — a Key Fermentation Volatile of Wines of *Vitis Vinifera* CV Pinotage. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30(3), 167–173.
- Versini, G., Orriols, I., & Dallaserra, A. (1994). Aroma components of Galician Albarino, Loureira and Godello wines. *Vitis*, 33(3), 165–170.
- Villamor, R. R., Evans, M. A., & Ross, C. F. (2013). Effects of Ethanol, Tannin, and Fructose Concentrations on Sensory Properties of Model Red Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(3), 342–348. <https://doi.org/10.5344/ajev.2013.12118>
- Villatoro, C., Altisent, R., Echeverria, G., Graell, J., López, M. L., & Lara, I. (2008). Changes in biosynthesis of aroma volatile compounds during on-tree maturation of 'Pink Lady ®' apples. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 286–295. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.07.003>
- Wang, D., Cai, J., Zhu, B.-Q., Wu, G.-F., Duan, C.-Q., Chen, G., & Shi, Y. (2015). Study of free and glycosidically bound volatile compounds in air-dried raisins from three seedless grape varieties using HS-SPME with GC-MS. *Food Chemistry*, 177, 346–353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.018>

- Wang, D., Duan, C.-Q., Shi, Y., Zhu, B.-Q., Javed, H. U., & Wang, J. (2017). Free and glycosidically bound volatile compounds in sun-dried raisins made from different fragrance intensities grape varieties using a validated HS-SPME with GC-MS method. *Food Chemistry*, 228, 125–135. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.153>
- Wang, J., Aubie, E., Lan, Y.-B., Crombleholme, M., & Reynolds, A. (2019). The impacts of frozen material-other-than-grapes (MOG) on aroma compounds of red wine varieties. *12th Edition of Enoforum*.
- Wang, M. Y., MacRae, E., Wohlers, M., & Marsh, K. (2011). Changes in volatile production and sensory quality of kiwifruit during fruit maturation in *Actinidia deliciosa* 'Hayward' and *A. chinensis* 'Hort16A'. *Postharvest Biology and Technology*, 59(1), 16–24. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2010.08.010>
- Ward, S. C., Petrie, P. R., Johnson, T. E., Boss, P. K., & Bastian, S. E. P. (2015). Unripe Berries and Petioles in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon Fermentations Affect Sensory and Chemical Profiles. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(4), 435–443. <https://doi.org/10.5344/ajev.2015.15016>
- Webb, L. B., Whetton, P. H., Bhend, J., Darbyshire, R., Briggs, P. R., & Barlow, E. W. R. (2012). Earlier wine-grape ripening driven by climatic warming and drying and management practices. *Nature Climate Change*, 2(4), 259–264. <https://doi.org/10.1038/NCLIMATE1417>
- Wen, Y., Ontañón, I., Ferreira, V., & López, R. (2018). Determination of ppq-levels of alkylmethoxypyrazines in wine by stirbar sorptive extraction combined with multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 255, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.089>
- Williams, A. A., & Langron, S. P. (1984). The use of free-choice profiling for the evaluation of commercial ports. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 35(5), 558–568. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740350513>
- Wilson, B., Strauss, C. R., & Williams, P. J. (1984). Changes in Free and Glycosidically Bound Monoterpenes in Developing Muscat Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(4), 919–924. <https://doi.org/10.1021/jf00124a054>
- Wood, C., Siebert, T. E., Parker, M., Capone, D. L., Elsey, G. M., Pollnitz, A. P., Eggers, M., Meier, M., Vossing, T., Widder, S., Krammer, G., Sefton, M. A., & Herderich, M. J. (2008). From wine to pepper: Rotundone, an obscure sesquiterpene, is a potent spicy aroma compound. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(10), 3738–3744. <https://doi.org/10.1021/jf800183k>
- Wu, Y., Duan, S., Zhao, L., Gao, Z., Luo, M., Song, S., Xu, W., Zhang, C., Ma, C., & Wang, S. (2016). Aroma characterization based on aromatic series analysis in table grapes. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep31116>
- Wu, Y., Zhang, W., Yu, W., Zhao, L., Song, S., Xu, W., Zhang, C., Ma, C., Wang, L., & Wang, S. (2019). Study on the volatile composition of table grapes of three aroma types. *LWT-Food Science and Technology*, 115. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108450>
- Yang, C., Wang, Y., Liang, Z., Fan, P., Wu, B., Yang, L., Wang, Y., & Li, S. (2009). Volatiles of grape berries evaluated at the germplasm level by headspace-SPME with GC-MS. *Food Chemistry*, 114(3), 1106–1114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.061>
- Yang, C., Wang, Y., Wu, B., Fang, J., & Li, S. (2011). Volatile compounds evolution of three table grapes with different flavour during and after maturation. *Food Chemistry*, 128(4), 823–830. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.029>
- Yuan, F., & Qian, M. C. (2016). Aroma Potential in Early- and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 443–450. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04774>
- Zapata, J., Mateo-Vivaracho, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2010). Comparison of extraction techniques and mass spectrometric ionization modes in the analysis of wine volatile carbonyls. *Analytica Chimica Acta*, 660(1–2), 197–205. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.09.041>
- Zea, L., Serratos, M. P., Merida, J., & Moyano, L. (2015). Acetaldehyde as Key Compound for the Authenticity of Sherry Wines: A Study Covering 5 Decades. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 681–693. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12159>
- Zhang, P., Barlow, S., Krstic, M., Herderich, M., Fuentes, S., & Howell, K. (2015). Within-Vineyard, Within-Vine, and Within-Bunch Variability of the Rotundone Concentration in Berries of *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(17), 4276–4283. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b00590>
- Zhu, H., Li, X. P., Yuan, R. C., Chen, Y. F., & Chen, W. X. (2010). Changes in volatile compounds and associated relationships with other ripening events in banana fruit. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 85(4), 283–288. <https://doi.org/10.1080/14620316.2010.11512669>

Objetivos



En todo buen vino duerme un pájaro

Rayuela - Julio Cortázar

Objetivos

Los objetivos fundamentales del presente trabajo son:

- Caracterizar sensorial y molecularmente la percepción aromática del verdor en vinos tintos.
- Generar los conocimientos necesarios para poder gestionar desde el campo hasta la bodega esta anomalía y poder así controlar la calidad del vino en general y del aroma en particular.

Los objetivos específicos que se pretende abordar son los siguientes:

- Comprender el concepto sensorial del verdor, su origen y posible solución mediante una estrategia basada en la memoria a largo plazo con enólogos españoles.
- Definir sensorialmente el “verdor” en vinos tintos mediante análisis descriptivos de una amplia gama de vinos.
- Caracterizar los grupos de moléculas aromáticas potencialmente involucradas la percepción de verdor.
- Comprender los cambios que se producen en la composición aromática de los vinos de diferentes variedades de uva con diferentes niveles de maduración y distintos potenciales de viñedo.
- Entender el papel sensorial de diferentes compuestos aromáticos en el perfil aromático de vinos tintos y su posible influencia en la percepción del verdor.

Sección I. Definición del concepto de verdor, origen y soluciones mediante estudios basados en la memoria a largo plazo



Nuestra lengua no sirve para describir el mundo de los olores

Das Parfum - Patrick Süskind

Section I. Definition of the concept, origin and solutions of green character through studies based on long-term memory

Introduction

The evaluation of food sensory characteristics, or sensory profiling, provides valuable information for the food industry. Producers have to know the exact sensory profile of their products for quality control purposes and to ensure that the production process fulfils the producer's requirements. In terms of product development, sensory characteristic evaluation can help in the production processes by defining the ingredient composition and thus achieve a specific and desired sensory profile. In classical consumer science, the linkage of a product's sensory profile to the consumer's preference or perceived quality appraisal (*i.e.*, hedonic ratings) is a very common strategy. It allows the identification of the main sensory attributes which drive the consumer preference for any single product. Conventional descriptive analysis (DA) is among the most widely used techniques for sensory profiling. DA requires a panel which is usually composed of a minimum of eight participants. In each product, the panel must have previous experience with the specific sensory attributes to be evaluated. The selected attributes have to be associated with reproducible references that unequivocally represent each term (Lawless and Heymann, 2010). This classical approach has three main limitations. The first limitation is the cost; DA is a very expensive technique, mainly due to the highly qualified panel leaders, the development of references, and the investment needed to train the panel in terms of repeatability, reproducibility and consistency. The second limitation is related to linking DA and hedonic data which assumes that the trained panel and consumers have similar perceptions of the studied products (Varela and Ares, 2012). The third limitation is related to the use of DA for complex products such as wine (Campo *et al.*, 2010). In DA, differences among products are identified by measuring monodimensional attributes, while perception is multidimensional. This meaning that perception is the result of the integration of sensory signals elicited by different sensory modalities or dimensions (visual, olfactory, taste, trigeminal) rather than the sum of individual signals as those measured by DA (Prescott, 2015). This can make in some cases to neglect sensory differences in complex products.

In the last decade, alternative descriptive techniques have gained prominence. Their main advantage is to reduce training time or even to avoid it because their purpose is not to reach a consensus among participants but to identify sensory differences among products, related to either monodimensional or multidimensional perception (Valentin *et al.*, 2012). Moreover, participants describing the products are consumers, which eliminates or reduces the differences in perception between consumers (hedonic ratings) and trained panellists (sensory profile) inherent to classical approaches. The hypothesis behind these strategies is that consumers can

describe products (Varela and Ares, 2012). In general, alternative techniques are more rapid and, in certain occasions, can be good alternatives to classical DA; but cannot substitute DA when an accurate description is needed (for extensive reviews concerning alternative descriptive strategies see Valentin *et al.* (2012) and Varela and Ares (2012)). The main drawback of employing untrained panels for describing products is the difficulty interpreting the terms generated by them; consumers use words employed in daily conversations, defined by Lawless and Heymann (2010) as “everyday language”. To avoid this problem, in certain domains, technical experts are selected to carry out the description of products as their vocabulary is *a priori* easier to understand and more consensual than the vocabulary of consumers. Sensory analysis in wine is a very good example of this type of approach. Wine experts, including winemakers, producers, oenologists and wine critics have developed specific language and terms for describing wines and exchanging information among themselves (Brochet and Dubourdieu, 2001). However, the communication capacity of experts’ descriptions was questioned some decades ago when Lehrer (1975) demonstrated a lack of understanding among wine experts. Wine experts have developed a specific vocabulary that includes “scientific terms” and “everyday language”. Scientific or monodimensional terms are also employed by trained panels because they can be unequivocally represented by sensory references such as “kerosene” (represented by the molecule TDN), “violet” (β -ionone) or “honey” (phenylethyl acetate) for aroma, “sweetness” (sucrose), “sourness” (tartaric acid) or “bitterness” (quinine sulphate) for tastes, among others. “Everyday language” refers to the individual previous experience of the expert and thus likely draws on top-down cognitive processes (Parr *et al.*, 2015). In relation to this last type of language, it is a challenge to unequivocally interpret some concepts normally employed by experts when describing wines. Some examples of difficult to interpret wine concepts are: “minerality” (Rodrigues *et al.*, 2015), “complexity” (Parr *et al.*, 2011), “*bouquet*” (Picard *et al.*, 2015) and “green” (Sáenz-Navajas *et al.*, 2018) among others. Experts accumulate an important number of tasting experiences and identify common sensory patterns that are verbalised by using this type of language. These ambiguous sensory concepts, which are usually multidimensional, are the result of the verbalisation of perception. In this context, it is important to understand and decipher these concepts to further understand perception.

The present work is focused on understanding the concept of green wines. This concept has been inconsistently and vaguely described by different wine dictionaries: “[...] *a flavour in wine generally associated with those of grass, moss, or vegetables. Also a flavour found in wines made from underripe grapes. A certain amount of greenness can be characteristic of, and, therefore, positive in some varieties like Sauvignon blanc. With most red varieties, however, obvious greenness is considered a fault [...]*” (MacNeil, 2015) or “[...] *pejorative tasting term for wine made from grapes that did not reach full ripeness [...]*” (Robinson and Harding, 2015).

Similarly, the scientific literature lacks consensus when it comes to the meaning of “green wine”. The concept is mainly related to aroma terms such as green vegetables or fruity/boxwood (Green *et al.*, 2011), capsicum, grass, tomato leaf and asparagus (Makhotkina *et al.*, 2012), tallow-like aroma (Mohekar *et al.*, 2017), herbaceous aroma (Mozzon *et al.*, 2016; Slabizki *et al.*, 2016), or fresh cut grass and “stemmy and stalky”, this last being exemplified by frozen blackcurrants and blackberries (Saltman *et al.*, 2017). In these articles, “green wine” mainly relates to a concept formed by a diversity of terms selected retrospectively by experimenters. This has contributed to the lack of the consensual definition for the term green for describing wines. On the other hand, Gawel *et al.* (2000) carried out an exhaustive study to identify different taste and mouthfeel categories for wine descriptions. In this work, “green” was included in the main category “astringency” and the subcategory “unripe”. More recently, following a tasting-based strategy, a group of wine experts from the Somontano region, in Spain, scored the level of “green character” of 54 red wines. They showed that “green character” was correlated to terms linked to two sensory modalities: aroma (vegetal aroma) and trigeminal sensations (astringency) and that it had a negative valence. One weakness of the tasting-based approach is that the work is limited to samples that are previously selected by experimenters as examples of green and not green wines. This can lead to a forced scoring of the attribute even if the character is not present or if there is no perceptible difference among samples. Thus, evaluators tend to score the characteristics that differ most among the wines; which may not necessarily be the focus of study. A second limitation is related to the fatigue generated during wine tasting, which is mainly linked to the accumulation of astringent and bitter sensations. To overcome these drawbacks, Jose-Coutinho *et al.* (2015) proposed a cognitive based descriptive methodology considering experts’ long-term memory without using actual wine tasting. They employed this methodology to perform the sensory profiling of Portuguese wines. This strategy was successful in defining three distinct geographical areas in Portugal which are associated with specific wine sensory profiles. The cognitive-based descriptive methodology is proving to be a promising tool to conduct large scale sensory studies; it also eliminates the drawbacks of approaches that involve wine tasting.

Chapter 1. Acceding long-term memory of wine experts to decipher an ill-defined sensory concept: the case of green wine

1. Objectives

The present research aims to provide reliable information about the green wine concept by using a non-tasting mental descriptive task, based on experts' long-term memory. The difficulty in the interpretation of this sensory concept could be attributed to 1) the multimodality nature of the term and 2) a lack of consensus in its use by experts accumulating different sensory experiences. Thus, in the present work, we first hypothesised that the term is multimodal, being the result of the verbalisation of perception. Besides, the lack of consensus can be the result of the distinct learning phenomena among experts; the perspective of the participants is often formed in the region where they work as winemakers. This is based on the possibility that winemakers from one region usually attend similar education sources and tasting events, furthermore, they are most probably exposed to similar wines, in contrast to experts from different regions. These common experiences within winemaking regions can lead to the development of a common referential lexicon to describe and verbalise sensory experiences and concepts (Temmerman, 2017). In this context, the second hypothesis of this survey is the presence of a regional effect on experts' understanding of the green wine concept.

To evaluate this hypothesis, the concept of green wine has been studied in four different denominations of origin in Spain by a descriptive task based on long-term memory. Therefore, the description of a real wine from memory (*i.e., describe the last green wine you tasted*), which will be different for each participant, was employed to generate a more realistic description of the category, than approaches applied for the identification of a central tendency stored in mind, and thus to theoretical wine prototype (*e.g., what is for you a green wine?*).

2. Material and methods

2.1. Participants

Seventy-seven Spanish winemakers (65% men and 35% women, aged between 23 and 67, average of 41 years old), from four wine regions, with two to 43 years' experience in their region (average of 16 years) were interviewed. The four regions in Northern Spain mainly produce red wines (> 80% of overall production in all cases). These four regions were selected because they present marked differences in the wines produced within them. Their main differences are their geographical locations, climate, soil properties and variety. The DO Somontano region produces wines with a wide range of varieties, including foreign and national cultivars such as Cabernet sauvignon, Merlot and Tempranillo; the latter being the most important variety. The other three regions are producers of one main national variety: Garnacha

in DO Campo de Borja and Tempranillo in both DOCa Rioja and DO Ribera del Duero. These last two regions have prominent differences in both climatic conditions and soil characteristics.

Table 1 illustrates the demographic data of participants. The panel of participants did not present significant differences in terms of gender and age. Winemakers from DO Somontano had significantly more years of experience (average = 20) than those from DO Ribera del Duero (average = 12).

Table 1. Gender, age ranges and average age (in brackets) and range and average (in brackets) years of experience in producing wine. Significance (*p*-value) for each variable (ns: no significant differences). Different letters in a row means significant differences between regions for a given variable according to post-hoc tests (Fisher test).

	DOCa Rioja (n=19)	DO Somontano (n=19)	DO Campo de Borja (n=19)	DO Ribera del Duero (n=20)	<i>p</i>
gender (men/women)	9/10	14/5	15/4	12/8	ns
age (years)	26-67 (41)	28-53 (44)	23-61 (42)	28-58 (37)	ns
experience (years)	4-35 (15) ^{ab}	5-30 (20) ^a	3-43 (18) ^a	2-26 (12) ^b	<0.05

2.2. Procedure

Questionnaires were sent by email to LAAE's database of winemakers. The questionnaire included two main parts. The first part consisted of a nontasting free description task evoking the last green wine they had tasted: "*Remember the last time you tasted a green wine, could you please describe it?*" In the second part of the questionnaire, participants were asked if they are used to taste green wines and if they believe that wines with green character are a problem in their region. Lastly, demographic questions were asked (gender, age, wine region and years of experience as winemakers). For more information regarding questionnaires see Annex 1.

2.3. Data analysis

One corpus was obtained for each region. Terms were lemmatised and synonymous were regrouped. Then, the terms were grouped in categories and subcategories to compare their frequency of citation across regions by using a triangulation procedure (Abric, 2003). Three experimenters grouped terms belonging to similar categories and subcategories. When discrepancies were found, they were discussed until consensus was reached. Finally, the frequencies of occurrence of each individual term, category and subcategory were calculated for each group of wine experts. Only terms mentioned by at least 10% of the participants in at least one region were included in further analyses.

The effect of region on the frequency of citation of terms, subcategories and categories was assessed by means of Chi-square (χ^2) tests. Marascuilo post hoc pairwise comparisons (95%) were carried out for significant effects. The similarities and differences among the four

denominations of origin were visualised using a correspondence analysis performed on the term frequency table.

Analyses were carried out using XLSTAT (version 19.03, Addinsoft, New York, EE. UU.) and SPAD (version 5.5, CISIA-CESRESTA, Montreuil, France) software.

3. Results and discussion

3.1. Categories, subcategories and terms linked to the concept of green wine

Figure 1 illustrates a hierarchical classification of terms employed to describe green wines.



Figure 1. Hierarchical classification of common categories, subcategories and specific terms related to the green wine concept evoked by wine experts. Areas are proportional to the frequency of citation for each category, subcategory and term.

A total of 23 terms were cited by $\geq 10\%$ of participants at least in one region (**Table 2**). These individual terms were classified in two main categories including: 1) intrinsic wine characteristics related to sensory properties (cited by 69% of experts as shown in **Table 2**) and 2) origin of green wines (cited by 60% of experts). These two term categories, employed to describe the green wine concept, included six and five subcategories for sensory and origin, respectively. For the sensory category, the following subcategories could be identified: aroma, taste, trigeminal, colour, multimodal and hedonic. These subcategories correspond to the usual structure followed by experts when describing wine and recently defined as “wine tasting script” in an analogy to computer science script (Honoré-Chedozeau *et al.*, 2020). The following

description is an example of the wine tasting script: “a wine with low colour intensity, young, herbaceous aromas and in the mouth tasteless astringent, acidic, in short, unbalanced. It was an unpleasant wine”.

Table 2. Frequency of citation (expressed in %) of terms, categories (intrinsic/sensory, origin) and subcategories elicited in the four regions derived from the descriptive task, total frequency of terms (%) cited by all winemakers (77 participants), and significance (*p*) calculated from chi-square test (ns: non-significant; **p*<0.1; ***p*<0.05; ****p*<0.001). Significant terms marked in bold. Different letters for a given attribute mean significant differences based on pair-wise posthoc Marascuilo test.

CATEGORY/ subcategory/term	DOCa Rioja	DO Campo de Borja	DO Somontano	DO Ribera del Duero	TOTAL (%)	<i>P</i>
1. INTRINSIC/SENSORY	79	53	74	70	69	ns
1.1. Aroma	37	26	42	60	42	ns
vegetal	26	11	32	25	23	ns
herbaceous	16	5	11	20	13	ns
asparagus	0	0	0	15	4	ns
1.2. Taste	53a	16b	42ab	20ab	32	**
excessive sourness	32a	5b	26ab	5b	17	**
bitter	26	11	11	15	16	ns
1.3. Trigeminal	53a	16b	42ab	30ab	35	*
dry	21	5	16	5	12	ns
astringent	26a	5ab	16ab	0b	12	**
low body	11	5	5	15	9	ns
hard/aggressive	11	0	11	5	6	ns
1.4. Colour	21	16	21	5	16	ns
low colour	11	0	16	0	6	ns
red wine	11	5	5	5	6	ns
1.5. Multimodal	21	16	32	5	18	ns
unbalanced wine	21	16	21	5	16	ns
low complexity	5	5	11	0	5	ns
1.6. Hedonic	32	16	26	10	27	ns
unpleasant/default	26	11	26	10	18	ns
low quality	0	0	16	0	4	ns
2. ORIGIN	63	42	68	65	60	ns
2.1. Wine components	37b	0c	32b	75a	36	***
tannins	26a	0b	32a	10ab	17	*
pyrazines	11	0	5	20	9	ns
2.2. Wine ageing	32	32	32	45	35	ns
unripe/young wine	32	32	32	45	35	ns
2.3. Grape variety	11	32	16	10	17	ns
Cabernet	5	21	11	10	12	ns
2.4. Grape maturity	21	11	16	20	17	ns
unripe grape	11	5	11	15	10	ns
no phenolic maturity	11	11	0	5	6	ns
2.5. Vintage	16	0	11	20	12	ns
vintage 2015	0	0	11	10	5	ns
vintage 2018	16	0	0	5	5	ns

The structure of descriptions carried out by experts starts with a description of the colour (low colour intensity), followed by aroma (herbaceous aromas), taste and mouthfeel sensations (tasteless, astringent, acidic), then the use of global multimodal descriptors (unbalanced) and finally an overall hedonic judgement of the wine (unpleasant).

By the occurrence of these two main categories, sensory properties and origin, we see that experts follow a combination of bottom-up and top-down cognitive strategies to describe wines as was recently observed for both perceptual and conceptual categorisation of Beaujolais wines (Honoré-Chedozeau *et al.*, 2020) and previously reported by several other authors (Parr *et al.*, 2003; Solomon, 1997). The bottom-up strategy is based on the surface characteristics of the product (i.e., sensory cues), that is: “tasting before thinking”, while the top-down strategy refers to the participant’s previous knowledge and experience (i.e., the origin of the green wine concept): “thinking before tasting” (Honoré-Chedozeau *et al.*, 2019). This means that wine experts integrate both cognitive processes when verbalising the sensations produced by a product. In the present case, the concept of green wine activates a pure description strategy for which the participants use sensory-related terms as well as a higher-order cognitive process in which they make a diagnosis based on their technical expertise. This top-down process developed with expertise can be considered an advantage over trained panels or consumers when the objective of the task is to produce an elaborated description alongside a diagnosis of the problem. However, trained panels or consumers should be preferred when a surface description without cognitive inference is the aim, mainly because the panellists and the consumers tend to follow the bottom-up strategy (Honoré-Chedozeau *et al.*, 2019; Parr *et al.*, 2003; Solomon, 1997).

For the green wine concept, aroma (42%) was the sensory subcategory cited most, it was followed by trigeminal (35%), taste (32%) and hedonic (27%) subcategories; illustrated in **Table 2**. More specifically, “vegetal aroma” (cited by 23% of total wine experts), and the hedonic term “unpleasant/default” (18%) were among the most frequently cited followed by two taster-related terms: “excessive sourness” (17%), and “bitter” (16%). Alongside sensory-related terms, the origin category presented high overall citations for the wine component subcategories (36%) and wine ageing (35%) with their respective terms “tannin” (17%) and among the most cited, “unripe/young wine” (35%). Notably, “tannin” was always accompanied by an adjective, namely “aggressive tannin”, “green tannin” or “unripe tannin”.

The relatively low frequency of citation of terms is related to the nature of the approach because participants were asked to describe the last green wine they tasted, and thus to exemplify the category of green wines, rather than searching for the description of a prototype, which would have led to higher frequencies of citations. The multidimensionality observed for the green wine concept in the present research coincides with the results observed in a study carried out by experts from DO Somontano which involved the tasting of 54 red wines (Sáenz-Navajas *et al.*,

2018). In that article, “green character” of wines was scored and significantly correlated with the aroma term “vegetal aroma”, the trigeminal term “astringency” and with a term linked to wine components such as (dry and green) “tannins”. Besides this, “green character” was negatively correlated with preference. On the one hand, these results confirm our first hypothesis related to the multidimensionality of the green wine concept. Thus, it seems to be reasonable to think that flavour perception is the result of the integration of independent sensory inputs, mainly aroma, taste and trigeminal sensations, rather than the perception of independent stimuli. This integration leads one to form a global conceptual unit (Prescott, 2015), in this case, the green wine concept. This integration of stimuli could be the result of the multidimensionality attributed to a wide range of sensory concepts such as minerality (Parr *et al.*, 2015), complexity (Parr *et al.*, 2011) or quality (Sáenz-Navajas *et al.*, 2016) among others. Prescott (2015) attributed flavour integration to repeated co-exposure of similar sensory properties or profiles for a given product, and thus to associative learning. In this context, the green concept could have been built to share and communicate experts’ sensations (Temmerman, 2017) or concrete sensory profiles that encompass multidimensional sensations co-occurring repeatedly in wines; verbalised as green. From a methodological standpoint, the long-term memory strategy employed in the present research yielded terms similar to those appearing in classical approaches while evoking new terms. The terms common to both strategies are “vegetal aroma”, “astringency”, “tannin” and the hedonic term “unpleasant”. The new terms were linked to the sensory category and taste subcategory such as “excessive sourness” and “bitter” as well as the origin category including the subcategories “wine ageing”, “grape variety”, and “maturity”.

3.2. Effect of expert’s region on the terms linked to green wine concept

Among the 23 terms generated (**Table 2**), four were the most cited in the four regions. Among them three belong to the sensory category: “vegetal aroma” (23% overall citations), followed by “unpleasant/default” (18%), and “bitter” (16%) whereas, the fourth, “unripe/young wine”, belongs to the origin category. Besides these commonalities, the other terms varied from one region to the other one. The significant differences observed for three specific terms (**Table 2**) were noteworthy. Two were sensory-related terms linked to taste (“excessive sourness”) and trigeminal subcategories (“astringent”), and one belonged to the origin category and wine components subcategory (“tannin”). “Excessive sourness” and “astringent” were mainly cited by experts from Rioja and Somontano, but barely used by participants from the other two regions. The term “tannin” was never cited in DO Campo de Borja, and highly cited in DO Somontano and DOCa Rioja.

The similarities and differences among regions are synthesised in the Correspondence Analysis (CA) plot (**Figure 2**).

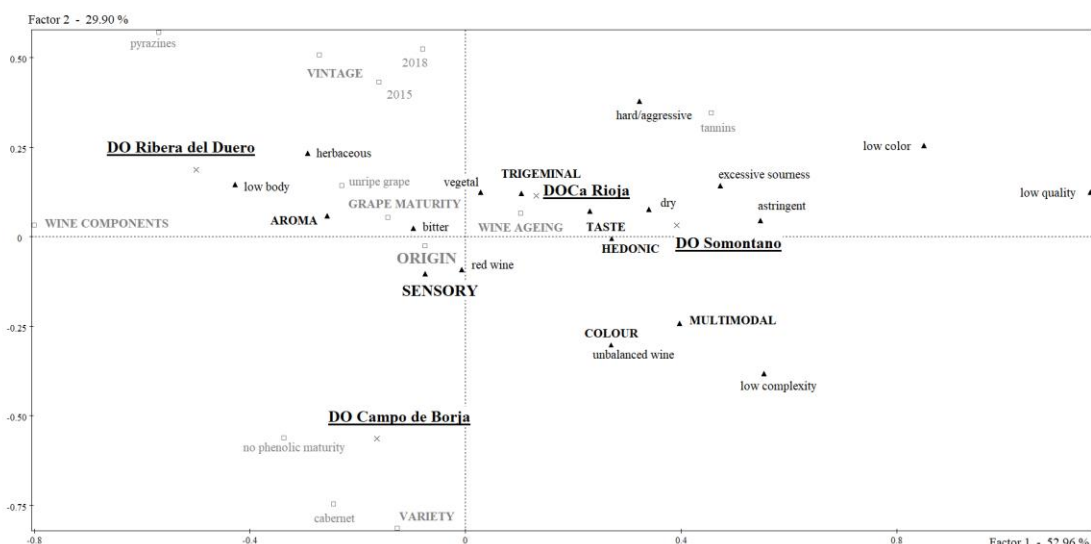


Figure 2. Projection on the CA space of categories, subcategories and terms elicited by participants (cited by at least $\geq 10\%$ of participants in at least one region) of the four regions on Factors 1-2.

The first two factors, explaining 82.9% of the original variance, were retained based on Kaiser criteria (eigenvalues higher than average). The first factor (53% of original variance) places DO Ribera del Duero in opposition to the other three regions. Experts from this region are characterised by the usage of the “wine components” subcategories, which they cited significantly more often (75%, $p < 0.001$) than experts from the other regions, more specifically the term “pyrazines” was employed. The second factor, which explains almost 30% of the original variance, places DO Campo de Borja on the opposite side of the other three regions. This factor is mainly explained by the subcategory “variety” and the specific term “Cabernet”, both belonging to the category origin. This could be attributed to an effect of higher exposure and thus the experts’ familiarity with wines elaborated with this variety from this region. Cabernet is mainly cultivated in DO Somontano followed by DO Campo de Borja. The lower citation of the term Cabernet in DO Somontano may be because they cultivate a wider range of varieties that are associated with the green wine concept such as Moristel or Merlot in comparison to DO Campo de Borja where Cabernet was the sole variety cited.

Descriptions of winemakers from DO Ca Rioja and DO Somontano seem to be more convergent, with a rather high emphasis on taste (“excessive sourness”) and trigeminal (“dry” and “astringent”) sensory subcategories. DO Campo de Borja presents an intermediate position with a closer projection to DO Ca Rioja and DO Somontano. This is mainly due to the relative importance given to common categories related to the origin of green wine, such as the “wine ageing” subcategory (“unripe/young wine”) and sensory-related terms linked to “colour” and the multimodal term “unbalanced wine”.

These results demonstrate our second hypothesis, that even though there are common terms, shared by experts from the four regions, which belong to the sensory category and aroma, taste

and hedonic subcategories (“vegetal aroma”, “bitter” and “unpleasant”) an important idiosyncrasy is linked to the green wine concept that is contingent on the region of origin of the wine experts. Our second hypothesis is demonstrated by the fact that the region affects the development of sensory concepts by wine experts as the one studied in the present research (green wine). This result could be attributed to the experts’ distinct exposures to green wines and thus to different levels of familiarity with this concept. However, this does not seem to be the case because the self-reported incidence of green wines presented no significant difference among regions (45-60% of participants acknowledged the presence of green wines in their regions). Alternatively, differences in the concept of green wine among regions could be related to variations based on distinct technical and sensory experiences acquired by experts from different regions. Zannoni (1997) stated that the same word can be associated with different concepts depending on the location because it is linked to the culture of individuals. He cleverly showed the example of the word “bread” that can be easily translated into different languages (“*pan*” in Spanish, “*pain*” in French, “*brot*” in German, or “*pane*” in Italian). However, the concept associated with bread is totally different (in terms of texture, form, composition...) for individuals belonging to different cultures. Thus, experts belonging to different production regions accumulate different experiences which can influence the formation of sensory concepts. Thus, one can assume that top-down cognitive processes are used to form knowledge from experience, which would generate differences among experts from different regions. Along these lines, Parr *et al.* (2015) reported that multidimensional concepts (complexity, familiarity or liking), as could be the case of green wine, show greater differences in their meaning among diverse cultures (understood as social groups exposed to different experiences), than simple analytical descriptors which are employed to verbalise specific aroma or taste concepts. This difference is related to the distinct processes involved in the formation of both types of concepts. Multidimensional concepts are mainly related to top-down strategies, while analytical descriptors correspond more to bottom-up processes.

4. Conclusions

The present work has shed light on the concept of green wine which is conceptualised with a long-term memory strategy. To start with, the results confirm that experts use a combination of bottom-up and top-down strategies to carry out wine descriptions; their descriptions are supported by the use of both sensory and origin categories to describe wines. Secondly, the multidimensionality of the green wine concept has become evident in that it includes aroma, taste, trigeminal, colour, multimodal and hedonic sensory subcategories.

Thirdly, the sensory dimensions “vegetal aroma”, “bitter” and “unpleasant” are the specific terms shared by experts from the four regions to describe green wines and may represent the core of the green wine concept. Despite these commonalities, an important regional effect

related to sensory terms associated with taste (“excessive sourness”) and trigeminal (“astringent”) sensations and wine components (“tannin”) was demonstrated. This effect is attributed to the top-down process involved in the conceptualisation of green wine. Thus, technical and sensory experiences differing among experts from distinct wine regions can contribute to the formation of diverse wine concepts. Thus, more studies evaluating the green wine concept in other wine regions are required to understand the sensory concept and improve communication among wine audience.

The results illustrated that this approach can decipher and promote the characterisation of ill-defined concepts used by winemakers. The main advantages of memory-based approaches over classical methods are that they do not require the infrastructure needed in classical tasting approaches, and they consume far less time and resources. A potential limitation of the present approach is that participants were asked to remember the last red wine they tasted, which leads to low frequencies of citations of specific terms. The idea behind this approach is that the characterisation of different exemplars stored in the memory of experts will provide a better description of the category, being closer to reality, than the description for a central tendency or a prototype of wine, which provide a more theoretical characterisation, but leads to higher frequencies of citations.

5. References

- Abric, J. C. (2003). La recherche du noyau central et de la zone muette des représentations sociales. *Méthodes d'étude des représentations sociales* (pp. 59-80). <https://doi.org/10.3917/puf.jodel.2003.01.0203>
- Brochet, F., & Dubourdieu, D. (2001). Wine descriptive language supports cognitive specificity of chemical senses. *Brain and Language*, 77(2), 187-196. <https://doi.org/10.1006/brln.2000.2428>
- Campo, E., Ballester, J., Langlois, J., Dacremont, C., Valentin, D. (2010). Comparison of conventional descriptive analysis and a citation frequency-based descriptive method for odor profiling: An application to Burgundy Pinot noir wines. *Food Quality and Preference*, 21(1), 44-55. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2009.08.001>
- Gawel, R., Oberholster, A., & Francis, I. L. (2000). A mouth-feel wheel: terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 203-207. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00180.x>
- Green, J. A., Parr, W. V., Breitmeyer, J., Valentin, D., & Sherlock, R. (2011). Sensory and chemical characterisation of Sauvignon blanc wine: Influence of source of origin. *Food Research International*, 44(9), 2788-2797. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.005>
- Honoré-Chedozeau, C., Chollet, S., Lelièvre-Desmas, M., Ballester, J., & Valentin, D. (2020). From perceptual to conceptual categorization of wines: What is the effect of expertise? *Food Quality and Preference*, 80. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2019.103806>
- Honoré-Chedozeau, C., Desmas, M., Ballester, J., Parr, W. V., & Chollet, S. (2019). Representation of wine and beer: influence of expertise. *Current Opinion in Food Science*, 27, 104-114. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.002>
- Jose-Coutinho, A., Avila, P., & Ricardo-Da-Silva, J. M. (2015). Sensory profile of Portuguese white wines using long-term memory: a novel nationwide approach. *Journal of Sensory Studies*, 30(5), 381-394. <https://doi.org/10.1111/joss.12165>
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: Principles and practices* (2nd ed.). New York: Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5>
- Lehrer, A. (1975). Talking About Wine. *Language*, 51(4), 901-923. <https://doi.org/10.2307/412700>
- MacNeil, K. (2015). *The wine Bible*. Workman Publishing, New York

- Makhotkina, O., Pineau, B., & Kilmartin, P. A. (2012). Effect of storage temperature on the chemical composition and sensory profile of Sauvignon Blanc wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(1), 91-99. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2011.00175.x>
- Mohekar, P., Osborne, J., Wiman, N. G., Walton, V., & Tomasino, E. (2017). Influence of winemaking processing steps on the amounts of (E)-2-decenal and tridecane as off-odorants caused by brown marmorated stink bug (*Halyomorpha halys*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 872-878. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04268>
- Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E., & Thorngate, J. H. (2016). The herbaceous character of wines. *Italian Journal of Food Science*, 28(2), 190-207. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v304>
- Parr, W., White, G., & Heatherbell, D. (2003). The nose knows: Influence of colour on perception of wine aroma. *Journal of Wine Research*, 14(2-3), 79-101. <https://doi.org/10.1080/09571260410001677969>
- Parr, W. V., Ballester, J., Peyron, D., Grose, C., & Valentin, D. (2015). Perceived minerality in Sauvignon wines: Influence of culture and perception mode. *Food Quality and Preference*, 41, 121-132. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.12.001>
- Parr, W. V., Mouret, M., Blackmore, S., Pelquest-Hunt, T., & Urdapilleta, I. (2011). Representation of complexity in wine: Influence of expertise. *Food Quality and Preference*, 22(7), 647-660. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2011.04.005>
- Picard, M., Tempere, S., de Revel, G., & Marchand, S. (2015). A sensory study of the ageing bouquet of red Bordeaux wines: A three-step approach for exploring a complex olfactory concept. *Food Quality and Preference*, 42, 110-122. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.01.014>
- Prescott, J. (2015). Multisensory processes in flavour perception and their influence on food choice. *Current Opinion in Food Science*, 3, 47-52. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.02.007>
- Robinson, F., & Harding, J. (2015). *The Oxford companion to wine* (4th edition ed.): Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acref/9780198705383.001.0001>
- Rodrigues, H., Ballester, J., Saenz-Navajas, M. P., & Valentin, D. (2015). Structural approach of social representation: Application to the concept of wine minerality in experts and consumers. *Food Quality and Preference*, 46, 166-172. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.07.019>
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias, I., Ferrero-del-Teso, S., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Chemo-sensory approach for the identification of chemical compounds driving green character in red wines. *Food Research International*, 109, 138-148. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.037>
- Sáenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Echávarri, J. F., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Valentin, D. (2016). Understanding quality judgements of red wines by experts: Effect of evaluation condition. *Food Quality and Preference*, 16, 216-227. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.10.001>
- Saltman, Y., Johnson, T. E., Wilkinson, K. L., Ristic, R., Norris, L. M., & Bastian, S. E. P. (2017). Natural flavor additives influence the sensory perception and consumer liking of Australian chardonnay and shiraz wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 68(2), 243-251. <https://doi.org/10.5344/ajev.2016.16057>
- Slabizki, P., Legrum, C., Wegmann-Herr, P., Fischer, C., & Schmarr, H. G. (2016). Quantification of cork off-flavor compounds in natural cork stoppers and wine by multidimensional gas chromatography mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, 242(6), 977-986. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2604-x>
- Solomon, G. E. A. (1997). Conceptual Change and Wine Expertise. *Journal of the Learning Sciences*, 6(1), 41-60. https://doi.org/10.1207/s15327809jls0601_3
- Temmerman, R. (2017). Verbalizing sensory experience for marketing success: The case of the wine descriptor minerality and the product name smoothie. *Terminology*, 23(1), 132-154. <https://doi.org/10.1075/term.23.1.06tem>
- Valentin, D., Chollet, S., Lelievre, M., & Abdi, H. (2012). Quick and dirty but still pretty good: a review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(8), 1563-1578. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03022.x>
- Varela, P., & Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, 48(2), 893-908. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.037>
- Zannoni, M. (1997). Approaches to translation problems of sensory descriptors. *Journal of Sensory Studies*, 12(3), 239-253. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.1997.tb00065.x>

Chapter 2. Approach to Spanish wine professionals' long-term memory: origin and solution of wines with green character

1. Objectives

Despite the wide use of the term "green character" and the attempts by some scientists to define this concept, nothing that had been done had neither clearly defined the descriptor "green" nor found its origin, solution or the professional's opinion. To gain some insight into this issue it carried out this approach, which check the opinion of wine experts from four wine regions of Spain (DOCa Rioja, DO Campo de Borja, DO Somontano and DO Ribera del Duero) about the origin and the ways to managing the problem of "green character" in wines and if this opinion is whether or not contrasted by the scientific literature. As the concept of green was not well defined, our hypothesis is that there will be no consensus in the opinions about its origin and/or solution either. In order to reach this objective a non-tasting mental descriptive task based on experts long-term memory was used, because it had been proved that is a good system to get this information about ill-defined terms or sample representativeness limitations (Jose-Coutinho *et al.*, 2015; Sáenz-Navajas *et al.*, 2021).

2. Material and methods

2.1. Participants

The same seventy-seven Spanish winemakers of section 2.1 of Chapter 1 were interviewed.

2.2. Procedure

Questionnaires were sent by email to LAAE's data base of winemakers. Three open-ended questions aimed at disclosing their representations concerning of "green character". The first one aimed at disclosing their representations concerning the origin of green character in wines: "*In your opinion, which is the origin of green character in wines?*"; the second one focus on the technical methods employed to manage a green wine: "*If you had a green wine, what would you do to improve its quality?*" and if they believe that wines with green character are a problem in their region; and the final question was about the protocol to get the best quality possible wine from green grapes: "*if you had green grapes in your winery how would you elaborate them to get the best wine possible?*". For more information regarding questionnaires see Annex 1.

2.3. Data analysis

All terms generated by each of the three open-ended questions were independently extracted and lemmatised. Then, a triangulation task for each task carried out by three experimenters

(Abric, 2005), was carried out to build groups of words belonging to similar semantic categories for each of the four tasks. A fourth experimenter, centralised responses and built categories based on consensual groups, when discrepancies were found, they were discussed until consensus was achieved. Finally, the frequencies of category mentions were calculated for each group of wine experts. Only categories mentioned by at least 10% of the participants for one region were considered.

For each of the three questions, differences in the frequency of citation of categories among the four denominations of origin were calculated by means of Chi-square (χ^2) tests. Marascuilo post hoc pairwise comparisons (95%) were carried out for significant effects.

3. Results

The **Figure 1** shows a fluxogram which graphically summarize the most relevant answers of winemakers into the wine elaboration process.

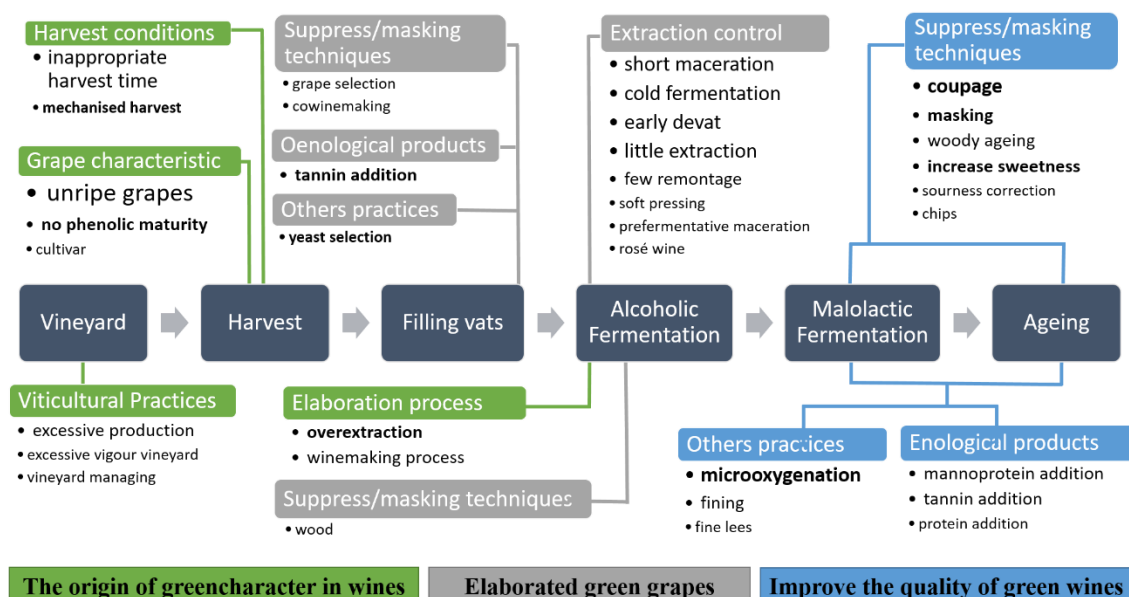


Figure 1. Fluxogram representing the most relevant answers of winemakers into the wine elaboration process.

3.1. Origin of green character

A total of 14 different terms emerged from the open-ended question aimed at disclosing the representations related the origin of green character in wines (**Table 1**). These terms can be classified in six main categories: grape characteristic/raw material, viticultural practices, harvest conditions, elaboration process, vintage and wine/grape components. The similarity and differences among regions are synthesised on the word clouds (**Figure 2**). Grape characteristics, mainly “unripe grapes”, is the most cited term among all participants with 66 citations (65% of respondents), followed by far by harvest conditions (“inappropriate harvest time”), being cited

by 26% of winemakers (i.e. 26 citations), and viticultural practices (“excessive production”) evoked by 19% of participants. The rest of terms were cited by less than 20% of participants, and thus can be related more to individual idiosyncrasy.

Table 1. Frequency of citation (expressed in %) of terms elicited (cited by at least 2 participants) in the four regions derived from the open-question: “*in your opinion, which is the origin of green character in wines?*”, total frequency of terms (%) cited by all winemakers (77 participants), and significance (*p*) calculated from chi-square test (**p*<0.1; ***p*<0.05; ****p*<0.001). Significant terms marked in bold. Different letters for a given attribute mean significant differences based on pair-wise posthoc Marascuilo test.

category	term	DOCa Rioja (%)	DO Campo de Borja (%)	DO Somontano (%)	DO Ribera del Duero (%)	TOTAL (%)	<i>p</i>
Grape characteristic/ raw material	unripe grapes	63	68	68	60	65	ns
	no phenolic maturity	26^a	0^b	11^{ab}	5^{ab}	10	**
	cultivar	16	0	5	5	6	ns
Viticultural practices	excessive production	21	21	11	25	19	ns
	excessive vigour vineyard	11	0	5	20	9	ns
	vineyard managing	0	0	16	5	5	ns
Harvest conditions	innappropriate harvest time	21	42	21	20	26	ns
	mechanised harvest	0^b	0^b	0^b	20^a	5	**
	overextraction	5^{ab}	0^b	21^{ab}	25^a	13	*
Elaboration process	winemaking process	16	0	16	15	12	ns
	excess maceration	0	11	5	0	4	ns
	oxidation	0	0	0	10	3	ns
Vintage	vintage	5	5	0	15	4	ns
Wine/grape components	tannin*	11	0	0	0	3	ns

*agressive/unripe/green

Although, it has been shown that this wine sensory concept is ill-defined (Chapter 1), there is a relatively consensus on the origin of “green wines”. Most of the wine professional consulted consider that the green character in wine appears because the grape is harvested too early.

This is an unsurprising outcome because the definitions of “ripe” and “green wines” are linked in the scientific and technical literature. On the one hand, “green wines” are defined: “*a flavour found in wines made from underripe grapes*” (MacNeil, 2015) and “*pejorative tasting term for wine made from grapes that did not reach full ripeness*” (Robinson & Harding, 2015). On the other hand, “ripeness” appears to be defined more in terms of absence of green notes than in terms of an abundance of tropical or fruity notes (Parr *et al.*, 2007) or the “unripe” term in wine is a negative hedonic grouping consisting of an astringent feel associated with excessive acidity and associated green flavour notes (Llaudy *et al.*, 2008; Gawel *et al.*, 2000).

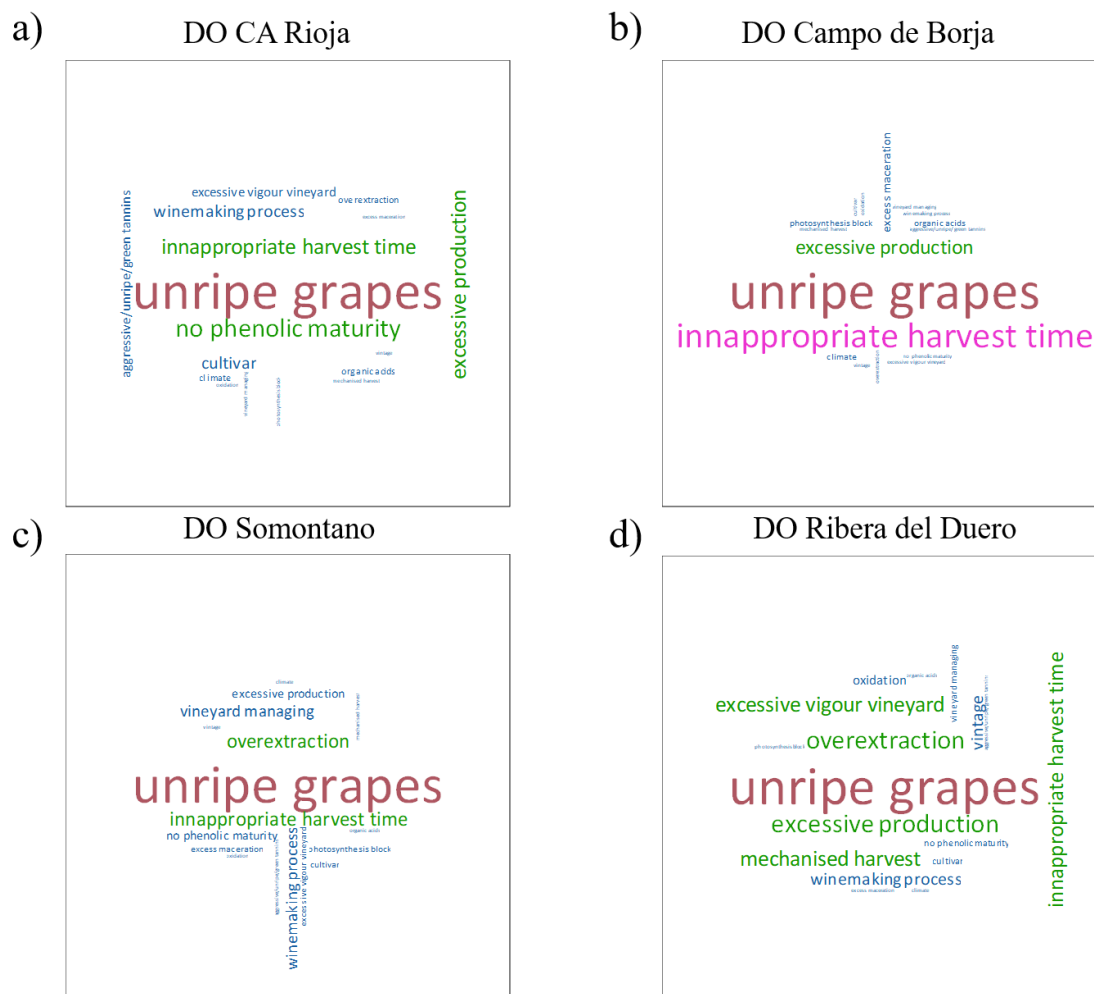


Figure 2. Word clouds representing the frequency of citation of categories (word size related to the frequency of citation) derived from the open-question: “in your opinion, which is the origin of green character in wines?” within the four regions: **a)** DO Ca Rioja, **b)** DO Campo de Borja, **c)** DO Somontano, and **d)** DO Ribera del Duero.

Many studies have been carried out on wines made from grapes with different degrees of maturity (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000a). The only family of green aromatic compounds that consistently decrease with maturity in wines are the meyhoxypyrazines in varieties such as Cabernet sauvignon and Sauvignon blanc (Lacey *et al.*, 1991; Roujou de Boubee *et al.*, 2000). The ripening stage also had a great influence on tannin extraction and astringency (Llaudy *et al.*, 2008).

The most cited origin of “green character” in wine was maturity, but as one of the interviewed professionals said: “Mainly the lack of maturity. But I think there are several origins and some of them have yet to be identified.” It has been demonstrated that this concept could have different origins, such as an inadequate foliar area, great vines vigour or excessive grape production (19% winemakers said it) affect the physiology of ripening (Howell, 2001), the quality of the grape (Gatti *et al.*, 2017) and ultimately the sensorial characterization of the wines produced (Gatti *et al.*, 2017; Hernández-Orte *et al.*, 2015; Johnson *et al.*, 2001). In fact, it is

being able to promote the accumulation of certain “green compounds” like methoxypyrazines or FAOs derivatives (Mendez-Costabel *et al.*, 2013; Scheiner *et al.*, 2012).

Interestingly, three out of the 14 terms differed in citations among regions. The most cited is “overextraction”, which belongs to the category of winemaking practices and was mainly cited by experts from DO Ribera del Duero (25%) followed by DO Somontano (21%), while its citation in the other two regions is anecdotic. However, intense macerations can increase the levels of certain “green compounds” such as precursors and compounds derivate from FAOs in the must of Chardonnay (Ferreira *et al.*, 1995); or 2-isobutyl-3-methoxypyrazine contents (Sala *et al.*, 2005), proanthocyanidin extraction and astringency in Cabernet sauvignon grapes (Llaudy *et al.*, 2008).

Another term linked to ripened process was “no phenolic maturity”, which corresponds to grape characteristics, is almost exclusively cited by Rioja participants (26%). The phenolic evolution in grape during ripening process is of vital importance in red grape harvests, as it can play a critical role in color stability as well as in mouthfeel sensations such as astringency (Llaudy *et al.*, 2008; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000b). It is logical that answer from professionals in a Rioja region, where mainly produces aged red wine.

The last term is “mechanised harvest” belonging to harvest conditions, which was exclusively cited by 20% of winemakers from Ribera del Duero region. Poor management of a mechanical harvest could increase the herbaceous character due to an excess in the breakdown of vegetal material or an uncontrolled enzymatic oxidation (Nardin *et al.*, 2006). So higher concentrations of compounds derived from FAOs, such as hexanol and (Z)-3-hexenol and their corresponding esters, are found in wines made from machine-harvested grapes (Herbst-Johnstone *et al.*, 2013). Although it should be noted that other works do not found detriment in the quality of the mechanical harvests wine made (Arfelli *et al.*, 2010; Clary *et al.*, 1990; Noble *et al.*, 1975). Instead, an increase in certain varietal characters is reported in some cases, such as Sauvignon blanc wines (Allen *et al.*, 2011; Herbst-Johnstone *et al.*, 2013).

3.2. Improve quality of green wines

Between 40% and 60% of experts declared that the prevalence of “green wines” is a problem in their regions, with no significant prevalence in any of the areas studied ($\chi^2 = 4.22, p > 0.1$).

Table 2 shows the 18 terms generated when participants were asked to explain how would they proceed to get the best quality of a green wine. These terms can be grouped in four main categories or dimensions: 1) *technologic oenological practices* aimed at suppressing or masking, including a general term related to sensory “masking” and six more specific such as “coupage” (i.e. mixing with other wines to mask green character), “woody ageing”, “increase sweetness”, “sourness correction”, the addition of “chips” or a “product to increase volume”; 2) *other technologic oenological practices* such as “microoxygenation”, “fining”, use of “fine

lees” or “early devat” after alcoholic fermentation and 3) addition of oenological products such as mannoproteins, tannins, protein, yeast subproducts or arabic gum.

Table 2. Frequency of citation (expressed in %) of terms elicited in the four regions derived from the open-question: “if you have a green wine, what would you do to improve its quality?”, total frequency of terms (%) cited by all winemakers (77 participants), and significance (*p*) calculated from chi-square test (**p*<0.1; ***p*<0.05; ****p*<0.001). Significant terms marked in bold. Different letters for a given attribute mean significant differences based on pair-wise posthoc Marascuilo test.

category	term	DOCa Rioja (%)	DO Campo de Borja (%)	DO Somontano (%)	DO Ribera del Duero (%)	TOTAL (%)	<i>p</i>
Technical oenological practices- Suppress/ masking	coupage	37^{ab}	21^{ab}	5^b	42^a	26	*
	masking	5	0	25	21	13	*
	woody ageing	11	16	5	16	12	ns
	increase sweetness	0^b	5^b	35^a	5^b	12	***
	sourness correction	16	5	15	0	9	ns
	chips	0	0	10	11	5	ns
Technical oenological practices- Others	product to increase volume	11	5	0	0	4	ns
	microoxygenation	11^b	16^{ab}	45^a	32^{ab}	26	**
	fining	26	5	25	21	19	ns
	fine lees	5	0	15	11	8	ns
	early devat	5	5	0	0	3	ns
	Addition of enological products	mannoprotein addition	21	16	15	11	16
tannin addition		11	11	10	26	14	ns
protein addition		11	5	0	5	5	ns
yeast subproducts		5	0	0	5	3	ns
Experts’ cognitive cues	arabic gum	5	0	5	0	3	ns
	do not know	5	21	10	21	14	ns
	difficult	5	5	5	16	8	ns

Two terms related to technologic oenological practices are among the most cited: “coupage” for masking green character and “microoxygenation”, which are both cited by 26% of the 77 respondents (20 cites). As illustrated in **Figure 3** both techniques are region dependent, being “coupage” more cited by experts from DO Ribera del Duero (42%) and Rioja (37%) than from DO Somontano (5%). While “microoxygenation” was evoked more times by the Somontano experts (45%) than those from DOCa Rioja (11%), probably because the use of the barrel is much more widespread in this last region.

The “coupage”, “assemblage” or wine blending is one of the oldest winemaking techniques to equilibrate the composition of wines, to improve their quality and complexity, to increase their stability, and/or to standardize a product with particular characteristics, as well as to hide some lacks or defects of some wine (Escudero-Gilete *et al.*, 2010; Singleton & Ouch, 1962).

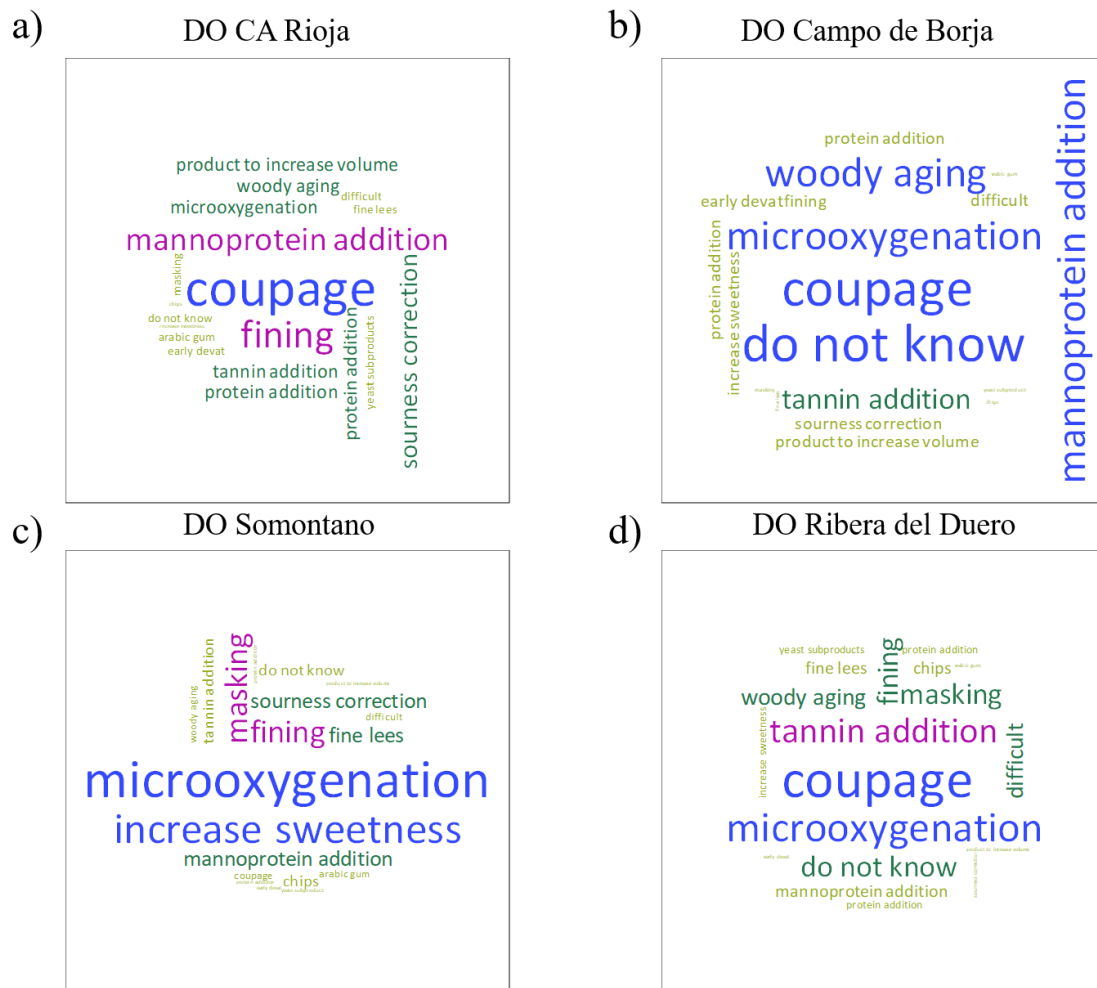


Figure 3. Word clouds representing the frequency of citation of categories (word size related to the frequency of citation) derived from the open-question: “if you have a green wine, what would you do to improve its quality?” within the four regions: **a)** DO Ca Rioja, **b)** DO Campo de Borja, **c)** DO Somontano, and **d)** DO Ribera del Duero.

Therefore, blending impacted compositional components and sensory profiles of the wines (Monagas *et al.*, 2007; Singleton & Ouch, 1962) where suppressing or amplifying effects took place (Hopfer *et al.*, 2012). In fact, this technique can reduce the herbaceous and vegetal aroma and astringency in wines (Dooley *et al.*, 2012; Hopfer *et al.*, 2012). This option is the most cited in three regions (Borja, Rioja and Ribera del Duero), as there is no effective tool to solve the problem, the most efficient option is to mask the defect.

However, Somontano experts prefer the micro-oxygenation, which is the process of introducing measured amounts of oxygen to wines with the aim to improve the aroma and texture of wines, such as lowering herbaceous odours and improvements mouthfeel characteristics (Cejudo-Bastante *et al.*, 2011; Moutounet *et al.*, 1995; Parish *et al.*, 2000). It has been proved that microoxygenation is effective in reducing mouthfeel sensations like astringency (Llaudy *et al.*, 2006). However, the aroma chemical changes associated with wine oxygenation that are responsible for these aromatic sensory observations have yet to be defined today. In fact, some

studies have measured aroma concentrations and/or undertaken sensory trials and have shown that certain compounds are not greatly affected by microoxygenation, even in herbaceous ones (Hernández-Orte *et al.*, 2009; Ortega-Heras *et al.*, 2008).

Another term that is zone dependent is "increase sweetness", it was cited by the experts from Somontano to, probably aimed to the white wine elaboration. The percentage of white grape production is higher in this region (31% in 2019) than other (>90% in 2019). Many studies have demonstrated similar suppression patterns of sweet over sour (Bonnans & Noble, 1993; Pangborn, 1961) and the balance between these two tastes is considered an important feature to differentiate the sensory quality of white wines (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000a). In addition, sweetness most likely affects the perceptions of astringency and bitterness (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010).

These results confirm our hypothesis. Some of the techniques used to solve the problem depend on the region. The experts have their own interpretation of the problem and solution of the "green wines", based on the experiences and idiosyncrasies of the area where they carry out their work, presumably because the "green character" that they are dealing with is not the same problem. However, some solutions do not show significant differences. It is surprising that the use of alternative products (wood chips and staves) has been little cited. This treatment with pieces of oak wood (Pérez-Coello *et al.*, 2000) increased aromatic compound such as vanillin, whiskey lactones and guaicol and the aromatic perceptions of vanilla, toasts and roasts (Arfelli *et al.*, 2011; Baiano *et al.*, 2016; Pérez-Coello *et al.*, 2000) and can mask the green character defect (Pickering *et al.*, 2006; Sáenz-Navajas *et al.*, 2018). Probably oenologist may not answer these alternative products because chips and staves is prohibited in some Spanish regions such as Rioja, so a higher percentage of responses is found in woody aging. However, there is a tendency to use oenological products and treatments such as mannoproteins (16%), fine lees (8%), tannins (14%) or fining treatments (19%). These treatments have been shown to be effective against "green character" by itself, such as mannoproteins, which can decrease bitterness and astringency (Dupin *et al.*, 2000; Escot *et al.*, 2008); grape seed extract strongly reduced the vegetal notes in the rosé wine and improved the overall taste of the red wine as a result of the reduction in both acidity and astringency (Gazzola *et al.*, 2017) or patatin, a protein extract from potatoes (*Solanum tuberosum*) which have the potential to replace gelatin, has been shown a valid fining agent for the treatment of red wines to decrease their astringency (Gambutti *et al.*, 2012) and "vegetal" aroma perception in rose wines (Gazzola *et al.*, 2017). However, fining oenological products usually include in their composition different components and techniques, in order to improve the quality of the final wine. For example, micro-oxygenation combined with the use of wood and yeast lees reduced astringency, increased balance, and enhanced vanilla perception (Arfelli *et al.*, 2011). In fact, several answers include many treatments and techniques: *"Micro-oxygenation, addition of tannin or wood. Intense*

clarification and depending on each wine, it could add mannoproteins, gum arabic or even sugar to mask the green character". Although some professionals see it impossible to improve a green wine: "After numerous tests, I have not found anything that eliminates the green character". In fact, some of them would not vinify grapes that can develop these kinds of perceptions.

3.3. Elaboration of green grapes

Table 3 shows the frequency of citation (expressed as %) of terms obtained after triangulation derived from the question: "if you had green grapes in your winery how would you elaborate them to get the best wine possible?" A total of 20 terms were cited by $\geq 10\%$ of participants at least in one region. These terms can be classified in different categories or dimensions including 1) *Technical oenological practices* focused on the extraction control, these include limit the "maceration" and "fermentation time", the number of "remontages", the intensity of the "pressing process" or other methodologies like "thermovinification". 2) *Technical oenological practices* based on suppressing or masking. As previous point, if the experts have to work with green grapes they will use "wood" and "coupages", other terms like "mixed" or "selected grapes" are including too. 3) *Other technologic oenological practices* such as "microoxygenation" and 4) addition of oenological products like "tannins", "finning agents" or "mannoproteins". These terms are graphically represented in **Figure 4** for each region.

There are no major differences in wine professionals' answers to this question. However, remarkable are the significant differences observed for the techniques "yeast selection", especially evoked in Ribera del Duero region (25%) and "tannin addition" was mainly cited by experts from Rioja (32%) and Somontano (16%), but barely used by participants from the other two regions (5%). "Yeasts selection" could be of vital importance when winemaking a green grape, yeast strains demonstrate varying ability to mask green aromatic characters in wine (Pickering *et al.*, 2008) or to increase the aromatic vegetable attributes (Molina *et al.*, 2009). In addition, yeast strains differed in their capacity to release polysaccharides, which can combine with anthocyanins and tannins in wine, in order to increase colour stability and decrease "astringency" (Escot *et al.*, 2008). Therefore, you can find specific yeasts for making wine from unripe or green grapes on the market.

In another vein, Álvarez *et al.* (2009) demonstrated that prefermentative addition of copigments (white grape tannins, in particular) increases anthocyanin copigmentation reactions, the anthocyanin concentration and the polymerization reactions between tannins and polysaccharides and produced wines with a more intense colour and less astringency.

Table 3. Frequency of citation (expressed in %) of terms elicited (by at least two participants) in the four regions derived from the open-question: “if you had green grapes in your winery how would you elaborate them to get the best wine possible?”, total frequency of terms (%) cited by all winemakers (77 participants), and significance (*p*) calculated from chi-square test (**p*<0.1; ***p*<0.05; ****p*<0.001). Different letters for a given attribute mean significant differences based on pair-wise posthoc Marascuilo test.

category	term	DOCa Rioja (%)	DO Campo de Borja (%)	DO Somontano (%)	DO Ribera del Duero (%)	TOTAL (%)	<i>p</i>
Technical oenological practices- extraction control	short maceration	21	42	47	40	38	ns
	cold fermentation	21	21	21	40	26	ns
	early devat	32	11	21	25	22	ns
	little extraction	26	26	26	10	22	ns
	few remontage	21	16	5	15	14	ns
	soft pressing	5	5	16	5	8	ns
	prefermentative maceration	16	0	16	0	8	ns
	rosé wine	5	11	5	0	5	ns
	remove seeds	11	0	0	0	3	ns
	thermovinification	0	0	11	0	3	ns
Technical oenological practices- suppress/masking	coupage	16	5	5	10	9	ns
	wood	11	0	11	15	9	ns
	grape selection	16	11	0	5	8	ns
	cowinemaking	0	0	16	5	5	ns
Technical oenological practices-others	microoxygenation	16	11	21	5	13	ns
	yeast selection	5^{ab}	0^b	0^b	25^a	8	***
	tannin addition	32^a	5^b	16^{ab}	5^b	14	*
Addition of enological products	fining agent	5	0	11	0	4	ns
	enzymes	5	0	0	10	4	ns
	mannoprotein addition	11	0	0	0	3	ns

In the other answers there are no significant differences between regions. The preventive techniques to control the extraction in vinification appear to be the most used to manage a harvest with green grape problems. It was widely cited *Technical oenological practices focus in the extraction control* in four regions, such as limiting the macerations length (38%) and decreasing the time of fermentations – early devat (22%), because by reducing the contact of the grape skin with the liquid (must or wine) and clarifying as soon as possible, it can limit the levels of green aromatic compounds such as pyrazines (de Boubée *et al.*, 2002; Sala *et al.*, 2005) or compounds derived from the oxidation of fatty acids (FAOs) (Ferreira *et al.*, 1995; Mozzon *et al.*, 2016) and astringent sensations (Llaudy *et al.*, 2008). A drastic option of these kind of techniques would be a rosé wine elaboration (5%), which the extraction is minimum because the time contact between grape skin and must is a few hours (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000a). Another technique to control extraction is to reduce the fermentation temperature

(26%), because it has been shown that the fermentation temperature can modulate the herbaceous character (Reynolds *et al.*, 2001).

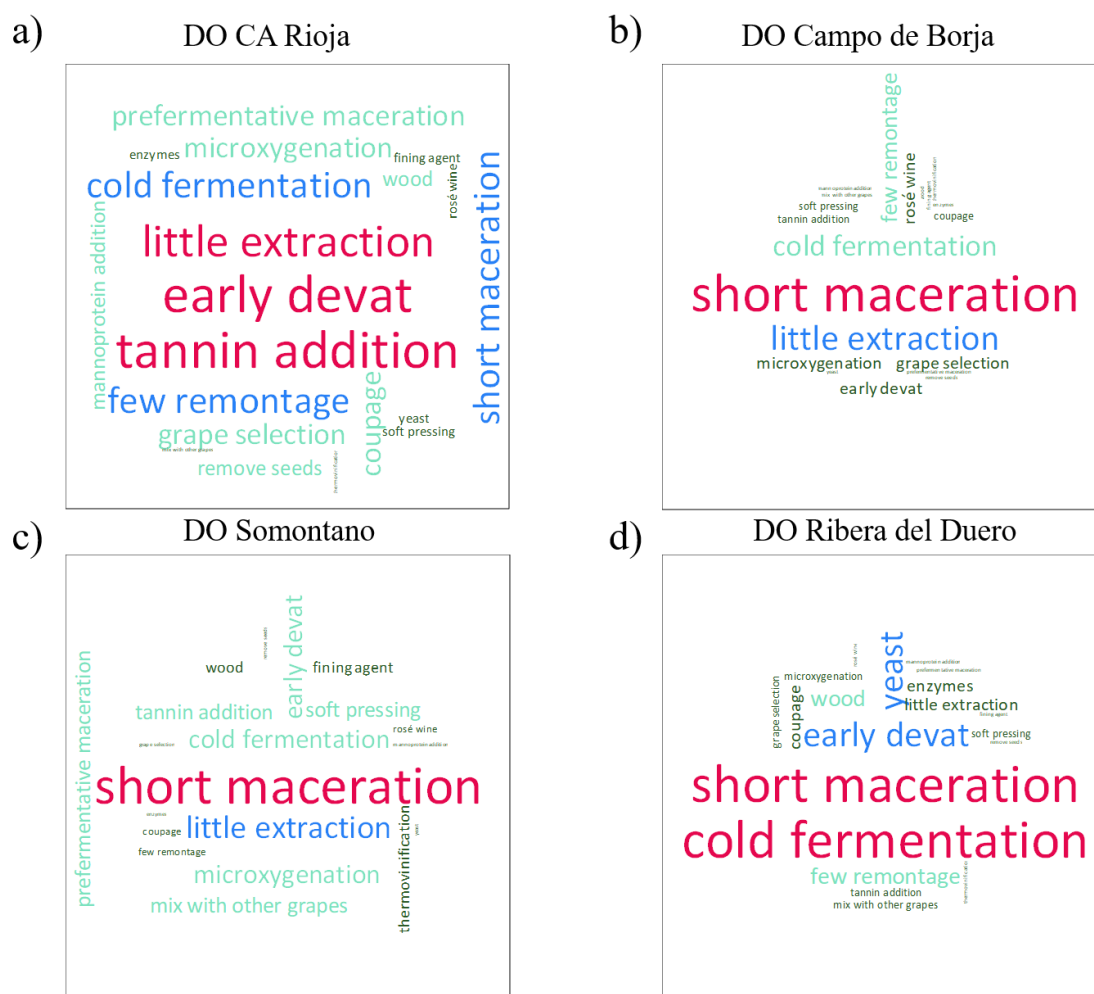


Figure 4. Word clouds representing the frequency of citation of categories (word size related to the frequency of citation) derived from the open-question: “if you had green grapes in your winery how would you elaborate them to get the best wine possible?” within the four regions: **a)** DO Ca Rioja, **b)** DO Campo de Borja, **c)** DO Somontano, **d)** DO Ribera del Duero.

In order to avoid the appearance of green character, aggressive mechanical treatments, such as *remontages* (14%) or intense pressing (8%), should be limited. The breakdown of vegetative and fruit tissues can increase the levels of aldehydes and alcohols derived from FAOs (Joslin & Ough, 1978; Noordermeer *et al.*, 2001); as well as high pressing intensities can increase pyrazine concentrations (de Boubée *et al.*, 2002) and produce aggressive and disagreeable tannic wines (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000a).

Although wine professionals also highlight other strategies, which already mentioned before such as “coupage” (9%), wood (9%) or “microoxygenation” (13%), interesting practices were appointed, for example: the “cowinemaking” (5%) is the co-maceration and the co-fermentation

of different grape varieties. This technique benefits from additional molecules provided by different varieties, which result in a more complex formation than in monovarietal wines (Gómez García-Carpintero *et al.*, 2010; Lorenzo *et al.*, 2008a, 2008b). In addition, it is being able to modulate the herbaceous character (Lorenzo *et al.*, 2008a) or astringency (Gómez Gallego *et al.*, 2012). Another cited technique “grape selection” (8%), including hand harvesting or fruit sorting, can decrease in the amount of matter other than grape (MOG) or unappropriated berries that can affect the sensory perceived quality and chemical composition of the resulting wines. For example, the unripe or green berries of Cabernet sauvignon addition can increase the acidity, and leafy and vegetal green aromas in wines (Ward *et al.*, 2015). Powdery mildew grapes can release compounds like (*Z*)-1,5-octadien-3-one (geranium-leaf odor) (Darriet *et al.*, 2002). Sometimes the origin of the “green” molecules could be exogenous, such as 1,8-cineole, a eucalyptus odour terpineol coming from leaves of *Eucalyptus* trees (Capone *et al.*, 2012) or from invasive plants like *Artemisia verlotiorum* (Poitou *et al.*, 2017); or 2-isopropyl-3-methoxypyrazine, which is the principal component of “ladybug taint” that are responsible for the characteristic sensory profiles of these wines with attributes like winespeanut, bell pepper, asparagus, and bitterness (Pickering *et al.*, 2005); or (*E*)-2-decenal (green and coriander aroma) realise by *Halyomorpha halys* (Mohekar *et al.*, 2017).

4. Conclusions

This work gains some insight into wine professionals idea regarding “green wines” origin and the methodologies used it to improve them, from the grape to the finished product.

The results of the present work show that expert’s opinion about “green character” coincide in some aspects, however an idiosyncrasy related to the region of participants is observed. Moreover, it is remarkable that the most of the answers are supported by the scientific bibliography.

Firstly, the experts are agreeing with the origin of green wine is mainly the “unripe grapes”, they mentioned another practices could affect to this character too, such as an “excessive production”. However, “overextraction”, was mainly cited by winemakers from DO Ribera del Duero and DO Somontano. DO Ribera del Duero experts only, mentioned “mechanised harvest” like possible origin of the problem.

In order to improve the quality of green wines, most of the experts advocate masking the problem, mixing the wine or with the micro-oxygenation technique, depending on the region. “Coupage” is the most cited term by experts from Rioja, while Somontano winemakers tend to support the use of “microoxygeantion”. Finally, Ribera del Duero experts expressed a preference for both alternatives.

When the problem is already detected in the grapes, the most common opinion of the experts is to try to minimize the extraction during the elaboration process. Another option could be “tannin addition”, specially by Rioja winemakers.

The results contribute to the understanding of the concept of green wine. The terminology of "green character" of wine is ill-defined concept, so the theoretical knowledge of the experts about this term, such as its origin or the methodologies to solve it, do not present clear consensus too.

Further investigations are needed to understand the multidimensional concept of "green character" in wine. Continue research aimed at knowing the possible origins or causes of this perception in order to reach effective solutions.

5. References

- Abric, J.-C. (2005). La recherche du noyau central et de la zone muette des représentations sociales. In *Méthodes d'étude des représentations sociales* (pp. 59–80). ERES. <https://doi.org/10.3917/eres.abric.2003.01.0059>
- Allen, T., Herbst-Johnstone, M., Girault, M., Butler, P., Logan, G., Jouanneau, S., Nicolau, L., & Kilmartin, P. A. (2011). Influence of Grape-Harvesting Steps on Varietal Thiol Aromas in Sauvignon blanc Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(19), 10641–10650. <https://doi.org/10.1021/jf2018676>
- Arfelli, G., Sartini, E., Bordini, F., Caprara, C., & Pezzi, F. (2010). Mechanical harvesting optimization and postharvest treatments to improve wine quality. *Journal International Des Sciences de La Vigne et Du Vin*, 44(2), 101–115.
- Arfelli, G., Sartini, E., Corzani, C., & Fabiani, A. (2011). Chips, lees, and micro-oxygenation: Influence on some flavors and sensory profile of a bottled red Sangiovese wine. *European Food Research and Technology*, 233(1), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1480-2>
- Baiano, A., Scrocco, C., Sepielli, G., & Nobile, M. A. Del. (2016). Wine Processing: A Critical Review of Physical, Chemical, and Sensory Implications of Innovative Vinification Procedures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(14), 2391–2407. <https://doi.org/10.1080/10408398.2013.842886>
- Bonnans, S., & Noble, A. C. (1993). Effect of sweetener type and of sweetener and acid levels on temporal perception of sweetness, sourness and fruitiness. *Chemical Senses*, 18(3), 273–283. <https://doi.org/10.1093/chemse/18.3.273>
- Capone, D. L., Jeffery, D. W., & Sefton, M. A. (2012). Vineyard and Fermentation Studies To Elucidate the Origin of 1,8-Cineole in Australian Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(9), 2281–2287. <https://doi.org/10.1021/jf204499h>
- Cejudo-Bastante, M. J., Pérez-Coello, M. S., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2011). Effect of wine micro-oxygenation treatment and storage period on colour-related phenolics, volatile composition and sensory characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), 866–874. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.10.015>
- Clary, C. D., Steinhauer, R. E., Frisinger, J. E., & Pepper, T. E. (1990). Evaluation of Machine-vs. Hand-Harvested Chardonnay. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41(2), 176–181.
- Darriet, P., Pons, M., Henry, R., Dumont, O., Findeling, V., Cartolaro, P., Calonnec, A., & Dubourdieu, D. (2002). Impact odorants contributing to the fungus type aroma from grape berries contaminated by powdery mildew (*Uncinula necator*); incidence of enzymatic activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3277–3282. <https://doi.org/10.1021/jf011527d>
- de Boubée, D. R., Cumsille, A. M., Pons, M., & Dubourdieu, D. (2002). Location of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine in Cabernet Sauvignon grape bunches and its extractability during vinification. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(1), 1–5.
- Dooley, L. M., Threlfall, R. T., Meullenet, J.-F., & Howard, L. R. (2012). Compositional and Sensory Impacts from Blending Red Wine Varietals. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(2), 241–250. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.11086>

- Dupin, I. V. S., McKinnon, B. M., Ryan, C., Boulay, M., Markides, A. J., Jones, G. P., Williams, P. J., & Waters, E. J. (2000). Saccharomyces cerevisiae mannoproteins that protect wine from protein haze: Their release during fermentation and lees contact and a proposal for their mechanism of action. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3098–3105. <https://doi.org/10.1021/jf0002443>
- Escot, S., Feuillat, M., Dulau, L., & Charpentier, C. (2008). Release of polysaccharides by yeast and the influence of polysaccharides on colour stability and wine astringency. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 7, 153–159. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2001.tb00204.x>
- Escudero-Gilete, M. L., González-Miret, M. L., & Heredia, F. J. (2010). Implications of blending wines on the relationships between the colour and the anthocyanic composition. *Food Research International*, 43(3), 745–752. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.11.004>
- Ferreira, B., Hory, C., Bard, M. H., Taisant, C., Olsson, A., & Lefur, Y. (1995). Effects of skin contact and settling on the level of the C18/2, C18/3 fatty-acids and C6 compounds in burgundy chardonnay musts and wines. *Food Quality and Preference*, 6(1), 35–41. [https://doi.org/10.1016/0950-3293\(94\)P4210-W](https://doi.org/10.1016/0950-3293(94)P4210-W)
- Gambutì, A., Rinaldi, A., & Moio, L. (2012). Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine. *European Food Research and Technology*, 235(4), 753–765. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1791-y>
- Gatti, M., Garavani, A., Vercesi, A., & Poni, S. (2017). Ground-truthing of remotely sensed within-field variability in a cv. Barbera plot for improving vineyard management. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(3), 399–408. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12286>
- Gawel, R., Oberholster, A., & Francis, I. L. (2000). A 'Mouth-feel Wheel': terminology for communicating the mouth-feel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(3), 203–207. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00180.x>
- Gazzola, D., Vincenzi, S., Marangon, M., Pasini, G., & Curioni, A. (2017). Grape seed extract: the first protein-based fining agent endogenous to grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(2), 215–225. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12268>
- Gómez Gallego, M. A., Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., González Viñas, M. A., & Hermosín-Gutiérrez, I. (2012). Effect of co-winemaking in phenolic composition, color and antioxidant capacity of young red wines from La Mancha region. *European Food Research and Technology*, 235(1), 155–167. <https://doi.org/10.1007/s00217-012-1745-4>
- Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., & González Viñas, M. A. (2010). Influence of co-winemaking technique in sensory characteristics of new Spanish red wines. *Food Quality and Preference*, 21(7, SI), 705–710. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.05.013>
- Herbst-Johnstone, M., Araujo, L. D., Allen, T. A., Logan, G., Nicolau, L., & Kilmartin, P. A. (2013). Effects of Mechanical Harvesting on 'Sauvignon Blanc' Aroma. In S. Poni (Ed.), *I International Workshop on Vineyard Mechanization and Grape and Wine Quality* (Vol. 978). International Society for Horticultural Science.
- Hernández-Orte, P., Concejero, B., Astraín, J., Lacau, B., Cacho, J., & Ferreira, V. (2015). Influence of viticulture practices on grape aroma precursors and their relation with wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(4), 688–701. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6748>
- Hernández-Orte, P., Lapena, A. C., Escudero, A., Astraín, J., Barón, C., Pardo, I., Polo, L., Ferrer, S., Cacho, J., & Ferreira, V. (2009). Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in wood. *LWT-Food Science and Technology*, 42(1), 391–401. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.05.020>
- Hopfer, H., Ebeler, S. E., & Heymann, H. (2012). How Blending Affects the Sensory and Chemical Properties of Red Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(3), 313–324. <https://doi.org/10.5344/ajev.2012.11112>
- Howell, G. S. (2001). Sustainable grape productivity and the growth-yield relationship: A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(3), 165–174.
- Johnson, L. F., Bosch, D. F., Williams, D. C., & Lobitz, B. M. (2001). Remote sensing of vineyard management zones: Implications for wine quality. *Applied Engineering in Agriculture*, 17(4), 557–560.
- Jose-Coutinho, A., Avila, P., & Ricardo-Da-Silva, J. M. (2015). Sensory Profile of Portuguese White Wines Using Long-Term Memory: A Novel Nationwide Approach. *Journal of Sensory Studies*, 30(5), 381–394. <https://doi.org/10.1111/joss.12165>
- Joslin, W. S., & Ough, C. S. (1978). Cause and fate of certain c6 compounds formed enzymatically in macerated grape leaves during harvest and wine fermentation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29(1), 11–17.
- Lacey, M. J., Allen, M. S., Harris, R. L. N., & Brown, W. V. (1991). Methoxypyrazines in Sauvignon Blanc Grapes and Wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2), 103–108.

- Llaudy, M. del C., Canals, R., González-Manzano, S., Canals, J. M., Santos-Buelga, C., & Zamora, F. (2006). Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4246–4252. <https://doi.org/10.1021/jf052842t>
- Llaudy, M. del C., Canals, R., Canals, J.M., & Zamora, F. (2008). Influence of ripening stage and maceration length on the contribution of grape skins, seeds and stems to phenolic composition and astringency in wine-simulated macerations. *European Food Research and Technology*, 226(3), 337–344. <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0542-3>
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2008a). Complementary effect of Cabernet Sauvignon on Monastrell wines. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(1), 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.06.003>
- Lorenzo, C., Pardo, F., Zalacain, A., Alonso, G. L., & Salinas, M. R. (2008b). Differentiation of co-winemaking wines by their aroma composition. *European Food Research and Technology*, 227(3), 777–787. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0786-6>
- MacNeil, K. (2015). *The wine Bible*. Workman Publishing.
- Mendez-Costabel, M. P., Wilkinson, K. L., Bastian, S. E. P., McCarthy, M., Ford, C. M., & Dokoozlian, N. (2013). Seasonal and Regional Variation of Green Aroma Compounds in Commercial Vineyards of *Vitis vinifera* L. Merlot in California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 64(4), 430–436. <https://doi.org/10.5344/ajev.2013.12109>
- Mohekar, P., Osborne, J., Wiman, N. G., Walton, V., & Tomasino, E. (2017). Influence of Winemaking Processing Steps on the Amounts of (E)-2-Decenal and Tridecane as Off-Odorants Caused by Brown Marmorated Stink Bug (*Halyomorpha halys*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(4), 872–878. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04268>
- Molina, A. M., Guadalupe, V., Varela, C., Swiegers, J. H., Pretorius, I. S., & Agosin, E. (2009). Differential synthesis of fermentative aroma compounds of two related commercial wine yeast strains. *Food Chemistry*, 117(2), 189–195. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.03.116>
- Monagas, M., Martín-Álvarez, P. J., Gómez-Cordovés, C., & Bartolomé, B. (2007). Effect of the modifier (Graciano vs. Cabernet sauvignon) on blends of Tempranillo wine during ageing in the bottle. II. Colour and overall appreciation. *LWT - Food Science and Technology*, 40(1), 107–115. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2005.08.009>
- Moutounet, M., Ducournau, P., Chassin, M., & Lemaire, T. (1995). Apparatus for supplying oxygen to wines and its technological significance. *Fifth International Symposium of Oenology*, 411–414.
- Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E., & Thorngate, J. H. (2016). The herbaceous character of wines. *Italian Journal of Food Science*, 28(2), 190–207. <https://doi.org/https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v304>
- Nardin, G., Gaudio, A., Antonel, G., & Simeoni, P. (2006). *Impiantistica Enologica*. Hoepli.
- Noble, A. C., Ough, C. S., & Kasimatis, A. N. (1975). Effect of leaf content and mechanical harvest on wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 26(3), 158–163.
- Noordermeer, M. A., Veldink, G. A., & Vliegthart, J. F. G. (2001). Fatty acid hydroperoxide lyase: A plant cytochrome P450 enzyme involved in wound healing and pest resistance. *Chembiochem*, 2(7–8), 494–504. [https://doi.org/10.1002/1439-7633\(20010803\)2:7/8<494::AID-CBIC494>3.3.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/1439-7633(20010803)2:7/8<494::AID-CBIC494>3.3.CO;2-T)
- Ortega-Heras, M., Dolores Rivero-Pérez, M., Pérez-Magarino, S., González-Huerta, C., & Luisa González-Sanjose, M. (2008). Changes in the volatile composition of red wines during aging in oak barrels due to microoxygenation treatment applied before malolactic fermentation. *European Food Research and Technology*, 226(6), 1485–1493. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0680-2>
- Pangborn, R. M. (1961). Taste interrelationships. II. Suprathreshold solutions of sucrose and citric acid. *Journal of Food Science*, 26(6), 648-. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1961.tb00811.x>
- Parish, M., Wollan, D., & Paul, R. (2000). Micro-oxygenation: A review. *Annual Technical Issue. The Australian Grapegrower & Winemaker*, 438a, 47–50.
- Parr, W. V., Green, J. A., White, K. G., & Sherlock, R. R. (2007). The distinctive flavour of New Zealand Sauvignon blanc: Sensory characterisation by wine professionals. *Food Quality and Preference*, 18(6), 849–861. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2007.02.001>
- Pérez-Coello, M. S., González-Viñas, M. A., García-Romero, E., Cabezudo, M. D., & Sanz, J. (2000). Chemical and sensory changes in white wines fermented in the presence of oak chips. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(1), 23–32. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00337.x>
- Pickering, G. J., Lin, Y., Reynolds, A., Soleas, G., Riesen, R., & Brindle, I. (2005). The influence of *Harmonia axyridis* on wine composition and aging. *Journal of Food Science*, 70(2), S128–S135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07117.x>

- Pickering, G. J., Spink, M., Kotseridis, Y., Inglis, D., Brindle, I. D., Sears, M., & Beh, A.-L. (2008). Yeast strain affects 3-isopropyl-2-methoxypyrazine concentration and sensory profile in Cabernet Sauvignon wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 14(3), 230–237. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00026.x>
- Pickering, G., Lin, J., Reynolds, A., Soleas, G., & Riesen, R. (2006). The evaluation of remedial treatments for wine affected by *Harmonia axyridis*. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(1), 77–86. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01039.x>
- Poitou, X., Thibon, C., & Darriet, P. (2017). 1,8-Cineole in French Red Wines: Evidence for a Contribution Related to Its Various Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(2), 383–393. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03042>
- Reynolds, A., Cliff, M., Girard, B., & Kopp, T. G. (2001). Influence of fermentation temperature on composition and sensory properties of Semillon and Shiraz wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 52(3), 235–240.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2000a). *Handbook of Enology, volumen 1: The Microbiology of Wine and Vinifications* (2th ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., & Dubourdieu, D. (2000b). *Handbook of Enology Volume 2: The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments* (2th ed., Vol. 2). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/0470010398>
- Robinson, F., & Harding, J. (2015). *The Oxford Companion to Wine* (4th ed.). Oxford University Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1093/acref/9780198705383.001.0001>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D., & Ferreira, V. (2010). An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry*, 121(4), 1139–1149. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.061>
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias-Pérez, I., Ferrero-del-Teso, S., Escudero, A., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Valentin, D. (2021). Access to wine experts' long-term memory to decipher an ill-defined sensory concept: the case of green red wine. *OENO One*, 55(1), 69–79. <https://doi.org/https://doi.org/10.20870/oeno-one.2021.55.1.4475>
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias, I., Ferrero-del-Teso, S., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Chemo-sensory approach for the identification of chemical compounds driving green character in red wines. *Food Research International*, 109, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.037>
- Sala, C., Busto, O., Guasch, J., & Zamora, F. (2005). Contents of 3-alkyl-2-methoxypyrazines in musts and wines from *Vitis vinifera* variety Cabernet Sauvignon: Influence of irrigation and plantation density. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(7), 1131–1136. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2068>
- Scheiner, J. J., Vanden Heuvel, J. E., Pan, B., & Sacks, G. L. (2012). Modeling Impacts of Viticultural and Environmental Factors on 3-Isobutyl-2-Methoxypyrazine in Cabernet franc Grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 63(1), 94–105. <https://doi.org/10.5344/ajev.2011.11002>
- Singleton, V. L., & Ouch, C. S. (1962). Complexity of Flavor and Blending of Wines. *Journal of Food Science*, 27(2), 189–196. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1962.tb00080.x>
- Ward, S. C., Petrie, P. R., Johnson, T. E., Boss, P. K., & Bastian, S. E. P. (2015). Unripe Berries and Petioles in *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon Fermentations Affect Sensory and Chemical Profiles. *American Journal of Enology and Viticulture*, 66(4), 435–443. <https://doi.org/10.5344/ajev.2015.15016>

Sección II. Estudios químico-sensoriales para caracterizar el verdor en vinos tintos



*Verde que te quiero verde
verde viento verdes ramas
el barco sobre la mar
el caballo en la montaña.
Verde, que yo te quiero verde*

Romance sonámbulo - Federico García Lorca

SECCIÓN II. Estudios químico-sensoriales para caracterizar el verdor en vinos tintos

Introducción

Comprender la formación del aroma de los alimentos es de suma importancia para la industria alimentaria en general y especialmente para la industria de bebidas complejas como la cerveza o el vino. El aumento del conocimiento sobre los compuestos responsables del aroma permite tener herramientas objetivas para gestionar el proceso de producción y optimizar así la calidad del producto final.

Tradicionalmente, los químicos del aroma utilizan principalmente dos estrategias para su estudio. Una implica la cuantificación química completa de las moléculas sensoriales activas conocidas y, en paralelo, la descripción sensorial del producto. Ambos conjuntos de datos se someten a análisis estadísticos con el objetivo de construir modelos capaces de predecir las propiedades sensoriales percibidas a partir de la composición química (Regueiro y col., 2017). Los principales inconvenientes de esta práctica son que se deben cuantificar una extensa lista de compuestos mediante una amplia gama de métodos analíticos y lo más importante es que moléculas desconocidas que pueden ser clave en el aroma, posiblemente no se estén considerando.

Para superar estos inconvenientes, los químicos del aroma utilizan metodologías sensoriales dirigidas solo a compuestos que producen propiedades sensoriales en el producto objeto de estudio y se enfocan en la identificación y cuantificación de moléculas en fracciones sensorialmente activas.

Para estos compuestos volátiles, se ha demostrado que la cromatografía de gases acoplada a un portal olfativo (GC-O), que implica el uso de GC para la separación y la nariz de jueces entrenados como detector, es una herramienta poderosa para identificar compuestos volátiles activos sensorialmente y es ampliamente utilizado en la química del aroma (Chin y Marriott, 2015; Zellner y col., 2008).

Una vez que las moléculas sensorialmente activas involucradas en la formación del aroma son identificadas y cuantificadas mediante GC-MS, se llevan a cabo experimentos de reconstitución para evaluar el impacto sensorial real de los compuestos en la matriz objeto de estudio. Esto ayuda a confirmar las complejas relaciones existentes entre la composición química de los alimentos y su percepción (Regueiro y col., 2017).

En el presente trabajo se aplicarán estas herramientas para identificar los compuestos volátiles responsables del "carácter verde" (los experimentos de reconstitución se mostrarán en la Sección IV). El objetivo de la presente sección será incrementar el conocimiento químico-sensorial del problema de verdor en vinos tintos, mediante metodologías sensoriales que describan las

propiedades organolépticas de los vinos con notas verdes, así como la caracterización química de aquellas fracciones volátiles que estén modulando este atributo.

En la Sección I de la presente tesis, mediante una estrategia basada en la memoria a largo plazo de enólogos españoles, se demostró la gran complejidad de este concepto enológico mal definido, no solo por la fuerte carga de idiosincrasia que entraña sino también por su naturaleza multidimensional. Dada la falta de criterios objetivos para solventar este problema, un aumento en el conocimiento químico y sensorial de este carácter permitirá manejar las uvas y/o vinos con la máxima eficiencia durante los procesos de vinificación.

Capítulo 3. Estudios sensoriales, olfatométricos y químicos de vinos tintos con carácter verde

1. Objetivos

Los objetivos principales de este capítulo son: 1) comprender el significado del carácter verde en vinos tintos y establecer relaciones con descriptores sensoriales más simples, realizando análisis sensorial de una selección de muestras 2) seleccionar vinos con diferentes niveles de verdor y 3) identificar volátiles involucrados en el carácter verde de vinos tintos.

2. Material y métodos

2.1. Reactivos, disolventes y estándares

Fisher Scientific (Loughborough, Reino Unido) suministró el diclorometano, etanol y metanol para análisis de cromatografía de gases. Merck (Darmstadt, Alemania) suministró metanol y acetonitrilo para HPLC y resinas LiChrolut EN. Se obtuvo agua Mili-Q de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, EE. UU.). La extracción semiautomática en fase sólida se llevó a cabo con una estación Vac Elut 20 de Varian (Walnut Creek, EE. UU.). Los estándares y reactivos para la determinación de compuestos aromáticos y aminoácidos fueron proporcionados por Merck (Darmstadt, Alemania), ChemService (West Chester, PA, EE. UU.), PolyScience (Niles, IL), Lancaster (Eastgate, Reino Unido), Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemania), Panreac (Barcelona, España), Firmenich (Ginebra, Suiza), AromaLab (Planegg, Alemania), Waters (Milford, MA, EE.UU.) y Oxford Chemicals (Hartlepool, Reino Unido).

2.2. Cribado de vinos con diferentes niveles de carácter verde

2.2.1. Muestras, participantes y procedimiento

Se pidió a un panel de expertos que catase y categorizase un total de 54 vinos tintos. El criterio de selección fue tener una amplia gama de muestras con diferentes niveles de carácter verde. Los vinos se elaboraron principalmente en España (46), pero también hubo vinos de Italia (3), Francia (3), Portugal (1) y Chile (1). El contenido alcohólico varió de 11,9 a 15,2% (v/v), cosecha de 2009 a 2015 y su tiempo en barricas de roble de 0 a 24 meses. La lista detallada de vinos se muestra en la **Tabla 1 y 2**. Cabe destacar que las muestras 4, 18, 44, 45, 48, 51 y 53 no son vinos comerciales, sino vinos de prensa facilitados por las bodegas.

El panel de expertos estaba compuesto por quince enólogos de la región de Somontano (8 mujeres y 7 hombres, de 33 a 56 años, mediana = 45).

Tabla 1. Lista de vinos evaluados por el panel de expertos de la región de Somontano en la primera sesión dedicada a la selección de vinos con diferente nivel de verdor (ns *: no especificado)

código	añada	país	region	variedad	meses en bodega de roble
1	2011	España	DOCa Rioja	Tempranillo, Graciano, Mazuelo	12
2	2013	España	DO Somontano	Merlot, Syrah	4
3	2014	España	DO Campo de Borja	Garnacha, Syrah, Tempranillo	0
4	2014	España	DO Somontano	C. sauvignon	0
5	2011	España	DO Cariñena	Garnacha	4
6	2011	España	DO Somontano	C. sauvignon, Tempranillo, Merlot	12
7	2014	España	DO Valencia	Garnacha, Monastrel, Syrah	4
8	2013	France	Pays d'Oc	Garnacha	0
9	2013	Italia	IGT-Terre Siciliane	Nero d'Avola	0
10	2011	Portugal	DOC Alentejo	Trincadeira, Touriga nacional, Alicante bouschet	6
11	2013	Italia	IGP Salento	Primitivo	0
12	2013	España	DOCa Rioja	Garnacha	9
13	2014	España	DO Somontano	Moristel, C. sauvignon	0
14	2013	España	DO Somontano	Moristel, Garnacha, Syrah	4
15	2014	España	DO Somontano	Merlot	0
16	2012	España	DOCa Rioja	Tempranillo	14
17	2014	España	DO Navarra	C. sauvignon	3
18	2014	España	DO Somontano	Syrah	0
19	2014	España	DOCa Rioja	Garnacha	0
20	2014	España	DO Somontano	Garnacha	0
21	2012	Francia	Pays d'Oc	Garnacha	0
22	2011	España	DO Somontano	Tempranillo, C. sauvignon, Moristel	12
23	2009	España	DO Somontano	Tempranillo, C. sauvignon, Moristel	14
24	2014	España	DOCa Rioja	Syrah	3
25	ns*	España	España	ns*	0
26	2014	España	DOCa Rioja	Tempranillo	5
27	2013	Chile	Colchagua	C. sauvignon	12
28	2012	España	DOCa Rioja	Tempranillo, Graciano	14
29	2013	España	DO Valencia	Syrah, Marselan, Alicante bouschet	12
30	2013	España	DO Ribera del Duero	Tempranillo	6
31	2011	Francia	Coteaux du Languedoc AOP	Syrah, Garnacha, Mourvèdre, Carignan	12
32	2013	España	DOCa Rioja	Garnacha, Graciano	9
33	2011	España	DOP Jumilla	Monastrel, Tempranillo, Merlot, Syrah	24
34	2010	España	DO Ribera del Duero	Tempranillo	20
35	2013	Italia	DOC Primitivo di Mandura	Primitivo	0
36	2013	España	DO Somontano	Garnacha, C. sauvignon, Syrah	4
37	2013	España	DO Mancha	Bobal	6
38	2014	España	DO Mancha	Bobal	0

Se llevaron a cabo dos tareas diferenciadas para el cribado de vinos con carácter verde. La primera tarea fue principalmente exploratoria. Su objetivo era comprender globalmente el término "carácter verde" y vincularlo con los términos sensoriales (de aroma y/o en boca) que suelen emplear los expertos en vinos. La segunda tarea se centró en la ampliación de la terminología del aroma relacionado con el carácter verde.

En la primera tarea, realizada en el año 2015, se presentaron treinta y ocho vinos tintos (**Tabla 1**) simultáneamente. Se pidió a los expertos que probaran todas las muestras de izquierda a derecha y que los calificaran en función de los términos multidimensionales: carácter verde y preferencia. Luego, se les presentaron los mismos vinos, pero en diferente orden y con códigos distintos para llevar a cabo un análisis sensorial más exhaustivo.

Tabla 2. Lista de vinos evaluados por el panel de expertos de la región de Somontano en la segunda sesión, dedicada a seleccionar vinos con diferente nivel de carácter verde. Siendo las muestras 40 y 49 dos réplicas del mismo vino.

código	añada	país	region	variedad	meses en barrica de roble
18	2014	España	DO Somontano	Shyrah	0
39	2015	España	DO Somontano	Moristel, Garnacha, Syrah	0
40	2015	España	DO Ribera del Duero	Tempranillo	*
41	2015	España	DO Somontano	Cabernet sauvignon	0
42	2015	Portugal	DOC Alentejo	Carmenere	*
43	2015	España	DOCa Rioja	Tempranillo	0
44	2014	España	DO Somontano	Moristel, Cabernet sauvignon	0
45	2014	España	DO Somontano	Merlot	0
46	2015	España	DO Valdeorras	Mencía	0
47	2014	España	DO Ribera del Duero	Tempranillo	*
48	2014	España	DO Somontano	Cabernet sauvignon	0
49	2015	España	DO Ribera del Duero	Tempranillo	*
50	2015	España	DOCa Rioja	Garnacha	0
51	2014	España	DO Somontano	Cabernet sauvignon, Garnacha	0
52	2015	España	DO Somontano	Moristel, Garnacha, Syrah	0
53	2014	España	DO Somontano	Tempranillo, Cabernet, Moristel	0

*Se han usado chips de madera durante y/o después de la fermentación alcohólica.

Tenían que calificar la intensidad de 12 atributos: seis aromáticos (intensidad del aroma, oxidación, vegetal, fruta fresca, fruta madura y madera) y seis en boca (dulce, agrio, astringente, graso, tanino verde y tanino seco). La intensidad se calificó en una escala de cinco puntos, desde 1 (ausente) a 5 (muy intenso) (ver consignas en la **Figura A2.1** del Anexo 2). Eran libres de comparar los vinos antes de evaluarlos si querían. La selección de la escala de intensidad y los 12 atributos se realizó en una sesión previa e independiente con tres expertos de la región. Estos tres participantes fueron diferentes de los que llevaron a cabo la descripción. En esta sesión, primero se les pidió que citaran libremente términos relacionados con el carácter verde. Luego, a todos los participantes se les presentó una lista global de todos los términos agrupados y se seleccionó una lista final por consenso con los 12 atributos. La escala y los términos eran los empleados habitualmente por los expertos de la región y, por lo tanto, les resultaban más familiares.

La segunda tarea se llevó a cabo en el año 2016 y tenía como objetivo ampliar la terminología del aroma relacionada con el carácter verde. Se trabajó con muestras de vino con un aparente aroma verde. Se presentaron simultáneamente 16 vinos tintos (**Tabla 2**) a los enólogos y se les pidió que oliaran cada muestra de izquierda a derecha y que calificaran el carácter verde de forma global y de forma orthonasal. Luego, se les presentó una lista de 14 términos de aroma (fruta blanca/amarilla, cítricos, fruta tropical, fruta roja, fruta negra, fruta seca, vegetales frescos, vegetales cocidos, hierbas, reducción, madera, picante, tostado, animal) compilados de otras listas empleadas en la descripción de vinos tintos (Noble y col., 1987; Sáenz-Navajas y col., 2011). Se pidió que evaluaran la intensidad de los términos encontrados en cada muestra de vino con una escala de siete puntos (1 = no intenso; 7 = muy intenso) de acuerdo con la

metodología Rate-all-that-Apply (RATA) (Ares y col., 2014; Reinbach y col., 2014). Las instrucciones empleadas en esta segunda tarea se muestran en la **Figura A2.2** del Anexo 2. Aquellos atributos no empleados en las muestras se les asignó un valor de cero al recopilar datos. Para evitar sesgos debido al orden de presentación, los términos en la lista aparecieron en un orden diferente y aleatorio para cada catador.

En ambas tareas (primera y segunda tarea de selección), los vinos se presentaron a temperatura ambiente, en copas transparentes ISO identificados por códigos aleatorios de tres dígitos. El volumen vertido por muestra fue de 30 mL. Las muestras se presentaron en orden aleatorio y diferentes para cada participante. Se puso a disposición de los catadores agua mineral y picos de pan para enjuagar el paladar. También se pidió a los participantes que no se tragaran el vino, sino que se expectorasen en escupideras.

2.2.2. Análisis de los datos

Mediante las puntuaciones de preferencia, carácter verde, aroma y términos en boca se llevaron a cabo ANOVAs de dos factores con los evaluadores como factor aleatorio y el vino como factor fijo. Para conocer los efectos significativos, se realizó la prueba de comparación por pares de Fisher (95%).

Se realizaron dos análisis de componentes principales (PCA) con datos derivados de las tareas de cribado 1º (38 vinos) y 2º (16 vinos) y las puntuaciones medias (de los 15 enólogos) de los términos significativos en boca y/o aroma (variables activas) y carácter verde (ortonasal y global) y preferencia (variables suplementarias). Todos los análisis se realizaron con XLSTAT (versión 2015).

2.3. Estudios olfatométricos

Se llevó a cabo el estudio olfatométrico de los vinos 18, 39-42 (puntuaciones altas para el carácter verde) y el vino 1 (puntuaciones bajas para el carácter verde) así como de algunas fracciones de vinos (Apartado 2.4). Para obtener el perfil olfatométrico completo se emplearon dos técnicas de forma complementaria: espacio de cabeza-cromatografía de gases-olfatometría (HS-GC-O) y olfatometría acoplada a un sistema multidimensional GCO-GCO-MS.

2.3.1. Extracción

2.3.1.1. Sistema de purga y trampa (HS-SPE)

Se introduce la muestra de vino (80 mL) en un recipiente especial, que permite pasar una corriente de nitrógeno gas (500 mL min^{-1}) por la superficie del líquido de manera que se arrastran los compuestos volátiles del vino hacia un cartucho de resinas Lichrolut EN (400 mg), donde quedan retenidos. Luego, son eluidos con 3,2 mL de diclorometano con 5% de metanol.

Finalmente, el extracto se concentra bajo una corriente de N₂ hasta un volumen final de 200 µL (Escudero y col., 2014).

2.3.1.2. Microextracción en fase sólida (HS-SPME)

La metodología de purga y trampa anterior no retiene compuestos con menos de cuatro átomos de carbono. Por lo tanto, se utilizó un método específico basado en microextracción en fase sólida (SPME) para el análisis de estos compuestos. Para evitar la oxidación, todas las muestras se abrieron en una cámara anóxica, con atmósfera de argón. El análisis olfatométrico de cada vino se realizó en el mismo día en el que se abrió, con una duración de 8 minutos. El acondicionamiento de la fibra y la extracción de la muestra se llevaron a cabo utilizando un sistema CombiPAL (CTC Analytics, Zwingen, Suiza). Las muestras, 10 mL de vino en un vial de 20 mL, se equilibraron durante 10 minutos a 35 °C. El espacio de cabeza se extrajo, a la misma temperatura, con una fibra Carboxen/PDMS (Supelco, Bellefonte, PA, EEUU) durante 5 minutos. La fibra se desorbió a 300 °C en el puerto de inyección del cromatógrafo, provisto de un *liner* de SPME, durante 3 minutos en modo *splitless* (3 minutos de tiempo de *splitless*). Antes de cada muestra, la fibra se acondicionó durante 10 minutos a 300 °C.

2.3.2. Procedimientos olfatométricos

2.3.2.1. Cromatografía de gases-olfatometría (GC-O)

El análisis olfatométrico se realizó en un GC serie Thermo 8000 (ThermoQuest, Milán, Italia) equipado con un detector de ionización de llama (FID) y un puerto de detección ODO-I de SGE (Ringwood, Australia), conectado por un divisor de flujo a la salida de columna. La columna capilar utilizada fue una DB-WAX (30 m × 0,32 mm i.d. × 0,5 µm de espesor de fase) suministrada por J&W, y una precolumna desactivada (3 m × 0,32 mm i.d.) de Supelco (Bellefonte, PA). El gas portador fue hidrógeno a 3,5 mL min⁻¹. El volumen de la inyección fue de 1 microlitro en modo *splitless* (tiempo de *splitless* de 1 minuto). La temperatura del inyector y el detector fue de 250°C. El programa de temperatura del horno fue de 40 °C durante 5 min, luego aumentó 4 °C min⁻¹ hasta 100 °C y finalmente aumentó 6 °C min⁻¹ a 220 °C, manteniendo esta temperatura durante 10 min.

El análisis olfatométrico en SPME se realizó en el mismo equipo, pero el programa del horno fue de 40 °C durante 7 min, luego aumentó 15 °C min⁻¹ hasta 180 °C, manteniendo esta temperatura durante 5 min.

Los análisis olfatométricos se realizaron por un panel compuesto por seis jueces entrenados (cuatro mujeres y dos hombres con edades comprendidas entre 23 y 41 años) pertenecientes al personal del laboratorio. Cada participante evaluó el extracto de la muestra una vez en dos sesiones de 25 minutos para evitar la fatiga (una sesión por día). Se les pidió anotar el tiempo, la descripción y la intensidad del olor de cada sensación aromática. Se empleó una escala de

intensidad de 0–3 (0 = sin olor, 1 = olor débil, baja intensidad, 2 = percepción clara del olor, intensidad fuerte, 3 = intensidad de olor extremadamente fuerte; se permitieron los valores intermedios de 0,5; 1,5 y 2,5).

La identificación de los compuestos odorantes se llevó a cabo mediante una comparación de sus descriptores e índices de retención cromatográfica en dos columnas, la citada DB-WAX y una DB-5 en un cromatógrafo GC8000 series (Fisons instruments) equipado de un detector de ionización de llama (FID) y un puerto de sniffing (ODO-1 de SGE) conectado mediante un divisor de flujo a la salida de la columna. La columna fue una columna apolar DB-5 (polimetilsiloxano – 5% difenilo) de J&W de 30 m de longitud x 0,32 mm de diámetro interno y 0,5 µm de espesor de fase, precedida por una precolumna desactivada de sílica fundida, 3m x 0,32 mm. El gas portador fue H₂ a un flujo de 3 mL min⁻¹. Se inyectó 1 µL del extracto concentrado en modo splitless, con un tiempo de splitless de 1 minuto. El inyector y el detector FID se mantuvieron a 250 °C durante todo el programa. Para el horno, el programa de temperaturas fue el siguiente, los primeros 3 minutos se mantuvo a 40 °C, con una rampa de 4°C min⁻¹ hasta 100 °C, hasta 220 °C con una rampa de 6 °C min⁻¹ y posteriormente hasta 250 °C con una rampa de 15 °C min⁻¹. El cromatógrafo estaba provisto de una resistencia que calentaba gradualmente el puerto de olfatometría para evitar la condensación de los volátiles. El software del equipo era Chrom-Card de Thermo Electron, versión 2.3.

2.3.2.2. Cromatografía de gases multidimensional – Olfatometría – Espectrometría de masas (GCO–GCO–MS)

Cuando no se pudieron identificar los compuestos responsables de las zonas de olor usando las bases de datos en dos columnas o mediante un GC-MS convencional se empleó un sistema multidimensional GCO-GCOMS cuya metodología se ha descrito en bibliografía (Bueno y col., 2011). Para ello se inyectaron 40µL de extracto HS-SPE en el sistema, que consiste en dos cromatógrafos de gases independientes Varian CP-3800 (Walnut Creek, CA, EEUU) acoplados por medio de una línea de transferencia termorregulada a 200°C y equipada con una válvula de Deans (Valco Instruments, Houston, TX, EEUU), dos puertos olfatométricos, una unidad de criofocalización de CO₂, un detector de ionización a la llama (FID) y un detector de espectrometría de masas, Varian 240-MS.

Para la identificación de aquellos compuestos que coeluyen con el disolvente se empleó un sistema de desorción térmica acoplado al cromatógrafo. Se trata de una unidad Unity-xr de Markes International Ltd. (England). De forma que se depositan 10 µL de un extracto obtenido mediante el sistema de purga y trampa (2.2.1.1) en un tubo con lana de vidrio y dos fritz, para posteriormente desorber el 100% del extracto a 300°C durante 10 minutos.

2.3.3. Análisis de los datos.

Con los datos procesados a partir de GC-O (intensidad y frecuencia de detección) se calculó el "porcentaje de frecuencia modificada"(% MF), a partir de la fórmula propuesta por (Dravnieks, 1985):

$$\% \text{ MF} = \sqrt{\% \text{ F} \times \% \text{ I}}$$

Donde %F es la frecuencia de detección de un estímulo aromático expresado como porcentaje y % I es la intensidad promedio expresada como porcentaje. La identificación de los odorantes se realizó mediante la comparación de sus olores, su retención cromatográfica (índice de retención que se calculó en columnas DB-WAX y DB-5) y espectros MS con los de compuestos de referencia puros, cuando es posible. Para este fin también se usaron bases de datos de MS e índices cromatográficos como NIST (Gaithersburg, MD, EEUU), Pherobase (El-Sayed, 2021) o Flavornet (Acree y Arn, 2021), así como bibliografía previa (San Juan y col., 2012).

2.4. Fraccionamiento de vinos de interés y caracterización sensorial

En base a los resultados de la primera tarea de selección, se tomó un vino con altas puntuaciones del atributo aromático vegetal y carácter verde (V18) y otro con las cualidades opuestas (V1) para comprobar si existían fracciones volátiles que podían generar caracteres verdes. Para ello, ambos vinos se fraccionaron mediante cromatografía líquida semipreparativa de fase reversa utilizando un sistema de gradiente de agua y etanol como fase móvil y posteriormente se analizaron sensorialmente dichas fracciones (Ferreira y col., 1999).

2.4.1. Preparación de fracciones volátiles

En primer lugar, se obtuvo un extracto total del aroma de los vinos mediante extracción directa en fase sólida (SPE) como describe López y col. (2002), con algunas modificaciones. De forma que se pasaron 750 mL de muestra a través de cartuchos comerciales de 1000 mg de resina LiChrolut EN. Los extractos de aroma se obtuvieron por elución con 10 mL de etanol. Para obtener un extracto más concentrado, se llevó a cabo una desmezcla siguiendo el método propuesto por Ferreira y col. (1998), con algunas variaciones. Se colocaron 8,6 g de $\text{H}_2\text{NaPO}_4 - \text{H}_2\text{O}$ y 35,3 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ en un matraz aforado de 100 mL. Se añadieron 10 mL del extracto de etanol sobre la sal y se añadió la cantidad de agua necesaria para ajustar el contenido alcohólico de la mezcla al 13% (v/v). Después de asegurar la separación de las fases, se pipetearon 2 mL de la fase orgánica a un vial y se diluyó con agua Milli-Q (dilución 1:4) para el posterior fraccionamiento.

El fraccionamiento por HPLC se basó en el método descrito por Ferreira y col. (1999). El sistema de HPLC, suministrado por Varian (Walnut Creek, CA, EEUU) estaba equipado con un inyector manual, un controlador de gradiente automático y un detector UV de matriz de diodos

990. La columna utilizada fue una Kromasil C18 5 μ m, 25cm \times 10mm d.i., suministrado por Análisis Vínicos (Tomelloso, España). La columna estaba precedida por una precolumna de 2 cm de la misma fase. Las condiciones cromatográficas incluyeron: caudal de 2 mL min⁻¹, detección a 254 nm y volumen de inyección de 2 mL del extracto de agua-etanol (1:4). Las fases empleadas fueron: agua (fase A) y etanol (fase B). El gradiente del programa consistió en el intervalo de 0-5 min, se mantendrá en 10% de B; 5-24 min, pasará de 10% B a 45% B; 24-50 min de 45% de B a 100% de B y 50-55 min, 100% B. Todas las muestras se filtraron a través de un filtro de 0,45 μ m antes de la inyección. Se comenzaron a recoger fracciones a partir del minuto 4 (tiempo muerto de la columna) y se recogieron cada 3 minutos, de manera que se obtuvieron un total de 17 fracciones por cada vino. La primera y la última fracción no se consideraron en el estudio ya que no presentaban ningún carácter aromático.

2.4.2. Caracterización sensorial de las fracciones - *sorting task*

De las fracciones obtenidas, quince más dos duplicados fueron evaluados sensorialmente mediante *sorting task*. Para la prueba sensorial se les pidió a 16 sujetos entrenados (9 mujeres, con edades comprendidas entre 23 y 70 años, promedio = 38), pertenecientes al personal del laboratorio y con gran experiencia en análisis de aroma, oler las 32 fracciones (F2-F16 para los dos vinos y dos réplicas: F11-V18 y F12-V1) y clasificarlas en base a su similitud aromática. Podían formar tantos grupos como quisieran. Al finalizar, los participantes registraron los códigos de las muestras de cada grupo en una hoja de papel y describieron cada grupo con un máximo de tres atributos (ver consignas en **Figura A2.3** del Anexo 2).

Se presentó cada fracción en botes de 6 mL cubiertos con papel de aluminio y etiquetados con códigos aleatorios de 3 dígitos. La disposición de los botes fue aleatoria y diferente para cada participante. Las fracciones se sirvieron a temperatura ambiente y se evaluaron en una sala de degustación ventilada y con aire acondicionado (a aproximadamente 20 ° C).

2.4.2.1. Análisis de los datos.

Para cada participante, los resultados se codificaron individualmente en una matriz de similitud (fracción x fracción), en la que 1 representa dos fracciones descritas en el mismo grupo y 0 para dos fracciones ubicadas en grupos diferentes. Estas matrices individuales se sumaron entre sujetos; la matriz de coincidencia resultante representa la matriz de similitud global donde los números más grandes indican mayor similitud entre las muestras. La suposición subyacente para este método es que las muestras posicionadas juntas son más similares que las muestras que se sitúan más lejos. La matriz de concurrencia resultante se sometió a un análisis MDS (escalado multidimensional) para obtener una representación espacial de las fracciones. Todas las dimensiones de MDS se sometieron a Hierarchical Cluster Analysis (HCA). Todos los análisis se realizaron con XLSTAT (versión 2015).

2.4.3. Análisis olfatométrico de fracciones de interés

Se llevó a cabo el estudio olfatométrico de las fracciones F9, F12 y F13 de los vinos 1 y 18, ya que fueron seleccionadas en el análisis sensorial.

Las fracciones seleccionadas se diluyeron con agua ácida (5 g L^{-1} de ácido tartárico, pH 3,5) para ajustar su contenido alcohólico al 10% (v/v), y finalmente se extrajeron por SPE según lo descrito por López y col. (2002), con algunas variaciones. De esta forma, se pasa la fracción ajustada al 10% a través de cartuchos comerciales de 50 mg de resina LiChrolut EN. Los extractos de aroma se obtuvieron por elución con 600 μL de diclorometano con metanol al 5%. Posteriormente se analizó este extracto mediante las técnicas cromatográficas descritas anteriormente (Apartado 2.3.2).

2.5. Análisis cuantitativo

2.5.1. Análisis cuantitativo de metoxipirazinas y rotundona

La determinación de las metoxipirazinas y la rotundona en los vinos se realizó mediante stir bar sorptive extraction (SBSE), seguida de cromatografía de gas mediante desorción térmica junto con espectrometría de masas (TD-GCxGC-MS), como lo describen Wen y col. (2018). Para la cuantificación se empleó una disolución de isótopos estables (con fragmentos de masa selectiva). Los compuestos analizados fueron 2-isobutil-3-metoxipirazina (IBMP), 2-*sec*-butil-3-metoxipirazina (SBMP), 2-iso-propil-3-metoxipirazina (IPMP) y rotundona.

2.5.2. Análisis cuantitativo de mercaptanos polifuncionales

El análisis cuantitativo de mercaptanos polifuncionales se realizó mediante el método propuesto por Mateo-Vivaracho y col. (2008). Se realizó una primera derivatización SPE con bromuro de 2,3,4,5,6-pentafluorobencilo (PFBB_r) y se analizó el extracto en un sistema GC-MS con ionización química negativa (NCI). Para obtener los datos de concentración, se calcularon las áreas del compuesto correspondiente con respecto a un estándar interno (IS) seleccionado (IS: octafluoronaftaleno). El método seleccionado para la calibración fue la adición estándar. Los compuestos cuantificados fueron 2-furfuriltiol (FFT), 4-metil-4-mercapto pentan-2-ona (4M4MP), acetato de 3-mercaptohexil (3MHA) y 3-mercaptohexanol (3MH).

2.5.3. Análisis cuantitativo de compuestos aromáticos mayoritarios

La estrategia seguida fue una microextracción líquido-líquido con diclorometano, analizada en un cromatógrafo de gases con un detector de ionización de llama (GC-FID), siguiendo el procedimiento descrito en un trabajo anterior (Ortega y col., 2001). Los veintinueve analitos fueron referidos a un estándar interno seleccionado, y el método de calibración elegido fue el factor de respuesta. Los IS fueron 4-hidroxi-4-metil-pentanona, 2-butanol, 4-metil-2-pentanol, 2-octanol, ácido heptanoico y heptanoato de etilo.

2.5.4. Análisis cuantitativo de compuestos aromáticos minoritarios y trazas

Los compuestos minoritarios se aislaron mediante extracción en fase sólida (SPE) y se analizaron mediante cromatografía de gases acoplada a un sistema de detección de espectrometría de masas (GC-MS), como explicaron López y col. (2002). La relación selectiva m/z (relación masa/carga) se usó para treinta y ocho analitos, que también se refirieron a un estándar interno seleccionado (2-octanol, 3,4-dimetilfenol y 3-octanona). La cuantificación se llevó a cabo mediante el método de factor de respuesta.

2.5.5. Determinación de Aldehídos de Strecker totales

Los aldehídos con olor activo (isobutiraldehído, 2-metilbutanal, isovaleraldehído, metional, fenilacetaldehído) en sus formas totales se determinaron por headspace-SPME-GC-MS. También se analizó mediante este método benzaldehído, (*Z*)-3-hexenal, nonanal, decanal, 1-hexen-3-ona y 3-nonen-2-ona. El método lo describieron Bueno y col. (2014). En este caso, se usó 2-metilbutirato como IS y glioxal para romper complejos.

2.5.6. Análisis cuantitativo de compuestos azufrados volátiles (VSC)

La metodología e instrumentación empleada para el estudio de compuestos volátiles de azufre libres y totales (liberables en salmuera) se tomó de trabajos previos del grupo (Franco-Luesma y Ferreira, 2014; López y col., 2007). El análisis consiste en una microextracción en fase sólida del espacio de cabeza (HS-SPME) con una fibra de carboxenpolidimetilsiloxano (CAR-PDMS) para posteriormente desorber la muestra en un cromatógrafo de gases con un detector fotométrico de llama por pulsos (GC-PFPD). Los compuestos analizados por este método fueron: ácido sulfhídrico (H_2S), metanotiol (MeSH), etanotiol (EtSH), sulfuro de dimetilo (DMS) y disulfuro de dimetilo (DMDS). En ambas determinaciones, las áreas se normalizaron a las del patrón interno (IS: etil metil sulfuro) y se interpolaron en las respectivas rectas de calibrado.

3. Resultados y discusión

3.1. Cribado de vinos con diferentes niveles de carácter verde

3.1.1. Primera sesión sensorial – Análisis del verdor global

Primero se pidió a los expertos (primera tarea de selección) que calificaran el carácter verde, la preferencia y 12 términos sensoriales adicionales de aroma y de propiedades en boca de los 38 vinos incluidos en la primera parte del estudio. Todos los términos fueron significativos y, de hecho, se encontró que el factor vino era significativo para todos ellos a $p < 0,001$ en todos los casos, excepto para la acidez, para lo cual fue significativo a $p < 0,05$. La proyección de los términos en las dos primeras dimensiones del PCA se muestra en la **Figura 1**. Las variables ilustrativas, carácter verde y preferencia, están correlacionadas negativamente ($r = -0,70$;

$p < 0,001$) entre ellas, lo que confirma que el verdor tiene un carácter negativo para los expertos de la región de Somontano.

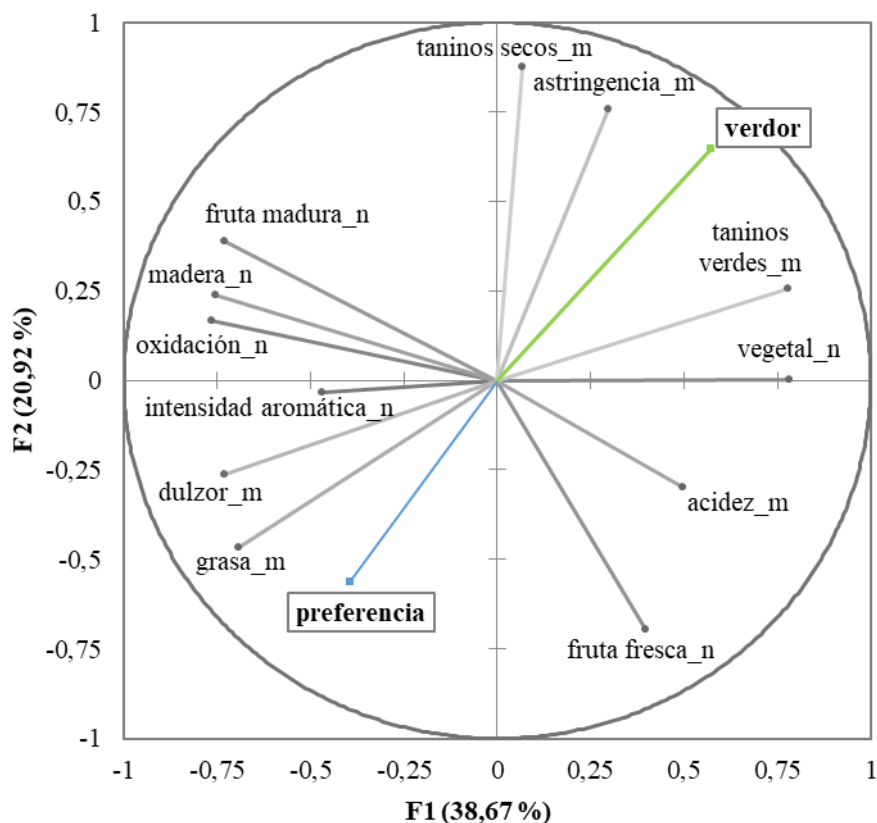


Figura 1. Proyección de variables activas (en gris) y suplementarias (en azul y verde) en los dos primeros componentes principales del PCA calculados con atributos significativos en los 38 vinos evaluados en la primera sesión, destinada a seleccionar vinos con diferentes niveles de carácter verde (atributo_n: evaluado en nariz, orthonasalmente; atributo_m: evaluado en boca).

El carácter verde es altamente multidimensional ya que se correlacionó con atributos de aroma y de boca. De esta forma, el verdor se correlacionó positivamente con el término de aroma vegetal y con los atributos de boca, astringencia, taninos verdes y secos. También se correlacionó negativamente con el término de aroma de madera y con las sensaciones en boca aceitosas y dulces.

El análisis *cluster* mostró cuatro grupos de vinos (**Figura 2**) con diferentes propiedades aromáticas y/o en boca (sabor y sensación en boca). Como se ve en la **Tabla 3**, el primer grupo se caracteriza principalmente por los términos de aroma oxidación, madera y fruta madura y por los términos en boca dulce y aceitoso, y se correlaciona negativamente con el carácter verde ($p < 0,01$). En contraste, el grupo 4 que se describe principalmente con aroma vegetal, astringencia y taninos verdes, se correlaciona positivamente con el carácter verde ($p < 0,001$) y negativamente con la preferencia ($p < 0,01$). Los grupos 2 y 3 no muestran correlaciones significativas con el carácter verde. El grupo 2 se define principalmente por términos como taninos secos y astringencia, así como fruta madura, madera y de alta intensidad de aroma. El

grupo 3 tiene principalmente un aroma fresco y afrutado, en boca se presenta ácido y se correlaciona positivamente con la preferencia.

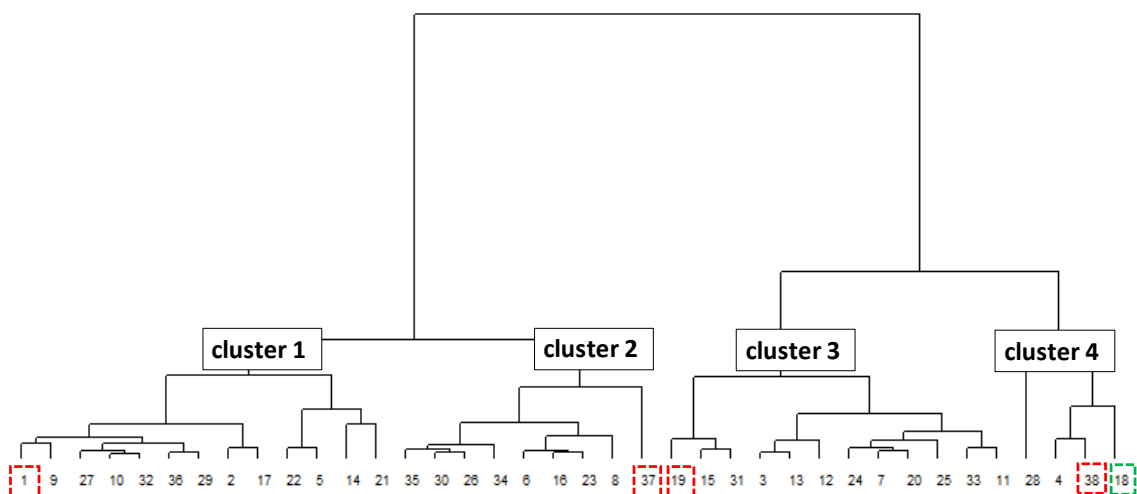


Figura 2. Cuatro grupos derivan del análisis jerárquico de grupos (HCA). Este se ha calculado con todas las PCs obtenidas del PCA (realizado solo con atributos significativos) derivadas de la primera sesión sensorial dedicada a seleccionar vinos con diferentes niveles de carácter verde. Los vinos marcados en rojo (1, 19, 37, 38) y verde (18) se seleccionaron para el cribado de compuestos que conducen a diferentes niveles de carácter verde.

En base a estos resultados, se seleccionaron vinos para su análisis en busca de compuestos volátiles involucrados en el carácter verde (GC-O y análisis cuantitativo). La muestra V18 era una de las que tenía puntuaciones más altas para ese carácter, mientras que la muestra 1 tenía la puntuación más baja. Por ello, los vinos 1 y 18 se seleccionaron también para un análisis más pormenorizado de sus fracciones volátiles.

Tabla 3. Grupos obtenidos por HCA según la descripción realizada por expertos y su correlación con el carácter verde y la preferencia (solo para $p < 0,1$). Se muestran los descriptores que más contribuyen a la construcción de los grupos ($p < 0,05$) y los vinos que pertenecen a cada grupo. Los vinos con asterisco son los más cercanos al centro de gravedad del grupo.

grupo	atributos correlacionados positivamente	correlaciones positivas con verdor y/o preferencia	Correlaciones negativas con verdor y/o preferencia
1	1*, 27, 32, 9, 22, 10, 36, 29, 17, 5, 14, 21	oxidación_n, dulzor_m, oleoso_m, madera_n, fruta madura_n	Verdor (t-value=-2,98; $p < 0,01$)
2	37*, 23, 30, 6, 16, 35, 26, 34, 8,	tanino seco_m, astringencia_m, fruta madura_n, madera_n, intensidad del aroma_n	
3	19*, 24, 3, 7, 20, 15, 2, 13, 11, 33, 25, 12, 31	fruta fresca_n, acidez_m	Preferencia (t-value=-1,38; $p < 0,1$)
4	38*, 4, 18, 28	tanino verde_m, vegetal_n, astringencia_m	Verdor (t-value=-3,93; $p < 0,001$) Preferencia (t-value=-2,58; $p < 0,01$)

*Aquellos atributos seguidos de _n o _m significan que han sido evaluados en nariz y en boca, respectivamente

3.1.2. Segunda sesión sensorial – Análisis del verdor orthonasal

Para ampliar el conocimiento en la terminología del aroma relacionada con el verdor e incrementar el número de muestras en el estudio, se evaluaron 15 muestras de vino adicionales más la muestra V18 de la tarea anterior (**Tabla 2**) para determinar sus propiedades de aroma (sólo percepción orthonasal) en una segunda sesión independiente. Los resultados se presentan en las **Figuras 3 y 4**. Se observa que el verdor orthonasal está relacionado con el término vegetal fresco (pimiento verde, terroso) ($r=0,880$) y animal ($r=0,625$) y negativamente con cítricos y fruta tropical. Es sorprendente comprobar que el verdor orthonasal no está relacionado con los términos verdura y herbal. Puede que los expertos de la región vinculen estos atributos a otros factores, como por ejemplo la verdura a la oxidación y el herbal a notas más balsámicas.

El verdor global está positivamente correlacionado con vegetal fresco ($p<0,001$, $r=0,88$), animal y reducción, y negativamente con: fruta roja, fruta amarilla y fruta tropical.

Es importante el hecho de que el verdor orthonasal y global están muy correlacionados ($r=0,82$), lo que nos indica, que el aroma juega un papel muy importante a la hora de definir el verdor.

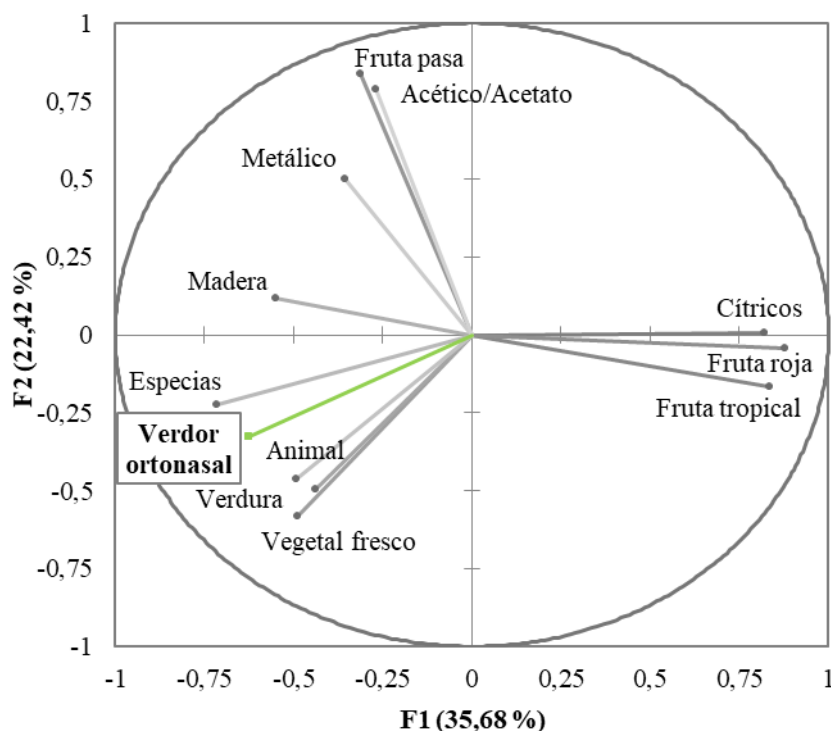


Figura 3. PCA con verdor orthonasal para todos los atributos de la segunda cata. Todos los atributos fueron evaluados en nariz.

Los vinos (18, 44, 45, 48 y 51) con las puntuaciones más altas para el carácter verde en la primera y la segunda sesión (**Figura 4**), fueron sometidos a estudios olfatométricos y análisis cuantitativos de volátiles para detectar compuestos de aroma potencialmente involucrados en el carácter verde, en comparación con la composición de los vinos sin este atributo (muestra 1 de la primera sesión).

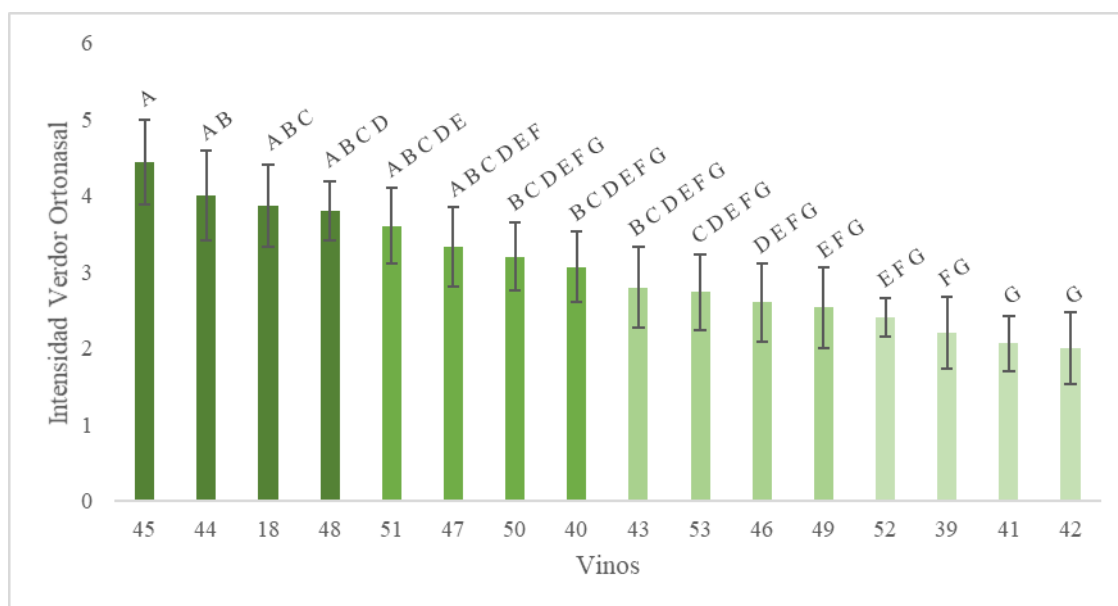


Figura 4. Evaluación ortonasal del carácter verde de 16 vinos en la segunda sesión sensorial que tuvo como objetivo la selección de vinos con diferentes niveles de carácter verde. Las barras de error se calculan como $s/(n)^{1/2}$ (s, desviación estándar; n, número de panelistas). Las diferentes letras significan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre vinos.

3.2. Estudios olfatométricos de los vinos

3.2.1. Olfatometrías de los compuestos más volátiles

Se han realizado olfatometrías de los compuestos más volátiles para los vinos V1, V18, V45, V48, V51 y V44 cuyos resultados se han incluido en la **Tabla 4**.

Los resultados más llamativos han sido la presencia de valores más altos (57% y 53% de FM) de metanotiol en las muestras V48 y V51; y la presencia del n.i. 1014 (compuesto no identificado) en todos los vinos (55% en V45 y 54% en V51). En V1 destaca al mismo tiempo el acetato de isobutilo. No se ha encontrado ningún dioxolano o compuesto con notas verdes que llame la atención, aunque cabe destacar la presencia de algún aldehído en vinos con categorizado con atributos verdes (isobutiraldehído y 2-metilbutanal).

3.2.2. Olfatometrías Globales

Se han realizado olfatometrías globales de los vinos V18, V45, V48, V51 y V44. Los resultados se muestran en la **Tabla 4**. También se ha realizado este análisis en el vino 1, sin embargo, como solo se trataba de una muestra se optó por tomar como referencia de vino sin atributos verdes un set de 25 muestras de vinos comerciales.

Los vinos **sin notas verdes** tienen más zonas y más intensas (ver **Tabla 4**, marcados en negrita la mediana de la FM%) con olores frutales y florales como terpenos (linalool), cinamatos (cinamato de etilo y dihidrocinamato de etilo), acetatos (acetato de isoamilo) y ésteres (butirato de etilo, 2-metilbutirato de etilo, 3-metilbutirato de etilo, 4-metil pentanoato de etilo y hexanoato de etilo...). Debido a esto, se puede lanzar la hipótesis de que el “verdor” puede ser

debido a un perfil aromático incompleto (con menos zonas de olores agradables), e incapaz de contrarrestar el carácter agresivo de las moléculas “normales” que forman la base del vino, como pueden ser los alcoholes de fusel.

Tabla 4. Estudio de GC-O: datos de retención cromatográfica (LRI, índice de retención lineal), descripción del aroma, identificación del compuesto químico, frecuencia de ocurrencia (F%) y puntuaciones máximas (max), medianas (mdna) y puntuaciones mínimas (min) de frecuencia modificada (FM%) para cada zona de olor de 5 vinos categorizados con notas verdes (V18, V45, V48, V51 y V44). Como referencia se ha empleado un conjunto de 25 vinos tintos comerciales (Ferreira y col., 2009), se muestra el % F y la puntuación promedio de FM% para cada zona de olor.

LRI DBWAX	LRI DB5	Identificación	Descriptor aromático	Vinos con notas verdes					Vinos comerciales	
				F	max	mdna	min	max- min	F	mdna
660	407	metanotiol ^a	huevo podrido, queso, col cocida	100	57	33	24	33	-	-
740	505	DMS dimetil sulfuro ^a	trufa, moho, sopa verduras, col	80	33	22	11	22	-	-
842	662/569	isobutiraldehído ^a / butanal ^b	acre, verde	80	28	14	0	28	-	-
908	663	2-metilbutanal ^a	champiñones, queso	100	24	19	11	13	32	0
935	713	acetato de propilo ^a	afrutado, alcohólico	0	0	0	0	0	68	27
941	755/730	Propionato de etilo ^b / Acetaldehído dietil acetal ^b	disolvente, afrutado	100	40	33	17	23	-	-
965	767	2-metilpropionato de etilo ^a	afrutado, fresa, dulce	100	77	72	68	9	-	-
958	593	2,3-butanodiona (diacetilo) ^a	láctico, fresa	100	87	72	61	26	100	80
1005	724	butirato de metilo ^a	fruta dulce	20	30	0	0	30	0	0
1014	771/825	acetato de isobutilo ^a / ni ^d	dulce, disolvente	100	56	55	33	23	100	47
1038	803	butirato de etilo ^a	fresa, láctico	80	52	30	0	52	100	73
1054	849	2-metilbutirato de etilo ^a	afrutado, anís, fresa	100	73	69	28	45	100	80
1062	695	2,3-pentanodiona ^a	láctico, fresa	80	49	31	0	49	8	0
1070	854	3-metilbutirato de etilo ^a	afrutado, anís	100	78	71	68	10	100	80
1102	621	isobutanol (2-metil-1-propanol) ^a	amargo, verde	100	48	45	24	24	100	43
1129	878	acetato de isoamilo ^a	plátano	100	64	60	48	16	100	66
1141	941	2-methylpentanoato de etilo ^a	dulce	0	0	0	0	0	28	0
1185	960	3-methylpentanoato de etilo ^a	dulce, floral	0	0	0	0	0	28	0
1200	969	4-methylpentanoato de etilo ^a	láctico, afrutado	40	36	0	0	36	92	38
1220	736	alcohol isoamílico ^a	fusel	100	88	85	81	7	100	88
1243	999	hexanoato de etilo ^a	afrutado, anís	100	68	63	57	11	100	71
1268	1011	acetato de hexilo ^a	dulce, afrutado	20	31	0	0	31	0	0
1298	952/1045	furfuril etil éter ^a / octanal ^a	disolvente, cítrico.	80	22	19	0	22	100	55
1303	975	1-octen-3-ona ^a	champiñón	80	22	19	0	22	80	22
1315	890	2-metil-3-furantiol ^a	frito, asado, tostado	0	0	0	0	0	60	24
1325	923	2,5-dimetil-pirazina ^c	nuez asada	20	29	0	0	29	0	0
1366	872	1-hexanol ^a	césped, verde	60	29	7	0	29	48	0
1382	986	(Z)-1,5-octadien-3-ona ^c	metálico, geranio	20	24	0	0	24	0	0
1383	942	4-mercapto-4-metil-2-pentanona ^a	boj	0	0	0	0	0	44	0
1388	852	(Z)-3-hexen-1-ol ^a	césped	80	29	17	0	29	56	19
1424	1130	ciclohexanoato de etilo ^a	afrutado	0	0	0	0	0	92	31
1436	907	2-furfuriltiol ^a	tostado, café	0	0	0	0	0	32	0
1446	1090	2-isopropil-3-metoxipirazina ^a	pimiento, terroso	40	43	0	0	43	8	0
1452	905	metional ^a	judía verdes, patatas cocidas	0	0	0	0	0	36	0
1462	600	ácido acético ^a	vinagre	100	78	71	49	29	88	29

Tabla 4. (Cont.)

LRI DBWAX	LRI DB5	Identificación	Descriptor aromático	Vinos con notas verdes					Vinos comerciales	
				F	max	mdna	min	max- min	F	mdna
1467	829	2-furaldehído (furfural) ^a	madera, dulce	0	0	0	0	0	8	0
1515	1150	(Z)-2-nonenal ^a	verde, metálico	100	26	20	10	16	100	45
1539	1180	2-isobutil-3-metoxipirazina ^a	pimiento, terroso	40	44	0	0	44	0	0
1561	1099	linalool ^a	floral	0	0	0	0	0	60	19
1568	1154	(E,Z)-2,6-nonadienal ^c	pepino, melón	100	36	19	7	29	0	0
1636	1022/1080	2-acetilpirazina ^a / benzil mercaptano ^a	tostado, quemado	100	42	29	7	35	100	59
1642	822	ácido butírico ^a	queso	100	42	30	20	22	32	0
1668	1170	2-metil-3-(metilditio)furano ^a	frito, asado, tostado	0	0	0	0	0	52	19
1683	838	ácido 3-metilbutírico ^a	queso	100	85	82	69	16	84	51
1719	-	ni ^d	té, dulce	0	0	0	0	0	52	10
1734	982	metionol ^a	patata cocida, plástico, verde	100	55	49	14	41	40	0
1743	1181	3-metil-2,4-nonanodiona ^c	floral, miel	80	32	22	0	32	56	14
1789	-	ni ^d	terroso	0	0	0	0	0	4	0
1801	1335	fenilacetato de etilo ^a	floral, miel	100	42	23	7	35	0	0
1811	1318	(E,E)-2,4-decadienal ^c	rancio	20	12	0	0	12	16	0
1828	-	ni ^d	humedad	80	38	23	0	38	4	0
1837	1387	β-damascenona ^a	manzana, dulce	100	58	50	25	33	100	55
1860	1134	3-mercaptohexanol ^a	pomelo, vegetal	100	48	31	8	40	0	0
1867	-	ni ^d	picante, terroso	20	30	0	0	30	0	0
1875	1088	2-metoxifenol (guaiaicol) ^a	fenólico, químico	100	56	45	33	23	100	57
1886	1353	dihidrocinnamato de etilo ^a	dulce, agradable	0	0	0	0	0	92	29
1928	1119	β-feniletanol ^a	rosas	100	85	83	63	22	100	61
1959	-	ni ^d	picante, balsámico	40	31	0	0	31	0	0
1961	1134	(Z)-whiskey lactona ^a	dulce, madera	20	20	0	0	20	100	49
1985	-	ni ^d	terroso, mineralidad	20	36	0	0	36	0	0
2010	-	o-cresol ^b	mohoso, sudor	0	0	0	0	0	16	0
2034	1285	4-etilguaiaicol ^a	clavo	0	0	0	0	0	28	0
2052	1096	2,5-dimetil-4-hidroxi-3(2H)-furanona (Furaneol) ^a	algodon de azucar	80	61	40	0	61	36	0
2086	-	ni ^d	dulce, canela	60	30	17	0	30	0	0
2103	1103	p-cresol, m-cresol ^b	animal, cuero, fenólico	80	60	36	0	60	96	35
2115	1404	4-propilguaiaicol ^a	té, clavo	0	0	0	0	0	44	0
2131	1460	cinamato de etilo ^a	floral, dulce	0	0	0	0	0	56	12
2155	1540	bis (2-metil-3-furil) disulfuro ^b	palomitas de maíz, tostado, fritura	0	0	0	0	0	8	0
2176	1365	4-alil-2-metoxifenol (eugenol) ^a	clavo	0	0	0	0	0	68	22
2185	1168	4-etilfenol ^a	cuero, animal	0	0	0	0	0	16	0
2194	1170	3-etilfenol ^a	cuero, animal	0	0	0	0	0	48	0
2223	1119	4,5-dimetil-3-hidroxi-2-(5H)-furanona (sotolón) ^a	quemado, curry	60	23	22	0	23	72	19

Las letras en cursiva son las zonas de olor identificadas mediante la metodología SPME-GCO, que no están disponibles para el conjunto de muestras de referencia. ^a Identificación basada en la coincidencia de retención cromatográfica en dos columnas diferentes y cotejada mediante MS con los de los compuestos puros disponibles en el laboratorio. ^b Tiempo de retención en una sola columna. ^c Identificación tentativa: la identificación se basa en la coincidencia de retención de GC en dos columnas diferentes, pero no ha sido posible obtener señales de GC-MS. ^dni, no identificado.

En los vinos caracterizados con notas **verdes** no aparece ninguna zona de olor muy importante con olor verde. Pero sí que aparecen pequeñas zonas de olores “verdes” cuyos responsables son aldehídos (*E,Z*-2,6-nonadienal), metoxipirazinas (siendo las más importantes la 2-isopropil-3-metoxipirazina y la 2-isobutil-3-metoxipirazina) o mercaptanos (3-mercapto-hexanol); pero ninguno muy potente (ver **Tabla 4**, marcados en negrita las frecuencias de ocurrencia). También se puede comentar con olores relacionados con el verdor, otros compuestos individuales como la (*Z*)-1,5-octadien-3-ona o un compuesto no identificado en el índice 1014 en columna polar.

Llama la atención la presencia de metoxipirazinas, como la 2-isopropil-3-metoxipirazina y 2-isobutil-3-metoxipirazina. Es de sobra conocido el poder odorante de estos compuestos y los matices sensoriales cuya presencia imponen en el vino. Sin embargo, no están presentes en todas las muestras y como se verá en el estudio cuantitativo no siempre alcanzan su umbral de olfacción.

Destaca también los niveles de algunos alcoholes superiores, especialmente la zona del metionol es más intensa de lo habitual.

Otras familias reseñables son los aldehídos y cetonas. Se han identificado tres de ellos en intensidades alrededor de 30% FM: (*Z*)-2-nonenal, (*E,Z*)-2,6-nonadienal y (*E,E*)-2,4-decadienal. Sin embargo, en el perfil olfatométrico aparecen una gran cantidad de zonas de olor con olores similares que presentan intensidades muy bajas (<20%FM), que solemos considerar “ruido de fondo” ya que resulta prácticamente imposible su identificación certera. Sin embargo, los descriptores se repiten “vegetal”, “metálico”, “verde”, “humedad”, “grasa”, “champiñón”, “geranio”... y los candidatos que surgen siempre parecen ser aldehídos y cetonas (hexanal, (*Z*)-3-hexenal, (*E*)-2-hexenal, heptenal, (*Z*)-2-heptenal (*E*)-2-heptenal, octanal, (*E*)-2-octenal, nonanal, (*E*)-2-nonenal, decanal, (*E,E*)-2,4-nonadienal, (*E,E*)-2,4-decadienal, (*Z*)-1.5-octadien-3-one y 1-octen-3-one. Estos compuestos se encuentran en la base de prácticamente todos los vinos, de hecho, aparecen en los vinos empleados como referencia. Sus concentraciones no suelen ser muy importantes, sin embargo, el efecto conjunto de estos compuestos en niveles periumbrales puede ser drástico. Como se observa en la **Tabla 5**, si tomamos los datos olfatométricos de aldehídos y cetonas de los vinos valorados con atributos más verdes en la segunda cata y lo comparamos con uno de los vinos descrito con menos carácter verdes, vemos como el sumatorio de estos compuestos es más que el doble que lo obtenido en el vino sin verdor. Parece que en estos vinos con notas verdes hay más aldehídos y cetonas que en los vinos referencia. Encontramos una excepción, el vino V18, cuyo sumatorio de zonas de aldehídos y cetonas es inferior al vino de referencia, sin embargo, la cantidad de zonas con este tipo de olor es superior. Esto podría indicar que el carácter verde no siempre tiene los mismos compuestos responsables.

Cabe resaltar que estudios recientes (Alegre y col., 2020) han demostrado que un gran grupo de derivados lipídicos con gran poder aromático, que incluyen 7 aldehídos insaturados, 2 cetonas

insaturadas y 2 lactonas, la mayoría con más de 6 átomos de carbono, pueden ser responsables del fondo vegetal de los vinos. Estos compuestos coinciden con los citados anteriormente en las olfatometrías de vinos con notas verdes, como los aldehídos ((*E,Z*)-2,6-nonadienal, (*E,E*)-2,4-decadienal, (*E*)-2-nonenal, (*Z*)-2-decenal, (*E,E*)-2,4-nonadienal, (*Z*)-3-hexenal y (*Z*)-2-nonenal) y cetonas ((*Z*)-1,5-octadien-3-ona y 1-octen-3-ona).

Tabla 5. Recopilación de datos olfatométricos de aldehídos y cetonas: datos de retención cromatográfica (LRI, índice de retención lineal), identificación del compuesto químico, frecuencia de ocurrencia (F%) y puntuaciones máximas, medianas y puntuaciones mínimas de frecuencia modificada (FM%) para cada zona de olor de 5 vinos categorizados con atributos verdes. Como referencia se han empleado el vino V1, considerado como menos verde por un panel de expertos, se muestra la FM% para cada zona de olor.

LRI DB-WAX	LRI DB-5	Identificación	FM V1	Vinos con notas verdes				
				F (%)	max	median	min	max-min
908	663	3 metil butanal	0	100	24	19	11	13
1093	800	hexanal	14	60	17	10	0	17
1142	800	(<i>Z</i>)-3-hexenal	0	60	19	8	0	19
1200	969	(<i>E</i>)-2-hexenal	25	60	36	7	0	36
1251	-	(<i>E</i>)-2-heptenal	0	40	19	0	0	19
1296	1045	octanal	0	20	19	9,5	0	19
1310	979	1-octen-3-ona	0	60	25	17	0	25
1333	987	heptenal	0	60	24	7	0	24
1360	987	(<i>Z</i>)-2-heptenal	0	60	20	7	0	20
1382	986	(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-ona	0	20	24	0	0	24
1410	1114	nonanal	0	40	14	0	0	14
1412	1080	1-nonen-3-ona	0	20	25	0	0	25
1494	-	decanal	22	80	28	22	0	28
1509	-	3-nonen-2-ona	0	40	7	0	0	7
1516	1150	(<i>Z</i>)-2-nonenal	17	100	26	20	10	16
1540	1165	(<i>E</i>)-2-nonenal	0	40	19	18	0	19
1568	1159	(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal	0	100	36	19	7	29
1716	1224	(<i>E,E</i>)-2,4-nonadienal	0	20	24	0	0	24
1818	1335	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal	0	20	12	0	0	12
SUMATORIO			78	164				

También aparecen compuestos individuales que podrían modificar el perfil aromático de los vinos, como es el caso de la (*Z*)-1,5-octadien-3-ona, aunque solo aparece en uno de los vinos considerados con verdor y su frecuencia modificada es baja, 24%. Se debe destacar la presencia de un compuesto sin identificar en el índice 1014 en la columna DB-WAX. Se trata de un compuesto que ha aparecido en múltiples vinos, generalmente con frecuencias mayores en los vinos categorizados con notas “verdes”, aunque también se han encontrado con altas intensidades en vinos sin defecto. Actualmente conocemos los índices de retención en ambas columnas y su espectro de masas, pero no conocemos su nombre.

Esta zona olfatométrica se había asociado con el acetato de isobutilo en DB-WAX, pero sus descriptores deberían ser más frutales y en este caso el aroma se define como disolvente. Además, las concentraciones del acetato de isobutilo en el análisis cuantitativo no se corresponden con las intensidades olfatométricas obtenidas, ya que la concentración suele estar muy por debajo del umbral de olfacción. Cuando se vio que en una columna de diferente polaridad (DB-5) no aparecía el acetato de isobutilo y sí se encontraba una zona con olor a disolvente, se dejó en evidencia la presencia de otro compuesto en la zona a 1014 en la columna DB-WAX.

Se ha experimentado con diferentes metodologías para su identificación (el extracto de olfatometría sin borboteo y con borboteo, inyección de diferentes volúmenes en diferentes gradientes de temperatura, extracto SPE, SPME...). Con estas técnicas se encontraron los índices de retención en columnas polar y apolar (LRI DB-WAX: 1014 y LRI DB-5: 825). Sin embargo, era complicado obtener un espectro de masas del compuesto limpio debido a que siempre aparecía muy cerca del disolvente. El espectro más nítido se ha conseguido cuando se instaló un desorbedor térmico en el equipo de GCO–GCO–MS, ver **Figura 5**.

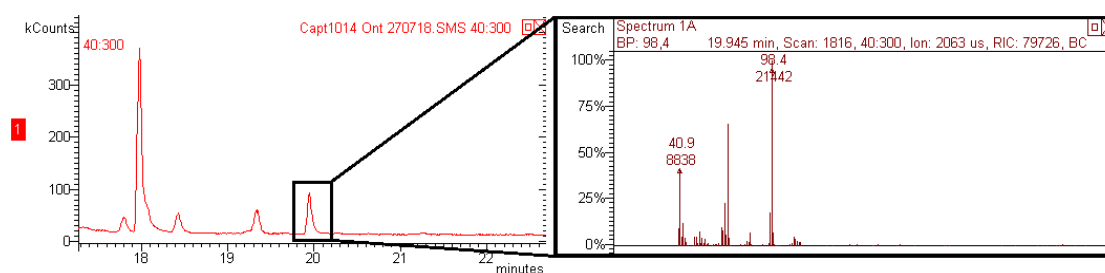


Figura 5. Cromatograma y espectro de masas correspondiente al compuesto no identificado n.i. 1014 con aroma a disolvente en la columna DB-WAX.

Sin embargo, no ha sido posible identificar el compuesto. Se han propuesto varios candidatos, pero finalmente se rechazaron porque al pinchar sus patrones los índices de retención cromatográfica no coincidían exactamente, o bien eran los descriptores aromáticos o sus espectros los que no cuadraban. Uno de estos candidatos fue el 2,5dimetoxi 2,5-dihidro-furano (CAS: 332-77-4), cuyo espectro de masas y descriptores eran muy parecidos sin embargo su índice en una columna polar no coincidía (DB-WAX:1360). Otros candidatos cuyos patrones no se han podido comprar por no ser comerciales pero que han sido propuestos por alta coincidencia del espectro de masas son el (*E*)-hexanoato de pent-2-en-3-ilo (CAS no disponible) o el hexanoato de 3-metilbut-2-enilo (CAS: 76649-22-4).

3.3. Estudio del fraccionamiento de los vinos

El fraccionamiento de un extracto global del vino “no verde” (V1) y “verde” (V18) dio como resultado 17 fracciones. Entre las cuales, resultaron más interesantes aromáticamente desde la

fracción 8 hasta la 15. Ninguna de ellas presentó aromas vegetales, ni directamente, ni reconstituida en vino sintético. Los resultados del análisis sensorial (*sorting task*) se muestran en la **Figura 6**, donde se ve como las fracciones de ambos vinos son prácticamente equivalentes aromáticamente. Existe la excepción de la fracción 9 ya que en el vino 1 es más intensa y se describió como dulce y floral, mientras que en V18 destacaba por un aroma a disolvente. Por otra parte, también resultaron interesantes las fracciones 12, 13 y 14 porque a pesar de posicionarse juntas en el dendrograma, los descriptores empleados para definir las sensorialmente fueron atributos vegetales, que pueden estar definiendo el carácter verde algunos vinos.

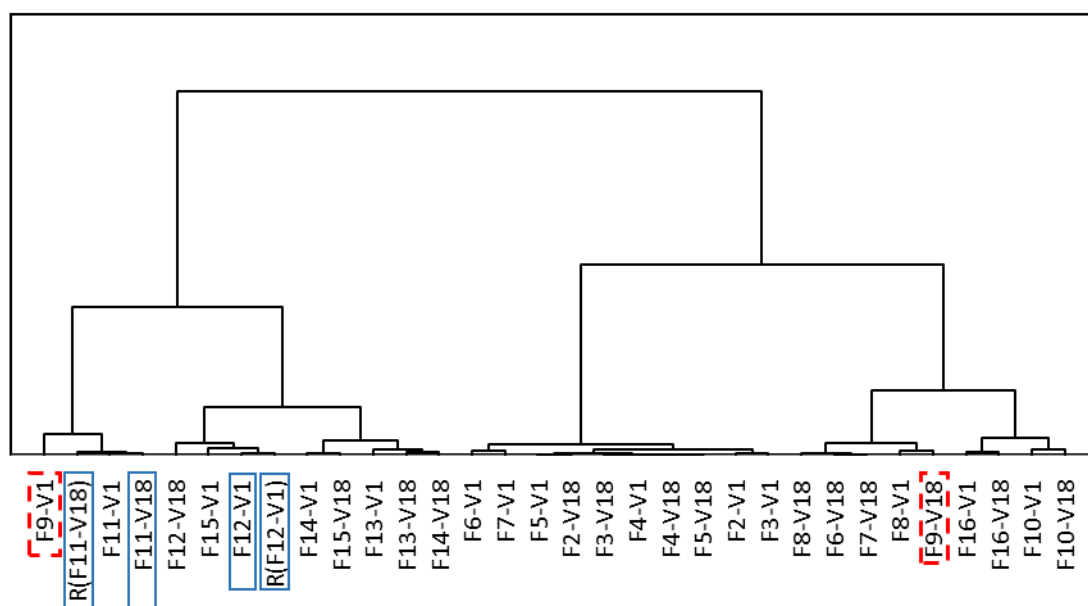


Figura 6. Dendrograma obtenido por Hierarchical Cluster Analysis (HCA) calculado con todas las dimensiones MDS derivadas del *sorting task* de las 32 fracciones de aroma (F2-F16 para dos vinos y dos réplicas: F11-W18 y F12-W1) del vino 18 (puntuaciones altas en carácter verde y aroma vegetal) y vino 1 (puntuaciones bajas en carácter verde y aroma vegetal). Las réplicas están marcadas en azul y la fracción de los dos vinos que pertenece a diferentes racimos está marcada en rojo (F9-W1 y F9-W18).

3.3.1. Estudio olfatométrico de fracciones de los vinos

El análisis olfatométrico de esas fracciones demostró la ausencia de compuestos aparentemente relevantes para la percepción de matices vegetales en el vino categorizado con notas verdes (V18), como se puede ver en la **Tabla 6**.

Se esperaba encontrar el compuesto n.i.1014 en la fracción 9 del vino 18. Sorprendentemente sólo aparece en la fracción 13 del vino 1, por lo que no parece tener un fuerte efecto en las percepciones sensoriales de las fracciones.

Tabla 6. Estudio de GC-O: datos de retención cromatográfica (LRI, índice de retención lineal), identificación del compuesto químico, descripción del aroma y frecuencia modificada (FM%) para cada zona de olor de las fracciones 9, 12 y 13 de los vinos 1 (vino sin notas verdes) y 18 (vino con notas verdes).

LRI DBWAX	LRI DB-5	Identificación	Descriptor	%FM F9		%FM F12		%FM F13	
				V1	V18	V1	V18	V1	V18
958	593	2,3-butanodiona (diacetilo) ^a	fresa-nata	53	58	50	58	73	62
995	-	n.i. ^b	goma, verde	0	0	38	37	0	0
1014	771/825	acetato de isobutilo / n.i. ^a	disolvente, alcohólico	0	0	0	0	59*	0
1038	803	butirato de etilo ^a	anisado, fresa nata	0	0	30	0	56	29
1055	849	2-metilbutirato etilo ^a	fresa ácida, fruta roja	0	0	0	0	58	58
1072	854	3-metilbutirato etilo (isovalerato de etilo)	dulce, anisado	0	0	0	0	22	0
1086	800	hexanal ^a	verde, hierba	0	0	0	0	49	48
1101	621	isobutanol (2-metil-1-propanol) ^a	cocido, desagüe, espárrago	0	0	26	0	0	0
1148	800	(Z)-3-hexenal ^a	verde, hierba cortada	30	38	75	71	75	82
1202	-	(E)-2-hexenal / 1-hexen-3-ona ^b	sucio, rancio	0	29	29	0	0	0
1222	735	alcohol isoamílico ^a	isoamílico, queso	0	0	66	55	43*	0
1252	-	(E)-2-heptenal ^b	goma, melón, floral, dulce	0	0	19	30	36	19
1297	952	furfuril etil eter ^a	frutal, disolvente	0	0	63*	0	0	0
1306	973	1-octen-3-ona ^a	cartón, champiñón, verde	36	20	46	32	26	41
1317	890	2-metil-3-furantiol ^a	fritos, comida, fruto seco	84	80	82	77	73	52
1330	987	heptenal ^a	Frito, grasa, comida	17	31	0	0	0	0
1363	987	(Z)-2-heptenal ^a	grasa, fritos	24	53	0	40*	0	0
1370	872	1-hexanol ^a	verde	0	0	0	0	20	31
1383	985	(Z)-1,5-octadien-3-ona ^a	metálico, verde, paja	0	22	0	29	26*	65*
1397	848	(Z)-3-hexen-1-ol ^a	verde, alcohólico	0	0	20	22	0	0
1409	1114	nonanal ^a	marihuana, especias, metálico	44	26	0	0	0	0
1413	1080	1-none-3-ona ^a	champiñón	0	0	46	63	65	46
1441	905	furfuriltiol ^a	tostado, quemado	52	43	41	38	0	0
1465	601	ácido acético ^a	vinagre	53	53	71	62	66*	0
1493	-	decanal ^b	detergente, plástico, goma	31	25	35	10	20	0
1505	-	(E,E)-2,4-heptadienal ^b	tostado, verde	0	0	41	26	0	0
1514	1153	(Z)-2-nonenal ^a	verde, pepino, melón	63	61	61	74	66	76
1546	1165	(E)-2-nonenal ^a	melón, cartón, rancio, metálico	29	10	20	35*	44	36
1548	-	n.i. ^b o 3-hidroxi-butirato de etilo ^b	floral, frutal, dulce,	0	0	69	37	49*	0
1560	1099	linalool ^a	floral, pomelo	0	0	26	0	0	0
1595	1159	(E,Z)-2,6-nonadienal ^a	pepino, vegetal	23	53	74	75	50	59
1623	1253	(Z)-2-decenal ^a	pepino, vegetal	0	0	45	60	46	36
1636	1023/1080	2-acetilpirazina / bencilmercaptano ^a	pelo quemado	47	56	58	69	55*	0
1655	1052	fenilacetaldehído ^a	tostado, floral	0	0	44*	0	0	0
1683	840	ácido 3-metilbutírico ^a	queso	0	0	79	79	65*	0
1705	1165	borneol ^a	humedad, rancio	0	0	36	35	0	24
1714	1224	(E,E)-2,4-nonadienal ^a	verdura, comida	0	0	0	0	33	52
1725	-	n.i. ^b	látex, anisado	0	0	0	0	38	32

Tabla 6. (Cont.)

LRI DBWAX	LRI DB-5	Identificación	Descriptor	%FM F9		%FM F12		%FM F13	
				V1	V18	V1	V18	V1	V18
1736	1255	acetato de 3-mercaptohexilo ^a	menta, floral, pepino	0	24	22	49	31	38
1743	1181	3-metil-2,4-nonanodiona ^a	floral, cloro	23	46	26	32	25	0
1801	1333	fenilacetato de etilo ^a	miel, rosas	0	0	0	0	72*	0
1820	1332	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal ^a	verde, graso	26	24	0	0	0	0
1830	-	n.i. ^b	frutal	0	0	0	0	65	0
1836	1388	β -damascenona ^a	mermelada, compota	35	36	58	51	38	69
1841	-	n.i. ^b	cuero, rancio, goma, pomelo	0	33	45	44	30	24
1858	1136	3-mercaptohexanol ^a	piel de pomelo	82	67	94	91	89	90
1874	1090	guaiaicol ^a	especiado, fenólico, tostado	49	65	69	75	47*	0
1885	-	n.i. ^b	plástico, metálico, terroso	31	34	0	0	47*	0
1908	1290	γ -octalactona ^a	coco, dulce	0	0	34	0	65*	0
1929	1112	β -feniletanol ^a	floral, rosas	26	30	87	86	87*	0
1957	1133	(<i>Z</i>)-whiskylactona ^a	especiado, balsámico, verde	20	0	0	74*	0	0
1964	1485	β -ionona ^a	cítrico, floral, piel de pomelo	0	0	53	22	18	26
1975	1133	(<i>E</i>)-whiskylactona ^a	coco madera	0	0	42	0	71*	0
1982	-	n.i. ^b	madera, floral, plástico	0	23	20	33	0	0
2021	-	n.i. ^b	plástico, cítrico, dulce, floral	26	41	0	24	0	0
2037	1287	4-etilguaiaicol ^a	especiado, clavo	0	0	70*	0	33	0
2053	1092	4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furanol) ^a	fruta, caramelo	51	63	31	41	65	58
2067	-	n.i. ^b	pepino, sudor, verde	0	0	26	46	0	35
2084	-	n.i. ^b	tostado, dulce, caramelo, vainilla	72	65	22	0	0	0
2102	1103	<i>p</i> -cresol ^a	caballo, cuero	0	33	57	46	0	0
2110	1103	<i>m</i> -cresol ^a	fenólico, cuadra, coco	0	0	0	34*	32	0
2134	1462	cinamato etilo ^a	floral	0	0	0	0	56*	0
2179	1368	4-alil-2-metoxifenol (eugenol) ^a	especiado, dulce, tostado	30	46	37	55	45	69
2188	1486	γ -decalactona ^a	especiado, fruta, floral	69	41	60	70	65	0
2195	-	n.i. ^b	piruleta, regaliz	0	0	0	35	0	0
2199	1170	4-etilfenol ^a	cuero	0	0	0	0	75*	0
2206	1170	3-etilfenol ^a	cuero	0	0	29	36	24	43
2221	1115	4,5-dimetil-3-hidroxi-2-(5H)-furanona (sotolón) ^a	curry, especias	87	87	56	73	47	31
2227	-	n.i. ^b	especiado, torrefacto, dulce	27	0	22	30	0	0
2264	1585	γ -undecalactona ^a	caramelo, coco, melocotón	39	41	39	39	27	0
2291	-	n.i. ^b	fenólico, especiado, herbáceo	82	70	50	31	24	0
2376	-	n.i. ^b	floral, especiado	71	59	41	50	54	29
2415	-	n.i. ^b	ceras, medicinal	65	65	59	60	0	0
Sumatorio de aldehídos y cetonas				346	438	517	577	561	560
Sumatorio de zonas frutales y florales				271	215	592	470	701	272

En negrita se muestran las FM de los aldehídos y cetonas detectados.

^a Identificación basada en la coincidencia de índices de retención en dos columnas cromatográficas de gases y en la similitud de olores.

^b Igual que la nota a pie de página * pero el tiempo de retención en una sola columna.

n.i.: Compuesto no identificado.

*Zonas de olor que son significativamente distintos si proceden de una misma fracción del V18 o del V1 (ANOVA).

Se vuelve a repetir que el sumatorio de compuestos carbonílicos insaturados (marcados en negrita en la **Tabla 6**) es mayor en las fracciones del vino con verdor que en el que no presentaba este atributo. Destacando los aldehídos y cetonas: (Z)-3-hexenal, (Z)-2-nonenal, (E,Z)-2,6-nonadienal, (Z)-2-decenal, (E,E)-2,4-nonadienal y la (Z)-1,5-octadien-3-ona. Y que el sumatorio de zonas florales y frutales es mayor en el vino sin notas verdes, que en aquellos que presentaban atributos verdes, sobretudo en la fracción 13 por compuestos como el β -feniletanol, cinamato de etilo o el fenilacetato de etilo.

Puede que estos aldehídos y cetonas sean los responsables de las diferencias sensoriales de la fracción 9, de forma que la matriz rica en etanol junto a estos compuestos incrementa las notas a disolvente en la F9 del vino 18 con respecto al V1. Como se ve en la **Tabla 6** el sumatorio de esta clase de compuestos es mucho mayor en el vino descrito como verde (V18).

También puede que sean estos compuestos los que estén caracterizando las fracciones 12 y 13 en ambos vinos. Ya que como se puede observar en la **Tabla 6** el sumatorio de aldehídos y cetonas es notablemente superior en las fracciones 12 y 13, con respecto de la fracción 9. Cabe destacar la presencia del acetato de 3-mercaptohexilo y el 3-mercaptohexanol, que también jugarán un papel relevante en esta percepción vegetal.

De este modo, se vuelven a encontrar algunos de los aldehídos que aparecían en las olfatometrías del vino completo. Es cierto que, con frecuencias modificadas bajas, pero no se puede descartar su posible importancia sensorial si actúan de forma sinérgica. Esto nos hace plantearnos la posibilidad de que a pesar que estos compuestos estén en la base del vino, bien porque su número es elevado o por la ausencia de antagonistas como ésteres frutales o cinamatos, puedan estar determinando la percepción del verdor.

3.4. Análisis cuantitativo

Se han analizado los compuestos mayoritarios, minoritarios, aldehídos totales, mercaptanos polifuncionales y metoxipirazinas de los vinos V1 y V19 como referencias de vinos sin verdor y como muestras con atributos verdes V18, V45, V48, V51 y V44. En la **Tabla 7** se muestran los resultados de ambos lotes de vinos.

Puede verse como la concentración de acetaldehído libre es mayor en las muestras categorizadas como verdes. Este hecho lo asociamos a una mala gestión en la adición de sulfuroso o en la conservación. Pero sea cual sea su origen, puede ser un compuesto importante de la percepción del verdor (Liu y Pilone, 2000).

Se ve que todos los ésteres etílicos lineales cuantificados están por encima en los vinos sin verdor. Del mismo modo encontramos menos lactato de etilo, succinato de etilo y cinamato de etilo en los vinos con verdor, por lo que es una matriz pobre en aromas agradables.

Tabla 7. Valores de concentración de los compuestos volátiles encontrados en los vinos (todos expresados en microgramos por litro). Los datos se presentan como medias y como rango de concentraciones de vinos sin verdor (V1 y V19), vinos con verdor (V18, V45, V48, V51 y V44) y un set de tintos de calidad de referencia (n=25) de un trabajo previo (San Juan y col., 2012).

Compuesto	Vinos sin verdor	Vinos con notas verdes		Muestras de referencia	Umbral de olfacción ^a
	Media	Media	Rango	Rango	
Compuestos carbonílicos					
Origen Fermentativo					
acetoina	33441	8575	3743-14999	<99,2–17600	150000 [1]
diacetilo	748	1011	706-1257	-	100 [2]
Relacionado con la crianza					
siringaldehído	<LD	<LD	-	2,91–76,2	50000 [3]
Relacionado con oxidación					
acetaldehído	2088	7888	353-10434	-	500 [2]
benzaldehído*	3,57	4,17	2,59-4,93	-	2000 [4]
benzaldehído#	<LD	4,41	1,82-7,23	-	2000 [4]
Norisoprenoides					
β -damascenona	2,13	3,32	2,14-4,32	<0,200–10,5	0,05 [2]
α -ionona	<LD	<LD	-	<0,008–1,57	2,6 [1]
β -ionona	0,361	0,224	0,196-0,287	<0,089–0,550	0,09 [5]
Aldehídos de Strecker					
isobutiraldehído	40,8	29,6	19,3-41,1	-	6 [6]
isovaleraldehído	71,8	41,8	25,9-72,75	-	4,6 [6]
2-metilbutanal	26,0	13,5	9,24-25,9	-	16 [6]
metional	25,7	23,0	18,3-26,9	2,12–21,6	0,5 [6]
fenilacetaldehído	76,2	72,7	58,6-87,5	20,4–126	1 [6]
Otros					
(Z)-3-hexenal	<LD	<LD	-	-	0,12 [7]
nonanal	0,811	0,901	0,588-1,24	-	15 [8]
decanal	<LD	<LD	-	-	10 [8]
1-hexen-3-ona	<LD	<LD	-	-	0,02 [9]
3-nonen-2-ona	<LD	<LD	-	-	800 [10]
Ésteres					
Derivados de ácidos grasos lineales					
propanoato etilo	125	153	<LD -258	<80–260	5500 [11]
butirato etilo	209	158	107-183	70–270	125 [11]
hexanoato etilo	337	229	191-286,8	70–210	62 [11]
octanoato etilo	289	113	52,5-165	50–210	580 [1]
decanoato etilo	68,3	45,8	28,8-72,6	<4,03–81,1	200 [5]
Derivados de ácidos ramificados					
isobutirato de etilo	7,89	153	120-190	48,7–536	15 [5]
2-metilbutirato de etilo	15,3	24,9	11,5-41,4	6,50–82,6	18 [5]
isovalerato de etilo	33,3	46,7	22,4-63,0	10,9–131	3 [5]
Origen varietal					
vanillato de metilo	8,59	15,8	10,34-23,6	<0,490–26,4	3000 [12]
vanillato de etilo	106	145	79,0-210	52,9–257	990 [12]
dihidrocinnamato de etilo	0,515	0,524	0,462-0,597	<0,210–1,03	1,6 [5]
cinnamato de etilo	0,717	0,398	0,162-0,645	<0,032–1,86	1,1 [5]

Tabla 7. (Cont.)

Compuesto	Vinos sin verdor	Vinos con notas verdes		Muestras de referencia	Umbral de olfacción ^a
	Media	Media	Rango	Rango	
Origen fermentativo					
lactato etilo	180148	121801	92008-138221	44800-369000	154000 [1]
succinato de dietilo	17464	9172	5182-12563	7800-24200	200000 [1]
acetato de etilo	159602	37762	31596-51942	-	12300 [13]
acetato isoamilo	375	336	281-474	110-370	30 [2]
acetato isobutilo	15,6	10,4	5,61-16,5	<0,542-83,1	1600 [14]
acetato butilo	5,26	3,06	<LD -5,42	<0,640-2,76	1800 [1]
acetato hexilo	31,0	<LD	-	<3,00	
acetato feniletilo	18,7	26,2	16,9-42,08	20,6-62,1	250 [2]
Alcoholes					
isobutanol	43922	38759	33804-43057	21400-61400	40000 [2]
1-butanol	1093	1096	892-1294	530-960	150000 [1]
alcohol isoamílico	282912	397937	358225-454188	111000-305000	30000 [2]
metionol	2734	5123	3867-7312	88,6-1348	1000 [5]
alcohol bencílico	3194	700	394-1365	70,0-5400	200000 [15]
β -feniletanol	39850	69757	51609-98152	18700-80500	14000 [5]
1-penten-3-ol	78,6	96,0	46,5-219	-	400 [16]
Alcoholes C6					
1-hexanol	1656	2770	2549-2965	520-1560	8000 [2]
(Z)-3-hexenol	139	75,3	36,2-171	<4,47-290	400 [2]
(E)-2-hexenol	7,96	9,97	4,86-14,7	-	15000 [1]
(E)-3-hexenol	44,8	79,3	56,8-119	-	1000 [17]
Alcoholes C8					
1-octen-3-ol	14,8	17,6	9,51-21,6	-	40 [18]
(E)-2-octen-1-ol	1,94	2,98	1,91-3,78	-	n,d, ^b
Ácidos					
Ácidos lineales					
ácido acético	407749	218305	175340-264577	285000-950000	300000 [2]
ácido butírico	846	802	693-952	<54,8-1850	173 [5]
ácido hexanoico	2344	1407	1260-1551	390-2120	420 [5]
ácido octanoico	2931	2051	1616-2330	180-1020	500 [5]
ácido decanoico	558	930	463-1240	110-940	1000 [5]
Ácidos ramificados					
ácido isobutírico	2508	2469	1562-2937	620-1225	50 [3]
ácido isovaleriánico	1205	1928	1457-2319	55,4-430	33 [5]
Terpenos					
linalool	6,67	4,71	3,36-7,32	<0,170-10,4	25 [5]
acetato de linalool	1,003	0,459	0,154-1,50	-	n.d. ^b
α -terpineol	5,43	7,84	4,27-11,3	3,54-19,6	250 [5]
β -citronelol	2,39	2,88	1,68-4,23	<0,440-6,53	100 [1]
geraniol	2,23	<LD	-	<0,010-4,85	20 [19]
Lactonas					
(E)-whiskylactona	41,9	<LD	-	34,7-346	790 [1]
(Z)-whiskylactona	295	<LD	-	<0,130-668	67 [1]
γ -nonalactona	12,1	11,6	6,07-14,8	4,98-28,9	25 [3]

Tabla 7. (Cont.)

Compuesto	Vinos sin verdor	Vinos con notas verdes		Muestras de referencia	Umbral de olfacción ^a
	Media	Media	Rango	Rango	
Lactonas					
γ -butirolactona	15485	16343	6741-27831	5750–31100	35000 [19]
γ -decalactona	35,2	24,3	<LD -40,2	–	0,7 [3]
Mercaptanos polifuncionales					
4-metil-4-mercapto-2-pentanona (4M4MP)	<LD	<LD	-	<0,0006–0,0110	0,0008 [20]
acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA)	<LD	<LD	-	0,0070–0,0125	0,004 [20]
3-mercaptohexanol (3MH)	0,048	0,071	0,049-0,0898	0,161–0,671	0,06 [20]
Metoxipirazinas					
3-isopropil-2-metoxipirazina (IPMP)	<LD	0,0009	0,0005-0,0013	-	0,001 [21]
3-secbutil-2-metoxipirazina (SBMP)	-	-	-	-	0,002 [22]
3-isobutil-2-metoxipirazina (IBMP)	0,001	0,010	0,0009-0,0168	-	0,015 [23]

* Analizado mediante el método de compuestos mayoritarios del aroma

Analizado mediante el método SPME para aldehídos

^a La referencia en la que se ha calculado el valor del umbral de olfacción se da entre paréntesis: [1] (Etiévant, 1991). [2] (Guth, 1997). [3] (Gemert, 2003). [4] (Peinado y col., 2004). [5] (Ferreira y col., 2000). [6] (Culleré y col., 2007). [7] (Sellami y col., 2018). [8] (Culleré y col., 2004). [9] (Buttery y col., 1989). [10] (Takeoka y col., 1990). [11] (San Juan y col., 2012). [12] (López y col., 2002). [13] (Escudero y col., 2004). [14] (Ferreira y col., 2002). [15] (Aznar y col., 2003). [16] (Buttery y Ling, 1995). [17] (Fariña y col., 2015). [18] (Boutou y Chatonnet, 2007). [19] (Escudero y col., 2007). [20] (Tominaga y col., 1998). [21] (Pickering y col., 2007). [22] (Sidhu y col., 2015). [23] (Roujou de Boubee y col., 2000).

^b n.d.: umbral de olfacción no disponible.

<LD: Concentración por debajo del límite de detección

El caso del terpeno linalool se ve como la mediana de los vinos sin verdor es mayor que la de los vinos con notas verdes, como se vio en la olfatometría. La variabilidad en los compuestos terpénicos puede deberse a las variedades usadas para la elaboración de los vinos.

Al contrario de lo que ocurría con los ésteres lineales, en los vinos con atributos verdes encontramos más ésteres ramificados, cuando se comparan los vinos con verdor con los que no presentaban este atributo (V1 y V19). Parece que hay más ácidos lineales (excepto el ácido decanoico) en los vinos sin verdor y más ramificados en los vinos con notas verdes.

Los niveles significativamente más altos de alcoholes de fusel en GC-O se corroboraron mediante el análisis cuantitativo, como se resume en la **Tabla 7**, donde se toman de referencia las concentraciones de 25 vinos de gama alta. Como se ve en la tabla, el 1-hexanol en vinos con caracteres verdes está significativamente por encima de los niveles encontrados en vinos de alta calidad, pero de todos modos está muy por debajo de su umbral de olor. Otro compuesto que no superó las concentraciones umbral fue el (Z)-3-hexenol, cuyos niveles en los vinos con notas verdes estuvieron dentro del rango de concentración de los vinos sin verdor (1 y 19 y del conjunto de muestras de referencia). De forma muy diferente, el alcohol isoamílico, el metionol y el β -feniletanol estaban en concentraciones significativamente más altas ($p < 0,001$) en los

vinos con verdor. En base a investigaciones anteriores, se puede concluir que esos niveles de β -feniletanol no son sensorialmente significativos (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016). Es posible que, aunque estos compuestos no presenten un aroma vegetal, su carácter punzante o su capacidad de suprimir otras notas aromáticas (de-la-Fuente-Blanco y col., 2017) puedan estar modulando la percepción aromática del vino. Por lo tanto, se comprobará más adelante el potencial papel sensorial del metionol y del alcohol isoamílico (Capítulo 9).

Los valores de los mercaptanos polifuncionales no parecen jugar un papel esencial en el matiz vegetal de estos vinos.

También en algunas de las muestras encontramos que los valores de las metoxipirazinas superaban el umbral de olfacción, como se demostró en las olfatometrías, sin embargo, otros vinos no lo hicieron y se han descrito con atributos verdes. Está claro que estos compuestos pueden jugar un papel esencial en la percepción del verdor de algunas variedades concretas (Bayonove y col., 1975), pero en estas muestras parece que existen otros compuestos que están aportando ese matiz vegetal a los vinos.

Tampoco se encuentran concentraciones llamativas en los aldehídos cuantificados. La metodología empleada se centró en aldehídos de Strecker, y en otros compuestos de esta familia que no llegaron a alcanzar el umbral de cuantificación. Llama la atención el mayor nivel de aldehídos de Strecker en los vinos sin el defecto de verdor, quizás por ser más envejecidos que los que presentaban atributos verdes. El benzaldehído analizado por dos métodos parece estar en mayor concentración en los vinos con notas verdes, aunque los resultados no fueron concluyentes.

4. Conclusiones

Se hizo un trabajo sensorial que permitió identificar vinos con perfiles verdes y caracterizar el verdor como un atributo multivariante asociado a descriptores de aroma y a sensaciones en la boca, tales como astringencia, taninos verdes y secos.

Los estudios olfatométricos revelan que no hay odorantes particularmente potentes y específicos responsables del carácter verde de estos vinos. Existen compuestos diana, que por sí solos pueden marcar un perfil aromático vegetal como es el caso de las metoxipirazinas. Sin embargo, en los vinos de este estudio, aunque no se puede descartar su influencia, no son los principales agentes que están modulando el verdor. Lo que desvela este trabajo es que existen otros compuestos en el “background” del vino que podrían estar modulando esta nota, desde niveles más bajos de ésteres y otros componentes de notas frutales a niveles más altos de acetaldehído, benzaldehído o aldehídos insaturados ((*Z*)-2-nonenal, (*E,Z*)-2,6-nonadienal y (*E,E*)-2,4-decadienal). Aunque muchos de ellos no superen el umbral de olfacción, su acción cooperativa, sinérgica o sus interacciones perceptuales con otros compuestos pueden ser esenciales en la percepción del carácter verde del vino. Otros compuestos cuyos niveles destacaron

notablemente en los vinos categorizados como verdes fueron los alcoholes superiores, con especial mención al alcohol isoamílico y al metionol. Futuros trabajos deben tener como objetivo comprobar la importancia sensorial de estos compuestos en los vinos de carácter verde.

5. Referencias

- Acree, T., & Arn, H. (2021). *Flavornet*. <https://www.flavornet.org/>
- Alegre, Y., Sáenz-Navajas, M.-P., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020). Sensory, olfactometric and chemical characterization of the aroma potential of Garnacha and Tempranillo winemaking grapes. *Food Chemistry*, *331*, 127207. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127207>
- Ares, G., Bruzzone, F., Vidal, L., Silva Cadena, R., Gimenez, A., Pineau, B., Hunter, D. C., Paisley, A. G., & Jaeger, S. R. (2014). Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). *Food Quality and Preference*, *36*, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.03.006>
- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(9), 2700–2707. <https://doi.org/10.1021/jf026115z>
- Bayonove, C., Cordonnier, R., & Dubois, P. (1975). Study of an aromatic characteristic fraction of Cabernet sauvignon grape variety, identification of 2-methoxy-3-isobutyl-pyrazine. *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Séances de l'Académie Des Sciences*, *281*(1), 75–78.
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, *1141*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.106>
- Bueno, M., Resconi, V. C., Campo, M. M., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2011). Gas chromatographic-olfactometric characterisation of headspace and mouthspace key aroma compounds in fresh and frozen lamb meat. *Food Chemistry*, *129*(4), 1909–1918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.06.001>
- Bueno, M., Zapata, J., & Ferreira, V. (2014). Simultaneous determination of free and bonded forms of odor-active carbonyls in wine using a headspace solid phase microextraction strategy. *Journal of Chromatography A*, *1369*, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.004>
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>
- Buttery, R. G., Teranushi, R., Flath, R. A., & Ling, L. C. (1989). Fresh tomato volatiles - Composition and sensory studies. *ACS Symposium Series*, *388*, 213–222.
- Chin, S.-T., & Marriott, P. J. (2015). Review of the role and methodology of high resolution approaches in aroma analysis. *Analytica Chimica Acta*, *854*, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.06.029>
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Gas Chromatography-Olfactometry and Chemical Quantitative Study of the Aroma of Six Premium Quality Spanish Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(6), 1653–1660. <https://doi.org/10.1021/jf0350820>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2017). Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *23*(2), 162–169. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12273>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, *210*, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- Dravnieks, A. (1985). *Atlas of odor character profiles*. ASTM.
- El-Sayed, A. (2021). *The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals*. <https://www.pherobase.com>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of

- the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Escudero, A., San-Juan, F., Franco-Luesma, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2014). Is orthonasal olfaction an equilibrium driven process? Design and validation of a dynamic purge and trap system for the study of orthonasal wine aroma. *Flavour and Fragrance Journal*, 29(5), 296–304. <https://doi.org/10.1002/ffj.3204>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, 69, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (1998). Analytical characterization of the flavor of oxygen-spoiled wines through the gas chromatography ion-trap mass spectrometry of ultratrace odorants: Optimization of conditions. *Journal of Chromatographic Science*, 36(7), 331–339. <https://doi.org/10.1093/chromsci/36.7.331>
- Ferreira, V., Hernandez-Orte, P., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (1999). Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 864(1), 77–88. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01004-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01004-3)
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/jf9006483>
- Franco-Luesma, E., & Ferreira, V. (2014). Quantitative analysis of free and bonded forms of volatile sulfur compounds in wine. Basic methodologies and evidences showing the existence of reversible cation-complexed forms. *Journal of Chromatography A*, 1359, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.011>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odor thresholds*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>
- Liu, S. Q., & Pilone, G. J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(1), 49–61. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00341.x>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- López, R., Lapeña, A. C., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Quantitative determination of wine highly volatile sulfur compounds by using automated headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-pulsed flame photometric detection. Critical study and optimization of a new procedure. *Journal of Chromatography A*, 1143(1–2), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.053>
- Mateo-Vivaracho, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). Improved solid-phase extraction procedure for the isolation and in-sorbent pentafluorobenzyl alkylation of polyfunctional mercaptans Optimized procedure and analytical applications. *Journal of Chromatography A*, 1185(1), 9–18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.01.037>
- Noble, A. C., Arnold, R. A., Buechsenstein, J., Leach, E. J., Schmidt, J. O., & Stern, P. M. (1987). Modification of a standardized system of wine aroma terminology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(2), 143–146.
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame

- ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, 923(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, 72(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>
- Regueiro, J., Negreira, N., & Simal-Gandara, J. (2017). Challenges in relating concentrations of aromas and tastes with flavor features of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(10), 2112–2127. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1048775>
- Reinbach, H. C., Giacalone, D., Ribeiro, L. M., Bredie, W. L. P., & Frost, M. B. (2014). Comparison of three sensory profiling methods based on consumer perception: CATA, CATA with intensity and Napping (R). *Food Quality and Preference*, 32(B, SI), 160–166. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2013.02.004>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- Sáenz-Navajas, M.-P., Martín-López, C., Ferreira, V., & Fernandez-Zurbano, P. (2011). Sensory properties of premium Spanish red wines and their implication in wine quality perception. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(1), 9–19. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2010.00115.x>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Sellami, I., Mall, V., & Schieberle, P. (2018). Changes in the Key Odorants and Aroma Profiles of Hamlin and Valencia Orange Juices Not from Concentrate (NFC) during Chilled Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(28), 7428–7440. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02257>
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 485–502. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.658587>
- Takeoka, G. R., Flath, R. A., Mon, T. R., Teranishi, R., & Guentert, M. (1990). Volatile constituents of apricot (*Prunus armeniaca*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(2), 471–477. <https://doi.org/10.1021/jf00092a031>
- Tominaga, T., des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5215–5219. <https://doi.org/10.1021/jf980481u>
- Wen, Y., Ontañón, I., Ferreira, V., & López, R. (2018). Determination of ppq-levels of alkylmethoxypyrazines in wine by stirbar sorptive extraction combined with multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 255, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.089>
- Zellner, B. A., Dugo, P., Dugo, G., & Mondello, L. (2008). Gas chromatography-olfactometry in food flavour analysis. *Journal of Chromatography A*, 1186(1–2), 123–143. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.09.006>

Capítulo 4. Estudios químico-sensoriales para buscar compuestos aromáticos responsables de notas verdes en vinos de la DO Ribera del Duero

1. Objetivos

El objetivo del siguiente capítulo será esclarecer qué compuesto o grupo de compuestos son los responsables del carácter verde en tres grupos de vinos tintos de la DO Ribera del Duero, categorizados como tal por sus productores, pero con matices diferenciadores entre ellos.

2. Material y métodos

Se trabajó con tres paquetes diferenciados de vino, en los cuales sus productores encuentran un perfil verde o vegetal, lo que supone un defecto y un detrimento de la calidad de su producto. Cabe destacar que todos los vinos proceden de la misma zona de producción, la D.O. Ribera del Duero, sin embargo, las descripciones dadas por las bodegas no son iguales.

Todos los análisis enológicos clásicos, así como la cuantificación del ácido sórbico se hicieron en base a los métodos de la *Office International de la Vigne et du Vin* (OIV, 2018). El resto de las metodologías empleadas se describen en el capítulo anterior. Independientemente, se precisará qué análisis se llevaron a cabo en cada uno de los grupos de muestras.

2.1. Grupo de vinos A

Una bodega de la D.O. Ribera del Duero se ha encontrado en diferentes añadas con vinos que contienen un matiz verde, que el propio personal técnico de la bodega lo describe como un aroma semejante al de los “espárragos trigueros”. Además de la aparición de defectos a nivel orthonasal también se asocia una caída de la estructura de la boca.

Estos matices aparecen en vinos elaborados con uva procedente de viñedos vendimiados a máquina. Se trata de un defecto que no surge durante la fermentación, sino tiempo después de haber terminado la fermentación maloláctica.

Del mismo modo, también se trabajó con muestras de la misma bodega que no presentaban dicho defecto. Las muestras analizadas se presentan en la **Tabla 1**.

La aparición del defecto se da en aquellos vinos elaborados a partir de vendimia mecanizada de la parcela de *Viñarosa*. La muestra AC.9 es de la misma parcela, pero se vendimió manualmente y no se generó el problema, por lo que parece que el tipo de vendimia puede ser un factor importante. La diferencia entre la muestra AD.1 y AD.2, es que la AD.2 es la AD.1 pero un año más tarde y con un tratamiento con pastas de la añada 2015 sin defecto. Cabe destacar que AD.1 es la muestra 47 y AD.2 son las muestras 49 y 40 de la segunda sesión sensorial, dedicada a seleccionar vinos con diferente nivel de carácter verde del Apartado 2.2.1 del Capítulo 3.

Mientras que la diferencia entre las muestras AD.3 y AD.4 es que proceden de la vendimia mecanizada de la misma parcela, pero diferentes depósitos.

Tabla 1. Muestras con y sin defecto facilitadas por la bodega. La nomenclatura de las muestras hace referencia en primer lugar al grupo de vinos (A), a continuación, si la muestra presenta defecto (D-Defecto) o no (C-Control) y por último el número de la muestra.

Muestra	Vendimia	Finca	Vigor	Añada	Defecto espárrago
AD.1	Mecanizada	<i>Viñarroza</i>	Alto	2014	Sí
AD.2	Mecanizada	<i>Viñarroza</i>	Alto	2014	Sí
AC.1	Manual	<i>San Román</i>	Bajo	2016	No
AC.2	Manual	<i>Celadilla</i>	Alto	2016	No
AC.3	Manual	<i>La casa</i>	Alto	2016	No
AC.4	Manual	<i>Picón Zurita</i>	Alto	2016	No
AC.5	Manual	<i>Martinete</i>	Bajo	2016	No
AC.6	Mecanizada	<i>Badén</i>	Alto	2016	No
AC.7	Manual	<i>Tejares</i>	Alto	2016	No
AC.8	Manual	<i>Solanas</i>	Bajo	2016	No
AC.9	Manual	<i>Viñarroza</i>	Alto	2016	No
AC.10	Manual	<i>Carcava</i>	Bajo	2016	No
AD.3	Mecanizada	<i>Viñarroza</i>	Alto	2016	Sí
AD.4	Mecanizada	<i>Viñarroza</i>	Alto	2016	Sí
AD.5	Mecanizada	<i>Viñarroza</i>	Alto	2019	Sí

Las experiencias que se llevaron a cabo fueron:

- Definición y caracterización sensorial del problema con los expertos de la bodega. Para ello se evaluaron las mismas 16 muestras (15 + 1 réplica) que en la **Tabla 2** del Apartado 2.2.1 del Capítulo 3 siguiendo la misma metodología. Además, se analizaron sensorialmente diferentes muestras dopadas con compuestos odorantes que pudiesen estar modulando el defecto (ver consignas en **Figura A3.1** del Anexo 3).
- Estudio de los perfiles olfatométricos de las muestras con el defecto (AD.1, AD.2, AD.3, AD.4 y AD.5) y una muestra control sin el defecto (AC.9) elaborada a partir de uva de la viña donde aparece el problema, pero en este caso vendimiada manualmente.
- Búsqueda del compuesto o compuestos responsables de la zona de olor a LRI en DB-WAX 1117. Para incrementar la intensidad de la zona de olor se usaron diferentes modificaciones del sistema de purga y trampa descrito en el apartado 2.3.1.1 del Capítulo 3, como borbotear o no la muestra, diferentes cantidades de resina LiChrolut EN (100 – 400 mg), diferente tiempo de extracción (20 – 100 minutos), diferentes flujos de N₂ (100-500 mL min⁻¹) o pasar varios volúmenes de vino por el mismo cartucho con resina (de 1 a 5).
- Análisis cuantitativo de compuestos aromáticos, prestando especial atención en todos aquellos odorantes o componentes de familias químicas que se hayan reportado como posibles causantes de notas verdes, punzantes o agresivas. De esta forma, se cuantificaron compuestos aromáticos

mayoritarios y trazas en todas las muestras. Mientras que mercaptanos polifuncionales, metoxipirazinas y azufrados volátiles se cuantificaron en las muestras de la añada 2016.

2.2. Grupo de vinos B

Se recibieron dos lotes de muestras independientes provenientes de dos bodegas diferentes de la D.O. Ribera del Duero. En ambos casos algunas de las muestras presentaban caracteres marcadamente vegetales, parecido al que desprenden las hojas de las plantas de geranio. Todas las muestras en las que apareció el defecto claramente, eran vinos elaborados a partir de uvas vendimiadas con máquina vendimiadora. Del mismo modo, se incluyó en el estudio un vino de prensa aportado por la bodega 1 que también mostraba un carácter vegetal. En la **Tabla 2** se muestran los vinos analizados.

Tabla 2. Muestras grupo B. La nomenclatura de las muestras hace referencia en primer lugar al grupo de vinos (B), a continuación, lo procedencia (bodega 1 o 2), si el vino presenta defecto (D-Defecto) o no (C-Control) y por último el número de la muestra.

	Muestra	Añada	Elaboración	Defecto geranio
Bodega 1	B1C	2016	Vendimia Manual	No
	B1D.1	2016	Vendimia Mecánica	Sí
	B1D.2	2016	Vendimia Mecánica	Sí
	B1D.3	2015	Vino Prensa	No
Bodega 2	B2C	2017	Vendimia Manual	No
	B2D	2017	Vendimia Mecánica	Sí

Se cuantificaron los compuestos aromáticos mayoritarios y minoritarios de estas muestras, además de un estudio olfatométrico completo. También se midieron las concentraciones de metoxipirazinas en las muestras B2C y B2D. A la vista de los resultados obtenidos también se analizó el contenido en ácido sórbico de las muestras mediante HPLC siguiendo la metodología (OIV-MA-AS313-20) de la Office International de la Vigne et du Vin (OIV, 2018).

2.3. Grupo de vinos C

Una cuarta bodega presentó vinos procedentes de la vendimia 2017, caracterizada por unas malas condiciones climáticas (helada y sequía), con un aroma característico que se describe como herbáceo, balsámico o eucalipto, que destaca más con la copa parada que al mover el vino. El defecto no muestra problemas en boca, ni astringencia, ni tanino secante. Se ha trabajado con una muestra con el defecto (CD).

El defecto es considerado negativo por la empresa pues puede suponer una pérdida de la tipicidad de la marca, la uva Tempranillo y la Denominación de Origen Ribera del Duero. Las posibles causas que barajan son desde problemas fermentativos de origen microbiológico o la recolección de la uva mediante vendimia mecánica. La primera de ellas se plantea porque la

limpieza en bodega se lleva a cabo exclusivamente con agua, por lo cual se supone un problema microbiológico. La segunda es porque el año que más se presentó el defecto, 2017, se vendimió un alto porcentaje de la cosecha con vendimiadora.

Para tratar de averiguar qué compuestos son los responsables de estas percepciones verdes se realizó un análisis olfatométrico de la muestra, así como la cuantificación de compuestos aromáticos mayoritarios, trazas y metoxipirazinas.

3. Resultados

3.1. Resultados Vinos A

3.1.1. Análisis sensorial

Los mismos 16 vinos que se cataron en el Somontano y se presentaron los datos en la Figura 4 del Capítulo 3 se evaluaron de la misma forma por 6 jueces pertenecientes a la empresa elaboradora de Ribera del Duero. En primer lugar, cabe destacar que el defecto “espárrago” sólo se percibe claramente por 3 de los 6 jueces. Si consideramos las puntuaciones de estos 3 jueces, los resultados son los que se presentan en la **Figura 1**. Cabe destacar que el verdor del que se habla en la cata del Somontano no es el mismo concepto que se está tratando en esta segunda cata llevada a cabo en Ribera del Duero. En este caso los vinos descritos con mayor intensidad en el atributo vegetal son los de la propia bodega, ya que las muestras AD.1 es la muestra 47 y AD.2 son las muestras 40 y 49 del Capítulo 3. Y la muestra 18, tercera en intensidad del atributo verde en el Somontano con casi una intensidad de 4, apenas llega a 1 en la intensidad a espárrago, siendo de las menos valoradas. No se profundiza más en la definición sensorial del problema por considerar que no disponemos de un número de jueces adecuado que lo perciban.

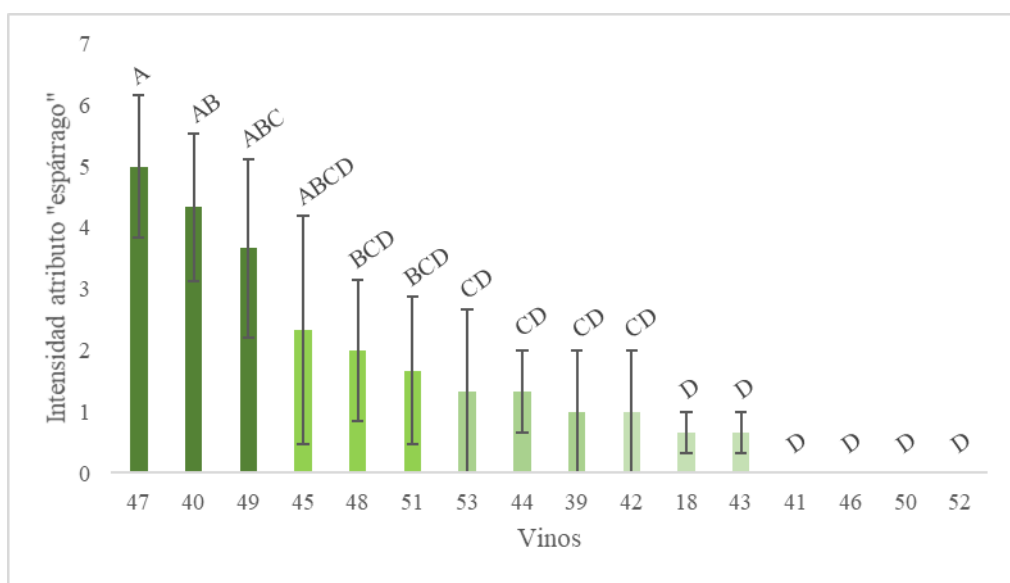


Figura 1. Promedio de intensidad (0-7) del atributo “espárrago” en base al aroma evaluado por los tres jueces sensibles al defecto. Las barras de error se calculan como $s / (n)^{1/2}$ (s, desviación estándar; n, número de panelistas). Las diferentes letras significan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre vinos.

Aunque no se realizó un test descriptivo se cataron los vinos con el defecto de forma informal, llegando a las siguientes conclusiones. No se distingue un olor claro que pueda relacionarse claramente con un defecto evidente. Sin embargo, se percibe una sensación metálica orthonasalmente que se repite en la boca. Una percepción agresiva o punzante, que recuerda a la producida por la sangre o a las de las amalgamas del dentista. También es evidente un olor a madera, posiblemente un intento de ocultar el defecto. Pero sorprende su simplicidad, como si le faltase la compañía de otros aromas que estamos acostumbrados a percibir junto con la madera en esta clase de vinos. En boca el vino está claramente desestructurado, con un paso en boca muy irregular y corto, destacando una percepción de astringencia intensa y breve, nula persistencia, ligero amargor final y un postgusto metálico.

3.1.2. Análisis Olfatométrico

Los resultados obtenidos del estudio olfatométrico se presentan en la **Tabla 3**, donde aparecen aquellas zonas odorantes más relevantes, con una frecuencia modificada (FM%) mayor o igual a 30 en alguna de las muestras.

En los resultados obtenidos en las olfatometrías podemos destacar una serie de compuestos que aparecen en los vinos donde se detecta el defecto, mientras que o no aparecen o su importancia sensorial es mucho menor en la muestra AC9, donde no se identificó el aroma a “espárrago”.

Igual que en las muestras del anterior capítulo, encontramos el compuesto n.i. 1014 con aroma a disolvente y otro de los candidatos plausibles de infundir un aroma vegetal, como la (*Z*)-1,5-octadien-3-ona. De hecho, su aroma fue identificado como posible compuesto causante del problema por los técnicos de la bodega, sin embargo, no aparece en todas las muestras con defecto y cuando se detecta su FM es notablemente baja (10-19%FM).

Como en el caso de los vinos del anterior capítulo, nos encontramos con una serie de aldehídos insaturados, cuyo sumatorio es muy superior en algunos de los vinos con defecto que en el vino donde no se detectó el aroma a “espárrago”. Destacan compuestos aromáticos como el (*Z*)-2-nonenal, pero su presencia en muchos otros vinos hace dudar de su responsabilidad individual. Sin embargo, su implicación con otros aldehídos no puede ser denostada al igual que la de su isómero (*E*)-2-nonenal (Alegre y col., 2020; Ferreira y López, 2019). Por otro lado, está el (*Z*)-2-decenal que destaca porque su isómero ha sido identificado como un compuesto con aroma a cilantro ligado a un origen exógeno a la uva, el insecto *Halyomorpha halys* (Mohekar y col., 2017a, 2017b).

Tabla 3. Estudio GC-O: Datos de los índices de retención en cromatografía de gases-Olfatometría (LRI, índice de retención lineal), descripción olfativa, identidad química, puntuaciones de frecuencia modificada (MF%) para cada zona de olor de los 6 vinos estudiados. La evaluación de las muestras se realizó con un panel de 6 jueces, salvo la muestra AD.5 que solo la evaluaron 2 panelistas.

LRI DB-WAX	LRI DB-5	Identificación	Descriptor	AD.1	AD.2	AD.3	AD.4	AD.5	AC.9
944	730	acetaldehído dietil acetal**	frutal, disolvente	17	14	30	24	29	17
958	593	diacetilo*	fresa-nata, caramelo, mantequilla	87	80	87	73	87	82
1014	825	n.i. ^a (disolvente)**	disolvente, anisado, dulce, verde	36	40	52	24	58	24
1037	800	butirato de etilo*	dulce, fresa, nata	65	70	71	55	76	63
1054	848	2-metilbutirato de etilo*	fresa, dulce, frutal	67	60	69	65	76	50
1073	855	3-metilbutirato de etilo*	aspirina, medicinal, fresa	76	75	66	71	82	42
1102	648	isobutanol (2-metil-1-propanol)*	queso, sucio, rancio	19	7	46	36	35	14
1117	930	n.i. ^a (verde)**	verde hierba, terroso, vegetal, metálico	10	12	46	36	35	14
1128	875	acetato de isoamilo*	plátano, fresa, dulce	73	32	31	42	91	79
1219	737	alcohol isoamílico*	queso, graso, rancio	88	82	93	94	91	91
1242	996	hexanoato de etilo*	aspirina, medicinal, anisado, frutal	75	73	39	75	76	67
1298	952/1045	furfuril etil éter** / octanal**	Disolvente, cítrico, verde	14	26	19	0	0	0
1382	984	(Z)-1,5-octadien-3-ona**	geranio, col, verde	0	0	10	19	0	0
1415	1081	1-nonen-3-ona***	champiñón	0	17	0	22	0	0
1446	1195	octanoato de etilo*	gas, rúcula, metal	49	28	19	47	50	37
1460	600	ácido acético*	vinagre	67	61	67	78	87	75
1515	1154	(Z)-2-nonenal**	papel, pepino, jabón, aceite	33	73	59	59	41	33
1544	1182	(E)-2-nonenal**	polvo, cartón	10	38	0	17	65	0
1572	1155	(E,Z)-2,6-nonadienal***	patata, verde	0	15	0	0	0	0
1623	1253	(Z)-2-decenal**	pepino, aceite, verde	14	40	26	17	29	0
1644	822	ácido butírico*	queso, pies, vómito	39	36	19	54	35	33
1684	832	ácido isovaleriánico*	queso, vómito	75	79	67	79	82	80
1729	1212	(E,E)-2,4-nonadienal**	cartón, humedad, rancio	0	31	26	29	35	0
1734	980	metionol*	humedad, patata cocida, gas	27	19	0	33	0	18
1736	1254	acetato de 3-mercaptophexilo*	verde, floral, pis de gato	33	18	22	0	0	0
1763	1364	(E)-2-undecenal**	puerro, graso, ceroso	0	24	19	19	0	0
1837	1388	β -damascenona*	mermelada, fruta cocida, membrillo	54	48	50	54	82	56
1876	1098	guaiacol*	madera, especiado	48	66	60	49	35	31
1902	1353	dihidrocinamato de etilo*	dulce, frutal	31	25	0	0	0	11
1932	1114	β -feniletanol*	floral, rosas, miel	87	70	80	73	46	82
1978	1134	(E)-whiskylactona*	coco	0	39	0	0	0	0
2056	1094	furaneol**	algodón de azúcar, caramelo	0	53	0	19	58	45
2103	1102	<i>p</i> -cresol o <i>m</i> -cresol*	cuero, estiércol, animal, peste	0	0	43	17	0	36
2190	1365	eugenol*	clavo, especiado	0	37	31	0	41	24
Sumatorio de aldehídos y cetonas				57	238	140	182	170	33

* Identificación basada en la coincidencia de índices de retención en dos columnas cromatográficas de gases y datos de espectrometría de masas de los compuestos puros disponibles en el laboratorio.

** Identificación basada en la coincidencia de datos de retención cromatográfica y en la similitud de olores. El compuesto no produjo ninguna señal clara en el espectrómetro de masas debido a su baja concentración o bien no se encuentra registrado en nuestras bases de datos.

*** Igual que la nota a pie de página ** pero el tiempo de retención en una sola columna

^a n.i. compuestos no identificados.

Debido a la vendimia mecánica se podría incrementar la introducción de este insecto junto a la uva y por tanto un aumento del compuesto. En esta familia de compuestos también destaca el (*E,E*)-2,4-nonadienal, por su bajo umbral (Alegre y col., 2020). Sin embargo, cuando los técnicos de la bodega cataron vinos dopados con alguno de los aldehídos encontrados en las olfatométrías, como el (*E*)-2-nonenal, (*E,E*)-2,4-nonadienal, o (*E*)-2-undecenal se describieron con atributos verdes, pero con diferentes matices al aroma a espárrago con el que ellos describen el defecto.

Una zona de olor que se consideró característica de los vinos con defecto fue la que tiene un LRI en columna polar de 1117. Dicha zona de olor también se encontró en el vino sin defecto, pero dada la dificultad observada para su detección (hay jueces anósmicos al olor de esta zona), consideramos que puede ser importante para el problema que tratamos debido a que:

- La FM más alta fue detectada en un vino con defecto
- En una olfatometría que realizaron parte del técnico de la bodega con el problema aromático, detectó la zona de olor y la describió con el atributo verde y muy similar al descriptor aromático del vino con problemas.

Para incrementar la intensidad de esta zona de olor y facilitar su identificación se probaron diferentes técnicas. Los resultados más satisfactorios se obtuvieron con el sistema de purga y trampa descrito en el apartado 2.3.1.1 del Capítulo 3 pero extrayendo 5 volúmenes de vino consecutivamente. De esta forma se obtuvo el espectro de masas del compuesto, mediante la inyección de 40 μ L en el sistema GCO-GCO-MS (sección 2.2.2.2 del Capítulo 3), como se aprecia en la **Figura 2**. Sin embargo, su identificación no ha tenido éxito. Se han planteado varios candidatos como el 3-etoxi-3-etil-1-pentino (CAS: 53966-56-6), 4-hidroxi criptona (CAS: 39725-34-3) o 3-etil-1-heptin-3-ol (CAS: 5396-61-2). El primer candidato parecía el más idóneo, se adquirió el patrón, pero fue desestimado por varias razones; la primera es que los índices de retención (DB-WAX: 1105 y DB-5: 875) no coincidieron exactamente con la zona de olor; en segundo lugar, su aroma se describió como resinoso; y por último, su umbral del olfacción es muy superior al esperado en el compuesto problema.

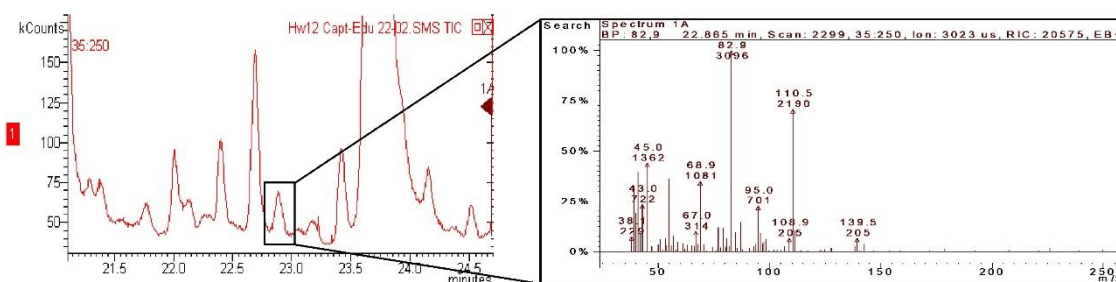


Figura 2. Cromatograma y espectro de masas correspondiente al compuesto responsable de la zona de olor con LRI 1117 en columna DB-WAX.

3.1.3. Análisis Cuantitativo

Los resultados de los análisis químicos se muestran en la **Tabla A3.2** del Anexo 3. Al realizar ANOVA cuyo factor es la ausencia/presencia del defecto se obtienen los resultados que se resumen en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Valores de concentración media de compuestos aromáticos (todos expresados en microgramos por litro) en los vinos A divididos en dos grupos, el primero donde se encontró el defecto y el segundo en aquellos vinos de la misma bodega que no presentaban el aroma a “espárrago”. Error calculado como $s/n^{1/2}$ ((s) desviación estándar; (n) número de muestras).

Compuestos	Control		Defecto		Valor de p^c	Umbral de olfacción ^a
	Media	Error	Media	Error		
Compuestos carbonílicos						
Origen Fermentativo						
acetoina	5733 b	1709	17278 a	6346	**	150000 ¹
diacetilo	798 a	243	803 a	342	-	100 ²
Relacionado con el añejamiento						
siringaldehído	0,038 a	0,020	0,055 a	0,028	-	50000 ³
Relacionado con oxidación						
acetaldehído libre	111 b	35	1109 a	510	**	500 ²
benzaldehído	0,297 b	0,177	1,95 a	0,87	**	2000 ⁴
Norisoprenoides						
β -damascenona	0,507 a	0,185	1,09 a	0,37	-	0.05 ²
α -ionona	1,04 a	0,19	0,133 b	0,083	***	2.6 ¹
β -ionona	0,454 a	0,015	0,417 a	0,044	-	0.09 ⁵
Ésteres						
Derivados de ácidos grasos lineales						
propanoato etilo	24,0 a	12,9	78,9 a	27,8	*	5500 ⁶
butirato etilo	125 a	6	236 a	80	*	125 ⁶
hexanoato etilo	393 a	16	471 a	134	-	62 ⁶
octanoato etilo	318 a	34	320 a	95	-	580 ¹
decanoato etilo	31,6 b	3,2	49,4 a	6,3	**	200 ⁵
Derivados de ácidos ramificados						
isobutirato de etilo	65,8 a	11,6	101 a	32,7	-	15 ⁵
2-metilbutirato de etilo	4,34 a	0,41	9,05 a	3,35	*	18 ⁵
isovalerato de etilo	8,03 b	0,70	18,9 a	6,05	**	3 ⁵
Origen varietal						
vanillato de metilo	3,73 b	0,29	6,28 a	1,56	**	3000 ⁷
vanillato de etilo	57,8 a	7,17	68,4 a	13,7	-	990 ⁷
dihidrocinnamato de etilo	1,41 a	0,15	0,775 b	0,239	**	1.6 ⁵
cinamato de etilo	0,325 a	0,090	0,387 a	0,248	-	1.1 ⁵
Origen fermentativo						
lactato etilo	88482 b	6758	152274 a	8295	****	154000 ¹
succinato dietilo	8796 a	964	10031 a	1137	-	200000 ¹
acetato de etilo	53698 b	2255	83096 a	11049	***	12300 ⁸
acetato isoamilo	357 a	70	332 a	155	-	30 ²
acetato isobutilo	7,25 a	0,56	14,7 a	5,02	*	1600 ⁹
acetato butilo	1,20 a	0,62	0,756 a	0,528	-	1800 ¹
acetato feniletilo	19,0 a	4,93	16,1 a	6,77	-	250 ²

Tabla 4. (Cont.)

Compuestos	Control		Defecto		valor de p^c	Umbral de olfacción ^a
	Media	Error	Media	Error		
Alcoholes						
isobutanol	27431 b	852	46847 a	10988	**	40000 ²
1-butanol	1141 a	69	1335 a	92	-	150000 ¹
alcohol isoamílico	190298 a	3750	252648 a	49403	*	30000 ²
metionol	1659 a	92	1831 a	363	-	1000 ⁵
alcohol bencílico	173 b	25	474 a	182	**	200000 ¹⁰
β -feniletanol	36440 a	1706	40686 a	10617	-	14000 ⁵
1-penten-3-ol	135 a	15,2	160 a	11,6	-	400 ¹¹
Alcoholes C6						
1-hexanol	1930 b	80	2314 a	189	**	8000 ²
(Z)-3-hexenol	197 a	13	235 a	24	-	400 ²
(E)-2-hexenol	5,69 a	0,37	6,64 a	0,40	-	15000 ¹
(E)-3-hexenol	49,4 b	2,11	64,9 a	1,16	**	1000 ¹²
Alcoholes C8						
1-octen-3-ol	7,06 b	0,84	25,5 a	0,11	****	40 ¹³
(E)-2-octen-1-ol	1,06 b	0,11	2,23 a	0,19	***	n.d. ^b
Ácidos						
Ácidos lineales						
ácido acético	495981 a	37991	538006 a	41556	-	300000 ²
ácido butírico	1184 a	47	1183 a	160	-	173 ⁵
ácido hexanoico	2217 a	119	2395 a	262	-	420 ⁵
ácido octanoico	3680 a	230	3502 a	774	-	500 ⁵
ácido decanoico	360 a	20	433 a	94	-	1000 ⁵
Ácidos ramificados						
ácido isobutírico	2239 a	259	1856 a	283	-	50 ³
ácido isovaleriánico	1007 a	43	1291 a	395	-	33 ⁵
Terpenos						
linalool	4,84 a	0,17	5,81 a	0,75	-	25 ⁵
acetato de linalool	0,056 a	0,036	0,264 a	0,187	-	n.d. ^b
α -terpineol	1,80 b	0,13	3,38 a	0,41	****	250 ⁵
β -citronelol	2,05 a	0,50	1,64 a	0,71	-	100 ¹
geraniol	3,97 a	0,57	1,55 b	1,05	**	20 ¹⁴
Fenoles volátiles						
guaiacol	6,41 b	1,06	18,3 a	6,14	**	9,5 ⁵
o-cresol	0,923 a	0,081	0,823 a	0,219	-	31 ¹
4-etilguaiacol	0,379 a	0,071	0,561 a	0,198	-	33 ⁵
m-cresol	0,845 a	0,033	0,393 b	0,141	****	68 ¹⁵
4-propilguaiacol	<LD b	-	0,043 a	0,027	**	10 ⁷
eugenol	8,61 a	2,234	7,22 a	1,624	-	6 ⁵
4-etilfenol	0,579 a	0,075	2,22 a	1,416	-	35 ⁶
4-vinilguaiacol	22,0 b	2,157	33,5 a	4,560	**	40 ²
(E)-isoeugenol	12,6 a	1,676	8,79 a	2,567	-	6 ¹⁴
2,6-dimetoxifenol	29,8 a	4,848	64,6 a	21,875	*	570 ⁷
4-vinilfenol	8,77 b	1,220	41,0 a	15,253	***	180 ¹⁶
4-alil-2,6-dimetoxifenol	11,8 a	1,598	11,5 a	0,585	-	1200 ³
vanillina	94,7 a	42,081	35,9 a	12,359	-	995 ¹⁴
acetovanillona	69,0 a	5,151	84,3 a	7,439	-	1000 ¹⁴

Tabla 4. (Cont.)

Compuestos	Control		Defecto		valor de p^c	Umbral de olfacción ^a
	Media	Error	Media	Error		
Lactonas						
(E)-whiskylactona	17,4 a	8,38	5,81 a	5,29	-	790 ¹
(Z)-whiskylactona	73,5 a	29,1	20,0 a	15,0	-	67 ¹
γ -nonalactona	9,73 a	0,898	12,0 a	2,7	-	25 ³
γ -decalactona	3,82 b	2,03	19,7 a	4,71	***	0,71 ³
γ -butirolactona	9123 a	574	12443 a	2008	*	35000 ¹⁴
Metoxipirazinas						
3-isopropil-2-metoxipirazina	0,00002 b	0,000003	0,00011 a	0,000005	****	0.001 ¹⁷
3-isobutil-2-metoxipirazina	0,00024 a	0,00005	0,00036 a	0,00003	-	0.015 ¹⁸
Sesquiterpenos						
rotundona	0,091 a	0,000013	0,020 b	0,000004	**	0.015 ¹⁹
Compuestos volátiles azufrados						
Compuestos volátiles azufrados libres (L)						
ácido sulfhídrico (L)	3,04 b	0,909	9,65 a	4,29	**	1.1-1.6 ²⁰
metanotiol (L)	0,912 a	0,078	0,937 a	0,156	-	1.8-3.1 ²¹
sulfuro de dimetilo (L)	14,6 a	1,21	10,8 a	2,71	-	25 ²²
Compuestos volátiles azufrados totales (T)						
ácido sulfhídrico (T)	39,8 a	2,85	41,0 a	3,85	-	1.1-1.6 ²⁰
metanotiol (T)	2,53 a	0,121	2,52 a	0,236	-	1.8-3.1 ²¹
sulfuro de dimetilo (T)	14,6 a	1,21	10,8 a	2,71	-	25 ²²
Mercaptanos Polifuncionales						
acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA)	0,016 a	0,002	0,010 a	0,0005	-	0.004 ²³
3-mercaptohexanol (3MH)	0,918 b	0,060	1,45 a	0,065	***	0.06 ²³

<LD: Concentración por debajo del límite de detección del compuesto en el método de cuantificación empleado.

^a La referencia en la que se ha calculado el valor del umbral de olfacción se da entre paréntesis: [1] (Etiévant, 1991). [2] (Guth, 1997). [3] (Gemert, 2003). [4] (Peinado y col., 2004). [5] (Ferreira y col., 2000). [6] (San Juan y col., 2012). [7] (López y col., 2002). [8] (Escudero y col., 2004). [9] (Ferreira y col., 2002). [10] (Aznar y col., 2003). [11] (Buttery y Ling, 1995). [12] (Fariña y col., 2015). [13] (Boutou y Chatonnet, 2007). [14] (Escudero y col., 2007). [15] (Ferreira y col., 2009). [16] (Boidron y col., 1988). [17] (Pickering y col., 2007). [18] (Roujou de Boubee y col., 2000) [19] (Culleré y col., 2016). [20] (Siebert y col., 2009). [21] (Solomon y col., 2010). [22] (Goniak y Noble, 1987). [23] (Tominaga y col., 1998). ^b n.d: umbral de olfacción no disponible. ^c Las diferentes letras indican diferencias significativas (según la prueba de Fisher por pares) entre las muestras control y las muestras que presentan el defecto, donde: **** $p < 0,001$; *** $0,001 < p < 0,01$; ** $0,01 < p < 0,05$ y * $0,05 < p < 0,1$)

En la tabla destaca mayores concentraciones de compuestos carbonílicos en el grupo de vinos con defecto. Estos compuestos son el acetaldehído, acetoína o el benzaldehído. Además, el acetato de etilo podría reducir las notas frutales e incrementar la nota punzante al estar en mayor concentración en los vinos con defecto (Corison y col., 1979). Por otra parte, encontramos más compuestos florales como la α -ionona y el geraniol en los vinos sin defecto.

Otra familia de compuestos que llama la atención son los alcoholes, que aparecen en mayor concentración en los vinos con aroma a espárrago. Aunque algunos de ellos poseen notas vegetales como es el caso de 1-hexanol, están lejos de superar el umbral de olfacción (8 mg L⁻¹) (Guth, 1997). Sin embargo, otros, especialmente el alcohol isoamílico o el isobutanol, podrían jugar un rol importante como supresor de otras notas aromáticas, así como aportar una nota

espirituosa o punzante al vino (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016) como se ha mencionado anteriormente. También destacan en los vinos con defecto compuestos como el guaiacol o γ -decalactone, cuyos niveles se deben, posiblemente, al uso de madera o coadyuvantes alternativos empleados para enmascarar el defecto.

Aparecen, a su vez, niveles más elevados de 1-octen-3-ol, otro alcohol con 6 átomos de carbono ((*E*)-3-hexenol) y de mercaptohexanol en los vinos con defecto. Se hizo un dopado de estos compuestos a un vino sin defecto y se descartaron como responsables mediante una cata informal. También destaca la IPMP en los vinos con defecto, aunque su efecto debería ser muy limitado debido a que su concentración está lejos de superar el umbral. La concentración de ácido sulfhídrico es superior en los vinos con olor a espárrago, aunque los descriptores de este compuesto distan mucho del defecto.

Ninguna de las diferencias encontradas en la **Tabla 4** parece que justifique por sí misma el aroma vegetal que presentan estas muestras, aunque no se puede descartar que algunas de estas puedan influir en mayor o menor medida en el defecto.

3.1.4. Otros experimentos

Un dato curioso e interesante es que analizando el ADN presente en el vino de un depósito con el problema aromático aparecen grandes cantidades de material genético de un hongo, el *Aureobasidium pullulans* (más del 50% del ADN de levaduras pertenecía a dicho microorganismo). Concentraciones extremadamente anormales en vinos terminados. Además, en los análisis cuantitativos de estos vinos se encontraron compuestos que pueden provenir de contaminaciones fúngicas como el 1-octen-3-ol, la (*Z*)-1,5-octadien-3-ona y el (*E*)-2-octen-1-ol (Darriet y col., 2002). Para investigar sobre la responsabilidad de este hongo en el defecto aromático se inoculó en mosto para comprobar si se conseguía reproducir la nota a “espárrago”. De esta manera se planteó un experimento en bodega con vino real y en el laboratorio con mosto sintético (mosto control y mosto inoculado con el microorganismo). Sin embargo, no se detectó el olor a espárrago en ningún momento, ni en la Universidad ni en la bodega. De hecho, se comprobó que tras inocular dicho hongo en mosto sintético junto con una levadura seleccionada (*Saccharomyces cerevisiae*), en el momento en que se alcanza un 3-5% v/v de etanol el hongo deja de crecer (Ruíz y col., 2019).

Se trata de un estudio en el que no se ha concluido satisfactoriamente qué factores son los que están propiciando la aparición del defecto. Para ello, varias de las hipótesis planteadas deberán ser cotejadas con más trabajo experimental. Elevadas concentraciones de compuestos, a priori no verdes, como el acetaldehído, alcoholes superiores o el acetato de etilo junto con otros con matices más vegetales, como los aldehídos insaturados o el compuesto n.i. 1117, pueden estar propiciando la aparición del defecto “a espárrago” y/o modificando el perfil aromático del vino hacia un perfil menos afrutado.

3.2. Resultados Vinos B

3.2.1. Resultados GC-O

Los resultados obtenidos de este estudio olfatométrico se presentan en la **Tabla 5**, donde aparecen las zonas de olor con una frecuencia modificada (FM%) superior al 30% para alguna de las muestras.

Tabla 5. Estudio GC-O: Datos de los índices de retención en cromatografía de gases-Olfatometría (LRI, índice de retención lineal), descripción olfativa, identidad química, puntuaciones de frecuencia modificada (MF%) para cada zona de olor de los 5 vinos estudiados.

LRI DB-WAX	LRI DB-5	Identificación	Descriptor	B1C	B1D.1	B1D.2	B1D.3	B2D
958	593	diacetilo*	fresa-nata, mantequilla	82	82	80	80	89
1013	825	n.i. ^a (disolvente)**	disolvente, anisado, dulce, verde	0	26	17	30	38
1038	800	butirato de etilo*	dulce, fresa, nata	75	78	71	70	71
1055	848	2-metilbutirato de etilo*	fresa, dulce, frutal	33	36	26	60	50
1057	852	5-etoxi-1,3-hexadieno**	geranio, metálico, floral, vegetal	0	51	75	0	80
1061	-	2,3-pentanodiona***	dulce, caramelo, fresa	0	42	0	0	0
1071	855	3-metilbutirato de etilo*	aspirina, medicinal, fresa	57	67	61	78	74
1102	648	isobutanol*	queso, sucio, rancio	39	33	58	29	55
1128	875	acetato de isoamilo*	plátano, fresa, dulce	82	87	84	43	76
1220	737	alcohol isoamílico*	queso, graso, rancio	90	93	93	85	88
1242	996	hexanoato de etilo*	aspirina, anisado, frutal	82	83	82	80	70
1445	1195	octanoato de etilo*	gas, rúcula, metal	33	37	48	31	53
1460	600	ácido acético*	vinagre	63	67	76	69	87
1515	1154	(Z)-2- nonenal**	papel, pepino, jabón, aceite	55	55	59	63	48
1544	1182	(E)-2-nonenal**	polvo, cartón	15	30	26	31	0
1642	822	ácido butírico*	queso, pies, vómito	33	45	26	29	69
1684	832	ácido isovalerianico*	queso, vómito	65	61	58	80	84
1732	980	metionol*	humedad, patata cocida, gas	0	20	31	18	60
1835	1388	β -damascenona*	mermelada, fruta cocida, membrillo	56	82	65	47	58
1875	1098	guaiacol*	madera, especiado	45	41	42	55	43
1930	1114	β -feniletanol*	floral, rosas, miel	54	57	82	35	83
1978	1134	(E)-whiskylactona*	coco	0	0	0	0	37
2052	1094	furaneol**	algodón de azúcar, caramelo	45	47	41	22	45
2100	1102	p-cresol o m-cresol*	cuero, estiércol, animal, peste	24	41	31	26	33
2188	1365	eugenol*	clavo, especiado	40	0	22	58	57
2218	1154	3-etilfenol*	animal, almizcle	0	0	0	0	63

* Identificación basada en la coincidencia de índices de retención en dos columnas cromatográficas de gases y datos de espectrometría de masas de los compuestos puros disponibles en el laboratorio.

** Identificación basada en la coincidencia de datos de retención cromatográfica y en la similitud de olores. El compuesto no produjo ninguna señal clara en el espectrómetro de masas debido a su baja concentración.

*** Igual que la nota a pie de página ** pero el tiempo de retención en una sola columna

^a n.i. compuestos no identificados.

Encontramos algunos de los alcoholes superiores con mayor FM (alcohol isoamílico, metionol) en los vinos con defecto, así como bastantes compuestos relacionados con la madera, también con frecuencias modificadas importantes (guaiacol, whiskylactona, furaneol, eugenol...) en la

muestra con defecto de la segunda bodega (posiblemente intentado enmascarar el defecto). Estos resultados olfatométricos son coherentes con el análisis químico realizado a estas muestras (ver **Tabla A3.2** del Anexo 3).

De los 26 odorantes de la lista destaca sin lugar a dudas la presencia de un compuesto responsable de una nota “geranio, metálico” alcanzando en algún caso una altísima intensidad (hasta 80% de FM en la muestra B2D) y que se identifica como 5-etoxi-1,3-hexadieno (o mal nombrado 2-etoxi-3,5-hexadieno, según las últimas normas de la IUPAC). Por lo tanto, todo parece indicar que el principal responsable del aroma extraño a geranio es este compuesto presente en las muestras de vendimia mecanizada. Sin embargo, este compuesto no es el responsable de las notas vegetales de la muestra de prensa B1D.3.

El espectro de masas de dicho compuesto no se encontró en estos vinos ya que aun teniendo señales muy altas (hasta 80% de FM) en olfatometría no se obtuvo pico debido a que su concentración suponemos que estará por debajo de los 10 ppb. El espectro de masas que aparece en la **Figura 3** se obtuvo de un vino blanco dulce al que se añadió sorbato para parar la fermentación y a los meses presentó un olor a geranio muy potente. Se inyectó un extracto de aroma obtenido a partir de la metodología explicada por López y col. (2002) en un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas.

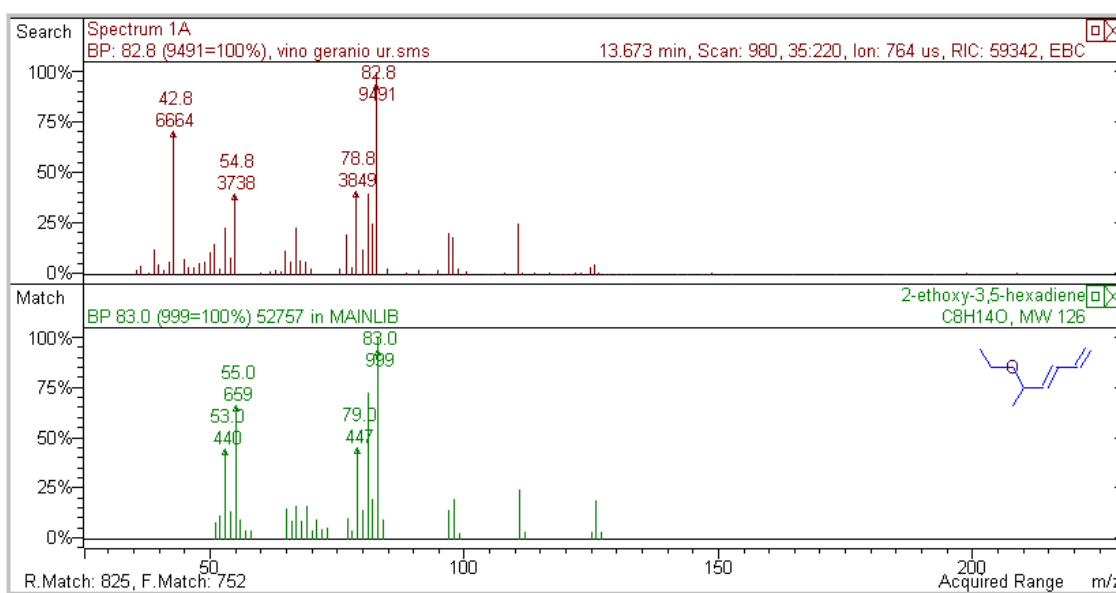


Figura 3. Espectro de masas obtenido en la identificación del 5-etoxi-1,3-hexadieno y su espectro de referencia.

El precursor de este desagradable olor es el ácido (*E,E*)-2,4-hexadienoico, comúnmente conocido como ácido sórbico, que se puede aplicar en el vino como sorbato potásico. Tradicionalmente, este compuesto se adicionaba en vinos con niveles altos de azúcar residual con el objetivo de evitar fermentaciones secundarias por parte de las levaduras y estabilizar el

vino (Etiévant, 1991). Si los tratamientos en el vino se hacían correctamente, con una dosis adecuada de dióxido de azufre, la mayor reacción del ácido sórbico sería con el etanol para dar lugar al sorbato de etilo, un compuesto descrito con aromas de piña y/o apio, que nunca llegaría a superar su umbral de olfacción. Sin embargo, si en los tratamientos no se eliminan las bacterias lácticas del medio, el metabolismo de *Oenococcus oeni* es capaz de reducir el ácido sórbico a su alcohol (2,4-hexadienol); que posteriormente se reorganiza en su alcohol secundario (1,3-hexadienol), para finalmente reaccionar espontáneamente con el etanol para dar el éter 5-etoxi-1,3-hexadieno con su aroma a hojas de geranio (Chisholm y Samuels, 1992; Edinger y Splittstoesser, 1986), como se puede observar en la **Figura 4**. Se habla específicamente de *Oenococcus oeni* ya que se ha demostrado que otras especies de bacterias lácticas como cepas de *Lactobacillus* o *Pediococcus* no tienen esa capacidad (Edinger y Splittstoesser, 1986).

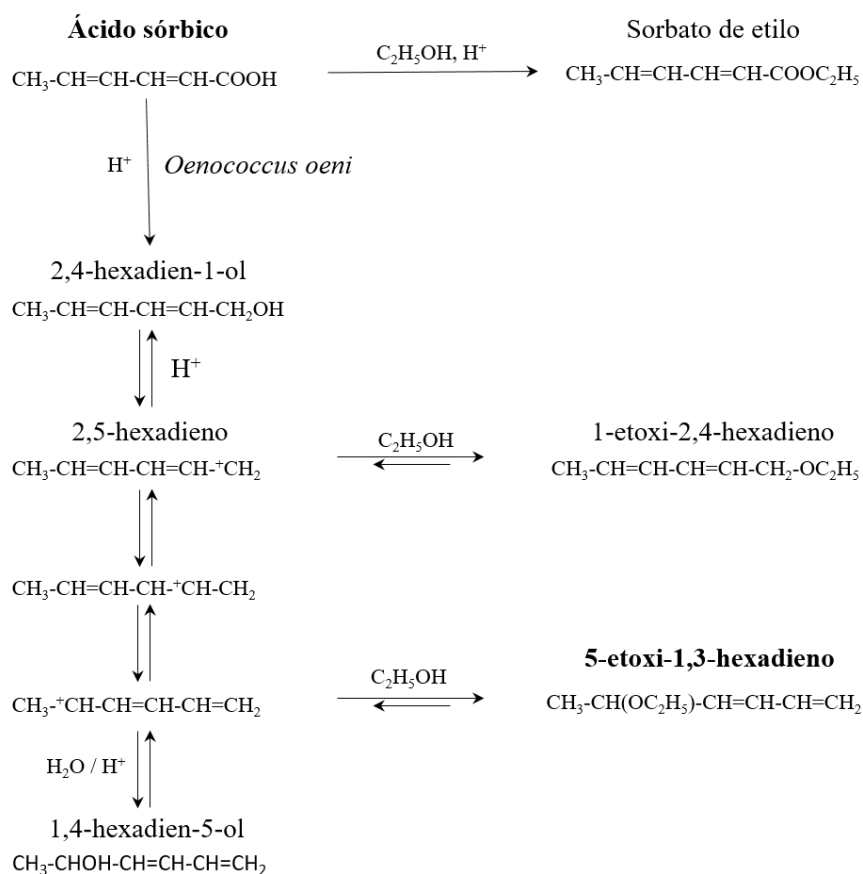


Figura 4. Ruta de síntesis del éter 5-etoxi-1,3-hexadieno en vinos, tomando como precursor el ácido sórbico. Figura adaptada de (Chisholm y Samuels, 1992).

Se trata de un compuesto cuyo umbral de olfacción es inferior a un nanogramo por litro ($0,13 \text{ ng L}^{-1}$) (Chisholm y Samuels, 1992); por lo que es muy fácil detectarlo sensorialmente (GCO o cata), pero su baja concentración, su espectro de masas inespecífico y la ausencia de un patrón comercial lo hace difícil cuantificar instrumentalmente. Actualmente, el empleo de ácido sórbico es anecdótico en las bodegas, ya que ha sido sustituido por otras técnicas. Sin embargo,

se ha detectado la presencia de sorbato de etilo, producto de la esterificación del ácido sórbico, en los vinos con el defecto a geranio de la bodega 1, mediante la técnica que describen López y col. (2002) y además se cuantificó el ácido sórbico presente en las muestras con un equipo HPLC asociado a un detector UV-VIS. Como se ve en la **Tabla 6**, las muestras que presentaban el defecto muestran mayores concentraciones del ácido.

Tabla 6. Concentración de ácido sórbico (mg L^{-1}) y sorbato de etilo ($\mu\text{g L}^{-1}$) en las muestras analizadas.

Muestras	Defecto	Ácido sórbico	Sorbato de etilo
B1C	No	1,61	< LD
B1D.1	Sí	5,59	22,91
B1D.2	Sí	6,67	36,80
B1D.3	No	1,49	< LD
B2C	No	2,21	-
B2D	Sí	3,65	-

<LD: Concentración por debajo del límite de detección.

Se puede afirmar que el compuesto responsable del defecto vegetal con aroma a geranio es el 5-etoxi-1,3-hexadieno. Cuyo origen puede estar en el metabolismo del ácido sórbico por las bacterias lácticas. La siguiente duda a responder sería cual es el origen o la causa de esas elevadas concentraciones de ácido sórbico en aquellos vinos elaborados a partir de vendimia mecanizada, porque ninguna de las empresas afectadas añade ácido sórbico a sus vinos ni a sus uvas. Para tratar de responder esta pregunta se analizó un coadyuvante empleado en el vino donde surgió el defecto. De esta forma, se cuantificó el ácido sórbico en Azotán, dado que este producto fue añadido a las uvas de la vendimia mecanizada de la bodega 1. El análisis no detectó la presencia de ácido sórbico en el producto.

A partir de aquí la hipótesis que se plantea es que alguna hierba pueda aportar el ácido sórbico al vino, precursor del compuesto odorante (5-etoxi-1, 3-hexadieno); ya que el ácido sórbico es un ácido orgánico de origen natural que se encuentra en muchos vegetales. Se analizaron las parcelas afectadas y se encontró una maleza común en los viñedos, cuyo porte erguido podría favorecer su recolección por la vendimiadora, la *Conyza canadensis*. De la maceración de esta maleza en vino se encontraron hasta $1,26 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido sórbico. Estos macerados olían de forma similar a un vermú y en las olfatometrías que se hicieron aparecieron muchas zonas de aromas herbales, asociadas a compuestos como metoxipirazinas (2-isopropil-3-metoxipirazina (FM 82%) y 2-isobutil-3-metoxipirazina (FM 46%)), aldehídos (nonanal (FM 75%), (*E*)-2-nonenal (FM 63%) o (*E,E*)-2,4-nonadienal (FM 45%)) y cetonas (1-octen-3-ona (FM 75%)).

Se lanzaron fermentaciones malolácticas a partir de vino sintético con concentraciones diferentes de ácido sórbico, sorbato potásico, azúcar y macerados con la maleza (el experimento más detallado se encuentra ampliado en el **Apartado A3.3** del Anexo 3 y en el trabajo de Ripa y

Escudero (2018)). A la vista de los resultados obtenidos mediante seguimiento sensorial y GC-O puede concluirse que en los vinos que contienen ácido sórbico o sorbato de etilo (en niveles de 0,2-2 g L⁻¹) se detecta el odorante 5-etoxi-1,3-hexadieno aproximadamente entre los 22 y 30 días tras la inoculación de *Oenococcus oeni*, viéndose incrementada la intensidad aromática con el tiempo. La ausencia de olor a geranio en vinos macerados con *Conyza canadensis* e inoculados con bacterias lácticas, implica que se descarta la mala hierba como precursor del 5-etoxi-1,3-hexadieno.

3.2.2. Resultados cuantitativos

La primera familia de compuestos que se cuantificó debido a su carácter vegetal fueron las metoxipirazinas, sin embargo, no se cuantificó ninguna por encima del umbral en ninguna de las muestras (datos no mostrados). Por lo que se desestimó que pudiesen ejercer un papel relevante en el aroma de los vinos analizados.

De los análisis de compuestos del aroma mayoritarios y trazas (ver **Tabla A3.2** del Anexo 3) realizados se puede concluir que son varios los compuestos cuyos niveles difieren entre las muestras, aunque también entre los lotes, no debemos olvidar que se tratan de añadas distintas y vinos de bodegas diferentes.

Los únicos compuestos que aparecen de manera más prominente en los vinos con defecto de ambas bodegas son algunos alcoholes superiores, como por ejemplo, el metionol o el β -feniletanol. Pero sus diferencias no son tan evidentes como para imprimir un aroma tan característico a los vinos con defecto. Además, cabe destacar que se encontró una concentración elevada de los alcoholes 1-penten-3-ol, (*E*)-2-hexenol y otros alcoholes de 6 átomos de carbono como el (*Z*)-3-hexenol en la muestra de B1D.3, que se trataba de un vino prensa. Ya se ha demostrado que vendimias o vinos que han sufrido un tratamiento mecánico intenso pueden ser más ricos en este tipo de compuestos con descriptores verdes (Herbst-Johnstone y col., 2013). Pudiendo ser estos compuestos los responsables del matiz verde encontrado en este vino, ya que tanto el 1-penten-3-ol como el (*Z*)-3-hexenol superan el umbral de olfacción.

Entre los vinos de la segunda bodega, la muestra con el aroma extraño presenta niveles significativamente inferiores de acetoína y acetato de etilo, al contrario de lo que ocurre en las muestras de la primera bodega. Respecto a los compuestos minoritarios de la bodega 2, se puede concluir que la muestra portadora del aroma extraño presenta niveles significativamente superiores de la mayoría de los monoterpenoles analizados y de varios fenoles volátiles, lactonas y derivados de la vainilla relacionados con la madera. Posiblemente estas diferencias se deban a algún tratamiento que se pudo realizar sobre el vino con el defecto, pues en las muestras de la bodega 1 no se aprecian dichas diferencias.

Ninguna de las diferencias encontradas con los análisis químicos justifica el aroma a hojas de geranio que presentan determinadas muestras. Por lo que se puede concluir que el éter 5-etoxi-1,

3-hexadieno es el responsable del defecto olor a hojas de geranio en los vinos problema, pero no se pudo resolver cual era el origen de las concentraciones de ácido sórbico en las muestras.

3.3. Resultados Vinos C

3.3.1. Datos olfatométricos

Los resultados del análisis olfatométrico se muestran en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Estudio olfatométrico: Datos de los índices de retención en cromatografía de gases-Olfatometría (LRI, índice de retención lineal), descripción olfativa, identidad química, puntuaciones de frecuencia modificada (MF%) para la muestra con defecto estudiada.

LRI DB-WAX	LRI DB-5	Identificación	Descriptor	% FM Muestra CD
941	728	acetaldehído dietil acetal**	disolvente, afrutado	48
958	593	diacetilo*	fresa-nata, caramelo, mantequilla	85
1013	825	n.i. ^a (disolvente)**	disolvente, anisado, dulce, verde	53
1036	800	butirato de etilo*	dulce, fresa, nata	76
1055	848	2-metilbutirato de etilo*	fresa, dulce, frutal	51
1071	855	3-metilbutirato de etilo*	aspirina, medicinal, fresa	79
1102	648	isobutanol*	queso, sucio, rancio	47
1110	-	1-hexen-3-ona ***	basura, desagradable	30
1128	875	acetato de isoamilo*	plátano, fresa, dulce	47
1220	737	alcohol isoamílico*	queso, graso, rancio	93
1242	996	hexanoato de etilo*	aspirina, medicinal, anisado, frutal	80
1293	952	furfuril etil éter / octanal***	disolvente, pegamento	40
1305	975	1-octen-3-ona**	champiñón, humedad	25
1392	982	(Z)-1,5-octadien-3-ona**	tallo de flor, verde	38
1407	1080	1-nonen-3-ona**	champiñón	30
1439	1090	3-isopropil-2-metoxipirazina*	tallo, verde, pimiento, terroso	59
1458	600	ácido acético*	vinagre	48
1533	1181	3-isobutil-2-metoxipirazina*	vegetal	16
1680	832	ácido isovalerianico*	queso, vómito	45
1730	980	metionol*	humedad, rancio, patata cocida, gas	37
1835	1388	β -damascenona*	mermelada, fruta cocida	57
1875	1098	guaiacol*	madera, especiado	44
1930	1114	β -feniletanol*	floral, rosas, miel	55
1978	1134	(E)-whiskylactona*	coco	50
2100	1102	p-cresol o m-cresol*	cuero, estiércol, animal, peste	40
2180	1365	eugenol*	clavo, especiado	32

* Identificación basada en la coincidencia de índices de retención en dos columnas cromatográficas de gases y datos de espectrometría de masas de los compuestos puros disponibles en el laboratorio. ** Identificación basada en la coincidencia de datos de retención cromatográfica y en la similitud de olores. El compuesto no produjo ninguna señal clara en el espectrómetro de masas debido a su baja concentración. *** Igual que la nota a pie de página ** pero el tiempo de retención en una sola columna. ^a n.i. compuestos no identificados.

El compuesto más relevante con descriptores verdes o vegetales que se encuentra en la olfatometría es la 3-isopropil-2-metoxipirazina, aunque no es la única metoxipirazina que aparece en el estudio, ya que también aparece la 3-isobutil-2-metoxipirazina, aunque con una

intensidad mucho menor. No se debe olvidar que además de las metoxipirazinas encontramos una serie de cetonas (1-hexen-3-ona, 1-octen-3-ona, (Z)-1,5-octadien-3-ona y la 1-nonen-3-ona) que pueden estar jugando un papel sumamente importante en la percepción del defecto. Aunque su intensidad no sea muy alta puede haber un efecto sinérgico entre estos compuestos, cuyo origen puede estar en algún tipo de contaminación fúngica (Darriet y col., 2002).

También cabe destacar la presencia del acetaldehído dietil diacetal. Se trata de un compuesto que se origina por la reacción del etanol con el acetaldehído (Zea y col., 2015) por lo que se suele emplear como un marcador de vinos de crianza biológica y/o oxidativa (Moyano y col., 2002; Zea y col., 2015). Por lo tanto, su presencia es bastante sorprendente en un vino de estas características.

3.3.2. Datos Cuantitativos

Los resultados cuantitativos de la muestra que presenta el problema se muestran en la **Tabla A3.2** del Anexo 3. Para tener unas medidas de referencia se comparan estos datos con concentraciones halladas en un set de vinos comerciales de precio medio sin defectos que se encuentra publicado en otro trabajo del grupo LAAE (San Juan y col., 2012).

Los datos cuantitativos de los compuestos mayoritarios muestran una cantidad importante de acetaldehído, 3 ppm de libre, que corrobora la presencia de acetaldehído dietil diacetal en la olfatometría. El acetaldehído a bajas concentraciones puede aportar una mejora en las notas frutales, pero a altas concentraciones su percepción se torna contraproducente, con notas verdes o a manzana golpeada (Liu y Piloni, 2000). También destacan otros compuestos que pueden jugar un rol relevante como compuestos supresores de la fruta como son el acetato de etilo (65mg L^{-1}) o de alcohol isoamílico (225mg L^{-1}) (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016; Ferreira y col., 2016). Encontramos niveles bajos de determinados compuestos con notas frutales, como por ejemplo el acetato de isoamilo ($0,09\text{ mg L}^{-1}$). Por todo ello, parece que existe algún tipo de desequilibrio en compuestos de origen fermentativo.

En los análisis de compuestos traza no destacan claramente ningún componente, salvo por el geraniol ($8,3\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$), que presenta unos niveles bastante altos para lo que se suele reportar en vinos tintos, aunque no supera el umbral de olfacción ($20\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$).

Por último, destacan los datos cuantitativos de las metoxipirazinas en la **Tabla 8**, que corroboran los resultados olfatométricos. Encontramos la 3-isopropil-2-metoxipirazina por encima de su valor umbral. Estos valores, en una variedad como el tempranillo que no es muy rica en metoxipirazinas puede deberse a la inclusión de insectos como *Harmonia axyridis* y/o *Coccinella septempunctata* en la vendimia mecánica, produciendo el defecto conocido como “ladybug taint” (Botezatu y col., 2013; Pickering y col., 2005). Sin embargo, en estos estudios bibliográficos de “ladybug taint” las concentraciones de las metoxipirazinas son superiores a las

encontradas en la muestra con el defecto, tanto en los vinos antes de ser tratados con insectos, como lo que aporta el tratamiento (**Tabla 8**).

También se han podido introducir uvas de otras variedades diferente al Tempranillo en la elaboración del vino CD. Pero lo cierto es que las metoxipirazinas pueden estar afectando a la percepción sensorial de este vino.

Tabla 8. Concentración de metoxipirazinas (ng L^{-1}) en la muestra con defecto CD, sus niveles medios en un set de 35 vinos comerciales, incremento máximo de las concentraciones en vinos de Cabernet sauvignon elaborados con la inclusión de insectos/concentración final y los umbrales de olfacción.

Compuestos	Muestra con defecto (CD)	Concentración media del set de 35 vinos	Incremento en vinos de tratados con insectos / Concentración final	Umbral de olfacción ^a
3-isopropil-2-metoxipirazina	3,66	0,8 ¹	28 ² / 40,8 ²	1 ³
3-sec-butil-2-metoxipirazina	0,19	<0,2 ¹	17,9 ² / 24,1 ²	2 ⁴
3-isobutil-2-metoxipirazina	11,98	2 ¹	8,6 ² / 34,3 ²	15 ⁵

^a La referencia donde se han tomado los datos se da con superíndices: [1] (San Juan y col., 2012) [2] (Botezatu y col., 2013). [3] (Pickering y col., 2007). [4] (Sidhu y col., 2015). [5] (Roujou de Boubee y col., 2000).

^b n.d.: dato no disponible

Se ha demostrado que la sola presencia de metoxipirazinas no son suficientes para explicar las percepciones verdes en algunos vinos (Preston y col., 2008). Sin embargo, en este vino se unen varios hechos:

- la presencia de compuestos supresores del aroma (alcohol isoamílico y acetato de etilo)
- altas dosis de acetaldehído
- bajas concentraciones de algunos compuestos frutales como el acetato de isoamil
- presencia de algunos componentes aromáticos con matices verdes como la 3-isopropil-2-metoxipirazina y la (Z)-1,5-octadien-3-ona.

Para llegar a conclusiones más sólidas sería necesario el estudio de un mayor número de muestras con este problema aromático y las correspondientes muestras sin defecto, además de experimentos sensoriales que confirmen las hipótesis planteadas y corroborar si el origen es fermentativo, fúngico, del tipo de vendimia planteada o de varias fuentes simultáneamente.

4. Conclusiones

El presente trabajo pone en relevancia que cuando nos enfrentamos al problema del verdor en vinos tintos, nos podemos encontrar con diferentes escenarios. Independientemente que estemos trabajando con la misma variedad o en la misma zona de elaboración.

El escenario químicamente más sencillo es aquel en el que el verdor está causado por un solo compuesto que dota al vino de caracteres vegetales, como ocurre en el caso de los vinos con aromas a hoja de geranio del bloque B debido a la presencia del 5-etoxi-1,3-hexadieno.

Sin embargo, las cosas no son siempre sencillas cuando se trabaja con una matriz tan compleja como el vino. Muchos componentes pueden intervenir en sensaciones multidimensionales, como es el verdor, aunque dichos compuestos no presenten claramente el atributo verde. Es lo que podría ocurrir con compuestos como el acetaldehído, el alcohol isoamílico o el acetato de etilo, que, a pesar de no presentar atributos vegetales, sí que podrían aportar una nota punzante que además puede suponer un detrimento de las notas frutales en los vinos.

Es posible que las condiciones anteriores sean necesarias, pero no suficientes para aportar verdor a un vino, pero si además se suman bajos niveles de compuestos frutales como el acetato de isoamilo y una marcada presencia de componentes con atributos vegetales como las metoxipirazinas o la (Z)-1,5-octadien-3-ona podemos encontrarnos con problemas de verdor más marcados, como los que aparecen en el vino del bloque C.

Del mismo modo, si un vino con altas concentraciones de compuestos supresores como acetaldehído o acetato de etilo presenta niveles altos de otros compuestos con aromas verdes, como son algunos aldehídos insaturados o compuestos no identificados (n.i. 1117) puede que nos encontremos con una nota vegetal diferente, como ocurre en los vinos del bloque A con aroma a espárrago triguero.

Todas estas hipótesis precisan de un minucioso trabajo sensorial que pueda esclarecer el verdadero rol de estos componentes en la percepción del verdor.

5. Referencias

- Alegre, Y., Sáenz-Navajas, M.-P., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020). Sensory, olfactometric and chemical characterization of the aroma potential of Garnacha and Tempranillo winemaking grapes. *Food Chemistry*, 331, 127207. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127207>
- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2700–2707. <https://doi.org/10.1021/jf026115z>
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. In *Connaissance de la Vigne et du Vin: Vol. v. 22*.
- Botezatu, A. I., Kotseridis, Y., Inglis, D., & Pickering, G. J. (2013). Occurrence and contribution of alkyl methoxypyrazines in wine tainted by *Harmonia axyridis* and *Coccinella septempunctata*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(4), 803–810. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5800>
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, 1141(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.106>
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>
- Chisholm, M. G., & Samuels, J. M. (1992). Determination of the Impact of the Metabolites of Sorbic Acid on the Odor of a Spoiled Red Wine. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry* (Vol. 40). <https://doi.org/10.1021/jf00016a021>
- Corison, C. A., Ough, C. S., Berg, H. W., & Nelson, K. E. (1979). Must acetic acid and ethyl acetate as mold and rot indicators in grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30(2), 130–134.
- Culleré, L., Ontañón, I., Escudero, A., & Ferreira, V. (2016). Straightforward strategy for quantifying rotundone in wine at ng L-1 level using solid-phase extraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Occurrence in different varieties of spicy wines. *Food Chemistry*, 206, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.039>

- Darriet, P., Pons, M., Henry, R., Dumont, O., Findeling, V., Cartolaro, P., Calonnec, A., & Dubourdiou, D. (2002). Impact odorants contributing to the fungus type aroma from grape berries contaminated by powdery mildew (*Uncinula necator*); incidence of enzymatic activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(11), 3277–3282. <https://doi.org/10.1021/jf011527d>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, *210*, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- Etinger, W. D., & Splittstoesser, D. F. (1986). Production by Lactic Acid Bacteria of Sorbic Alcohol, the Precursor of the Geranium Odor Compound. *American Journal of Enology and Viticulture*, *37*(1), 34–38. <https://www.ajevonline.org/content/37/1/34>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, *69*, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/jf9006483>
- Ferreira, V., & López, R. (2019). The actual and potential aroma of winemaking grapes. *Biomolecules*, *9*(12). <https://doi.org/10.3390/biom9120818>
- Ferreira, V., Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Herrero, P., de la Fuente, A., & Fernández-Zurbano, P. (2016). Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances. *Food Chemistry*, *199*, 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.048>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odor thresholds*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Goniak, O. J., & Noble, A. C. (1987). Sensory Study of Selected Volatile Sulfur Compounds in White Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *38*(3), 223–227.
- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>
- Herbst-Johnstone, M., Araujo, L. D., Allen, T. A., Logan, G., Nicolau, L., & Kilmartin, P. A. (2013). Effects of Mechanical Harvesting on 'Sauvignon Blanc' Aroma. In S. Poni (Ed.), *1 International Workshop on Vineyard Mechanization and Grape and Wine Quality* (Vol. 978). International Society for Horticultural Science.
- Liu, S. Q., & Pilone, G. J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology*, *35*(1), 49–61. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00341.x>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Mohekar, P., Lapis, T. J., Wiman, N. G., Lim, J., & Tomasino, E. (2017a). Brown Marmorated Stink Bug Taint in Pinot noir: Detection and Consumer Rejection Thresholds of trans-2-Decenal. *American Journal of Enology and Viticulture*, *68*(1), 120–126. <https://doi.org/10.5344/ajev.2016.15096>

- Mohekar, P., Osborne, J., Wiman, N. G., Walton, V., & Tomasino, E. (2017b). Influence of Winemaking Processing Steps on the Amounts of (E)-2-Decenal and Tridecane as Off-Odorants Caused by Brown Marmorated Stink Bug (*Halyomorpha halys*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(4), 872–878. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04268>
- Moyano, L., Zea, L., Moreno, J., & Medina, M. (2002). Analytical study of aromatic series in sherry wines subjected to biological aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(25), 7356–7361. <https://doi.org/10.1021/jf020645d>
- OIV. (2018). *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*. Paris: Office International de la Vigne et du Vin.
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, *84*(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, *72*(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>
- Pickering, G. J., Lin, Y., Reynolds, A., Soleas, G., Riesen, R., & Brindle, I. (2005). The influence of *Harmonia axyridis* on wine composition and aging. *Journal of Food Science*, *70*(2), S128–S135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07117.x>
- Preston, L. D., Block, D. E., Heymann, H., Soleas, G., Noble, A. C., & Ebeler, S. E. (2008). Defining vegetal aromas in Cabernet Sauvignon using sensory and chemical evaluations. *American Journal of Enology and Viticulture*, *59*(2), 137–145.
- Ripa, I., & Escudero, A. (2018). *Uso de bacterias lácticas en la búsqueda del origen exógeno del olor a geranio en vinos procedentes de uva mecanizada* Trabajo fin de grado, Universidad de Zaragoza, Spain. <https://zaguan.unizar.es/record/77862>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- Ruíz, N., Aínsa, J. A., & Escudero, A. (2019). *Crecimiento del hongo Aureobasidium pullulans en condiciones enológicas y caracterización aromática del medio*. Trabajo fin de grado, Universidad de Zaragoza, Spain. <https://zaguan.unizar.es/record/87394?ln=es>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *55*(4), 485–502. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.658587>
- Siebert, T., Bramley, B., & Solomon, M. (2009). Hydrogen sulfide: Aroma detection threshold study in white and red wines. *AWRI Technical Review*, *183*, 14–16.
- Solomon, M. R., Geue, J. ., Osidazc, P., & Siebert, T. (2010). Aroma detection threshold study of methanethiol in white and red wine. *AWRI Technical Review*, *186*, 8–10.
- Tominaga, T., des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(12), 5215–5219. <https://doi.org/10.1021/jf980481u>
- Zea, L., Serratos, M. P., Mérida, J., & Moyano, L. (2015). Acetaldehyde as Key Compound for the Authenticity of Sherry Wines: A Study Covering 5 Decades. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *14*(6), 681–693. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12159>

Sección III. Estudios de la influencia de madurez de la uva y del potencial vegetativo del viñedo en el perfil aromático de los vinos tintos



- *Entonces, ¿cómo se reconoce una uva realmente madura?*
- *Depende de la parcela, del viticultor, pero sobretodo de la tierra y de cómo has trabajado el suelo durante el año. Yo solo tengo un criterio: Pruebo una. Cuando ves que la piel está floja, que la pulpa ya no cruje, que la semilla está oscura, entonces ¡al ataque! Hay que vendimiar enseguida.*

Les ignorants - Étienne Davodeau

Chapter 5. Effects of vineyard ‘potential’ and grape maturation on the aroma-volatile profile of Grenache wines

1. Introduction

A large number of factors must be controlled and a great deal of information considered to create a high-quality product with specific characteristics and properties. This is especially true for wine, which is a beverage of enormous complexity (de-la-Fuente-Blanco *et al.*, 2017). Within the matrix of elements conferring this complexity, aroma plays a key role in the perception of the quality and characteristics of the wine (Ferreira *et al.*, 2009). Therefore, it is essential to understand which factors are most important in determining a wine’s aromatic compound profile.

These factors depend largely on the variety of the grape from which the wine is produced. Grenache is one of the most widely grown *Vitis vinifera* varieties in the world, especially in Spain, where it is used to produce many wines with appellations of origin, such as Rioja and Somontano. Wines produced from Grenache are neutral and have a high alcohol content, therefore the vineyard must be thoroughly controlled to obtain the best results. This makes it an interesting variety to study, because the world is experiencing a series of environmental shifts that may be changing our understanding or attitudes towards vineyards and winemaking. The clearest example of these shifts is the increase in the average temperature of the planet’s surface, which in turn means an increase in the alcohol content of wines, as well as expedited grape maturation and earlier harvest (Edwards *et al.*, 2017). Against this background, and given that the market does not currently favour full-bodied wines with high alcohol content, many wineries have opted to harvest slightly earlier. However, this practice can have consequences that winemakers and other wine professionals cannot control (Jones and Davis, 2000). Therefore, we need greater knowledge within the field of viticultural research to develop the tools and techniques necessary to manage the effects of climate change on the wine industry in a consistent manner. However, few detailed studies have been carried out on how different vineyard characteristics and different degrees of grape maturation affect a wine’s flavor and aroma profile.

Grape variety, climatology, soil and production system influence grapevine vigour and thus determine the characteristics of the canopy, microclimate, health and maturation of the grape; all these factors determine the final quality of the wine (Reynolds and Heuvel, 2009). Therefore, an understanding of these vineyard characteristics is fundamental if we are to propose management techniques that ensure optimal grape conditions at harvest and consequently the production of high-quality wine (Marcon *et al.*, 2015). At present, exposed leaf area (ELA, expressed in square metres) relative to production (P, expressed as kilograms of grapes), that is, ELA/P ratio, is one of the indicators most commonly used to control grape quality. For single canopy-type trellis-

training systems, the ELA/P ratio required to maximize total soluble solid content, berry weight and berry colour at harvest ranges from 0.8 to 1.2 m² kg⁻¹ (Kliewer and Dokoozlian, 2005).

Another important factor in the vineyard environment is grape maturity. The ripening process is extremely complex, with concentrations of precursors and metabolites increasing or decreasing significantly over time (Coombe and McCarthy, 1997). Harvesting on one day as opposed to another can result in significant differences in the end product, that is, the wine. However, our understanding of how changes during ripening influence the aromatic compound profile of a wine remains limited. Currently, wineries usually evaluate sugar content, pH and acidity, and do colorimetric tests to evaluate the maturity of a vintage, but none of these variables indicate the aromatic potential of the grape (Yuan and Qian, 2016). Therefore, it would be useful to correlate some of these variables with the aromatic potential of a vintage.

To this end, we carried out two studies to determine the effects of varying two winemaking variables, that is, vineyard potential and grape maturity (in other words, the degree of ripeness of the grape), on the aroma compound profile of the wine end-product.

2. Materials and Methods

2.1. Reagents, solvents and standards

High-performance liquid chromatography-quality dichloromethane, ethanol and methanol were supplied by Fisher Scientific (Loughborough, UK). LiChrolut EN resins were supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Pure water was obtained from a Milli-Q purification system from Millipore (Bedford, Germany). The standards (purity > 98% in all cases) were supplied by Merck, ChemService (West Chester, PA, USA), PolyScience (Niles, IL, USA), Lancaster (Eastgate, UK), Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany), PanReac (Barcelona, Spain), Firmenich (Geneva, Switzerland), AromaLab (Planegg, Germany) and Oxford Chemicals (Hartlepool, UK).

2.2. Preparation of wine samples

2.2.1. Vineyard potential study

The first study focused on two different kinds of vineyard: high maturation potential and low maturation potential. Wines were prepared from grapes of the 2015 vintage of the Pirineos Winery, with the Somontano appellation of origin. Samples of each wine were then analysed in September 2016.

Five full-production and commercial vineyards were selected: three high-potential vineyards and two low-potential vineyards. The *Vitis vinifera* grapevine was cv. Grenache, grafted on a 110-Richter rootstock. Vineyard age ranged between 11 and 32 years. The vineyards are close to each other and at a similar altitude (443.4 ± 46.2 m). The soils are calcareous and poor in organic matter content.

The vineyard blocks (high and low potential) with a priori maximal diversity in quality were selected based on historical data and criteria derived from the commercial system Dyosystem® (Vivelys, Villeneuve-lès-Maguelone, France). According to the manufacturer's instructions, this tool monitors sugar loading and changes in the colour of the fruit to classify grape quality and determine the optimal harvest date.

Numerous characteristics of the vineyard, as summarized in **Table 1**, were also considered.

The high-potential vineyards contained a balanced crop, which was always under good physiological and phytosanitary conditions, and their clusters were loose and homogeneous. Their mean yield was $5051 \pm 1098 \text{ kg ha}^{-1}$ and their mean ELA/P was $1.07 \pm 0.15 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$. In contrast, in the low-potential vineyards the strains showed an excess of vigour. Additionally, the bunches were more heterogeneous; some were loose with small berries, whereas others were compact with relatively swollen grapes. The mean yield of these vineyards, $8607 \pm 523 \text{ kg ha}^{-1}$, was higher than that of the high-potential vineyards, but their mean ELA/P ratio, $0.6 \pm 0.01 \text{ m}^2 \text{ kg}^{-1}$, was lower; thus, the results show a patent imbalance.

Grapes were sampled at random from 15-kg boxes of grapes collected by hand, with the sampling adapted to the geography of the vineyard and the practicalities of the winery. Moreover, whenever possible, grapes from vines growing at the borderlines of the vineyard were not harvested.

Two kinds of vinification were carried out to obtain a more realistic view of the process. Grapes from two high-potential vineyards and one low-potential vineyard were processed using microvinification methods (i.e. microfermentation). Grapes from the other two vineyards (one high potential and one low potential) were processed using vinification methods used in industrial wineries.

Microvinification was carried out in 70-L tanks containing 40 kg of grapes. Processing was carried out in triplicate for grapes from each vineyard. First, the grapes were destemmed and squeezed lightly. To the resulting paste was added 0.05 g L^{-1} of SO_2 (in the form of metabisulfite; dilution, 1:10), dry ice and a dose of 0.008 mL L^{-1} pectolytic enzymes (Endozym ICS 10 Rouge, AEB, Stuttgart, Germany). Twenty-four hours later, all tanks were inoculated with Lalvin ICVD 254 (Lallemand, Montreal, Canada) at $10^6 \text{ cells mL}^{-1}$, which was reactivated with the organic (85%) and inorganic (15%) nutrient mixture (0.2 g L^{-1}) INI-LEV (LEV2050, Alzoaín, Spain). Once alcoholic fermentation was complete, the wines were inoculated with the malolactic bacterium (*Oenococcus oeni*) strain Lalvin VP41 (Lallemand). After malolactic fermentation, free sulphur dioxide was adjusted to 30 mg L^{-1} . Then the wine was filtered and bottled.

Industrial vinifications carried out the fermentation in tanks of 10,000 L. Apart from this difference, the process and dosages of additives were the same as described previously for microvinification. A series of treatments were carried out for separate study to investigate the effects of ageing the wines after malolactic fermentation by means of the use of different doses of micro-oxygenation and by maceration using chips at different toasted degree.

Table 1. Characteristics of the vineyards selected for the studies

Character	Vineyard ^a				
	High 1	High 2	High 3	Low 1	Low 2
Vineyard conditions					
Soil type	Fine sandy loam	Fine sandy loam	Fine sandy loam	Loam	Fine sandy loam
Altitude (m)	463	398	428	514	414
Row orientation	S–W	S–W	W	S–W	N–E
Vineyard age (years)	32	24	16	18	11
Vine spacing, maximum (m)	3.1 × 1.2	3.1 × 1.2	3.1 × 1.2	3.1 × 1.2	3.3 × 1.2
No. of vines ha ⁻¹	2444	2366	2366	2444	2222
Yield and vegetative growth					
Mean no. of bunches in 10 vines	11.8	9.8	12.6	20.3	20.4
Mean bunch weight (kg)	0.208	0.166	0.178	0.166	0.198
Yield (kg ha ⁻¹)	6000	3848	5306	8237	8976
Mean canopy width (m)	0.3	0.4	0.5	0.35	0.6
Mean canopy height (m)	1.1	0.8	0.8	0.8	1
Solar exposure (%)	50	40	60	50	50
Mean exposed leaf area (m ² /vine)	2.64	1.92	1.92	1.92	2.40
Mean ELA/P ratio	1.1	1.2	0.90	0.6	0.59
Agricultural practices					
Shoot thinning	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Shoot tipping	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Desuckering	Yes	Yes	Yes	Yes	No
Irrigation	No	No	No	No	No
Trellising	Double guyot	Double guyot	Double guyot	Double guyot	Double guyot
Mulching	No	No	No	No	No
Leaf plucking	No	No	No	No	No
Tilling	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Vine and cluster status					
Leaf layers	3 or 4	3 or 4	3 or 4	3 or 4	> 4
Damaged leaves (%)	< 2	2–10	< 2	< 2	< 2
Water availability	Light stress	Medium	Medium	Light stress	Light stress
Growth cessation	Partial	Partial	Partial	Total	Null
Vigour	Moderate	Moderate	Moderate	Moderate	High
Affected cluster (%)	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Cluster compactness	Medium	Small	Small	Medium	Big
Berry size	Small	Medium	Small	Small	Medium

ELA/P ratio, exposed leaf area (*surface foliaire exposée*, ELA, expressed in square metres) relative to production (P, expressed as kilograms of grapes).

^a‘High’ and ‘Low’ refer to the vineyard’s potential.

2.2.2. Grape maturation study

In the second study, grapes from one high-potential vineyard were harvested at three different times, calculated from *véraison*. At the earliest harvest time, 38 days post *véraison*, grapes were collected before they had reached optimal maturity; these were used to produce wines 1–3 (mean pH, 3.29; mean alcohol content, 14.7% v/v). The second collection was 1 week later, 45 days after *véraison*; the harvested grapes were used to produce wines 7–9 (mean pH, 3.36; mean alcohol content, 15.3% v/v). The third collection was 3 weeks after the first, at 59 days post *véraison*; the harvested grapes were used to produce wines 13–15 (mean pH, 3.40; mean alcohol content, 17.8% v/v).

The wines were produced as described previously for microvinification in the first study, again with processing carried out in triplicate.

Details of each of the wines produced are summarized in **Table 2**.

Table 2. Wines analysed in the vineyard potential and grape maturation studies

Wine number(s)	Vinification ^a	Vineyard potential ^b	No. of days post <i>véraison</i>	Wine sample code(s) ^a
1–3	Microvinification	High 1	38	HP1-D38-M1, HP1-D38-M2, HP1-D38-M3
4–6	Microvinification	High 2	45	HP2-D45-M1, HP2-D45-M2, HP2-D45-M3
7–9	Microvinification	High 1	45	HP1-D45-M1, HP1-D45-M2, HP1-D45-M3
10–12	Microvinification	Low 1	45	LP1-D45-M1, LP1-D45-M2, LP1-D45-M3
13–15	Microvinification	High 1	59	HP1-D59-M1, HP1-D59-M2, HP1-D59-M3
16	Industrial T0	High 3	45	HP3-D45-T0
17	Industrial T1	High 3	45	HP3-D45-T1
18	Industrial T2	High 3	45	HP3-D45-T2
19	Industrial T3	High 3	45	HP3-D45-T3
20	Industrial T4	High 3	45	HP3-D45-T4
21	Industrial T0	Low 2	45	LP2-D45-T0
22	Industrial T1	Low 2	45	LP2-D45-T1
23	Industrial T2	Low 2	45	LP2-D45-T2
24	Industrial T3	Low 2	45	LP2-D45-T3
25	Industrial T4	Low 2	45	LP2-D45-T4

Wines 1–15 were produced by microvinification of grapes from different vineyards and harvested at different times, and wines 16–25 by industrial vinification from grapes from different vineyards but harvested at the same time

^aThe codes indicate the following: D38, D45 and D59, grapes harvested at 38, 45 and 59 days post *véraison*, respectively; HP1, HP2 and HP3, from high-potential vineyards 1, 2 and 3, respectively; LP1, LP2 and LP3, from low-potential vineyards 1, 2 and 3, respectively; M1, M2 and M3, refers to microvinification 1,2 and 3 respectively; T0, T1, T2, T3 and T4, are the different micro-oxygenation and chips treatments.

^b‘High’ and ‘Low’ refer to the vineyard’s potential.

2.3. Methods

2.3.1. Oenological variables

The following oenological variables of the 25 wines were determined: pH, volatile acidity, total acidity, residual sugar content, malic acid content, lactic acid content, ethanol content, easily

assimilated nitrogen, colour index and total polyphenols index (TPI). All were evaluated according to the methods of the Office International de la Vigne et du Vin (OIV, 2018).

2.3.2. Quantitative analysis of methoxypyrazinas and rotundone

The methoxypyrazine and rotundone concentrations of the wines were determined using stir-bar sorptive extraction, followed by thermal desorption gas chromatography coupled with mass spectrometry, using a procedure described previously (Wen *et al.*, 2018). A total of 5 mL of sample was transferred into a clean 25-mL Erlenmeyer flask, then 1 mL of 0.5 M citric acid–sodium citrate buffer was added to the same flask to adjust the pH to 5.4. After extraction (750 rpm for 30 min), the stir bar was desorbed using a thermal desorption unit and a cryocooled injection system (CIS 4) with a programmable temperature vaporization inlet equipped with an MPS autosampler (Gerstel, Müllheim an der Ruhr, Germany). The stir bar was thermally desorbed in the thermal desorption unit (splitless mode).

The analysis was carried out using an Agilent 7890A gas chromatograph equipped with a Deans switch device (Agilent Technologies, Santa Clara, USA), enabling the selective transfer of heart cuts from the first column to the second. The first column was a DB-5MS column (length, 15 m; internal diameter, 250 µm; film thickness, 0.25 µm) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) combined with a flame ionization detector and the Deans' switch. The second column was a Sapiens-WAX mass spectrometer (Teknokroma, Barcelona, Spain) (length, 30 m; internal diameter, 250 µm; film thickness, 1 µm) connected directly to an Agilent 5975C mass spectrometer. A quadrupole mass detector was operated in selected ion–monitoring mode with electron ionization.

Stable isotope dilution analysis was used to quantify compounds with selected mass fragments. The compounds were methoxypyrazines (3-isopropyl-2-methoxypyrazine, IPMP; 3-isobutyl-2-methoxypyrazine, IBMP; and 3-*sec*-butyl-2-methoxypyrazine, SBMP) and a sesquiterpene (rotundone).

2.3.3. Quantitative analysis of major compounds

Twenty-nine major compounds were isolated from the wines by liquid–liquid extraction and then analysed by gas chromatography with flame ionization detection, following the method described by Ortega *et al.* (2001). The analytes were: Carbonyl compounds: carbonyl compounds of fermentative origin (acetoin and diacetyl) and oxidation-related carbonyl compounds (acetaldehyde). Esters: linear fatty acid derivatives (ethyl propanoate, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate and ethyl decanoate) and esters of fermentative origin (ethyl lactate, diethyl succinate, ethyl acetate, isoamyl acetate and hexyl acetate). Alcohols: isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, methionol, benzylic alcohol and β-phenylethanol, and two C6 alcohols (1-hexanol and (*Z*)-3-hexenol). Acids: linear fatty acids (acetic acid, butyric acid, hexanoic acid,

octanoic acid and decanoic acid) and branched fatty acids (isobutyric acid and isovaleric acid). Lactones: γ -butyrolactone.

Analyses were carried out using a GC-3800 from Varian (Walnut Creek, CA, USA) equipped with a flame ionization detector. The column used was a DB-WAX from J & W (length, 30 m; internal diameter, 0.32 mm; film thickness, 0.5 mm). The carrier gas was helium (flow rate, 2.2 mL min⁻¹). A total of 2 μ L of the sample was injected in split mode (1:20). Analytes were referred to a selected internal standard (4-hydroxy-4-methyl-pentanone, 2-butanol, 4-methyl-2-pentanol, 2-octanol, heptanoic acid or ethyl heptanoate), and the selected method for calibration was determination of relative response factors.

2.3.4. Quantitative analysis of minor and trace compounds

Forty-three minor and trace compounds were isolated by solid-phase extraction and then analysed by gas chromatography coupled with a mass spectrometry detection system, as explained by López *et al.* (2002). The analytes were: Carbonyl compounds: an oxidation-related carbonyl compound (benzaldehyde) and norisoprenoids (β -damascenone, α -ionone and β -ionone). Esters: branched-acid derivatives (ethyl isobutyrate, ethyl 2-methylbutyrate and ethyl isovalerate), esters of varietal origin (methyl vanillate, ethyl vanillate, ethyl dihydrocinnamate and ethyl cinnamate), and esters of fermentative origin (isobutyl acetate, butyl acetate and phenylethyl acetate). Alcohols: 1-penten-3-ol, C6 alcohols (*E*-2-hexenol, *Z*-2-hexenol and *E*-3-hexenol) and two C8 alcohols (1-octen-3-ol and *E*-2-octen-1-ol). Terpenols: linalool, linalool acetate, α -terpineol, β -citronelol and geraniol). Volatile phenols: guaiacol, *o*-cresol, 4-ethylguaiacol, *m*-cresol, 4-propylguaiacol, eugenol, 4-ethylphenol, 4-vinylguaiacol, *E*-isoeugenol, 2,6-dimethoxyphenol, 4-vinylphenol, 4-allyl-2,6-dimethoxyphenol, vanillin and acetovanillone. Lactones: *E*-whiskylactone, *Z*-whiskylactone, γ -nonalactone and γ -decalactone.

A Varian 450 GC gas chromatograph fitted to a Saturn 2200 electronic impact ion trap mass spectrometer (also from Varian) was used. The column was a DB WAXetr from J & W (length, 60 m; internal diameter, 0.25 mm; film thickness, 0.5 mm). The carrier was helium (flow rate, 1 mL min⁻¹). A total of 2 μ L of sample was injected. A mass range of 35–220 *m/z* was recorded. A selective *m/z* relation was used for each analyte, which was also referred to a selected internal standard (2-octanol, 3,4-dimethylphenol or 3-octanone), for quantification by response factor.

2.4. Data analysis

All the analytical data for both the vineyard maturation study and the grape maturation study were subjected to one-way ANOVA. A pair-wise comparison test (Fisher's test) was applied to detect significant differences (significance level 95%).

All analyses were carried out with XLSTAT, version 2015 (Addinsoft, Paris, France).

3. Results and Discussion

We evaluated the classic oenological variables of the 25 wines produced for the two studies: pH, volatile acidity, total acidity, residual sugar content, malic acid content, lactic acid content, ethanol content, easily assimilated nitrogen, colour index and TPI. The results for all these variables indicated that each vinification had proceeded correctly. The concentrations of the volatile compounds found in the wines are shown in **Table A4.1** of Annex 4.

3.1. Vineyard potential study

The ANOVA results showed significant differences between wines from high- and low-potential vineyards in terms of the concentrations of 14 of the 74 aromatic compounds quantified in 19 wines. Data for these compounds were used in the principal components analysis (PCA).

The PCA scatterplot represents 70.4% of the variation (**Figure 1**). Data points corresponding to each set of microvinification triplicate samples are close together. Data points corresponding to wines produced by industrial vinification are also closely grouped, despite the wines having been subjected to different treatments; this indicates that source vineyard is more important than either of the treatments in determining the aromatic compound profile of the wine.

Data points for wines from high-potential vineyards are on the left side of the PCA scatterplot, and those for wines from low-potential vineyards are on the right side. Bearing in mind that wines 1–15 were produced by microvinification and wines 16–25 by industrial vinification, the closest groupings are, nevertheless, of data points for wines from vineyards sharing certain characteristics, and not of those for wines subjected to similar treatments.

The scatterplot shows that Grenache wines from high-potential vineyards are richer in the following compounds:

- esters of fermentative origin, namely isoamyl acetate, ethyl lactate and diethyl succinate
- esters of varietal origin, namely ethyl dihydrocinnamate, methyl vanillate and ethyl vanillate
- terpenols, namely linalool and geraniol
- C6 alcohols, for example (*E*)-2-hexenol and (*Z*)-3-hexenol

In contrast, wines from low-potential vineyards are distinguished by higher concentrations of:

- volatile phenols, namely 4-ethylguaiacol and acetovanillone
- 3-isopropyl-2-methoxypyrazine
- γ -nonalactone

Many of these results are due to the clear yield imbalance in low-potential vineyards, in which optimal grape maturation is not possible. The high rate of production in these vineyards means that there is no opportunity for the vines to develop the metabolic routes of synthesis and degradation of the different aromatic compounds associated with normal ripening, as occurs in

high-potential vines. This would explain the higher concentrations of varietal compounds such as terpenes (Friedel *et al.*, 2016) and fermentative compounds such as esters (Liu *et al.*, 2015; Bubola *et al.*, 2019), and the lower concentration of methoxypyrazines (de Boubée *et al.*, 2000; Mozzon *et al.*, 2016), in wines from high-potential vineyards.

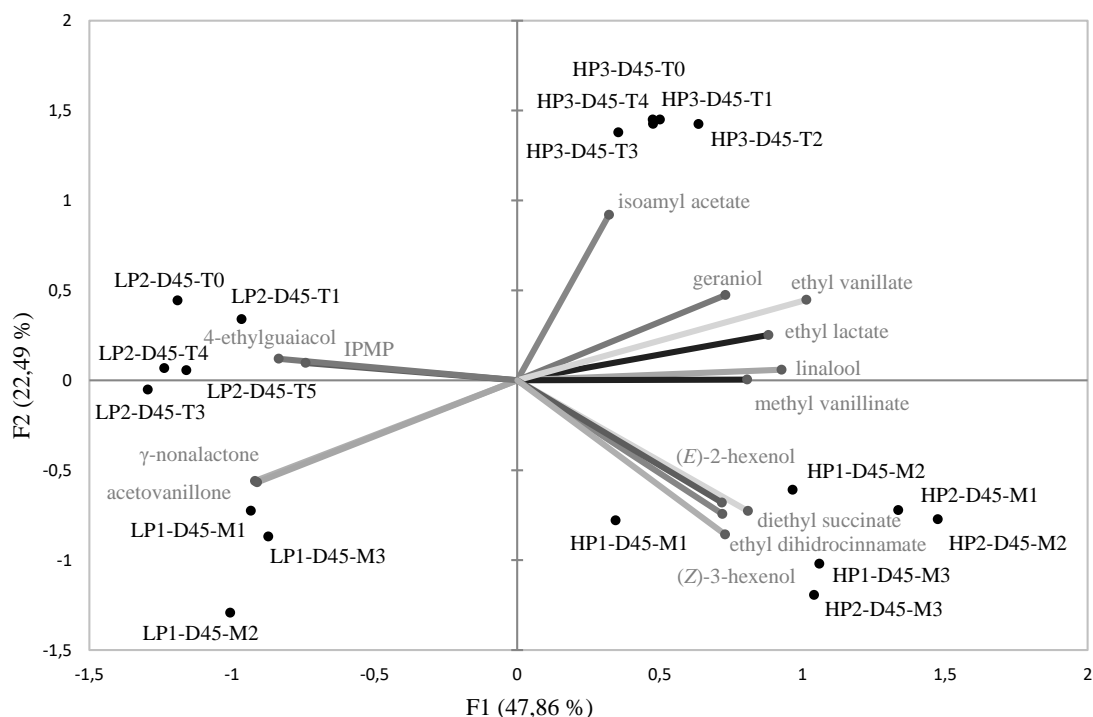


Figure 1. Vineyard potential study: principal components analysis scatterplot. Projection on the first two principal components, using data for 14 aromatic compounds quantified in 19 samples of wine from low- and high-potential vineyards. Wine sample codes are defined in a footnote to **Table 2**.

Concentrations of (*E*)-2-hexanol and (*Z*)-3-hexanol did not pass the olfaction threshold. Therefore, they do not have a significant effect on the aroma of Grenache wines from high-potential vineyards.

The higher concentrations of phenols and γ -nonalactone in wines from low-potential vineyards is surprising, because γ -nonalactone has been found in overripe grapes (Pons *et al.*, 2017; Allamy *et al.*, 2018). A possible explanation for the increased γ -nonalactone content is the lower leaf to crop ratio in low-potential vineyards, which makes the grapes more susceptible to sunburn and shrivelling. Of the phenols found, 4-ethylguaiacol has a microbial origin and acetovanillone originates from the grape. Therefore, there seems to be no obvious causality between vineyard potential and concentrations of members of this family of compounds.

It is worth highlighting the higher concentrations of esters of fermentative origin in wines produced by industrial vinification, as opposed to microvinification, using grapes from high-potential vineyards. This is the result of stricter conditions of anaerobiosis in the industrial vinification (Ferreira *et al.*, 1995).

Table 3. Wines analysed in the grape maturation study^a. Results for variables for which significant differences were found between samples of wines produced from grapes harvested 38, 45 and 59 days post *véraison*.

Variable	38 days post <i>véraison</i> (n = 3)		45 days post <i>véraison</i> (n = 3)		59 days post <i>véraison</i> (n = 3)		<i>p</i>
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	
Classic variables							
pH	3.30 c	0.03	3.36 b	0.01	3.40 a	0.01	0.002
volatile acidity (g L ⁻¹)	0.21 b	0.25	0.39 b	0.11	0.75 a	0.06	0.02
total acidity (g H ₂ T L ⁻¹)	6.67 a	0.33	5.19 b	0.53	5.49 b	0.10	0.006
malic acid (g L ⁻¹)	0.72 a	0.14	0.65 ab	0.04	0.48 b	0.06	0.04
ethanol (% v/v)	14.70 b	1.46	15.26 b	0.34	17.75 a	0.68	0.02
Esters							
ethyl butyrate (mg L ⁻¹)	0.25 a	0.10	0.23 a	0.04	0.07 b	0.01	0.02
ethyl decanoate (mg L ⁻¹)	0.03 b	0.00	0.06 ab	0.03	0.10 a	0.02	0.02
butyl acetate (µg L ⁻¹)	0.00 b	NA	3.04 b	1.47	4.89 a	0.45	0.002
ethyl vanillate (µg L ⁻¹)	267.07 a	34.73	171.48 b	17.86	280.11 a	48.72	0.02
Alcohols							
isoamyl alcohol (mg L ⁻¹)	259.87 b	5.70	314.16 a	17.77	256.90 b	12.48	0.003
benzylic alcohol (mg L ⁻¹)	0.86 b	0.35	2.24 a	0.37	2.83 a	0.47	0.002
β-phenylethanol (mg L ⁻¹)	29.04 b	3.27	32.97 b	3.29	39.48 a	0.66	0.009
(Z)-3-Hexenol (mg L ⁻¹)	0.23 b	0.02	0.27 a	0.01	0.24 b	0.02	0.04
1-octen-3-ol (µg L ⁻¹)	17.61 a	5.80	21.93 a	5.95	3.81 b	1.29	0.009
(E)-2-octen-1-ol (µg L ⁻¹)	3.47 a	0.94	2.72 a	0.59	<LD b	NA	0.001
Acids							
acetic acid (mg L ⁻¹)	236.9 b	301.4	429.8 ab	171.1	795.1 a	22.6	0.04
hexanoic acid (mg L ⁻¹)	1.85 a	0.23	2.33 a	0.51	1.12 b	0.13	0.012
Terpenols							
linalool (µg L ⁻¹)	5.70 b	1.75	13.46 a	4.57	16.60 a	3.29	0.02
linalool acetate (µg L ⁻¹)	0.04 b	0.07	0.21 a	0.04	<LD b	NA	0.004
Volatile phenols							
<i>o</i> -cresol (µg L ⁻¹)	2.70 a	0.21	1.71 b	0.80	<LD c	NA	0.001
<i>m</i> -cresol (µg L ⁻¹)	<LD b	NA	<LD b	NA	0.51 a	0.10	< 0.0001
2,6-dimethoxyphenol (µg L ⁻¹)	58.94 c	19.03	90.38 b	17.84	132.93 a	5.00	0.003
ethyl dihydrocinnamate (µg L ⁻¹)	9.03 a	0.76	7.68 b	0.81	<LD c	NA	< 0.0001
Lactone							
γ-butyrolactone (mg L ⁻¹)	22.84 b	2.65	32.06 a	4.91	23.39 b	1.51	0.03
Sesquiterpene							
rotundone (ng L ⁻¹)	0.02 b	0.01	0.11 ab	0.09	0.17 a	0.03	0.03

LD: detection limit; NA: not available; s: standard deviation.

^aData were subjected to ANOVA; the letters a, b and c indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between wines produced from grapes harvested at the three different times.

3.2. Grape maturation study

Data for 85 variables for the nine samples of wine produced from grapes harvested at different times were subjected to ANOVA. **Table 3** summarizes the results for the 25 variables for which significant differences were found.

There are clear differences between wines produced from grapes harvested at the three different times (see **Table 3**). Extended ripening time was associated with increased concentrations of some esters (ethyl decanoate, butyl acetate and ethyl vanillate), as has been described previously (Bindon *et al.*, 2013). The results for alcohols did not show a consistent pattern. Concentrations of linear fatty acids appear to have decreased with ripening. The concentration of acetic acid increased with ripening, as would be expected, because concentrations of sugars also increased. Concentrations of linalool and rotundone were increased in the wines produced from grapes harvested at later dates, consistent with the results of previous studies (Caputi *et al.*, 2011; Geffroy *et al.*, 2014; Marais, 2017).

It is important to point out the connection between harvest time and concentrations of esters and acids in the wine. Traditionally, varietal compounds such as rotundone and linalool have been considered important markers of grape maturity. However, in Grenache wines these compounds do not exceed the olfactory threshold, and therefore sensorial differences may be more clearly explained by variability in concentrations of important aromatic vectors such as esters and acids.

3.2.1. Ester to acid ratio

Given the complexity of the results, and the associated difficulty in interpreting them, we present a holistic view to aid understanding of the influence of harvest time on concentrations of the principal aromatic compounds.

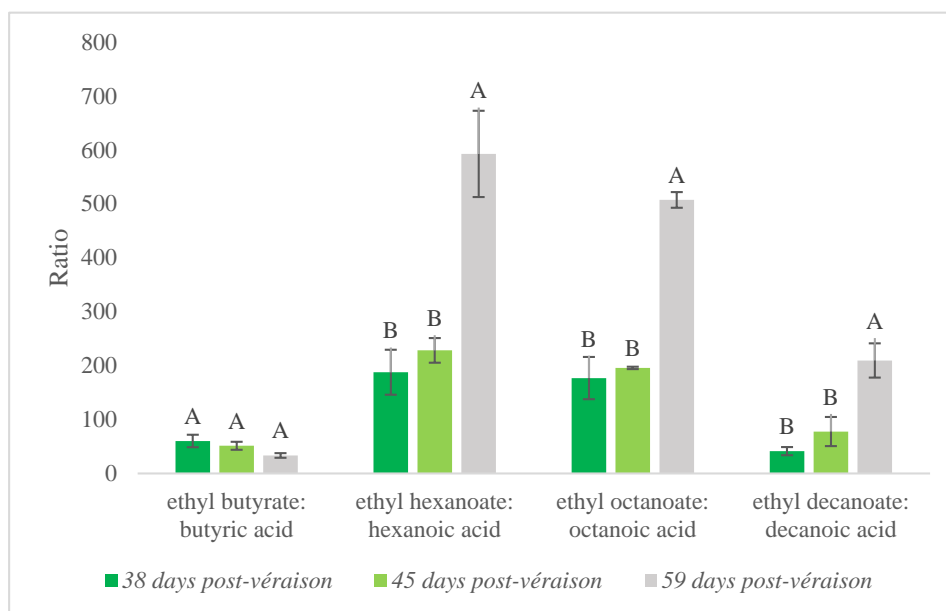


Figure 2. Ratios of esters derived from linear fatty acids to their corresponding acids, in samples of wines produced from grapes harvested at three different times. Each ratio was calculated by dividing the concentration of the ester by the concentration of its corresponding acid and multiplying the result by 1000. Error bars were calculated as standard deviation/ $(3)^{1/2}$ (the denominator, 3, being the n number). Different letters indicate the existence of a significant difference between wines ($p < 0.05$; Fisher's *post hoc* test).

We determined the ratio of esters derived from linear fatty acids to their corresponding acids for the wines produced from grapes harvested at the three different times. **Figure 2** shows the ratios of esters and acids C4, C6, C8 and C10.

In the same way, we determined the ratio of esters derived from branched fatty acids to their corresponding acids for the wines produced from grapes harvested at the three different times. **Figure 3** shows the ratios for the esters ethyl isovalerate and ethyl isobutyrate.

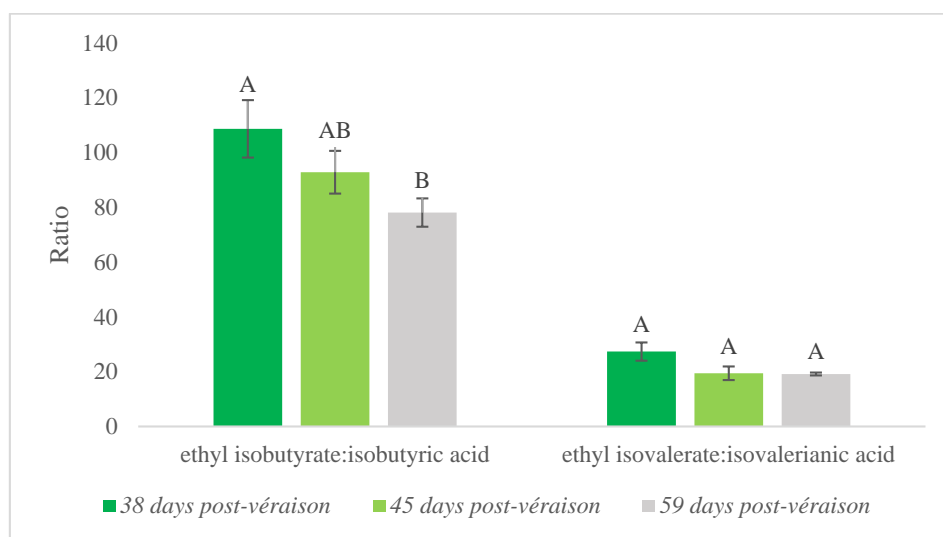


Figure 3. Ratios of esters derived from branched fatty acids to their corresponding acids, in samples of wines produced from grapes harvested at three different times. Each ratio was calculated by dividing the concentration of the ester by the concentration of its corresponding acid and multiplying the result by 1000. Error bars were calculated as standard deviation/ $(3)^{1/2}$ (the denominator 3, being the n number). Different letters indicate the significant difference between samples ($p < 0.05$; Fisher's *post hoc* test).

As ripening proceeded, ratios of several esters derived from linear fatty acids to their corresponding linear fatty acids increased significantly, whereas ratios of esters derived from the equivalent branched fatty acids showed the inverse. Thus, in wines produced from grapes harvested early, we found a low proportion of linear esters relative to their acids, but this proportion increased as the grapes ripened. Conversely, the proportion of branched esters relative to their corresponding acids was higher at 38 days post *véraison* than at 45 and 59 days post *véraison*; however, these variations were significant for isobutyrate relative to isobutyric acid but not for isovalerate relative to isovalerianic (see **Figure 3**).

The volatile fatty acids in wine are produced during fermentation and by the action of certain microorganisms, yeasts and bacteria, by means of different, complex metabolic routes (Lambrechts and Pretorius, 2000). In contrast, ethyl esters are formed by reactions between ethanol and fatty acids or non-volatile organic acids (Etiévant, 1991), and this synthesis depends on multiple factors (Lambrechts and Pretorius, 2000). These esters may be present in grapes but are mainly produced during fermentation as a result of the secondary metabolism of yeasts, or even during ageing (Etiévant, 1991). Over the lifetime of a wine, the linear ester content decreases

and the branched ester content increases, with each kind of ester maintaining a constant hydrolytic equilibrium with its corresponding acid. Additionally, the balance between the enzymes that synthesize the esters helps determine the ratio of accumulated esters (Swiegers *et al.*, 2005).

Considering the information presented so far, it is difficult to provide a single explanation for variations in ester to acid ratios in wines produced from grapes harvested at different times. However, it is evident that ripening time influences the proportion of esters relative to the fatty acids from which they are derived.

Branched fatty acids, such as isobutyric (2-methylpropanoic), isovaleric (3-methylbutyric acid) and 2-methylbutyric, are by-products of protein metabolism by yeasts. In contrast, esters from branched fatty acids (ethyl 3-methylbutyrate, ethyl 2-methylbutyrate and ethyl isobutyrate) are mainly formed during ageing, although their production is also linked to the amino acid content of the grapes (Etiévant, 1991). Ratios of branched esters to their corresponding acids appeared to decrease as ripening progresses. However, to achieve a greater understanding of this phenomenon, it would be necessary to know the amino acid profile of the must at different harvest times.

3.2.2. Acetaldehyde concentration

Acetaldehyde concentration varied in wines produced from grapes harvested at different times (Figure 4). The difference was not significant, owing to the high variability in wines produced from grapes harvested at 45 days post *véraison*. However, acetaldehyde concentration in wines produced from grapes harvested at 59 days post *véraison* was significantly lower than in wines produced from grapes harvested at 38 days post *véraison* ($p=0.0002$).

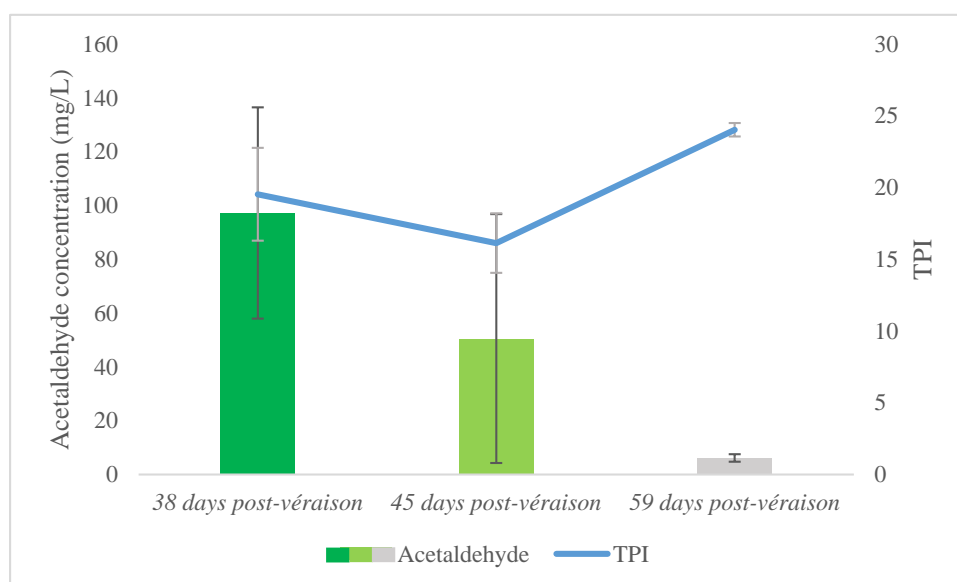


Figure 4. Acetaldehyde concentration and total polyphenols index (TPI) in wines produced from grapes harvested at three different times. Error bars were calculated as standard deviation/ $(3)^{1/2}$ (the denominator, 3, being the n number).

Total polyphenols index varied as ripening progressed, and was significantly higher in wines produced from grapes harvested at 59 days than in wines produced from grapes harvested at 38 days post *véraison* ($p=0.001$) (see **Figure 4**).

We found a significant inverse correlation ($r=-0.77$, $p=0.016$) between acetaldehyde concentration and TPI, which suggests an influence of polyphenol content on the concentration of free acetaldehyde, with consequences for the aroma of the wine. However, this influence would be expected to be limited, and it is difficult to explain how the increase in TPI would fully explain the decrease in acetaldehyde concentration (data found in other maturation experiments, data not shown). Other factors must be involved.

According to Belda *et al.* (2017) and Bueno *et al.* (2018), acetaldehyde concentration in wine depends on three factors:

- sulphur dioxide content, given the strong adducts between sulphur dioxide and acetaldehyde
- polyphenol content
- yeast metabolism (because the characteristics of the medium in which the yeast grows, i.e. the composition of the must, differs according to harvest date).

The first of these factors can be ignored, because the same quantity of sulphur dioxide was added in each microvinification.

Polyphenols play a fundamental role in acetaldehyde content (Bueno *et al.*, 2018). It may be that ripening has an effect not so much on the polyphenols but on their ability to react with aldehydes. Other factors that might also affect acetaldehyde concentration include factors that affect the yeast, such as stress or nutrient availability (Lambrechts and Pretorius, 2000). The yeast's ability to reduce aldehyde concentration may be limited in musts from unripe grapes, or the medium may be deficient in NADH or NADPH, which would have been consumed during more indispensable functions such as membrane formation. In such cases, the yeast would fail to reduce acetaldehyde to alcohol, which would account for the high concentration of the former.

4. Conclusions

The results of the present study suggests that vineyards with different characteristics can produce Grenache wines with distinct aromatic compound profiles. Wines from high-potential vineyards have higher concentrations of esters and terpenes, whereas those from low-potential vineyards have higher concentrations of some phenols and methoxypyrazines.

We have presented preliminary results related to the ripening process in the Grenache variety in one vintage. An interesting result is that the ratio of linear fatty acid ethyl esters to their corresponding acids increases at the latest harvest date. Another finding is that acetaldehyde concentration decreases in wines produced from most mature grapes. This finding appears to be

relevant, given the contribution of acetaldehyde to a wine's sensorial character and its role in limiting the shelf life of wine.

5. References

- Allamy, L., Darriet, P., Pons, A. (2018). Molecular interpretation of dried-fruit aromas in Merlot and Cabernet Sauvignon musts and young wines: impact of over-ripening. *Food Chemistry*, 266, 245–253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.022>
- Belda, I., Ruiz, J., Esteban-Fernández, A., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A., Moreno-Arribas, M. V. (2017). Microbial contribution to wine aroma and its intended use for wine quality improvement. *Molecules*, 22(2). <https://doi.org/10.3390/molecules22020189>
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1696–1705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.146>
- Bubola, M., Lukić, I., Radeka, S., Sivilotti, P., Grozić, K., Vanzo, A., Bavčar, D., Lisjak, K. (2019). Enhancement of Istrian Malvasia wine aroma and hydroxycinnamate composition by hand and mechanical leaf removal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(2), 904–914. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9262>
- Bueno, M., Marrufo-Curtido, A., Carrascón, V., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., Ferreira, V. (2018). Formation and accumulation of acetaldehyde and Strecker aldehydes during red wine oxidation. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00020>
- Caputi, L., Carlin, S., Ghiglieno, I., Stefanini, M., Valenti, L., Vrhovsek, U., Mattivi, F. (2011). Relationship of changes in rotundone content during grape ripening and winemaking to manipulation of the 'peppery' character of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5565–5571. <https://doi.org/10.1021/jf200786u>
- Coombe, B. G., McCarthy, M. G. (1997). Identification and naming of the inception of aroma development in ripening grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3(1), 18–20. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1997.tb00111.x>
- De Boubée, D. R., Van Leeuwen, C., Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., Ferreira, V. (2017). Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(2), 162–169. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12273>
- Edwards, E. J., Unwin, D., Kilmister, R., Treeby, M. (2017). Multi-seasonal effects of warming and elevated CO₂ on the physiology, growth and production of mature, field grown, Shiraz grapevines. *Oeno One*, 51(2), 127–132. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.0.0.1586>
- Etiévant, P.X. (1991). Wine. In: Maarse, H. (ed.). *Volatile Compounds in Foods and Beverages*, pp. 483–547. New York, NY: Taylor & Francis.

- Ferreira, V., Fernández, P., Peña, C., Escudero, A., Cacho, J. (1995). Investigation on the role played by fermentation esters in the aroma of young Spanish wines by multivariate-analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67(3), 381–392. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740670316>
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., Cacho, J. (2009). Modeling quality of premium Spanish red wines from gas chromatography–olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/jf9006483>
- Friedel, M., Frotscher, J., Nitsch, M., Hofmann, M., Bogs, J., Stoll, M., Dietrich, H. (2016). Light promotes expression of monoterpene and flavonol metabolic genes and enhances flavour of winegrape berries (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(3), 409–421. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12229>
- Geffroy, O., Dufourcq, T., Carcenac, D., Siebert, T., Herderich, M., Serrano, E. (2014). Effect of ripeness and viticultural techniques on the rotundone concentration in red wine made from *Vitis vinifera* L. cv. Duras. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(3), 401–408. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12084>
- Jones, G. V., Davis, R. E. (2000). Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(3), 249–261.
- Kliewer, W. M., Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(2), 170–181.
- Lambrechts, M., Pretorius, I. (2000). Yeast and its importance to wine aroma – a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 21(1), 97–129. <https://doi.org/10.21548/21-1-3560>
- Liu, D., Gao, Y., Li, X. X., Li, Z., Pan, Q. H. (2015). Attenuated UV radiation alters volatile profile in Cabernet Sauvignon grapes under field conditions. *Molecules*, 20(9), 16946–16969. <https://doi.org/10.3390/molecules200916946>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)00696-9)
- Marais, J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4(2), 49–58. <https://doi.org/10.21548/4-2-2370>
- Marcon, J. L., Hipolito, J. D., De Macedo, T. A., Kretschmar, A.A., Rufato, L. (2015). A survey of clusters thinning in the ‘Cabernet Franc’ winemaking potential in two seasons. *Ciencia Rural*, 45(12), 2150–2156. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20140995>
- Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E., Thorngate, J. H. (2016). The herbaceous character of wines. *Italian Journal of Food Science*, 28(2), 190–207. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v304>
- OIV. (2018). *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis*. Paris: Office International de la Vigne et du Vin.
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation

- detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, 923(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)00972-4)
- Pons, A., Allamy, L., Schuttler, A., Rauhut, D., Thibon, C., Darriet, P. (2017). What is the expected impact of climate change on wine aroma compounds and their precursors in grape? *Oeno One*, 51(2), 141–146. <https://doi.org/10.20870/oenone.2016.0.0.1868>
- Reynolds, A. G., Heuvel, J. E. V. (2009). Influence of grapevine training systems on vine growth and fruit composition: a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60(3), 251–268.
- Swiegers, J. H., Bartowsky, E. J., Henschke, P. A., Pretorius, I. S. (2005). Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavour. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 139–173. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00285.x>
- Wen, Y., Ontañón, I., Ferreira, V., López, R. (2018). Determination of ppq-levels of alkylmethoxypyrazines in wine by stirbar sorptive extraction combined with multidimensional gas chromatography–mass spectrometry. *Food Chemistry*, 255, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.089>
- Yuan, F., Qian, M. C. (2016). Aroma potential in early- and late-maturity Pinot noir grapes evaluated by aroma extract dilution analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 443–450. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04774>

Chapter 6. Some clues about the changes in wine aroma composition associated to the maturation of “neutral” grapes

1. Introduction

The chemistry of wine aroma has been widely studied due to the complexity of its volatile compounds. It consists of many hundreds of volatile chemical compounds that depend on several viticultural and oenological factors (Mozzon *et al.*, 2016). One of the most important aspects is grape maturation; this physiological process begins at *véraison* and finishes 40-60 days later (Chang *et al.*, 2014) with the harvest. It is a highly significant process because nearly all the compounds that derive from the grape, as well their precursors, have their origin in the grape maturation (Verzera *et al.*, 2016; Yuan & Qian, 2016), and grape composition defines the ultimate quality of wine (Salinas *et al.*, 2004). Maturation is a complex process affected by many factors, namely, the grape cultivar, type of soil, topography, agro-pedological features, edaphoclimatic conditions and vineyard management practices (Bindon *et al.*, 2013), among others. Therefore, harvest dates need to be considered carefully.

However, the wine industry's knowledge of the evolution of volatile compounds during grape ripening is rather poor. The parameters for grape ripening typically used are Brix, pH, and titratable acidity (Bindon *et al.*, 2013). At present there are methods for establishing a more rigorous tracking of grape maturation, such as Glories index, Cromoenos®, all of them based on the measurement of phenolic maturity (Kontoudakis *et al.*, 2010). But none of these measurements indicates the potential grape aroma (Yuan & Qian, 2016).

Otherwise, most academic researchers have concentrated on aromatic or floral varieties in grape maturity studies, while neutral or non-floral grapes have received less attention (Salinas *et al.*, 2004). For example, many reports determine the terpene concentrations at different harvest times in floral varieties like Muscat (Marais, 2017). Other studies focus on norisoprenoids and their content in wines (Asproudi *et al.*, 2018). There are also several studies in which ripeness is linked to levels of aldehydes and alcohols with six carbon atoms (C6) (Mozzon *et al.*, 2016). However, for neutral or non-floral grapes, where there are no such clear markers, the aroma is the result of numerous volatile compounds (Yuan & Qian, 2016). Therefore, it is of capital importance to try to know how these compounds or their precursors change during grape ripening, in order to understand the quality of the grapes at harvest, and in order to estimate the effects of grape composition on the final wine composition. For example, acetaldehyde is a compound found in all wines (Ferreira *et al.*, 2019) and it is its major oxidation-related aldehyde (Bueno *et al.*, 2018); therefore it has been studied in wines with oxidative aging, like Porto or Sherry wines (Zea *et al.*, 2015) and oxidized wines. The sensory involvement of this compound can be very important in small concentrations, since it has been shown that it can drastically

reduce fruit attributes in varieties such as Sauvignon blanc (Coetzee *et al.*, 2016). However, its study is often ignored in trials in which the oxidation process in wines is not studied.

The Moristel grape variety was chosen for this experiment. Moristel is a Spanish variety of red grapes whose aroma has not been previously studied. These grapes are usually planted in the region of Aragon. Moristel wines do not present very important varietal aromas, and have traditionally been used for blending with other varieties to provide bulk and colour (Ferrero-del-Teso *et al.*, 2020). However, the interesting thing about the Moristel variety is that it is resistant to drought, pests and disease. It also has a late maturity point (vegetative cycle: 169 ± 8 days; and days between *véraison*-harvest: 49 ± 5), and produce wines with a moderate alcohol level (García *et al.*, 2017). This makes it a great alternative for arid climates, especially in the present situation of climate change.

The aim of this study is to understand the changes that occur in the aromatic composition of wines from Moristel grapes with different levels of maturation, in order to determine the optimum harvest point, and thus be able to control the ultimate quality of the wines more efficiently. Furthermore, this knowledge of the state of maturation could be a powerful tool to fight climate change.

2. Materials and Methods

2.1. Reagents, solvents and standards

Acetonitrile (HPLC quality), dichloromethane, ethanol and methanol (LiChrosolv-quality) were supplied by Fisher Scientific (Loughborough, UK). LiChrolut EN resins were supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Pure water was obtained from a Milli-Q purification system (Bedford, Germany). The standards used were supplied by Sigma-Aldrich, Merck (Darmstadt, Germany), ChemService (West Chester, PA, USA), PolyScience (Niles, IL), Lancaster (Eastgate, UK), Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany), Panreac (Barcelona, Spain), Firmenich (Geneva, Switzerland), AromaLab (Planegg, Germany) and Oxford Chemicals (Hartlepool, UK). Semi-automated solid-phase extraction was carried out with a Vac Elut 20 station from Varian (Walnut Creek, USA).

2.2. Wine Samples

A series of micro-*vinifications* was carried out in the Pirineos Winery in D.O. Somontano. Grapes were taken from five different Moristel plots at different maturation points from two consecutive vintages (2016 and 2017). *Vinification* of the collected grapes followed the same fermentation protocol. All micro-fermentations were carried out in triplicate. All these wines are described in **Table 1**.

In the cited winery, five different commercial vines were selected (A, B, C, D, and E) with differing characteristics. Therefore, if the changes occur in all the vineyards as maturity

advances, this will be a clear demonstration that these variations are mainly due to maturation and not to other factors. All of the vines cv. Moristel were grafted onto SO4 rootstock and they were trained to a double Guyot system. The vineyard soils were calcareous and poor in organic matter. They are relatively close to each other, so the climatic conditions are very similar. But these vineyards have some differences too, such as ages (between 15 and 38 years), soil background, vine spacing, yields, exposed leaf area (ELA), orientations and agricultural practices like pruning, as can be seen in **Table 2**.

Table 1. Samples Table. Micro-vinifications made with Moristel grapes with different degrees of maturation, from plots with different features. The first letter of each abbreviation refers to the vineyard (A, B, C, D or E); Tx is the harvest time (T1: 41-42 days *postvéraison*, T2: 48-49 days *postvéraison*, T3: 56 days *postvéraison* and T4: 60-63 days *postvéraison*). The last number is the sample (1,2 or 3).

Year 2016			Year 2017			
Data	Vineyard	Samples	Data	Vineyard	Samples	
12/09/2016 42 days <i>postvéraison</i>	A	AT1.1	06/09/2017 41 days <i>postvéraison</i>	D	DT1.1	
		AT1.2			DT1.2	
		AT1.3			DT1.3	
	B	BT1.1				
		BT1.2				
		BT1.3				
	C	CT1.1			E	ET1.1
		CT1.2				ET1.2
		CT1.3				ET1.3
19/09/2016 49 days <i>postvéraison</i>	A	AT2.1	13/09/2017 48 days <i>postvéraison</i>	D	DT2.1	
		AT2.2			DT2.2	
		AT2.3			DT2.3	
	B	BT2.1				
		BT2.2				
		BT2.3				
26/09/2016 56 days <i>postvéraison</i>	A	AT3.1				
		AT3.2				
		AT3.3				
	B	BT3.1				
		BT3.2				
		BT3.3				
03/10/2016 63 days <i>postvéraison</i>	A	AT4.1	26/09/2017 60 days <i>postvéraison</i>	D	DT4.1	
		AT4.2			DT4.2	
		AT4.3			DT4.3	
	B	BT4.1				
		BT4.2				
		BT4.3				

Harvesting took place at different levels of maturation. For 2016, the first point was 42 days *postvéraison*; the second, one week later, 49 days *postvéraison*; the third and fourth were at 56

and 63 days *postvéraison*, respectively. In the case of 2017, the first, second and fourth harvest points were at 41, 48 and 60 days *postvéraison*, respectively. In order to facilitate the understanding of figures and tables, only one day will be shown per ripening point, corresponding to 42, 49, 56 and 62 days. Furthermore, the winery usually harvest 49 days *postvéraison*.

The grapes were harvested manually in 15 kg boxes. The fruit were collected at each harvest date following a random design within each block. The gathering of samples was adapted to the geography of the vineyard and the technical possibilities offered by the winery. Whenever possible, we avoided gathering grapes from the borderlines of the vineyard.

Table 2. Vineyard characterization. List of characteristics which define the selected vineyards.

	Vineyard				
	A	B	C	D	E
Vineyard conditions					
Soil type	Fine sandy loam	Loam	Fine sandy loam	Fine sandy loam	Very fine sandy loam
Altitude (m)	463	398	428	514	414
Vineyard age (years)	38	24	18	22	15
Row orientation	W	SW	W	SW	NE
Vine spacing (m x m)	3.1x1.2	3.3x1.2	3.1x1.2	3.1x1.2	3.2x1
Number of vines ha ⁻¹	2366	2222	2366	2366	2750
Yield and vegetative growth					
Number of bunches in 10 vines	12.6	20.4	15.5	9.8	14.4
Average bunch weight (Kg)	0.178	0.198	0.166	0.166	0.166
Yield (Kg Ha ⁻¹)	5306	8976	6087	3848	6574
Canopy width (m)	0.5	0.6	0.5	0.4	0.4
Canopy height (m)	0.8	1	0.7	0.8	0.75
Canopy solar exposure (%)	60	20	30	40	60
Exposed Leaf Area (m ² vine ⁻¹)	1.92	2.4	1.68	1.92	1.5
Exposed Leaf Area/yield (m ² Kg ⁻¹)	0.90	0.59	0.7	1.2	0.6
Agricultural practices					
Pruning	4x2	6x1	4x2	4x3	5x1
Shoot thinning	Yes	No	Yes	Yes	Yes
Shoot tipping	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Desuckering	Yes	No	Yes	Yes	Yes
Irrigation	No	No	No	No	No
Trellising	Double guyot	Double guyot	Double guyot	Double guyot	Double guyot
Mulching	No	No	No	No	No
Leaf plucking	No	No	No	No	No
Tilling	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes

For processing the wines, we carried out micro-fermentation on 70-litre deposits, in which 40 kg of grapes were vinified. The grape of each vine and maturation point was processed independently and in triplicate. The process consisted of destemming the clusters and gently

crushing them. Then the paste was treated with SO₂ (5 g hL⁻¹), and a dose of 0.8 mL hL⁻¹ of pectolytic enzymes (Endozym ICS 10 Rouge, AEB, Stuttgart, Germany) was added. They were inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* (30 g hL⁻¹ of Lalvin ICVD 254 (Lallemand, Montreal, Canada)), which were activated with a mix of organic and inorganic nutrients (20 g hL⁻¹ INI-LEV (LEV2050, Alzoaín, Spain)). During the entire vinification, density and temperature were monitored, with measurements taken twice daily. This process lasted between 11 and 14 days. Once alcoholic fermentation was complete, the deposits were inoculated with lactic bacteria *Oenococcus Oeni* (10 mg L⁻¹), strain Lalvin VP41 (Lallemand), and the concentration of malic acid was controlled. Once malolactic fermentation was finished, the wine's total SO₂ was corrected to 50mg L⁻¹ it was filtered, and bottled.

2.3. Methods

2.3.1. Oenological parameters

The must was measured for density, temperature, total soluble solids content (TSS), total acidity (TA), pH and yeast assimilable nitrogen (YAN). The parameters analysed in the final wine were: total acidity (TA), volatile acidity (VA), pH, total polyphenol index (TPI - I280), colour index (CI), and free and total sulphur dioxide, the alcoholic grade, reductive sugars, and malic and lactic acid concentrations. All these measurements were taken following the methods of the Office International de la Vigne et du Vin (OIV, 2018).

2.3.2. Quantitative analysis of methoxypyrazines and rotundone

The determination of alkyl methoxypyrazines and rotundone in the wine was done using stir bar sorptive extraction (SBSE), followed by thermal desorption gas chromatography coupled with mass spectrometry (TD-GCxGC-MS), as described by Wen *et al.*, (2018). Stable isotope dilution analysis was used for quantification (with selective mass fragments). The compounds analysed were 2-isobutyl-3-methoxypyrazine (IBMP), 2-*sec*-butyl-3-methoxypyrazine (SBMP), 2-*iso*-propyl-3-methoxypyrazine (IPMP) and rotundone.

2.3.3. Quantitative analysis of polyfunctional mercaptans

Quantitative analysis of polyfunctional mercaptans was carried out using the method proposed by Mateo-Vivaracho *et al.*, (2008). Therefore, a first SPE derivatization with 2,3,4,5,6-pentafluorobenzylbromide (PFBBBr) was carried out and analysed in a GC-MS system with negative chemical ionization (NCI). To obtain the concentration data, the corresponding compound peak areas relative to a selected internal standard (IS) were calculated (IS: octafluoronaphthalene). The selected method for calibration was standard addition. The compounds quantified were 2-furfurylthiol (FFT), 4-methyl-4-mercapto pentan-2-one (MP), 3-mercaptohexylacetate (AMH) and 3-mercaptohexanol (3MH).

2.3.4. Quantitative analysis of major compounds

The strategy followed was a liquid-liquid micro-extraction with dichloromethane, analysed in a gas chromatograph with a flame ionization detector (GC-FID), following the procedure described in a previous work (Ortega *et al.*, 2001). Twenty-nine analytes were referred to a selected internal standard, and the chosen calibration method was response factor. IS were 4-hydroxy-4-methyl-pentanone, 2-butanol, 4-methyl-2-pentanol, 2-octanol, heptanoic acid and ethyl heptanoate.

2.3.5. Quantitative analysis of minor and trace compounds

Trace compounds were isolated through solid-phase extraction (SPE) and analysed by gas chromatography coupled to a mass spectrometry detection system (GC-MS), as explained by López *et al.*, (2002). Selective *m/z* (mass to charge ratio) relation was used for thirty-eight analytes, which was also referred to a selected internal standard (2-octanol, 3,4-dimethylphenol and 3-octanone) for the quantification through the response factor method.

2.3.6. Quantitative analysis of volatile sulphur compounds (VSCs)

The instruments and methods for the study of free and total (brine-releasable) fractions of volatile sulphur compounds were derived from those described in references (Franco-Luesma & Ferreira, 2014; López *et al.*, 2007). The analysis consisted of automated headspace solid-phase micro-extraction (HS-SPME) with a carboxen-polydimethylsiloxane (CAR-PDMS) fibre, and subsequent gas chromatography-pulsed flame photometric detection (GC-PFPD). The compounds analysed by this method were: dihydrogen sulfide (H₂S), methanethiol (MeSH), and dimethyl sulphide (DMS). In both determinations, the areas were normalized to those of the internal standard (IS: ethyl methyl sulphur) and interpolated in calibration graphs created by analysis of calibration standards prepared in synthetic wine.

2.3.7. Quantitative analysis of total acetaldehyde

This carbonyl compound was treated by a derivatization strategy with 2,4-dinitrophenylhydrazine (DNPH), and it was then determined by HPLC-UV/VIS, as explained by Han *et al.*, (2015).

2.4. Data analysis

All these analytical results were used to do a two-way ANOVAs with maturity and vineyard-year as factors. For significant effects, Fisher post-hoc pairwise comparison (95%) test was performed.

These quantitative data were transformed into odour activity values (OAVs) in order to compare the differences between families of compounds with the same biochemical origin or similar

organoleptic properties. The OAV is the quotient between the concentration of a compound and the threshold of that compound in wine. OAV chemical family is calculated by summing the OAVs of each compound. These vectors were: **a) Carbonyl Compounds: fermentative origin** (acetoin and diacetyl), **aging related** (siringaldehyde), **oxidation related** (acetaldehyde and benzaldehyde) and **norisoprenoids** (β -damascenone, α -ionone and β -ionone). **b) Esters: linear fatty acid derivatives** (ethyl propanoate, ethyl butyrate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate and ethyl decanoate), **branched acid derivatives** (ethyl isobutyrate, ethyl 2-methylbutyrate and ethyl isovalerate), **varietal origin** (methyl vanillate, ethyl vanillate, ethyl dihydrocinnamate and ethyl cinnamate), **fermentative origin** (ethyl lactate, diethyl succinate, ethyl acetate, isoamyl acetate, hexyl acetate, isobutyl acetate, butyl acetate and phenylethyl acetate). **c) Alcohols** (isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, methionol, benzylic alcohol, β -phenylethanol and 1-penten-3-ol). **C6 alcohols** (1-hexanol, *Z*-3-hexenol, *E*-2-hexenol and *E*-3-hexenol). **Unsaturated C8 alcohols** (1-octen-3-ol and *E*-2-octen-1-ol). **d) Acids: linear acids** (acetic acid, butyric acid, hexanoic acid, octanoic acid and decanoic acid) **branched acids** (isobutyric acid and isovalerianic acid). **e) Terpenols** (linalool, linalool acetate, α -terpineol, β -citronellol and geraniol). **f) Volatile Phenols** (guaiacol, *o*-cresol, 4-ethylguaiacol, *m*-cresol, 4-propylguaiacol, eugenol, 4-ethylphenol, 4-vinylguaiacol, *E*-isoeugenol, 2,6-dimethoxyphenol, 4-vinylphenol, 4-allyl-2,6-dimethoxyphenol, vanillin and acetovanillone). **g) Lactones** (*E*-whiskylactone, γ -nonalactone and γ -butyrolactone). **h) Methoxypyrazines** (IPMP and IBMP). **i) Sesquiterpenes** (rotundone). **j) Volatile Sulfur Compounds: Free Volatile Sulfur Compounds** (dihydrogen sulphide (F), methanethiol (F) and dimethyl sulfide (F)). **Total Volatile Sulfur Compounds** (dihydrogen sulfide (T), methanethiol (T) and dimethyl sulfide (T)). **k) Polyfunctional Mercaptans** (2-furfurylthiol, 3-mercaptohexylacetate, 3-mercaptohexanol and 4-methyl-4-mercapto pentan-2-one).

In order to have an overview of all the samples, a principal component analysis (PCA) was carried out with data derived from OAV calculations. All analyses were carried out with XLSTAT (2015 version).

3. Results and discussion

The vineyards have been characterized previously, but there are differences that are necessary to comment. Vines A and D had optimal vegetative development, it is a good balance between vegetative and fruit growth in relation to grape quality, that consist in showing a good physiological and phytosanitary state and optimum solar exposure. On the other hand, vineyards B, C, and E were from younger vineyards which had irregular vegetative development. They showed an excess of vigour, which translated to greater production. For example, some clusters showed low compactness and small berries, while others were compact with much larger grapes, which led to phytosanitary problems. The differences among the vineyards is clear when

one compares their ELA/yield, a parameter that is between 0.8 and 1.2 m² kg⁻¹ in healthy and balanced vineyards (Kliewer & Dokoozlian, 2005). Thus, vines A and D had an ELA/yield of approximately 1 m² kg⁻¹ — that is, limited production and an elevated ELA —, while the rest of the vines showed an ELA/yield equalling 0.6 m² kg⁻¹.

The day when the grapes were harvested and processed, must samples were analyzed the basic oenological parameters in the winery. The results are shown in **Table A5.1** of Annex 5. The data was logical, for example, acidity and pH decrease with grape maturity and density and TSS increase.

The 39 wines obtained during the experiment were characterised at the winery using classic parameters. The density and temperature measurements in alcoholic fermentation, the malic and lactic acid analysis in malolactic fermentation and the final reductive sugar in wine indicate that fermentation finished correctly. Exceptions were wines from micro-vinification of vine B harvested 63 days *postvéraison*, which showed elevated volatile acidity (BT4.1= 2.22 g acetic acid L⁻¹ and BT4.3= 2.09 g acetic acid L⁻¹); and sample AT3.1, which showed an abnormal state of oxidation, these samples are not considered in the study. In addition, some of these wines have been used in a sensory experiment (Ferrero-del-Teso *et al.*, 2020) and another samples have been analysed by GCO (see **A5.2** in Annex 5) that proves that there are organoleptic differences between wines.

Just by looking at the results of the classic analyses, we see how the different vines showed different values and different evolutions with maturity. For example, ethanol in vineyard A does not have such a clear evolution (15.7, 15.4, 15.69 and 16.78%) as in vineyard B (12.6, 12.65, 13.13 and 13.97%) and D (12.66, 13.08 and 14.32%). This shows that we start from different vineyards that if they show similar evolution patterns, it will be due exclusively to the effect of maturity.

Eighty-eight odorant compounds were determined for all the samples. The results are shown in **Table A5.3** of Annex 5. To determine which parameters distinguish one sample from another, different variance analyses were carried out. Only those compounds that showed significant differences between samples were used for calculating the OAVs. The data used for obtaining the PCAs shown in **Figures 1 and 2** were the aromatic vectors (the summation of compounds with the same biochemical origin or with similar organoleptic properties). These results are shown in **Table A5.4** of Annex 5. In the two graphics one can observe that the micro-vinification replicates are grouped close together, which indicates good reproducibility for the process. In general, it is possible to see the importance of the vintage (**Figure 1**) and the relevance of the vineyard of origin (**Figure 2**). It cannot be concluded that this effect is due to an effect of the vintage exclusively in **Figure 1**, because different vineyards were used in both years. However, its relative importance is revealed when the vineyards, *a priori* different, have

similar aromatic profiles in the same vintage. Moreover, similar vineyards show different profiles in different years.

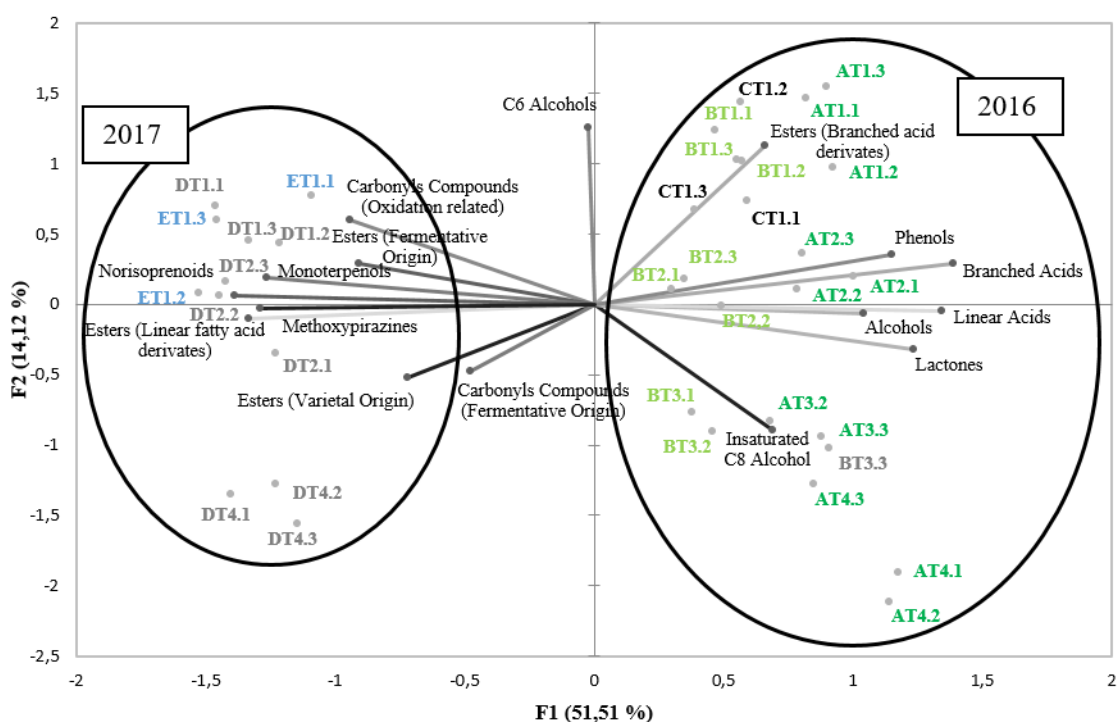


Figure 1. PCA. Study of the maturation in different vineyards for two vintages. Projection on the two first principal components of the PCA calculated with aromatic vectors and 35 wine samples elaborated from different vineyards.

One of the principal reasons for the strong vintage effect could be that the climatology of the two vintages was notably different. 2016 was a colder year (Active Thermal Integral 2016 = 3383.37°C) in D.O. Somontano. The vine cycle was longer (172 days, above the average variation in that zone, 169 days), and this caused a late *véraison* date (8 August) and a later harvest. In contrast, 2017 was a somewhat hotter year (Active Thermal Integral 2017 = 3440.17°C) with greater measured rainfall (2016 = 164 L m⁻², compared to 2017 = 180 L m⁻²), which led to a shorter vegetative cycle for the vine (167 days), an earlier *véraison* date (27 July), and an earlier harvest. These differences are reflected in the PCA, in which the wines produced in 2016 are to the right on the graphic, while those from 2017 are towards the left. Thus wines produced in 2017 contain higher concentrations of oxidated related carbonyl compounds (acetaldehyde and benzaldehyde), linear ethyl esters (ethyl butyrate, ethyl hexanoate, ethyl octanoate and ethyl decanoate), norisoprenoids (β -damascenone, α -ionone and β -ionone), monoterpenols (linalool, linalool acetate and β -citronelol) and methoxy-pyrazines (IPMP and IBMP). In contrast, the wines produced in 2016 are characterised by higher concentrations of alcohols (isobutanol, 1-butanol, isoamyl alcohol, benzylic alcohol, β -phenylethanol, 1-penten-3-ol, 1-octen-3-ol and *E*-2-octen-1-ol), acids (acetic acid, butyric acid,

hexanoic acid, octanoic acid, decanoic acid, isobutyric acid, isovaleric acid), phenols (guaiacol, *o*-cresol, 4-vinylguaiacol, *E*-isoeugenol, 2,6-dimethoxyphenol, 4-vinylphenol, acetovanillone) and lactones (γ -butyrolactone and γ -nonalactone). It can be also seen that C6 alcohols are found in the samples harvested earlier, regardless of vintage.

One can see in **Figure 2** a clear separation between each of the vineyards from which the 2016 vintage was taken. The right side of the graphic corresponds to vineyards B and C, while the samples taken from vine A are located on the left of the PCA. The vineyards characterised by good physiological parameters (vineyard A) produced wines with higher quantities of fermentative compounds, such as acids (acetic acid, butyric acid, hexanoic acid, octanoic acid, decanoic acid, isobutyric acid, isovaleric acid); whereas the wines coming from vineyards with heterogeneous development (B and C) showed higher concentrations of different carbonyl compounds (Norisoprenoids: β -damascenone and β -ionone. Fermentative origin: diacetyl and acetoin), phenols (guaiacol, *o*-cresol, 4-vinylguaiacol, (*E*)-isoeugenol, 2,6-dimethoxyphenol, 4-vinylphenol, acetovanillone), methoxypyrazines (IPMP and IBMP) and some volatile sulphur compounds (H_2S (F), MeSH (F and T), DMS (F and T)).

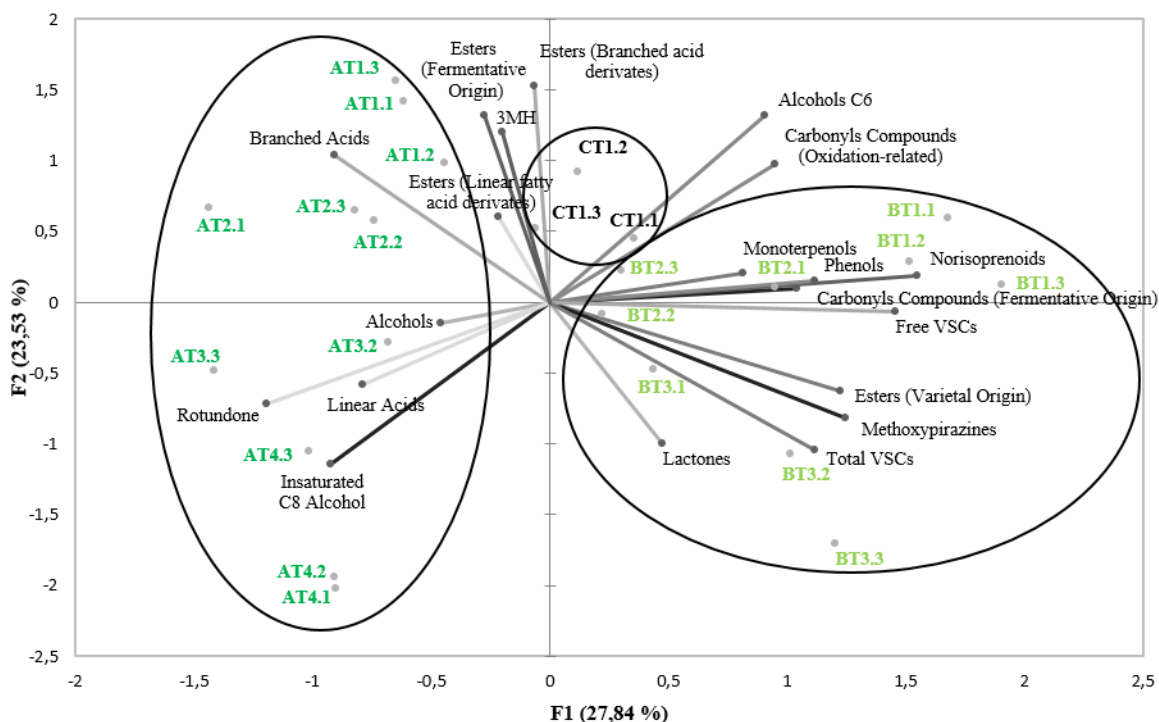


Figure 2. PCA of the study of maturation in different vineyards for the 2016 vintage. Projection on the two first principal components of the PCA calculated with aromatic vectors and 23 wine samples elaborated from three different vineyards.

The state of maturation of the raw material, which is the variable that this paper focuses on, is clearly distributed in the PCA (**Figure 2**). The wines that come from plots harvested 42 days *postvéraison* are in the upper area, and they move lower on the graph as the number of weeks

allowed for ripening increases. This occurs with all the plots in both vintages, as can be seen in **Figure 1**.

Thus, we can see that vintage has a strong effect, and the vineyard also has a notable influence, as does the ripeness. To begin the study of maturation, we will analyse the evolution of the aromatic compounds one by one, and will also work with the relations between the different compounds, especially with those analytes that make up the aromatic buffer of the wine (esters, acids, and fermentation alcohols) (Escudero *et al.*, 2004).

3.1. Acetaldehyde

Acetaldehyde is a compound with great sensory importance that will define the shelf life of wines. This study shows that the maturity of the grape plays a very important role in the levels of this compound. **Figure 3** clearly shows how acetaldehydes decrease with maturation, while the TPI behaves inversely. This anti-correlation is significant ($r=-0.63$ y $p<0.001$) taking into account all the samples, as can be seen in **Figure A5.5** of the Annex 5. One needs to consider that, in the wines obtained from grapes harvested later, the quantity of acetaldehyde has a similar value for all the plots and both vintages, while the TPI does not show the same value for the wines produced later. Therefore, the increase in TPI alone does not explain the decrease in acetaldehyde; there must be other factors influencing this.

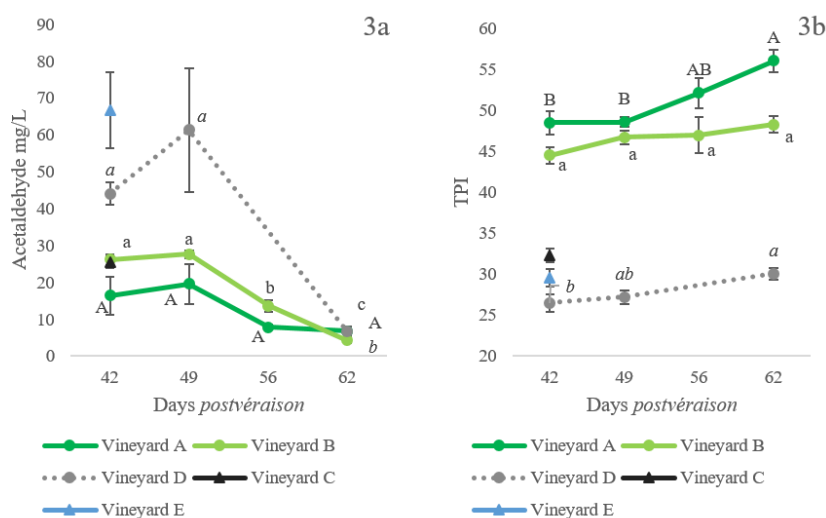


Figure 3a and 3b. Acetaldehyde and TPI concentrations. TPI and acetaldehyde concentrations (mg L^{-1}) in experimental wines. Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s, standard deviation; $n=3$). The letters indicate significant differences in acetaldehyde content and TPI levels (Fisher posthoc test ($p<0.05$)) (upper case: vineyard A; lower case: vineyard B; italics: vineyard D).

In order to explain the differences in acetaldehyde concentrations, one needs to know what factors play a fundamental role in the concentration of this compound in wine. According to Bueno *et al.* (2018) and Belda *et al.* (2017) it depends on three factors:

1. Sulphur dioxide level, due to the strong adducts between sulphur dioxide and acetaldehyde.

2. Polyphenol level.
3. Yeast metabolism. Since the yeast strain was the same (*Saccharomyces cerevisiae*), the differentiating factor must be the medium in which the microorganism grows, directly and indirectly affecting its metabolism.

Since the same SO₂ content was added to all the micro-vinifications, we can discount the first point. Although, as the combined SO₂ is correlated with acetaldehyde, wines with more acetaldehyde had less free SO₂.

Polyphenols do play a fundamental role in the acetaldehyde level, as has already been seen with the evolution of TPI, but it could be that ripening has an effect on the capacity of the polyphenols to react with aldehydes. The results of a more detailed study of the polyphenolic material show a tendency in the free anthocyanins and flavanols, such as catechin and epicatechin, to increase with maturation in the same samples (data not shown). This could strengthen the presence of polyphenols that react with aldehydes (ARP) formed by anthocyanins and small tannins, according to the modelling of unreacted acetaldehyde in previous studies (Bueno *et al.*, 2018).

Other factors that could interfere in the differing concentrations of acetaldehyde would be those that affect yeast metabolism, such as stress or nutrient levels. One hypothesis could be that the yeasts in mediums generated from immature grapes fail to reduce acetaldehyde to alcohol (Lambrechts & Pretorius, 2000). This could be due to existence of a medium that is deficient in NADH or NADPH, which would have already been consumed in other more important functions, such as membrane formation.

In any case, making predictions about yeast metabolism is complicated, because the metabolic routes are highly interconnected and a number of different metabolic routes will be responsible for the greater acetaldehyde content in wines coming from grapes harvested early.

The acetaldehyde behaviour with ripening implies important organoleptic consequences, because the sensory experiment with some of these samples (Ferrero-del-Teso *et al.*, 2020) showed a significant effect on “oxidation” nuances in wines elaborated with grapes prematurely harvested.

3.2. Some relevant ratios between metabolites

One essential part of the aroma in neutral wines such as Moristel is the aromatic buffer (Escudero *et al.*, 2004). This consists of a blend of different molecules containing the most important metabolites of alcoholic fermentation, such as ethanol, higher alcohols or fusel alcohols, fatty acids and ethyl esters, acetoin, diacetyl and acetaldehyde (Ferreira *et al.*, 2019). The term buffer comes from the fact that this set of compounds can suppress a large number of sensory notes; however, they are also responsible for the vinous note (Ferreira *et al.*, 2019).

In this section we will look at the relationships between the different components of this buffer. For this, we have taken into account only those vines from which samples were taken at different stages of maturation/harvest.

3.2.1. Branched acid/branched alcohol ratios

Isoamyl alcohol and isovaleric acid are compounds of great sensorial importance. It has been shown that both compounds influence the perception of fruit notes in wine, this fruit nuances are weakening by alcohol and strengthening by the acid (de-la-Fuente-Blanco *et al.*, 2016; San-Juan *et al.*, 2011). If we calculate the relationship between the concentrations of isovaleric acid and isoamyl alcohol in wine, we observe that this ratio decreases as grape ripening advances, as shown in **Figure 4a**. There is a minimal ratio of this type in wines that come from grapes harvested 56 days *postvéraison*. This might result in lower fruity notes in the wines. This is not the first time that there has been a description of a possible loss of fresh fruit aromas in wine when harvesting is postponed too long (San-Juan *et al.*, 2011).

In this way, wines produced from grapes harvested earlier have higher proportions of branched acids when compared to their branched alcohols, than do wines made from more mature grapes. The same behaviour occurs with the isobutyric-isobutanol pair, whose ratio reaches a minimum at 56 days *postvéraison*.

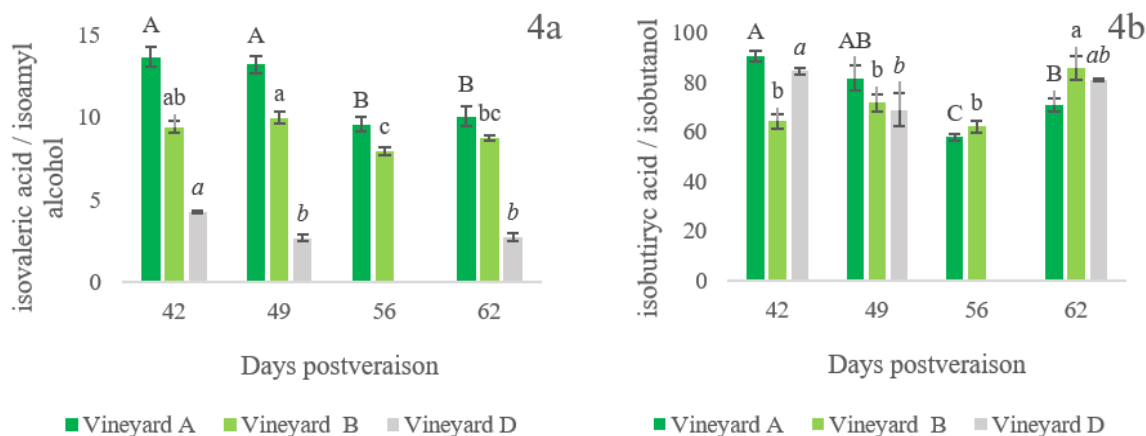


Figure 4a. Ratio (isovaleric acid/isoamyl alcohol) x 1000. **Figure 4b.** Ratio (isobutyric acid/isobutanol) x 1000 in wines produced at four different ripening points. Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s, standard deviation; n=3). Different letters indicate the existence of a significant difference between vineyard samples ($p < 0.05$) (Fisher posthoc test) (upper case: vineyard A, lower case: vineyard B; italics: vineyard C).

In the 2016 vintage, we observe, for easily assimilable nitrogen (YAN), the same evolution as that found in **Figures 4a and 4b**. As other studies have shown (Bisson & Butzke, 2000), a decrease in YAN can be observed as ripening increases. In vineyard A it goes from $328 \pm 21 \text{ mg L}^{-1}$ at 42 days *postvéraison* to $148 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$ at 56 days *postvéraison*. In vineyard B it moves from $408 \pm 24 \text{ mg L}^{-1}$ to $233 \pm 21 \text{ mg L}^{-1}$.

One hypothesis is that the initial quantity of yeast-assimilable nitrogen compounds is directly related to the branched acid/branched alcohol ratio. In the musts where the YAN is greater, the yeast can produce higher amounts of amino acid, which would lead to a higher accumulation of aldehydes in the Ehrlich route, which eventually would be oxidized to the acids because of a NADH deficiency in unripe grapes (Belda *et al.*, 2017). The relationship between YAN and higher alcohol and isoacid production was reported by Carrau *et al.* (2008), but we believe that our report is the first to describe these changes in relation to the evolution of maturation. However, this behaviour is not exactly the same in the 2017 vintage. This may be due to the fact that the amino acid profile is different between the vintages. In order to be able to reach a more profound understanding of this process, we would need to know the amino acid profile of the wines and musts with different levels of maturation.

3.2.2. Branched ester/branched acid ratios

Esters/acids ratios for branched fatty acids and their ethyl esters decreases (ethyl isobutyrate/isobutyric acid and ethyl isovalerate/isovaleric acid) as the date of harvesting is delayed (one example in **Figure 5**).

These compounds are intimately linked to the amino acid content of the grapes as they are by products of yeast protein metabolism (Etiévant, 1991). Given the complexity of the metabolic routes that connect these compounds, it is very difficult to give a single explanation for why this occurs. In any case, it is clear that the level of grape maturation plays a most important role in these esters and acids contents.

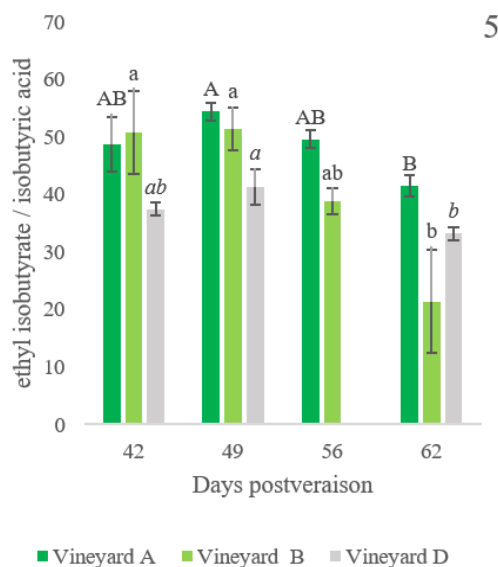


Figure 5. Ratio ethyl isobutyrate/isobutyric acid in wines produced at four different ripening points. Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s, standard deviation; n=3). Different letters indicate the existence of a significant difference between vineyard samples ($p < 0.05$) (Fisher posthoc test) (upper case: vineyard A, lower case: vineyard B; italics: vineyard C).

3.2.3. Branched ester/branched alcohol ratio

The study of the relationship between the content of branched esters and branched alcohols in wine shows how, as grape ripening advances, wines are obtained that have greater concentrations of alcohols in proportion to their corresponding branched esters, as shown in **Figure 6a and 6b**. In fact, there is a noteworthy juxtaposition of the minimum of branched esters and the maximum of alcohols at 56 and 62 days *postvéraison*. These two facts may indicate that the wines elaborated with grapes harvested at those ripening points could turn out to be less fruity.

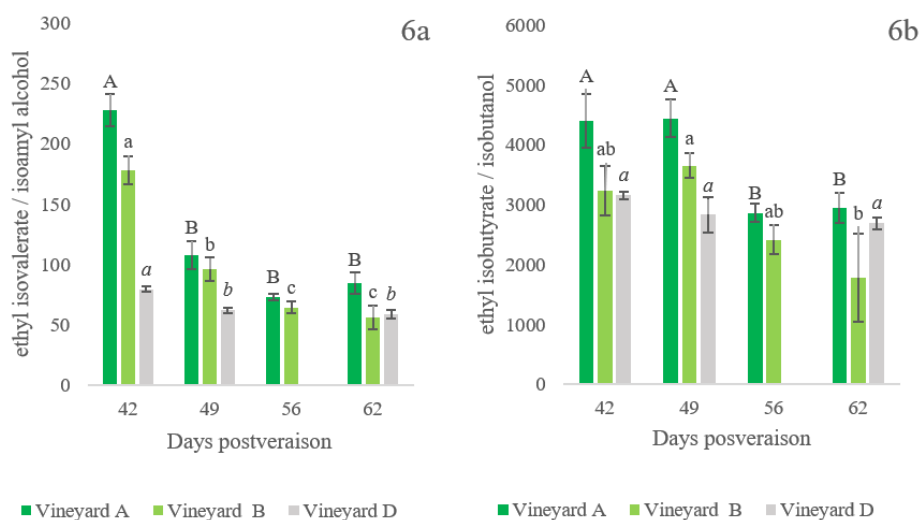


Figure 6a. Ratio (ethyl isovalerate/isoamyl alcohol) x 1000 and **Figure 6b.** Ratio (ethyl isobutyrate/isobutanol) x 1000 in wines produced at four different ripening points. Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s, standard deviation; n=3). Different letters indicate the existence of a significant difference between vineyard samples ($p < 0.05$) (Fisher posthoc test) (upper case: vineyard A, lower case: vineyard B; italics: vineyard C).

3.3. Individual maturation markers

We found various markers (some previously studied) that follow a clear trend as the grapes ripen. All the concentrations of these compounds are shown in Annex 5 (see **Table A5.3**).

Concentrations of C6 alcohols (1-hexanol, (Z)-3-hexenol, (E)-2-hexenol, (E)-3-hexenol) decrease as ripening progresses, as shown in previous studies (Bindon *et al.*, 2013; Kalua & Boss, 2009). These compounds derive from membrane lipids via the lipoxygenase pathway (Oliveira *et al.*, 2006), but none surpasses the olfactory threshold. **Figure 7a** shows the evolution of (Z)-3-hexenol. Its concentration in the wine is lower when this comes from more mature grapes, although there is a great difference between vintages.

The concentration of 2-iso-propyl-3-methoxypyrazine (IPMP) also decreases in those wines that come from late-harvested grapes (de Boubée *et al.*, 2000; Hashizume & Samuta, 1999). This is notable especially in the vineyard D, where the concentration of this compound dropped from $0.97 \pm 0.06 \text{ ng L}^{-1}$ (42 days *postvéraison*) to $0.45 \pm 0.08 \text{ ng L}^{-1}$ (62 days *postvéraison*). However, it always remains below the threshold, this being a non-pyrazine variety.

As for the polyfunctional mercaptans, only furfurylthiol and 3-mercaptohexanol were above the detection limit in the wines. The first did not vary with maturation, however the second decreased significantly in vineyard A from $0.919 \pm 0.112 \mu\text{g L}^{-1}$ (42 days *postvéraison*) to $0.212 \pm 0.018 \mu\text{g L}^{-1}$ (62 days *postvéraison*). These analyses were only done in 2016, so confirmation is required in other vintages. only suggests that this may be the origin as well as non-enzymatic oxidative degradation

On the other hand, many other compounds increase as the grapes ripen, one of these being γ -nonalactone (**Figure 7b**), a compound that could result from non-enzymatic oxidative degradation, as well as lipoxygenase activity on the lipid fraction of the grapes (Allamy *et al.*, 2018), which has been linked to the dried-fruit aromas of over-ripe grapes (Pons *et al.*, 2017). As shown in **Figure 7c**, some vanillin derivatives, such as ethyl vanillate, increase their concentrations in mature grapes due to the degradation of polyphenols (Bloem *et al.*, 2007). Although this is so, their sensorial importance is very limited.

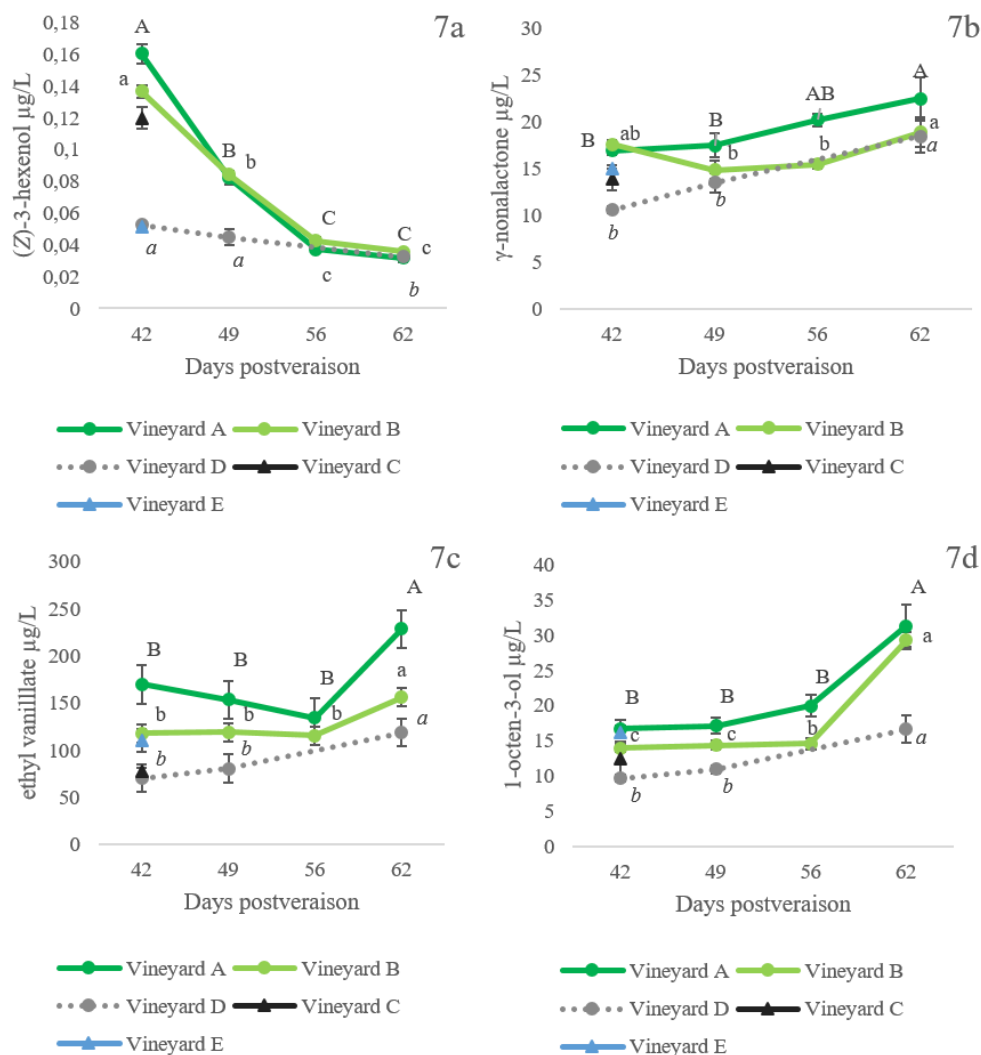


Figure 7a. (Z)-3-hexenol evolution. **Figure 7b.** γ -nonalactone evolution. **Figure 7c.** Ethyl vanillate concentrations. **Figure 7d.** 1-octen-3-ol concentrations. Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s, standard deviation; n=3). Different letters indicate significant differences in the content of the compounds ($p < 0.05$) (Fisher posthoc test) (upper case: vineyard A, lower case: vineyard B; italics: vineyard D).

As has been shown in other studies (Caputi *et al.*, 2011; Geffroy *et al.*, 2014), there were also greater concentrations of rotundone as grape maturity progressed in the 2016 vintage. Hence, this compound in the vineyard A increased from $0.24 \pm 0.05 \text{ ng L}^{-1}$ (harvested 42 days *postvéraison*) to $0.50 \pm 0.08 \text{ ng L}^{-1}$ (harvested 56 days *postvéraison*).

It is worth noting as well that, as harvesting is delayed, certain compounds linked to defects can increase because the conditions for their development improve. This is the case with 1-octen-3-ol (**Figure 7d**), which is linked to fungal alterations, and which can have a crucial influence on the sensorial perception and quality of the wines (Genovese *et al.*, 2007; Steel *et al.*, 2013). However, this compound is always below the odour threshold ($40 \mu\text{g L}^{-1}$) in this study.

In contrast, the compounds called varietals (linalool, β -damascenone, cinnamates...) do not follow a clear evolution. Thus, this paper demonstrates how, in a neutral variety like Moristel, the harvest date of the grapes inevitable affects the wine's odorant compounds, but the principal changes do not appear to be related to the varietal compounds.

4. Conclusions

Grapes harvested at an early date produced wines with more acetaldehyde, which could be an essential component of the sensory concept of immaturity. It is suggested that such higher level of acetaldehyde is caused by a lower concentration of available polyphenols, particularly anthocyanins and small tannins. It may be additionally related to a lack of reduction factors (NADH or NADPH) caused by a strong amino acid metabolism, which might be responsible in turn for the high concentrations of branched acids in wines coming from early-harvested grapes. The decrease with grape maturation of ratios of branched acid/branched alcohol, branched ester/branched acid and branched ester/branched alcohol in the wines produced, may have significant organoleptic consequences.

Except for the variations in the components of the aromatic buffer — by-products of fermentation—, our study of wines derived from grapes harvested at differing stages of maturation did not found any varietal marker or target compound with sensorial significance.

These results suggest that the sensory characteristics of wines associated to the degree of maturity of grapes are mostly related to the changes in the profiles of fermentative compounds induced by changes in the polyphenolic content and in the medium in which the yeast develops. This in turn could determine the sensorial characteristics and the longevity of the wine.

5. References

- Allamy, L., Darriet, P., & Pons, A. (2018). Molecular interpretation of dried-fruit aromas in Merlot and Cabernet Sauvignon musts and young wines: Impact of over-ripening. *Food Chemistry*, 266, 245-253. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.022>
- Asproudi, A., Ferrandino, A., Bonello, F., Vaudano, E., Pollon, M., & Petrozziello, M. (2018). Key norisoprenoid compounds in wines from early-harvested grapes in view of climate change. *Food Chemistry*, 268, 143-152. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.069>

- Belda, I., Ruiz, J., Esteban-Fernández, A., Navascués, E., Marquina, D., Santos, A., & Moreno-Arribas, M. V. (2017). Microbial Contribution to Wine Aroma and Its Intended Use for Wine Quality Improvement. *Molecules*, 22(2), 1-29. <https://doi.org/10.3390/molecules22020189>
- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., & Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1696-1705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.146>
- Bisson, L. F., & Butzke, C. E. (2000). Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(2), 168-177.
- Bloem, A., Bertrand, A., Lonvaud-Funel, A., & De Revel, G. (2007). Vanillin production from simple phenols by wine-associated lactic acid bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 44(1), 62-67. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2006.02037.x>
- Bueno, M., Marrufo-Curtido, A., Carrascón, V., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Formation and Accumulation of Acetaldehyde and Strecker Aldehydes during Red Wine Oxidation. *Frontiers in Chemistry*, 6, 1-19. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00020>
- Caputi, L., Carlin, S., Ghiglieno, I., Stefanini, M., Valenti, L., Vrhovsek, U., & Mattivi, F. (2011). Relationship of Changes in Rotundone Content during Grape Ripening and Winemaking to Manipulation of the 'Peppery' Character of Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5565-5571. <https://doi.org/10.1021/jf200786u>
- Carrau, F. M., Medina, K., Farina, L., Boido, E., Henschke, P. A., & Dellacassa, E. (2008). Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *Fems Yeast Research*, 8(7), 1196-1207. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x>
- Coetzee, C., Brand, J., Jacobson, D., & Du Toit, W. J. (2016). Sensory effect of acetaldehyde on the perception of 3-mercaptohexan-1-ol and 3-isobutyl-2-methoxypyrazine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(2), 197-204. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12206>
- Chang, E. H., Jung, S. M., & Hur, Y. Y. (2014). Changes in the aromatic composition of grape cv. Cheongsoo wine depending on the degree of grape ripening. *Food Science and Biotechnology*, 23(6), 1761-1771. <https://doi.org/10.1007/s10068-014-0241-y>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M.-P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, 210, 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- de Boubée, D. R., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830-4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the Aroma of a Wine from Maccabeo. Key Role Played by Compounds with Low Odor Activity Values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516-3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine (Chapter 14). In H. Maarse (Eds.), *Volatile Compounds in Foods and Beverages* (pp. 483-547). New York: Taylor & Francis.
- Ferreira, V., de-la-Fuente-Blanco, A., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2019). Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In A. G. Reynolds (Ed.), *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality* (Vol. 1, pp. 620): Elsevier.
- Ferrero-del-Teso, S., Arias, I., Escudero, A., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2020). Effect of grape maturity on wine sensory and chemical features: The case of Moristel wines. *LWT*, 118, 108848. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108848>
- Franco-Luesma, E., & Ferreira, V. (2014). Quantitative analysis of free and bonded forms of volatile sulfur compounds in wine. Basic methodologies and evidences showing the existence of reversible cation-complexed forms. *Journal of Chromatography A*, 1359, 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.011>
- García, J., Zheng, W., Balda, P., & Martínez de Toda, F. (2017). Varietal differences in the sugar content of red grapes at the onset of anthocyanin synthesis. *Vitis - Journal of Grapevine Research*, 56(1), 15-18. <https://doi.org/10.5073/vitis.2017.56.15-18>
- Geffroy, O., Dufourcq, T., Carcenac, D., Siebert, T., Herderich, M., & Serrano, E. (2014). Effect of ripeness and viticultural techniques on the rotundone concentration in red wine made from *Vitis vinifera* L. cv. Duras. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(3), 401-408. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12084>
- Genovese, A., Gambuti, A., Piombino, P., & Moio, L. (2007). Sensory properties and aroma compounds of sweet Fiano wine. *Food Chemistry*, 103(4), 1228-1236. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.027>

- Han, G. M., Wang, H., Webb, M. R., & Waterhouse, A. L. (2015). A rapid, one step preparation for measuring selected free plus SO₂-bound wine carbonyls by HPLC-DAD/MS. *Talanta*, *134*, 596-602. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.11.046>
- Hashizume, K., & Samuta, T. (1999). Grape maturity and light exposure affect berry methoxypyrazine concentration. *American Journal of Enology and Viticulture*, *50*(2), 194-198.
- Kalua, C. M., & Boss, P. K. (2009). Evolution of Volatile Compounds during the Development of Cabernet Sauvignon Grapes (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(9), 3818-3830. <https://doi.org/10.1021/jf803471n>
- Kliwer, W. M., & Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf area/crop weight ratios of grapevines: Influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, *56*(2), 170-181.
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2010). Comparison of methods for estimating phenolic maturity in grapes: Correlation between predicted and obtained parameters. *Analytica Chimica Acta*, *660*(1), 127-133. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.067>
- Lambrechts, M., & Pretorius, I. (2000). Yeast and its importance to wine aroma-a review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *21*, 97-129.
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1), 167-177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- López, R., Lapeña, A. C., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Quantitative determination of wine highly volatile sulfur compounds by using automated headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-pulsed flame photometric detection. Critical study and optimization of a new procedure. *Journal of Chromatography A*, *1143*(1-2), 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.053>
- Marais, J. (2017). Terpenes in the Aroma of Grapes and Wines: A Review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, *4*(2), 49-60. <https://doi.org/10.21548/4-2-2370>
- Mateo-Vivaracho, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). Improved solid-phase extraction procedure for the isolation and in-sorbent pentafluorobenzyl alkylation of polyfunctional mercaptans Optimized procedure and analytical applications. *Journal of Chromatography A*, *1185*(1), 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.01.037>
- Mozzon, M., Savini, S., Boselli, E., & Thorngate, J. H. (2016). The herbaceous character of wines. *Italian Journal of Food Science*, *28*(2), 190-207. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v304>
- OIV. (2018). Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Paris: Office International de la Vigne et du Vin.
- Oliveira, J. M., Faria, M., Sá, F., Barros, F., & Araújo, I. M. (2006). C₆-alcohols as varietal markers for assessment of wine origin. *Analytica Chimica Acta*, *563*(1), 300-309. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.12.029>
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, *923*(1-2), 205-214. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(01)00972-4)
- Pons, A., Allamy, L., Schuttler, A., Rauhut, D., Thibon, C., & Darriet, P. (2017). What is the expected impact of climate change on wine aroma compounds and their precursors in grape? *Oeno One*, *51*(2), 141-146. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2016.0.0.1868>
- Salinas, M., Zalacain, A., Pardo, F., & Alonso, G. L. (2004). Stir bar sorptive extraction applied to volatile constituents evolution during *Vitis vinifera* ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(15), 4821-4827. <https://doi.org/10.1021/jf040040c>
- San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., & Escudero, A. (2011). Quality and Aromatic Sensory Descriptors (Mainly Fresh and Dry Fruit Character) of Spanish Red Wines can be Predicted from their Aroma-Active Chemical Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *59*(14), 7916-7924. <https://doi.org/10.1021/jf1048657>
- Steel, C. C., Blackman, J. W., & Schmidtke, L. M. (2013). Grapevine Bunch Rots: Impacts on Wine Composition, Quality, and Potential Procedures for the Removal of Wine Faults. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(22), 5189-5206. <https://doi.org/10.1021/jf400641r>
- Verzera, A., Tripodi, G., Dima, G., Conurso, C., Scacco, A., Cincotta, F., . . . Sparacio, A. (2016). Leaf removal and wine composition of *Vitis vinifera* L. cv. Nero d'Avola: the volatile aroma constituents. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(1), 150-159. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7075>
- Wen, Y., Ontañón, I., Ferreira, V., & López, R. (2018). Determination of ppq-levels of alkylmethoxypyrazines in wine by stirbar sorptive extraction combined with multidimensional gas

- chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, 255, 235-241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.089>
- Yuan, F., & Qian, M. C. (2016). Aroma Potential in Early- and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(2), 443-450. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04774>
- Zea, L., Serratos, M. P., Mérida, J., & Moyano, L. (2015). Acetaldehyde as Key Compound for the Authenticity of Sherry Wines: A Study Covering 5 Decades. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 681–693. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12159>

Chapter 7. Maturation in different vineyards from Moristel. Amino acid and aroma composition of grapes and wines with particular emphasis in Strecker aldehydes

1. Introduction

It has been demonstrated that the amino acid composition of musts influences the aromatic composition of wine (Hernández-Orte *et al.*, 2002). Amino acids are a highly important source of yeast assimilable nitrogen (YAN) during alcoholic fermentation and they are also precursors of some relevant aroma compounds during the same process (e.g. higher alcohols) (Canoura *et al.*, 2018; Rapp & Versini, 1991). For this reason, the nitrogen composition of the grapes and particularly of the musts, will have notable consequences for the aromatic quality of the final wine (Garde-Cerdán *et al.*, 2011; Rollero *et al.*, 2017).

The amino acid profiles of grapes depend on many factors, such as edaphoclimatic conditions (Hernández-Orte *et al.*, 1999; Seeber *et al.*, 1991), grape variety (Bouloumpasi *et al.*, 2002; Etiévant *et al.*, 1988; Hernández-Orte *et al.*, 1999; Vasconcelos & Dasneves, 1990), rootstock, viticultural practices, management of soil and of vegetation (Bell & Henschke, 2005; Gutiérrez-Gamboa *et al.*, 2017) and the level of maturation (Hernández-Orte *et al.*, 1999; Kliewer, 1970), among others. The maturation factor is especially interesting because different studies demonstrate not only the effects of grape ripeness on amino acid composition, but its decisive effect on the quality and aromatic profile of the wine (Fang & Qian, 2006; Arias-Pérez *et al.*, 2020). This can be attributed to the fact that the synthesis of many of the aroma compounds and of their precursors occurs during ripening (Wilson *et al.*, 1984; Yuan & Qian, 2016).

There is not an entirely clear understanding of the relationship between the aromatic compounds found in wine and the assimilation of amino acids by yeast during fermentation (Bell & Henschke, 2005; Carrau *et al.*, 2008; Fairbairn *et al.*, 2017). The amino acid metabolism of yeast is a complex process (Crepin *et al.*, 2017) that depends on many factors, such as the levels of amino acids and of ammonium, the strain of yeast and its specific metabolic requirements, or the balance of reduced and oxidized forms of the main cofactors (NADH/NADPH), among others (Barbosa *et al.*, 2009; Carrau *et al.*, 2008; Fairbairn *et al.*, 2017; Hernández-Orte *et al.*, 2002; Lambrechts & Pretorius, 2000). Despite this complexity, previous studies relate the amino acid profile of the must to different the wine contents in important aroma compounds of fermentative origin, such as branched acids and their esters, and higher alcohols and their acetates (Fairbairn *et al.*, 2017; Hernández-Orte *et al.*, 2002), all them thought to be formed through the Ehrlich pathway. All these aroma compounds structurally derive from the amino acids, valine, leucine, isoleucine, methionine and phenylalanine.

Strecker aldehydes (isobutanal, 2-methylbutanal, isovaleraldehyde, methional and phenylacetaldehyde) are also part of the Ehrlich route, although it is generally considered that they are mere intermediates so that they do not accumulate significantly during fermentation. Strecker aldehydes can be also formed by oxidative degradation of the precursor amino acids (Rizzi, 2006; Grant-Preece *et al.*, 2013; Bueno *et al.*, 2016), or even by the oxidation of their corresponding alcohols (Escudero *et al.*, 2000; Bueno *et al.*, 2016). Strecker aldehydes, notably methional and phenylacetaldehyde are the most important contributors to oxidation aroma notes of wines (Escudero *et al.*, 2000; Monforte *et al.*, 2018; Culleré *et al.*, 2007).

Strecker aldehydes can participate in many reactions with different reagents, such as SO₂, polyphenols, amino acids, proteins and other species (Vivar-Quintana *et al.* 1999; de Azevedo *et al.* 2007; Liu & Pilone, 2000). As the products of the reaction aldehyde-SO₂ are reversible, it has been demonstrated that during wine oxidation, as wine SO₂ is consumed, previously formed aldehydes can be released from their adducts (Ferreira *et al.*, 2014; Bueno *et al.*, 2016) causing the deterioration of wine aroma. However, it is not yet clear whether the aldehydes were formed during fermentation or by oxidation in some step of the long process of wine making. The influence of grape maturation on the ability of wine to form these compounds is also unknown.

Moristel is an old variety of *Vitis vinifera*, traditionally used in the Somontano Designation of Origin in northern Aragón (Spain), which has been little studied (Ferrero-del-Teso *et al.*, 2020). It has a long vegetative cycle, produces wines with relatively low levels of alcohol and performs well in the face of drought and diseases (García *et al.*, 2017), which makes it a promising variety for adapting to arid climates.

The present study aims to understand the influence of the harvest date on the amino acid and aromatic composition of grapes and wines of the Moristel variety focusing especially on Strecker aldehydes.

2. Materials and Methods

2.1. Reagents, solvents and standards

Dichloromethane, ethanol and methanol for gas chromatography analyses were supplied by Fisher Scientific (Loughborough, UK). Methanol and acetonitrile of HPLC and LiChrolut EN resins were supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Pure water was obtained from a Milli-Q purification system (Millipore, USA). Semi-automated solid-phase extraction was carried out with a Vac Elut 20 station from Varian (Walnut Creek, USA). Standards and reagents for aroma compounds and amino acids determination were supplied by Merck (Darmstadt, Germany), ChemService (West Chester, PA, USA), PolyScience (Niles, IL), Lancaster (Eastgate, UK), Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany), Panreac (Barcelona, Spain), Firmenich (Geneva,

Switzerland), AromaLab (Planegg, Germany), Waters (Milford, MA, USA) and Oxford Chemicals (Hartlepool, UK).

2.2. Samples

The samples came from five vineyards (A, B, C, D, E) and two vintages: 2016 (vineyards A, B and C) and 2017 (vineyards D and E). Vineyards A and D had good physiological and vegetative equilibrium, while B, C and E were unbalanced vineyards with an excess of vigour. These differences become obvious when comparing the ratio of exposed leaf surface (ELA)/yield, a parameter which compares a vineyard's production with the exposed foliar surface. Values of this ratio between 0.8 and 1.2 m² kg⁻¹ are considered optimal (Kliwer & Dokoozlian, 2005) reflecting a limited production with a good vegetative development. Vineyards A and D gave ELA/yield values of around 1 m² kg⁻¹, while these values for vineyards B, C and E were around 0.6 m² kg⁻¹. The characteristics which define the selected vineyards are summarized in **Table 1** of Chapter 6. For the study of maturation development, a maximum of four harvest points were selected, with approximately one week's separation between each (42, 49, 56 and 62 days *postvéraison*).

2.2.1. Grape samples and ethanolic musts (*mistelles*)

For the study of the grapes, 11 *mistelles* were elaborated. These are beverages prepared from grape-must to which a quantity of alcohol is added to impede fermentation. One *mistelle* was elaborated for each vineyard and maturation point.

Fifteen kilograms of grapes were first destemmed and crushed in the presence of 15% (p/p) ethanol and 5 g hL⁻¹ of potassium metabisulfite. After 7 days' macerating at 15 °C, the *mistelles* were pressed, filtered (obtaining an approximate total volume of 11 L) and stored at 5 °C in the dark.

Analysis of free aromas and amino acids was carried out eight months after elaboration. The samples are shown in **Table 1**.

2.2.2. Wine Samples

Thirty-nine samples of Moristel wine were elaborated in the same conditions as those described in the Chapter 6. All micro-vinifications were carried out in triplicate, following the same elaboration protocol in every case, in Bodegas Pirineos, S.A. (Spain) (see paragraph 2.2 of Chapter 6). Aromas and amino acids were analysed eight months after the samples described in **Table 1** were bottled.

Table 1. Samples Table. Micro-vinifications and *mistelles* made with Moristel grapes with different degrees of maturation from plots with different features. The first letter of each abbreviation refers to the samples (G=*mistelles* and W= wine). The second letter is the vineyard (A, B, C, D or E); Tx is the harvest time (T1: 41-42 days *postvéraison*, T2: 48-49 days *postvéraison*, T3: 56 days *postvéraison* and T4: 60-63 days *postvéraison*). The last number is the sample (1, 2 or 3).

Year 2016				Year 2017			
Data	Vineyard	Grape	Wine	Data	Vineyard	Grape	Wine
12/09/2016 42 days <i>postvéraison</i>	A	G-AT1	W-AT1.1	06/09/2017 41 days <i>postvéraison</i>	D		W-DT1.1
			W-AT1.2				W-DT1.2
			W-AT1.3				W-DT1.3
	B	G-BT1	W-BT1.1				
			W-BT1.2				
			W-BT1.3				
	C	G-CT1	W-CT1.1		E		W-ET1.1
			W-CT1.2				W-ET1.2
			W-CT1.3				W-ET1.3
19/09/2016 49 days <i>postvéraison</i>	A	G-AT2	W-AT2.1	13/09/2017 48 days <i>postvéraison</i>	D	G-DT2	W-DT2.1
			W-AT2.2				W-DT2.2
			W-AT2.3				W-DT2.3
	B	G-BT2	W-BT2.1				
			W-BT2.2				
			W-BT2.3				
26/09/2016 56 days <i>postvéraison</i>	A	G-AT3	W-AT3.1				
			W-AT3.2				
			W-AT3.3				
	B	G-BT3	W-BT3.1				
			W-BT3.2				
			W-BT3.3				
03/10/2016 63 days <i>postvéraison</i>	A	G-AT4	W-AT4.1	26/09/2017 60 days <i>postvéraison</i>	D	G-DT4	W-DT4.1
			W-AT4.2				W-DT4.2
			W-AT4.3				W-DT4.3
	B	G-BT4	W-BT4.1				
			W-BT4.2				
			W-BT4.3				

2.3. Methods

2.3.1. Oenological parameters

The progress of fermentations was monitored by daily measurement of the density and temperature of the must-wine. Fermented wines were further analysed to assess pH, total acidity (TA), volatile acidity (VA), total polyphenol index (TPI- I280), colour index (CI), alcoholic degree, reductive sugars and levels of malic and lactic acids. In the case of *mistelles*, only pH and TPI were assessed. All these measurements were carried out in accordance with the methodology established by the Office International de la Vigne et du Vin (OIV). Results are given in **Tables 1 and 2** of the Annex 6.

2.3.2. Quantitative analysis of major aroma compounds

The determination of major aroma compounds in 11 *mistelles* and 39 wines was carried out using a variation on the method described by Ortega *et al.* (2001). This consists of liquid-liquid micro-extraction with dichloromethane and analysis in a gas chromatograph with a flame ionization detector (GC-FID). Areas of analytes normalized to one of the selected internal standards (4-hidroxy-4-methyl-pentanone, 2-butanol, 4-methyl-2-pentanol, 2-octanol, heptanoic acid and ethyl heptanoate), were further interpolated in the calibration graphs built with synthetic wine models.

2.3.3. Quantitative analysis of minor and trace aroma compounds

Minor aroma compounds were extracted by solid-phase extraction (SPE) and were further analysed by gas chromatography coupled to an ion trap mass spectrometry detection system (GC-MS), as reported by López *et al.* (2002). Ion peak areas using the most selective and quantitative m/z (mass to charge ratio) ratios were normalized by the area of one of the internal standards (2-octanol, 3,4-dimetilfenol and 3-octanone) and transformed into concentration via interpolation in the calibration plots built via the analysis of synthetic wines with known amounts of analytes.

2.3.4. Determination of total Strecker aldehydes

The various odour-active Strecker aldehydes (isobutyraldehyde, 2-methylbutanal, isovaleraldehyde, methional, phenylacetaldehyde) in their total forms (free plus bound) were determined by headspace-SPME-GC-MS after breaking complexes with glyoxal. The method is described by Bueno *et al.* (2014).

2.3.5. Quantitative analysis of amino acids

Amino acids — alanine (ALA), asparagine (ASN), arginine (ARG), aspartic acid (ASP), cysteine (CYS), γ -aminobutyric acid (GABA), glutamine (GLN), glutamic acid (GLU), glycine (GLY), histidine (HIS), isoleucine (ILE), leucine (LEU), lysine (LYS), methionine (MET), ornithine (ORN), phenylalanine (PHE), proline (PRO), serine (SER), threonine (THR), tyrosine (TYR) and valine (VAL) — ammonium and internal standard (α -aminobutyric acid) were treated by a derivatization strategy with 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) and were then determined by HPLC with a fluorescence detector according to the method proposed by Hernández-Orte *et al.* (2003). Peak areas, normalized by those of the internal standard were interpolated in the calibration plots built via the analysis of synthetic wines containing known amounts of amino acids.

2.4. Data analysis

Analytical results were processed by two-way ANOVA with maturity and vineyard-year as factors. One-factor analysis of variance (ANOVA) was further used to evaluate the effects of maturity. For significant effects, a Fischer post-hoc pairwise comparison (95%) test was performed.

In order to have an overview of all the samples, a principal component analysis (PCA) was carried out. All analyses were carried out with XLSTAT (2018 version).

Correlation studies and simple Student t tests were directly carried out with Excel 2016 (Microsoft, Washington, USA).

3. Results and discussion

In this work, grape samples were crushed and macerated in the presence of alcohol and then pressed to obtain *mistelles* in order to ensure a sufficient extraction of polyphenolic material, similar to that observed during alcoholic fermentation and obtaining stable samples. Eleven different *mistelles* were obtained from the four different vineyards, three sampled in 2016 and one in 2017. Thirty-six different wines, excluding three samples whose fermentations were problematic, were finally considered in the study. *Mistelles* and wines were characterised by classic oenological parameters, and were further analysed by GC-FID, GC-MS and HPLC for determining odorants and amino acids. The complete sets of results can be found in **Tables 1 and 2** of the Annex 6.

3.1. Chemical changes in grapes during maturation

3.1.1. Amino acid profiles

Figure 1A shows the PCA plot obtained from amino acid data from the *mistelles*. As can be seen, samples are distributed in the PCA plane attending first, to the vineyard they come from and second, to the degree of ripeness. Samples from each vineyard are grouped forming right-leaned ellipses distributed along the first component. The rotated axis providing maxima difference between vineyards follows closely the direction marked by the variable loading of ORN. It should be observed that all amino acids except GABA, PRO and GLN, are positively correlated to such vector, that PRO and GLN are completely uncorrelated, and that GABA is the single one negatively correlated. This implies that the primary difference between samples from the different vineyards is the absolute content in amino acids other than PRO and GLN and, particularly, the ratios between ORN and GABA or between the summation of all the amino acids most correlated to ORN and GABA. Samples from vineyard A contain the lowest amounts of amino acids, while those from vineyard B and the single one from vineyard C, contain maxima levels and those from vineyard D have intermediate levels. The ratios ORN/GABA or

LYS+THR+ORN+GLY+ASN+TYR+PHE/GABA take significantly different values for each vineyard and could be used for classification. The higher levels of amino acids in grapes from vineyards B and C are consistent with the fact that vines in these plots were more vigorous. More vigorous plants have higher photosynthetic activity, and hence higher protein synthesis and hence, higher amino acid levels (Bell & Henschke, 2005).



Figure 1. Amino acid variability with maturation in the four different vineyards sampled in the study. The plots give the projections of the sample scores and variable loadings in the planes formed by the two first Principal Components obtained in the PCA study carried out with amino acid data from 11 different *mistelles* made with representative grape samples from different ripeness and four different vineyards.

Figure 1A, absolute data; **Figure 1B,** relative data (amino acid concentration in %).

The figure also reveals that grape maturity increases following a diagonal from left-down to right-up of the plot. It is most remarkable that all amino acids except ornithine are positively correlated to such diagonal line representing ripeness, which suggests that during maturation there is, essentially, an accumulation of amino acids accompanied by some changes in amino acid profiles. These changes consist mainly in the relative enrichment in PRO, ILE, LEU, VAL and HIS. The general amino acid increase with maturity has been previously reported (Hernández-Orte *et al.*, 1999; Ortega-Heras *et al.*, 2014; Rapp & Versini, 1991). The relevance of proline as maturation driver is also known since this amino acid is synthesized to counterbalance hydric stress (Bisson & Butzke, 2000; Canoura *et al.*, 2018) which explains its higher levels in over-matured and raisinized grapes. It is also worth mentioning, that this amino acid cannot be consumed by yeast under fermentation conditions (Manginot *et al.*, 1997) because its metabolism occurs in aerobiosis (Hernández-Orte *et al.*, 1999).

Changes in the amino acid profiles associated to maturation are best seen in the plot given in **Figure 1B**. This representation corresponds to the PCA study carried out with amino acid data normalized by the total amount of amino acids in each sample. The plot clearly shows that unripe grapes from the different vineyards are most dissimilar and that during maturation there is a convergence towards a common amino acid profile located in the left-upper part of the plot. I.e., matured samples are characterized by negative scores of PC1 and positive scores of PC2. Different vineyards differ mainly in the relative proportions of GABA and proline on the one hand, and of the rest of amino acids (excluding GLN, GLU and HIS) on the other hand. Low vigorous vineyards A and D are characterized by highest proportions of proline and GABA, while high vigorous vineyards C and B have minima proportions of these two amino acids. During maturation, however, differences in the relative content of those two amino acids shrinks so that matured samples acquire a common amino acid profile characterized by relatively high proportions of PRO, GLN, ILE, VAL and LEU and relatively low proportions of ALA, THR, ORN, GLY, ASP, LYS and TYR. The large differences between unripe samples imply the existence of some vineyard-specific changes during maturation. As can be seen, in vineyard A, there is an enrichment in GLN, ILE, VAL and LEU, while in vineyard B, there is a neat enrichment in PRO and GLN, but levels of ILE, VAL and LEU, remain unaltered. Nevertheless, some general maturation indexes could be defined and the ratios defined by:

$$\frac{PRO + GLN + ILE + VAL + LEU}{ORN + LYS + GLY + THR}$$

or by PRO/ORN are significantly correlated with traditionally-used indices, such as the Cillis and Odifreddi index (concentration of sugars/total acidity) and the Goded index (must density/total acidity). Correlation coefficients are 0.71 ($p=0.014$) and 0.72 ($p=0.0119$) for the

Cillis and Odifreddi index and 0.65 ($p=0.0305$) and 0.67 ($p=0.0250$) for Goded index for the two quotients, respectively.

3.1.2. Volatile fraction

The volatile composition of *mistelles* is also related to vineyard and maturation level, although the weight of these factors is not as dominant as it was in the case of amino acids.

The evolution of Strecker aldehydes in *mistelles* are shown in **Figure 2**. Leaving aside phenylacetaldehyde, Strecker aldehydes increase with ripeness. In general, and as can be seen in the figure, the increases in precursor amino acid parallel those of the corresponding aldehyde.

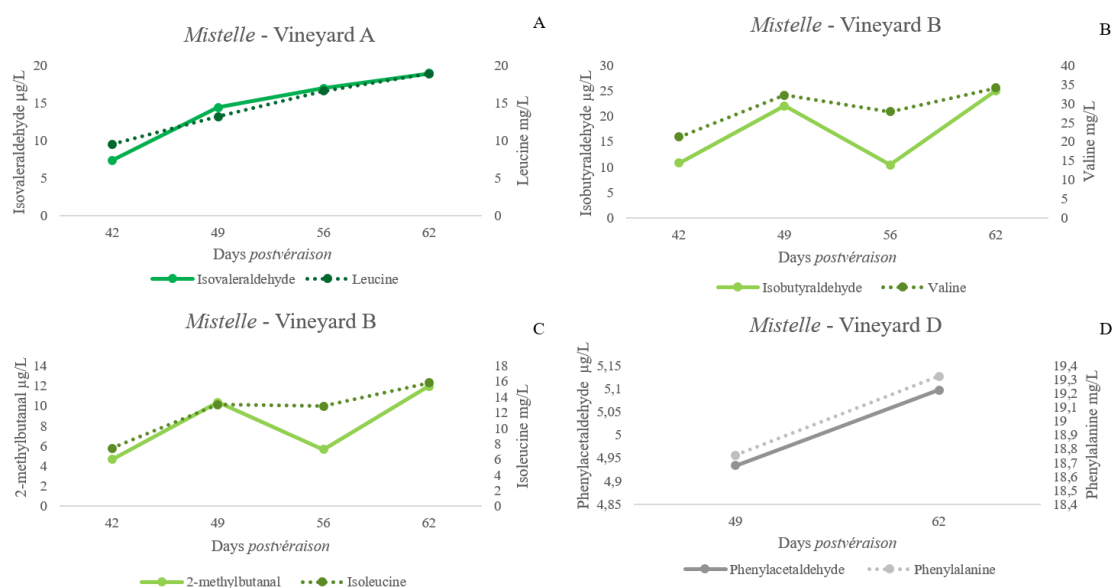


Figure 2. Evolution of some Strecker aldehydes and their amino acid precursors in *mistelle* samples made with grapes sampled from specific vineyards at different degrees of ripeness (expressed as days *postvéraison*). **Figure 2A**, leucine-isovaleraldehyde in vineyard A; **Figure 2B**, valine-isobutyraldehyde in vineyard B, **Figure 2C**, isoleucine-2-methylbutanal in vineyard B; **Figure 2D**, phenylalanine-phenylacetaldehyde in vineyard D.

This is corroborated by the significant positive correlations between the precursor amino acid and the Strecker aldehyde (leucine-isovaleraldehyde, $r=0.98$, $p<0.01$; valine-isobutyraldehyde, $r=0.86$, $p<0.01$; isoleucine-2-methylbutanal, $r=0.82$, $p<0.01$; and methionine-methional, $r=0.78$, $p<0.01$), except for phenylacetaldehyde (phenylalanine-phenylacetaldehyde, $r=0.15$, $p=0.68$). To the best of our knowledge there are no previous reports indicating the presence of Strecker aldehydes in healthy musts. Our experimental approach, however, cannot precise whether these compounds are already present in the grape, or are formed by Strecker degradation during the production of the *mistelle*. Should this be the case, they could be formed by reaction of the precursor amino acid with a quinone (Rizzi, 2006; Grant-Preece *et al.*, 2013; Bueno *et al.*, 2016). The poor formation of phenylacetaldehyde could be related to an already suggested smaller reactivity of phenylalanine to polyphenols (Bueno *et al.*, 2018), or to the inhibition of the reaction by the presence of glucose (Monforte *et al.*, 2018).

Regarding varietal aroma compounds, it is known that grapes contain very little amounts of free aroma compounds, which are slowly formed from precursors (Hernández-Orte *et al.*, 2015). The amounts reported here refer to the aroma compounds present in free form after eight months of anoxic conservation at the specific pH and sugar level of each *mistelle*. The few remarkable observations are summarized in **Figure 3**.

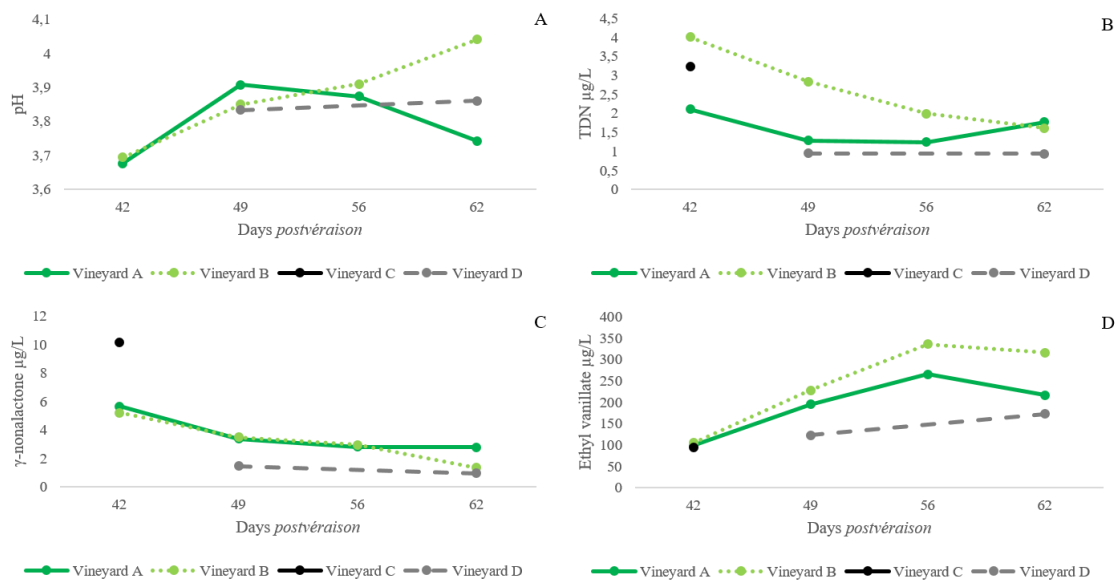


Figure 3. Evolution of some varietal aroma compounds and pH during maturation in *mistelle* samples aged 8 months. **Figure 3A**, pH; **Figure 3B**, TDN; **Figure 3C**, γ -nonalactone; **Figure 3D**, ethyl vanillate.

TDN levels seem to decrease with maturation (See **Figure 3B**), except in the last sampling point of Vineyard A. Similar patterns are observed for vitispiranes, Riesling acetal and for γ -nonalactone (**Table 1** of the Annex 6). These peculiar evolutions, however, seem to be closely related to the pH of the *mistelles* (See **Figure 3A**). It is apparent that higher levels of TDN and γ -nonalactone are related to smaller pHs. This, together with opposite evolutions with maturity reported by other authors both for TDN (Yuan & Qian, 2016) and γ -nonalactone (Allamy *et al.*, 2018), suggests that the observed content is more related to the higher rates at acidic pHs of the different reactions responsible for the formation of TDN and the other related norisoprenoids and γ -nonalactone, than to the real existence of higher levels of specific precursors of these molecules. This fact is consistent with the significant negative correlations between levels of these aroma compounds and pH (TDN, $r=-0.6$, $p=0.05$; vitispirane A, $r=-0.66$, $p=0.02$; vitispirane B, $r=-0.65$, $p=0.03$; Riesling acetal, $r=-0.60$, $p=0.05$; γ -nonalactone, $r=-0.85$, $p<0.01$). The levels of some other aroma compounds in the *mistelles* also bear negative correlations with pH, such as α -terpineol ($r=-0.73$, $p=0.01$), ethyl isobutyrate ($r=-0.69$, $p=0.02$) and ethyl isovalerate ($r=-0.85$, $p<0.01$). All these compounds are also formed through pH-dependent chemical reactions: α -terpineol is one of the products in which linalool and geraniol decompose, while the esters are formed quicker in acidic media. Finally, levels of ethyl vanillate

tend to increase with maturation (**Figure 3D**), in accordance with previous reports (Bloem *et al.*, 2007).

3.2. Wines and their relationship to original *mistelles*

3.2.1. Amino acid changes during fermentation

The musts from Moristel are particularly rich in proline (0.5 to 1.2 g L⁻¹), followed by THR, ARG, GABA and ALA, all with average contents between 0.1 g L⁻¹ and 0.5 g L⁻¹. The maxima variability is observed for ARG levels (RSD (%)=59%). Contents in GLU, SER, HIS and ASP, are also above 30 mg L⁻¹, while average levels of GLN, ILE, ASN, GLY and MET were below 12 mg L⁻¹. Levels of VAL, LEU and PHE, the amino acids together with ILE and MET precursors of Strecker aldehydes, were 24, 21 and 18 mg L⁻¹, respectively. Data shown in Annex 6.

The wines contained smaller levels of nearly all amino acids, except PRO, which as was aforementioned, is not consumed by yeast. Only THR, ALA and GABA have average levels between 25 and 45 mg L⁻¹. ARG is nearly completely consumed, so that its average levels in wine are close to 15 mg L⁻¹. Levels of LYS, ASN and GLY in wines were slightly above those measured in *mistelles*. It is not clear whether this is the consequence of instrumental imprecision (concentrations are very low) or whether these amino acids are really synthesized and excreted by yeasts during fermentation.

In relative terms the amino acids most consumed are ARG (99%), followed by THR (87%), GABA and SER (84-85%) and HIS and ALA (77-78%). Leaving aside the four amino acids not consumed during fermentation (ASN, GLY, PRO, LYS), the amounts consumed are significantly correlated to the initial level of amino acid in all cases except those of TYR and PHE. The correlation coefficients were so high for highly consumed amino acids (0.999 ARG, 0.984 THR, 0.982 SER, 0.962 GLU, 0.956 ALA, 0.955 GABA, 0.876 HIS, 0.860 VAL and 0.815 ASP; as shown in **Table 2**) that for these major amino acids, the amount consumed by yeast is strictly proportional to the available amino acid in the must, suggesting that yeasts use a relatively constant fraction of each available and easily-adsorbed amino acid.

The remaining amounts of amino acids in the wine are also significantly correlated with initial amino acid concentration in many instances. Correlations are high only in the non-assimilated amino acids (ASN, TYR, LYS and to a lesser extent PRO), are non-significant in some of the most consumed (HIS and ARG) and in the cases of ASP, MET and ORN, as shown in **Table 2**.

Table 2. Table of correlations between the amino acids in *mistelle* (m) and the difference between the initial amino acids concentration in must and final levels in wine (m-w) with fermentative aroma compounds in wine (w). Data is given as R. Significance (*p*-value) is shown as: *****p*<0.001; ***0.001<*p*<0.01; **0.01<*p*<0.05 and *0.05<*p*<0.1.

	Same amino acid (w)	isobutanol	isoamyl alcohol	methionol	β-phenyl ethanol	isoamyl acetate	butyl acetate	isobutyl acetate	phenylethyl acetate	ethyl isobutyrate	ethyl 2-methyl butyrate	ethyl isovalerate	isobutyric acid	isovalerianic acid	isobutyr aldehyde	isovaler aldehyde	2-methyl butanal	methionol	phenyl acetaldehyde
ALA(m)	0.700**	-0.138	0.012	-0.321	-0.721**	0.312	0.434	0.237	-0.180	-0.593*	-0.203	-0.309	-0.212	-0.569*	0.747**	0.541*	0.758**	0.068	0.428
ASN(m)	0.893****	-0.406	-0.312	-0.168	-0.403	0.187	0.114	0.323	-0.019	-0.604*	-0.359	-0.050	-0.254	-0.224	0.381	0.336	0.405	0.151	0.245
ARG(m)	0.375	-0.181	-0.048	-0.282	-0.436	0.407	0.291	0.463	0.152	-0.709**	-0.468	-0.489	-0.086	-0.339	0.265	0.186	0.661**	-0.231	0.004
ASP(m)	0.383	-0.481	-0.060	0.048	-0.167	0.099	-0.013	0.174	0.008	-0.635**	-0.567*	-0.360	-0.340	-0.163	0.037	0.048	0.002	-0.170	-0.025
GABA(m)	-0.615**	0.619**	0.562*	-0.630**	-0.402	0.836***	0.671**	0.375	0.315	-0.095	0.212	-0.609**	0.800***	-0.344	0.241	-0.311	0.447	-0.646**	-0.402
GLU(m)	0.702**	0.167	0.034	-0.833***	-0.929****	0.645***	0.838***	0.452	-0.087	-0.690**	-0.041	-0.526*	0.158	-0.852****	0.682**	0.403	0.857***	-0.168	0.286
GLY(m)	0.636**	-0.397	0.004	0.303	-0.029	-0.054	-0.171	0.030	-0.078	-0.459	-0.507	-0.122	-0.622**	-0.077	-0.014	0.239	-0.156	0.053	0.244
HIS(m)	0.347	-0.102	-0.101	-0.461	-0.502	0.646**	0.401	0.609**	0.281	-0.776***	-0.444	-0.597*	0.091	-0.376	0.307	-0.050	0.635**	-0.627**	-0.162
ILE(m)	0.688**	-0.001	-0.085	-0.478	-0.506	0.673**	0.466	0.564*	0.178	-0.782***	-0.432	-0.719**	-0.012	-0.531*	0.264	-0.136	0.636*	-0.718**	-0.197
LEU(m)	0.650**	-0.095	-0.065	-0.451	-0.536*	-0.636**	0.450	0.563*	0.134	-0.818***	-0.465	-0.693**	-0.049	-0.525*	0.289	-0.006	0.714**	-0.681**	-0.111
LYS(m)	0.785***	-0.336	-0.107	0.167	-0.207	-0.047	-0.014	-0.010	-0.250	-0.475	-0.372	-0.117	-0.697**	-0.302	0.130	0.400	-0.033	0.131	0.422
MET(m)	0.503	-0.230	-0.098	0.018	-0.052	0.259	-0.057	0.562*	0.297	-0.717**	-0.742***	-0.443	-0.316	-0.073	-0.078	-0.107	-0.060	-0.392	-0.190
ORN(m)	0.323	-0.398	-0.155	0.153	-0.332	-0.318	0.025	-0.379	-0.786***	-0.110	0.079	0.274	-0.675**	-0.382	0.615*	0.731**	0.162	0.618*	0.815***
PHE(m)	0.636**	-0.101	0.099	0.061	-0.184	0.093	0.106	0.059	-0.112	-0.544*	-0.446	-0.489	-0.463	-0.363	0.593*	0.210	-0.075	-0.244	0.125
PRO(m)	0.728**	0.317	0.271	-0.726**	-0.569*	0.821***	0.705**	0.592*	0.344	-0.604*	-0.221	-0.881****	0.599*	-0.484	0.260	-0.247	0.669**	-0.813***	-0.434
SER(m)	0.711**	-0.262	-0.108	-0.061	-0.127	0.337	0.006	0.618*	0.359	-0.704**	-0.695**	-0.448	-0.147	-0.048	-0.013	-0.096	0.066	-0.529*	-0.241
THR+NH ₄ (m)	0.643**	-0.330	-0.248	0.103	-0.275	-0.061	-0.008	0.031	-0.235	-0.318	-0.253	-0.103	-0.569*	-0.232	0.569*	0.492	0.273	0.191	0.344
TYR(m)	0.826***	-0.311	-0.044	-0.011	-0.326	0.111	0.124	0.133	-0.146	-0.615**	-0.447	-0.338	-0.530*	-0.366	0.640**	0.342	0.617*	-0.044	0.253
VAL(m)	0.655**	-0.092	-0.067	-0.447	-0.513	0.542*	0.422	0.555*	0.174	-0.779***	-0.472	-0.699**	0.002	-0.465	0.329	-0.025	0.708**	-0.685**	-0.178

Tabla 2. (Cont.)

	Same amino acid (m)	isobutanol	isoamyl alcohol	methionol	β -phenyl ethanol	isoamyl acetate	butyl acetate	isobutyl acetate	phenylethyl acetate	ethyl isobutyrate	ethyl 2-methyl butyrate	ethyl isovalerate	isobutyric acid	isovalerianic acid	isobutyr aldehyde	isovaler aldehyde	2-methyl butanal	methionol	phenyl acetaldehyde
ALA(m-w)	0.956****	-0.010	0.106	-0.382	-0.766****	0.297	0.592*	0.100	-0.607*	-0.475	-0.036	-0.381	-0.182	-0.709**	0.898****	0.613**	0.819***	0.014	0.459
ASN(m-w)	0.259	-0.035	-0.405	-0.645**	-0.614**	0.084	0.537*	-0.022	-0.599*	-0.215	0.253	-0.367	-0.016	-0.710**	0.687**	0.226	0.680**	-0.177	0.035
ARG(m-w)	0.999****	-0.189	-0.037	-0.263	-0.404	0.404	0.265	0.474	0.181	-0.717**	-0.502	-0.489	-0.081	-0.306	0.229	0.161	0.642*	-0.245	-0.026
ASP(m-w)	0.815****	-0.536	0.096	0.406	0.185	-0.286	-0.320	-0.277	-0.175	-0.218	-0.402	-0.161	-0.432	0.096	-0.103	-0.077	-0.257	-0.083	-0.073
GABA(m-w)	0.955****	0.638**	0.361	-0.523	-0.209	0.700**	0.517	0.300	0.344	0.068	0.270	-0.604*	0.793***	-0.190	0.087	-0.456	0.282	-0.666**	-0.496
GLU(m-w)	0.962****	0.279	0.124	-0.899****	-0.934****	0.715**	0.951****	0.367	-0.146	-0.662**	0.094	-0.611**	0.261	-0.914****	0.737**	0.343	0.885****	-0.268	0.224
GLY(m-w)	-0.221	0.152	0.282	0.401	0.275	-0.602*	-0.201	-0.854****	-0.598*	0.753**	0.582*	0.248	-0.229	0.047	0.064	0.092	-0.213	0.534*	0.237
HIS(m-w)	0.876****	0.188	0.019	-0.588*	-0.412	0.845****	0.461	0.841****	0.626**	-0.718**	-0.360	-0.682**	0.494	-0.212	0.164	-0.323	0.408	-0.732**	-0.425
ILE(m-w)	0.700**	0.021	-0.012	-0.132	-0.044	0.226	0.125	0.091	0.080	-0.357	-0.301	-0.641**	-0.085	-0.238	-0.003	-0.510	0.004	-0.724**	-0.474
LEU(m-w)	0.701**	0.104	0.111	-0.322	-0.158	0.490	0.273	0.380	0.339	-0.501	-0.384	-0.780***	0.222	-0.217	0.019	-0.537*	0.136	-0.830***	-0.612**
LYS(m-w)	0.056	0.109	0.205	0.719**	0.743***	-0.229	-0.589*	-0.142	0.307	0.630*	-0.294	-0.032	-0.208	0.551*	-0.594*	-0.564*	-0.691**	-0.335	-0.406
MET(m-w)	0.690**	0.221	0.318	-0.202	0.002	0.515	0.160	0.652**	0.658**	-0.570*	-0.571*	-0.721*	0.237	-0.041	-0.230	-0.446	-0.114	-0.780***	-0.642**
ORN(m-w)	0.695**	-0.399	-0.008	0.471	0.092	-0.799****	-0.289	-0.898****	-0.864****	0.329	0.238	0.325	-0.773***	-0.123	0.213	0.577*	-0.163	0.597*	0.632**
PHE(m-w)	0.275	0.251	0.372	0.271	0.425	-0.037	-0.184	-0.120	0.225	0.163	-0.098	-0.386	0.108	0.234	-0.402	-0.486	-0.456	-0.531*	-0.505
PRO(m-w)	-0.358	0.100	0.245	0.290	0.078	-0.592*	-0.056	-0.860***	-0.648**	0.796***	0.749***	0.277	-0.117	-0.051	0.287	0.306	0.000	0.367	0.342
SER(m-w)	0.982***	-0.217	-0.066	-0.021	-0.042	0.288	-0.046	0.555*	0.371	-0.642**	-0.702**	-0.503	-0.139	0.004	-0.034	-0.176	0.031	-0.537*	-0.348
THR+NH ₄ (m-w)	0.984****	-0.277	-0.209	0.125	-0.283	-0.129	0.009	-0.097	-0.347	-0.205	-0.139	-0.101	-0.584*	-0.276	0.639**	0.545	0.550*	0.216	0.394
TYR(m-w)	0.571*	-0.075	0.294	0.307	0.206	-0.045	-0.185	-0.081	0.079	-0.173	-0.381	-0.432	-0.219	0.079	-0.118	-0.169	-0.245	-0.387	-0.258
VAL(m-w)	0.860****	0.035	0.078	-0.420	-0.398	0.459	0.408	0.298	0.114	-0.535	-0.300	-0.779***	0.133	-0.417	0.342	-0.240	0.613*	-0.670**	-0.389

Regarding the amino acids significantly consumed during fermentation, levels in wine of many of them seem to be highly determined by the absolute levels of the most concentrated assimilable amino acids of the must (THR, ARG, ALA, GABA, GLU and SER), and particularly to the ratios of some of them with GABA. In fact, as the amino acids in wine are positively correlated with the content of the same amino acid in must, some of these correlations improved with the same Aa/GABA ratio, especially with HIS, GLU, MET, ALA, VAL or LEU. These results are summarized in **Table 3**, where it can be seen that the levels of 13 amino acids of wine can be satisfactorily modelled ($\geq 74\%$ variance explained) with those simple models. In three other cases (ASP, ALA and THR) the models were significant but variance explained was between 0.68 and 0.74.

In all cases, the relationship between amino acid level and the ratio is positive, which suggests that the quotients between must main amino acids (particularly ALA, GLU, SER and eventually THR) and GABA are likely determinant for the transport of the amino acid to the interior of the yeast cell. Transport and therefore (apparent) consumption seem to be favoured by little levels of the “principal amino acid” (where principal refers to ALA, GLU, SER or THR) and high levels of GABA (small ratios principal aa/GABA), so that remaining levels of amino acid in the wine are low. On the contrary, high levels of ALA, GLU and SER and little levels of GABA (high ratios principal aa/GABA) seem to difficult the transport and hence, the consumption, of the amino acid.

This hypothesis should be supported by the existence of clear correlations between the amounts of amino acid apparently consumed and the quotients principal aa/GABA (data not shown). Those direct correlations exist but do not reach significance, because of the higher uncertainty of the measurement of consumptions (being a difference, require double measurement) and particularly because of the strong correlations between consumptions and original amounts (**Table 2**). To overcome this, the proportion of amino acid consumed should be modelled. In this case, there are strong and significant negative correlations between these proportions and the quotients 1/GABA, ALA/GABA, GLU/GABA supporting the validity of the previous hypothesis (**Table 4**).

Table 3. Table of correlations between the amino acids (Aa) in wine (w) and the most concentrated assimilable amino acids of the must (THR, ARG, ALA, GABA, GLU and SER), and particularly to the ratios of some of them with GABA. Data is given as R².

	ARG (m)	THR (m)	ALA (m)	GABA (m)	GLU (m)	SER (m)	THR/ GABA (m)	ALA/ GABA (m)	GLU/ GABA (m)	SER/ GABA (m)	(SER+GLU) /GABA (m)	(ALA+SER) /GABA (m)	(ALA+GLU) /GABA (m)	Same Aa/ GABA (m)	Same Aa (m)
ASN (w)	0.506**	0.543***	0.456**	0.189	0.088	0.565***	0.496**	0.559***	0.246	0.681***	0.529**	0.649***	0.474**	0.795***	0.798***
GABA (w)	0.396**	0.689***	0.561***	0.414**	0.110	0.312	0.736***	0.835***	0.396**	0.606***	0.635***	0.831***	0.725***	-	0.378**
GLU (w)	0.566***	0.495**	0.656***	0.106	0.485**	0.432**	0.406**	0.622***	0.742***	0.473**	0.834***	0.627***	0.751***	0.742***	0.493**
GLY (w)	0.724***	0.387**	0.483**	0.042	0.284	0.784***	0.256	0.389**	0.395**	0.671***	0.665***	0.510**	0.440**	0.290	0.405**
HIS (w)	0.442**	0.759***	0.609***	0.420**	0.188	0.360	0.831***	0.914***	0.554***	0.684***	0.807***	0.917***	0.858***	0.766***	0.121
ILE (w)	0.723***	0.415**	0.756***	0.000	0.763***	0.492**	0.208	0.434***	0.784***	0.330	0.768***	0.438**	0.628***	0.438**	0.473**
LEU (w)	0.516**	0.606***	0.773***	0.140	0.564***	0.301	0.528**	0.775***	0.891***	0.407**	0.896***	0.710***	0.921***	0.550***	0.423**
LYS (w)	0.487**	0.647***	0.802***	0.145	0.546***	0.257	0.576***	0.821***	0.877***	0.391**	0.874***	0.735***	0.948***	0.577***	0.616***
MET (w)	0.199	0.646***	0.323	0.616***	0.043	0.196	0.857***	0.748***	0.334	0.550***	0.554***	0.747***	0.637***	0.502**	0.253
PHE (w)	0.508**	0.679***	0.759***	0.184	0.481**	0.334	0.634***	0.841***	0.846***	0.495**	0.923***	0.792***	0.948***	0.512**	0.404**
SER (w)	0.555***	0.405**	0.568***	0.066	0.406**	0.500**	0.325	0.520**	0.596***	0.498**	0.740***	0.560***	0.618***	0.498**	0.506**
TYR (w)	0.558***	0.657***	0.786***	0.157	0.532***	0.370**	0.588***	0.820***	0.875***	0.502**	0.948***	0.780***	0.946***	0.691***	0.682***
VAL (w)	0.617***	0.496**	0.639***	0.102	0.463**	0.516**	0.401**	0.604***	0.710***	0.543***	0.852***	0.639***	0.725***	0.579***	0.429**
ALA (w)	0.589***	0.451**	0.510**	0.179	0.232	0.586***	0.397**	0.563***	0.452**	0.666***	0.712***	0.648***	0.583***	0.563***	0.491**
ASP (w)	0.494**	0.228	0.475**	0.001	0.672***	0.349	0.105	0.254	0.685***	0.209	0.611***	0.262	0.447**	0.077	0.147
THR (w)	0.600***	0.428**	0.412**	0.142	0.165	0.695***	0.359	0.450**	0.329	0.724***	0.629***	0.575***	0.450**	0.359	0.414**
ARG (w)	0.030	0.152	0.225	0.001	0.293	0.011	0.109	0.154	0.315	0.006	0.122	0.068	0.236	0.028	0.141
ORN (w)	0.299	0.105	0.287	0.016	0.455**	0.237	0.037	0.123	0.408**	0.104	0.347	0.128	0.241	0.006	0.104
PRO (w)	0.417**	0.024	0.150	0.123	0.319	0.503**	0.003	0.010	0.168	0.174	0.227	0.042	0.054	0.611***	0.530**

Significance (*p*-value): **** $p < 0.001$; *** $0.001 < p < 0.01$; ** $0.01 < p < 0.05$

Table 4. Correlations between amino acid consumed proportions and the quotients 1/GABA, ALA/GABA and GLU/GABA in must.

	1/GABA			ALA/GABA			GLU/GABA		
	R ²	R	p	R ²	R	p	R ²	R	p
ASN	0.043	0.208	0.539	0.274	0.524	0.098	0.594	0.771	0.006
GABA	0.634	-0.796	0.003	0.796	-0.892	0.000	0.298	-0.545	0.083
GLU	0.668	-0.817	0.002	0.239	-0.489	0.127	0.002	-0.044	0.897
GLY	0.010	0.098	0.774	0.004	0.063	0.854	0.082	-0.286	0.393
HIS	0.738	-0.859	0.001	0.726	-0.852	0.001	0.369	-0.607	0.048
ILE	0.071	-0.267	0.428	0.519	-0.721	0.012	0.778	-0.882	0.000
LEU	0.441	-0.664	0.026	0.451	-0.671	0.024	0.388	-0.623	0.041
LYS	0.000	0.003	0.992	0.003	-0.057	0.868	0.161	-0.401	0.221
MET	0.552	-0.743	0.009	0.158	-0.397	0.226	0.055	-0.234	0.489
PHE	0.123	-0.351	0.290	0.649	-0.806	0.003	0.925	-0.962	0.000
SER	0.156	-0.395	0.229	0.147	-0.383	0.244	0.285	-0.534	0.091
TYR	0.159	-0.399	0.224	0.228	-0.477	0.138	0.524	-0.724	0.012
VAL	0.429	-0.655	0.029	0.550	-0.741	0.009	0.514	-0.717	0.013
ASP	0.006	0.079	0.818	0.029	-0.169	0.619	0.411	-0.641	0.034
ALA	0.200	-0.448	0.167	0.008	-0.092	0.788	0.000	0.015	0.965
THR	0.062	-0.248	0.462	0.103	-0.321	0.337	0.127	-0.357	0.281
ARG	0.001	0.034	0.922	0.171	0.413	0.207	0.141	0.376	0.254
PRO	0.150	0.387	0.239	0.005	-0.074	0.829	0.021	-0.146	0.667
ORN	0.020	0.141	0.679	0.076	0.276	0.410	0.056	-0.236	0.485

3.2.2. Amino acid consumption and wine volatiles

A surprising result is that either must contents or levels consumed of Strecker-precursor amino acids (VAL, LEU, ILE, MET and PHE) are not related at all to levels of the major by-products of their consumption, which are higher alcohols, as shown in **Table 2**. This suggests that the non-polar amino acid precursors of higher alcohols are not primarily used by yeast as sources of N through the Ehrlich pathway. These amino acids bear, however, some relevant correlation with some other specific aroma molecules formed through the Ehrlich pathway, such as ethyl isobutyrate and ethyl isovalerate. These fruity esters are structurally related to valine and leucine, respectively, and their levels in wine are significantly and negatively correlated to levels in *mistelles* of these two amino acids ($r=-0.78$ ethyl isobutyrate vs valine, significant at $p<0.01$; $r=-0.69$ ethyl isovalerate vs leucine, significant at $p<0.05$). Levels of ethyl isovalerate are additionally correlated to the consumed amounts of leucine ($r=-0.78$, $p<0.01$). The fact that levels of isobutyric and isovaleric acids are, however, not clearly related to these amino acids, reveals the existence of quite complex regulations of these metabolisms. These results support observations from Crepin *et al.* (2017) arguing that catabolism of consumed amino acids plays a

less important role in the formation of volatile compounds and that precursors of keto acids required for synthesis *de novo* have their source principally in catabolism of sugars.

However, data also suggest that the overall composition of amino acids of the *mistelles* and the profile of amino acid consumption during fermentation are key determinants of the levels of aroma compounds formed through the Ehrlich route, confirming early works demonstrating the relationships between must amino acid profiles and wine aroma (Hernández-Orte *et al.*, 2002), as can be seen in **Table 2**. This can be seen, for instance, in the strong correlations between methionol, β -phenylethanol and isovaleric acid with glutamic acid. Levels of these aroma compounds are strongly and negatively correlated to levels consumed of that amino acid ($r=-0.90$, -0.93 , and -0.91 , all significant at $p<0.001$, respectively). Also worth mentioning is the correlation between isobutyl acetate and levels consumed of ornithine ($r=-0.76$, $p=0.006$). Other amino acids showing a strong influence on wine aroma composition, including Strecker aldehydes, are ASN, ALA, PRO, MET, HIS and GABA (See **Table 2** (m-w)).

Not surprisingly, given the strong relationships between the must and the wine amino acid compositions, there are also strong significant correlations between the residual amino acid content of wine and its aromatic profile (data not shown).

3.2.3. Amino acid profiles in wines

As aforementioned, the high correlations between wine and must amino acids make that the influence of maturation and vineyard on must amino acid composition translates also to wine. One of the consequences is that wines from vineyards with greater vigour (vineyards B and C) have higher levels of remaining amino acids. The effects of vineyard on wine residual amino acid profiles, excluding PRO, can be seen in **Figure 4A**. The plot reveals a quite different amino acid profile to that observed in unfermented samples. Relevant characteristics are the strong correlations between ILE, LEU, VAL, PHE, TYR and LYS, in strong opposition to ALA and GLY, and those of ASP y ARG in opposition to GABA and THR y ASN. It is apparent that wines from each vineyard have specific ratios $(ILE+LEU+VAL+PHE+TYR+LYS)/(ALA+GLY)$ and $(ASP+ARG)/(GABA+ASN+THR)$. As can be seen, each vineyard seems to have a more specific amino acid profile, so that the common profile acquired by matured samples shown in **Figure 1B** becomes quite distorted by fermentation.

In this case, however, maturity is not clearly identified in the plot. This is in part because PRO has been excluded, but also because fermentation has cancelled some of the strong effects of maturity observed in must amino acid contents. The effects of maturity on the amino acid precursors of Strecker aldehydes are best seen in **Figure 4B**, a PCA built exclusively with data of those amino acids. As can be seen, unripeness is concomitantly linked to higher levels of these amino acids. These will cause that wines made with unripe grapes will form higher levels

of Strecker aldehydes upon oxidation (Bueno *et al.*, 2018). The plot also reveals that differences between vineyards are related to the quotient MET/ILE.

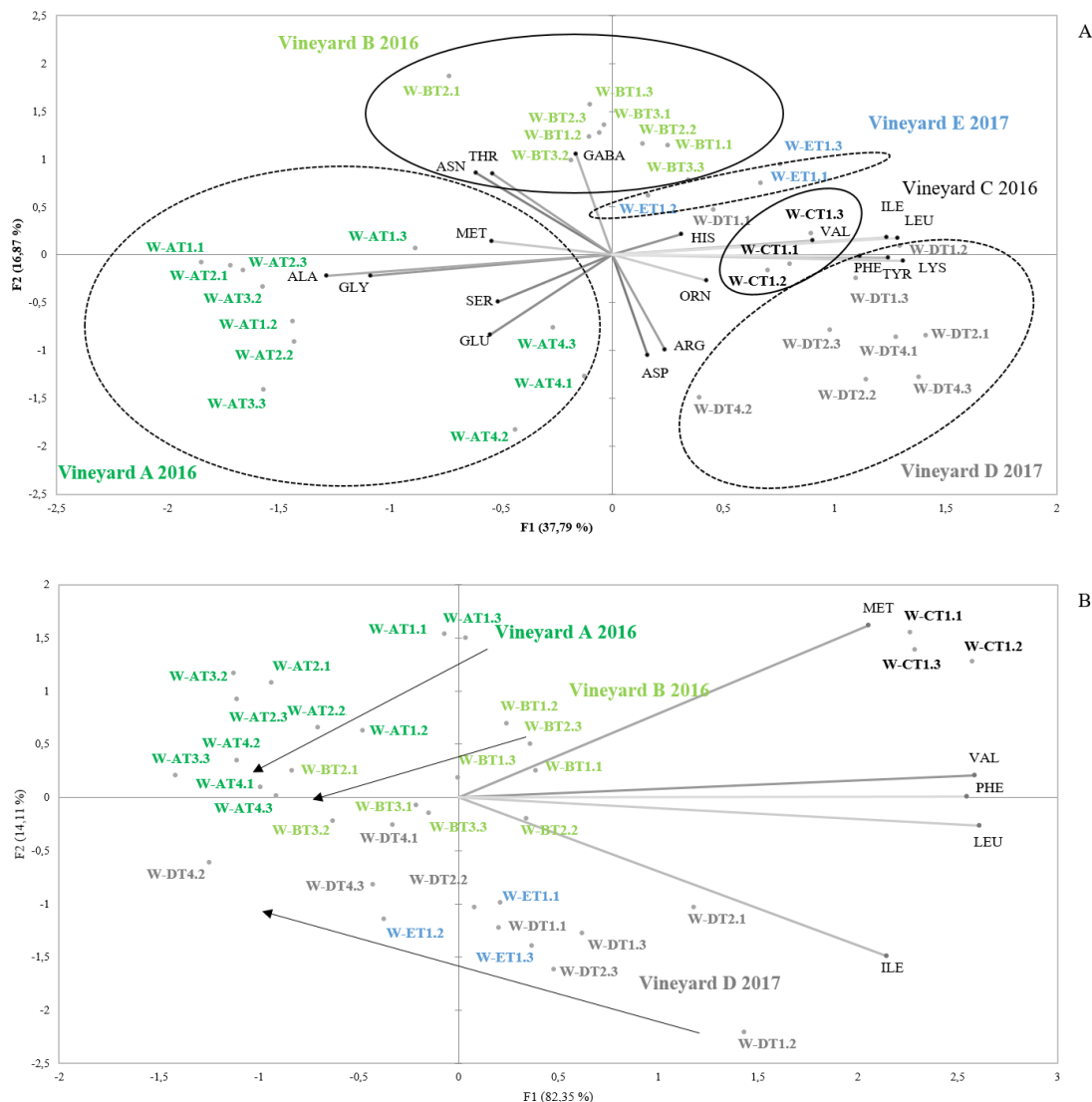


Figure 4. Variability with maturation of residual wine amino acid relative contents (%) in the 23 wines made with grapes harvested from the four vineyards sampled in the study. The plots give the projections of the sample scores and variable loadings in the planes formed by the two first Principal Components obtained in the PCA study carried out with amino acid data excluding proline. **Figure 4A**, all amino acids except proline; **Figure 4B**, Strecker amino acids only.

3.2.4. Strecker aldehydes

The contents of Strecker aldehydes in wines made with grapes of different maturation states are shown in **Figure 5** together with those of the precursor amino acid, while the plots in **Figure 6** compile the evolutions of the aldehydes for all the vineyards sampled. As can be seen, wines made with unripe grapes have higher levels of Strecker aldehydes. This is particularly true for isovaleraldehyde (**6B**), methional (**6D**) and phenylacetaldehyde (**6E**), in this last case except in

vineyard D. These results are consistent with the oxidized aroma nuances noted in the wines made with these unripe grapes (Ferrero-del-Teso *et al.*, 2020).

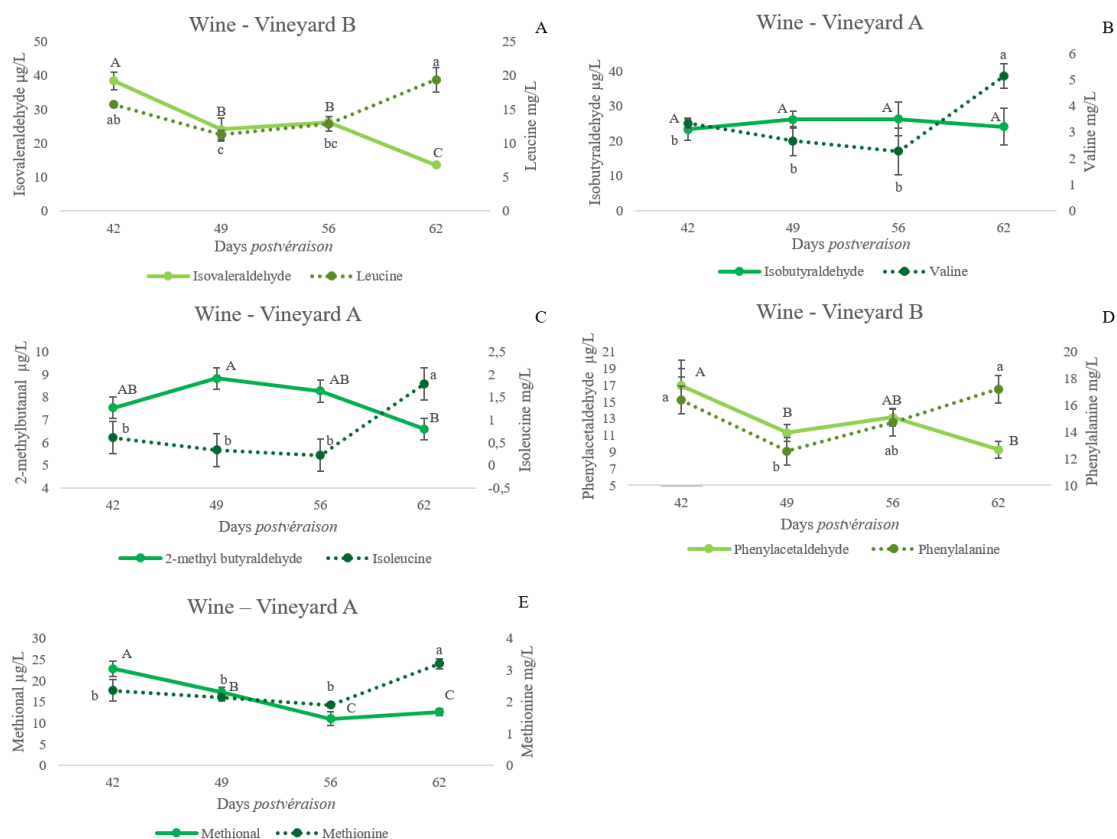


Figure 5. Evolution of some Strecker aldehydes and their amino acid precursors in wine samples made with grapes sampled from specific vineyards at different degrees of ripeness (expressed as days *postvéraison*). Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s , standard deviation; $n=3$). Different letters indicate significant differences in the content of the compounds ($p<0.05$) (Fischer posthoc test) (upper case: aldehydes; lower case: amino acids). **Figure 5A**, leucine-isovaleraldehyde in vineyard B; **Figure 5B**, valine-isobutyraldehyde in vineyard A; **Figure 5C**, isoleucine-2-methylbutanal in vineyard A; **Figure 5D**, phenylalanine-phenylacetaldehyde in vineyard B; **Figure 5E**, methionine-methional in vineyard A.

These higher levels of Strecker aldehydes in wines made with unripe grapes will be likely related to the higher levels of the precursor amino acids in wine (leucine-isovaleraldehyde, $r=0.52$, $p=0.001$; valine-isobutyraldehyde, $r=0.37$, $p=0.02$; isoleucine-2-methylbutanal, $r=0.51$, $p=0.001$; methionine-methional, $r=0.34$, $p=0.04$ and phenylalanine-phenylacetaldehyde, $r=0.61$, $p<0.001$), to the smaller polyphenol content of wines made with unripe grapes and to the observed higher difficulties of yeasts to renew reduced forms of NADH and NADPH cofactors in musts from unripe grapes (Arias-Pérez *et al.*, 2020).

Higher polyphenol levels would limit levels of aldehydes by the formation of vitisin-type structures and ethyl-bridge type condensed forms. In fact, TPI bears a significant negative correlation with Strecker aldehydes except methional (isovaleraldehyde, $r=-0.77$, $p<0.001$;

isobutyraldehyde, $r=-0.72$, $p<0.001$; 2-methylbutanal, $r=-0.60$, $p<0.001$; methional, $r=-0.09$, $p=0.61$; and phenylacetaldehyde, $r=-0.67$, $p<0.001$).

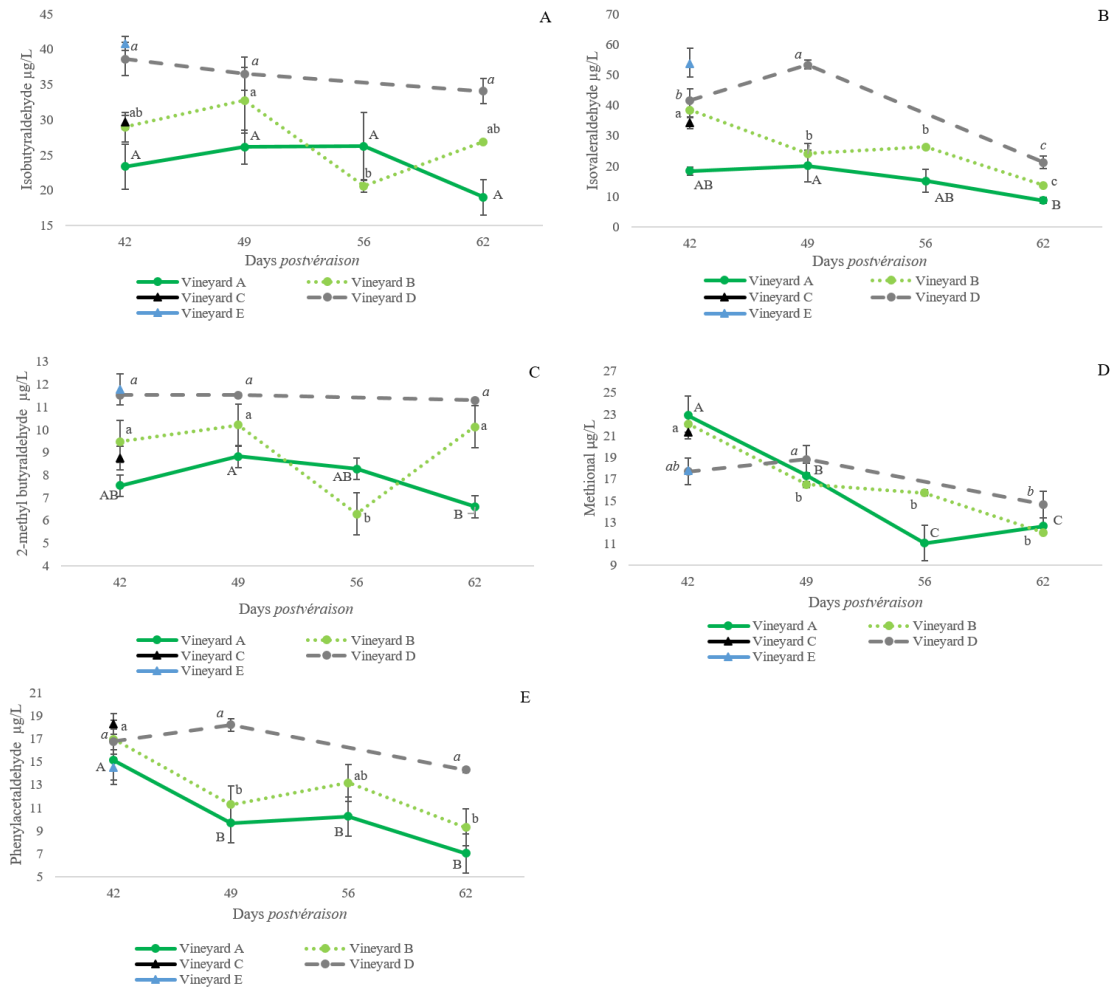


Figure 6. Evolution of the levels of Strecker aldehydes ($\mu\text{g L}^{-1}$) measured in wines made with grapes harvested at different degrees of ripeness in the four different studied vineyards. Error bars are calculated as $s/(n)^{1/2}$ (s , standard deviation; $n=3$). The letters indicate significant differences in aldehyde content ($p<0.05$) (upper case: vineyard A; lower case: vineyard B; italics: vineyard C). **Figure 5A**, isobutyraldehyde; **Figure 5B**, isovaleraldehyde, **Figure 5C**, 2-methylbutanal; **Figure 5D**, methional; **Figure 5E**, phenylacetaldehyde.

It should be noted, however, that wines made with harvested later grapes also contain higher levels of the amino acid precursors of Strecker aldehydes, as was shown in **Figure 5**, which is a likely consequence of the higher levels of amino acids available in those musts. The practical consequence is that from the points of view of wine quality and longevity, harvest date has to take place in the period in which neither amino acid precursors or Strecker aldehydes are maxima.

4. Conclusions

The amino acid content of grapes of Moristel is characteristic of the vineyard/vintage of origin and level of ripeness. The ratios ORN/GABA or LYS+THR+ORN+GLY+ASN+TYR+PHE/GABA take specific values for each vineyard.

During maturation all amino acids accumulate but at different rates, so that musts become enriched in PRO, ILE, LEU, VAL and GLN and relatively impoverished in ORN, LYS, GLY and THR. In relative terms, amino acid profiles of unripe samples from different vineyards show strong differences in the relative contents of GABA and PRO. These differences shrink with maturation, so that matured samples show relatively similar amino acid profiles.

Strecker aldehydes and their precursor amino acids were found at higher levels in *mistelle* samples made with more matured grapes.

Leaving aside PRO, main must amino acids are largely consumed by yeasts at relatively fixed and amino acid-specific taxes so that levels consumed were proportional to the original content. Consumption of minor amino acids is, however, strongly and negatively dependent on the ratios between ALA, GLU, SER and eventually THR with GABA, so that levels of 13 amino acids can be well predicted by those ratios.

In spite of the deep modification of amino acid profile during fermentation, wines from different vineyards keep different amino acid profiles. The influence of maturation is much reduced and is manifested in the much higher relative contents of the amino acids precursors of Strecker aldehydes in wines from unripen grapes.

While there is no obvious direct link between the must content in the amino acids involved in the Ehrlich pathway and the wine content in aromas produced through it, there is clear evidence that the amino acid profile of must strongly determines aroma formation. Amino acids with more influence are GLU, ORN, HIS, ASN, ALA, PRO, MET and GABA.

Early-harvested grapes produced wines with more Strecker aldehydes and more amino acid precursors. Both decrease with maturation until the final maturation point in which the amino acid content increases, which suggests that there is an optimal maturation point with low levels of Strecker aldehydes and minima levels of their amino acid precursors.

5. References

- Allamy, L., Darriet, P., & Pons, A. (2018). Molecular interpretation of dried-fruit aromas in Merlot and Cabernet Sauvignon musts and young wines: Impact of over-ripening. *Food Chemistry*, 266, 245-253. doi: 10.1016/j.foodchem.2018.06.022
- Arias-Pérez, I., Ferrero-Del-Teso, S., Sáenz-Navajas, M. P., Fernández-Zurbano, P., Lacau, B., Astraín, J., Barón, C., Ferreira, V., & Escudero, A. (2020). Some clues about the changes in wine aroma composition associated to the maturation of “neutral” grapes. *Food Chemistry*, 320, 126610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126610>
- Barbosa, C., Falco, V., Mendes-Faia, A., & Mendes-Ferreira, A. (2009). Nitrogen addition influences formation of aroma compounds, volatile acidity and ethanol in nitrogen deficient media

- fermented by *Saccharomyces cerevisiae* wine strains. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 108(2), 99-104. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2009.02.017>
- Bell, S. J., & Henschke, P. A. (2005). Implications of nitrogen nutrition for grapes, fermentation and wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(3), 242-295. doi: 10.1111/j.1755-0238.2005.tb00028.x
- Bisson, L. F., & Butzke, C. E. (2000). Diagnosis and rectification of stuck and sluggish fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51(2), 168-177.
- Bloem, A., Bertrand, A., Lonvaud-Funel, A., & de Revel, G. (2007). Vanillin production from simple phenols by wine-associated lactic acid bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 44(1), 62-67. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.02037
- Bouloumpasi, E., Soufleros, E. H., Tsarchopoulos, C., & Biliaderis, C. G. (2002). Primary amino acid composition and its use in discrimination of Greek red wines with regard to variety and cultivation region. *Vitis*, 41(4), 195-202. doi: <https://doi.org/10.5073/vitis.2002.41.195-202>
- Bueno, M., Carrascón, V., & Ferreira, V. (2016). Release and Formation of Oxidation-Related Aldehydes during Wine Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(3), 608-617. doi: 10.1021/acs.jafc.5b04634
- Bueno, M., Marrufo-Curtido, A., Carrascón, V., Fernandez-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Formation and Accumulation of Acetaldehyde and Strecker Aldehydes during Red Wine Oxidation. *Frontiers in Chemistry*, 6. doi: 10.3389/fchem.2018.00020
- Bueno, M., Zapata, J., & Ferreira, V. (2014). Simultaneous determination of free and bonded forms of odor-active carbonyls in wine using a headspace solid phase microextraction strategy. *Journal of Chromatography A*, 1369, 33-42. doi: 10.1016/j.chroma.2014.10.004
- Canoura, C., Kelly, M. T., & Ojeda, H. (2018). Effect of irrigation and timing and type of nitrogen application on the biochemical composition of *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and Syrah grapeberries. *Food Chemistry*, 241, 171-181. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.07.114
- Carrau, F. M., Medina, K., Farina, L., Boido, E., Henschke, P. A., & Dellacassa, E. (2008). Production of fermentation aroma compounds by *Saccharomyces cerevisiae* wine yeasts: effects of yeast assimilable nitrogen on two model strains. *Fems Yeast Research*, 8(7), 1196-1207. doi: 10.1111/j.1567-1364.2008.00412.x
- Crepin, L., Truong, N. M., Bloem, A., Sánchez, I., Dequin, S., & Camarasa, C. (2017). Management of Multiple Nitrogen Sources during Wine Fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(5). doi: 10.1128/aem.02617-16
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876-881. doi: 10.1021/jf062432k
- de Azevedo, L. C., Reis, M. M., Motta, L. F., da Rocha, G. O., Silva, L. A. and de Andrade, J. B. (2007). Evaluation of the formation and stability of hydroxyalkylsulfonic acids in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8670-8680. doi: 10.1021/jf0709653
- Escudero, A., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2000). Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4268-4272. doi: 10.1021/jf991177j
- Etiévant, P., Schlich, P., Bouvier, J. C., Symonds, P., & Bertrand, A. (1988). Varietal and geographic classification of french red wines in terms of elements, amino-acids and aromatic alcohols. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 45(1), 25-41. doi: 10.1002/jsfa.2740450105
- Fang, Y., & Qian, M. C. (2006). Quantification of selected aroma-active compounds in Pinot noir wines from different grape maturities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8567-8573. doi: <https://doi.org/10.1021/jf061396m>
- Fairbairn, S., McKinnon, A., Musarurwa, H. T., Ferreira, A. C., & Bauer, F. F. (2017). The Impact of Single Amino Acids on Growth and Volatile Aroma Production by *Saccharomyces cerevisiae* Strains. *Frontiers in Microbiology*, 8. doi: 10.3389/fmicb.2017.02554
- Ferreira, V., Bueno, M., Franco-Luesma, E., Culleré, L. and Fernández-Zurbano, P. (2014). Key changes in wine aroma active compounds during bottle storage of spanish red wines under different oxygen levels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 10015-10027. doi: 10.1021/jf503089u
- Ferrero-del-Teso, S., Arias, I., Escudero, A., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2020). Effect of grape maturity on wine sensory and chemical features: The case of Moristel wines. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 118, 108848. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108848>

- García, J., Zheng, W., Balda, P., & de Toda, F. M. (2017). Varietal differences in the sugar content of red grapes at the onset of anthocyanin synthesis. *Vitis*, *56*(1), 15-18. doi: 10.5073/vitis.2017.56.15-18
- Garde-Cerdán, T., Martínez-Gil, A. M., Lorenzo, C., Lara, J. F., Pardo, F., & Salinas, M. R. (2011). Implications of nitrogen compounds during alcoholic fermentation from some grape varieties at different maturation stages and cultivation systems. *Food Chemistry*, *124*(1), 106-116. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.05.112>
- Grant-Preece, P., Fang, H. J., Schmidtke, L.M. and Clark, A. C. (2013). Sensorially important aldehyde production from amino acids in model wine systems: impact of ascorbic acid, erythorbic acid, glutathione and sulphur dioxide. *Food Chemistry*, *141*, 304–312. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.02.100
- Gutiérrez-Gamboa, G., Portu, J., Santamaría, P., López, R., & Garde-Cerdán, T. (2017). Effects on grape amino acid concentration through foliar application of three different elicitors. *Food Research International*, *99*, 688-692. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.06.022>
- Hernández-Orte, P., Cacho, J. F., & Ferreira, V. (2002). Relationship between varietal amino acid profile of grapes and wine aromatic composition. Experiments with model solutions and chemometric study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(10), 2891-2899. doi: 10.1021/jf011395o
- Hernández-Orte, P., Concejero, B., Astraín, J., Lacau, B., Cacho, J., & Ferreira, V. (2015). Influence of viticulture practices on grape aroma precursors and their relation with wine aroma. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(4), 688-701. doi: 10.1002/jsfa.6748
- Hernández-Orte, P., Guitart, A., & Cacho, J. (1999). Changes in the concentration of amino acids during the ripening of *Vitis vinifera* Tempranillo variety from the Denomination d'Origine Somontano (Spain). *American Journal of Enology and Viticulture*, *50*(2), 144-154.
- Hernández-Orte, P., Ibarz, M. J., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Amino acid determination in grape juices and wines by HPLC using a modification of the 6-aminoquinoly1-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) method. *Chromatographia*, *58*(1-2), 29-35. doi: 10.1365/s10337-003-0002-1
- Kliwer, W. M. (1970). Free amino acids and other nitrogenous fractions in wine grapes. *Journal of Food Science*, *35*(1), 17-21. doi: 10.1111/j.1365-2621.1970.tb12358.x
- Kliwer, W. M., & Dokoozlian, N. K. (2005). Leaf Area/Crop Weight Ratios of Grapevines: Influence on Fruit Composition and Wine Quality. *American Journal of Enology and Viticulture*, *56*(2), 170-181.
- Lambrechts, M., & Pretorius, I. (2000). Yeast and its importance to wine aroma - A review (Vol. 21): *South African Journal of Enology and Viticulture*, *21*(1). doi: <https://doi.org/10.21548/21-1-3560>
- Liu, S. Q., & Pilone, G. J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology*, *35*, 49–61. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00341.x>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1), 167-177. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Manginot, C., Sablayrolles, J. M., Roustan, J. L., & Barre, P. (1997). Use of constant rate alcoholic fermentations to compare the effectiveness of different nitrogen sources added during the stationary phase. *Enzyme and Microbial Technology*, *20*(5), 373-380. doi: [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(96\)00158-5](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(96)00158-5)
- Monforte, A. R., Martins, S., & Ferreira, A. C. S. (2018). Strecker Aldehyde Formation in Wine: New Insights into the Role of Gallic Acid, Glucose and Metals in Phenylacetaldehyde Formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(10), 2459-2466. doi: 10.1021/acs.jafc.7b00264
- Ortega-Heras, M., Pérez-Magariño, S., Del-Villar-Garrachón, V., González-Huerta, C., González, L. C. M., Rodríguez, A. G., . . . de la Helguera, S. M. (2014). Study of the effect of vintage, maturity degree and irrigation on the amino acid and biogenic amine content of a white wine from the Verdejo variety. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *94*(10), 2073-2082. doi: 10.1002/jsfa.6526
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds: Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, *923*(1), 205-214. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- Rapp, A., & Versini, G. (1991). Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines. In J. Rantz (Ed.), *Proceedings of the international symposium on nitrogen in grapes and wine* (pp. 156–164). American Society Enology & Viticulture.

- Rizzi, G. P. (2006). Formation of Strecker aldehydes from polyphenol-derived quinones and alpha-amino acids in a nonenzymic model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*, 1893–1897. doi: 10.1021/jf052781z
- Rollero, S., Mouret, J. R., Bloem, A., Sanchez, I., Ortiz-Julien, A., Sablayrolles, J. M., . . . Camarasa, C. (2017). Quantitative C-13-isotope labelling-based analysis to elucidate the influence of environmental parameters on the production of fermentative aromas during wine fermentation. *Microbial Biotechnology*, *10*(6), 1649-1662. doi: 10.1111/1751-7915.12749
- Seeber, R., Sferlazzo, G., Leardi, R., Serra, A. D., & Versini, G. (1991). Multivariate data-analysis in classification of musts and wines of the same variety according to vintage year. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *39*(10), 1764-1769. doi: 10.1021/jf00010a014
- Vasconcelos, A. M. P., & Dasneves, H. J. C. (1990). HRGC of wine free amino-acids as a tool for elementary wine characterization. *HRC-Journal of High Resolution Chromatography*, *13*(7), 494-498. doi: <https://doi.org/10.1002/jhrc.1240130710>
- Vivar-Quintana, A. M., Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E. and Rivas-Gonzalo, J. C. (1999). Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Science and Technology International*, *5*, 347–352. doi: 10.1177/108201329900500407
- Wilson, B., Strauss, C., Williams, P. (1984). Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing muscat grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *32*(4) 919-924. doi: <https://doi.org/10.1021/jf00124a054>
- Yuan, F., & Qian, M. C. (2016). Development of C13-norisoprenoids, carotenoids and other volatile compounds in *Vitis vinifera* L. Cv. Pinot noir grapes. *Food Chemistry*, *192*, 633-641. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.050>

Capítulo 8. Estudio de la influencia del vigor vegetativo y el índice de maduración fenólico en la composición aromática de vinos Tempranillo

1. Introducción

La influencia e importancia de las cualidades y calidades de las uvas en el perfil aromático de los vinos ha quedado patente en la bibliografía (Coombe y McCarthy, 1997; Reynolds y Heuvel, 2009). Del mismo modo en los tres capítulos anteriores se ha comprobado cómo la madurez de la uva o las características vegetativas del viñedo, influyen en el perfil aromático de los vinos resultantes. Estos son factores de gran complejidad que se ven afectados por innumerables variables edafoclimáticas; por lo que para llegar a conclusiones sólidas sobre cómo afecta a la composición aromática de los vinos factores tan complejos como éstos es necesario un completo, variado y amplio número de estudios al respecto. Por ello, es necesario realizar estos trabajos en múltiples añadas, con diferentes variedades de uva y en regiones dispares para cerciorarse de qué está modulando determinados compuestos aromáticos. Por lo que es necesario repetir este tipo de experimentos en diferentes circunstancias. Como en el Capítulo 4 se vio que la zona de Ribera del Duero mostraba diferentes ejemplos de vino con percepciones vegetales, esta región sería la más indicada para repetir este tipo de experimentos.

Se trabajó con la bodega de la que procedió el grupo de vinos A (Capítulo 4); algunos de ellos, con un aroma que recordaba al de los “espárragos trigueros”. Además de la aparición de este atributo a nivel orthonasal también se asociaba una caída de la estructura de la boca. Estos defectos no se detectaban durante la fermentación alcohólica, sino tiempo después de haber terminado la fermentación maloláctica. Estos matices aparecían en vinos elaborados con uva procedente de viñedos vendimiados a máquina, especialmente de una viña concreta (*Viñarrosas*), por lo que siempre se sospechó que el origen se encontraba en el propio campo.

Por todo lo citado anteriormente, se planteó un experimento en el que se elaboran vinos de este viñedo a partir de uvas con diferente grado de madurez y de zonas del viñedo con diferente vigor vegetativo. Se tomaron estos dos parámetros ya que se tratan de los factores que los enólogos consideran de vital importancia en la aparición de notas verdes o vegetales en los vinos como se demostró en la Sección I de la tesis.

Con el presente trabajo se comprobará si estos factores tienen algún tipo de influencia sobre el atributo “espárrago”, de forma que se podrían obtener vinos con una mayor concentración de los compuestos responsables del defecto y poder categorizarlo en profundidad. Además, este experimento tendría un segundo objetivo en pos de incrementar el conocimiento acerca del efecto del estado de madurez de la uva y de los niveles de vigor vegetativo de las viñas sobre la composición aromática de vinos elaborados con uva Tempranillo en la DO Ribera del Duero.

2. Material y Métodos

2.1. Reactivos, disolventes y estándares

Fisher Scientific (Loughborough, Reino Unido) suministró el diclorometano, etanol y metanol para análisis de cromatografía de gases. Merck (Darmstadt, Alemania) suministró metanol y acetonitrilo para HPLC y resinas LiChrolut EN. Se obtuvo agua Mili-Q de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, EE. UU.). La extracción semiautomática en fase sólida se llevó a cabo con una estación Vac Elut 20 de Varian (Walnut Creek, EE. UU.). Los estándares y reactivos para la determinación de compuestos aromáticos y aminoácidos fueron proporcionados por Merck (Darmstadt, Alemania), ChemService (West Chester, PA, EE. UU.), PolyScience (Niles, IL), Lancaster (Eastgate, Reino Unido), Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemania), Panreac (Barcelona, España), Firmenich (Ginebra, Suiza), AromaLab (Planegg, Alemania), Waters (Milford, MA, EE.UU.) y Oxford Chemicals (Hartlepool, Reino Unido).

2.2. Muestras

Esta experiencia se planeó en un viñedo concreto (*Viñarrosas*) en las vendimias de 2017 y 2018 y todas las muestras se elaboraron en depósitos de 100 litros por duplicado. El protocolo de fermentación siguió unas pautas análogas a las descritas en el Apartado 2.2 del Capítulo 6.

El esquema de trabajo para ambas añadas se muestra en la **Tabla 1**, teniendo en consideración que las muestras se tomaron por duplicado se obtuvieron un total de 8 muestras por añada.

Tabla 1. Tabla de muestras. Microvinificaciones elaboradas con uva Tempranillo con diferentes grados de maduración, procedentes de parcelas con diferente vigor. La primera letra de cada abreviatura se refiere al vigor del viñedo (VA (alto, NDVI > 0,324) y VB (bajo, NDVI < 0,239); M es el momento de vendimia (1, con IMF elevado (1.77-1.72) y 2, con IMF bajo (1.55-1.52)). El siguiente número es el número de réplica (1 o 2) y finalmente 17 y 18 harán referencia a la añada.

Vigor	Madurez	Réplicas	Añada 2017	Añada 2018
Vigor Alto	Índice de Madurez Alto	Muestra 1	VA.M1.1-17	VA.M1.1-18
		Muestra 2	VA.M1.2-17	VA.M1.2-18
	Índice de Madurez Bajo	Muestra 1	VA.M2.1-17	VA.M2.1-18
		Muestra 2	VA.M2.2-17	VA.M2.2-18
Vigor Bajo	Índice de Madurez Alto	Muestra 1	VB.M1.1-17	VB.M1.1-18
		Muestra 2	VB.M1.2-17	VB.M1.2-18
	Índice de Madurez Bajo	Muestra 1	VB.M2.1-17	VB.M2.1-18
		Muestra 2	VB.M2.2-17	VB.M2.2-18

2.2.1. Puntos de Maduración

Para establecer dos momentos de maduración se empleó el método Cromoenos® (*Cromoenos*, 2002), que se ha probado como una metodología fiable para establecer la madurez fenólica de la uva (Kontoudakis y col., 2010). Esta técnica establece unos índices de madurez fenólica (IMF) cuyos valores van disminuyendo según avanza la madurez de la uva. Al principio de la

maduración descienden muy rápidamente desde 2,5 a 1,7 y después muy lentamente hasta 1,4. Estableciendo en torno al índice 1,5 el punto de máximo color probable y, por tanto, un estadio en el que la uva presentará una madurez fenólica adecuada para la vendimia. De esta forma se seleccionaron dos puntos, el primero con un IMF elevado (1,77-1,72), donde la uva aún no ha alcanzado un punto óptimo de madurez y otro con IMF bajo (1,55-1,52), donde el método establece el momento óptimo de vendimia.

2.2.2. Grados de vigor vegetativo

Para determinar el diferente grado de vigor en las parcelas se empleó la técnica de teledetección de NVDI (Normalised Differential Degetation Index) (Rouse y col., 1973). Este índice se calcula a partir de medidas de la reflectancia de la luz solar en longitudes de onda que corresponden a las partes roja (R) e infrarroja (IR) del espectro electromagnético ($NDVI = [IR - R] / [IR + R]$) y se ha empleado satisfactoriamente para establecer el vigor vegetativo del viñedo (Bramley, 2010; Gatti y col., 2017). Se tomaron como viñedos de bajo vigor aquellas zonas con índice NDVI por debajo de 0,239 y de alto vigor aquellas zonas de índices superiores a 0,324, como se muestra en la **Figura 1**.

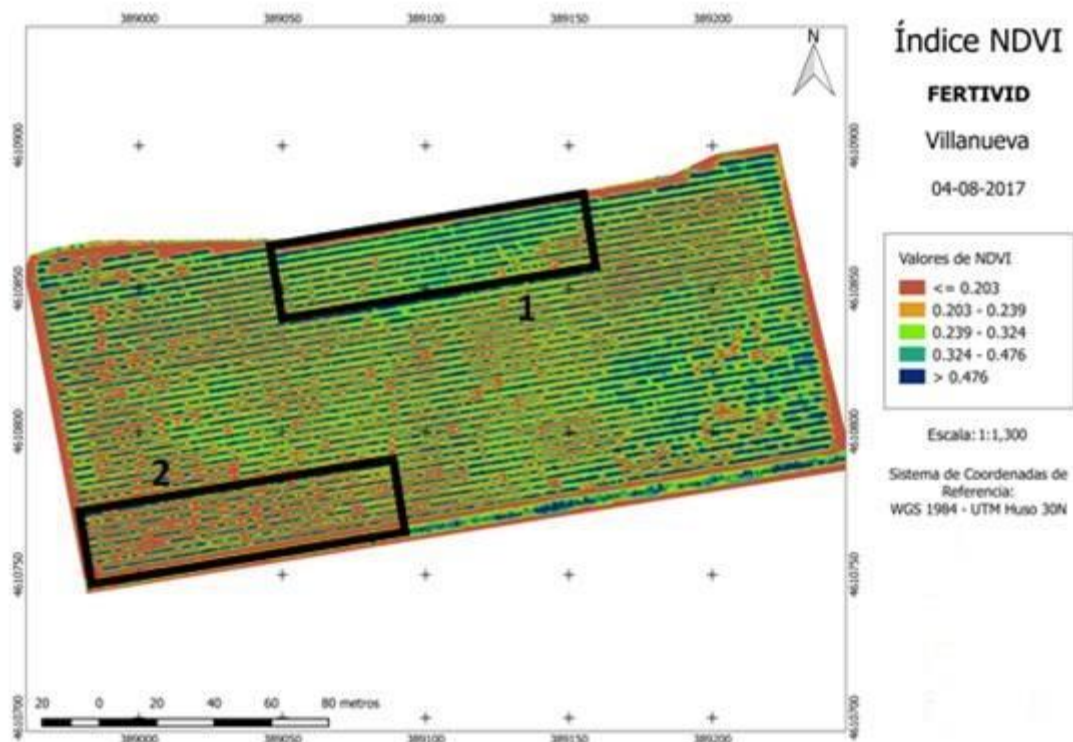


Figura 1. Mapa del índice de vegetación que muestra diferentes grados de vigor, derivado de una imagen multispectral de teledetección tomada el 4 de agosto de 2017 con el desarrollo foliar completo en un viñedo. Siendo el recuadro 1 la zona de alto vigor ($NDVI > 0,324$) y el recuadro 2 la zona de muestreo de bajo vigor ($NDVI < 0,239$).

2.3. Metodologías de análisis de los vinos

Se han vuelto a emplear las metodologías usadas en los capítulos anteriores. Se hicieron analíticas básicas en bodega (OIV, 2018) y además se cuantificaron los compuestos aromáticos mayoritarios (Ortega y col., 2001) y los que se encuentran en concentraciones a nivel de traza (López y col., 2002). Del mismo modo, como podían ser compuestos de gran interés también se analizaron acetaldehído total (Han y col., 2015) y metoxipirazinas (Wen y col., 2018). Además, en la añada de 2017 también se analizaron aminoácidos (Hernández-Orte y col., 2003), compuestos azufrados (Franco-Luesma y Ferreira, 2014; López y col., 2007) y aldehídos de Strecker (Bueno y col., 2014).

2.4. Análisis de datos

Se han realizado análisis de varianza (ANOVA) para conocer si las variables estudiadas ejercían un efecto significativo en la composición de las muestras. De forma que se llevó a cabo un ANOVA de 3 factores (añada, vigor y madurez) para todo el experimento y ANOVAS de 2 factores (vigor y madurez) para cada añada por separado. También se realizaron diferentes análisis de componentes principales (PCA).

3. Resultados y discusión

Cabe destacar que en ninguno de los vinos elaborados en este experimento se encontró el defecto “aroma a espárrago”, por lo que no se ha podido determinar si el vigor vegetativo o la madurez son factores que puedan modular este defecto.

3.1. Diferencias experimentales entre añadas

Debemos tener en cuenta que la naturaleza de las muestras no fue como se planteó inicialmente debido a diferentes razones, principalmente climatológicas, como se puede observar en los informes de vendimia de 2017 y 2018 de la D.O. Ribera del Duero (González, 2017, 2018). En el 2017 no fue posible muestrear el viñedo seleccionado ya que fue gravemente afectado por una helada primaveral acaecida en la noche del 27 al 28 de abril. Por ello se buscaron viñedos en ubicaciones cercanas con características edafoclimáticas y agronómicas similares. Así en esta anualidad se tomaron las uvas menos maduras de la viña *Vermilion* en 4 zonas, 2 de alto vigor (valores NDVI superior a 0,324) y otras dos de bajo (NDVI < 0,239). Mientras que la fruta más madura se vendimió en el viñedo *Villanueva* en dos zonas diferenciadas también por su vigor. En 2018 se tomaron todas las muestras de la parcela *Viñarrosas*. En zonas de diferente vigor y con diferentes momentos de la maduración, como se había planteado inicialmente.

Dejando a un lado las heladas, el 2017 se caracterizó por una fuerte sequía y temperaturas medias muy elevadas, por lo que en esta añada se esperaban vinos sobremaduros más que con verdes. Por otra parte, el 2018 fue marcado por una pluviometría superior a la media,

temperaturas normales en la región y elevadas producciones (19,2 % más que el año precedente, siendo la segunda mayor producción recogida desde que se tienen cifras).

En la añada 2017 se trataron todas las vinificaciones con un producto contra la reducción (Revelaron), debido a que algunos vinos presentaban este defecto.

3.2. Estudio de la composición química de los vinos

Los resultados de los análisis enológicos clásicos, aminoácidos y compuestos aromáticos determinados se muestran en la **Tabla A7.1** del Anexo 7.

La **Figura 2** muestra un PCA realizado con la concentración de aquellos compuestos aromáticos que mostraron diferencias significativas en los factores de añada, vigor y/o madurez. Las familias se componen de la siguiente manera: carbonilos relacionados con la oxidación (benzaldehído, acetaldehído libre y total), ésteres derivados de ácidos grasos lineales (propanoato de etilo, butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo), ésteres derivados de ácidos grasos ramificados (isobutirato de etilo, 2-metilbutirato de etilo y isovalerato de etilo), ésteres de origen fermentativo (acetato de isobutilo y lactato de etilo), ésteres de origen varietal (vanillato de metilo y vanillato de etilo), alcoholes (isobutanol, 1-butanol, alcohol isoamílico, metionol y β -feniletanol), alcoholes C6 (1-hexanol y (Z)-3-hexenol), lactonas (γ -butirolactona), ácidos ramificados (ácido isobutírico y ácido isovaleriánico), ácidos lineales (ácido butírico, ácido hexanoico, ácido octanoico y ácido decanoico), terpenos (linalool, α -terpineol y β -citronelol), norisoprenoides (β -damascenone y β -ionone), fenoles volátiles (guaiacol, o-cresol, 4-etilguaiacol, m-cresol, eugenol, 4-vinylguaiacol, 2,6-dimetoxifenol, 4-vinilfenol, vanillina y acetovanillona), metoxipirazin (IPMP, SBMP, IBMP), rotundona, compuestos volátiles azufrados libres (H_2S (L), MeSH (L), EtSH (L), DMS (L)) y compuestos volátiles azufrados totales (H_2S (T), MeSH (T), EtSH (T) y DMS (T)).

En el gráfico podemos observar como aparecen claramente diferenciadas ambas añadas-viñedos. En el lado derecho del gráfico aparece la vendimia de 2017 y en el izquierdo el año 2018. Por otra parte, vemos como la parte inferior del gráfico corresponde con los vinos elaborados a partir de uvas vendimiadas tempranamente, mientras que la parte superior aparecen las vinificaciones que se hicieron con la fruta más madura. Por último, y con menos claridad vemos como se separan los diferentes vigores, dicha diferenciación es más notable en la añada 2017.

Parece que en la añada 2017, que fue climatológicamente más adversa, los factores como vigor y madurez son mucho más determinantes a la hora de definir el perfil aromático del vino que en el 2018 donde los vinos parecen más homogéneos.

Este gráfico muestra la importancia que ha tenido la añada en el perfil aromático de un vino, seguido de la madurez de la uva y por último el vigor del viñedo. A continuación, trataremos cada uno de estos factores por separado.

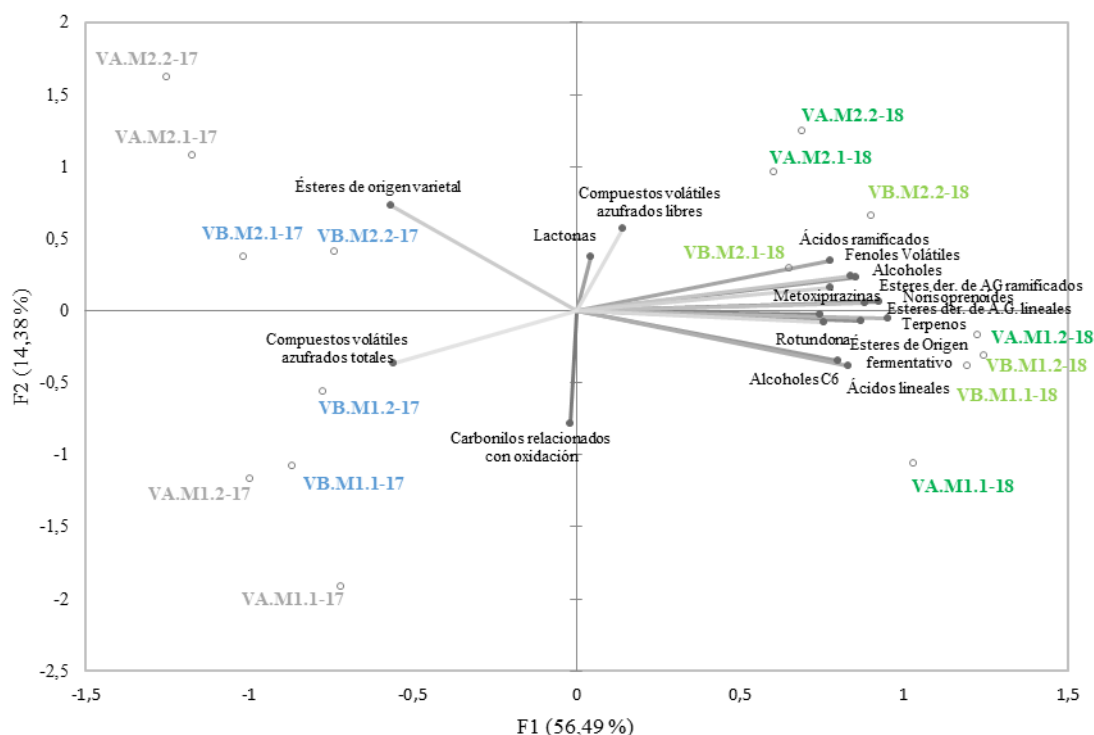


Figura 2: Proyección sobre los dos primeros componentes principales del PCA calculados con compuestos aromáticos de 16 muestras de vino. Los compuestos aromáticos se agruparon en familias mediante la suma de sus correspondientes OAVs.

3.2.1. Comparación entre ambas añadas

Se trata de añadas tremendamente distintas climatológicamente y los muestreos se realizaron en viñedos diferentes. En la **Tabla A7.2** del Anexo 7 se observan diferencias en los parámetros enológicos clásicos en ambas añadas. Las muestras de la añada 2018 fueron más ácidas, con más IPT y más índice de color; sin embargo, tenían un grado alcohólico significativamente más bajo. Para la mayor parte de los compuestos aromáticos (52 de 78 compuestos cuantificados) existen diferencias significativas en la concentración de ambas añadas, encontrándose mayores concentraciones de forma generalizada en la añada 2018, como se aprecia en la **Figura 2** y en la **Tabla A7.2** del Anexo 7. Este hecho es perfectamente asumible dado las grandes diferencias climatológicas que se han encontrado entre ambos años. Por eso, en algún caso, será necesario estudiar una añada independientemente de la otra.

3.2.2. Estudio de madurez

Como era de esperar en los análisis clásicos vemos como se incrementa el etanol, el pH y algunos parámetros de color (IPT y tono) con la madurez.

Se han encontrado diferentes marcadores de madurez ya estudiados previamente, como se aprecia en la **Figura 3**. Los alcoholes C6 (1-hexanol o el (Z)-3-hexenol) descienden con la

madurez. Del mismo modo, (*E*)-2-hexenol y (*E*)-3-hexenol también caen en la añada de 2017, como se ha visto con este tipo de compuestos en otros trabajos (Bindon y col., 2013; Schelezki y col., 2018). Compuestos derivados de vanillatos, como el vanillato de metilo o de etilo, aumenta con la maduración de la uva, como ocurría con el caso de los experimentos de maduración de Moristel (Capítulo 6). También el linalool experimenta una pequeña caída entre los dos estadios de madurez de la uva tomados en este estudio, como se vio en trabajos anteriores donde las concentraciones de terpenos comienzan a descender antes de que la uva alcance el nivel máximo de azúcar (Marais, 1983). Cabe reseñar que se trata de compuestos con una importancia sensorial cuestionable en vinos tintos.

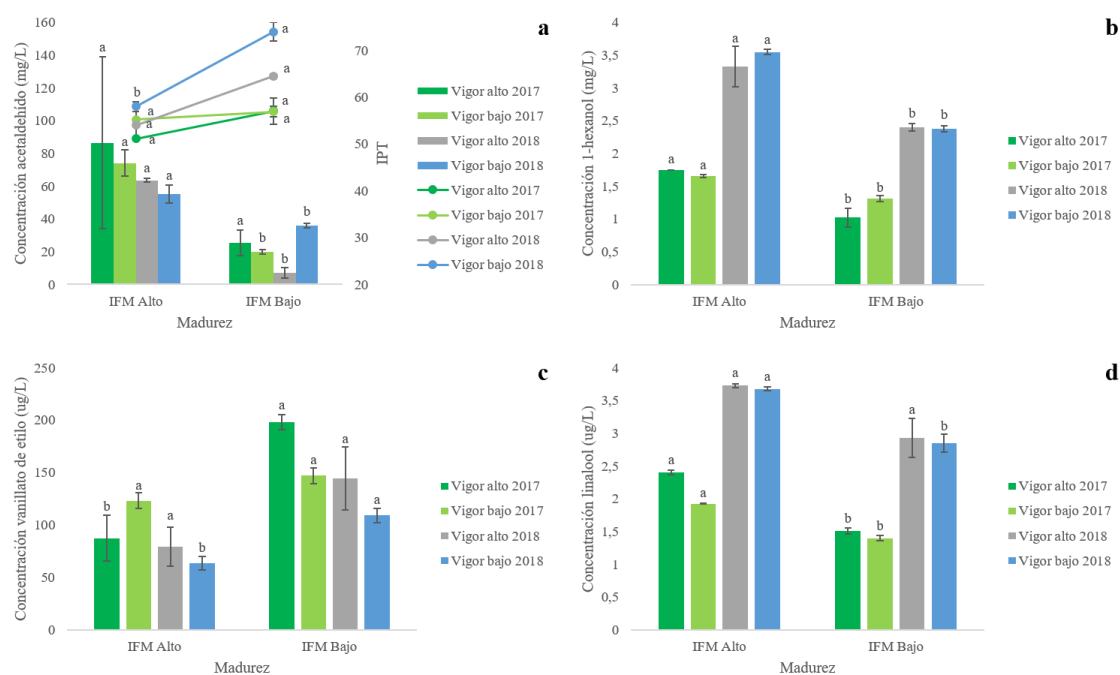


Figura 3. Evolución con la madurez de la uva de los compuestos: **Figura 3a)** acetaldéhidido e IPT; **Figura 3b)** 1-hexanol; **Figura 3c)** vanillato de etilo y **Figura 3d)** linalool. Las barras de error se calcularon como $s/(n)^{1/2}$ (s , desviación estándar; $n = 2$). Las diferentes letras indican diferencias significativas en el contenido de los compuestos ($p < 0,05$) dentro de cada vigor y añada (factor madurez).

Como en los experimentos previos con Garnacha y Moristel hay una caída del acetaldéhidido con la maduración de la uva como se ve en la **Figura 3a**. Puede observarse que la concentración de acetaldéhidido está correlacionada negativamente ($p=0,1$) con el IPT de los vinos. Se trata de una constante que se ha ido repitiendo una y otra vez en todos los estudios de madurez que se han realizado en nuestro grupo. Estas concentraciones de acetaldéhidido pueden tener una drástica importancia en la percepción sensorial de los vinos elaborados con uvas que no han alcanzado su óptimo de madurez. Del mismo modo otros compuestos carbonílicos como la acetoína o la β -damascenona (en 2017) descienden con la maduración, como se reporta en otros estudios de madurez de la uva (Schelezki y col., 2018). Pero existen trabajos en los que su evolución es inversa (Fang y Qian, 2006; Yuan y Qian, 2016).

También se observa en la **Tabla A7.1** del Anexo 7 que componentes muy importantes que conforman el tampón aromático del vino evolucionan con la madurez de la uva. De esta forma, se aprecian incrementos en compuestos como ácidos ramificados en el año 2017 (ácido isobutírico o el ácido isovaleriano) o algunos acetatos como el acetato de isobutilo (2018) o de feniletilo (2017). También destaca la caída de ácidos lineales como el ácido hexanoico y octanoico, en ambas añadas, un hecho que ocurría de forma inversa en otras variedades como la Moristel (Capítulo 6). Sin embargo, lo más destacable en estos compuestos que conforman el tampón aromático es que, al igual que en trabajos anteriores (Capítulo 6) se repite el comportamiento de algunas ratios de compuestos con la madurez. Como se muestran en la **Figura 4** la ratio éster ramificado/ácido ramificado cae con la madurez de la uva, del mismo modo que ocurría en los estudios de Moristel y Garnacha en Somontano. O la ratio éster lineal/ácido lineal se incrementa con la madurez, al igual que en el estudio de Garnacha y en Moristel con el butirato.

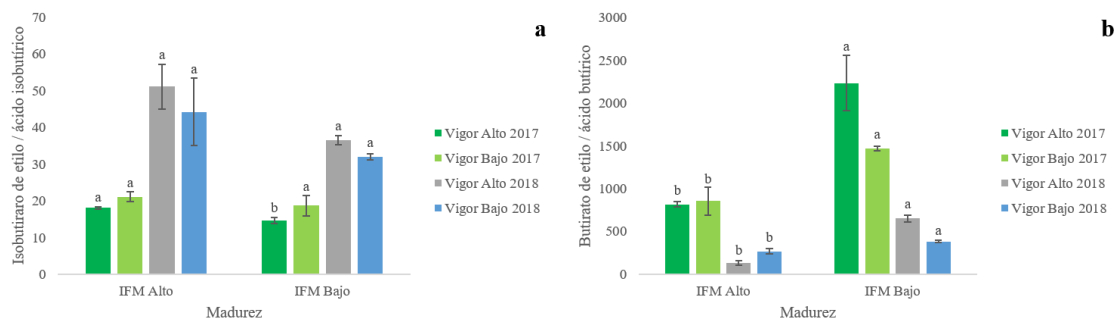


Figura 4. Figura 4a) Ratio isobutirato de etilo/ácido isobutírico **Figura 4b)** Ratio (butirato de etilo/ácido butírico) x 1000. Las barras de error se calcularon como $s/(n)^{1/2}$ (s, desviación estándar; n = 2). Las diferentes letras indican diferencias significativas en el contenido de los compuestos ($p < 0,05$) dentro de cada vigor y añada (factor madurez).

Existen también compuestos que presentan evoluciones contrarias en función de la añada como el dihidrocinamato de etilo y la γ -nonalactona que caen en la primera anualidad y se incrementan con la madurez en la segunda.

También tienen comportamientos erráticos otros compuestos como las metoxipirazinas y rotundona (**Tabla A7.1** del Anexo 7), además su importancia sensorial en esta variedad parece ser bastante limitada.

Como era de esperar la gran mayoría de aminoácidos residuales en los vinos del 2017 se incrementan con la madurez (Capítulo 7). Y los perfiles de aminoácidos residuales en vino nos permite discernir entre madurez y vigor como se ve en la **Figura 5a**. En la que los vinos elaborados a partir de la viña de mayor vigor presentan mayores concentraciones de aminoácidos residuales y sus cambios durante la madurez son más acusados que en los vinos procedentes de viñas con vigor bajo.

Cuando se trabaja con la información de los niveles de aminoácidos en porcentaje, se vuelve a ver como el perfil aminoacídico de la variedad Tempranillo difiere más en los estadios de madurez tempranos para las viñas con diferente vigor mientras que con la evolución de la madurez confluyen hacia un perfil más homogéneo cuando los vinos han sido elaborados a partir de uvas más maduras. Esta evolución ya había sido apuntada en el caso de la Moristel y se puede apreciar en la **Figura 5b**. Sin embargo, a diferencia del estudio de Moristel, los aminoácidos de Strecker no muestran una polarización tan marcada con la madurez. Esto no es sorprendente ya que se ha demostrado que cada variedad de uva presenta un perfil aminoacídico propio (Etiévant y col., 1988; Hernández-Orte y col., 1999; Vasconcelos y col., 1990).

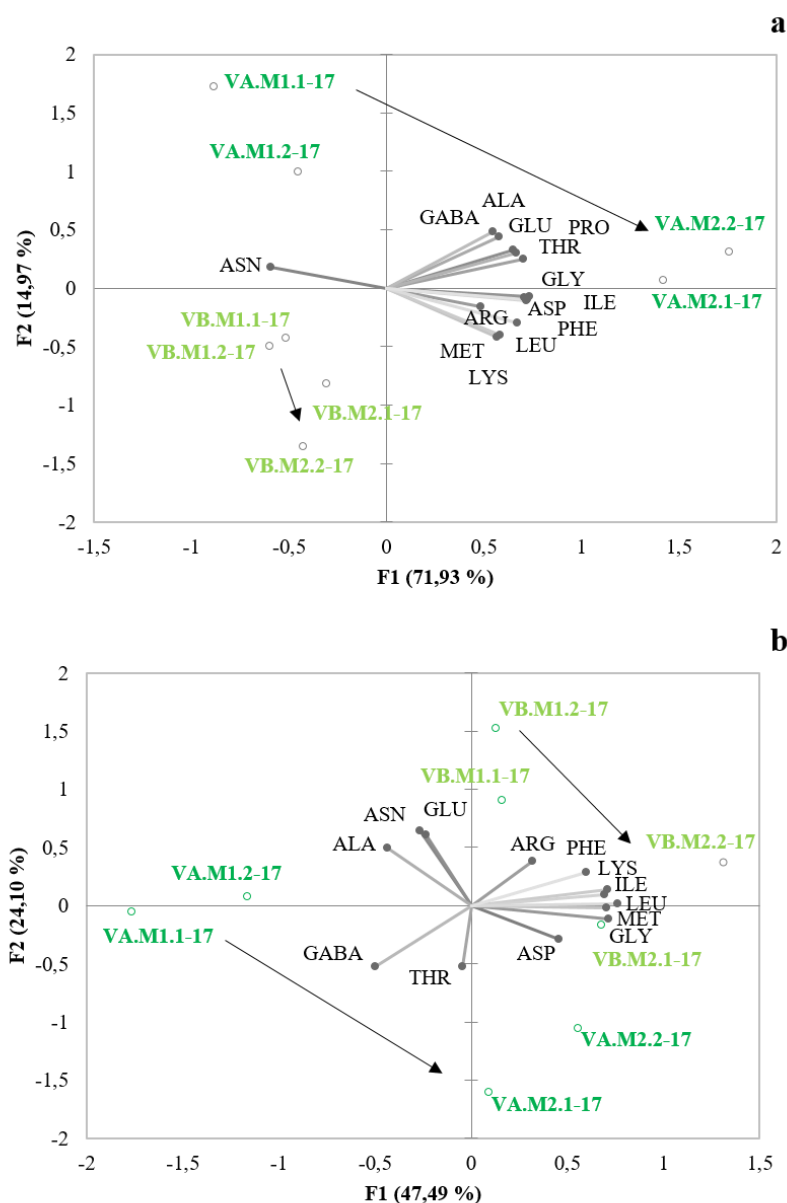


Figura 5. PCAs calculados a partir de las concentraciones de aminoácidos (en vinos) que mostraban diferencias significativas para los factores madurez, vigor o interacción entre ambos. **Figura 5a)** Resultados en parámetros absolutos (mg L^{-1}). **Figura 5b)** Resultados en parámetros relativos (%).

En el caso de aldehídos de Strecker cabe destacar que las evoluciones no siguieron un patrón claro el único año que se analizaron (2017). Solo hubo cambios significativos en dos aldehídos de Strecker con la madurez. El isobutiraldehído descendía con la madurez y el metional ascendía. Para llegar a conclusiones más sólidas en este tipo de compuestos tan reactivos (De Azevedo y col., 2007; Vivar-Quintana y col., 1999) sería necesario plantear un diseño experimental más ambicioso, con un mayor número de réplicas y más puntos de maduración como se ha hecho en el caso de la variedad Moristel. Por ello, no se realizó su análisis en la siguiente anualidad.

3.2.3. Estudio de vigor vegetativo

Ya se ha comentado que esta variable es la menos influyente de las estudiadas. De hecho, en el 2018 las muestras no presentan muchas variaciones significativas. Puede que sea porque se trata de la misma viña y los factores climáticos propiciaron una añada de altas producciones, lo que diluyó el efecto del vigor. Por ello, en primer lugar, centraremos el estudio en la añada 2017, obviando los análisis realizados en 2018.

Encontramos que los vinos procedentes de los viñedos de vigor más bajo presentan mayor cantidad de algunos alcoholes (como alcohol isoamílico, 1-hexanol, metionol o β -feniletanol), algún ácido (isovaleriánico) y más ésteres ramificados (isobutirato de etilo, isovalerato de etilo o 2-metilbutirato de etilo).

En cuanto a los terpenos, encontramos más linalool y geraniol en vinos procedentes de viñas de vigor más elevado.

En cuanto a las metoxipirazinas, se comportan de forma inversa la IPMP y la IBMP. Hay que tener en cuenta que se está trabajando con una variedad poco pirazínica y que sus niveles no alcanzan el umbral de olfacción. Sin embargo, hay trabajos que relacionan el vigor con el sombreado y la aparición de las notas de estos compuestos en esos vinos (Ryona y col., 2008).

Como se puede observar en la **Tabla A7.1** del Anexo 7, los vinos procedentes de viñedos con vigor más bajo tienen concentraciones más altas de compuestos de origen fermentativo, como si la levadura activase más su metabolismo en un medio-mosto procedente de viñedos menos vigorosos. Por el contrario, viñedos de más vigor producen uvas con mayor cantidad de aminoácidos (especialmente en el punto de madurez más avanzada como se veía en la **Figura 5a**), que se traduce en mayor cantidad de aminoácidos residuales en el vino y algún compuesto azufrado como MeSH y DMS.

Aunque no se conozcan los rendimientos de estas viñas muestreadas, podemos encontrar paralelismos con los estudios de los capítulos 5, 6 y 7, donde viñas de alto vigor tenían altos rendimientos. Así viñas de alto vigor y alto rendimiento producen vinos ricos en aminoácidos y compuestos azufrados, mientras que los vinos procedentes de viñas de bajo vigor y

rendimientos tienden a tener concentraciones más altas de compuestos de origen fermentativo (como alcoholes o ácidos).

4. Conclusiones

Con la madurez de la uva volvemos a encontrarnos en los vinos descensos claros en la concentración de acetaldehído y en la relación éster ramificado/ácido ramificado en los vinos. Sin embargo, aumenta la relación éster lineal/ácido lineal conforme los vinos proceden de uvas más maduras. También destaca la presencia de determinados compuestos que pueden servir como marcadores de la madurez (1-hexanol, vanillato de metilo o linalool), si bien debe tenerse en consideración que su importancia sensorial en estos vinos será limitada.

Finalmente, y teniendo en cuenta las limitaciones que nos hemos encontrado en este estudio, no podemos afirmar que el vigor juegue un papel importante en la concentración de los compuestos aromáticos que aportan una nota vegetal. Su influencia en el aroma del vino parece menor que otros factores como puede ser la añada o la madurez. Sin embargo, en las añadas en las que la producción es “normal”, el vigor parece afectar a los compuestos fermentativos y al contenido de aminoácidos del vino.

5. Referencias

- Bindon, K., Varela, C., Kennedy, J., Holt, H., & Herderich, M. (2013). Relationships between harvest time and wine composition in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon 1. Grape and wine chemistry. *Food Chemistry*, 138(2–3), 1696–1705. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.146>
- Bramley, R. G. V. (2010). Precision Viticulture: managing vineyard variability for improved quality outcomes. In A. G. Reynolds (Ed.), *Managing Wine Quality* (pp. 445–480). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/978184569284.3.445>
- Bueno, M., Zapata, J., & Ferreira, V. (2014). Simultaneous determination of free and bonded forms of odor-active carbonyls in wine using a headspace solid phase microextraction strategy. *Journal of Chromatography A*, 1369, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.004>
- Coombe, B. G., & McCarthy, M. G. (1997). Identification and naming of the inception of aroma development in ripening grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3(1), 18–20. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1997.tb00111.x>
- Cromoenos. (2002). <https://cromoenos.es/>
- De Azevedo, L. C., Reis, M. M., Motta, L. F., Da Rocha, G. O., Silva, L. A., & De Andrade, J. B. (2007). Evaluation of the formation and stability of hydroxyalkylsulfonic acids in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8670–8680. <https://doi.org/10.1021/jf0709653>
- Etiévant, P., Schlich, P., Bouvier, J.-C., Symonds, P., & Bertrand, A. (1988). Varietal and Geographic Classification of French Red Wines in Terms of Elements, Amino Acids and Aromatic Alcohols. In *J Sci Food Agric* (Vol. 45).
- Fang, Y., & Qian, M. C. (2006). Quantification of selected aroma-active compounds in Pinot noir wines from different grape maturities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(22), 8567–8573. <https://doi.org/10.1021/jf061396m>
- Franco-Luesma, E., & Ferreira, V. (2014). Quantitative analysis of free and bonded forms of volatile sulfur compounds in wine. Basic methodologies and evidences showing the existence of reversible cation-complexed forms. *Journal of Chromatography A*, 1359, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.07.011>
- Gatti, M., Garavani, A., Vercesi, A., & Poni, S. (2017). Ground-truthing of remotely sensed within-field variability in a cv. Barbera plot for improving vineyard management. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 23(3), 399–408. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12286>
- González, A. A. (2017). *Informe CRDO campaña de vendimia 2017. Consejo Regulador de la Denominación de Origen Ribera del Duero.*

- González, A. A. (2018). *Informe CRDO campaña de vendimia 2018. Consejo Regulador de la Denominación de Origen Ribera del Duero.*
- Han, G., Wang, H., Webb, M. R., & Waterhouse, A. L. (2015). A rapid, one step preparation for measuring selected free plus SO₂-bound wine carbonyls by HPLC-DAD/MS. *Talanta*, *134*, 596–602. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.11.046>
- Hernández-Orte, P., Guitart, A., & Cacho, J. (1999). Changes in the concentration of amino acids during the ripening of *Vitis vinifera* Tempranillo variety from the Denomination d'Origine Somontano (Spain). *American Journal of Enology and Viticulture*, *50*(2), 144–154.
- Hernández-Orte, P., Ibarz, M. J., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Amino acid determination in grape juices and wines by HPLC using a modification of the 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate (AQC) method. *Chromatographia*, *58*(1–2), 29–35. <https://doi.org/10.1365/s10337-003-0002-1>
- Kontoudakis, N., Esteruelas, M., Fort, F., Miquel Canals, J., & Zamora, F. (2010). Comparison of methods for estimating phenolic maturity in grapes: Correlation between predicted and obtained parameters. *Analytica Chimica Acta*, *660*(1–2, SI), 127–133. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.10.067>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- López, R., Lapeña, A. C., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Quantitative determination of wine highly volatile sulfur compounds by using automated headspace solid-phase microextraction and gas chromatography-pulsed flame photometric detection. Critical study and optimization of a new procedure. *Journal of Chromatography A*, *1143*(1–2), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.12.053>
- Marais, J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *4*(2), 49–58. <https://doi.org/10.21548/4-2-2370>
- OIV. (2018). *Compendium of International Methods of Wine and Must Analysis. Paris: Office International de la Vigne et du Vin.*
- Ortega, C., Lopez, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, *923*(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- Reynolds, A. G., & Heuvel, J. E. Vanden. (2009). Influence of Grapevine Training Systems on Vine Growth and Fruit Composition: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, *60*(3), 251–268.
- Rouse, J., Haas, R. H., Schell, J. A., & Deering, D. (1973). Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. *Proceedings of the 3rd ERTS Symposium*, 309–317.
- Ryona, I., Pan, B. S., Intrigliolo, D. S., Lakso, A. N., & Sacks, G. L. (2008). Effects of Cluster Light Exposure on 3-Isobutyl-2-methoxypyrazine Accumulation and Degradation Patterns in Red Wine Grapes (*Vitis vinifera* L. Cv. Cabernet Franc). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(22), 10838–10846. <https://doi.org/10.1021/jf801877y>
- Schelezki, O. J., Suklje, K., Boss, P. K., & Jeffery, D. W. (2018). Comparison of consecutive harvests versus blending treatments to produce lower alcohol wines from Cabernet Sauvignon grapes: Impact on wine volatile composition and sensory properties. *Food Chemistry*, *259*, 196–206. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.118>
- Vasconcelos, A. M. R., & Chaves das Neves, H. J. (1990). HRGC of Wine Free Amino Acids as a Tool for Elementary Wine Characterization. *HRC Journal of High Resolution Chromatography*, *13*(7), 494–498.
- Vivar-Quintana, A. M., Santos-Buelga, C., Francia-Aricha, E., & Rivas-Gonzalo, J. C. (1999). Formation of anthocyanin-derived pigments in experimental red wines. *Food Science and Technology International*, *5*(4), 347–352. <https://doi.org/10.1177/108201329900500407>
- Wen, Y., Ontañón, I., Ferreira, V., & López, R. (2018). Determination of ppq-levels of alkylmethoxypyrazines in wine by stirbar sorptive extraction combined with multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. *Food Chemistry*, *255*, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.089>
- Yuan, F., & Qian, M. C. (2016). Aroma Potential in Early- and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *64*(2), 443–450. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b04774>

Sección IV. Estudios sensoriales de compuestos que pueden estar modulando el verdor



El lenguaje es vino en los labios

Virginia Woolf

Capítulo 9. Influencia sensorial de concentraciones elevadas de metionol y alcohol isoamílico en vinos tintos

1. Introducción

En el Capítulo 3 de la tesis se seleccionaron una serie de vinos que se categorizaron como verdes por un panel de expertos de la región de Somontano. Esta selección se realizó en dos sesiones, la primera centrada en verdor global (valorando dicho atributo en nariz y boca) y una segunda sesión más centrada en encontrar verdor a nivel orthonasal en vinos tintos.

Los vinos que presentaban una menor y una mayor percepción de verdor en boca (V1 y V19 por un lado y V37 y V38 por el otro), se sometieron a un fraccionamiento para extraer aquellas fracciones responsables de dichos atributos como se describe en otro trabajo (Sáenz-Navajas y col., 2018). Mediante una metodología basada en cromatografía líquida (LC) se obtuvieron seis fracciones fenólicas diferentes por vino (24 fracciones en total) que se caracterizaron sensorial y químicamente. Las fracciones F22 y F23 del vino 38, ricas en taninos con un alto nivel de polimerización, parecen ser las responsables del carácter verde del vino 38, ya que al igual que este vino (**Tabla 3** del Capítulo 3) se describieron con altas intensidades para los atributos de astringencia, sequedad y de taninos verdes. De forma análoga, se sugiere que la F13 del vino 37, cuya composición se basa en pigmentos pequeños derivados de la antocianina y pequeños flavanoles, es la responsable de las altas puntuaciones en astringencia, pegajosidad, sequedad y taninos secos del vino 37 (**Tabla 3** del Capítulo 3).

A nivel aromático, como se ha visto en el Capítulo 3, no se identificaron compuestos aromáticos específicos en el estudio GC-O de vinos con verdor (V18, V44, V45, V48 y V 51), sin embargo, estos vinos contenían niveles significativamente más altos de alcoholes de fusel, especialmente de alcohol isoamílico y de metionol (**Tabla 7** del Capítulo 3).

Teniendo identificadas y aisladas varias de las moléculas sensorialmente activas que pueden estar involucradas en la percepción del verdor, se llevaron a cabo experimentos de reconstitución para evaluar el impacto sensorial real de los compuestos en la matriz objeto de estudio. Por tanto, el objetivo del presente trabajo será evaluar el efecto del metionol, alcohol isoamílico y fracciones no volátiles en la percepción del verdor y confirmar su papel sensorial en vinos tintos con perfiles sensoriales distintos.

2. Material y métodos

La **Figura 1** muestra un esquema global de los trabajos realizados para seleccionar vinos con notas verdes. Lo mostrado en el Capítulo 3 es la parte derecha del flujograma y los trabajos sensoriales que se describen en el presente capítulo están señalados en rojo.

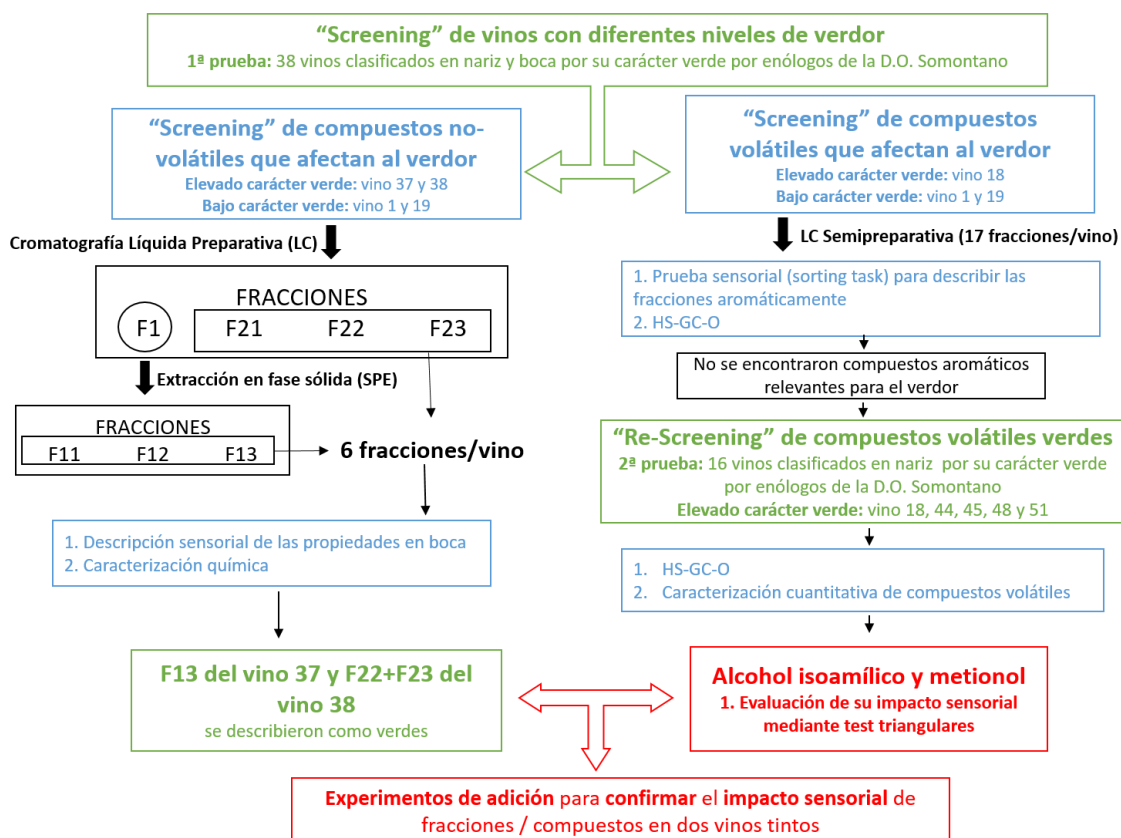


Figura 1. Flujograma que representa gráficamente el planteamiento del estudio presentado en el Capítulo 3 y en el presente capítulo (rojo).

2.1. Reactivos

El alcohol isoamílico (53448-07-0) con una pureza de 99% y el metionol comercial (505-10-2) con una pureza del 98% fueron suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.).

2.2. Análisis sensorial alcohol isoamílico y metionol

Con base a los resultados derivados de estudios cuantitativos (**Tabla 7** del Capítulo 3) se quiso verificar la importancia sensorial del metionol ($7,3 \text{ mg L}^{-1}$) y del alcohol isoamílico (454 mg L^{-1}) en dos vinos con un perfil sensorial distinto mediante experimentos de adición. Los vinos fueron un vino tinto joven (VJ-Tempranillo 2016; etanol al 12,5% v/v) representativo de un vino tinto afrutado y bastante neutro para las propiedades en boca (sabor y sensación en la boca) y un vino tinto criado en barrica de roble (VC-Tempranillo 2011; 13,5% de etanol v/v) representativo de un vino crianza añejado con aromas de madera, oxidación y fruta madura, sin sabor ni propiedades en boca sobresalientes.

En primer lugar, tanto el alcohol isoamílico como el metionol se purificaron según lo descrito por de-la-Fuente-Blanco y col. (2016), ya que los estándares comerciales siempre contienen trazas de sus aldehídos correspondientes, compuestos que tienen un alto poder odorante. Posteriormente se cuantificaron los compuestos en los vinos siguiendo la metodología descrita en la bibliografía (Ortega y col., 2001) y se doparon los vinos con las concentraciones

máximas encontradas en el Capítulo 3. Se realizó un primer conjunto de pruebas triangulares para evaluar el impacto sensorial individual del metionol y del alcohol isoamílico y, en un segundo conjunto de pruebas, se evaluó su interacción sensorial. Las sesiones fueron realizadas por duplicado por un panel sensorial entrenado compuesto por 20 catadores (11 mujeres y 9 hombres, con edades comprendidas entre 24 y 70 años). Las muestras presentadas en las pruebas triangulares fueron el vino tinto base (VJ o VC) y la misma muestra enriquecida con metionol, alcohol isoamílico o metionol + alcohol isoamílico. Se presentaron tres copas a cada participante y se les pidió que seleccionaran la muestra diferente basándose exclusivamente en las propiedades del aroma orthonasal (Ver consignas en la **Figura A8.1** del Anexo 8). El número de respuestas correctas se comparó con los valores tabulados para evaluar la presencia de diferencias sensoriales significativas en pruebas triangulares. En todas las pruebas, las muestras debidamente codificadas (10 mL, 20 °C) se presentaron en orden aleatorio en copas negras de vino en forma de tulipa y cubiertas con una placa de Petri.

2.3. Evaluación del impacto sensorial de fracciones y compuestos sobre el carácter verde

2.3.1. Muestras, participantes y procedimiento

En base a los pasos de selección, se evaluó el impacto sensorial de dos fracciones no volátiles y el alcohol isoamílico en el carácter verde en dos vinos diferentes sensorialmente. Estos vinos fueron los mismos vinos (joven (VJ) y crianza (VC)) utilizados en las pruebas triangulares (Sección 2.1). La **Tabla 1** muestra los 16 vinos evaluados atendiendo a un diseño factorial completo con tres variables (alcohol isoamílico -AI-, F13_V37 -F13-y F22_V38 + F23_V38 -F2-) en dos niveles (no dopados y dopados) y en dos vinos diferentes (VJ y VC).

El panel estaba compuesto por catorce enólogos establecidos en la región de Somontano (7 mujeres y 7 hombres, de 33 a 56 años, mediana=45). Los participantes completaron dos sesiones separadas por un descanso de 30 min. Se les presentaron las 16 muestras (**Tabla 1**) simultáneamente y se les pidió que probaran cada muestra de izquierda a derecha. En la primera sesión tuvieron que calificar el carácter verde de los vinos en una escala de siete puntos (1 = no intenso y 7 = muy intenso). En la segunda sesión, se les pidió a los participantes que describieran cada muestra para el aroma y las propiedades en la boca mediante el uso de una lista de 9 términos aromáticos (“fruta roja/negra”, “fruta fresca”, “fruta pasa”, “vegetal fresco”, “verdura cocida”, “madera”, “especias”, “tostado” y “animal”), 3 sabores (dulce, ácido y amargo) y 19 sensaciones en boca (astringente/secante, rugoso, tanino verde, tanino duro, pegajoso, granuloso, ardiente, graso, envolvente, sedoso, acuso/ligero y persistente). Ver consignas en la **Figura A8.2** del Anexo 8). Estos últimos términos se desarrollaron en un trabajo anterior (Sáenz-Navajas y col., 2017). Se les pidió que calificaran la intensidad de aquellos términos que se aplicaban exclusivamente a la muestra en una escala de siete puntos de acuerdo con la metodología Rate-all-that-apply (RATA) (Ares y col., 2014).

Tabla 1. Muestras del análisis sensorial para evaluar el impacto del alcohol isoamílico (AI), las fracciones F22 + F23 del vino V38 (F2) y/o la fracción F13 del vino V37 (F13) en el carácter verde de dos vinos diferentes (VJ: jóvenes y VC: vinos tintos crianza). J_base y C_base no se doparon ("0" significa que no se doparon). El resto de las muestras fueron dopadas ("1" significa dopado con el compuesto o fracción correspondiente) con AI, F2 y/o F13.

Vino dopado	Muestra	Código	AI (alcohol isoamílico)	F2 (F22_V38 + F23_V38)	F13 (F13_V37)
Vino tinto joven (VJ)	1	J_base	0	0	0
	2	J_AI	1	0	0
	3	J_AI_F2	1	1	0
	4	J_AI_F2_F13	1	1	1
	5	J_F2	0	1	0
	6	J_F2_F13	0	1	1
	7	J_AI_F13	1	0	1
	8	J_F13	0	0	1
Vino tinto crianza (VC)	9	C_base	0	0	0
	10	C_AI	1	0	0
	11	C_AI_F2	1	1	0
	12	C_AI_F2_F13	1	1	1
	13	C_F2	0	1	0
	14	C_F2_F13	0	1	1
	15	C_AI_F13	1	0	1
	16	C_F13	0	0	1

Los vinos se presentaron a temperatura ambiente, en copas negras identificados por códigos aleatorios de tres dígitos. El volumen de vino fue 10 mL. Las muestras se presentaron en orden aleatorio y diferente para cada participante. Se puso a disposición de los panelistas picos de pan sin sal y agua mineral para enjuagarse el paladar. Se pidió a los participantes que no se tragasen las muestras, sino que las expectorasen en escupideras dispuestas para ello.

2.3.2. Análisis de los datos

Con las puntuaciones de carácter verde obtenidas se calculó un ANOVA de dos factores, con los panelistas como factor aleatorio y el tipo de vino (vino tinto joven o crianza) como factor fijo para evaluar el efecto de la matriz del vino sobre el carácter verde.

Luego, se calculó un ANOVA de dos factores para cada matriz de vino (vino tinto joven o crianza) con las puntuaciones de carácter verde, aroma y términos en boca (con los evaluadores como factor aleatorio y vino como factor fijo). Para efectos significativos, se realizó la prueba de comparación por pares de Fisher (95%).

Finalmente, se llevaron a cabo dos análisis de componentes principales (PCA) (uno para cada tipo de vino) con las puntuaciones medias (de los 14 enólogos) de los términos significativos en boca y/o aroma (variables activas) y de carácter verde (variable suplementaria). Todos los análisis se realizaron con XLSTAT (versión 2015).

3. Resultados y discusión

3.1. Estudio sensorial de compuestos volátiles que podrían generar caracteres verdes

Se estudió el potencial sensorial desempeñado por el metionol y el alcohol isoamílico mediante experimentos de adición simples con estándares altamente purificados. Como se encontró previamente para el β -feniletanol (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016), el umbral de olor reportado para el metionol resultó estar sobreestimado, ya que se encontró que el umbral de olor para el estándar completamente puro está alrededor de $9,5 \text{ mg L}^{-1}$, casi 20 veces por encima del umbral reportado previamente. Es altamente probable que esta sobrestimación se deba a la presencia de metional, cuyo aroma es parejo pero su umbral de olfacción es drásticamente más bajo ($0,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) (Culleré y col., 2007). Para más información ver el **Apartado A8.3** en el Anexo 8. Los experimentos de adición a los niveles máximos de 8 mg L^{-1} encontrados en vinos con notas verdes en dos matrices diferentes (vino tinto joven y crianza) no tuvieron ningún efecto sensorial, como se ve en la **Tabla 2**, lo que nos lleva a concluir que los niveles de metionol, *per se*, no están directamente involucrados en el carácter verde de los vinos.

Los resultados con el alcohol isoamílico fueron muy diferentes, el panel sensorial detectó de forma significativa la adición de este compuesto purificado en ambos modelos de vino, cuyos niveles se encontraban en las concentraciones máximas encontradas en los vinos con verdor (500 mg L^{-1} , Tabla 7 del Capítulo 3) ($p < 0,01$). Confirmando resultados anteriores (de-la-Fuente-Blanco y col., 2017), algunos individuos resultaron ser extremadamente sensibles a la adición de este producto químico e informaron que agregaba una nota picante y metálica al vino. Además, algunos de ellos lo describieron orthonasalmente como geranio y en la boca como áspero y astringente, lo que nos hizo preguntarnos si este compuesto podría estar involucrado en la formación de carácter verde en los vinos tintos.

Tabla 2. Resultados de los tests triangulares desarrollados en matrices diferentes para probar la importancia sensorial del metionol y el alcohol isoamílico.

Vino base	Compuesto y concentración	Acierto/Total	<i>p</i>
Vino joven	8 mg L^{-1} metionol	18/40	n.s.
Vino crianza	8 mg L^{-1} metionol	14/40	n.s.
Vino joven	500 mg L^{-1} alcohol isoamílico	32/40	0,01
Vino crianza	500 mg L^{-1} alcohol isoamílico	29/40	0,01
Vino joven + 500 mg L^{-1} alcohol isoamílico	8 mg L^{-1} metionol	16/40	n.s.
Vino crianza + 500 mg L^{-1} alcohol isoamílico	8 mg L^{-1} metionol	11/40	n.s.

Debido a que no se encontró efectos significativos en la adición de metionol purificado se retomó la posibilidad de que una impureza de este compuesto con olor metálico-geranio pudiese jugar un papel relevante en la percepción del verdor. Como se puede ver en el **Apartado A8.3** del Anexo 8 no se consiguió identificar el compuesto responsable del olor a geranio en el patrón

de metionol, pero se ha caracterizado, obteniendo sus índices de retención cromatográfica (LRIpolar=1971 y LRIapolar=1340) y su espectro de masas, como se muestra en la **Figura 2**.

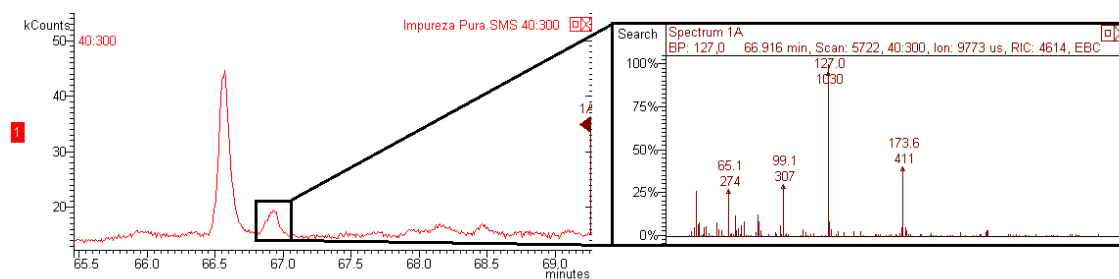


Figura 2: Cromatograma y espectro de masas correspondiente al compuesto responsable de la zona de olor a hojas de geranio con LRI 1967 en columna DB-WAX.

3.2. Impacto sensorial del alcohol isoamílico y las fracciones no volátiles en el carácter verde

Tras la cata de las fracciones, se lanza la hipótesis de que los compuestos presentes en las fracciones F22_V38 (fracción F22 del Vino 38), F23_V38 (fracción F23 del Vino 38) y F13_V37 (fracción F13 del Vino 37) pueden estar implicados en el carácter verde (Sáenz-Navajas y col., 2018). Del mismo modo, el alcohol isoamílico también podría desempeñar algún papel, no solo en la percepción del aroma, sino también en la percepción general del verdor. Además, los compuestos responsables del aroma a madera, fruta madura y oxidación también podrían contrarrestar la percepción verde. Esta hipótesis está en línea con el hecho de que, para los enólogos en general, y también en algunos artículos científicos, generalmente se acepta que los problemas relacionados con el carácter verde se resuelven o enmascaran con vinos envejecidos con roble (Llaudy y col., 2006) a pesar de no existir ninguna evidencia científica sólida sobre este hecho. El presente experimento podría proporcionar una pista sobre estos supuestos. Para verificar estas hipótesis, se seleccionaron dos modelos de vino con diferentes perfiles de aroma: un vino tinto joven (VJ) con aromas afrutados y un vino tinto envejecido en roble (VC) descrito con aromas de fruta madura y oxidación. Estos vinos fueron enriquecidos con las fracciones F22_V38 + F23_V38, F13_V37 y/o con alcohol isoamílico siguiendo un diseño factorial y fueron evaluados sensorialmente por su carácter verde por el panel de expertos de la región de Somontano.

Los resultados mostraron que los vinos jóvenes tuvieron puntuaciones significativamente más altas ($F = 11,8$; $p < 0,001$) (promedio = $4,9 \pm 1,6$) para el carácter verde que los vinos con madera (promedio = $4,0 \pm 1,6$). Este resultado confirma que el carácter verde depende del vino y sugiere que los aromas de fruta madura y oxidación de los vinos criados en barrica podrían enmascarar el carácter verde. Curiosamente, las **Figura 3 a y b** muestran que la adición única de alcohol isoamílico, proantocianidinas (F22 + F23) o compuestos derivados de antocianinas (F13) a un

vino tinto joven o envejecido (muestras base) no genera un aumento significativo ($p>0,1$) del carácter verde.

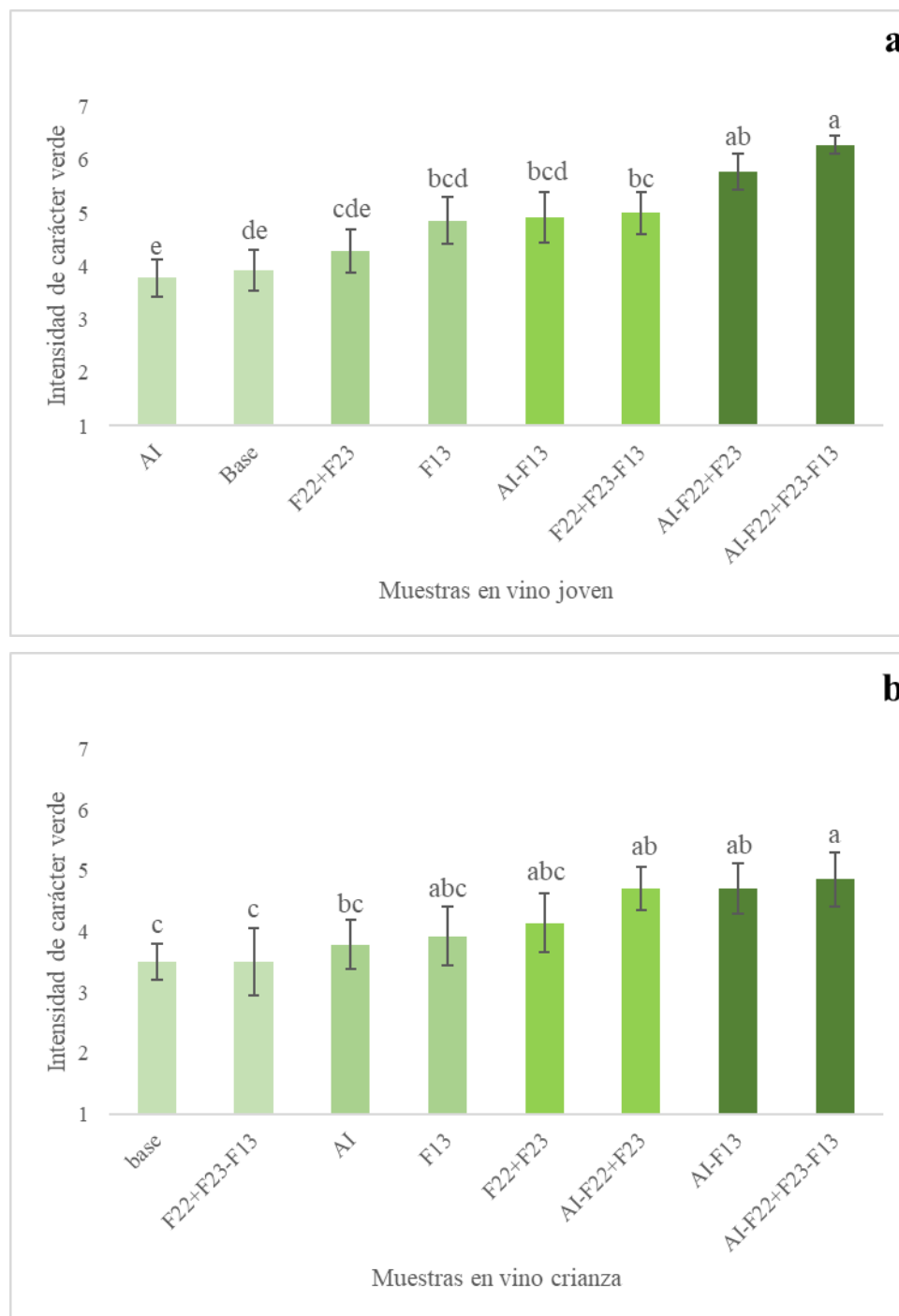


Figure 3. Intensidades de carácter verde (promedio de intensidades individuales otorgados por el panel de expertos) para **a)** tintos jóvenes y **b)** vinos tintos crianza enriquecidos con dos fracciones fenólicas (F13 y/o F22 + F23) y/o alcohol isoamílico. Las barras de error se calculan como $s/(n)^{1/2}$ (s , desviación estándar; n , número de panelistas). Letras diferentes indican la existencia de una diferencia significativa entre muestras ($p<0,05$) (prueba post hoc de Fisher).

Los resultados indican que, en el modelo de vino joven solo la adición conjunta de ambas fracciones fenólicas (F22 + F23 y F13) o la adición conjunta de F22 + F23 y alcohol isoamílico genera un aumento significativo ($p < 0,05$) en el carácter verde del vino. El carácter verde máximo se observa en la muestra que contiene los tres elementos (F13, F22 + F23 y alcohol isoamílico). En el modelo de vino crianza, todos los efectos son menos evidentes, ya que el carácter verde es relativamente reducido. Los resultados demuestran claramente que hay un aumento significativo en el carácter verde sólo en las muestras que contienen alcohol isoamílico y una de las fracciones fenólicas (AI-F13 o AI-F22 + F23). La mayor intensidad del atributo verdor se observa en la muestra que contiene los tres elementos simultáneamente.

El panel de expertos realizó además una descripción cuantitativa de los vinos dopados. Los resultados (datos no mostrados) confirmaron que el carácter verde de los vinos dopados se correlacionó significativamente con sensaciones en la boca como pegajoso ($r = 0,66$; $p < 0,05$) en el vino joven y con taninos verdes ($r = 0,71$; $p < 0,01$) en el vino tinto crianza. No se encontró ninguna correlación significativa con ningún término de aroma, lo que sugiere que las características aromáticas asociadas al carácter verde se deben a moléculas no presentes en estas experiencias.

4. Conclusiones

Los resultados de este trabajo ponen en relieve que la importancia sensorial del metionol está sobreestimada y que es inapreciable en las concentraciones a las que se suele encontrar en vino tinto. Siempre sin considerar las impurezas que puede tener a menudo si el patrón no está purificado.

Se sugiere que la interacción entre el alcohol isoamílico (500 mg L^{-1}) y la fracción derivada de antocianinas y/o los taninos contribuye al carácter verde. Aparentemente, estos tres elementos explican el carácter pegajoso y de tanino verde, pero no pueden explicar los matices de olor vegetal relacionados con el carácter verde.

Además, se demuestra que la intensidad del carácter verde depende de la matriz del vino, sugiriéndose que los aromas a madera, oxidación y/o fruta madura presentes en los vinos con crianza en roble pueden enmascarar ciertos problemas de verdor.

5. Referencias

- Ares, G., Bruzzone, F., Vidal, L., Silva Cadena, R., Gimenez, A., Pineau, B., Hunter, D. C., Paisley, A. G., & Jaeger, S. R. (2014). Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). *Food Quality and Preference*, 36, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.03.006>
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2017). Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions. *Australian Journal of*

-
- Grape and Wine Research*, 23(2), 162–169. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12273>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, 210, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- Llaudy, M. del C., Canals, R., Gonzalez-Manzano, S., Canals, J. M., Santos-Buelga, C., & Zamora, F. (2006). Influence of micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency, and color of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(12), 4246–4252. <https://doi.org/10.1021/jf052842t>
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, 923(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias, I., Ferrero-del-Teso, S., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Chemo-sensory approach for the identification of chemical compounds driving green character in red wines. *Food Research International*, 109, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.037>

Capítulo 10. Cambios aromáticos ligados a variaciones en las concentraciones de compuestos del tampón aromático. Caso de vinos Moristel elaborados con uvas de distinto grado de madurez

1. Introducción

En trabajos anteriores (Capítulo 6) se han descrito variaciones de ratios y de familias de compuestos en distintos vinos, elaborados con uvas tintas de la variedad Moristel con distinto grado de madurez. Se ha visto como el acetaldehído y los aldehídos de Strecker descienden, al igual que los ácidos ramificados (ácido isovaleriánico) y los ésteres ramificados (isobutirato de etilo, 2-metilbutirato de etilo y isovalerato de etilo) cuando los vinos proceden de uvas más maduras. Mientras que se incrementan los ácidos lineales (ácido butírico y ácido octanoico) y sus ésteres (especialmente butirato de etilo y octanoato de etilo).

Es conocido que los compuestos aromáticos en matrices complejas, como el vino, pueden estar implicados en interacciones físico-químicas con componentes de la matriz o entre ellos mismos. En este sentido, se ha demostrado que diferentes atributos del aroma se ven afectados significativamente por la concentración de proteínas, polisacáridos, alcohol o glicerol (Jones y col., 2008).

Del mismo modo, los compuestos aromáticos pueden interactuar entre sí a nivel perceptual, mostrando efectos aditivos, competitivos, destructivos o creativos (Ferreira, 2012; Jarauta y col., 2006). Existen efectos supresores, como ocurre con elevadas concentraciones de etanol (Escudero y col., 2007), de ácido acético (Campo y col., 2005; San-Juan y col., 2011) o de alcoholes superiores (Cameleyre y col., 2015; Ferreira y col., 2016). También existen efectos aditivos, como con el carácter floral de los terpenos (Marais, 1983), o con las lactonas alifáticas, cuyo umbral de olfacción de la mezcla es cuatro veces menor que el esperado de los umbrales individuales (Jarauta y col., 2006).

Así, no todos los compuestos imprimirán su carácter aromático al vino, sino que pueden afectar a otras notas sensoriales, que a priori por sus atributos no le corresponderían. Es el caso de los ácidos grasos, que no tienen aromas frutales, pero si pueden afectar a la percepción de estas notas aromáticas (Ferreira y col., 2016; San Juan y col., 2011). La química del aroma es muy compleja, no es tan simple como que al incrementar la concentración de un éster frutal aumentará el carácter afrutado de la mezcla (de-la-Fuente-Blanco y col., 2020), ya que parece que esa percepción es el resultado de una interacción compleja entre ésteres frutales, etanol, norisoprenoides, DMS y, probablemente, algunos otros volátiles del vino (Escudero y col., 2007; Segurel y col., 2004).

Con la maduración de la uva se han visto cambios notorios en la evolución de ciertos compuestos y familias de compuestos, como son el caso del acetaldehído que se estudiará

independientemente o los aldehídos de Strecker, que dominados por el metional y el fenilacetaldéhidó dotarán al vino de notas oxidativas (Culleré y col., 2007; Escudero y col., 2000). También se han observado variaciones notables al estudiar determinadas ratios de ciertos compuestos, que tienen conexiones metabólicas entre sí y forman parte del tampón aromático del vino.

En los trabajos previos, especialmente del Capítulo 6, se describió un descenso en los vinos, al aumentar la maduración de las uvas, en:

- La ratio ácido ramificado/alcohol ramificado (ácido isovalérico/alcohol isoamílico y ácido isobutírico/isobutanol)
- La ratio éster de ácido ramificado/ácido ramificado (isovalerato de etilo/ácido isovalérico y isobutirato de etilo/ácido isobutírico)
- La ratio éster de ácido ramificado/ alcohol ramificado (isobutirato de etilo/isobutanol e isovalerato de etilo/alcohol isoamílico)

Y un incremento con la maduración, en:

- La ratio éster de ácido lineal/ácido lineal (butirato de etilo/ácido butírico, especialmente).

Por lo tanto, sería muy interesante comprobar la importancia sensorial de estos resultados con una serie de vinos dopados con los vectores correspondientes. Una definición sensorial posterior de estos vinos nos podría indicar qué compuestos, o mezcla de compuestos, pueden estar influyendo en la apreciación de las notas inmaduras o maduras en un vino. O bien, si el efecto supresor del tampón del vino limita el efecto sensorial de estas variaciones (Ferreira y col., 2019).

El presente trabajo tiene como objetivo estudiar la aparición de cambios en el perfil aromático de vinos al modificar la composición química del tampón aromático, en función de los resultados encontrados en el estudio cuantitativo del aroma de vinos elaborados con uvas con distinto grado de madurez de la variedad Moristel.

2. Material y métodos

2.1. Reactivos

Se obtuvo agua pura de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, EE. UU.), mientras que los estándares reactivos y disolventes fueron suministrados por Merck (Darmstadt, Alemania), Sigma Aldrich (St. Louis, MO, EE. UU.), Fisher Scientific (Loughborough, Reino Unido), ChemService (West Chester, PA, EE. UU.), PolyScience (Niles, IL), Lancaster (Eastgate, Reino Unido), Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemania), Panreac (Barcelona, España), Firmenich (Ginebra, Suiza), AromaLab (Planegg, Alemania), Waters (Milford, MA, EE.UU.) y Oxford Chemicals (Hartlepool, Reino Unido).

2.2. Métodos

2.2.1. Preparación de los vinos

Todo el estudio se realizó sobre vino reconstituido con matriz no volátil de vino joven al que se le añadieron los compuestos del tampón aromático. Para ello se tomó un vino modelo, categorizado como Moristel óptimo por la bodega Pirineos y se sometió a un proceso de desalcoholización, liofilización y reconstitución. Se desalcoholizaron y congelaron varios volúmenes de 500 ml a -20°C para posteriormente liofilizarlos en un liofilizador LyoQuest85 (Telstar, Tarrasa, España) a -80°C y presión de 0,025 bar. El liofilizado resultante se reconstituyó en un volumen igual al volumen inicial, con un grado alcohólico de 12% (v/v), una composición aromática basal (mg L^{-1}) cuyas concentraciones se tomaron de trabajos anteriores (San Juan y col., 2012) y se muestra en la **Tabla 1**, más el dopaje pertinente en función del grado de madurez que se quería caracterizar que se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 1. Composición aromática añadida (microgramos por litro) sobre la base no volátil, para generar el vino base.

Compuestos	Concentración	Umbral de olfacción ^a
ácido acético	150000	300000[1]
acetato de etilo	50000	12300[2]
2,3-butanodiona (diacetilo)	400	100[1]
acetato de isoamilo	1000	30[1]
alcohol isoamílico	180000	30000[1]
β -feniletanol	30000	14000[3]
vanillato de etilo	250	990[4]
vanillina	70	995[5]
γ -nonalactona	20	25[6]
guaiaicol	10	9.5[3]
β -damascenona	4	0.05[1]
β -ionona	0.3	0.09[3]
linalool	7	25[3]
geraniol	13	20[5]
3(2H)-furanona (furaneol)	30	5[7]

^a La referencia en la que se ha calculado el valor umbral del olor se da entre paréntesis: [1] (Guth, 1997) calculado en una mezcla de agua / etanol al 10%; [2] (Escudero y col., 2004) en una solución de agua / etanol al 10% que contiene 5 g L^{-1} de ácido tartárico y pH 3,2; [3] (Ferreira y col., 2000) calculado en una mezcla de 11% de agua / etanol, pH = 3,4, 7 g L^{-1} de glicerol y 5 g L^{-1} de ácido tartárico; [4] (López y col., 2002) en un vino sintético que contiene 11% de etanol (v/v), pH = 3,4, 7 g L^{-1} de glicerol y 5 g L^{-1} de ácido tartárico; [5] (Escudero y col., 2007) calculado en una solución de agua / etanol al 10% que contiene 5 g L^{-1} de ácido tartárico y pH 3,2; [6] (Gemert, 2003) en agua y [7] (Ferreira y col., 2002) obtenido en un vino sintético que contiene 11% de etanol (v/v), pH = 3,4, 7 g L^{-1} de glicerol y 5 g L^{-1} de ácido tartárico.

A la hora de preparar las muestras se puso especial atención a la pureza de los patrones y se llevó a cabo la eliminación de posibles impurezas en algunos casos. Este tema es especialmente delicado en ciertos ésteres con sus ácidos (butirato de etilo, 3-metilbutirato de etilo o el

isobutirato de etilo) y alcoholes con sus aldehídos (β -feniletanol, alcohol isoamílico o el metionol). De esta forma, los estándares de alcoholes se aislaron y purificaron como se describe en la literatura (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016) y la purificación de los ésteres se realizó siguiendo el procedimiento descrito en trabajos anteriores (de-la-Fuente-Blanco y col., 2020).

Los compuestos y las concentraciones que conformaron los vectores que vamos a estudiar se muestran en la **Tabla 2**. Se trabajó con dos niveles de concentración uno que emulaba un vino elaborado a partir de uvas inmaduras y otro que representaba un vino elaborado con uvas con una maduración máxima (sobremaduración). Dichas concentraciones procedieron de las encontradas en vinos Moristel dependiendo del grado de maduración de las uvas de partida (Capítulo 6). No se incluyeron los alcoholes porque sus variaciones con la madurez no seguían un patrón tan claro como los compuestos finalmente seleccionados.

Tabla 2. Composición de los vinos elaborados a partir de uvas con distinta maduración utilizado en el estudio (microgramos por litro).

Compuestos	Umbral de olfacción ^a	Vino de uvas inmaduras	Vino de uvas maduras
Isobutirato de etilo	15 [1]	120	79.85
Isovalerato de etilo	3 [1]	53,98	11,13
Ácido isobutírico	50 [2]	2520	2030
Ácido isovaleriánico	33 [1]	3590	2140
Butirato de etilo	125 [3]	50	120
Octanoato de etilo	580 [4]	80	170
Ácido butírico	173 [5]	980	1130
Ácido octanoico	500 [1]	890	1320

^a La referencia en la que se ha calculado el valor umbral del olor se da entre paréntesis [1] (Ferreira y col., 2000) calculado en una mezcla de 11% de agua / etanol, pH = 3,4, 7 g L⁻¹ de glicerol y 5 g L⁻¹ de ácido tartárico; [2] (Gemert, 2003) en agua; [3] (San Juan y col., 2012) donde la matriz era una solución de agua / etanol al 10% que contenía 5 g L⁻¹ de ácido tartárico y pH 3.2; [4] (Etiévant, 1991) en 12% de agua / etanol; [5] (Escudero y col., 2007) calculado en una solución de agua / etanol al 10% que contiene 5 g L⁻¹ de ácido tartárico y pH 3,2.

2.2.2. Pruebas sensoriales

Para establecer si existían diferencias significativas entre las muestras se llevaron a cabo test triangulares que indicaban si estas concentraciones tenían efectos sensoriales y existían diferencias entre los vinos. El panel sensorial que realizó la evaluación sensorial estuvo compuesto por 16 sujetos (9 mujeres y 7 hombres, de 24 a 51 años de edad) pertenecientes al personal del laboratorio, todos ellos con una gran experiencia en pruebas sensoriales

Las muestras presentadas fueron el vino tinto con las concentraciones de compuestos encontradas en aquellos vinos elaborados con uvas inmaduras y otro vino con los niveles hallados en vinos hechos a partir de uvas más maduras. De esta forma, se presentaron tres copas a cada participante y se les pidió que seleccionaran la muestra diferente basándose exclusivamente en las propiedades del aroma orthonasal (Ver consignas en la **Figura A8.1** del

Anexo 8). En todas las pruebas, las muestras (18 mL, 20 ° C) se presentaron en orden aleatorio en copas de vino negras con forma de tulipa, codificadas y cubiertas con una placa de Petri.

El número de respuestas correctas se comparó con valores tabulados para evaluar la presencia de diferencias sensoriales significativas en las pruebas triangulares.

3. Resultados

El resultado de los test triangulares (10 aciertos y 22 fallos) muestra que no hay diferencias significativas en la percepción sensorial a nivel de aromas entre estos dos vinos ($p > 0,05$). En ambos casos se encontraron perfiles aromáticos vinosos, por lo que no tenía sentido llevar a cabo un estudio sensorial descriptivo de las muestras.

4. Conclusiones y propuestas para futuro

Las diferencias encontradas en las concentraciones de ácidos y ésteres en vinos elaborados con diferentes grados de madurez de uvas Moristel no suponen un cambio sensorial significativo por sí solos. Esto es, no son cambios suficientemente importantes como para superar el efecto tampón del vino, por lo que puede concluirse que, si ejercen influencia sensorial, es vía interacciones perceptuales, pero no de manera directa.

Sin embargo, no se puede descartar que estas dos matrices con diferente composición puedan amortiguar de forma distinta diferentes vectores aromáticos del vino. En futuras investigaciones se deberá probar si diferentes familias de aldehídos, como los de Strecker o aquellos que derivan de compuestos lipídicos, a concentraciones próximas al umbral imprimen notas aromáticas distintas sobre las dos bases de vino planteadas en este trabajo. De la misma forma también se podría evaluar otros compuestos a niveles subumbrales, como las metoxipirazinas que pueden ser clave a la hora de modular el carácter verde de los vinos.

5. Referencias

- Cameleyre, M., Lytra, G., Tempere, S., & Barbe, J.-C. (2015). Olfactory Impact of Higher Alcohols on Red Wine Fruity Ester Aroma Expression in Model Solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(44), 9777–9788. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03489>
- Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., & Cacho, J. (2005). Prediction of the wine sensory properties related to grape variety from dynamic-headspace gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5682–5690. <https://doi.org/10.1021/jf047870a>
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, 210, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., Valentin, D., & Ferreira, V. (2020). Fourteen ethyl esters of wine can be replaced by simpler ester vectors without compromising quality but at the expense of increasing aroma concentration. *Food Chemistry*, 307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125553>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the

- aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Escudero, A., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2000). Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4268–4272. <https://doi.org/10.1021/jf991177j>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Ferreira, V., de-la-Fuente-Blanco, A., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2019). Volatile aroma compounds and wine sensory attributes. In G. Reynolds (Ed.), *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality vol. 1* (p. 620). Elsevier.
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V. (2012). Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: a flavour chemistry view. Part 1: intensity and detectability. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(2), 124–140. <https://doi.org/10.1002/ffj.2090>
- Ferreira, V., Saenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Herrero, P., de-la-Fuente, A., & Fernández-Zurbano, P. (2016). Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances. *Food Chemistry*, 199, 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.048>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odor thresholds*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Guth, H. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3027–3032.
- Jarauta, I., Ferreira, V., & Cacho, J. (2006). Synergic, additive and antagonistic effects between odorants with similar odour properties. *Developments in Food Science*, 43. [https://doi.org/10.1016/S0167-4501\(06\)80049-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4501(06)80049-X)
- Jones, P. R., Gawel, R., Francis, I. L., & Waters, E. J. (2008). The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference*, 19(6), 596–607. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2008.03.005>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Marais, J. (1983). Terpenes in the aroma of grapes and wines: A Review. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 4(2), 49–58. <https://doi.org/10.21548/4-2-2370>
- San Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., & Escudero, A. (2011). Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7916–7924. <https://doi.org/10.1021/jf1048657>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Segurel, M. A., Razungles, A. J., Riou, C., Salles, M., & Baumes, R. L. (2004). Contribution of dimethyl sulfide to the aroma of Syrah and Grenache Noir wines and estimation of its potential in grapes of these varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23), 7084–7093. <https://doi.org/10.1021/jf049160a>

Chapter 11. Insights on the role of acetaldehyde and other aldehydes in the odour and tactile nasal perception of red wine

1. Introduction

Acetaldehyde is a basic compound in the composition of wine. It originates principally in the fermentation process being that it is an intermediate in the production of ethanol and glycerol. Nevertheless, it can also be formed during the oxidation of ethanol in the presence of a catalyser. These oxidation-reduction reactions can happen during the whole wine production process (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000). Numerous important factors condition the acetaldehyde concentration in wine; one of the most important of those factors is the management of sulphur; that is because sulphur dioxide (SO₂) quickly reacts with acetaldehyde in wine. Thus, controlling the quantity of sulphur dioxide is very important since it reacts with free acetaldehyde forming odourless hydroxy sulfonate (Liu & Pilone, 2000). However, the strain of yeast, the nutrition during the fermentation or grape variety also influence the levels of acetaldehyde in wine (Jackowetz *et al.*, 2011) and recent studies show that wines made from grapes harvested early facilitate the accumulation of acetaldehyde (Arias-Pérez *et al.*, 2020).

In the literature (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000) a range of acetaldehyde concentrations in wine can be found; concentrations range from 30 to 130 mg L⁻¹. This compound, in low levels can give the wine fruit notes, but at higher concentrations it is reminiscent of nuts (Waterhouse *et al.*, 2016), and at still higher levels produces a green, grassy or apple-like off-flavour (Liu & Pilone, 2000). At these concentrations, the classical wine aroma terminology includes the term “acetaldehyde” with the general descriptor “oxidised” (Noble *et al.*, 1987) or it is defined as the molecule responsible for the “flat character” in wine (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000). The levels of acetaldehyde can be higher in fortified wines such as Sherry from Jerez which have concentrations between 220 and 380 mg L⁻¹ and in some cases even up to 700 mg L⁻¹ in Jura wines (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000). These levels of acetaldehyde contribute a pungent quality which is characteristic of these wines; they are referred to with chemical descriptors such as varnish, nail polish and alcohol (Zea *et al.*, 2015). Other studies mention how acetaldehyde can produce distinct sensorial perceptions apart from olfactory ones, such as stinging or irritating sensations when the pure compound is smelled (Miyake & Shibamoto, 1993). Coughing and a burning sensation in the nose, throat, and eyes can also be caused by acetaldehyde (World Health Organization, 1994). In fact, studies with mice have demonstrated how this sensorial effect could be the result of the activation of nociceptors (Bang *et al.*, 2007). Other longer chain carbonylic compounds, such as aldehydes and ketones which are present in alcoholic beverages like distillates, also produce a stinging sensation which has been denominated as the “trigeminal burn” (Kokkinidou & Peterson, 2016). Even though the sensorial perception threshold has been

found to decrease exponentially with the chain length of the compound (Cometto-Muñiz & Cain, 1993), normal concentrations of acetaldehyde found in still wines have never been scientifically proven to cause these types of reactions. All of these trigeminal sensations belonging to chemesthesis modality was first defined in a study of irritation sensations produced by capsaicin (Green, 1990). However, this sensory modality includes a lot of perceptions such as warming, itching, stinging, and burning. These sensations can occur when pungent chemical compounds present in foods stimulate the free nerve endings of the trigeminal, glossopharyngeal and vagus nerves (Green, 2016). Several chemicals such as vanilloids, isothiocyanates, alcohols, aldehydes or acids have been typically described as “trigeminal irritants” (Doty, 1975; Green, 2016; Komatsu *et al.*, 2012). These compounds can interact with chemosensitive molecular receptors which are members of the family of thermosensitive transient receptor potential (TRP) ion channels (Alpizar *et al.*, 2016). Even though these receptors can be found in distinct parts of the body, studies focused on chemesthesis have centred principally on the nose and mouth cavities (Green, 2016) where the orthonasal perception is the most important (Cometto-Muñiz & Cain, 1993; Doty, 1975). Due to the significant chemical role acetaldehyde plays in wine together with the fact that some aldehydes in alcoholic beverages have been proven to trigger chemesthetic sensorial activity which can be detected in the orthonasal pathway, the first hypothesis of this research was formulated as follows. Acetaldehyde can induce an aromatic sensorial and chemesthetic effect in the nose when added to matrixes similar to wine.

The sensorial perception of wine is not simply the result of the sensorial activity of individual compounds, but the result of complex interactions between a great quantity of both volatile and non-volatile chemical compounds (Francis & Newton, 2005). Odour producing compounds can interact between themselves to produce additive or complementary effects which can become synergetic or antagonistic, enhancing or masking aromatic sensations (Francis & Newton, 2005) along with chemesthetic sensations (Cain & Murphy, 1980). The particular effect produced by acetaldehyde is highly dependent on the matrix in which it is found; this is due to the above stated and because it can react with many compounds of distinct nature, such as SO₂, polyphenols, and amino acids (Liu & Pilone, 2000; Miyake & Shibamoto, 1993; Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000). This reactivity is illustrated by the great variability of the sensory thresholds for acetaldehyde found in the literature with a range from 0.5 to 100 mg L⁻¹ (Guth, 1997; Waterhouse *et al.*, 2016). Thus, the second hypothesis of this research; other aldehydes or compounds present in the matrix can modulate the sensorial changes initiated by acetaldehyde. To test this hypothesis, distinct wine model contexts were selected. These model contexts contained distinct aromatic vectors with the capacity to generate sensorial interactions with acetaldehyde and suspected to elicit active chemesthesis. The selected aromatic vectors included carbonyl compounds which can influence chemesthetic perceptions (Doty, 1975; Kokkinidou &

Peterson, 2016), such as unsaturated aldehydes and saturated aldehydes, both of which are derivatives of the oxidation of fatty acids that are of sensorial relevance equally in their unsaturated (Alegre *et al.*, 2020) and saturated forms (Culleré *et al.*, 2004). The third aromatic vector, benzaldehyde normally does not reach the olfactory sensorial threshold but could have a synergetic effect noted in wine aroma (Gómez García-Carpintero *et al.*, 2012). The fourth aromatic vector included a higher alcohol, such as isoamyl alcohol being that it has been demonstrated to suppress fruit and wood characteristics or amplify animal or spirit-like notes (de-la-Fuente-Blanco *et al.*, 2016). The fifth vector included was alkylmethoxypyrazines represented principally by 3-isobutyl-2-methoxypyrazine (IBMP) and 3-isopropyl-2-methoxypyrazine (IPMP) which are active-compounds with strong green-pepper or earthy scents and their levels have been related to maturation problems in grapes. Even though acetaldehyde has been found to suppress the green pepper character generated by IPMP (Coetzee *et al.*, 2016), there are no studies with IBMP. The sixth and last aromatic vector selected was (Z)-1,5-octadien-3-one, a ketone related to strong metallic sensations or geranium leaf aromas which have been correlated with vineyard diseases (Pons *et al.*, 2018), yet that could play a relevant part in the perception of vegetal notes (Alegre *et al.*, 2020).

In this respect, the main objectives of this research were 1) to assess the sensory importance of acetaldehyde in wine aromatic and chemesthetic sensations in the nose and 2) to evaluate its potential sensory interaction with other groups of sensory-active volatile compounds (unsaturated-aldehydes, saturated-aldehydes, benzaldehyde, isoamyl alcohol, methoxypyrazines and (Z)-1,5-octadien-3-one).

2. Material and Methods

2.1. Reagents, materials, solvents and standards

Dichloromethane, ethanol, hexane, diethyl ether and methanol for gas chromatography analyses were supplied by Fisher Scientific (Loughborough, UK) and Merck (Darmstadt, Germany). LiChrolut EN resins were supplied by Merck (Darmstadt, Germany). Pure water was obtained from a Milli-Q purification system (Millipore, USA). Semi-automated solid-phase extraction was carried out with a Vac Elut 20 station from Varian (Walnut Creek, USA). SPME fibers, polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB) 65 μm film thickness, were purchased from Supelco-Spain (Madrid, Spain). Standards and reagents were supplied by Merck (Darmstadt, Germany), Sigma Aldrich (St. Louis, MO, USA), ChemService (West Chester, PA, USA), PolyScience (Niles, IL), Lancaster (Eastgate, UK), Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany), Panreac (Barcelona, Spain), Firmenich (Geneva, Switzerland), AromaLab (Planegg, Germany), Toronto Research Chemical (Toronto, Canada), Waters (Milford, MA, USA) and Oxford Chemicals (Hartlepool, UK), as indicated in **Table A9.1** of Annex 9.

2.2. Preparation of wine models

2.2.1. Isolation and purification of compounds

Isoamyl alcohol and β -phenylethanol standards were isolated and purified as described in the literature (de-la-Fuente-Blanco *et al.*, 2016) and the purification of esters was carried out following the procedure described in a previous publication (de-la-Fuente-Blanco *et al.*, 2020).

2.2.2. Wine model (WM) preparation

Two WMs, differing in non-volatile fractions, were used. The first one was a reconstituted lyophilised wine (RLW) generated to mimic a young red wine. The RLW was prepared by mixing a pool of volatile and non-volatile compounds of red wines. Non-volatile fraction was obtained by the lyophilisation of a dearomatised red wine. Therefore, a neutral (in terms of aroma and in-mouth properties) commercial young red wine made from Tempranillo (Valdepeñas region, Spain) of 2018 vintage was used (ethanol=12.32% (v/v), pH=3.5, total polyphenol index (TPI) measured as absorbance at 280 nm=46.51 a.u., reducing sugars=2.3 g L⁻¹, total acidity (TA)=5.02 g L⁻¹ expressed in tartaric acid, volatile acidity (VA)=0.30g L⁻¹ and malic acid=0.2 g L⁻¹). To begin, several 500-mL-flasks containing 200 mL of wine were firstly dealcoholized by evaporation under vacuum (8 mbar, 28 °C, 30 min) with a rotary evaporator (KNF, Freiburg, Germany) and then they were freeze-dried (LyoQuest85, Telstar, Tarrasa, Spain) at -80 °C and 0.025 bar pressure. The resulting residue was stored at 5 °C until sensory analysis. Proportionate amounts of the non-volatile residue were redissolved in a hydroalcoholic solution based on MilliQ water to obtain samples with similar concentration of the non-volatile fraction as the original wine. The concentration of volatile compounds (**Table 1**) corresponds to the average concentration of aroma compounds found in a previous work. Single ethanol solutions of these compounds were mixed in a concentrate ethanol solution pool, which was later added to the different wines to achieve the target concentrations. Final ethanol concentration was adjusted to 12% (v/v) and pH to 3.5 was checked. The second WM was a synthetic wine (SW) which was prepared with ultrapure water, 5 g L⁻¹ of tartaric acid, 12% ethanol (v/v), 10 g L⁻¹ glycerol, 1.5% 1,2-propanediol with a pH of 3.5 adjusted with NaOH and the same pool of volatile compounds as for RLW (**Table 1**).

The two base wines (RLW and SW) were further spiked with one of the aroma vectors to generate 7 different contexts: control (CT), unsaturated aldehydes (UA), saturated aldehydes (SA), benzaldehyde (B), isoamyl alcohol (IA), methoxypyrazines (MPz) and (Z)-1,5-octadien-3-one (ZO). The effect of acetaldehyde on each of these 7 contexts was studied by adding different levels of acetaldehyde to the two WMs studied.

The concentrations of the volatile compounds in different contexts are shown in **Table 1**. They correspond to concentrations of aromatic compounds found in red wines (for more detailed information regarding samples concentration see **Table A9.1** of Annex 9).

Table 1. Aroma contexts and composition of wine models used in the study (micrograms per litre).

	Compounds	Concentration	Odour threshold ^a
Pool of compounds conforming the common aroma base	acetic acid	150000	300000[1]
	ethyl acetate	50000	12300[2]
	diacetyl	400	100[1]
	isoamyl acetate	1000	30[1]
	isoamyl alcohol	180000	30000[1]
	β -phenylethanol	30000	14000[3]
	ethyl vanillate	250	990[4]
	vanillin	70	995[2]
	γ -nonalactone	20	25[5]
	guaiacol	10	9.5[3]
	β -damascenone	4	0.05[1]
	β -ionone	0.3	0.09[3]
	linalool	7	25[3]
	geraniol	13	20[2]
	3(2H)-furanone (furanol)	30	5[4]
	hexanoic acid	2000	420[3]
	isovaleric acid	300	33[3]
	ethyl hexanoate	1000	62[2]
ethyl 2-methylbutyrate	120	18[3]	
ethyl cinnamate	0.43	1.1[3]	
Saturated aldehydes context	hexanal	30	4.5[5]
	heptanal	5	15-3[5]
	octanal	25	15[2]
	nonanal	5	15[2]
	decanal	5	10[2]
Unsaturated aldehydes context	(<i>E/Z</i>)-2,6-nonadienal	0.05	0.01[5]
	(<i>E/E</i>)-2,4-decadienal	0.05	0.07[5]
	(<i>E</i>)-2-hexenal	5	4[2]
	(<i>E</i>)-2-heptenal	5	4.6[2]
	(<i>E</i>)-2-octenal	5	3[2]
	(<i>E</i>)-2-nonenal	0.2	0.6[2]
	(<i>E</i>)-2-decenal	0.5	0.3[5]
(<i>E</i>)-2-undecenal	5	n.a. ^b	
Benzaldehyde context	benzaldehyde	150	2000[6]
Isoamyl alcohol context	isoamyl alcohol	500000	30000[1]
Methoxypyrazine context	2-isopropyl-3-methoxypyrazine	0.0037	0.001[7]
	2-isobutyl-3-methoxypyrazine	0.012	0.015[7]
(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-one context	(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-one	0.005	0.0012[8]
Acetaldehyde	acetaldehyde	0-100000	500 [1]

^aReference in which the odour threshold value has been calculated is given in **Table A9.1** of Annex 9. The matrix in which the odour threshold value has been calculated is given in brackets: In [1], threshold was calculated in a 10% water/ethanol mixture; in [2] the matrix was a 10% water/ethanol solution containing 5 g/L tartaric acid and pH 3.2; in [3] the mixture was 11% water/ethanol, pH=3.4, 7 g/L glycerol and 5 g/L tartaric acid; in [4] the matrix was a synthetic wine containing 11% ethanol (v/v), pH=3.4, 7 g/L glycerol and 5 g/L tartaric acid; in [5] the thresholds were calculated in water; in [6] threshold was calculated in a 10% water/ethanol mixture adjusted to pH 3.5 with tartaric acid; in [7] the thresholds were calculated in red wine; and [8] the matrix was a synthetic wine. ^b Threshold is not available.

Preliminary bench top tastings were carried out with the aim of selecting concentrations of volatile compounds which provided distinct sensory properties for WMs.

All contexts were studied in both WM. Six acetaldehyde concentrations were spiked in the seven series/contexts prepared with RLW (0, 5, 10, 20, 50 and 100 mg L⁻¹), and two were evaluated in SW, corresponding to the lowest (0 mg L⁻¹) and highest levels of free acetaldehyde found in RLW matrix (approximately 50 mg L⁻¹). The highest and lowest concentrations were added to SW to verify that the results obtained in the RLW matrix were due to the acetaldehyde and other compounds present in the lyophilised wine matrix.

RLW samples were prepared 8 hours before the sensory analysis, in order to allow free acetaldehyde to reach equilibrium, while SWs were prepared ten minutes before each session. The selection of the preparation protocol of the samples was based on a study evaluating the time needed for the free acetaldehyde concentration to reach equilibrium in the headspace. Therefore, free acetaldehyde was measured at consecutive time points in the two matrices. The RLW was spiked with 25 mg L⁻¹ of acetaldehyde in a closed flask at room temperature. The free acetaldehyde was measured at 0, 3, 8, 24, 47 and 72 hours. An acetaldehyde concentration of 50 mg L⁻¹ was added to the SW. The free acetaldehyde was measured at 0, 0.5, 1 and 2 hours. The analysis method employed is described in section 2.5.2.

2.3. Sensory analysis

2.3.1. Participants

Eight laboratory staff participants, experienced in wine aroma description, carried out the sensory tasks. These participants (5 men and 3 women, ranging in age from 22 to 51, $\bar{x} = 34$ years old) were selected from a panel of 12 trained panellists that had previously participated in an independent project focused on conventional descriptive analysis. These eight participants presented the best performance in terms of repeatability, reproducibility and consistency of the panel. They were not informed about the aim of the study.

2.3.2. Generation of sensory descriptors and panel training

Participants attended a total of 20 training sessions held on distinct days throughout a four-week period. The training sessions consisted of three main steps: 1) general training, 2) generation of sensory descriptors, and 3) specific training.

General training consisted of six, 15-min, sessions to familiarise participants with overall aroma and chemesthetic sensations present in red wines. The participants were provided 45 reference standards prepared at LA AE (*Laboratorio de Análisis del Aroma y Enología*). Reference standards belonged to a wide range of aroma and chemesthetic categories including: fruit (dried, black, red, tropical, citrus, white, yellow or candied), vegetal (green and cooked vegetables, herbs, fresh and dried grass), floral, spicy, roasted, woody, animal, undergrowth, along with

chemesthetic sensations (burning, freshness and itching) and others. Participants were qualified when they were able to correctly identify at least 80% of the reference standards presented.

The second step was devoted to generating distinct aroma descriptors among the samples. It consisted of seven sessions, one for each of the contexts studied. Therefore, participants were presented simultaneously with the six wines belonging to each context (differing exclusively in acetaldehyde levels) and were asked to cite the aroma and/or chemesthetic descriptors that differed among the samples. They were provided with a list of 121 aroma and chemesthetic descriptors compiled from other projects (Green & Shaffer, 1993; Noble *et al.*, 1987) as an aid for descriptor generation (**Figure A9.2** of Annex 9). The participants cited a maximum of five descriptors from the list or their own experience. The descriptors generated by the panel were grouped according to semantic similarities by three experienced researchers using a triangulation task (Abric, 2005). Descriptors cited by at least 2 participants were considered in the analysis. The final list of descriptors for each context (between 6 and 8 per context), along with the reference standards used to train the panel in the specific training sessions are detailed in **Table 2**.

The third part consisted of seven specific 90-min training sessions, one for each context, held in different days. These specific training sessions were carried out the same day as sessions devoted to describe the wine models object of study (section 2.3.3). They aimed to train participants in the specific descriptors (**Table 2**) selected in the previous step and to familiarise them with the type of matrix to be evaluated in the study. Therefore, each session consisted of two parts, in the first one the panellists were presented with reference standards illustrating the specific aroma and chemesthetic descriptors selected for each context. Participants should be able to identify all of them correctly to qualify. In the second part, they were taught and trained in the use of the 10 cm-structured scale (labelled in the extremes with 0 = "absence" and 10 = "very intense"). For this, four commercial wines with characteristic aroma and chemesthetic descriptors similar to those of the final study were used to familiarise panellist with the sensory space of each wine context (See instructions in the **Figure A9.3** of Annex 9). Participants had to describe wine samples in duplicate by rating the intensity of all the descriptors selected for each of the seven specific contexts (between 6 and 8 descriptors: **Table 2**) using the scale described. After the description the results were discussed until achieving consensus.

2.3.3. Evaluation of sample sets

A total of 21 sessions were carried out to describe the samples. Fourteen sessions were devoted to evaluating the series of seven contexts in duplicate prepared in RLW. They were held in seven different days, one for each context, with two sessions per day separated at least 2 hours.

In the same day, duplicated sessions were carried out in order to evaluate repeatability. In each session six wine models were presented (differing exclusively in acetaldehyde concentration). In

the other seven sessions the samples in synthetic wine (SW) were evaluated. Each session was devoted to one of the seven contexts. In each session, two SW (non-spiked and spiked with 50 mg L⁻¹ of acetaldehyde) were presented in duplicate.

Table 2. List of evaluated and specific descriptors for each context with the reference standards used to train the panel. Context 1: control; context 2: unsaturated aldehydes; context 3: saturated aldehydes; context 4: benzaldehyde; context 5: isoamyl alcohol; context 6: methoxypyrazines and context 7: (Z)-1,5-octadien-3-one. The reference standards were prepared in a 10 % water/ethanol mixture and contained in a glass amber flask of 60 ml.

Evaluated descriptors	Specific descriptors	Reference standards, quantity or concentration	Context
AROMA DESCRIPTORS			
Alcoholic	alcoholic	† absolute ethanol diluted ½	1, 3 and 6
Animal	leather	N° 36 Genuine wine aroma collection (LAAE. Unizar, Spain)	3, 4 and 5
	sweat	4-methyl-4-mercapto-2-pentanone, 10 ng/L	
	meat fumet	† half cube in water	
Cooked vegetables	cauliflower	ethanethiol, 20 µg/L	1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7
	olives	† olive juice	
	asparagus	† juice of asparagus in conserve	
Dried fruit	dried fruit	N° 18 Genuine wine aroma collection (LAAE. Unizar, Spain)	1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7
Geranium	geranium leaves	(Z)-1,5-octadien-3-one 20 ng/L	7
Green vegetables	green pepper	N° 20 Aromabar of Wine Scents (Germany)	1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7
	fresh grass	(Z)-3-hexen-1-ol 4 mg/L	
Humidity	humid cloth	† one piece	2, 4 and 7
Red Fruit	strawberry	N° 14 Genuine wine aroma collection (LAAE. Unizar, Spain)	1, 4 and 7
	raspberry	N° 16 Aromabar of Wine Scents (Germany)	
Solvent	solvent	50% ethanol and 50% 2-propanol	5 and 7
Undergrowth	mushroom	N° 34 Genuine wine aroma collection (LAAE. Unizar, Spain)	3 and 6
Woody-toasted	toffee caramel	N° 29 Genuine wine aroma collection (LAAE. Unizar, Spain)	5
CHEMESTHESIC DESCRIPTORS			
Burning	burning	† ethanol	4, 5 and 7
Freshness	freshness	† 3% carvone + menthol	1, 2 and 3
Itching	itching	† 30 cracked black pepper grains and 20 clove grains in water	1, 2, 3, 5 and 6

In each session, participants were asked to carry out an orthonasal evaluation and rate the intensity of aroma and chemesthetic descriptors on a 10-cm structured scale (anchored at each end with the labels “absence” and “very intense”) (See instructions in the **Figure A9.4** of Annex 9). To avoid bias due to order of presentation, the descriptors appeared on the list in a distinct, randomised order for each panellist. Smelling water during 30 seconds, taking a sip of water and then smelling water again for 30 seconds between each sample was imposed in order to avoid fatigue of the panellists.

Eight-mL samples ($20 \pm 1^\circ\text{C}$) were served in dark ISO-approved wine glasses covered with plastic Petri dishes. The samples were labelled with three-digit random codes and arranged in a distinct random order for each participant. Sample wines were served 5 min before the beginning of the sensory task and evaluated in a ventilated, air-conditioned, tasting room under ambient light in individual booths.

2.3.4. Data analysis

Panel performance: For each of the 7 wine contexts and for each attribute, intensity scores of duplicated wines were submitted to three-way analysis of variance (ANOVA) involving samples (S), judge (J) and replicate (R) as fixed factors and all first-order interactions were calculated. None of the S*J, J*R or S*R effects were significant ($p < 0.1$ in all cases) and thus panel repeatability (measured by J*R and S*R) and consistency (S*J) could be confirmed.

Wine description: For each context (control, unsaturated aldehydes, saturated aldehydes, benzaldehyde, isoamyl alcohol, methoxypyrazines and (*Z*)-1,5-octadien-3-one) and wine matrix (RLW and SW) a two-way ANOVA (panellists as random and acetaldehyde level as fixed factors) was calculated with the scores of aroma and chemesthetic descriptors. Then, for significant effects pair-wise comparison test (Fisher test) was applied (5% risk). All statistical analyses were performed using XLSTAT (2018).

Correlation studies and Student's t-test were carried out with Excel 2016 (Microsoft, Washington, USA). Two correlation studies were carried out. In the first one, quantitative data of aldehydes and the mean scores of sensory descriptors were correlated. In the second study correlations between sensory descriptors were calculated.

2.4. Chemical analysis

2.4.1. Oenological parameters

Ethanol content (% v/v), pH, total acidity (TA), volatile acidity (VA), total polyphenol index (TPI), free and total sulphur dioxide, reducing sugars, and malic acid concentrations were determined according the methodology stipulated by Office International de la Vigne et du Vin (OIV, 2018).

2.4.2. Quantitative Analysis of free acetaldehyde

Free acetaldehyde was determined by headspace gas chromatography mass spectrometry (HS-GC-MS) using a variation of the method described in the literature (Carrascón *et al.*, 2017). GC-MS analysis was carried out on a GC Varian CP-3800 equipped with a Saturn 2000 mass spectrometer with a VF-35 (20 m × 0.15 mm i.d. × 0.15 µm) capillary column from J&W Scientific (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). For the analysis, 5 mL of each sample were transferred into a 10 mL headspace vial, after which were spiked with 20 µL of methyl 2-methylbutyrate (1100 mg L⁻¹ in ethanol) as an internal standard. Vials were then closed and incubated at 40 °C for 5 min. After this, 100 µL of the headspace were injected in a PTV injector, working in split mode (1:50 split ratio) at 200 °C with a pulse of pressure of 310 kPa. A Combi-PAL autosampler with a static headspace unit from CTC Analytics (Zwingen, Switzerland) was employed. The one mL gas-tight syringe was heated 10 °C above incubation temperature. After the injection the hot syringe was cleaned by purging with pure nitrogen for 5 min. The temperature program for the method started at 35 °C for 4 min and then raised to 50 °C min⁻¹ then to 220 °C for 5 min. Helium at 55.7 cm s⁻¹ was carrier gas employed. The mass spectrometer acquisition was performed in SCAN mode from 40 to 110 m/z. The m/z used for quantification were 43+44 for acetaldehyde and 88 for internal standard (methyl 2-methylbutyrate).

External calibration curves in model wine (5 g L⁻¹ tartaric acid, 12% ethanol, 1.5% propane-1,2-diol, 10 g L⁻¹ glycerine, pH 3.5) containing known amounts of acetaldehyde were prepared.

2.4.3. Quantitative Analysis of Strecker aldehydes

The determination of free and bound forms of Strecker aldehydes in wine are described in the method proposed by Bueno *et al.* (2014). Wines were spiked with internal and surrogate standards and let to equilibrate for at least 12 h in an oxygen-free chamber. Aldehydes in the headspace were preconcentrated on a PDMS/DVB fibre and were further analysed on a GC-MS equipped with a quadrupole in SIM mode.

3. Results and Discussion

3.1. Quantitative chemical study of free acetaldehyde levels

Due to the high volatility and reactivity of acetaldehyde (Liu & Pilone, 2000), the concentration of free acetaldehyde in the headspace during the sensorial analysis was analytically controlled. Equilibration experiments were carried out in samples of both wine models. The samples of RLW models (12% (v/v) of ethanol, 3.5 of pH, contained 12 mg L⁻¹ of free SO₂ and 42 mg L⁻¹ of total SO₂ and other different components of the lyophilised wine) were spiked with 25 mg L⁻¹ of total acetaldehyde. Results (expressed as average ± standard deviation) revealed that acetaldehyde levels in the headspace decreased dramatically. Immediately after the addition,

measured levels of free acetaldehyde in the headspace were only $18.44 \pm 1.26 \text{ mg L}^{-1}$. Three hours later, levels had fallen to $11.35 \pm 0.25 \text{ mg L}^{-1}$ and after 8 hours, levels had reached a plateau at $8.61 \pm 0.12 \text{ mg L}^{-1}$, remaining fairly constant for at least the following 16 hours (levels at $9.25 \pm 0.01 \text{ mg L}^{-1}$ 24 hours after the addition). Afterwards, levels begin to increase, so that after 72 hours the concentration of free acetaldehyde had increased to $16.41 \pm 0.08 \text{ mg L}^{-1}$. Since the non-volatile fraction used to prepare the RLW model contained free and total SO_2 , it can be thought that the initial decrease is due to the combination of acetaldehyde with polyphenols to form weak adducts and also to the formation of additional adducts with SO_2 . This underlines that monitoring these compounds is very important in aldehyde trials, because free aldehydes are the ones that will really have a sensory impact. If we focus on total aldehydes, we could be underestimating their sensory perception. The ulterior increase should be most likely attributed to the cleavage of the previously formed acetaldehyde-bisulphite adducts. The cleavage would be the indirect consequence of the oxidation and evaporation of free SO_2 and maybe also to the oxidation of ethanol (De Azevedo *et al.*, 2007; Liu & Pilone, 2000). In accordance with this result, samples for the present study were prepared at least 8 hours in advance to the beginning of the sensory analysis to ensure that the level of sensory-active acetaldehyde (i.e., free acetaldehyde) reaches the equilibrium.

The samples used in the experiment were therefore prepared by spiking reconstituted lyophilised wine (RLW) with 0, 5, 10, 20, 50 and 100 mg L^{-1} of acetaldehyde and letting them to equilibrate for 8 hours. After this time, the headspaces of the samples contained $0.00 \pm 0.14 \text{ mg L}^{-1}$, $0.18 \pm 0.09 \text{ mg L}^{-1}$, $0.71 \pm 0.18 \text{ mg L}^{-1}$, $2.74 \pm 1.15 \text{ mg L}^{-1}$, $17.5 \pm 2.9 \text{ mg L}^{-1}$ and $56.2 \pm 2.4 \text{ mg L}^{-1}$ of free acetaldehyde respectively, levels which remained stable during the remaining four hours in which the sensory analyses took place. In the experiments, synthetic wine matrix (SW) was also used. In this matrix, there is no need for equilibrating because it is simpler and it does not contain polyphenols or SO_2 , but the evaporation of acetaldehyde causes an inevitably and steady drop in its concentration. A synthetic wine (SW) was spiked with 50 mg L^{-1} and the free acetaldehyde levels dropped steadily from initial measured values of 47.05 mg L^{-1} to 45.28 mg L^{-1} , after 0.5 h; 44.08 mg L^{-1} , after 1 h, and 41.49 mg L^{-1} after 2 hours. Only two different levels of acetaldehyde were used in this matrix, 0 and 56.2 mg L^{-1} , matching the minima and maxima concentrations of the other experiment. Experimentally, it could be determined that levels contained in the 0 mg L^{-1} SW samples were below $0.34 \pm 0.04 \text{ mg L}^{-1}$ and that those contained in the 56.2 mg L^{-1} SW were above $48.67 \pm 0.07 \text{ mg L}^{-1}$ during the sensory experiments.

3.2. The different aromatic contexts: influence of selected aroma chemicals on sensory profiles

In addition to a control aromatic context, which fits the aroma profile of a neutral young red wine, 6 additional aromatic contexts were prepared by adding to the basic aroma composition (that of the control), one or several aroma chemicals with suspected chemesthetic action or with aroma properties. The compositions of the 6 aromatic contexts are given in **Table 1**. The first context included the five major saturated aldehydes (C6-C10), which were spiked at levels potentially found in wine. Only two of them, hexanal and octanal, were above odour detection threshold levels. The second context was formed by a complex mixture of 8 unsaturated aldehydes, common components of grapes and many other vegetables. In this case, (*E,Z*)-2,6-nonadienal was clearly above threshold, but most of the others were at levels slightly above or below the corresponding thresholds. The third context contained benzaldehyde, a single aroma chemical at levels well below threshold. This is a common constituent of the grape aroma precursor fraction, but its concentration is always under-threshold levels. The fourth context contained isoamyl alcohol, a common wine aroma constituent, which levels contained in this context go to the upper limit at which this compound can be found in wines. The fifth level was formed by two methoxypyrazines, one of them at levels above threshold and the other at levels slightly below threshold. Finally, the last aroma contest contained (*Z*)-1,5-octadien-3-one at levels just four times above threshold.

The sensory work carried out in the present study specifically aimed at understanding the effects of acetaldehyde and its interaction within the different aromatic contexts on the sensory properties of wine models. Notwithstanding, it is also possible to derive some observations about the sensory differences on the basic aroma profile introduced by the different aromatic contexts. A summary of the descriptors and scores of the seven contexts is given in **Table 3**.

The last rows in the table are just numerals counting 1) the number of descriptors used by the sensory panel in each context (total), 2) the number of descriptors used in the control not present in the other contexts (lack), 3) the number of additional descriptors used to describe the contexts (additional), and 4) the number of descriptors differing from the control (difference). As can be seen, the two aromatic contexts introducing maxima differences with respect to the control (7 different descriptors) are those containing isoamyl alcohol and (*Z*)-1,5-octadien-3-one, closely followed by that containing benzaldehyde (6 different descriptors). The strong effects played by isoamyl alcohol have been previously described (de-la-Fuente-Blanco *et al.*, 2016) and were expected, but the powerful effects apparently played by just 5 ng L⁻¹ of (*Z*)-1,5-octadien-3-one or, more strikingly, by levels below 10% of the threshold of benzaldehyde, are very remarkable and warrant further research. The (*Z*)-1,5-octadien-3-one is a strongly odorant compound, with geranium odour (Pons *et al.*, 2018), that plays a role in the perception of vegetal notes and it can be involved in syrup and alcoholic character (Alegre *et al.*, 2020). Although benzaldehyde does

not exceed the olfaction threshold in wines, its sensory effect was proved to be related to chemesthetic perceptions (Doty, 1975; Kokkinidou & Peterson, 2016) and some studies suggest the possibility of a synergistic effect of this compound on the fruity and floral aroma notes of wine (Gómez García-Carpintero *et al.*, 2012). It is also noticeable that the three contexts include relatively high scores of the chemesthetic attribute “burning”, which seems to replace the chemesthetic attribute “itching”, present in the control, in the cases of benzaldehyde and (*Z*)-1,5-octadien-3-one and reinforced in the case of isoamyl alcohol context. The differences between these two chemesthetic perceptions are defined by Green and Shaffer (1993); “itching” was described as “*the sensation associated with the desire to scratch*”, while “burning” as “*the sensation produced by extreme temperatures or chemical irritants, which may or may not be associated with a thermal sensation*”.

Table 3. Descriptors and scores of the seven aromatic contexts built on reconstituted red wine (RLW) containing no acetaldehyde. Data are mean scores with the standard error of the mean (calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists). No statistical tests were performed between contexts since scores are not directly comparable because of the nature of the sensory work carried out.

	Control	Unsaturated aldehydes	Saturated aldehydes	Benzaldehyde	Isoamyl alcohol	Methoxy pirazines	(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-one
Red fruit	4.73 ± 0.60	-	-	6.55 ± 0.83	-	-	3.55 ± 0.58
Freshness	2.66 ± 0.56	2.95 ± 0.47	2.52 ± 0.85	-	-	-	-
Cooked vegetables	4.26 ± 0.82	2.87 ± 0.65	2.75 ± 0.58	2.42 ± 0.80	3.08 ± 0.75	2.44 ± 0.80	3.88 ± 0.93
Itching	4.03 ± 0.86	3.58 ± 0.85	4.72 ± 0.67	-	3.68 ± 0.79	5.23 ± 0.91	-
Green vegetables	2.30 ± 0.99	2.63 ± 0.72	2.83 ± 0.67	2.40 ± 0.64	1.94 ± 0.53	5.95 ± 0.82	2.55 ± 0.85
Dried Fruit	4.53 ± 0.86	3.60 ± 0.82	4.31 ± 0.89	4.74 ± 0.81	3.24 ± 0.59	3.52 ± 0.68	3.61 ± 0.54
Alcoholic	4.63 ± 0.79	-	5.14 ± 0.67	-	-	4.26 ± 0.82	-
Humidity	-	3.80 ± 0.70	-	2.76 ± 0.82	-	-	3.54 ± 0.98
Undergrowth	-	-	2.88 ± 0.87	-	-	3.85 ± 0.83	-
Burning	-	-	-	5.31 ± 0.92	5.01 ± 0.78	-	5.86 ± 0.93
Animal	-	-	1.96 ± 0.56	2.04 ± 0.77	1.54 ± 0.42	-	-
Solvent	-	-	-	-	4.41 ± 0.56	-	2.91 ± 0.56
Wood	-	-	-	-	3.32 ± 0.63	-	-
Geranium	-	-	-	-	-	-	3.08 ± 0.87
TOTAL ^a	7	6	8	7	8	6	8
Lack ^a		2	1	3	3	3	3
Additional ^a		1	2	3	4	1	4
Difference ^a (lack+additional)		3	3	6	7	4	7

^aThe last rows in the table are just numerals counting: Total: the number of descriptors used by the sensory panel in each context. Lack: the number of descriptors used in the control not present in the other contexts. Additional: the number of additional descriptors used to describe the contexts. Difference: the number of descriptors differing from the control (lack+additional).

The three contexts also lack the attribute “freshness” present in the control. Apart from this, the context containing isoamyl alcohol is specifically different because of its “solvent” notes, and the (*Z*)-1,5-octadien-3-one context due to its “humidity” and “geranium” odour notes.

Differently, benzaldehyde context does not contain specifically different descriptors with high intensity, but presents the maxima scores in “red fruit”. The fourth most different context seems to be that containing low levels of the two methoxypyrazines (with 4 different descriptors from control), displaying, not surprisingly, maxima scores in “green vegetables” note, in the “itching” descriptor and having a noticeable “undergrowth” odour note. The two last aromatic contexts showed only three descriptors different from the control. The unsaturated aldehydes just seem to introduce some “humidity” notes, while saturated aldehydes a relatively low “undergrowth” and “animal” odour notes.

Results therefore suggest that some of the contexts were effectively introducing remarkable differences on the sensory nuances, particularly on the chemesthetic notes of the basic red wine aroma profile. This implies that common concentrations of these compounds in wine may be responsible for chemoesthetic and non-aromatic sensations as often described for industry and consumers.

3.3. Influence of acetaldehyde concentration on the sensorial descriptors

As can be seen in **Table 2** (the complete data set in **Table A9.5** of Annex 9), fourteen different descriptors were quantified in the experiment. Only the terms “cooked vegetables”, “dried fruit” and “green vegetables” differed among wine samples with different acetaldehyde levels regardless the context and the term “itching” varied in five out of the seven contexts. Then, six descriptors appeared to vary depending on the level of acetaldehyde in three contexts (“red fruit”, “freshness”, “alcohol”, “humidity”, “burning” and “animal”), the descriptors “undergrowth” and “solvent” only in two, and the “geranium” note, only in one. The results of the ANOVA study (detailed together with measurements of intensity in **Table A9.5** of Annex 9) make it possible to state that acetaldehyde levels exert deep (and complex) effects on the sensory profiles, significantly affecting to nearly all sensory descriptors. In fact, only the descriptors “alcohol”, “animal” and “solvent” were not significantly affected by addition of acetaldehyde in RLW matrix. Some effects were rather general, but some other were dose- and/or context-dependent. Effects will be split into two main categories attending to the amount of acetaldehyde in the headspace: low (below 1 mg L⁻¹ or sub ppm levels) or high (above 1 mg L⁻¹). These levels of acetaldehyde would correspond to wines with different levels of oxidation.

3.3.1. Effects of low levels of acetaldehyde

The presence of low levels of acetaldehyde (below 1 mg L⁻¹) in the headspace of the wine-like samples significantly affects to 6 different aromatic notes in 4 (out of the 7) aromatic contexts. On the basis of results summarised in the **Table 4**, the addition of very low levels of acetaldehyde exerts a major effect on the “red fruit” note, inducing strong changes in the scores

measured in two of the three aroma contexts in which it was measured (benzaldehyde and (Z)-1,5-octadien-3-one), and close to significance changes in the third (control).

Table 4. Summary of the main significant changes introduced by the presence of sub-ppm levels of acetaldehyde in the headspace of wine models containing different aromatic contexts (control-CT, benzaldehyde-B, methoxypyrazines-MPs and (Z)-1,5-octadien-3-one context -ZO) expressed as the average \pm standard error (calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists).

Attribute	Context	Free acetaldehyde concentration		
		0.00 ppm	0.18 ppm	0.71 ppm
Red fruit	CT	4.73 \pm 0.60 ab	6.05 \pm 0.89 a	5.81 \pm 0.63 a
	ZO	3.55 \pm 0.58 bc	2.94 \pm 0.71 c	4.33 \pm 0.89 ab
	B	6.55 \pm 0.83 a	5.43 \pm 0.77 ab	4.49 \pm 0.76 bc
Freshness	CT	2.66 \pm 0.56 c	4.84 \pm 0.78 a	4.73 \pm 0.51 a
Humidity	ZO	3.54 \pm 0.99 a	2.00 \pm 0.59 b	1.49 \pm 0.44 b
Geranium	ZO	3.08 \pm 0.88 a	3.11 \pm 0.80 a	1.61 \pm 0.46 b
Green vegetables	MPs	5.95 \pm 0.82 a	6.03 \pm 0.97 a	3.66 \pm 0.81 b
Undergrowth	MPs	3.85 \pm 0.84 a	3.22 \pm 0.65 ab	2.04 \pm 0.60 bc

Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$ according to pairwise Fisher test) among the six concentrations of free acetaldehyde (0.00 mg L⁻¹, 0.18 mg L⁻¹, 0.71 mg L⁻¹, 2.74 mg L⁻¹, 17.5 mg L⁻¹ and 56.2 mg L⁻¹ of free acetaldehyde).

Changes are, at first sight, apparently contradictory but they may be congruent. In the control there is a close to significance increase in the score of “red fruit”. At higher levels of addition of acetaldehyde (**Table A9.5** Annex 9) the scores show a consistently and significantly decrease (see **Figure 1**), suggesting that little amounts of acetaldehyde are beneficial for the sensory note, but higher levels are not (Coetzee *et al.*, 2016).

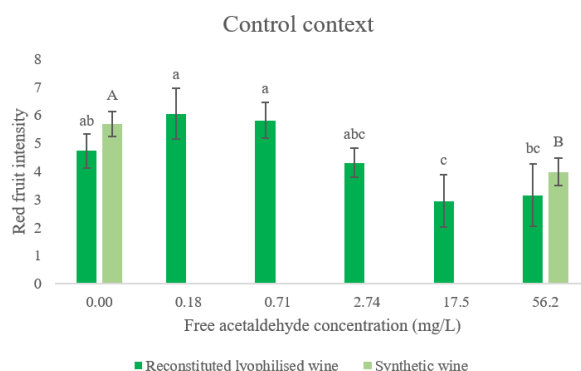


Figure 1. Average scores (for eight panellists in duplicate; error bars calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists) at different acetaldehyde amounts for “red fruit” in control context in reconstituted lyophilised wine and synthetic wine. Different letters (indicate significant differences for the acetaldehyde content in each model (lowercase for RLW and uppercase for SW) (Fisher posthoc test, $p < 0.05$).

This is also partly seen in the (*Z*)-1,5-octadien-3-one aromatic context, for which the score in this fruity note significantly increases at acetaldehyde levels in the headspace of 0.71 mg L⁻¹. In the benzaldehyde context, however, the addition of little amounts of acetaldehyde causes a significant and relevant decrease on the “red fruit” odour nuance. It should be observed, however, that the score for the “red fruit” odour nuance in the benzaldehyde context containing no acetaldehyde is the highest score registered for this descriptor. This suggests that the small amount of benzaldehyde added to the control context to form the benzaldehyde context is responsible for such score, playing a role similar to that observed for acetaldehyde in the control, so that the presence of additional levels of the aldehyde (even in low concentrations) brings the scores of “red fruit” down, with the consequent possible loss of quality if it were a commercial wine. Additionally, and as can be seen in **Table 4**, small levels of acetaldehyde induce a significant increase in “freshness” in the control, and significant and relevant decreases in four different odour notes (“humidity”, “geranium”, “green vegetal” and “undergrowth”) in two specific contexts (methoxypyrazines and (*Z*)-1,5-octadien-3-one). The score in “freshness” reached by the control spiked with 0.18 mg L⁻¹ of acetaldehyde is the maximum score for this descriptor in the whole data set (also with 17.5 mg L⁻¹ of acetaldehyde). The same happens to the scores reached by “geranium”, “green vegetables” and “undergrowth”, in this case in the corresponding unspiked contexts. The equivalent score for “humidity” is the second most intense. This suggests, that leaving aside the benzaldehyde context, the effects of the addition of under mg/L amounts of acetaldehyde seem to be highly positive from the sensory point of view, strongly reducing the intensity of rather hedonically-negative scores, such as “humidity”, “geranium”, “green vegetables” and “undergrowth”, and/or increasing the intensity of “red fruit”. The fact that the three positively affected aromatic contexts (control, methoxypyrazines and (*Z*)-1,5-octadien-3-one) did not contain any aldehyde or increased amounts of isoamyl alcohol can lead to think that the positive effect is counteracted by any other aldehyde or by isoamyl alcohol.

3.3.2. Effects of high levels of acetaldehyde

The addition of relatively high levels of acetaldehyde to RLW brings about, in general, relevant increases in the three sensory descriptors common to the seven aromatic contexts studied (“cooked vegetables”, “dried fruit” and “green vegetables”) and also to “itching”, which was present in 5 out of the 7 aromatic contexts.

3.3.2.1. Descriptors “cooked vegetables” and “dried fruit”

Increases were particularly relevant and general for “dried fruit” and “cooked vegetables” in practically all the contexts (**Table A9.5** Annex 9). The effects can be seen for the particular case of the control in **Figure 2a** and **2b**, respectively. It is most remarkable, however, that such

increases were not observed when the addition was carried out in similar aromatic contexts prepared in synthetic wines (SW), not containing wine lyophilisate.

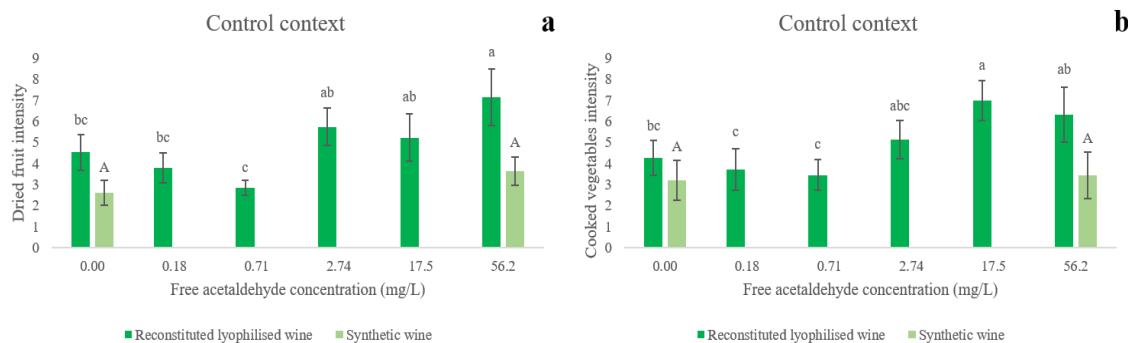


Figure 2. Average scores (for eight panellists in duplicate; error bars calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists) at different acetaldehyde amounts for: **a)** “dried fruit” and **b)** “cooked vegetables” in control context in two different matrixes (reconstituted lyophilised wine and synthetic wine). Different letters (indicate significant differences for the acetaldehyde content in each model (lowercase for RLW and uppercase for SW) (Fisher posthoc test, $p < 0.05$).

This strongly suggests that the sensory effects are not caused by acetaldehyde itself, but by other aldehydes, mostly Strecker aldehydes, released from their bisulphite combinations by acetaldehyde. The formation constants of the acetaldehyde-bisulphite adduct (1-hydroxyethyl sulfonate) are higher than those of the Strecker aldehyde-bisulphite adducts (Bueno *et al.*, 2018; De Azevedo *et al.*, 2007), so that acetaldehyde displaces the other aldehydes, releasing them. This is demonstrated by the determination of free and total levels of the five Strecker aldehydes in the samples from the control context containing the different amounts of acetaldehyde. While the total concentration of Strecker aldehydes (expressed as average \pm standard deviation) hardly varied when the concentration of acetaldehyde increased (isobutyraldehyde: $26.47 \pm 0.34 \mu\text{g L}^{-1}$; 2-methylbutanal: $6.98 \pm 0.11 \mu\text{g L}^{-1}$; isovaleraldehyde: $100.3 \pm 3.1 \mu\text{g L}^{-1}$; methional: $5.69 \pm 0.37 \mu\text{g L}^{-1}$ and phenylacetaldehyde: $20.67 \pm 0.65 \mu\text{g L}^{-1}$), free levels of those aldehydes (Strecker) significantly ($r=0.87$, $p=0.02$) increased when the free acetaldehyde raised from 0 mg L^{-1} to 56.2 mg L^{-1} (isobutyraldehyde: $3.98 \pm 3.21 \mu\text{g L}^{-1}$ to $21.40 \pm 0.89 \mu\text{g L}^{-1}$; 2-methylbutanal: $0.70 \pm 0.23 \mu\text{g L}^{-1}$ to $4.00 \pm 0.16 \mu\text{g L}^{-1}$; isovaleraldehyde: $18.06 \pm 0.63 \mu\text{g L}^{-1}$ to $90.40 \pm 3.46 \mu\text{g L}^{-1}$; methional: $1.76 \pm 0.17 \mu\text{g L}^{-1}$ to $2.60 \pm 0.08 \mu\text{g L}^{-1}$ and phenylacetaldehyde: $7.65 \pm 0.34 \mu\text{g L}^{-1}$ to $16.00 \pm 0.75 \mu\text{g L}^{-1}$). Complete data are presented in **Figure 3**. The sensory implication of Strecker aldehydes on the “dried fruit” and “cooked vegetables” notes was showed (Culleré *et al.*, 2007; Escudero *et al.*, 2000) and it is corroborated in the correlation studies of this work (data not included). It is remarkable that increases in the “dried fruit” note in contexts containing benzaldehyde and saturated aldehydes were not significant, which reveals the existence of a strong perceptual interaction between these aldehydes and Strecker aldehydes. This was not observed, however, in the “cooked vegetables” note.

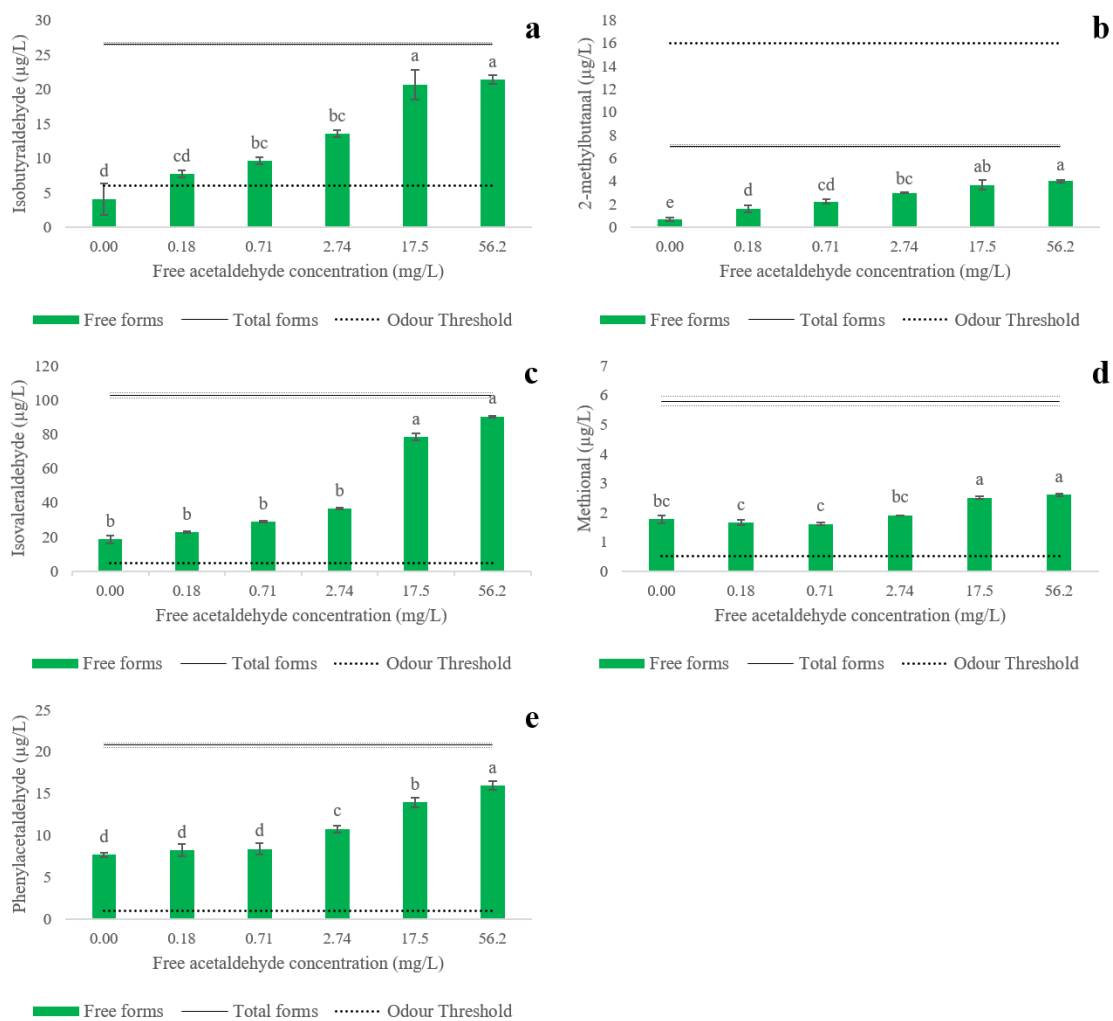


Figure 3. Concentration (expressed in micrograms per litre) of free and total forms of **a)** isobutyraldehyde, **b)** isovaleraldehyde, **c)** 2-methylbutanal, **d)** methional and **e)** phenylacetaldehyde in reconstituted lyophilised wine in the control context at different acetaldehyde concentrations. Different letters indicate significant differences in acetaldehyde content (Fisher posthoc test, $p < 0.05$).

3.3.2.2 Descriptor “Green vegetable”

The third general sensory descriptor, “green vegetables” increases parallel to levels of acetaldehyde in all the aromatic contexts, except for methoxypyrazines (**Figure 4a**). Increases are also observed in this case in the synthetic wines (**Figure 4b**), which confirms that they are the result of the direct action of acetaldehyde on the “green vegetables” note. Increases are strongly context-dependent, as can be seen in the figure. Maxima increases are observed for the contexts containing saturated aldehydes, followed by those containing unsaturated aldehydes and benzaldehyde. The control context and those containing isoamyl alcohol and (*Z*)-1,5-octadien-3-one have rather more modest increases. Interestingly, the effects on the methoxypyrazine context were exactly the opposite; the scores for green vegetables were maxima in the samples containing none or very little amounts of acetaldehyde, and increasing acetaldehyde levels from 0.18 to 0.71 mg L⁻¹ bring about a dramatic decrease in the intensity of the descriptor which did not recover at higher levels of acetaldehyde. These results strongly

suggest that there are at least two completely different origins for the “green vegetable” note. The first one would be directly caused by nearly every type of aldehydes, and the second one would be caused by methoxypyrazines, as widely described in the scientific literature (Coetzee *et al.*, 2016; Francis & Newton, 2005). It can be hypothesised that the green notes given by methoxypyrazines or aldehydes are likely conceptually different, which suggests the need for addressing further sensory studies about their exact definition.

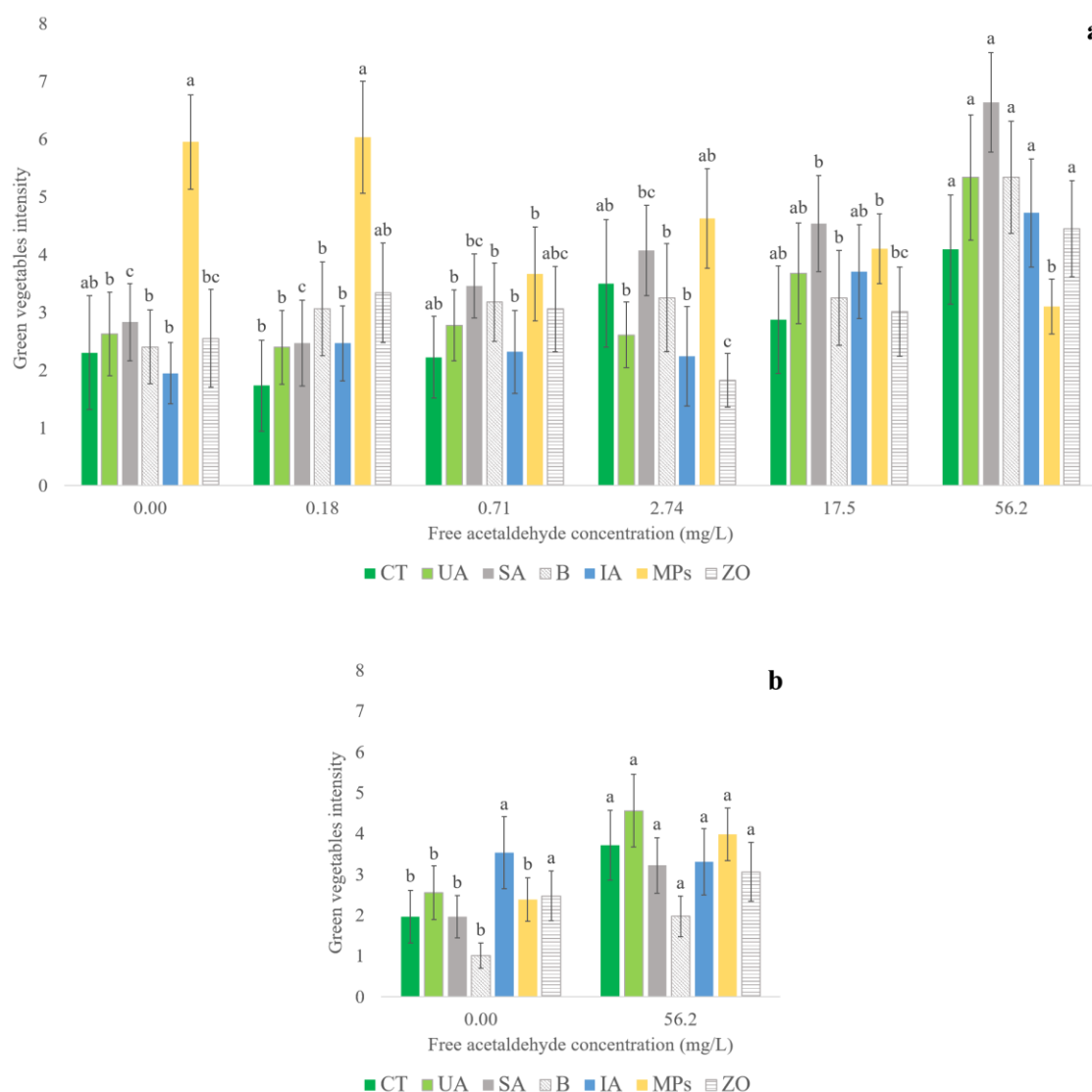


Figure 4. Average scores (for eight panellists in duplicate; error bars calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists) for “green vegetable” evaluated in different contexts (control-CT, unsaturated aldehydes-UA, saturated aldehydes-SA, benzaldehyde-B, isoamyl alcohol-IA, methoxypyrazines-MPs and (Z)-1,5-octadien-3-one context -ZO) at different acetaldehyde levels: **a)** in reconstituted lyophilised wine, **b)** in synthetic wine. Different letters indicate significant differences for the acetaldehyde content in each context (Fisher posthoc test, $p < 0.05$).

Regarding the role of aldehydes, results demonstrate that unsaturated, saturated and even Strecker aldehydes, support and enhance the role of acetaldehyde in the formation of the green vegetable note following a quite complex pattern of perceptual interactions. The effects of

Strecker aldehydes can be seen by comparing the scores of the SW models with those of the RLW models in the **Figure 4a-4b**. In the cases of saturated aldehydes and of benzaldehyde, the triple interaction is particularly outstanding, as can be seen in **Figure 4**. The intensity of the green vegetal note in the SW models containing acetaldehyde (**Figure 4b**) is much smaller than that measured in the equivalent RLW models (**Figure 4a**). The practical implications of these observations could be potentially very high and could be behind some of the frustrating results obtained in the research of the chemicals responsible for green notes (Arias-Pérez *et al.*, 2020; Sáenz-Navajas *et al.*, 2018). It should be noted that unsaturated aldehydes (such as (*E/Z*)-2.6-nonadienal, (*E/E*)-2.4-decadienal, (*E*)-2-nonenal, (*E/E*)-2.4-nonadienal, (*Z*)-3-hexenal and (*Z*)-2-nonenal), saturated aldehydes (such as octanal, nonanal and/or decanal), and of course benzaldehyde and Strecker aldehydes, are common and relatively ubiquitous aroma compounds, present at very low concentrations in grapes (Alegre *et al.*, 2020) and wines (Bueno *et al.*, 2018; Culleré *et al.*, 2007). Results in the present paper demonstrate that the concerted action of this complex pool of at least 15 aroma chemicals, none of them present at remarkably high levels, can induce relatively large scores in the “green vegetables” note in the presence of acetaldehyde.

3.3.2.3 Itchiness and burning effects

The increase in the concentrations of acetaldehyde produces an increase in the chemesthetic perception of “itching” in four out of the five aromatic contexts. Increases were, again, context dependent and were also different between RLW (**Figure 5a**) and SW (**Figure 5b**) samples. The plots in the figure reveal the existence of three markedly different patterns among the five contexts: the first one followed by unsaturated (UA) and saturated aldehydes (SA) and by isoamyl alcohol (IA), a second one followed by the control (CT), and a third completely different one followed by methoxypyrazines (MPs). In the first one, increases are evident both in RLW and SW models, although in the two contexts with aldehydes, increases were more evident in RLW models. In the control, increases in SW models were nearly null. Finally, in the MPs context, which had maxima levels for this descriptor, the increase of acetaldehyde brings about a decrease on its intensity, evident only in SW model (**Figure 5b**). The lack of implication of acetaldehyde on “itchiness” in simple contexts, such as the control SW, at the levels tested in the present work, has been already shown by Muttray *et al.* (2009). At higher levels other authors reported time ago that acetaldehyde concentrations can produce the “itching” sensation (Miyake & Shibamoto, 1993), which would be consistent with the proven capacity of this molecule to interact with TRP receptors (Bang *et al.*, 2007).

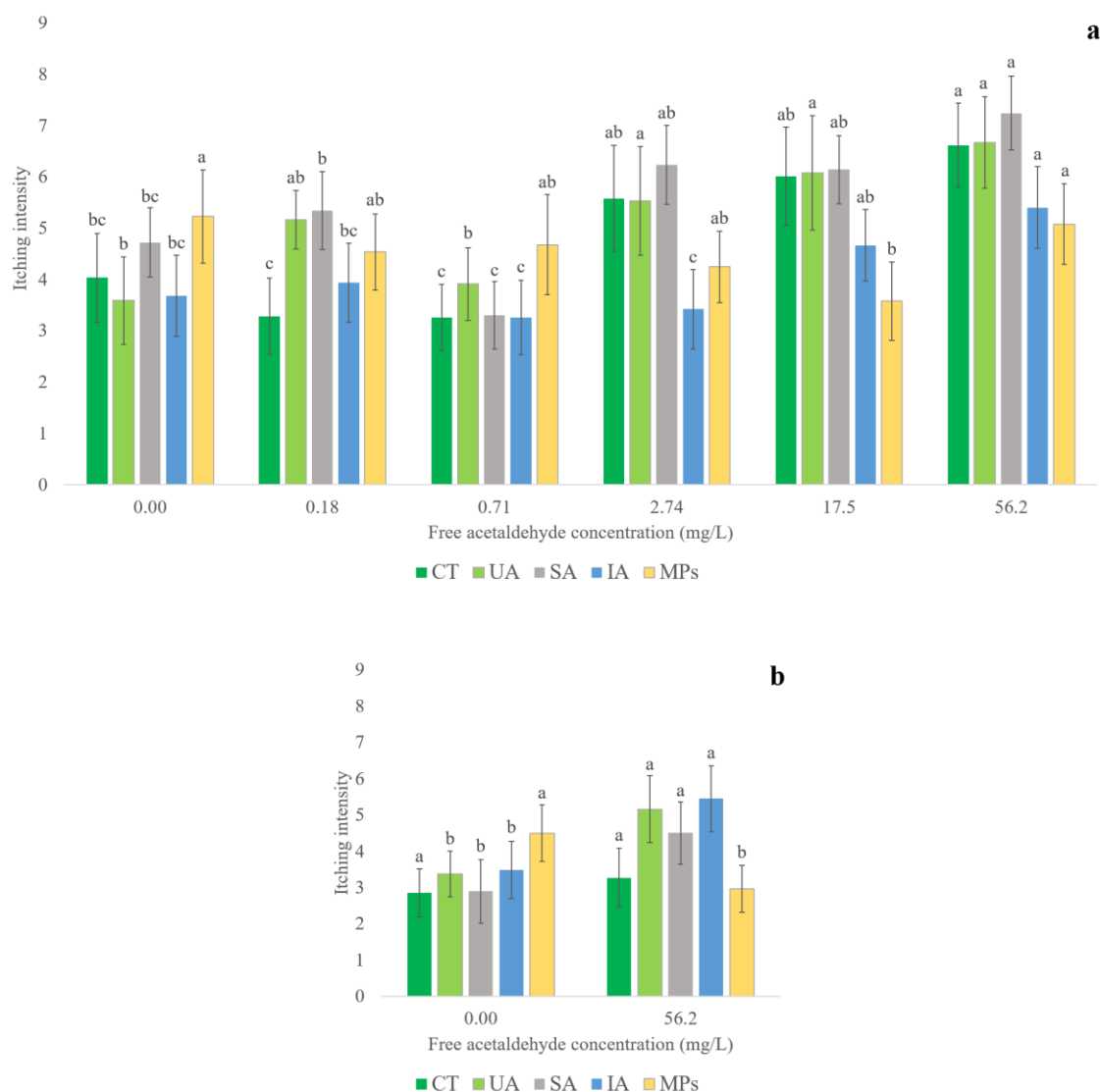


Figure 5. Average scores (for eight panellists in duplicate; error bars calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists) for “itching” in different contexts (control, unsaturated aldehydes, saturated aldehydes, isoamyl alcohol and methoxypyrazines context) at different acetaldehyde levels: **a**) in reconstituted lyophilised wine, **b**) in synthetic wine. Different letters indicate significant differences for the acetaldehyde content in each context (Fisher posthoc test, $p < 0.05$).

Our results, paralleling those previously seen in the “green vegetable” note, suggest that this sensory note is the result of complex perceptual interactions between many different chemicals. Differences in the control and in the methoxypyrazine contexts between SW and RLW models evidence the potential implication of Strecker aldehydes. Differences in SW models between the control and the contexts containing other aldehydes and isoamyl alcohol evidence the active participation of saturated and unsaturated aldehydes and also of isoamyl alcohol. Finally, the decrease in “itchiness” noted with acetaldehyde in the SW model in the methoxypyrazine context, reveals a negative perceptual interaction between acetaldehyde and methoxypyrazines. It can be speculated that such negative perceptual interaction is counteracted by the enhancing effect exerted by Strecker aldehydes, which would explain why the decrease is not observed in the RLW model with methoxypyrazines. As saturated aldehydes at high concentrations are

known elicitors of orthonasal (Abraham *et al.*, 2007) and in mouth trigeminal effects (Kokkinidou & Peterson, 2016), and unsaturated aldehydes can stimulate TRPA1 receptors (Andrè *et al.*, 2008), our results support a strong modulation effect of acetaldehyde on these chemesthetic effects. Another relevant chemesthetic descriptor is “burning”, which was measured in three contexts (benzaldehyde, isoamyl alcohol and (Z)-1,5-octadien-3-one). In this case, effects of acetaldehyde were identified only in the context containing isoamyl alcohol, as seen in the **Figure 6**. Results indicate that the burning character of those models are modulated by acetaldehyde. It is remarkable that the minimum burning score is registered at low levels of acetaldehyde (0.71 mg/L), and that the addition of just 2 mg L⁻¹ more induces a large increase in intensity of 2.55 points. This could explain some of the unexplained sensory changes experienced by wines after short periods of time, perhaps poor wine storage with small increases in free acetaldehyde causes chemoesthetic sensations in consumers.

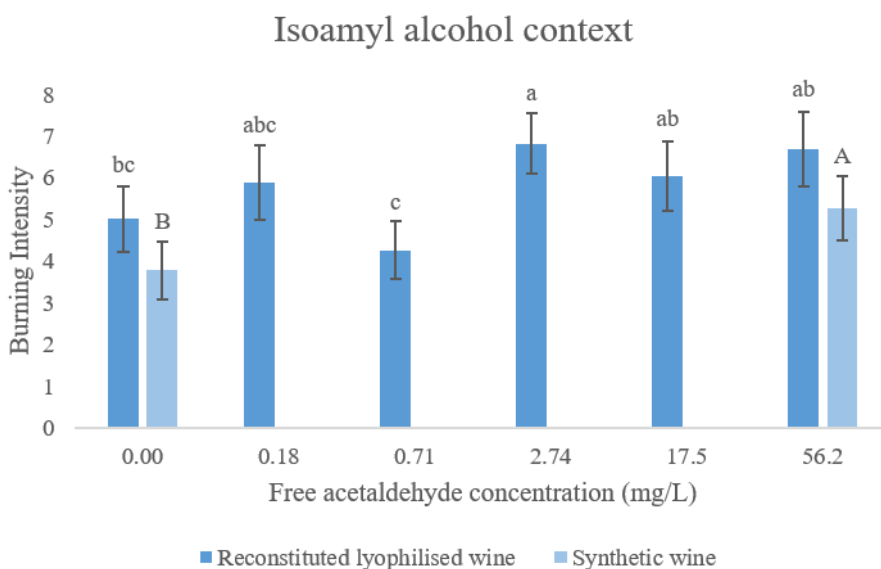


Figure 6. Average scores (for eight panellists in duplicate; error bars calculated as $s/n^{1/2}$: (s) standard deviation; (n) number of panellists) at different acetaldehyde amounts for “burning” in isoamyl alcohol context in reconstituted lyophilised wine and synthetic wine. Different letters (indicate significant differences for the acetaldehyde content in each model (lowercase for RLW and uppercase for SW) (Fisher posthoc test, $p < 0.05$).

4. Conclusions

Low-supra threshold levels of (Z)-1,5-octadien-3-one, far-under threshold levels of benzaldehyde or high levels of isoamyl alcohol induce “burning” character and limit the perception of “freshness” in the wine aroma profiles. The concentration of these compounds must be controlled if you want to obtain wines of aromatic quality.

The presence of levels below mg L⁻¹ (sub ppm) of acetaldehyde enhances, in the absence of any other aldehyde, “red fruit” notes and wine “freshness”, and can also suppress effectively off-odours caused by (Z)-1,5-octadien-3-one (“humidity” and “geranium”) and by methoxy-

pyrazines (“green vegetables” and “undergrowth”). Thus, in the wine industry, low concentrations of acetaldehyde, in non-oxidized wines, can even be positive for the aroma.

A side effect of the addition of higher amounts of acetaldehyde to wines is the release of Strecker aldehydes from their adducts with bisulphite, which provokes increases in “cooked vegetables” and “dried fruit” descriptors. Perceptual interactions with benzaldehyde and saturated aldehydes prevented increases in “dried fruit”.

Fifteen different aldehydes (unsaturated, saturated and Strecker aldehydes), none of them present at remarkably high levels, can induce a “green vegetable” note and an “itching” character in which acetaldehyde plays a strong enhancer role, contrarily to the “green vegetable” note and “itching” character caused by methoxypyrazines. These two completely different origins for the “green vegetable” note can guide the wine industry in solving the green character of wines.

The “burning” character elicited by isoamyl alcohol is strongly affected by small changes in acetaldehyde levels.

This research shows the concurrence of different players (aldehydes, isoamyl alcohol, (*Z*)-1,5-octadien-3-one and methoxypyrazines) on wine aroma and tactile nasal characteristics and demonstrates that acetaldehyde levels play an outstanding role in their modulation. At sub ppm levels, it can play positive roles in some specific aromatic contexts, while at higher levels, enhances the negative effects associated to the generic presence of other aldehydes by enhancing “green vegetal” notes and “itching” character and the “burning” effects linked to high levels of isoamyl alcohol.

5. References

- Abraham, M. H., Sánchez-Moreno, R., Cometto-Muñiz, J. E., & Cain, W. S. (2007). A quantitative structure-activity analysis on the relative sensitivity of the olfactory and the nasal trigeminal chemosensory systems. *Chemical Senses*, *32*(7), 711–719. <https://doi.org/10.1093/chemse/bjm038>
- Abric, J.-C. (2005). La recherche du noyau central et de la zone muette des représentations sociales. In *Méthodes d'étude des représentations sociales* (pp. 59–80). ERES. <https://doi.org/10.3917/eres.abric.2003.01.0059>
- Alegre, Y., Sáenz-Navajas, M.-P., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020). Sensory, olfactometric and chemical characterization of the aroma potential of Garnacha and Tempranillo winemaking grapes. *Food Chemistry*, *331*, 127207. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127207>
- Alpizar, Y. A., Voets, T., & Talavera, K. (2016). Molecular mechanisms underlying the role of TRP channels in chemesthesis. In S. T. McDonald, D. A. Bolliet, & J. E. Hayes (Eds.), *Chemesthesis Chemical Touch in Food and Eating* (1st ed., pp. 48–76). John Wiley & Sons, Ltd.
- Andrè, E., Campi, B., Materazzi, S., Trevisani, M., Amadesi, S., Massi, D., Creminon, C., Vaksman, N., Nassini, R., Civelli, M., Baraldi, P. G., Poole, D. P., Bunnnett, N. W., Geppetti, P., & Patacchini, R. (2008). Cigarette smoke-induced neurogenic inflammation is mediated by α,β -unsaturated aldehydes and the TRPA1 receptor in rodents. *Journal of Clinical Investigation*, *118*(7). <https://doi.org/10.1172/jci34886>
- Arias-Pérez, I., Ferrero-Del-Teso, S., Sáenz-Navajas, M. P., Fernández-Zurbano, P., Lacau, B., Astraín, J., Barón, C., Ferreira, V., & Escudero, A. (2020). Some clues about the changes in wine aroma composition associated to the maturation of “neutral” grapes. *Food Chemistry*, *320*, 126610. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126610>
- Bang, S., Kim, K. Y., Yoo, S., Kim, Y. G., & Hwang, S. W. (2007). Transient receptor potential A1

- mediates acetaldehyde-evoked pain sensation. *European Journal of Neuroscience*, 26(9), 2516–2523. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05882.x>
- Bueno, M., Marrufo-Curtido, A., Carrascón, V., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Formation and Accumulation of Acetaldehyde and Strecker Aldehydes during Red Wine Oxidation. *Frontiers in Chemistry*, 6. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00020>
- Bueno, M., Zapata, J., & Ferreira, V. (2014). Simultaneous determination of free and bonded forms of odor-active carbonyls in wine using a headspace solid phase microextraction strategy. *Journal of Chromatography A*, 1369, 33–42. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.004>
- Cain, W. S., & Murphy, C. L. (1980). Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation. *Nature*, 284(5753), 255–257. <https://doi.org/10.1038/284255a0>
- Carrascón, V., Ontañón, I., Bueno, M., & Ferreira, V. (2017). Gas chromatography-mass spectrometry strategies for the accurate and sensitive speciation of sulfur dioxide in wine. *Journal of Chromatography A*, 1504, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.05.012>
- Coetzee, C., Brand, J., Jacobson, D., & Du Toit, W. J. (2016). Sensory effect of acetaldehyde on the perception of 3-mercaptohexan-1-ol and 3-isobutyl-2-methoxypyrazine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 22(2), 197–204. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12206>
- Cometto-Muñiz, J. E., & Cain, W. S. (1993). Efficacy of volatile organic compounds in evoking nasal pungency and odor. *Archives of Environmental Health*, 48(5), 309–314. <https://doi.org/10.1080/00039896.1993.9936719>
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Gas Chromatography-Olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of six premium quality Spanish aged red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1653–1660. <https://doi.org/10.1021/jf0350820>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, 210, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., Valentin, D., & Ferreira, V. (2020). Fourteen ethyl esters of wine can be replaced by simpler ester vectors without compromising quality but at the expense of increasing aroma concentration. *Food Chemistry*, 307. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125553>
- De Azevedo, L. C., Reis, M. M., Motta, L. F., Da Rocha, G. O., Silva, L. A., & De Andrade, J. B. (2007). Evaluation of the formation and stability of hydroxyalkylsulfonic acids in wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8670–8680. <https://doi.org/10.1021/jf0709653>
- Doty, R. L. (1975). Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by humans. *Physiology and Behavior*, 14(6), 855–859. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(75\)90081-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(75)90081-5)
- Escudero, A., Hernández-Orte, P., Cacho, J., & Ferreira, V. (2000). Clues about the role of methional as character impact odorant of some oxidized wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4268–4272. <https://doi.org/10.1021/jf991177j>
- Francis, I. L., & Newton, J. L. (2005). Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 114–126. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2005.tb00283.x>
- Gómez García-Carpintero, E., Sánchez-Palomo, E., Gómez Gallego, M. A., & González-Viñas, M. A. (2012). Free and bound volatile compounds as markers of aromatic typicalness of Moravia Dulce, Rojal and Tortosí red wines. *Food Chemistry*, 131(1), 90–98. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.035>
- Green, B. G. (1990). Spatial summation of chemical irritation and itch produced by topical application of capsaicin. *Perception & Psychophysics*, 48(1), 12–18. <https://doi.org/10.3758/BF03205007>
- Green, B. G. (2016). Introduction: what is chemesthesis? In S. T. McDonald, D. A. Bolliet, & J. E. Hayes (Eds.), *Chemesthesis Chemical Touch in Food and Eating* (1st ed., pp. 1–7). John Wiley & Sons, Ltd.
- Green, B. G., & Shaffer, G. S. (1993). The sensory response to capsaicin during repeated topical exposures: differential effects on sensations of itching and pungency. *Pain*, 53(3), 323–334. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-3959\(93\)90228-H](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0304-3959(93)90228-H)
- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>
- Jackowetz, J. N., Dierschke, S., & Mira de Orduña, R. (2011). Multifactorial analysis of acetaldehyde kinetics during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Research International*,

- 44(1), 310–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.014>
- Kokkinidou, S., & Peterson, D. G. (2016). Identification of compounds that contribute to trigeminal burn in aqueous ethanol solutions. *Food Chemistry*, 211, 757–762. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.117>
- Komatsu, T., Uchida, K., Fujita, F., Zhou, Y., & Tominaga, M. (2012). Primary alcohols activate human TRPA1 channel in a carbon chain length-dependent manner. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 463(4), 549–559. <https://doi.org/10.1007/s00424-011-1069-4>
- Liu, S. Q., & Pilone, G. J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology*, 35(1), 49–61. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00341.x>
- Miyake, T., & Shibamoto, T. (1993). Quantitative analysis of acetaldehyde in foods and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(11), 1968–1970. <https://doi.org/10.1021/jf00035a028>
- Noble, A. C., Arnold, R. A., Buechsenstein, J., Leach, E. J., Schmidt, J. O., & Stern, P. M. (1987). Modification of a standardized system of wine aroma terminology. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(2), 143–146.
- Pons, A., Mouakka, N., Deliere, L., Crachereau, J. C., Davidou, L., Sauris, P., Guilbault, P., & Darriet, P. (2018). Impact of *Plasmopara viticola* infection of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes on wine composition and flavor. *Food Chemistry*, 239, 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.087>
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., & Lonvaud, A. (2000). *Handbook of Enology, volumen 1: The Microbiology of Wine and Vinifications* (2th ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- Sáenz-Navajas, M. P., Arias, I., Ferrero-del-Teso, S., Fernández-Zurbano, P., Escudero, A., & Ferreira, V. (2018). Chemo-sensory approach for the identification of chemical compounds driving green character in red wines. *Food Research International*, 109, 138–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.037>
- Waterhouse, A., Sacks, G., & Jeffery, D. (2016). *Understanding Wine Chemistry* (1th ed.). John Wiley & Sons, Ltd.
- World Health Organization. (1994). Acetaldehyde : health and safety guide. In *International programme on chemical safety. Health and Safety Guide No. 90* (p. 32). World Health Organization.
- Zea, L., Serratos, M. P., Mérida, J., & Moyano, L. (2015). Acetaldehyde as key compound for the authenticity of Sherry wines: A study covering 5 decades. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 681–693. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12159>

Conclusiones



Ahora dígame, Lench, ¿Qué hemos demostrado?

The Big Country

Conclusiones Generales

Las conclusiones del presente trabajo se pueden englobar en tres categorías diferentes. La primera es sensorial-cognitiva y se refiere al concepto sensorial del verdor; la segunda es de interés agronómico y se refiere a los cambios químicos asociados a la maduración y potencial del viñedo con efecto sobre los contenidos en componentes aromáticos del vino. La tercera categoría incluye todas las conclusiones referidas a la implicación de diversos tipos de odorantes y grupos de odorantes, sobre las notas asociadas al verdor e inmadurez.

En el campo sensorial, una de las conclusiones principales de la presente tesis es que el concepto “verdor” es un término sensorial marcadamente multidimensional que integra percepciones olfativas, gustativas y trigeminales, además de algunos aspectos visuales, y que tiene un marcado carácter hedónico. El carácter multidimensional se ha evidenciado en primer lugar mediante el uso de estrategias de memoria a largo plazo con enólogos, que han puesto de manifiesto que el carácter verde se incluye en subcategorías sensoriales de aroma, gusto, quemestésicas o trigeminales, color, multimodales y hedónicas. En segundo lugar, se ha podido confirmar mediante diversas pruebas sensoriales y catas de vino, que el verdor es un atributo multivariante asociado a descriptores de aroma (“vegetal”) y a sensaciones en la boca, tales como, “taninos verdes” y “taninos secos” y percepciones trigeminales (“astringencia”).

Ha quedado también de manifiesto que el atributo verdor en vinos, no está bien definido y tiene distintas interpretaciones en función de la zona vitivinícolas donde los enólogos o enólogas desarrollan sus funciones. Las dimensiones sensoriales “aroma vegetal”, “amargo” y “desagradable” son los términos específicos que comparten los expertos de, al menos, cuatro regiones para describir los vinos con verdor, por lo que parecen ser los elementos esenciales representativos del núcleo del concepto de vino con verdor. Por otra parte, ha quedado también de manifiesto la existencia de un efecto regional importante relacionado con los términos sensoriales asociados con el gusto (“acidez excesiva”), con las sensaciones del trigémino (“astringente”) y los componentes del vino (“tanino”). Más todavía que con el concepto sensorial “verdor”, el estudio ha revelado que también hay una amplia disparidad en cuanto a lo que los profesionales piensan acerca de sus causas y posibles soluciones

Desde el punto de vista agronómico, una conclusión principal de la presente tesis es que las diferentes características del viñedo, como son el nivel de madurez o el vigor de las cepas, afectan de manera sutil pero relevante, al perfil aromático fermentativo de los vinos. En efecto, los diferentes estudios realizados sugieren que buena parte de las características de los vinos asociadas al grado de madurez de la uva están relacionadas con cambios en los perfiles de

compuestos fermentativos (acetaldehído, alcoholes superiores, ácidos ramificados y sus ésteres y ácidos grasos y sus ésteres). Estos cambios vienen inducidos a su vez, por los cambios composicionales experimentados por la uva durante su maduración. Alguno de estos cambios, como es el aumento de polifenoles de menor peso molecular, modula la reactividad química del medio, y otros de estos cambios, en particular el contenido y perfil aminoacídico y, posiblemente porque no han sido medidos, el contenido en ácidos grasos y esteroides, modulan el metabolismo de la levadura.

De esta forma en todos los estudios de madurez realizados en diferentes variedades (Moristel, Garnacha y Tempranillo) se aprecia una caída del acetaldehído en los vinos con el avance de la maduración de la uva, lo que se asocia a la mayor presencia de antocianos y otros polifenoles, capaces de reaccionar con el mismo.

El diferente patrón metabólico de la levadura se deja ver por su parte en los importantes cambios observados en las proporciones relativas entre algunos pares de compuestos o grupos de compuestos metabólica y aromáticamente relevantes. En concreto, los vinos derivados de uvas más maduras contienen menor proporción de éster ramificado por cada ácido ramificado y mayor proporción de éster lineal frente a su correspondiente ácido graso. Esto es, la actividad esterasa de las levaduras se ve afectada, haciéndolo de manera opuesta según el origen del ácido. En el caso concreto de la variedad Moristel donde el estudio fue más ambicioso, también se vio una disminución con la maduración de la uva de las proporciones entre cada ácido ramificado y el correspondiente alcohol y entre cada éster ramificado y el correspondiente alcohol en los vinos producidos. Esto es, la necesidad de la levadura de regenerar los factores de reducción NADH y NADPH parece ser superior en uvas menos maduras.

Otro conjunto de conclusiones hace referencia a la importancia del perfil aminoacídico de la uva, y a su patrón de cambios asociados al viñedo, añada y maduración, en el perfil aromático de todos los componentes relacionados con la ruta de Ehrlich, incluyendo alcoholes superiores y sus acetatos, ácidos ramificados y sus ésteres etílicos y aldehídos de Strecker.

En primer lugar, los trabajos realizados con la variedad Moristel demuestran que los perfiles de aminoácidos son característicos del viñedo / añada y del nivel de madurez y que ejercen una notable influencia sobre la composición aromática del vino. Es destacable, que a pesar de que no es posible encontrar correlaciones directas entre los aminoácidos precursores y los diferentes compuestos aromáticos formados durante la fermentación a lo largo de la ruta de Ehrlich, existe una poderosa influencia del perfil aminoacídico en los contenidos relativos en estos aromas.

En segundo lugar, y en relación con el contenido de aldehídos de Strecker, se ha confirmado que durante la fermentación cada aminoácido se consume a una tasa específica y relativamente fija, de modo que tanto los niveles de cada aminoácido consumido como sus niveles restantes tras la fermentación, son proporcionales al contenido inicial. Consecuencia de ello es que, tras la fermentación, los aminoácidos precursores de los aldehídos de Strecker son máximos en las

muestras elaboradas con uvas más inmaduras, mínimos en las elaboradas con uvas en óptimos de madurez y volviendo a alcanzar niveles altos en los vinos elaborados con uvas demasiado maduras. Además, los aldehídos de Strecker acumulados como subproductos de la fermentación, son máximos en los vinos elaborados a partir de uvas inmaduras. Esto es, en el presente trabajo hemos podido explicar la observación empírica y aparentemente paradójica de que vinos elaborados con uvas más verdes, son más susceptibles de desarrollar caracteres oxidativos, lo que es debido a su mayor contenido en acetaldehído, a sus mayores niveles de aldehídos de Strecker producidos en fermentación y a la mayor cantidad de aminoácidos precursores.

Otras conclusiones de menor importancia relacionadas con la maduración y el potencial, son que las evoluciones durante la maduración de determinados compuestos que, en principio no tienen grandes efectos sensoriales, como son los alcoholes con 6 átomos de carbono o algunos derivados de la vainillina, pueden ser muy útiles como marcadores de la madurez; que, al menos en Garnacha, los vinos elaborados a partir de uva de viñedos de alto potencial alcanzan concentraciones más altas de ésteres y terpenos, mientras que los vinos procedentes de viñedos de bajo potencial tienen concentraciones más altas de algunos fenoles volátiles y de metoxipirazinas.

Finalmente, desde el punto de vista senso-químico, a lo largo de la presente tesis se ha puesto de manifiesto la existencia de diferentes perfiles químicos relacionados con la percepción de verdor, lo que explica y soporta la multidimensionalidad sensorial de dicho atributo. El problema más sencillo desde el punto de vista químico, es aquél en el que el verdor está causado por un solo compuesto que dota al vino de caracteres vegetales, como ocurre en vinos donde se halló el 5-etoxi-1,3-hexadieno, un compuesto con aromas a hoja de geranio y notas metálicas. En muchos otros casos, el problema del verdor se identifica con la existencia de una serie más o menos amplia de compuestos comunes a todos los vinos, pero que en determinados niveles pudieran estar modulando esa percepción verde. Aspectos identificados como relevantes en la percepción de verdor son niveles más bajos de familias con notas frutales como son los ésteres etílicos, junto con concentraciones algo superiores a los valores medios de compuestos como acetaldehído, alcohol isoamílico o acetato de etilo que, a pesar de no presentar atributos vegetales, sí que podrían aportar una nota punzante asociada al verdor. Finalmente, la tercera posibilidad es la existencia de niveles sub-umbrales de determinados compuestos con notas vegetales, como son algunos aldehídos insaturados ((*Z*)-2-nonenal, (*E,Z*)-2,6-nonadienal y (*E,E*)-2,4-decadienal), pirazinas o la (*Z*)-1,5-octadien-3-ona. Estos componentes parecen presentar una acción aditiva o incluso sinérgica entre sí y podrían estar estableciendo interacciones perceptuales con otros compuestos responsables de problemas de verdor más marcados.

En lo que hace referencia al papel de los compuestos fermentativos; en primer lugar, se ha demostrado que la importancia sensorial del metionol está sobreestimada y que su presencia en

las concentraciones a las que se suele encontrar en vino tinto es inapreciable. En segundo lugar, las pequeñas modificaciones en la concentración de los compuestos fermentativos que forman parte del tampón aromático del vino, como son los ácidos grasos lineales, los ácidos ramificados y los distintos ésteres, observadas durante la maduración de la uva, no son capaces de inducir por sí diferencias sensoriales significativas, pero sí que lo podrían hacer vía interacciones perceptuales con otras moléculas. De hecho, los resultados sugieren la existencia de una interacción perceptual entre el alcohol isoamílico y las fracciones derivadas de antocianinas y / o los taninos en el carácter verde en boca y definido como pegajoso (*stickiness*) y tanino verde. También se ha podido verificar que la intensidad del carácter verde puede venir enmascarada por aromas a madera, oxidación y/o fruta madura presentes en los vinos con crianza en roble.

En tercer lugar, se ha demostrado que las variaciones de acetaldehído ligadas a la madurez (vinos elaborados con uvas más verdes acumulan cantidades superiores de acetaldehído) son suficientes para inducir el carácter verde. Además, se demuestra que el acetaldehído, y en particular, a través de sus interacciones perceptuales con otros odorantes y grupos de odorantes del vino (otros aldehídos, alcohol isoamílico, (Z)-1,5-octadien-3-ona y metoxipirazinas), juega un papel esencial en la modulación de percepciones aromáticas y de sensaciones táctiles oronasales relacionadas con el verdor y la aspereza. Niveles bajos de acetaldehído pueden desempeñar un papel positivo en algunos contextos aromáticos específicos, mientras que en niveles más altos, potencian los efectos negativos asociados a la presencia de otros aldehídos (aldehídos saturados, aldehídos insaturados y aldehídos de Strecker incrementando la percepción del atributo "vegetal" y la sensación de "picor" (itching) a nivel oronasal, que puede transformarse en una sensación quemoestésica de "ardor" (burning) cuando hay altos niveles de alcohol isoamílico en el vino.

En resumen, se ha puesto de manifiesto que, excepto en algunos casos que parecen ser excepcionales, el verdor es la consecuencia de la pérdida del balance aromático del vino, mayoritariamente inducida por problemas de maduración en la uva. En su desarrollo, juega un papel esencial el acetaldehído y sus interacciones perceptuales con otros componentes, entre los que el alcohol isoamílico, la (Z)-1,5-octadien-3-ona, otros aldehídos derivados de la uva y las metoxipirazinas juegan un papel esencial. Se ha puesto además de relieve que las uvas inmaduras producen vinos con mayores niveles de acetaldehído, de aldehídos de Strecker y de sus aminoácidos precursores, además de inducir cambios metabólicos en la levadura que afectan esencialmente a todos los aromas relacionados con la ruta de Ehrlich. Estos hallazgos sientan las bases para abordar futuras soluciones de remediación.

Anexos



Todos somos mortales hasta el primer beso y la segunda copa de vino

El libro de los abrazos - Eduardo Galeano

Anexo 1. Información suplementaria de la Sección I.

Figura A1.1. Cuestionario empleado en la tarea de descripción libre sin cata basada en la memoria a largo plazo de 77 enólogos españoles de cuatro regiones vinícolas diferentes.

CUESTIONARIO. Fase I

Nombre _____ **Edad** _____

Años en el sector _____

Actividad 0. ¿Qué le viene a la mente cuando le cito la palabra casa? Cite un máximo de 5 palabras que asocie con la palabra casa.

Actividad 0.1 ¿Qué le viene a la mente cuando le cito la palabra cielo? Cite un máximo de 5 palabras que asocie con la palabra cielo.

Figura A1.1. (cont.)

Actividad 1. Cuando se habla de un vino verde: *“este vino está verde”* ¿qué le viene a la mente? Cite un máximo de 5 palabras que asocie con un vino verde.

Actividad 2. Evalúe la importancia que cada una de las palabras citadas en la actividad anterior tiene en el concepto de vino verde.

Palabra: _____

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada									Muy
importante									importante

Palabra: _____

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada									Muy
importante									importante

Palabra: _____

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada									Muy
importante									importante

Palabra: _____

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada									Muy
importante									importante

Palabra: _____

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada									Muy
importante									importante

Figura A1.1. (cont.)

FASE 2

1. **¿Cuál es su ocupación /cargo en el sector?**

2. **¿Cuál es la denominación de origen en la que trabaja actualmente?**

3. **Recuerde la última vez que encontró un vino verde, ¿puede hablarme de este vino?**

4. **En su opinión, ¿cuál es el origen del verdor en los vinos?**

5. **Si usted se encontrase con una uva verde que llega a su bodega ¿cómo la elaboraría?**

6. **Si usted se encontrase con un vino verde ¿qué haría para mejorar su calidad?**

7. **¿Considera usted que es un problema importante en su bodega actualmente el encontrarse con uvas y/o vinos verdes?**

Anexo 2. Información suplementaria del Capítulo 3

Figura A2.1. Instrucciones empleadas en la fase de evaluación para la caracterización de los 38 vinos tintos como objetivo evaluar el carácter verde de una selección de 38 muestras.

A continuación, se le presentan 38 copas codificadas con un número de tres cifras. Le pedimos que cate cada copa y marque en la escala el nivel de intensidad que cree que corresponde a cada copa. Marque el nivel de la escala que cree que posee cada muestra. Debe esperar unos 20 segundos entre cada degustación y entre copa y copa. Cuando terminen con la evaluación de una muestra pasarán al siguiente y les pedimos que no vuelvan a evaluar la muestra anterior.

Muchas gracias por su participación.

	Muestra 1	Muestra 2
Intensidad del aroma	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Oxidación	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Vegetal	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Fruta fresca	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Fruta madura	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Madera	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Acidez	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Grasa	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Dulzor	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Astringencia	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Taninos verdes	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Taninos secos	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Preferencia	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Carácter verde	0 1 2 3 4 5 -----	0 1 2 3 4 5 -----
Descriptores libres		
Comentarios		

Figura A2.2. Instrucciones empleadas en la segunda sesión de evaluación para la ampliar la terminología del aroma relacionada con el carácter verde donde se caracterizaron 16 vinos tintos.

Instrucciones

La cata estará dividida en **dos secciones diferenciadas**. La primera parte constará de un análisis orthonasal exclusivamente y la segunda parte consistirá en un análisis completo del vino con fase orthonasal y bucal.

De este modo para cada muestra evalúe en primer lugar la **intensidad del atributo verdor** según su criterio y **a continuación** de los siguientes **atributos aromáticos**, **elija** los que encuentra en cada muestra y en dicho caso **evalúe su intensidad**.

Posteriormente se le retirarán las copas y en una nueva ficha tendrá que repetir el proceso anterior, pero en esta ocasión también se valorará los **atributos del sabor y táctiles**.

Debe evaluar cada vino individualmente. No pase a la siguiente muestra sin haber terminado la anterior.

Muchas gracias por su colaboración.

Instrucciones tarea orthonasal

Huela (por vía orthonasal exclusivamente) las muestras de izquierda a derecha. Para cada una de ellas evalúe en primer lugar la **intensidad del atributo verdor** según su criterio y **a continuación** de los siguientes **atributos aromáticos**, **elija** los que encuentra en cada muestra y en dicho caso **evalúe su intensidad**.

Muchas gracias por su colaboración.

Figura A2.2. (cont.)

NOMBRE:	FECHA:	EDAD:						
Código muestra: _____								
	Intensidad							
	0	1	2	3	4	5	6	7
VERDOR								
AROMA								
Fruta blanca/amarilla (manzana, pera, plátano, melocotón...)								
Cítricos (naranja, limón, pomelo...)								
Fruta tropical (mango, fruta de la pasión...)								
Fruta roja (fresa, frambuesa, cereza...)								
Fruta negra (mora, arándano...)								
Fruta pasa (uva pasa, ciruela pasa, higo paso, orejón...)								
Vegetal fresco (pimiento verde, terroso)								
Verdura (espárragos, oliva, patata cocida...)								
Herbal (hoja de tomate, hierba cortada)								
Reducción (col, agua estancada, huevos podridos...)								
Madera (madera nueva...)								
Especias (clavo, pimienta, nuez moscada, vainilla...)								
Tostado (café, pan tostado, tofe...)								
Animal (cuero, silla de montar, cuadra...)								
Metálico (hierro, sangre, amalgama de dentista...)								
Otro _____								

Instrucciones tarea evaluación global

Pruebe las muestras de izquierda a derecha y en primer lugar evalúe la intensidad **del atributo verdor** según su criterio y **a continuación** de los siguientes **atributos aromáticos**, del sabor y sensaciones táctiles **elija** los que encuentra en cada muestra y en dicho caso **evalúe su intensidad**.

Muchas gracias por su colaboración.

Figura A2.2 (cont.)

NOMBRE:	FECHA:	EDAD:							
Código muestra: _____									
	Intensidad								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
VERDOR									
AROMA									
Fruta de blanca/amarilla (manzana, pera, plátano, melocotón...)									
Cítricos (naranja, limón, pomelo...)									
Fruta tropical (mango, fruta de la pasión...)									
Fruta roja (fresa, frambuesa, cereza...)									
Fruta negra (mora, arándano...)									
Fruta pasa (uva pasa, ciruela pasa, higo paso, orejón...)									
Vegetal fresco (pimiento verde, terroso)									
Verdura (espárragos, oliva, patata cocida...)									
Herbal (hoja de tomate, hierba cortada)									
Reducción (col, agua estancada, huevos podridos...)									
Madera (madera nueva...)									
Especias (clavo, pimienta, nuez moscada, vainilla...)									
Tostado (café, pan tostado, tofe...)									
Animal (cuero, silla de montar, cuadra...)									
Metálico (hierro, sangre, amalgama de dentista...)									
Otro _____									
SABOR									
Dulce									
Ácido									
Amargo									
SENSACIÓN TÁCTIL									
Acuoso									
Ardiente									
Arenoso									
Carnoso									
Envolvente									
Gomoso									
Granuloso									
Graso									
Pegajoso									
Persistente									
Picante									
Polvoriento									
Punzante									
Rugoso									
Secante									
Sedoso									
Tanino duro									
Tanino verde									
Untuoso									

Figura A2.3. Instrucciones empleadas en la prueba de clasificación libre llevada a cabo con los 16 panelistas en la evaluación de las 32 fracciones de vino y clasificarlas en base a su similitud aromática.

Clasificación en base a la semejanza del aroma

INSTRUCCIONES DE LA PRUEBA DE CLASIFICACIÓN

En la mesa se presentan **32 Botes con fracciones de vino**. Cada uno está codificado con un número de tres cifras.

Le pedimos que **huela cada muestra (EXCLUSIVAMENTE POR VÍA ORTONASAL)** y que **constituya varios grupos** de extracto **basándose en la semejanza entre los aromas**:

- ❖ En **primer lugar**, le pedimos que huela las muestras de **izquierda a derecha**. A continuación, puede proceder **libremente**
- ❖ Se ruega que tengan especial cuidado a la hora de **cerrar los botes**, debido a la naturaleza volátil de los extractos. Del mismo modo, sería conveniente tener el mínimo tiempo posible el bote abierto.
- ❖ Puede **oler cada muestra tantas veces como desee** y puede utilizar todo el tiempo que necesite para realizar este test
- ❖ Los grupos los debe hacer **sobre la mesa**, moviendo los botes y agrupándolos físicamente, en función de su similitud
- ❖ Puede haber tantos grupos como desee

A continuación, le pedimos que **anote 2 o 3 atributos** que según su criterio son los que **generan mayores diferencias sensoriales entre los grupos**.

- ❖ **Los atributos** que cite han de ser **descriptivos** (por ej. floral, fruta pasa...)
- ❖ **Los atributos** que cite no podrán tener un carácter hedónico (por ej. alta calidad, me gusta, es mi preferido, etc...)

Muchas gracias por su colaboración

Figura A2.3. (cont.)

Nombre:		FECHA:
GRUPO	CÓDIGOS DE LAS MUESTRAS	ATRIBUTOS (máximo de 2-3 atributos)
GRUPO I		
GRUPO II		
GRUPO III		
GRUPO IV		
GRUPO V		
GRUPO VI		
GRUPO VII		
GRUPO VIII		
GRUPO IX		
GRUPO X		


Anexo 3. Información suplementaria del Capítulo 4

Figura A3.1. Instrucciones para la evaluación del atributo “espárrago” sobre la escala de diferentes vinos y muestras dopadas con compuestos odorantes que pudiesen estar modulando el defecto.


NOMBRE..... **FECHA.....**

Delante de usted dispone de 5 muestras de vino codificadas con un número de tres cifras. Le pedimos que huela las muestras de izquierda a derecha y puntúe la **intensidad para el atributo espárrago** en cada una de ellas según su criterio.


Código vino _____

BAJA  ALTA


Código vino _____

BAJA  ALTA

Código vino _____

BAJA  ALTA

Código vino _____

BAJA  ALTA

Código vino _____


BAJA  ALTA

Tabla A3.2. Valores de concentración (todos expresados en microgramos por litro) de los compuestos volátiles encontrados en los 15 vinos del grupo A, en los 6 vinos del grupo B y en el vino C. También se muestra la media de un set de 35 vinos de precio medio de otro trabajo del grupo (San Juan y col., 2012) como referencia y los umbrales de olfacción para cada compuesto.

Compuestos	Muestras																					Set 35 vinos	Umbral de olfacción ^a	
	AD.1	AD.2	AC.1	AC.2	AC.3	AC.4	AC.5	AC.6	AC.7	AC.8	AC.9	AC.10	AD.3	AD.4	AD.5	B1C	B1D.1	B1D.2	B1D.3	B2C	B2D			CD
Compuestos carbonílicos																								
Origen Fermentativo																								
acetoina	20850	38990	18777	7116	6798	958	8148	5971	5456	2861	1117	126	13932	12201	419	5495	20673	3579	3262	37700	18200	1239	9860	150000 ¹
diacetilo	1680	1490	555	1083	160	140	1772	2061	689	1521	<LD	<LD	720	80	45,7	444	943	271	200	720	330	207	-	100 ²
Relacionado con el añejamiento																								
siringaldehído	<LD	0,04	<LD	0,199	<LD	<LD	<LD	0,856	<LD	<LD	0,04	0,059	0,142	0,092	<LD	0,164	<LD	<LD	<LD	<LD	0,2	0,3	0,887	50000 ³
Relacionado con oxidación																								
acetaldehído	2830	1670	214	312	<LD	<LD	117	123	181	<LD	162	<LD	662	341	41,2	151	167	<LD	127	120	120	3077	-	500 ²
benzaldehído	1,99	4,01	<LD	1,70	0,717	0,557	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,74	0,861	<LD	1,09	0,84	2,72	2,57	4,32	-	2000 ⁴
Norisoprenoides																								
β -damascenona	1,82	1,28	<LD	<LD	1,08	1,37	1,29	<LD	<LD	0,843	<LD	0,499	0,480	<LD	1,88	2,68	2,93	2,78	1,66	3,66	2,84	1,61	0,872	0,05 ²
α -ionona	0,38	<LD	1,18	1,52	<LD	1,42	1,55	<LD	0,813	1,36	0,959	1,59	<LD	<LD	0,287	<LD	<LD	<LD	<LD	0,470	0,830	0,441	<0,008	2,6 ¹
β -ionona	0,430	0,310	0,497	0,473	0,502	0,450	0,466	0,353	0,477	0,471	0,396	0,452	0,445	0,561	0,337	0,378	0,435	0,367	0,372	0,580	0,520	0,328	0,186	0,09 ⁵
Ésteres																								
Derivados de ácidos grasos lineales																								
propanoato etilo	110	60	111	<LD	<LD	57,6	<LD	<LD	71,7	<LD	<LD	<LD	<LD	58,8	166	<LD	<LD	<LD	<LD	120	120	117	186	5500 ⁶
butirato etilo	550	210	155	102	114	123	120	125	125	105	122	156	125	131	161	292	209	192	218	220	220	<LD	154	125 ⁶
hexanoato etilo	990	240	350	341	334	355	443	419	392	377	439	480	294	423	410	703	726	732	684	390	390	416	154	62 ⁶
octanoato etilo	680	160	216	250	320	164	440	294	336	319	534	307	185	236	340	492	461	591	517	360	300	156	119	580 ¹
decanoato etilo	70	50	18,5	30,2	46,0	24,4	23,9	28,1	28,6	38,4	50,4	27,8	39,9	33,4	53,8	38,1	26,0	39,6	53,6	230	210	358	58	200 ⁵
Derivados de ácidos ramificados																								
isobutirato de etilo	58,7	126	144	50,8	81,1	116	46,9	62,0	40,6	40,5	38,4	38,7	56,3	45,1	219	34,8	14,2	20,6	69,0	72,3	49,5	86,9	146	15 ⁵
2-metilbutirato de etilo	7	7,29	5,25	4,09	6,78	5,63	3,98	4,36	4,06	4,12	3,04	2,13	4,24	4,50	22,2	2,37	1,38	1,65	6,36	7,05	7,27	4,77	20,8	18 ⁵
isovalerato de etilo	15,9	13,1	6,09	8,97	11,9	8,97	7,27	11,4	6,21	7,04	6,02	6,38	12,2	10,4	42,8	<LD	<LD	<LD	15,2	14,3	12,7	9,89	37,5	3 ⁵

Tabla A3.2. (cont.)

Compuestos	Muestras																					Set 35 vinos	Umbral de olfacción ^a	
	AD.1	AD.2	AC.1	AC.2	AC.3	AC.4	AC.5	AC.6	AC.7	AC.8	AC.9	AC.10	AD.3	AD.4	AD.5	B1C	B1D.1	B1D.2	B1D.3	B2C	B2D			CD
Origen varietal																								
vanillato de metilo	12,3	5,41	3,37	5,18	3,08	5,30	3,15	3,27	4,21	2,62	3,09	4,02	3,31	4,91	5,43	9,06	10,2	9,27	4,63	4,74	6,45	3,77	8,80	3000 ⁷
vanillato de etilo	54,6	57,3	95,9	94,3	42,8	51,8	57,2	30,9	69,3	53,9	32,3	49,7	52,2	54,6	123	50,3	34,9	44,2	180	47,0	73,6	126	91	990 ⁷
dihidrocinamato de etilo	0,74	<LD	1,17	1,67	1,08	1,46	0,90	1,17	1,47	1,31	1,26	2,59	1,27	1,28	0,583	3,42	2,05	2,49	3,07	0,480	0,710	0,588	0,279	1,6 ⁵
cinamato de etilo	0,74	<LD	0,423	0,562	0,647	0,588	0,480	<LD	<LD	0,547	<LD	<LD	<LD	<LD	1,20	0,724	<LD	0,584	<LD	0,480	0,470	0,679	0,398	1,1 ⁵
Origen fermentativo																								
lactato etilo	138830	140320	115843	70224	82862	109839	59751	83600	122336	91880	66221	82261	179905	139190	163127	73517	100401	84577	196248	90400	102000	106588	94741	154000 ¹
succinato dietilo	7800	7850	4836	6675	11929	7975	4061	10793	7679	10864	13251	9892	13000	12521	8987	13586	5716	6919	23226	27900	32000	23629	11760	200000 ¹
acetato de etilo	121750	57980	66892	46449	49568	56531	46790	49709	63369	49274	50398	58001	76570	68426	90756	81929	68698	59260	72482	93000	74900	65228	-	123000 ⁸
acetato isoamilo	920	180	138	395	267	315	268	384	219	130	612	845	88,4	102	369	1390	2196	775	168	1880	1330	90,8	215	30 ²
acetato hexilo	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	24,3	59,4	23,0	<LD	<LD	<LD	<LD	49,6	1500 ¹
acetato isobutilo	32,2	14,8	6,05	8,62	5,45	7,18	6,12	7,00	11,0	5,11	7,48	8,58	4,51	5,21	16,6	25,6	23,2	19,0	5,9	22,1	18,7	7,9	36,1	1600 ⁹
acetato butilo	2,69	1,09	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3,40	3,67	<LD	<LD	4,95	<LD	<LD	<LD	4,36	8,74	<LD	<LD	11,4	12,1	2,91	1,27	1800 ¹
acetato feniletilo	39,5	14,0	5,46	15,9	17,4	11,1	9,38	18,6	9,54	7,94	51,1	43,4	3,04	3,03	20,9	17,3	54,5	21,1	6,86	80,8	43,4	6,23	28	250 ²
Alcoholes																								
isobutanol	66990	42290	30422	24006	29060	31357	23643	29267	28744	26413	25529	25869	22396	25286	77272	36110	21090	40734	31566	31600	37800	38566	41011	40000 ²
1-butanol	1530	1190	1181	1060	1434	1611	872	1056	1005	1051	1046	1094	1128	1246	1580	1350	3587	921	1039	1080	1220	1028	862	150000 ¹
alcohol isoamílico	290190	222610	176051	187673	188683	199055	213621	198175	180345	180164	198757	180455	167190	157162	426087	199038	211540	203953	213014	257000	288000	225325	173274	30000 ²
metionol	2520	1970	1018	1803	1621	1765	2084	1949	1430	1598	1620	1706	1016	965	2684	1002	1699	2196	1535	1470	1770	1477	298	1000 ⁵
alcohol bencílico	230	1200	96,6	118	108	125	160	120	313	172	306	208	333	276	333	147	129	259	395	100	200	357	515	200000 ¹⁰
β-feniletanol	42820	47950	28241	35291	37558	31741	41938	45237	30543	41044	38220	34582	19636	17476	75547	26617	40223	36836	35384	35400	41600	32433	38987	14000 ⁵
1-penten-3-ol	-	-	125	114	115	126	120	97,6	116	115	159	265	172	149	-	226	155	250	434	-	-	-	-	400 ¹¹

Tabla A3.2. (cont.)

Compuestos	Muestras																				Set 35 vinos	Umbral de olfacción ^a		
	AD.1	AD.2	AC.1	AC.2	AC.3	AC.4	AC.5	AC.6	AC.7	AC.8	AC.9	AC.10	AD.3	AD.4	AD.5	B1C	B1D.1	B1D.2	B1D.3	B2C			B2D	CD
Alcoholes C6																								
1-hexanol	2050	1700	2256	2051	1963	1971	1667	1582	2395	1789	1867	1763	2591	2676	2554	1959	3219	2516	2640	1240	1600	2594	1036	8000 ²
(Z)-3-hexenol	310	270	122	173	161	166	242	216	213	203	221	250	214	203	178	274	270	298	558	180	200	126	40	400 ²
(Z)-2-hexenol	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d. ^b
(E)-2-hexenol	-	-	4,12	5,16	7,44	5,27	4,43	6,30	7,49	6,22	4,97	5,50	6,23	7,04	-	11,3	9,08	12,4	142	-	-	-	-	15000 ¹
(E)-3-hexenol	-	-	39,3	55,9	48,7	52,5	48,0	43,4	61,8	47,2	43,7	53,7	63,7	66,0	-	60,0	67,5	79,0	65,8	-	-	-	-	1000 ¹²
Alcoholes C8																								
1-octen-3-ol	-	-	5,20	4,65	5,53	7,52	5,66	6,08	14,0	7,70	6,35	7,98	25,6	25,35	-	8,21	5,46	6,78	12,0	-	-	-	-	40 ¹³
(E)-2-octen-1-ol	-	-	0,752	0,812	0,854	0,994	1,03	0,974	1,85	0,909	0,937	1,43	2,03	2,42	-	0,889	0,587	1,00	0,696	-	-	-	-	n.d. ^b
Ácidos																								
Ácidos lineales																								
ácido acético	403380	480500	421957	347692	484605	557313	350051	484717	725556	481833	458983	647106	585814	595901	624432	470555	423339	433724	554321	548000	707000	457969	-	300000 ²
ácido butírico	1120	1040	1125	1518	1172	1173	1230	1189	1218	930	1069	1218	1019	925	1808	1665	1426	1316	1739	540	550	<LD	727	173 ⁵
ácido hexanoico	3400	2220	1934	2644	1677	1747	2757	2252	2375	2017	2180	2583	2028	1951	2376	3576	4479	3963	3447	1840	2150	2730	1172	420 ⁵
ácido octanoico	6500	3490	2485	4189	3182	2692	4495	3975	3695	3349	4215	4519	2568	2466	2485	6100	6934	6350	4847	2680	2610	1668	445	500 ⁵
ácido decanoico	720	560	245	423	420	383	420	297	296	396	367	354	192	296	399	525	582	648	357	1160	1230	818	207	1000 ⁵
Ácidos ramificados																								
ácido isobutírico	1910	2270	3087	3043	1991	3543	1367	2875	1994	1536	1331	1624	1490	1003	2605	1721	2046	1837	2224	1110	1150	759	1093	50 ³
ácido isovaleriano	1100	1260	966	1028	1062	1215	970	1200	742	917	969	1001	631	670	2795	818	640	764	897	410	410	692	240	33 ⁵
Terpenos																								
linalool	6,42	6,06	5,58	4,81	4,26	5,08	4,60	4,65	5,86	4,61	4,26	4,71	4,09	4,32	8,17	5,70	2,26	3,97	8,38	5,11	6,10	5,08	5,25	25 ⁵
acetato de linalool	0,25	0,99	<LD	0,02	<LD	<LD	<LD	0,24	<LD	0,30	<LD	<LD	<LD	<LD	0,082	<LD	<LD	<LD	<LD	0,84	0,80	0,22	-	n.d. ^b
α-terpineol	3,97	3,63	1,88	1,98	1,81	1,76	1,47	1,70	2,79	1,65	1,44	1,47	2,87	2,06	4,36	1,45	0,87	1,00	3,97	1,93	2,56	2,44	7,27	250 ⁵
β-citronelol	3,51	2,64	<LD	<LD	3,60	4,11	3,66	2,08	<LD	2,17	2,52	2,39	<LD	<LD	2,05	3,21	3,01	1,95	2,15	2,35	3,23	2,96	1,41	100 ¹
geraniol	2,42	<LD	2,75	3,46	<LD	4,73	5,39	3,75	4,91	5,05	3,22	6,44	<LD	<LD	5,31	19,4	<LD	14,0	8,19	5,31	9,21	8,28	0,012	20 ¹⁴

Tabla A3.2. (cont.)

Compuestos	Muestras																				Set 35 vinos	Umbral de olfacción ^a		
	AD.1	AD.2	AC.1	AC.2	AC.3	AC.4	AC.5	AC.6	AC.7	AC.8	AC.9	AC.10	AD.3	AD.4	AD.5	B1C	B1D.1	B1D.2	B1D.3	B2C			B2D	CD
Fenoles volátiles																								
guaiacol	28,5	34,3	4,66	12,6	3,85	4,25	4,11	11,2	8,93	4,33	3,31	6,87	3,96	4,67	20,0	10,8	8,63	9,82	11,5	25,0	43,2	8,86	7,68	9,5 ⁵
o-cresol	0,820	1,26	1,36	1,30	0,875	0,859	0,587	1,11	0,912	0,649	0,847	0,743	0,945	<LD	1,09	0,911	0,643	0,720	0,986	0,610	0,920	0,763	1,09	31 ¹
4-etilguaiacol	0,310	1,32	0,125	0,651	0,248	0,119	0,206	0,660	0,609	0,172	0,488	0,508	0,387	0,226	0,563	0,142	0,155	0,119	0,135	0,740	1,01	2,05	2,1	33 ⁵
m-cresol	0,230	<LD	0,775	0,960	0,797	0,772	0,780	0,967	1,01	0,722	0,765	0,896	0,677	0,748	0,307	<LD	<LD	<LD	<LD	0,170	0,180	0,275	0,698	68 ¹⁵
4-propilguaiacol	<LD	0,100	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0,116	<LD	<LD	<LD	<LD	0,090	0,230	0,466	0,227	10 ⁷
eugenol	4,09	10,2	2,43	14,2	3,07	3,52	4,90	9,86	13,8	5,92	3,96	24,5	5,24	4,56	12,0	4,39	3,43	4,77	8,36	3,28	20,4	21,5	-	6 ⁵
4-etilfenol	0,840	7,86	0,402	0,618	0,498	0,336	0,929	0,509	0,334	1,03	0,652	0,487	1,18	0,444	0,763	0,261	0,384	0,371	0,324	1,30	4,18	18,6	14,1	35 ⁶
4-vinilguaiacol	19,6	31,7	13,5	19,0	25,1	27,3	23,3	24,4	35,0	23,7	12,1	17,2	30,3	38,8	46,9	24,4	28,2	32,0	28,3	61,8	37,8	13,1	0,892	40 ²
(E)-isoeugenol	<LD	8,06	7,81	15,7	9,37	10,2	9,99	14,0	15,7	9,49	8,69	25,3	13,0	14,7	8,10	10,5	8,81	9,67	14,4	4,25	8,83	5,96	0,628	6 ¹⁴
2,6-dimetoxifenol	94,9	129	24,7	64,4	17,0	19,1	20,0	46,5	35,0	20,8	18,6	32,2	16,1	18,4	64,7	39,6	28,1	31,9	44,7	75,8	149	21,1	28,9	570 ⁷
4-vinilfenol	90,2	59,2	6,23	10,2	8,50	8,80	11,0	10,4	14,1	11,7	<LD	6,75	9,86	11,0	34,9	54,8	58,8	56,9	36,1	246	172	5,83	57	180 ¹⁶
4-alil-2,6-dimetoxifenol	9,25	12,5	8,06	16,2	7,54	8,19	8,16	17,9	14,2	9,28	7,65	21,0	12,2	11,5	11,9	12,2	9,12	11,1	15,6	10,7	20,0	11,1	9,85	1200 ³
vanillina	14,4	77,8	17,7	236	14,9	20,9	15,0	412	66,2	17,4	14,5	132	39,7	40,0	7,48	38,6	5,35	6,17	11,1	12,1	108	42,8	0,360	995 ¹⁴
acetovanillona	105	94,7	62,2	107	53,1	63,7	59,2	77,9	80,0	61,1	53,8	71,8	78,0	82,4	61,3	62,0	55,1	56,9	64,0	67,9	77,7	62,6	56,3	1000 ¹⁴
Lactonas																								
(E)-whiskylactona	1,36	26,9	<LD	34,7	<LD	<LD	6,64	11,0	19,2	15,4	1,30	85,8	<LD	<LD	0,779	6,20	0,621	0,333	0,279	0,630	21,3	44,2	117	790 ¹
(Z)-whiskylactona	<LD	77,2	<LD	154	<LD	<LD	21,9	89,3	195	32,5	<LD	242	<LD	<LD	22,6	5,40	<LD	<LD	<LD	<LD	173	328	240	67 ¹
γ-nonalactona	9,14	6,09	7,19	8,31	10,3	15,5	7,41	7,91	13,3	8,87	7,29	11,2	18,2	18,9	7,92	6,30	8,70	9,16	10,1	10,7	17,2	14,9	17,9	25 ³
γ-decalactona	23,1	24,5	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	17,0	<LD	9,78	11,5	28,2	21,2	1,38	<LD	<LD	<LD	<LD	20,5	14,7	<LD	0,888	0,71 ³
γ-butirolactona	12280	13520	6990	7595	12748	8646	7664	10100	11164	9657	8899	7771	9160	7888	19364	5624	2949	3561	10900	11800	13600	10675	11593	35000 ¹⁴
Metoxipirazinas																								
3-isopropil-2-metoxipirazina	-	-	0,00001	0,00003	0,00002	0,00002	0,00002	0,00001	0,00004	0,00002	0,00004	0,00003	0,00011	0,00010	-	-	-	-	-	-	-	0,00366	0,0008	0,001 ¹⁷
3-secbutil-2-metoxipirazina	-	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	0,00019	<0,0002	0,002 ¹⁸
3-isobutil-2-metoxipirazina	-	-	0,00018	0,00016	0,00022	0,00021	0,00020	0,00006	0,00054	0,00027	0,00036	0,00036	0,00033	0,00039	-	-	-	-	-	-	-	0,01198	0,002	0,015 ¹⁹

Tabla A3.2. (cont.)

Compuestos	Muestras																				Set 35 vinos	Umbral de olfacción ^a		
	AD.1	AD.2	AC.1	AC.2	AC.3	AC.4	AC.5	AC.6	AC.7	AC.8	AC.9	AC.10	AD.3	AD.4	AD.5	B1C	B1D.1	B1D.2	B1D.3	B2C			B2D	CD
Sesquiterpenos																								
rotundona	-	-	0,00009	0,00006	0,00005	0,00004	0,00018	0,00008	0,00007	0,00013	0,00011	0,00009	0,00002	0,00002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,015 ²⁰
Compuestos volátiles azufrados																								
Compuestos volátiles azufrados libres (L)																								
ácido sulfhídrico (L)	-	-	1,19	0,705	9,00	4,56	0,620	1,50	1,30	1,15	3,86	6,53	5,37	13,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1-1,6 ²¹
metanotiol (L)	-	-	0,929	0,699	0,800	0,962	0,599	0,794	0,801	0,932	1,14	1,47	0,781	1,09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,8-3,1 ²²
etanotiol (L)	-	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1 ²³
sulfuro de dimetilo (L)	-	-	17,7	15,0	14,8	15,7	9,43	10,9	11,3	12,6	16,3	22,5	8,08	13,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25 ²³
disulfuro de dimetilo (L)	-	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d. ^b
Compuestos volátiles azufrados totales (T)																								
ácido sulfhídrico (T)	-	-	49,5	37,5	31,2	30,5	48,0	50,7	51,1	36,0	29,5	33,7	37,2	44,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1-1,6 ²¹
metanotiol (T)	-	-	2,50	2,26	2,38	2,77	2,13	2,47	2,25	2,20	3,02	3,29	2,28	2,75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,8-3,1 ²²
etanotiol (T)	-	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,1 ²³
sulfuro de dimetilo (T)	-	-	17,7	15,0	14,8	15,7	9,43	10,9	11,3	12,6	16,3	22,5	8,08	13,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25 ²³
disulfuro de dimetilo (T)	-	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d. ^b
Mercaptanos Polifuncionales																								
4M4MP	-	-	0,010	0,023	0,017	0,006	0,016	0,013	0,011	0,006	0,013	0,098	0,019	0,025	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,0008 ²⁴
3MHA	-	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,004 ²⁴
3MH	-	-	0,009	0,022	0,028	0,014	0,012	0,017	0,014	0,008	0,015	0,025	0,011	0,010	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,06 ²⁴

^a La referencia en la que se ha calculado el valor de umbral de olfacción se da entre paréntesis: [1] (Etiévant, 1991). [2] (Guth, 1997). [3] (Gemert, 2003). [4] (Peinado y col., 2004). [5] (Ferreira y col., 2000). [6] (San Juan y col., 2012). [7] (López y col., 2002). [8] (Escudero y col., 2004). [9] (Ferreira y col., 2002). [10] (Aznar y col., 2003). [11] (Buttery y Ling, 1995). [12] (Fariña y col., 2015). [13] (Boutou y Chatonnet, 2007). [14] (Escudero y col., 2007). [15] (Ferreira y col., 2009). [16] (Boidron y col., 1988). [17] (Pickering y col., 2007). [18] (Sidhu y col., 2015). [19] (Roujou de Boubee y col., 2000). [20] (Culleré y col., 2016). [21] (Siebert y col., 2009). [22] (Solomon y col., 2010). [23] (Goniak y Noble, 1987). [24] (Tominaga y col., 1998). ^bn.d: Umbral de olfacción no disponible

<LD: Concentración por debajo del límite de detección del compuesto en el método de cuantificación empleado.

A3.3 Estudio del origen de 5-etoxi-1,3-hexadieno en vendimias mecánicas

1. Objetivo

Los objetivos específicos en los que se centra este trabajo son estudiar las condiciones de generación del odorante 5-etoxi-1,3-hexadieno en los vinos mediante la bacteria láctica *Oenococcus oeni*, y comprobar la hipótesis de que la mala hierba *Conyza canadensis* es el origen del ácido sórbico en aquellas bodegas cuyos vinos poseen olor a geranio.

2. Material y métodos

El vino sintético (VS) consiste en una disolución de agua destilada a la que se añaden 5 g L⁻¹ de ácido tartárico, 3 g L⁻¹ de ácido L-málico, 0,2 g L⁻¹ de NaCl, 1 g L⁻¹ de (NH₄)₂SO₄, 2 g L⁻¹ de K₂HPO₄, 0,2 g L⁻¹ de MgSO₄·7H₂O, 0,05 g L⁻¹ de MnSO₄·H₂O, 0,2 g L⁻¹ de acético, 2 g L⁻¹ de extracto de levadura liofilizado, un 11% v/v de alcohol y pH de 3,5 como el empleado por (Hernández-Orte y col., 2009). Los niveles de azúcar (fructosa y glucosa) varía en función de si se simula un vino seco (concentración máxima de 4 g L⁻¹) o uno dulce (en torno a 50 g L⁻¹).

Para estudiar la generación del odorante 5-etoxi-1,3-hexadieno en los vinos sintéticos se adicionan diferentes concentraciones (0,2-2 g L⁻¹) de ácido sórbico (CAS 110-44-1), o de su sal sorbato de potasio (CAS 24634-61-5). Para el vino sintético macerado con *Conyza canadensis* como posible fuente de ácido sórbico se introduce directamente la planta en la disolución y se deja macerar durante 15 días a 30°C en la estufa (Memmert). Dicha base se modificó para que tuviera la misma composición que el vino sintético descrito anteriormente.

Se trabajó en condiciones de máxima esterilidad para evitar posibles contaminaciones microbianas. Se trabajó en campana de flujo laminar vertical Telstar PV-100, con material previamente esterilizado en la autoclave húmeda (TRADE Paypa) con un programa de 20 minutos a 121°C y el vino filtrado a través de filtros de nitrocelulosa Whatman™ (NC-45-ST) de la empresa Healthcare Life Sciences, con un diámetro de poro de 0,45 μm.

Se inocularon 100 mg L⁻¹ de bacterias *O. oeni* VP41 liofilizadas (Lallemand) a cada vino filtrado, sin previa hidratación del inóculo y trabajando en la campana en condiciones de esterilidad. Cada una de las muestras se realizaron por triplicado en botellas con tapones que permiten el paso del oxígeno y se almacenaron en el fermentador (JUMO iTRON 08) a 22°C. Para comprobar que la inoculación de *O. oeni* se realizó correctamente y las bacterias se encontraban activas en el vino, se realizó un seguimiento enzimático de la fermentación maloláctica. Para dicho proceso se midió la concentración de málico presente en el vino mediante un kit enzimático FoodQuality (BioSystems).

La presencia del odorante 5-etoxi-1,3-hexadieno en las muestras se verificó mediante olfatometría.

3. Resultados y discusión

En la **Tabla 1** aparecen las muestras trabajadas durante este experimental. La concentración de azúcar engloba la glucosa y la fructosa, añadidas en una proporción 1:1. Los resultados indican que la concentración de azúcar no es determinante en la generación del olor a geranio.

Tabla 1. Composición de los vinos sintéticos de este estudio y resultados del seguimiento sensorial y la olfatometría en GC-O.

Concentración azúcar (g L ⁻¹)	Posible precursor del odorante	Día de detección olor	Detección del odorante en GC-O
50	0,2 g L ⁻¹ ácido sórbico	30	Sí
4	0,2 g L ⁻¹ ácido sórbico	30	Sí
4	2 g L ⁻¹ ácido sórbico	25	Sí
4	2 g L ⁻¹ sorbato potásico	25	Sí
4	0,2 g L ⁻¹ sorbato potásico	22	Sí
4	<i>Conyza canadensis</i>	No se detectó	No

Se asume como tiempo cero el día que se lleva a cabo la inoculación de *O.oeni* en los vinos. Los días de detección del olor señalizan el momento en el que se detectó el olor a geranio mediante seguimiento sensorial. Se necesitan entre 22 y 30 días para desarrollar en olor a geranio, aunque el málico se haya consumido antes en la fermentación maloláctica.

En la columna de “detección del odorante por GC-O” se indica si el olor producido por el compuesto 5-etoxi-1,3-hexadieno fue detectado o no mediante la olfatometría del extracto aromático (Ripa y Escudero, 2018). En todos los casos la percepción del olor a geranio en las muestras se correspondía con la presencia de 5-etoxi-1,3-hexadieno en la zona de olor correspondiente.

4. Conclusiones

Tras los resultados obtenidos mediante seguimiento sensorial y olfatometría puede concluirse que en los vinos que contienen ácido sórbico o sorbato de etilo (en una concentración de 0,2-2 g L⁻¹) se detecta el odorante 5-etoxi-1,3-hexadieno aproximadamente entre 22 y 30 días tras la inoculación de *Oenococcus oeni*, viéndose incrementada la intensidad aromática con el tiempo. La ausencia de olor a geranio en vinos macerados con *Conyza canadensis* implica que la hipótesis formulada en este trabajo es falsa: se descarta la mala hierba como precursor del 5-etoxi-1,3-hexadieno en los vinos afectados por olor a geranio.

Referencias

- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(9), 2700–2707. <https://doi.org/10.1021/jf026115z>
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. In *Connaissance de la Vigne et du Vin: Vol. v. 22*.
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, *1141*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.106>
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>
- Culleré, L., Ontañón, I., Escudero, A., & Ferreira, V. (2016). Straightforward strategy for quantifying rotundone in wine at ng L⁻¹ level using solid-phase extraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Occurrence in different varieties of spicy wines. *Food Chemistry*, *206*, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.039>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, *69*, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/jf9006483>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odor thresholds*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Goniak, O. J., & Noble, A. C. (1987). Sensory Study of Selected Volatile Sulfur Compounds in White Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *38*(3), 223–227.
- Guth, H. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*, 3027–3032.
- Hernández-Orte, P., Cersosimo, M., Loscos, N., Cacho, J., García-Moruno, E., & Ferreira, V. (2009). Aroma development from non-floral grape precursors by wine lactic acid bacteria. *Food Research International*, *42*(7), 773–781. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.023>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, *84*(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, *72*(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>
- Ripa, I., & Escudero, A. (2018). *Uso de bacterias lácticas en la búsqueda del origen exógeno del olor a*

- geranio en vinos procedentes de uva mecanizada*. Trabajo fin de grado, Universidad de Zaragoza, Spain. <https://zaguan.unizar.es/record/77862>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 485–502. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.658587>
- Siebert, T., Bramley, B., & Solomon, M. (2009). Hydrogen sulfide: Aroma detection threshold study in white and red wines. *AWRI Technical Review*, 183, 14–16.
- Solomon, M. R., Geue, J., Osidazc, P., & Siebert, T. (2010). Aroma detection threshold study of methanethiol in white and red wine. *AWRI Technical Review*, 186, 8–10.
- Tominaga, T., des Gachons, C. P., & Dubourdieu, D. (1998). A new type of flavor precursors in *Vitis vinifera* L cv Sauvignon blanc: S-cysteine conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5215–5219. <https://doi.org/10.1021/jf980481u>

Annex 4. Supplementary information of Chapter 5

Table A4.1. Concentration values of volatiles found in the set of the 25 wines (all expressed in micrograms per litre) and odour thresholds of compounds.

Compounds	HP1-D38		HP2-D45		HP1-D45		LP1-D45		HP1-D59		HP3-D45		LP2-D45		Odour threshold ^a
	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=5)	Mean	s (n=5)	
Carbonyl Compounds															
Fermentative origin															
acetoin	137645	109034	83389	86705	100472	94114	177917	109242	6861	2874	12807	2930	2337	563	150000 ¹
diacetyl	9163	8724	3010	3636	3368	5644	17281	21128	303	315	244	45	19	42	100 ²
Aging related															
siringaldehyde	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	50000 ³
Oxidation related															
acetaldehyde	97223	68055	29794	25660	50542	80117	148087	110815	6169	2420	682	578	348	48	500 ²
benzaldehyde	4.22	2.13	15.7	18.6	19.8	26.2	10.9	9.5	21.7	18.6	4.05	2.08	0.79	0.08	2000 ⁴
Norisoprenoids															
β -damascenone	3.26	1.03	1.84	0.42	1.87	0.82	5.22	1.05	1.60	0.16	<LD	-	0.29	0.64	0.05 ²
α -ionone	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	2.6 ¹
β -ionone	0.24	0.21	0.24	0.21	0.36	0.03	0.24	0.22	0.27	0.24	<LD	-	<LD	-	0.09 ⁵
Esters															
Linear fatty acid derivatives															
ethyl propanoate	518	276	145	194	533	446	736	607	<LD	-	<LD	-	<LD	-	5500 ⁶
ethyl butyrate	255	95	155	25	232	40	445	73	72.7	10.9	103	3	65.3	4.4	125 ⁶
ethyl hexanoate	337	100	501	141	539	194	632	41	653	46	264	23	248	16	62 ⁶
ethyl octanoate	184	77	235	10	180	69	157	52	315	30	224	67	253	22	580 ¹
ethyl decanoate	29.9	3.5	80.1	25.1	59.7	29.5	43.7	5.7	104	25	34.7	5.8	41.2	20.2	200 ⁵
Branched acid derivatives															
ethyl isobutyrate	324	134	342	82	492	218	734	393	181	14	129	10	185	7	15 ⁵
ethyl 2-methylbutyrate	27.5	8.2	28.8	5.1	48.4	24.1	80.4	52.0	16.0	1.0	14.3	0.7	21.7	1.4	18 ⁵
ethyl isovalerate	75.0	17.5	73.5	17.8	125	66	201	119	44.8	2.7	31.8	2.4	39.8	2.8	3 ⁵

Tabla A4.1. (cont.)

Compounds	HP1-D38		HP2-D45		HP1-D45		LP1-D45		HP1-D59		HP3-D45		LP2-D45		Odour threshold ^a
	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=5)	Mean	s (n=5)	
Varietal origin															
methyl vanillinate	22.5	4.0	20.1	2.9	18.2	2.3	17.1	1.8	20.5	1.1	18.84	0.88	16.38	0.49	3000 ⁷
ethyl vanillate	267	35	188	40	171	18	82.6	16.5	280	49	197	13	107	4	990 ⁷
ethyl dihydrocinnamate	9.03	0.76	8.21	3.32	7.68	0.81	1.57	2.72	<LD	-	<LD	-	<LD	-	1.6 ⁵
ethyl cinnamate	0.34	0.34	<LD	-	0.24	0.21	<LD	-	0.74	0.15	<LD	-	<LD	-	1.1 ⁵
Fermentative origin															
ethyl lactate	34613	13719	70340	19193	42842	13500	17021	14565	50068	16868	54706	3720	34501	5871	154000 ¹
diethyl succinate	19807	4794	53878	20159	42967	13785	15658	6005	34780	16336	7822	387	4264	948	200000 ¹
ethyl acetate	49709	53753	81744	56051	81723	13222	84085	81560	118676	5087	719	125	732	237	12300 ⁸
isoamyl acetate	96.7	63.0	132	89	121	31	126	128	151	3	370	23	121	8	30 ²
hexyl acetate	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	3.13	6.99	<LD	-	1500 ¹
isobutyl acetate	22.3	13.6	15.6	6.4	8.6	2.3	12.4	14.2	9.3	0.2	9.90	0.56	4.66	0.63	1600 ⁹
butyl acetate	<LD	-	1.61	1.39	3.04	1.47	5.50	1.29	4.89	0.45	1.95	0.26	1.16	0.17	1800 ¹
phenylethyl acetate	3.19	2.00	5.73	2.50	5.02	0.27	5.92	5.51	6.04	0.23	13.5	1.2	5.11	0.44	250 ²
Alcohols															
isobutanol	40849	8481	36501	3011	42038	4593	48206	9161	29879	936	31756	3060	32039	1573	40000 ²
1-butanol	3885	2804	2394	1356	2839	1573	4657	535	1586	43	1398	123	1207	55	150000 ¹
isoamyl alcohol	259869	5698	288638	21746	314163	17770	282898	28593	256897	12478	272936	8216	288523	3496	30000 ²
methionol	1524	189	2398	490	1053	713	600	297	610	423	2842	74	3456	49	1000 ⁵
benzylic alcohol	859	346	2127	863	2239	367	3458	229	2826	468	<LD	-	<LD	-	200000 ¹⁰
β-phenylethanol	29037	3268	33588	3121	32973	3288	36014	9687	39482	664	37744	2669	42112	2182	14000 ⁵
1-penten-3-ol	162	35	133	25	126	24	148	21	166	23	<LD	-	<LD	-	400 ¹¹
C6 alcohols															
1-hexanol	3834	116	3343	146	3155	642	2983	897	3361	41	2467	57	2094	84	8000 ²
(Z)-3-hexenol	232	19	358	22	274	11	220	23	239	17	112	8	86.4	5.3	400 ²
(E)-2-hexenol	5.04	4.91	9.59	6.16	10.5	2.1	4.04	3.60	4.35	4.12	2.17	0.56	1.05	0.38	15000 ¹

Tabla A4.1. (cont.)

Compounds	HP1-D38		HP2-D45		HP1-D45		LP1-D45		HP1-D59		HP3-D45		LP2-D45		Odour threshold ^a
	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=5)	Mean	s (n=5)	
(Z)-2-hexenol	<LD	-	0.93	1.60	<LD	-	42.0	7.8	46.4	4.3	4.17	0.65	4.36	1.09	n.a. ^b
(E)-3-hexenol	39.1	5.3	39.1	10.4	35.4	5.1	13.4	2.8	24.9	7.8	38.1	1.4	26.4	0.4	1000 ¹²
C8 alcohols															
1-octen-3-ol	17.6	5.8	16.7	7.1	21.9	6.0	2.63	0.08	3.81	1.29	19.6	1.2	22.7	1.1	40 ¹³
(E)-2-octen-1-ol	3.47	0.94	2.90	1.01	2.72	0.59	<LD	-	<LD	-	5.25	0.45	8.49	1.01	n.a. ^b
Acids															
Linear acids															
acetic acid	236858	301349	489693	341956	429795	171144	451330	473456	795137	22561	227008	13970	177599	25725	300000 ²
butyric acid	4731	2856	3686	1878	4755	1715	10171	6527	2169	47	972	49	840	45	173 ⁵
hexanoic acid	1850	231	2449	321	2327	513	1504	201	1116	129	2847	183	2534	147	420 ⁵
octanoic acid	1042	135	1095	32	918	340	445	177	622	61	2715	272	1732	134	500 ⁵
decanoic acid	778	264	707	343	801	117	1065	396	497	16	105	32	75	23	1000 ⁵
Branched acids															
isobutyric acid	2936	882	3864	859	5247	2036	5070	2695	2313	77	1521	80	1317	41	50 ³
isovalerianic acid	2759	538	3807	659	7006	5008	6994	4496	2343	26	1291	35	1120	33	33 ⁵
Terpenols															
linalool	5.70	1.75	15.9	6.9	13.5	4.6	3.72	0.84	16.6	3.3	11.32	0.57	7.49	0.49	25 ⁵
linalool acetate	0.04	0.07	0.10	0.08	0.21	0.04	<LD	-	<LD	-	0.32	0.02	0.29	0.03	n.a. ^b
α -terpineol	9.61	3.32	13.8	4.6	14.7	3.7	11.9	2.0	14.0	2.3	9.42	0.58	13.0	0.3	250 ⁵
β -citronelol	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	3.68	1.38	4.27	0.62	100 ¹
geraniol	<LD	-	3.3	3.1	3.0	3.3	<LD	-	5.15	4.51	3.91	0.45	1.23	1.68	20 ¹⁴
Volatile Phenols															
guaiacol	25.1	9.8	39.5	13.5	41.0	9.7	33.8	3.6	42.8	4.2	12.5	6.3	16.5	5.6	9.5 ⁵
<i>o</i> -cresol	2.70	0.21	2.01	0.48	1.71	0.80	0.19	0.34	<LD	-	0.36	0.81	0.40	0.90	31 ¹
4-ethylguaiacol	0.92	0.32	1.03	0.38	1.17	0.26	3.28	3.07	1.78	0.55	0.32	0.24	33.9	20.6	33 ⁵
<i>m</i> -cresol	<LD	-	0.26	0.24	<LD	-	<LD	-	0.51	0.10	<LD	-	<LD	-	68 ¹⁵

Tabla A4.1. (cont.)

Compounds	HP1-D38		HP2-D45		HP1-D45		LP1-D45		HP1-D59		HP3-D45		LP2-D45		Odour threshold ^a
	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=3)	Mean	s (n=5)	Mean	s (n=5)	
4-propylguaiaicol	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0.17	0.29	<LD	-	<LD	-	10 ⁷
eugenol	3.51	0.76	3.21	0.14	2.37	0.71	3.78	1.49	2.46	0.93	2.32	1.44	3.61	1.38	6 ⁵
4-ethylphenol	0.45	0.40	0.56	0.07	0.55	0.19	1.39	0.85	0.89	0.28	0.30	0.04	51.0	69.5	35 ⁶
4-vinylguaiaicol	52.6	6.7	51.8	1.8	72.7	25.4	85.1	8.3	56.5	4.8	0.18	0.05	0.35	0.04	40 ²
(E)-isoeugenol	6.15	1.01	10.5	7.0	5.43	1.19	8.89	0.59	5.89	0.67	8.80	2.24	10.1	1.8	6 ¹⁴
2,6-dimethoxyphenol	58.9	19.0	72.0	21.3	90.4	17.8	83.6	13.1	132.9	5.0	33.8	30.3	43.5	31.3	570 ⁷
4-vinylphenol	36.0	7.9	25.9	1.4	29.0	17.1	34.2	13.6	24.6	5.5	5.09	1.28	7.25	0.79	180 ¹⁶
4-allyl-2,6-dimethoxyphenol	3.35	0.66	10.59	0.71	7.75	3.98	4.31	1.53	4.94	1.66	<LD	-	0.07	0.15	1200 ³
vanillin	12.7	2.9	17.0	8.7	21.4	14.1	32.0	17.5	39.5	18.2	65.4	69.4	63.8	49.4	995 ¹⁴
acetovanillone	174	34	155	19	150	17	255	28	176	7	131	10	215	18	1000 ¹⁴
Lactones															
(E)-whiskylactone	<LD	-	<LD	-	2.62	4.53	<LD	-	<LD	-	2.36	4.58	10.1	15.8	790 ¹
(Z)-whiskylactone	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	4.35	8.61	12.28	17.24	67 ¹
γ-nonalactone	12.3	1.9	9.47	1.22	9.77	0.44	15.1	1.9	10.7	1.2	8.00	0.49	13.2	0.6	25 ³
γ-butyrolactone	22835	2648	36413	7136	32056	4913	18716	3931	23389	1507	11106	409	10625	548	35000 ¹⁴
Methoxypyrazines															
IPMP	0.000011	0.000005	0.000032	0.000011	0.000028	0.000002	0.000034	0.000009	0.000027	0.000020	0.000033	0.000017	0.000541	0.000077	0.001 ¹⁷
SBMP	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0.002 ¹⁸
IBMP	0.00016	0.00014	0.00007	0.00014	0.00002	0.00010	0.00003	0.00011	0.000001	0.00006	0.00043	0.00006	0.00038	0.00007	0.015 ¹⁹
Sesquiterpenes															
rotundone	0.000018	0.000015	0.000054	0.000041	0.000107	0.000085	0.000081	0.000011	0.000170	0.000030	0.000079	0.000022	0.000055	0.000014	0.015 ²⁰

^aReference in which the odour threshold value has been calculated is given in brackets. [1] (Etiévant, 1991). [2] (Guth, 1997). [3] (Gemert, 2003). [4] (Peinado *et al.*, 2004). [5] (Ferreira *et al.*, 2000). [6] (San Juan *et al.*, 2012). [7] (López *et al.*, 2002). [8] (Escudero *et al.*, 2004). [9] (Ferreira *et al.*, 2002). [10] (Aznar *et al.*, 2003). [11] (Buttery & Ling, 1995). [12] (Fariña *et al.*, 2015). [13] (Boutou & Chatonnet, 2007). [14] (Escudero *et al.*, 2007). [15] (Ferreira *et al.*, 2009). [16] (Boidron *et al.*, 1988). [17] (Pickering *et al.*, 2007). [18] (Sidhu *et al.*, 2015). [19] (Roujou de Boubee *et al.*, 2000). [20] (Culleré *et al.*, 2016). ^b n.a. Threshold is not available. LD: detection limit

References

- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(9), 2700–2707. <https://doi.org/10.1021/jf026115z>
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. In *Connaissance de la Vigne et du Vin: Vol. v. 22*.
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, *1141*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.106>
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>
- Culleré, L., Ontañón, I., Escudero, A., & Ferreira, V. (2016). Straightforward strategy for quantifying rotundone in wine at ng L⁻¹ level using solid-phase extraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Occurrence in different varieties of spicy wines. *Food Chemistry*, *206*, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.039>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, *69*, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/jf9006483>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odor thresholds*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Guth, H. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*, 3027–3032.
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, *84*(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, *72*(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines

- from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 485–502. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.658587>

Annex 5. Supplementary information of Chapter 6

Table A5.1. Conventional oenological parameters of 39 samples of must expressed as the average and standard deviation (s).

Days <i>Postvéraison</i>	42						49				56				62				41				48		60	
	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D	
Vineyard	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s
density (g L ⁻¹)	1120	1.22	1108	2.03	1100	2.89	1121	2.04	1111	1.25	1119	3.72	1108	3.22	1125	0.85	1117	2.06	1109	3.41	1114	2.04	1110	4.42	1119	2.08
TSS* (°Brix)	25.1	0.29	22.4	0.45	20.6	0.63	25.4	0.47	23.2	0.24	25.0	0.92	22.6	0.67	26.5	0.22	24.8	0.40	22.8	0.75	23.8	0.48	23.0	1.00	25.0	0.52
pH	2.87	0.02	2.79	0.05	2.70	0.01	3.43	0.02	3.31	0.03	3.42	0.02	3.35	0.03	3.39	0.01	3.39	0.02	3.36	0.03	3.43	0.00	3.38	0.04	3.42	0.01
total acidity (g tartaric acid L ⁻¹)	4.16	0.27	6.10	0.52	7.11	0.50	3.99	0.07	6.12	0.34	4.18	0.18	5.68	0.37	4.11	0.06	5.50	0.16	6.15	0.20	6.04	0.05	6.41	0.25	5.47	0.09
YAN** (mg L ⁻¹)	328	21.4	408	24.2	386	22.0	144	15.2	250	21.9	148	10.2	233	21.1	186	9.1	304	12.6	199	19.3	248	12.4	234	9.1	237	7.5

*TSS: Total soluble solids content

**YAN: yeast assimilable nitrogen

A5.2. Análisis olfatométrico de vinos de Moristel procedentes de uvas de distintos viñedos y con diferentes estados de maduración

1. Objetivo

El objetivo del presente trabajo es realizar la caracterización olfatométrica de vinos, sensorialmente diferentes, elaborados a partir de uvas de diferentes parcelas y con distinto grado de madurez.

2. Material y métodos

Se realizó una selección de diferentes muestras del estudio de maduración de Moristales para analizar mediante olfatometría. La metodología GC-O se explica en la Sección 2.2 del Capítulo 3. La selección de las muestras se basó en buscar los vinos organolépticamente más dispares, según un extenso trabajo sensorial que se resumió en el artículo de Ferrero-del-Teso y col. (2020). Las pruebas sensoriales consistieron en una selección de muestras mediante un sorting task de los vinos elaborados en esa añada. Para posteriormente llevar a cabo un análisis descriptivo del tipo RATA (Rate-all-that-apply) (Ares y col., 2014) con un panel sensorial entrenado. Parte de estos resultados se resumen en la **Figura 1**.

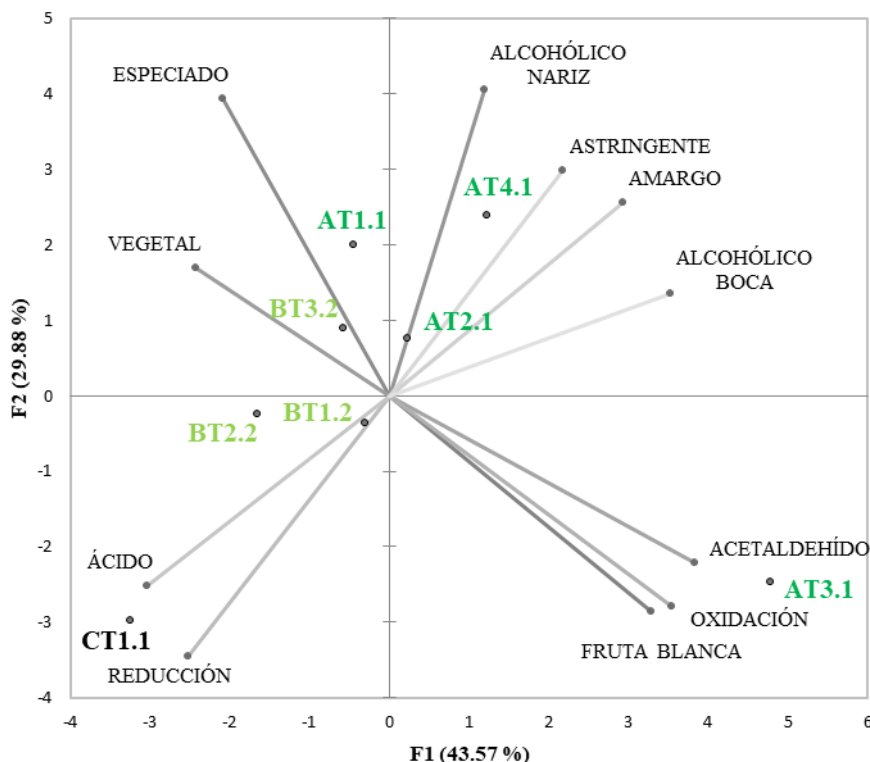


Figura 1. Proyecciones de los descriptores de aroma y los vinos para las dos primeras componentes del espacio del PCA obtenido con los atributos significativos puntuados para los 8 vinos evaluados que fueron preseleccionados mediante sorting task.

De esta forma, los vinos seleccionados fueron CT1.1, BT2.2, AT3.1 y AT4.1 (Abardía & Escudero, 2018) ya que mostraban las mayores diferencias organolépticas y además, también englobaban la mayor variabilidad de puntos de maduración y viñedos de esta anualidad. Cabe destacar que se empleó la muestra AT3.1 que fue la que presentó un anómalo estado de oxidación, como demuestran los resultados del sensorial.

Para el tratamiento de datos se llevó a cabo un test estadístico ANOVA de 1 factor, considerando como datos las intensidades de cada zona de olor; el factor, muestra y las réplicas los sniffers. El programa empleado fue XLSTAT Software Estadístico para Excel.

3. Resultados

Los resultados olfatométricos se muestran en la **Tabla 1**, donde se pueden encontrar 31 zonas de olor. Se conocen las moléculas responsables de todas las áreas, excepto una que aparece como no identificada en el índice 1014 de la que ya se trató anteriormente (Capítulo 3). Se pueden observar compuestos como butirato de etilo, alcohol isoamílico, ácido acético o β -damascenona, que se encuentran en todas las muestras por encima del 50%. Se pueden considerar compuestos que forman parte de la base del aroma del vino, están siempre presentes y en altas concentraciones. Nos sorprendió ver que la FM asociada a la β -damascenona apenas cambia con la madurez o incluso decrece, ya que esperábamos ver un incremento de la misma por el proceso de maduración de la uva (Ferrero-del-Teso y col., 2020) y el proceso de pasificación (Lan y col., 2016; San-Juan y col., 2011). Esto puede ser debido a que la β -damascenona es un compuesto con un exponente de Steven muy bajo (curva psicofísica muy tumbada) que hace que su cuantificación mediante olfatometría sea complicada. Alguna vez se ha denominado “compuesto chicle”.

Por otro lado, hay compuestos que solo destacan en uno de los cuatro extractos, como el metional o el (*E*) -2-octenal. Otros, sin embargo, aparecen a bajas frecuencias en todos los casos, como el metionol.

Según los resultados olfatométricos, los compuestos que podrían ser responsables de las diferencias sensoriales entre vinos son:

- El acetaldehído dietil acetal, que es mayor en la muestra que apareció oxidada y en vinos elaborados a partir de uvas inmaduras. Este compuesto proviene de la reacción entre el etanol y el acetaldehído a través de vías químicas y bioquímicas (levaduras flor) (Zea y col., 2015), de hecho, se ha utilizado como marcador para vinos de crianza oxidativa y biológica como los vinos de Jerez (Moyano y col., 2002; Zea y col., 2015). Por lo tanto, su presencia es muy coherente con el análisis químico del acetaldehído previamente realizado en estos vinos (Capítulo 6).

Tabla 1. Estudio GC-O: Índices de retención cromatográfica (LRI en columna polar y apolar), descriptores aromáticos, identificación química, frecuencia modificada (MF%) para cada zona aromática de los 4 vinos. Las diferentes letras indican la existencia de una diferencia significativa entre muestras ($p < 0,05$) (test de Fisher).

LRI		Identificación	Descriptor	FM%				p
DB-WAX	DB-5			CT1.1	BT2.2	AT3.1	AT4.1	
941	728	acetaldehído dietil acetal**	dulce, fresa, anisado	26 ^b	26 ^b	58 ^a	- ^b	0,005
937	755	propanoato de etilo*	disolvente, fresa, alcohólico	20 ^b	47 ^{ab}	57 ^a	16 ^b	0,049
953	814	isobutirato de etilo*	fresa-nata, caramelo	81 ^a	88 ^a	80 ^a	85 ^a	>0,1
958	593	diacetilo*	mantequilla, lácteo	- ^b	45 ^a	23 ^b	- ^b	0,010
1013	827	n.i. ^a	disolvente, dulce	55 ^a	62 ^a	57 ^a	43 ^a	>0,1
1041	801	butirato de etilo*	fresa-nata, dulce	66 ^a	78 ^a	66 ^a	58 ^a	>0,1
1056	846	2-metilbutirato de etilo*	afrutado, anisado, fresa	69 ^a	76 ^a	76 ^a	74 ^a	>0,1
1066	700	2,3 pentanodiona***	caramelo, fresa	- ^b	- ^b	- ^b	30 ^a	0,002
1074	853	3-metilbutirato de etilo*	medicinal, aspirina, frutal	76 ^a	78 ^a	80 ^a	74 ^a	>0,1
1093	800	hexanal**	rancio, verde	- ^a	14 ^a	7 ^a	- ^a	>0,1
1100	647	isobutanol*	queso, rancio	36 ^a	27 ^a	47 ^a	48 ^a	>0,1
1132	875	acetato de isoamilo*	plátano	35 ^a	43 ^a	59 ^a	50 ^a	>0,1
1192	972	(E)-2-hexanal**	tostado, metálico	14 ^a	14 ^a	14 ^a	- ^a	>0,1
1198	969	4- metilpentanoato de etilo**	frutal, aspirina	26 ^a	- ^b	27 ^{ab}	- ^b	0,028
1220	736	alcohol isoamílico*	queso, rancio	89 ^a	86 ^a	89 ^a	89 ^a	>0,1
1244	996	hexanoato de etilo*	fruta fresca, dulce	74 ^a	41 ^b	70 ^a	60 ^{ab}	0,019
1292	952	furfuril etil éter/octanal***	disolvente	26 ^a	13 ^a	16 ^a	- ^a	>0,1
1306	975	1-octen-3-ona**	champiñón	- ^c	33 ^a	41 ^a	26 ^b	0,022
1336	985	heptenal**	graso	17 ^a	7 ^a	- ^a	- ^a	>0,1
1382	983	(Z)-1,5-octadien-3-ona**	fresco, vegetal	- ^b	29 ^a	10 ^b	- ^b	0,028
1444	1195	octanoato de etilo*	gas, químico	46 ^a	36 ^b	31 ^{ab}	23 ^{ab}	>0,1
1455	1080	(E)-2-octenal**	papel, polvo	17 ^b	- ^b	7 ^b	24 ^a	0,002
1461	600	ácido acético*	vinagre	74 ^a	80 ^a	83 ^a	74 ^a	>0,1
1462	936	metional*	patata cocida	31 ^a	- ^a	- ^a	- ^a	>0,1
1495	-	decanal***	jabonoso, plástico	10 ^a	- ^a	12 ^a	- ^a	>0,1
1513	1156	(Z)-2-nonenal**	verde, papel, pepino	57 ^a	50 ^a	68 ^a	64 ^a	>0,1
1544	1167	(E)-2-nonenal**	cartón, polvo, verde	29 ^a	23 ^a	21 ^a	23 ^a	>0,1
1622	1270	(Z)-2-decenal**	plástico, polvo, madera	10 ^b	- ^b	23 ^{ab}	37 ^a	0,001
1641	822	ácido butírico*	queso, desagradable	35 ^a	29 ^a	41 ^a	21 ^a	>0,1
1681	834	ácido 3-metilbutírico*	queso, grasa	69 ^a	81 ^a	80 ^a	83 ^a	>0,1
1717	1225	(E,E)-2,4-nonadienal**	humedad, rancio	12 ^a	10 ^a	17 ^a	- ^a	>0,1
1732	978	metionol*	patata cocida	23 ^a	16 ^a	9 ^a	21 ^a	>0,1
1746	1159	acetato de bencilo**	queso, quemado, sucio	- ^b	35 ^a	12 ^b	23 ^{ab}	>0,1
1818	1335	(E,E)-2,4-nonadienal**	geranio	10 ^a	7 ^a	- ^a	- ^a	>0,1
1835	1388	β-damascenona*	frambuesa, compota, floral	68 ^a	60 ^a	57 ^a	55 ^a	>0,1
1875	1100	guaiacol*	medicinal, especiado	41 ^a	33 ^a	23 ^a	12 ^a	>0,1
1929	1116	β-feniletanol*	rosas	60 ^a	50 ^a	64 ^a	37 ^a	>0,1
2090	1103	p/m-cresol*	sucio, estiércol	29 ^a	29 ^a	20 ^a	- ^a	>0,1
Sumatorio de aldehídos y cetonas				202	200	236	174	
Número de aldehídos y cetonas				10	10	11	5	

* Identificación basada en la coincidencia de índices de retención en dos columnas cromatográficas de gases y datos de espectrometría de masas de los compuestos puros disponibles en el laboratorio.

** Identificación basada en la coincidencia de datos de retención cromatográfica y en la similitud de olores. El compuesto no produjo ninguna señal clara en el espectrómetro de masas debido a su baja concentración o bien no se encuentra registrado en nuestras bases de datos.

*** Igual que la nota a pie de página ** pero el tiempo de retención en una sola columna

^a n.i. compuestos no identificados.

- La 2,3 pentanodiona es un compuesto caracterizado por un aroma láctico (Cacho y col., 2013) que se encuentra presente en vinos procedentes de uvas maduras y de viñedos de mejores cualidades.
- Por último y al igual que en el Capítulo 3, si nos fijamos en el sumatorio de compuestos carbonílicos con descriptores vegetales y grasos que apenas parecen tener importancia sensorial, vemos como la muestra oxidada (AT3.1) y las muestras elaboradas con uvas menos maduras (CT1.1 y BT2.2) presentan un mayor número de esos compuestos y un mayor sumatorio de frecuencias modificadas para los mismos. Aunque en este caso las frecuencias modificadas no son muy superiores en las muestras elaboradas con uvas vendimiadas antes, si lo son el número de este tipo de compuestos encontrados, ya que se encuentran el doble en los vinos CT1.1 y BT2.2 que en la muestra AT4.1. Compuestos como la (*E,E*)-2,4-nonadienal, (*Z*)-1,5-octadien-3-ona, (*E,E*)-2,4-decadienal, o (*E*)-2-nonenal, podrían jugar un papel relevante en la percepción de notas vegetales (Alegre y col., 2020).

4. Conclusiones

La información aportada por el estudio olfatométrico es coherente con los análisis cuantitativos (Capítulo 6) y trabajos sensoriales realizados previamente (Ferrero-del-Teso y col. 2020). Cuando se elaboran vinos con uvas más inmaduras se generan más aldehídos, por lo que los vinos pueden adquirir esas notas oxidativas que hemos encontrado en el trabajo sensorial.

Table A5.3. Concentration values of volatiles found in the set of the 39 wines (all expressed in micrograms per litre, except the oenological classical parameters). Aromatic compounds that showed significant differences between wines are marked in bold.

Days <i>Postvéraison</i>	42						49				56				62				41				48		60		Odor thresh- hold ^a			
	Vineyard		A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D			D		
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s		Mean	s	
Classical Parameters																														
pH	3.34	0.02	3.36	0.02	3.18	0.02	3.35	0.03	3.30	0.05	3.37	0.02	3.40	0.03	3.37	0.03	3.43	0.03	3.31	0.04	3.35	0.01	3.32	0.01	3.32	0.02				
volatile acidity (g L ⁻¹)	0.637	0.040	0.527	0.021	0.307	0.025	0.570	0.070	0.490	0.000	0.515	0.049	0.550	0.020	0.727	0.193	1.798	0.621	0.590	0.050	0.587	0.021	0.353	0.040	0.450	0.026				
total acidity (g tartaric acid L ⁻¹)	7.63	0.33	7.25	0.22	8.80	0.24	7.10	0.27	7.58	0.69	6.64	0.32	6.39	0.25	6.94	0.44	7.76	0.99	4.49	0.31	4.29	0.08	4.51	0.19	4.56	0.13				
reductive sugar (g L ⁻¹)	0.383	0.230	0.940	0.106	0.613	0.035	0.063	0.110	0.290	0.020	0.460	0.297	0.413	0.081	0.220	0.195	1.022	0.116	0.923	0.259	0.843	0.240	0.667	0.501	0.993	0.202				
malic acid (g L ⁻¹)	0.913	0.064	0.523	0.031	0.787	0.099	0.700	0.121	0.583	0.025	0.690	0.099	0.330	0.030	0.733	0.085	0.420	0.205	0.490	0.050	0.440	0.040	1.34	0.63	0.907	0.248				
lactic acid (g L ⁻¹)	0.950	0.036	1.01	0.02	1.00	0.04	0.980	0.053	0.953	0.064	1.01	0.02	1.14	0.02	0.840	0.030	0.873	0.073	1.22	0.06	1.13	0.06	0.907	0.219	0.910	0.046				
ethanol (%)	15.7	0.1	12.6	0.2	11.4	0.5	15.4	0.16	12.65	0.27	15.69	0.86	13.13	0.46	16.78	0.35	13.97	0.13	12.66	0.67	12.84	0.57	13.08	0.46	14.32	0.55				
TPI ^b	48.5	2.5	44.5	1.8	32.3	1.4	48.6	1.0	46.7	1.4	52.2	2.6	46.9	3.8	56.1	2.4	48.3	1.8	26.4	1.9	29.5	1.8	27.1	1.4	30.0	1.3				
CF	11.2	0.6	11.0	0.8	8.37	0.16	13.4	0.8	14.4	1.1	9.73	3.74	12.2	0.1	13.4	0.4	9.17	0.40	6.20	0.42	8.23	0.74	7.21	0.78	9.14	0.53				
Free SO ₂ (mg L ⁻¹)	10.1	2.8	6.4	2.8	5.6	2.1	9.1	3.3	6.9	0.9	17.2	0.6	13.6	2.1	22.4	0.8	24.3	1.2	8.5	1.7	8.3	2.6	9.1	6.5	22.1	1.2				
Total SO ₂ (mg L ⁻¹)	50.1	3.7	49.1	2.6	48.8	3.0	50.4	2.1	48.3	0.5	48.8	2.3	48.3	2.0	50.9	2.0	49.1	1.7	48.3	1.2	49.1	2.4	57.6	5.3	48.8	2.1				
Carbonyl Compounds																														
Fermentative origin																														
acetoine	2785	219	4588	907	11095	1640	4160	1721	12015	2200	2434	665	2155	436	1648	601	4926	2975	6139	16	4589	1529	9950	4391	12101	1243	150000 ¹			
diacetyl	169	52	895	122	708	209	634	392	1009	213	675	728	910	108	126	103	1692	383	972	203	469	73	1065	562	3270	622	100 ²			
Aging Related																														
siringaldehyde	0.785	0.433	0.274	0.238	<LD	-	0.520	0.564	0.280	0.035	0.795	0.707	0.162	0.140	0.329	0.035	0.309	0.083	0.288	0.026	0.909	0.206	0.306	0.069	0.521	0.156	50000 ³			
Oxidation-related																														
acetaldehyde total	16367	8827	26127	2530	25414	2868	19551	9337	27566	1996	7801	896	13599	2749	6785	2140	4271	1221	44061	5393	66703	17989	61350	29046	6668	655				
acetaldehyde (Free)	769	292	1206	310	1226	260	1359	652	2681	546	529	310	2190	1077	1038	527	548	207	2732	539	4065	1654	3834	2673	57.7	50.0	500 ²			
benzaldehyde	1.47	0.17	1.19	0.16	1.06	0.05	0.694	0.335	0.528	0.175	0.707	0.389	0.798	0.360	1.14	0.16	1.64	0.35	7.98	1.87	3.86	0.50	4.46	0.57	4.37	0.52	2000 ⁴			
Norisoprenoids																														
β-damascenone	0.603	0.018	1.37	0.03	0.781	0.035	0.355	0.320	0.865	0.219	0.360	0.509	0.942	0.060	0.580	0.107	1.54	0.25	2.23	0.01	3.15	0.26	2.48	0.24	2.59	0.11	0.05 ²			
α-ionone	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0.270	0.139	0.227	0.197	0.353	0.009	0.293	0.029	2.6 ¹			
β-ionone	0.671	0.070	0.529	0.017	0.474	0.028	0.524	0.033	0.406	0.021	0.461	0.096	0.283	0.245	0.467	0.032	0.577	0.038	0.492	0.004	0.532	0.024	0.504	0.024	0.468	0.032	0.09 ²			

Table A5.3. (cont.)

Days <i>Postvéraison</i>	42						49				56				62				41				48		60		Odor thresh- hold ^a		
	Vineyard		A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D			D	
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s		Mean	s
Esters																													
Linear fatty acid derivatives																													
ethyl propanoate	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	193	14	267	17	191	20	180	42	5500 ⁶		
ethyl butyrate	50.8	2.7	62.6	7.2	60.7	4.3	48.4	2.1	45.9	11.5	61.0	6.2	65.1	2.3	99.4	5.2	93.8	24.0	139	3	140	7	143	17	138	8	125 ⁶		
ethyl hexanoate	280	22	229	7	239	12	230	8	211	21	253	36	216	46	202	50	239	24	350	56	401	69	300	55	414	77	62 ⁶		
ethyl octanoate	129	6	90.8	4.2	103	19	85.5	32.2	84.3	26.8	161	16	157	36	151	19	132	25	96.3	21.3	140	15	95.9	23.3	121	16	580 ¹		
ethyl decanoate	12.7	11.2	51.3	41.9	<LD	-	22.4	21.2	48.1	15.8	<LD	-	67.1	6.8	12.6	10.9	130	57	272	2	316	37	244	18	314	85	200 ⁵		
Branched acid derivatives																													
ethyl isobutyrate	132	25	94.4	21.4	116	6	147	15	103	7	109	6	70.2	12.5	92.2	19.7	59.7	41.7	101	6	106	13	103	10	85.7	4.7	15 ⁵		
ethyl 2-methylbutyrate	17.2	0.6	11.0	1.0	14.8	0.1	16.2	2.0	12.3	2.3	10.6	0.4	8.44	0.74	11.7	1.7	9.43	0.95	19.0	1.0	16.3	1.2	17.0	0.2	15.9	0.5	18 ⁵		
ethyl isovalerate	58.1	3.8	45.1	1.9	43.3	14.1	28.2	5.3	23.6	3.8	20.5	2.1	17.4	1.5	19.2	2.6	14.2	4.5	20.3	0.4	18.6	0.4	16.9	0.4	15.4	1.5	3 ⁵		
Varietal origin																													
methyl vanillinate	3.79	0.10	5.75	0.49	3.85	0.13	3.38	0.13	4.57	0.81	3.61	0.01	6.77	1.95	5.00	0.48	6.63	0.36	3.03	0.59	2.92	0.20	2.77	0.52	3.18	0.30	3000 ⁷		
ethyl vanillate	170	6	118	5	77.3	6.0	153	19	119	19	134	28	115	3	228	25	156	27	70.4	3.1	111	21	80.6	12.3	118.7	6.6	990 ⁷		
ethyl dihydrocinnamate	0.447	0.072	0.674	0.140	0.462	0.066	0.200	0.175	0.539	0.063	0.325	0.065	0.637	0.170	0.376	0.033	0.800	0.125	0.355	0.020	0.440	0.023	0.406	0.032	0.403	0.012	1.6 ⁵		
ethyl cinnamate	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0.179	0.310	0.238	0.045	0.391	0.087	1.1 ⁵		
Fermentative origin																													
ethyl lactate	29302	1448	61520	4497	43515	2306	29564	3314	50959	4198	33465	70	68301	3186	12062	1627	51505	7450	63201	6750	55674	2288	43822	11783	47303	2748	154000 ¹		
diethyl succinate	2220	205	5985	4553	1531	80	6568	3075	6192	1828	1299	32	8458	632	1240	103	12623	4388	8916	78	8799	1047	8336	290	8086	359	200000 ¹		
ethyl acetate	76555	6138	58303	852	50153	1889	64386	1703	64408	1897	61669	404	39180	33128	1249	225	219000	209835	49044	1096	62003	4105	43153	1078	51112	2800	12300 ⁸		
isoamyl acetate	123	14	92.9	1.3	98.5	8.1	138	4	99.3	6.3	171	4	104	26	121	50	406	111	232	63	150	42	196	72	274	45	30 ²		
isobutyl acetate	6.62	1.00	5.60	0.40	5.37	0.28	6.32	0.59	5.48	0.18	6.96	0.72	5.73	0.39	10.4	4.9	27.4	6.7	6.22	0.47	5.37	0.37	6.23	0.76	7.79	0.05	1600 ⁹		
butyl acetate	2.01	0.11	1.64	0.32	1.77	0.25	1.90	0.13	1.89	0.66	2.25	0.32	1.99	0.52	3.17	0.55	9.29	3.09	7.39	0.24	7.18	0.56	14.5	1.2	14.2	1.8	1800 ¹		
phenylethyl acetate	5.98	0.65	3.91	0.21	3.52	0.06	6.39	0.16	4.34	0.15	6.95	0.17	4.98	0.36	6.04	2.01	11.1	2.7	3.05	0.26	2.77	0.11	2.68	0.25	3.31	0.38	250 ²		
Alcohols																													
isobutanol	29844	1160	29151	1371	30783	1354	33245	747	28198	960	38116	1480	29192	933	31066	2176	33961	714	31924	1195	27969	2103	36641	4274	31887	1459	40000 ²		
1-butanol	1031	59	1191	109	872	28	1336	51	1453	332	1322	181	1018	133	1778	93	2477	175	930	36	1120	106	945	84	1163	34	150000 ¹		
isoamyl alcohol	255953	10166	255297	19329	235955	4940	262100	3515	245167	3437	281089	12159	270537	9289	229127	9072	253260	899	255954	6558	253163	14564	272488	12835	262139	5568	30000 ²		

Table A5.3. (cont.)

Days <i>Postvéraison</i>	42						49				56				62				41				48		60		Odor thresh- hold ^a
	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D		
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	
methionol	1754	137	2066	241	2343	188	2538	1190	1859	130	1967	43	2316	139	1036	93	437	86	215	4	174	17	218	17	184	13	1000 ⁵
benzylic alcohol	208	14	524	102	224	67	201	3	299	52	292	35	461	147	410	57	484	16	47.9	1.4	54.5	5.4	49.4	4.1	46.3	3.4	200000 ¹⁰
β-phenylethanol	35143	582	27928	1531	28257	1598	38796	730	27190	1628	42320	1270	35139	7627	33784	2781	17377	1779	3440	19	3173	275	3521	119	3188	222	14000 ⁵
1-penten-3-ol	88.0	15.9	93.8	4.2	76.1	20.1	41.1	18.3	51.8	7.7	<LD	-	<LD	-	12.6	21.8	86.8	22.2	247	41	274	20	175	37	198	25	400 ¹¹
C6 Alcohols																											
1-hexanol	2933	126	3030	140	3154	54	3195	113	3301	146	2650	67	2707	225	2723	146	2627	61	2924	188	3361	57	2910	151	3325	20	8000 ²
(Z)-3-hexenol	160	11	137	7	120	12	82.2	7.0	84.3	3.2	37.1	1.3	42.7	4.2	31.6	4.4	35.6	1.6	52.5	1.1	51.5	1.7	44.8	8.9	32.5	1.4	400 ²
(E)-2-hexenol	2.30	0.77	15.7	1.6	6.55	1.31	2.58	0.39	6.12	1.84	0.377	0.533	9.48	1.09	1.08	0.34	3.64	1.31	13.9	2.7	19.0	4.1	6.37	1.81	5.03	0.83	15000 ¹
(E)-3-hexenol	55.3	7.3	75.0	3.1	57.1	3.5	52.0	6.0	78.7	6.4	41.9	2.2	66.4	6.2	36.3	3.1	61.0	5.5	74.5	4.2	102	7	83.8	0.8	80.4	5.4	1000 ¹²
Insaturated C8 Alcohols																											
1-octen-3-ol	16.7	2.2	13.9	0.9	12.4	4.2	17.1	2.0	14.3	1.1	20.0	2.1	14.6	1.3	31.3	5.1	29.2	2.2	9.68	0.90	16.2	1.5	11.0	1.0	16.6	3.5	40 ¹³
(E)-2-octen-1-ol	2.13	0.05	1.94	0.35	1.46	0.39	5.67	4.07	1.07	0.07	1.26	0.21	1.79	0.71	2.58	0.30	0.911	0.313	<LD	-	5.67	0.58	<LD	-	<LD	-	n.a. ⁶
Acids																											
Linear acids																											
acetic acid	443013	17278	288118	28070	208726	24560	455731	45689	305827	6772	435897	28736	310809	36945	598548	128527	1225711	403181	438926	42346	461960	41504	297419	26445	478917	11187	300000 ²
butyric acid	957	20	796	47	763	95	687	16	741	133	773	32	728	31	1075	83	1139	37	243	7	473	144	231	26	239	69	173 ⁵
hexanoic acid	1848	132	1502	54	1817	46	1681	47	1499	68	1571	108	1635	327	1770	158	1305	58	199	5	258	18	189	12	234	12	420 ⁵
octanoic acid	938	54	720	27	1035	25	811	9	669	84	1006	72	1107	231	1426	124	846	55	1067	35	1198	147	822	107	1038	109	500 ⁵
decanoic acid	462	33	514	101	282	246	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	156	38	115	25	899	10	887	75	775	43	740	76	1000 ⁵
Branched acids																											
isobutyric acid	2699	216	1867	63	1580	183	2713	256	2021	207	2200	5	1808	55	2208	300	2914	303	2692	21	2826	235	2491	145	2585	95	50 ³
isovalerianic acid	3491	135	2396	39	2022	202	3465	231	2446	115	2681	99	2137	53	2297	159	2214	82	108	5	212	39	72.3	10.5	69.9	10.2	33 ⁵
Terpenols																											
linalool	3.31	0.33	3.24	0.23	2.46	0.44	2.64	0.10	2.98	0.77	3.05	0.08	3.67	0.29	2.52	0.20	2.89	0.35	4.85	0.18	4.45	0.13	4.37	0.33	3.67	0.07	25 ⁵
linalool acetate	0.518	0.014	0.425	0.040	0.296	0.258	<LD	-	0.018	0.031	0.509	0.033	0.536	0.045	0.508	0.063	0.666	0.076	0.874	0.010	0.868	0.036	0.598	0.035	0.584	0.094	n.a. ⁶
α-terpineol	1.48	0.17	1.52	0.04	1.57	0.08	1.40	0.08	1.37	0.08	1.42	0.03	1.51	0.10	0.934	0.070	0.858	0.134	1.80	0.03	1.51	0.09	1.84	0.07	1.54	0.10	250 ⁵
β-citronelol	2.60	0.16	2.34	0.39	0.962	0.940	<LD	-	0.449	0.778	0.649	0.918	<LD	-	<LD	-	4.12	0.51	4.03	0.38	3.96	0.18	4.67	0.26	4.23	0.21	100 ¹
geraniol	4.20	0.39	5.22	0.88	2.59	0.08	4.67	0.73	4.32	0.86	4.31	0.46	4.95	0.16	3.82	0.22	5.68	1.35	3.30	1.60	3.29	2.08	1.99	0.10	1.52	0.23	20 ¹⁴

Table A5.3. (cont.)

Days Postvéraison	42						49				56				62				41				48		60		Odor thresh- hold ^a	
	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D			
Vineyard	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s		
Volatile Phenols																												
guaiacol	19.4	2.1	27.0	4.84	12.61	4.56	6.06	5.65	11.6	1.5	9.74	2.80	14.5	1.1	17.1	2.6	30.7	7.3	3.17	0.48	4.00	0.54	3.76	0.56	3.67	0.19	9.5 ⁵	
<i>o</i> -cresol	<LD	-	2.20	0.95	<LD	-	0.814	0.025	0.857	0.096	1.00	0.01	1.34	0.20	0.843	0.159	<LD	-	0.764	0.022	0.910	0.027	0.964	0.078	0.994	0.055	31 ¹	
4-ethylguaiaicol	0.127	0.024	0.737	0.386	2.86	0.62	0.107	0.058	1.37	1.55	0.190	0.058	0.326	0.074	0.094	0.010	0.258	0.156	0.019	0.019	0.069	0.019	0.138	0.130	0.062	0.006	33 ⁵	
<i>m</i> -cresol	<LD	-	0.399	0.519	<LD	-	0.227	0.393	<LD	-	<LD	-	0.063	0.109	<LD	-	<LD	-	0.157	0.001	0.175	0.037	0.211	0.021	0.229	0.023	68 ¹⁵	
eugenol	2.52	0.48	3.70	0.18	2.29	0.15	2.20	0.64	2.46	0.81	2.68	0.37	2.58	0.81	2.15	0.48	2.85	0.66	1.32	0.08	1.83	0.14	1.41	0.05	1.44	0.05	6 ⁵	
4-ethylphenol	0.175	0.021	1.52	1.32	42.3	15.4	0.120	0.105	6.96	9.27	0.296	0.137	0.503	0.118	0.220	0.071	0.139	0.241	<LD	-	0.161	0.014	0.559	0.822	0.180	0.012	35 ⁶	
4-vinylguaiaicol	21.5	3.4	33.5	1.3	18.5	2.9	13.0	3.8	22.8	3.4	19.7	6.4	25.2	6.2	19.3	3.8	11.0	18.1	5.93	0.18	10.1	0.5	8.29	1.01	9.54	0.29	40 ²	
<i>(E)</i> -isoeugenol	9.91	2.31	12.0	2.2	8.68	2.60	7.49	4.90	6.88	2.83	10.3	5.7	7.08	4.20	5.62	1.46	7.38	2.98	1.15	0.11	2.43	0.50	2.14	0.30	2.31	0.09	6 ¹⁴	
2,6-dimethoxyphenol	23.3	0.7	31.7	7.1	16.2	4.9	10.6	3.6	14.3	2.5	11.1	1.3	16.8	1.2	20.8	2.7	42.1	13.3	5.03	0.63	6.28	0.95	5.58	1.31	4.66	0.40	570 ⁷	
4-vinylphenol	45.2	3.6	53.7	3.9	43.3	18.2	16.6	4.4	27.1	3.5	25.6	2.4	31.4	3.9	44.6	6.8	24.6	18.8	6.37	0.33	6.65	0.68	9.27	1.85	11.46	1.04	180 ¹⁶	
4-allyl-2,6-dimethoxyphenol	3.43	0.53	6.32	0.41	3.29	0.65	3.20	1.52	3.66	1.11	4.59	2.21	5.03	2.42	3.64	0.77	1.72	2.99	2.55	0.10	6.97	0.65	2.87	0.03	3.22	0.48	1200 ³	
vanillin	6.11	0.95	4.61	0.47	4.80	0.67	6.15	1.43	5.22	1.21	5.06	2.29	5.18	1.64	12.4	2.6	15.5	5.0	8.77	2.16	9.18	1.31	7.20	1.06	5.26	0.90	995 ¹⁴	
acetovanillone	66.4	8.0	98.6	5.0	68.6	3.7	53.6	4.4	91.0	7.0	57.4	7.3	82.3	9.6	72.8	4.7	111	5	32.7	0.7	68.3	3.4	39.9	4.9	47.5	7.0	1000 ¹⁴	
Lactones																												
<i>(E)</i> -whiskylactone	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0.407	0.047	0.554	0.024	0.517	0.052	0.742	0.058	790 ¹	
γ -nonalactone	16.9	0.8	17.6	0.7	13.8	2.0	17.4	2.2	14.8	1.7	20.2	0.9	15.4	0.8	22.4	3.9	18.8	2.8	10.6	0.7	14.9	0.7	13.5	1.8	18.4	3.0	25 ³	
γ -butyrolactone	16180	1080	19640	2467	10665	821	16551	826	19268	2993	12096	2674	33007	6935	11840	489	9244	1212	2167	237	1691	58	1189	202	1151	77	35000 ¹⁴	
Methoxypyrazines																												
IPMP	0.00004	0.00001	0.00006	0.00001	0.00004	0.00001	0.00003	0.00001	0.00007	0.00002	0.00006	0.00001	0.00007	0.00002	0.00006	0.00001	0.00003	0.00001	0.00097	0.00006	0.00088	0.00046	0.00120	0.00017	0.00045	0.00008	0.001 ¹⁷	
IBMP	0.00115	0.00042	0.00285	0.00021	0.00084	0.00014	0.00104	0.00005	0.00238	0.00030	0.00196	0.00009	0.00283	0.00051	0.00154	0.00021	0.00383	0.00051	0.00137	0.00010	0.00162	0.00030	0.00203	0.00020	0.00174	0.00025	0.002 ¹⁸	
Sesquiterpenes^f																												
rotundone	0.00024	0.00005	0.00009	0.00004	0.00004	0.00001	0.00019	0.00001	0.00014	0.00006	0.00050	0.00006	0.00015	0.00006	0.00037	0.00008	0.00017	0.00002	-	-	-	-	-	-	-	-	0.015 ¹⁹	
Volatile Sulfur Compounds^f																												
Free volatile sulfur compounds																												
dihydrogen sulfide (F)	1.14	0.23	3.72	0.31	1.73	0.41	2.12	0.77	1.72	0.21	1.99	0.22	3.61	0.54	0.935	0.153	0.490	0.848	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.1-1.6 ²⁰
methanethiol (F)	0.743	0.206	0.974	0.169	0.729	0.071	0.265	0.056	1.07	0.73	0.372	0.526	0.851	0.149	0.190	0.329	1.09	0.37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8-3.1 ²¹
dimethyl sulfide (F)	3.17	0.42	8.25	1.19	4.55	0.51	2.88	0.74	6.96	1.27	3.09	0.46	7.49	0.06	3.59	0.18	8.49	0.46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25 ²²

Table A5.3. (cont.)

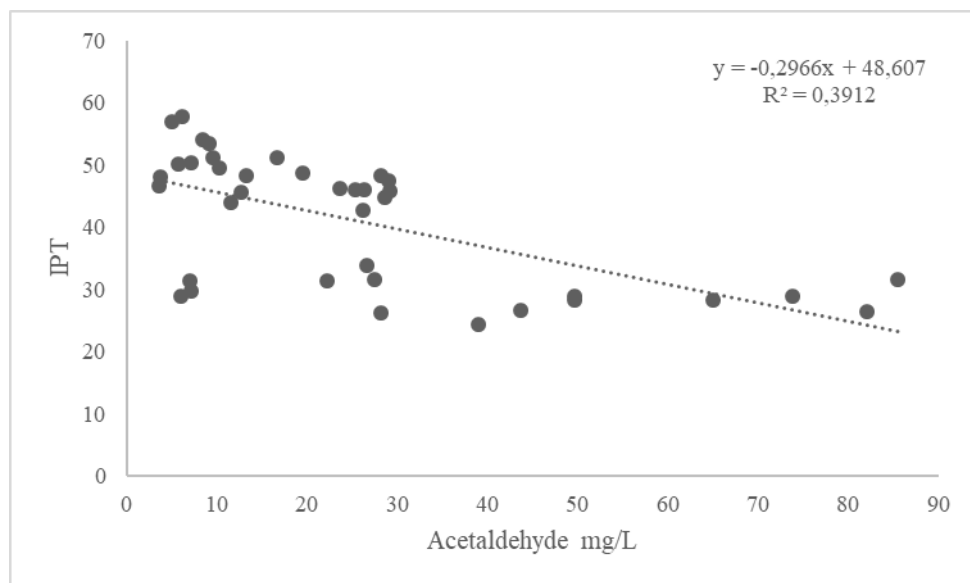
Days Postvéraison	42						49				56				62				41				48		60		Odor thresh- hold ^a		
Vineyard	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D				
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s			
Total volatile sulfur compounds																													
dihydrogen sulfide (T)	38.4	1.8	38.7	6.0	48.2	4.7	36.6	7.4	36.5	1.9	60.2	29.2	42.7	9.4	31.0	5.7	49.5	47.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.1-1.6 ²⁰
methanethiol (T)	2.19	0.06	2.66	0.29	2.50	0.09	1.99	0.21	2.16	0.07	2.15	0.22	2.83	0.65	2.90	0.12	3.40	0.35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8-3.1 ²¹	
dimethyl sulfide (T)	3.17	0.42	8.25	1.19	4.55	0.51	2.88	0.74	6.96	1.27	3.09	0.46	7.49	0.06	3.59	0.18	8.49	0.46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25 ²²	
Polyfunctional Mercaptans ^f																													
2-furfurylthiol	0.0047	0.0006	0.0059	0.0015	0.0023	0.0004	0.0045	0.0015	0.0036	0.0002	0.0042	0.0010	0.0051	0.0007	0.0026	0.0002	0.0055	0.0026	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0004 ²³
³ -mercaptohexylacetate	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0.23	0.21	<LD	-	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.004 ²⁴
3-mercaptohexanol	0.919	0.112	0.469	0.065	0.290	0.037	0.413	0.042	0.285	0.051	0.365	0.080	0.285	0.026	0.212	0.018	0.605	0.160	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.06 ²⁴	
4-methyl-4-mercapto pentan-2-one	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0008 ²⁴

^a Reference in which the odour threshold value has been calculated is given in brackets. [1](Etiévant, 1991). [2](Guth, 1997). [3](Gemert, 2003). [4](Peinado *et al.*, 2004). [5](Ferreira *et al.*, 2000). [6](San Juan *et al.*, 2012). [7](López *et al.*, 2002). [8](Escudero *et al.*, 2004). [9](Ferreira *et al.*, 2002). [10](Aznar *et al.*, 2003). [11](Buttery & Ling, 1995). [12](Fariña *et al.*, 2015). [13](Boutou & Chatonnet, 2007). [14](Escudero *et al.*, 2007). [15](Ferreira *et al.*, 2009). [16](Boidron *et al.*, 1988). [17](Pickering *et al.*, 2007). [18](Buttery *et al.*, 1969) [19](Culleré *et al.*, 2016). [20](Siebert *et al.*, 2009). [21](Solomon *et al.*, 2010). [22](Goniak & Noble, 1987)]. [23](Tominaga *et al.*, 2000). [24](Tominaga *et al.*, 1998). ^b TPI- I280: total polyphenol index. ^c CI: the colour index. ^d YAN: yeast assimilable nitrogen. ^e Threshold is not available. ^f These compounds were not analyzed in 2017 vintage. LD: detection limit.

Table A5.4. OAV family values of volatiles found in the set of studied wines. For the calculation of these data, only those aromatic compounds that had significant differences between wines were considered. ^aThese compounds were not analyzed in 2017 vintage.

Samples	Carbonyls compounds			Esters				Alcohols			Acids		Terpenols	Volatile phenols	Lactones	Methoxypirazines	Rotundone ^a	VSCs ^a		3MH [†]
	Fermentative Origin	Oxidated-related	Norisoprenoids	Linear fatty acid derivatives	Branched acid derivatives	Varietal Origin	Fermentative Origin	Alcohols	C6 alcohols	Insaturated C8 alcohol	Linear acids	Branched acid						Free VSCs	Total VSCs	
AT1.1	1.21	26.48	20.81	5.61	30.75	0.48	11.30	11.74	0.79	0.35	13.80	110.02	0.19	4.72	1.15	0.53	0.04	1.58	1.36	14.50
AT1.2	1.65	19.06	18.99	5.10	25.83	0.48	10.87	12.44	0.81	0.44	13.42	102.23	0.17	5.22	1.17	0.99	0.02	1.48	1.33	14.00
AT1.3	2.25	52.67	18.76	4.91	30.73	0.40	9.48	11.86	0.88	0.45	14.01	108.64	0.17	3.82	1.09	0.59	0.03	1.67	1.33	17.44
BT1.1	10.39	52.28	33.13	4.49	23.32	0.49	8.12	10.81	0.92	0.34	10.98	73.45	0.18	6.33	1.21	1.63	0.01	4.30	1.60	8.61
BT1.2	8.17	57.30	33.14	4.54	20.00	0.49	8.33	12.23	0.91	0.33	10.87	74.62	0.16	5.83	1.28	1.76	0.02	4.03	1.80	8.26
BT1.3	8.37	47.18	33.71	4.80	22.51	0.65	8.40	11.40	0.95	0.37	11.43	72.22	0.17	6.43	1.31	1.53	0.01	4.43	2.03	6.60
CT1.1	8.47	44.28	21.56	4.32	25.31	0.42	7.69	10.87	0.77	0.43	11.59	60.44	0.14	4.28	0.94	0.62	0.00	2.19	1.62	4.89
CT1.2	4.73	53.27	21.11	4.74	26.08	0.36	8.07	11.18	0.80	0.24	12.54	68.77	0.14	4.10	0.80	0.44	0.01	2.52	1.57	4.18
CT1.3	8.26	54.94	19.95	4.49	17.54	0.33	7.24	10.50	0.82	0.26	11.22	56.67	0.08	2.34	0.83	0.58	0.00	1.77	1.52	5.42
AT2.1	10.44	20.56	5.41	4.39	19.35	0.15	10.18	12.38	0.68	0.44	11.49	114.35	0.11	2.72	1.23	0.68	0.02	1.88	1.06	7.70
AT2.2	6.08	57.90	14.78	4.31	19.95	0.38	10.10	12.33	0.67	0.47	10.99	101.33	0.11	2.30	1.22	0.65	0.02	1.69	1.27	6.48
AT2.3	2.59	38.84	18.55	4.36	21.13	0.32	9.95	12.65	0.64	0.37	10.88	102.85	0.10	2.20	1.05	0.57	0.02	3.00	1.33	6.48
BT2.1	12.22	58.44	26.80	4.71	14.25	0.52	8.96	10.86	0.79	0.38	11.45	76.32	0.15	3.95	1.16	1.59	0.01	2.37	1.58	5.56
BT2.2	7.94	56.26	18.52	3.70	15.31	0.44	8.81	11.12	0.71	0.37	9.44	71.03	0.10	3.14	1.24	1.42	0.02	1.96	1.41	4.83
BT2.3	10.35	50.70	20.10	4.05	16.67	0.41	9.02	10.90	0.71	0.33	9.74	77.69	0.12	2.60	1.03	1.23	0.02	2.97	1.44	3.85
AT3.2	11.91	14.34	20.27	4.38	14.43	0.35	10.86	12.98	0.46	0.46	11.76	84.31	0.16	4.07	1.07	1.17	0.06	1.77	1.22	5.13
AT3.3	1.61	16.87	4.37	5.31	14.94	0.33	11.08	13.73	0.45	0.54	11.59	80.08	0.14	2.90	1.23	1.19	0.07	2.50	1.42	7.02
BT3.1	9.73	22.97	24.54	5.50	11.60	0.40	9.75	11.37	0.57	0.35	10.80	66.36	0.16	2.85	1.59	1.44	0.02	3.45	1.46	4.28
BT3.2	9.75	33.41	19.18	4.07	9.77	0.54	8.59	12.32	0.55	0.34	10.50	66.60	0.16	3.69	1.34	1.82	0.03	4.59	2.04	5.11
BT3.3	7.86	25.21	22.24	4.28	11.51	0.60	3.11	13.11	0.63	0.40	12.76	63.65	0.18	4.46	1.74	1.66	0.01	4.12	2.11	4.88
AT4.1	0.56	10.03	17.65	3.52	12.18	0.46	2.89	10.96	0.48	0.83	15.48	66.20	0.11	3.59	1.30	1.06	0.05	1.19	1.71	3.19
AT4.2	2.45	12.35	18.47	4.73	11.62	0.50	3.72	11.28	0.45	0.88	15.83	69.56	0.13	4.26	1.34	1.05	0.05	0.97	1.74	3.72
AT4.3	0.81	18.33	14.21	4.90	15.83	0.44	6.17	10.37	0.42	0.64	14.97	75.92	0.12	2.98	1.07	0.80	0.04	1.14	1.83	3.67
DT1.1	7.73	87.26	50.47	9.13	14.50	0.29	14.17	9.89	0.71	0.24	6.63	4.28	0.28	0.81	0.51	4.09	-	-	-	-
DT1.2	11.79	77.80	49.97	7.42	14.78	0.30	10.22	10.40	0.68	0.22	6.13	4.61	0.26	0.74	0.47	3.73	-	-	-	-
DT1.3	9.76	99.32	50.28	8.27	14.34	0.29	12.19	10.32	0.66	0.26	6.38	4.45	0.27	0.78	0.49	3.92	-	-	-	-
ET1.1	5.04	130.00	68.70	8.43	15.30	0.38	9.83	10.31	0.81	0.37	7.54	6.98	0.25	1.19	0.62	1.80	-	-	-	-
ET1.2	3.90	170.97	64.20	9.23	13.76	0.88	9.90	10.38	0.76	0.45	7.73	7.10	0.25	1.31	0.66	4.68	-	-	-	-
ET1.3	5.23	99.26	74.38	10.56	13.53	0.39	11.67	9.48	0.84	0.39	9.23	8.89	0.26	1.16	0.66	4.75	-	-	-	-
DT2.1	17.12	56.30	49.60	6.76	13.66	0.59	9.08	11.30	0.63	0.26	5.11	3.55	0.26	0.94	0.50	4.82	-	-	-	-
DT2.2	8.61	147.67	58.43	8.03	13.83	0.57	13.06	10.14	0.54	0.26	5.60	3.24	0.24	1.24	0.59	4.56	-	-	-	-
DT2.3	6.42	164.13	58.26	7.29	12.78	0.50	9.03	10.64	0.62	0.30	4.88	3.03	0.24	1.10	0.63	5.61	-	-	-	-
DT4.1	39.92	11.84	58.02	10.56	12.14	0.70	14.44	10.07	0.61	0.38	7.01	3.51	0.22	1.19	0.73	2.41	-	-	-	-
DT4.2	28.63	13.90	54.65	7.98	10.82	0.81	14.35	10.49	0.59	0.35	5.68	2.96	0.21	1.17	0.68	2.23	-	-	-	-
DT4.3	29.79	14.27	58.79	10.14	12.22	0.68	12.17	10.23	0.59	0.51	6.35	3.26	0.21	1.13	0.90	2.48	-	-	-	-

Figure A5.5. Relationship between levels of IPT and wine acetaldehyde content.



References

- Abardía, C., & Escudero, A. (2018). *Caracterización química del aroma de muestras diferentes sensorialmente* Trabajo fin de grado, Universidad de Zaragoza. <https://zaguan.unizar.es/record/77663?ln=es>
- Alegre, Y., Sáenz-Navajas, M.-P., Hernández-Orte, P., & Ferreira, V. (2020). Sensory, olfactometric and chemical characterization of the aroma potential of Garnacha and Tempranillo winemaking grapes. *Food Chemistry*, *331*, 127207. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127207>
- Ares, G., Bruzzone, F., Vidal, L., Silva Cadena, R., Giménez, A., Pineau, B., Hunter, D. C., Paisley, A. G., & Jaeger, S. R. (2014). Evaluation of a rating-based variant of check-all-that-apply questions: Rate-all-that-apply (RATA). *Food Quality and Preference*, *36*, 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.03.006>
- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(9), 2700-2707. doi: 10.1021/jf026115z
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 22.
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, *1141*(1), 1-9. doi: 10.1016/j.chroma.2006.11.106
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*(7), 1878-1882. doi: 10.1021/jf00055a023
- Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., & Ling, L. C. (1969). Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *17*(6), 1322-&. doi: 10.1021/jf60166a061
- Cacho, J., Moncayo, L., Palma, J. C., Ferreira, V., & Culleré, L. (2013). Comparison of the aromatic profile of three aromatic varieties of Peruvian pisco (Albilla, Muscat and Torontel) by chemical analysis and gas chromatography-olfactometry. *Flavour and Fragrance Journal*, *28*(5), 340–352. <https://doi.org/10.1002/ffj.3171>
- Culleré, L., Ontañón, I., Escudero, A., & Ferreira, V. (2016). Straightforward strategy for quantifying rotundone in wine at ngL–1 level using solid-phase extraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Occurrence in different varieties of spicy wines. *Food Chemistry*, *206*, 267-273. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.039>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(11), 4501-4510. doi: 10.1021/jf0636418
- Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(11), 3516-3524. doi: 10.1021/jf0353411
- Etiévant, P. X. (1991). Wine (Chapter 14). In H. Maarse (Eds.), *Volatile Compounds in Foods and Beverages* (pp. 483-547). New York: Taylor & Francis.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, *69*, 244-255. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(11), 1659-1667. doi: 10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::aid-jsfa693>3.0.co;2-6
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(14), 4048-4054. doi: 10.1021/jf0115645
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Saenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling Quality of Premium Spanish Red Wines from Gas Chromatography-Olfactometry Data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(16), 7490-7498. doi: 10.1021/jf9006483
- Ferrero-del-Teso, S., Arias, I., Escudero, A., Ferreira, V., Fernández-Zurbano, P., & Sáenz-Navajas, M.-P. (2020). Effect of grape maturity on wine sensory and chemical features: The case of Moristel wines. *LWT-Food Science and Technology*, *118*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108848>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odour threshold*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Goniak, O. J., & Noble, A. C. (1987). Sensory study of selected volatile sulfur-compounds in white wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, *38*(3), 223-227.
- Guth, H. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *45*(8), 3027-3032. doi: 10.1021/jf970280a
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, *966*(1-2), 167-177. doi: 10.1016/s0021-9673(02)00696-9

- Moyano, L., Zea, L., Moreno, J., & Medina, M. (2002). Analytical study of aromatic series in sherry wines subjected to biological aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(25), 7356–7361. <https://doi.org/10.1021/jf020645d>
- Lan, Y.-B., Qian, X., Yang, Z.-J., Xiang, X.-F., Yang, W.-X., Liu, T., Zhu, B.-Q., Pan, Q.-H., & Duan, C.-Q. (2016). Striking changes in volatile profiles at sub-zero temperatures during over-ripening of 'Beibinghong' grapes in Northeastern China. *Food Chemistry*, 212, 172–182. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.143>
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84(4), 585–590. doi: 10.1016/s0308-8146(03)00282-6
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of Ortho- and Retronasal Detection Thresholds for 2-Isopropyl-3-Methoxypyrazine in Wine. *Journal of Food Science*, 72(7), S468-S472. doi: 10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x
- San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J., & Escudero, A. (2011). Quality and aromatic sensory descriptors (mainly fresh and dry fruit character) of spanish red wines can be predicted from their aroma-active chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(14), 7916–7924. <https://doi.org/10.1021/jf1048657>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma Chemical Composition of Red Wines from Different Price Categories and Its Relationship to Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045-5056. doi: 10.1021/jf2050685
- Siebert, T., Bramley, B., & Solomon, M. (2009). Hydrogen sulfide: Aroma detection threshold study in white and red wines. *AWRI Technical Review*, 183, 14–16.
- Solomon, M. R., Geue, J., Osidazc, P., & Siebert, T. (2010). Aroma detection threshold study of methanethiol in white and red wine. *AWRI Technical Review*, 186, 8–10.
- Tominaga, T., Blanchard, L., Darriet, P., & Dubourdieu, D. (2000). A powerful aromatic volatile thiol, 2-furanmethanethiol, exhibiting roast coffee aroma in wines made from several *Vitis vinifera* grape varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1799-1802. doi: 10.1021/jf990660r
- Tominaga, T., Murat, M. L., & Dubourdieu, D. (1998). Development of a method for analyzing the volatile thiols involved in the characteristic aroma of wines made from *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 1044-1048. doi: 10.1021/jf970782o
- Zea, L., Serratos, M. P., Mérida, J., & Moyano, L. (2015). Acetaldehyde as Key Compound for the Authenticity of Sherry Wines: A Study Covering 5 Decades. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(6), 681–693. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12159>

Annex 6. Supplementary information of Chapter 7

Table A6.1. Conventional oenological parameters, concentration values of volatiles and amino acids found in the set of the 11 *mistelles* (all expressed in micrograms per litre, except the oenological classical parameters).

Days <i>Postvéraison</i>	42			49		56		62		48	60	Odor thresh- hold ^a
	Vineyard	A	B	C	A	B	A	B	A	B	D	
Classical Parameters												
pH	3.68	3.69	3.53	3.91	3.85	3.87	3.91	3.74	4.04	3.83	3.86	-
TPI	51	48.6	43.8	57.9	57.6	57.3	57.5	57.4	59.2	39.4	46.4	-
Carbonyl compounds												
Fermentative origin												
acetoin	1383	289	329	2687	702	3768	471	2490	548	556	1101	150000 ¹
diacetyl	15.57	9.90	20.80	25.14	14.80	46.10	2.84	26.07	15.85	12.56	17.16	100 ²
Oxidation-related												
acetaldehyde total	10113	11591	12161	10482	9907	11042	10609	10990	9808	10974	10960	
acetaldehyde (Free)	1280	978	1143	1309	1379	1440	1353	1227	1090	1071	836	500 ²
Norisoprenoids												
β -damascenone	8.43	11.84	8.22	5.34	11.14	7.78	9.82	8.74	11.04	7.48	7.68	0.05 ²
α -ionone	0.26	0.30	0.26	0.20	0.20	0.18	0.20	0.19	0.20	0.08	0.12	2.6 ¹
β -ionone	0.75	0.75	0.71	0.75	0.76	0.71	0.74	0.66	0.75	0.68	0.69	0.09 ³
TDN	2.11	4.01	3.23	1.29	2.84	1.24	1.99	1.77	1.61	0.95	0.94	20 ¹
vitispirane A	0.073	0.075	0.064	0.022	0.060	0.033	0.035	0.052	0.026	0.006	0.006	800 ¹
vitispirane B	0.048	0.053	0.043	0.016	0.041	0.022	0.025	0.034	0.020	0.006	0.006	800 ¹
Riesling acetal	0.056	0.075	0.064	0.022	0.066	0.027	0.039	0.038	0.030	0.012	0.011	n.a. ^b
Strecker aldehydes												
isobutyraldehyde	5.78	10.82	7.25	11.16	22.06	14.15	10.38	19.60	25.09	15.03	18.75	6 ⁴
isovaleraldehyde	7.41	15.93	17.24	14.45	27.28	16.98	5.78	18.96	32.11	19.55	28.16	4.6 ⁴
2-methylbutanal	2.98	4.67	5.10	6.29	10.36	8.05	5.66	11.32	11.94	6.32	10.79	16 ⁴
methional	6.18	10.46	10.41	5.57	10.54	8.55	5.43	12.24	16.71	8.83	10.69	0.5 ⁴
phenylacetaldehyde	3.47	2.90	3.21	13.70	11.36	4.20	-	6.84	10.39	4.93	5.10	1 ⁴

Table A6.1. (Cont.)

Days Postvéraison Vineyard	42			49		56		62		48	60	Odor thres- hold ^a
	A	B	C	A	B	A	B	A	B	D	D	
Others												
(Z)-3-hexenal	0.81	0.84	0.80	0.62	0.41	0.49	0.17	0.12	0.45	0.49	0.48	0.12 ⁵
Esters												
Linear fatty acid derivatives												
ethyl propanoate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	5500 ⁶
ethyl butyrate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	125 ⁶
ethyl hexanoate	38.1	49.7	33.7	82.7	72.4	55.2	63.7	44.6	49.1	34.4	42.7	62 ⁶
ethyl octanoate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	580 ¹
ethyl decanoate	<LD	<LD	<LD	23.3	15.9	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	200 ³
Branched acid derivatives												
ethyl isobutyrate	1.98	2.20	3.32	1.69	1.85	2.18	2.08	1.94	1.88	1.77	2.20	15 ³
ethyl 2-methylbutyrate	0.41	0.47	0.63	0.78	0.88	0.84	0.83	0.83	0.42	0.80	0.84	18 ³
ethyl isovalerate	0.30	0.36	0.48	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	3 ³
ethyl 4-methylpentanoate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0.012	0.009	<LD	0.010 ⁷
ethyl cyclohexanoate	<LD	<LD	<LD	0.044	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0.034	<LD	0.001 ⁷
Varietal origin												
methyl vanillate	4.17	4.65	3.85	7.12	6.35	7.12	7.61	6.11	8.16	5.08	6.90	3000 ⁸
ethyl vanillate	99	105	94	195	228	265	336	217	316	122	172	990 ⁸
ethyl dihydrocinnamate	<LD	<LD	0.13	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1.6 ³
ethyl cinnamate	0.29	1.09	1.11	0.29	1.66	0.50	2.05	0.57	1.95	1.09	3.20	1.1 ³
Fermentative origin												
ethyl lactate	167	161	202	117	178	125	161	103	122	119	97.4	154000 ¹
diethyl succinate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	200000 ¹
ethyl acetate	9916	6893	6498	10429	6737	10363	5295	7524	3278	2982	3466	12300 ⁹
isoamyl acetate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	30 ²
isobutyl acetate	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1600 ¹⁰
phenylethyl acetate	3.29	4.90	3.20	2.56	5.10	3.03	4.18	3.51	4.64	2.68	2.71	250 ²

Table A6.1. (Cont.)

Days <i>Postvéraison</i>	42			49		56		62		48	60	Odor thres- hold ^a
	Vineyard	A	B	C	A	B	A	B	A	B	D	
Alcohols												
isobutanol	13.6	11.9	49.2	27.2	24.1	32.0	45.1	26.1	22.6	54.9	80.7	40000 ²
1-butanol	67.5	23.8	24.8	55.7	38.1	36.3	22.0	29.4	32.6	31.9	23.8	150000 ¹
isoamyl alcohol	54.4	60.2	72.8	72.0	96.5	96.2	107.8	48.8	53.3	110.9	99.2	30000 ²
methionol	<LD	17.9	13.9	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	22.2	1000 ³
benzylic alcohol	67.2	107	101	117	154	105	169	84.0	157	213	164	200000 ¹¹
β-phenylethanol	103	138	130	118	178	110	140	100	171	122	114	14000 ³
1-penten-3-ol	29.1	21.7	21.3	19.8	29.2	24.6	24.7	20.0	22.8	27.9	22.5	400 ¹²
C6 Alcohols												
1-hexanol	360	387	450	561	750	432	542	369	648	634	574	8000 ²
(Z)-3-hexenol	26.3	30.4	42.4	21.2	40.0	16.3	24.9	18.9	26.3	35.3	22.5	400 ²
(E)-2-hexenol	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	15000 ¹
(E)-3-hexenol	25.7	28.5	33.3	34.5	24.2	26.2	32.2	22.9	38.5	40.9	24.0	1000 ¹³
Insaturated C8 Alcohols												
1-octen-3-ol	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	40 ¹⁴
(E)-2-octen-1-ol	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	n.a. ^b
Acids												
Linear acids												
acetic acid	55454	39513	37724	99997	51697	93663	38641	45422	37585	30336	37029	300000 ²
butyric acid	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	173 ³
hexanoic acid	77.0	87.7	77.6	217	208	140	142	120	174	110	122	420 ³
octanoic acid	60.8	32.8	40.8	10.5	32.1	16.3	14.3	16.4	17.3	19.2	23.1	500 ³
decanoic acid	11.0	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	23.5	13.9	1000 ³
Branched acids												
isobutyric acid	0.063	0.034	0.065	0.093	0.070	0.111	0.082	0.086	0.065	0.097	0.102	50 ¹⁵
isovalerianic acid	22.0	15.8	16.2	<LD	13.8	<LD	23.1	12.3	14.6	16.7	17.4	33 ³

Table A6.1. (Cont.)

Days Postvéraison	42			49		56		62		48	60	Odor thres- hold ^a
Vineyard	A	B	C	A	B	A	B	A	B	D	D	
Terpenols												
linalool	3.59	4.84	2.89	3.71	5.19	3.52	5.20	3.75	5.97	4.26	3.52	25 ³
α -terpineol	2.51	3.46	3.46	2.11	3.08	2.29	2.16	2.90	2.06	1.93	1.80	250 ³
β -citronelol	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	100 ¹
geraniol	3.32	4.57	2.59	13.33	5.39	4.91	6.03	5.64	8.59	5.87	6.54	20 ⁷
(Z) rose oxide	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	0.2 ²
Lactones												
whiskylactone	0.32	0.32	0.32	0.32	0.31	0.30	0.24	0.16	0.18	0.28	0.32	790 ¹
γ -nonalactone	5.66	5.19	10.13	3.37	3.49	2.79	2.94	2.77	1.33	1.46	0.94	25 ¹⁵
γ -butyrolactone	936	1151	1036	1130	1568	1222	1098	979	1540	1475	1015	35000 ⁷
Volatile Phenols												
guaiacol	8.53	6.70	5.34	13.24	8.27	11.95	11.94	8.55	9.08	3.93	4.06	9.5 ³
<i>o</i> -cresol	0.62	1.07	0.76	0.73	1.16	0.70	1.15	0.62	1.19	0.87	0.74	31 ¹
4-ethylguaiaicol	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	33 ³
<i>m</i> -cresol	0.27	0.37	0.41	0.22	0.36	0.29	0.29	0.23	0.27	0.22	0.21	68 ¹⁶
eugenol	2.10	2.78	1.74	2.21	3.14	1.97	3.01	1.49	3.13	1.76	1.12	6 ³
4-ethylphenol	0.13	0.17	0.21	0.12	0.16	<LD	0.14	0.09	0.13	0.09	0.12	35 ⁶
4-vinylguaiaicol	85.6	194	136	57.9	217	75.3	220	81.1	204	54.7	56.2	40 ²
(<i>E</i>)-isoeugenol	1.38	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1.21	<LD	<LD	<LD	<LD	6 ⁷
2,6-dimethoxyphenol	60.7	55.8	33.6	61.8	64.1	60.4	70.0	55.1	64.9	18.6	19.4	570 ⁸
4-vinylphenol	83.7	124	129	66.0	178	71.3	138	50.9	98.9	64.9	54.7	180 ¹⁷
4-propylguaiaicol	<LD	<LD	<LD	0.0021	<LD	0.0040	<LD	<LD	<LD	<LD	0.042	n.a. ^b
4-allyl-2,6-dimethoxyphenol	<LD	1.37	1.30	<LD	<LD	<LD	<LD	0.76	<LD	<LD	0.53	1200 ¹⁵
vanillin	83.8	93.2	97.1	106	116	80.1	80.0	56.2	79.3	39.9	39.7	995 ⁷
acetovanillone	10.8	18.2	12.2	<LD	<LD	10.59	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	1000 ⁷

Table A6.1. (Cont.)

Days Postvéraison Vineyard	42			49		56		62		48	60	Odor thres- hold ^a
	A	B	C	A	B	A	B	A	B	D	D	
Amino acids												
alanine (ALA)	75590	107977	121593	72970	130142	76535	123442	72149	133650	132416	111788	-
asparagine (ASN)	3236	12682	8857	1748	13814	1652	7003	4147	13086	7695	6139	-
aspartic acid (ASP)	25376	39511	39422	29396	59153	28740	59983	29429	49544	31651	42118	-
arginine (ARG)	63913	241301	265802	116483	503629	117995	429757	144420	553273	336037	266283	-
cystine (CYS)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-
γ-aminobutyric acid (GABA)	163956	139389	132713	187839	158668	187316	154533	167990	191248	184088	209267	-
glutamine (GLN)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	6291	17692	<LD	<LD	-
glutamic acid (GLU)	34683	57701	62951	33045	55987	36666	63875	53914	93523	96135	88015	-
glycine (GLY)	4185	6833	8741	4867	8730	5371	10253	3450	7662	5249	5844	-
histidine (HIS)	31821	38541	40081	32702	54743	36640	45782	38037	60217	42386	47722	-
isoleucine (ILE)	4757	7389	11089	6887	13018	9337	12796	10157	15829	9786	14806	-
leucine (LEU)	9554	17225	21344	13219	28283	16604	27544	18940	32773	21359	28442	-
lysine (LYS)	5688	15309	24592	7698	17215	9107	23542	7200	16283	13316	13907	-
methionine (MET)	3028	5153	6518	3642	8340	5509	8661	4820	8937	4318	5116	-
ornithine (ORN)	13379	22918	29836	9089	21216	9724	20520	8368	11843	21154	17601	-
phenylalanine (PHE)	11022	14982	23025	15610	20568	17319	27191	14952	20451	18752	19320	-
proline (PRO)	538462	562836	502214	813274	895815	812030	881742	795274	1172368	897536	1143722	-
serine (SER)	28274	42998	42061	34659	62108	37489	57891	37422	66441	36750	39496	-
threonine-ammonium (THR)	237135	444224	542904	320468	582466	278875	447672	281212	457008	440790	330583	-
tyrosine (TYR)	5815	13230	17554	8057	18877	8816	20880	7942	17151	13872	13635	-
valine (VAL)	14013	21191	22294	17853	32187	20363	27846	21934	34181	24175	29101	-

^a Reference in which the odour threshold value has been calculated is given in brackets. [1] (Etiévant, 1991). [2] (Guth, 1997). [3] (Ferreira *et al.*, 2000). [4] (Culleré *et al.*, 2007). [5] (Sellami *et al.*, 2018). [6] (San Juan *et al.*, 2012). [7] (Escudero *et al.*, 2007). [8] (López *et al.*, 2002). [9] (Escudero *et al.*, 2004). [10] (Ferreira, *et al.*, 2002). [11] (Aznar *et al.*, 2003). [12] (Buttery & Ling, 1995). [13] (Fariña *et al.*, 2015). [14] (Boutou & Chatonnet, 2007). [15] (Gemert, 2003). [16] (Ferreira *et al.*, 2009). [17] (Boidron *et al.*, 1998). ^bThreshold is not available.

Table A6.2. Conventional oenological parameters and concentration values of compounds found in the set of the 39 wines (all expressed in micrograms per litre, except the oenological classical parameters). The data was expressed as the average (among replicated measurements) and standard deviation (s).

Days <i>Postvéraison</i>	42						49				56				62				41				48		60		Odor thresh- hold ^a	
	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D			
Vineyard	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s
Classical Parameters																												
pH	3.34	0.02	3.36	0.02	3.18	0.02	3.35	0.03	3.30	0.05	3.37	0.02	3.40	0.03	3.37	0.03	3.43	0.03	3.31	0.04	3.35	0.01	3.32	0.01	3.32	0.02	-	-
volatile acidity (g/L)	0.637	0.040	0.527	0.021	0.307	0.025	0.570	0.070	0.490	0.000	0.515	0.049	0.550	0.020	0.727	0.193	1.085	-	0.590	0.050	0.587	0.021	0.353	0.040	0.450	0.026	-	-
total acidity (g tartaric acid/L)	7.63	0.33	7.25	0.22	8.80	0.24	7.10	0.27	7.58	0.69	6.64	0.32	6.39	0.25	6.94	0.44	6.66	-	4.49	0.31	4.29	0.08	4.51	0.19	4.56	0.13	-	-
reductive sugar (g/L)	0.383	0.230	0.940	0.106	0.613	0.035	0.063	0.110	0.290	0.020	0.460	0.297	0.413	0.081	0.220	0.195	1.022	0.116	0.923	0.259	0.843	0.240	0.667	0.501	0.993	0.202	-	-
malic acid (g/L)	0.913	0.064	0.523	0.031	0.787	0.099	0.700	0.121	0.583	0.025	0.690	0.099	0.330	0.030	0.733	0.085	0.420	0.205	0.490	0.050	0.440	0.040	1.34	0.63	0.907	0.248	-	-
lactic acid (g/L)	0.950	0.036	1.01	0.02	1.00	0.04	0.980	0.053	0.953	0.064	1.01	0.02	1.14	0.02	0.840	0.030	0.873	0.073	1.22	0.06	1.13	0.06	0.907	0.219	0.910	0.046	-	-
ethanol (%)	15.7	0.1	12.6	0.2	11.4	0.5	15.4	0.16	12.65	0.27	15.69	0.86	13.13	0.46	16.78	0.35	13.97	0.13	12.66	0.67	12.84	0.57	13.08	0.46	14.32	0.55	-	-
TPI	48.5	2.5	44.5	1.8	32.3	1.4	48.6	1.0	46.7	1.4	52.2	2.6	46.9	3.8	56.1	2.4	48.3	1.8	26.4	1.9	29.5	1.8	27.1	1.4	30.0	1.3	-	-
CI	11.2	0.6	11.0	0.8	8.37	0.16	13.4	0.8	14.4	1.1	9.73	3.74	12.2	0.1	13.4	0.4	9.17	0.40	6.20	0.42	8.23	0.74	7.21	0.78	9.14	0.53	-	-
Carbonyl Compounds																												
Strecker aldehydes																												
isobutyraldehyde	23.3	5.5	29.0	3.6	29.6	1.5	26.1	4.2	32.8	8.0	26.2	6.9	20.6	1.5	24.1	9.2	26.8	-	38.6	4.1	40.8	1.7	36.5	4.1	34.1	3.1	6 ⁴	-
isovaleraldehyde	18.3	2.2	38.4	4.4	34.2	3.3	20.0	9.0	24.1	5.9	15.1	5.3	26.2	0.7	8.7	1.7	13.6	-	41.6	6.7	54.0	8.3	53.4	2.6	21.2	3.4	4.6 ⁴	-
2-methylbutanal	7.53	0.70	9.47	2.15	8.75	0.89	8.82	0.73	10.19	0.21	8.26	1.43	6.27	0.27	8.52	3.39	10.12	-	11.53	3.16	11.77	1.19	11.53	1.10	11.29	1.95	16 ⁴	-
methional	22.9	3.2	22.1	1.4	21.3	1.0	17.3	1.9	16.5	0.4	11.05	1.64	15.7	0.5	12.6	1.3	12.0	-	17.7	2.9	17.8	1.8	18.8	1.2	14.6	0.6	0.5 ⁴	-
phenylacetaldehyde	15.1	1.9	17.0	1.8	18.3	1.6	9.7	0.9	11.3	1.1	10.2	4.0	13.1	1.1	7.0	0.4	9.3	-	16.8	4.2	14.5	2.6	18.2	3.5	14.3	2.8	1 ⁴	-
Others aldehydes																												
(Z)-3-hexenal	19.8	0.6	16.9	0.2	15.2	0.6	15.7	0.6	14.9	2.2	17.2	0.7	15.8	0.9	23.6	2.3	23.7	-	17.4	0.9	22.2	0.3	17.4	0.7	19.5	0.3	0.12 ⁵	-
Esters																												
Branched acid derivatives																												
ethyl isobutyrate	132	25	94.4	21.4	116	6	147	15	103	7	109	6	70.2	12.5	92.2	19.7	59.7	41.7	101	6	106	13	103	10	85.7	4.7	15 ³	-
ethyl 2-methylbutyrate	17.2	0.6	11.0	1.0	14.8	0.1	16.2	2.0	12.3	2.3	10.6	0.4	8.44	0.74	11.7	1.7	9.43	0.95	19.0	1.0	16.3	1.2	17.0	0.2	15.9	0.5	18 ³	-
ethyl isovalerate	58.1	3.8	45.1	1.9	43.3	14.1	28.2	5.3	23.6	3.8	20.5	2.1	17.4	1.5	19.2	2.6	14.2	4.5	20.3	0.4	18.6	0.4	16.9	0.4	15.4	1.5	3 ³	-

Table A6.2. (Cont.)

Days <i>Postvéraison</i> Vineyard	42						49				56				62				41				48		60		Odor thres- hold ^a
	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D		
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	
Esters																											
Fermentative origin																											
isoamyl acetate	123	14	92.9	1.3	98.5	8.1	138	4	99.3	6.3	171	4	104	26	121	50	285	-	232	63	150	42	196	72	274	45	30 ²
isobutyl acetate	6.62	1.00	5.60	0.40	5.37	0.28	6.32	0.59	5.48	0.18	6.96	0.72	5.73	0.39	10.4	4.9	19.8	-	6.22	0.47	5.37	0.37	6.23	0.76	7.79	0.05	1600 ¹⁰
phenylethyl acetate	5.98	0.65	3.91	0.21	3.52	0.06	6.39	0.16	4.34	0.15	6.95	0.17	4.98	0.36	6.04	2.01	8.00	-	3.05	0.26	2.77	0.11	2.68	0.25	3.31	0.38	250 ²
Alcohols																											
isobutanol	29844	1160	29151	1371	30783	1354	33245	747	28198	960	38116	1480	29192	933	31066	2176	33961	714	31924	1195	27969	2103	36641	4274	31887	1459	40000 ²
isoamyl alcohol	255953	10166	255297	19329	235955	4940	262100	3515	245167	3437	281089	12159	270537	9289	229127	9072	253260	899	255954	6558	253163	14564	272488	12835	262139	5568	30000 ²
methionol	1754	137	2066	241	2343	188	2538	1190	1859	130	1967	43	2316	139	1036	93	437	86	215	4	174	17	218	17	184	13	1000 ³
β-phenylethanol	35143	582	27928	1531	28257	1598	38796	730	27190	1628	42320	1270	35139	7627	33784	2781	17377	1779	3440	19	3173	275	3521	119	3188	222	14000 ³
Acids																											
Branched acids																											
isobutyric acid	2699	216	1867	63	1580	183	2713	256	2021	207	2200	5	1808	55	2208	300	2914	303	2692	21	2826	235	2491	145	2585	95	50 ¹⁵
isovaleric acid	3491	135	2396	39	2022	202	3465	231	2446	115	2681	99	2137	53	2297	159	2214	82	108	5	212	39	72.3	10.5	69.9	10.2	33 ³
Amino acids																											
alanine (ALA)	22390	162	35761	3068	29341	1064	18171	3491	29575	1284	15110	7591	34879	391	21995	2226	41632	-	23682	2406	24180	4166	25380	3037	19859	1528	-
asparagine (ASN)	5776	355	14454	1517	9706	1493	4730	661	12283	1019	4566	1042	9905	904	2258	1915	14579	-	5175	3028	10436	1848	5520	1572	5164	1909	-
arginine (ARG)	11127	1860	6049	1401	31247	4440	9502	940	16909	4586	9175	3665	7742	1764	11785	2034	12351	-	15243	4468	12340	2241	27819	1905	24263	2175	-
aspartic acid (ASP)	7774	2269	17209	1483	17759	2915	7453	2786	12850	473	7947	5039	15370	2858	16562	4457	31872	-	16590	3716	10967	3204	21116	8506	14453	2563	-
cystine (CYS)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
γ-aminobutyric acid (GABA)	17311	1406	46886	4508	34579	2089	13553	2427	38177	8240	10201	4745	37743	793	10146	476	28486	-	27848	2644	26473	4544	29412	2017	17352	1776	-
glutamine (GLN)	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	-	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
glutamic acid (GLU)	12272	297	25544	1990	23266	836	9510	1879	18472	1617	9298	5072	21228	1455	14473	397	30735	-	18451	2155	15735	3294	21625	3271	15398	2662	-
glycine (GLY)	6975	362	14558	1105	10793	1081	6838	2360	13857	796	6508	3570	15333	1004	10015	1158	21427	-	8898	1002	8980	1233	9856	872	8519	827	-
histidine (HIS)	4811	378	13471	2336	14579	1607	4080	1429	13034	2108	4021	2328	13664	554	7200	503	757	-	8647	1889	6652	1283	9350	1363	8515	2020	-

Table A6.2. (Cont.)

Days Postvéraison	42						49				56				62				41				48		60		Odor threshold ^a
Vineyard	A		B		C		A		B		A		B		A		B		D		E		D		D		
	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	Mean	s	
Amino acids																											
isoleucine (ILE)	610	47	4099	895	3756	214	338	301	3773	815	224	364	3722	484	1788	412	8367	-	5502	1894	5019	1765	5328	1462	3672	940	-
leucine (LEU)	5222	740	15703	681	15786	2088	3584	1095	11240	1206	2585	834	12813	1872	6990	652	16119	-	14018	3533	12422	3884	14992	3273	10156	2848	-
lysine (LYS)	9063	1420	24273	820	25277	2951	6925	1804	20418	2339	5660	2500	21816	2554	11782	1322	21200	-	21869	4183	18251	4894	23835	4010	19916	5180	-
methionine (MET)	2358	587	6052	1437	6378	749	2147	192	5015	401	1908	109	3979	453	3201	276	3867	-	2563	746	2658	1245	2981	1711	2772	1607	-
ornithine (ORN)	4125	320	10698	9113	9995	555	2961	2394	3096	1356	2425	1812	3979	1318	4486	655	24638	-	14268	8788	7782	4206	8408	886	8535	1655	-
phenylalanine (PHE)	3972	1904	16384	868	17316	1504	4088	767	12552	2027	4732	1772	14713	1715	7858	636	14895	-	12740	2514	10383	2794	14072	2356	11544	3317	-
proline (PRO)	276837	55278	821160	174531	277514	54096	435702	17694	782749	333453	659188	399625	975427	127727	1015638	101649	2017104	-	486432	53509	643343	98625	581326	106862	981786	176606	-
serine (SER)	6141	1874	11082	643	10085	238	5850	4054	8010	273	4705	3228	10348	2006	6307	264	13669	-	9290	3312	8163	1001	7901	2837	8281	710	-
threonine-ammonium (THR)	25630	3967	69435	4560	45536	6406	20493	4120	58819	4709	16744	6945	59493	4560	35667	6837	88683	-	48916	4462	37635	8241	29894	5019	23221	5478	-
tyrosine (TYR)	3494	170	12448	688	13204	1015	2874	786	9836	1872	2730	1388	11579	1661	6214	544	12477	-	9652	2377	7757	1490	10974	1714	9158	2279	-
valine (VAL)	3333	315	9251	378	8659	971	2659	981	6624	592	2264	1250	8489	1000	5146	817	12435	-	7017	1327	6356	1655	7350	1585	5036	1109	-

^a Reference in which the odour threshold value has been calculated is given in brackets. [2] (Guth, 1997). [3] (Ferreira *et al.*, 2000). [4] (Culleré *et al.*, 2007). [5] (Sellami *et al.*, 2018). [10] (Ferreira *et al.*, 2002). [15] (Gemert, 2003).

References

- Aznar, M., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2003). Prediction of aged red wine aroma properties from aroma chemical composition. Partial least squares regression models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2700-2707. doi: 10.1021/jf026115z
- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *OENO One*, 22(4). doi: 10.20870/oeno-one.1988.22.4.1263
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, 1141(1), 1-9. doi: 10.1016/j.chroma.2006.11.106
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1878-1882. doi: 10.1021/jf00055a023
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876-881. doi: 10.1021/jf062432k
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501-4510. doi: 10.1021/jf0636418
- Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516-3524. doi: 10.1021/jf0353411
- Etiévant, P. X. (1991). Wine (Chapter 14). In H. Maarse (Eds.), *Volatile Compounds in Foods and Beverages* (pp. 483-547). New York: Taylor & Francis.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, 69, 244-255. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659-1667. doi: 10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::aid-jsfa693>3.0.co;2-6
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rose wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048-4054. doi: 10.1021/jf0115645
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling Quality of Premium Spanish Red Wines from Gas Chromatography-Olfactometry Data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7490-7498. doi: 10.1021/jf9006483
- Gemert, L. J. N., A. H. (2003). *Compilation of odour threshold values in air and water; National Institute for Water Supply: Zeist*. Zeist, The Netherlands.
- Guth, H. (1997). Quantitation and Sensory Studies of Character Impact Odorants of Different White Wine Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027-3032. doi: 10.1021/jf970280a
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1-2), 167-177. doi: 10.1016/s0021-9673(02)00696-9
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma Chemical Composition of Red Wines from Different Price Categories and Its Relationship to Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045-5056. doi: 10.1021/jf2050685
- Sellami, I., Mall, V., & Schieberle, P. (2018). Changes in the Key Odorants and Aroma Profiles of Hamlin and Valencia Orange Juices Not from Concentrate (NFC) during Chilled Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(28), 7428-7440. doi: 10.1021/acs.jafc.8b02257

Anexo 7. Información suplementaria del Capítulo 8

Tabla A7.1. Parámetros enológicos convencionales y valores de concentración de compuestos encontrados en el conjunto de los 16 vinos (todos expresados en microgramos por litro, excepto los parámetros enológicos clásicos). Los datos se presentan como el promedio (entre las réplicas) y la desviación estándar (s, n=2).

Parámetros	VA.M1-17		VB.M1-17		VA.M2-17		VB.M2-17		VA.M1-18		VB.M1-18		VA.M2-18		VB.M2-18		Umbral de olfacción ^a
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	
Parámetros enológicos clásicos																	
glucosa -fructosa (g L ⁻¹)	0,30	0,00	0,20	0,14	0,00	0,00	0,15	0,21	0,10	0,14	0,15	0,21	0,30	0,00	0,25	0,21	-
acidez total (g ácido tartárico L ⁻¹)	3,87	0,11	4,01	0,40	3,97	0,52	3,28	0,05	4,33	0,02	4,18	0,15	3,64	0,14	3,47	0,01	-
pH	4,02	0,01	4,02	0,01	4,49	0,06	4,27	0,05	3,64	0,11	3,63	0,08	3,78	0,04	3,93	0,06	-
etanol (%)	13,5	0,1	13,8	0,1	14,4	0,8	14,5	0,0	10,3	0,4	9,5	0,2	12,5	0,1	11,3	0,1	-
Ácido málico (g L ⁻¹)	0,30	0,14	0,50	0,00	0,80	0,28	0,55	0,07	0,34	0,09	0,43	0,04	0,24	0,04	0,59	0,06	-
Ácido volátil (g L ⁻¹)	0,44	0,03	0,68	0,28	0,53	0,29	0,30	0,03	0,52	0,25	0,45	0,03	0,34	0,00	0,46	0,06	-
IPT	51,2	0,2	55,2	0,1	57,0	3,9	56,9	1,5	54,0	4,2	58,0	1,4	64,5	0,7	74,0	2,8	-
IC	11,9	4,7	11,0	2,3	10,7	1,6	10,7	0,2	21,6	0,9	23,8	3,5	22,8	0,6	27,1	2,9	-
L* Claridad	67,2	11,2	70,7	5,7	71,8	4,1	71,2	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
a* (eje rojo/verde)	29,0	6,4	28,1	5,0	23,6	2,0	23,6	0,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b* (eje amarillo/azul)	1,82	0,94	1,28	0,65	5,63	1,34	3,48	1,85	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C* Cromo	29,1	6,4	28,1	5,0	24,3	2,2	23,9	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
H* tono	3,46	1,10	2,77	1,82	13,32	1,99	8,42	4,65	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Compuestos carbonílicos																	
Origen Fermentativo																	
acetoina	7402	3465	45282	36173	6149	7518	2010	1058	7683	10005	9874	8210	315	195	4742	2651	150000 ¹
diacetilo	329	48	609	371	736	355	1254	332	341	275	145	0,08	694	899	354	421	100 ²
Relacionado con oxidación																	
acetaldehído total	86465	74333	73968	11338	25551	10908	19760	1999	63580	1641	55108	7910	7223	4431	36087	1979	
acetaldehído "libre"	6545	8595	4005	137	367	518	148	19	3521	753	2133	951	641	378	1643	1486	500 ²
benzaldehído	5,30	1,76	2,49	0,28	4,47	0,78	4,54	2,04	3,37	0,05	2,26	0,08	2,59	0,40	1,83	0,30	2000 ³

Tabla A7.1. (Cont.)

Compuestos	VA.M1-17		VB.M1-17		VA.M2-17		VB.M2-17		VA.M1-18		VB.M1-18		VA.M2-18		VB.M2-18		Umbral de olfacción ^a	
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s		
Aldehídos de Strecker																		
isobutiraldehído	43,5	11,9	65,3	2,4	26,6	8,6	35,0	2,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6 ⁴
isovaleraldehído	43,8	6,9	25,1	2,6	46,0	17,7	44,8	2,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4,6 ⁴
2-metilbutanal	7,83	4,43	5,96	0,52	6,34	1,25	6,06	0,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16 ⁴
metional	19,3	3,6	23,7	1,1	27,4	2,5	29,0	0,9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5 ⁴
fenilacetaldehído	16,6	6,2	18,4	0,1	21,2	2,2	25,1	2,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1 ⁴
Otros aldehídos																		
(Z)-3-hexenal	24,8	9,3	29,4	0,1	21,4	10,7	28,1	2,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,12 ⁵
Norisoprenoides																		
β-damascenona	1,19	0,08	1,49	0,29	0,56	0,10	0,88	0,03	3,18	0,91	3,22	0,24	2,87	0,38	4,29	0,61		0,05 ²
α-ionona	0,915	0,082	0,825	0,097	0,981	0,009	0,799	0,031	0,906	0,426	1,034	0,539	1,293	0,119	1,246	0,032		2,6 ¹
β-ionona	0,324	0,018	0,293	0,024	0,279	0,060	0,293	0,031	0,390	0,043	0,368	0,006	0,368	0,019	0,312	0,057		0,09 ⁶
Ésteres																		
Derivados de ácidos grasos lineales																		
propanoato etilo	19,8	28,0	24,2	34,3	23,2	32,9	55,3	0,7	64,5	3,3	64,9	12,4	85,3	12,7	66,9	3,0		5500 ⁷
butirato etilo	142	4	144	6	151	16	153	6	4,03	5,70	5,36	0,98	19,1	9,8	7,67	0,29		125 ⁷
hexanoato etilo	342	13	355	34	176	48	234	43	475	69	564	113	539	11	417	18		62 ⁷
octanoato etilo	272	11	255	8	161	17	217	62	489	107	356	22	476	134	394	36		580 ¹
decanoato etilo	224	20	268	3	242	31	293	90	293	122	451	170	659	363	377	2		200 ⁶
Derivados de ácidos ramificados																		
isobutirato de etilo	24,6	0,7	33,0	0,3	24,5	2,6	31,1	4,2	88,0	9,2	90,1	11,8	76,3	0,4	71,1	6,8		15 ⁶
2-metilbutirato de etilo	2,02	0,06	2,83	0,22	1,54	0,43	3,36	0,89	5,33	0,42	6,15	1,32	5,74	0,12	4,94	0,49		18 ⁶
isovalerato de etilo	3,61	0,82	5,38	0,39	4,30	1,58	7,19	0,44	10,60	1,11	11,22	2,38	9,11	0,33	8,13	1,34		3 ⁶
Origen varietal																		
vanillato de metilo	8,15	1,95	3,44	0,26	12,8	1,6	6,10	0,19	5,25	0,41	5,26	0,23	10,9	1,5	10,1	3,0		3000 ⁸
vanillato de etilo	87,6	30,5	123	11	198	10	147	10	79,5	26,2	63,7	9,2	144	43	109	9		990 ⁸
dihidrocinamato de etilo	0,528	0,002	0,599	0,018	0,433	0,019	0,452	0,023	0,566	0,101	0,411	0,031	0,869	0,011	0,781	0,099		1,6 ⁶
cinamato de etilo	1,06	0,09	0,933	0,074	0,830	0,047	0,638	0,110	0,075	0,107	<LD	-	0,247	0,349	0,231	0,035		1,1 ⁶

Tabla A7.1. (Cont.)

Compuestos	VA.M1-17		VB.M1-17		VA.M2-17		VB.M2-17		VA.M1-18		VB.M1-18		VA.M2-18		VB.M2-18		Umbral de olfacción ^a
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	
Origen fermentativo																	
lactato etilo	57303	810	40024	66	45542	8582	39386	413	82693	3628	82764	18291	65756	8883	71148	4498	154000 ¹
succinato dietilo	1055	38	1436	162	1034	108	1037	299	1075	200	1540	764	2929	2062	2182	1576	200000 ¹
acetato de etilo	62803	10222	90541	39423	61652	29437	69118	5690	70366	36557	68014	11546	65789	5859	97741	39583	12300 ⁹
acetato isoamilo	269	50	252	28	363	290	369	33	334	38	214	47	1604	1304	444	146	30 ²
acetato isobutilo	6,87	2,04	7,62	1,68	8,68	5,80	9,86	1,83	12,5	2,1	10,2	1,0	27,1	9,3	14,9	0,9	1600 ¹⁰
acetato butilo	3,42	0,47	3,53	0,14	3,59	0,99	4,18	0,54	5,16	0,36	1,98	0,12	3,24	0,97	2,43	0,34	1800 ¹
acetato feniletilo	3,23	0,09	4,51	0,08	5,81	1,83	7,96	0,78	11,3	3,4	11,8	0,9	54,5	50,0	16,5	2,1	250 ²
Alcoholes																	
isobutanol	22277	283	23262	2832	26542	6575	28428	928	41612	801	41567	3679	47248	6670	41218	4196	40000 ²
1-butanol	1402	126	1340	46	1404	379	1639	230	522	119	464	103	810	103	853	75	150000 ¹
alcohol isoamflico	197277	2395	233108	11421	187671	32098	247634	8075	285782	3658	288950	5526	301461	70	279393	8259	30000 ²
metionol	1681	77	2283	71	1650	443	2436	110	3606	255	3897	305	4546	1383	5262	302	1000 ⁶
alcohol bencflico	182	51	139	2	205	10	170	10	184	3	191	23	168	97	206	18	200000 ⁸
β -feniletanol	20266	736	32394	304	25779	391	38951	634	44656	3728	46208	1629	53031	9731	43448	1416	14000 ⁶
1-penten-3-ol	232	33	152	2	190	14	151	48	-	-	-	-	-	-	-	-	400 ¹¹
Alcoholes C6																	
1-hexanol	1745	3	1657	34	1022	198	1314	62	3327	433	3545	56	2395	78	2373	68	8000 ²
(Z)-3-hexenol	309	13	300	26	162	22	281	35	640	129	726	7	360	48	314	24	400 ²
(E)-2-hexenol	26,8	1,6	19,5	2,2	20,7	0,5	20,5	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	15000 ¹
(E)-3-hexenol	73,8	4,9	67,0	2,1	46,2	5,0	53,5	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	1000 ¹²
Alcoholes C8																	
1-octen-3-ol	9,48	1,55	8,26	0,25	6,23	0,88	5,37	0,37	-	-	-	-	-	-	-	-	40 ¹³
(E)-2-octen-1-ol	4,08	0,20	4,18	0,79	2,65	0,77	1,18	1,67	-	-	-	-	-	-	-	-	n.d. ^b

Tabla A7.1. (Cont.)

Compuestos	VA.M1-17		VB.M1-17		VA.M2-17		VB.M2-17		VA.M1-18		VB.M1-18		VA.M2-18		VB.M2-18		Umbral de olfacción ^a
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	
Ácidos																	
Ácidos lineales																	
ácido acético	349260	46109	541623	222564	616771	229400	365479	41764	483131	402287	507499	251533	327860	125046	561467	133949	300000 ²
ácido butírico	174	14	174	40	68,4	7,0	104	1	48,7	3,2	<LD	-	18,8	26,5	<LD	-	173 ⁶
ácido hexanoico	2028	12	1901	2	1054	132	1320	216	3915	665	3847	72	2826	325	2660	42	420 ⁶
ácido octanoico	2276	15	1911	217	1274	193	1300	24	2892	554	2686	221	2489	604	2285	104	500 ⁶
ácido decanoico	800	22	822	17	550	0	700	37	1357	216	1148	26	1423	159	1127	92	1000 ⁶
Ácidos ramificados																	
ácido isobutírico	1362	9	1572	152	1673	51	1677	130	1729	113	2089	346	2090	82	2229	294	50 ¹⁴
ácido isovaleriánico	856	115	1104	3	1075	61	1547	255	1603	289	1833	21	1658	168	1792	297	33 ⁶
Terpenos																	
linalool	2,41	0,05	1,92	0,01	1,51	0,06	1,40	0,06	3,73	0,04	3,68	0,04	2,93	0,42	2,85	0,19	25 ⁶
acetato de linalool	0,309	0,034	0,327	0,008	0,318	0,024	0,312	0,069	0,228	0,322	0,307	0,003	0,285	0,011	0,262	0,023	250 ⁶
α -terpineol	0,755	0,036	0,716	0,029	0,732	0,093	0,586	0,007	2,06	0,72	1,91	0,21	1,54	0,13	1,48	0,19	100 ¹
β -citronelol	2,48	0,20	3,08	0,15	3,12	0,10	3,14	0,09	5,83	0,66	5,76	0,75	6,45	1,94	7,20	0,67	20 ¹⁵
geraniol	8,97	0,55	7,98	0,45	9,03	0,41	8,11	0,20	6,90	1,72	7,11	1,69	8,37	0,23	8,19	0,65	0,2 ²
Fenoles volátiles																	
guaiacol	7,02	1,15	6,35	0,59	8,43	1,46	6,91	0,84	21,5	5,5	31,4	7,2	22,6	5,8	30,2	8,3	9,5 ⁶
o-cresol	1,10	0,03	0,963	0,031	0,983	0,059	0,853	0,004	0,667	0,010	0,655	0,030	0,693	0,185	0,678	0,073	31 ¹
4-etilguaiacol	<LD	-	0,070	0,016	0,075	0,003	0,031	0,044	0,564	0,273	2,14	1,46	0,778	0,134	2,30	2,10	33 ⁶
m-cresol	0,141	0,011	0,186	0,016	0,125	0,011	0,111	0,009	0,070	0,099	0,103	0,006	0,099	0,017	0,097	0,017	68 ¹⁶
eugenol	5,09	0,55	5,39	0,30	6,34	0,25	6,23	0,07	7,79	3,21	10,48	2,04	9,23	1,36	11,34	1,70	6 ⁶
4-etilfenol	0,479	0,038	0,673	0,025	0,207	0,008	0,139	0,024	0,378	0,132	0,912	0,533	0,426	0,120	0,865	0,636	35 ⁷
4-vinilguaiacol	12,1	1,0	17,0	0,6	14,9	3,4	16,5	5,0	17,1	1,9	19,5	1,2	17,2	4,8	26,3	0,2	40 ²
(<i>E</i>)-isoeugenol	2,76	0,62	3,57	0,05	4,17	0,57	4,14	0,15	3,71	1,14	3,22	0,31	2,89	1,18	3,64	0,33	6 ¹⁵
2,6-dimetoxifenol	14,9	1,6	14,2	1,7	22,3	1,2	19,0	4,1	58,0	9,6	73,4	15,2	57,1	18,4	80,9	19,6	570 ⁸

Tabla A7.1. (Cont.)

Compuestos	VA.M1-17		VB.M1-17		VA.M2-17		VB.M2-17		VA.M1-18		VB.M1-18		VA.M2-18		VB.M2-18		Umbral de olfacción ^a	
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s		
4-vinilfenol	22,9	5,4	28,1	4,7	27,9	4,7	25,7	6,5	42,8	9,7	78,1	8,0	56,3	16,2	65,8	6,1	180 ¹⁷	
4-alil-2,6-dimetoxifenol	8,62	1,78	10,0	0,1	12,6	0,2	11,7	0,0	10,6	0,2	13,6	0,2	12,4	6,2	16,3	0,8	1200 ¹⁴	
vanillina	8,30	3,34	10,5	0,6	8,86	3,14	10,4	2,3	17,3	4,6	13,9	1,0	20,1	2,3	19,4	2,4	995 ¹⁵	
acetovanillona	51,6	0,1	65,1	2,9	59,5	2,2	56,8	3,0	75,7	10,6	97,8	9,0	57,2	9,4	119	13	1000 ¹⁵	
Lactonas																		
(E)-whiskylactona	0,625	0,158	0,664	0,021	0,435	0,106	0,460	0,109	0,436	0,051	0,416	0,095	0,641	0,036	0,428	0,020	790 ¹	
(Z)-whiskylactona	0,678	0,959	0,812	1,148	<LD	-	0,960	1,358	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	67 ¹	
γ-nonalactona	8,78	2,09	8,55	1,70	5,67	0,16	4,60	0,20	6,36	2,34	6,71	0,21	8,20	0,51	13,53	2,15	25 ¹⁴	
γ-decalactona	0,54	0,76	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0,7 ¹⁴	
γ-butirolactona	4041	88	3924	129	4808	127	3765	497	4249	962	4219	77	4959	679	3795	215	35000 ¹⁵	
Metoxipirazinas																		
3-isopropil-2-metoxipirazina	0,00005	0,00002	0,00009	0,00001	0,00003	0,00001	0,00006	0,00001	0,00164	0,00161	0,00119	0,00071	0,00077	0,00003	0,00168	0,00099	0,001 ¹⁸	
3-secbutil-2-metoxipirazina	<LD	-	<LD	-	<LD	-	<LD	-	0,00017	0,00009	0,00004	0,00002	0,00023	4,3·10 ⁻⁶	0,00010	0,00009	0,002 ¹⁹	
3-isobutil-2-metoxipirazina	0,00036	0,00002	0,00028	0,00005	0,00048	0,00004	0,00020	0,00003	0,00074	0,00018	0,00098	0,00034	0,00131	0,00004	0,00130	0,00011	0,015 ²⁰	
Sesquiterpenos																		
rotundona	0,00014	0,00003	0,00016	0,00002	0,00036	0,00003	0,00016	0,000005	0,00468	0,00170	0,00190	0,00057	0,00181	0,00009	0,00175	0,00016	0,016 ²¹	
Compuestos volátiles azufrados																		
Compuestos volátiles azufrados libres																		
ácido sulfhídrico (L)	0,07	0,10	0,39	0,55	6,96	6,45	1,82	1,01	7,33	2,04	8,27	0,27	6,78	6,99	5,15	0,50	1,1-1,6 ²²	
metanotiol (L)	3,39	1,10	2,53	0,32	8,78	1,24	4,04	0,10	0,96	0,39	1,06	0,19	1,42	0,05	1,64	0,04	1,8-3,1 ²³	
etanotiol (L)	0,41	0,09	1,67	0,87	1,17	0,31	1,04	0,33	1,80	0,92	2,31	0,72	2,29	0,84	2,52	0,46	1,1 ²⁴	
sulfuro de dimetilo (L)	59,1	3,0	57,6	0,8	72,4	1,5	49,5	5,1	21,2	1,2	17,4	5,4	23,6	0,8	21,8	1,2	25 ²⁴	
Compuestos volátiles azufrados totales																		
ácido sulfhídrico (T)	85,4	82,6	75,4	23,1	36,1	8,6	47,8	21,8	22,8	4,8	24,3	0,2	22,3	9,9	19,5	1,4	1,1-1,6 ²²	
metanotiol (T)	4,07	1,38	3,49	0,20	9,15	1,99	4,30	0,15	2,94	0,38	3,19	0,42	2,99	0,31	3,40	0,83	1,8-3,1 ²³	
etanotiol (T)	<LD	-	1,03	1,46	0,87	0,22	0,47	0,67	3,91	1,08	4,87	0,96	3,96	1,33	3,92	0,03	1,1 ²⁴	
sulfuro de dimetilo (T)	51,0	1,7	50,4	3,1	61,6	2,6	42,4	3,6	21,3	1,4	17,6	5,3	21,9	0,7	21,0	2,7	25 ²⁴	

Tabla A7.1. (Cont.)

Compuestos	VA.M1-17		VB.M1-17		VA.M2-17		VB.M2-17		VA.M1-18		VB.M1-18		VA.M2-18		VB.M2-18		Umbral de olfacción ^a
	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	Media	s	
Aminoácidos																	
ácido aspártico	19259	1174	32720	12292	64425	3726	27275	2891	-	-	-	-	-	-	-	-	-
asparagina	37461	8362	31082	1005	13224	7283	27401	5094	-	-	-	-	-	-	-	-	-
serina	20021	6038	15072	6645	32735	1281	20196	2573	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ácido glutámico	93232	4173	88847	1204	116881	3687	77717	7516	-	-	-	-	-	-	-	-	-
histidina	10522	11956	26476	3912	42175	2316	21201	14457	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glutamina	<LD	-	<LD	-	<LD	-	575	814	-	-	-	-	-	-	-	-	-
glicina	26447	1767	27305	752	44011	932	31798	4223	-	-	-	-	-	-	-	-	-
arginina	6348	400	11019	2711	12576	612	6983	2459	-	-	-	-	-	-	-	-	-
treonina - amonio	207628	40188	163915	4851	334704	36103	162012	26653	-	-	-	-	-	-	-	-	-
alanina	110269	9765	96396	4331	127750	8345	85578	6439	-	-	-	-	-	-	-	-	-
prolina	1342993	48791	1153280	47404	1673755	16478	1207371	6980	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ácido γ -aminobutírico	104642	6276	57112	4984	129748	1959	68547	10560	-	-	-	-	-	-	-	-	-
tirosina	12476	6217	9963	6706	24089	1791	16585	1297	-	-	-	-	-	-	-	-	-
valina	15788	614	14201	333	23323	6243	13512	46	-	-	-	-	-	-	-	-	-
metionina	3460	3498	5823	570	9285	233	7596	937	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ornitina	72107	101975	75648	47985	122540	166477	57827	81780	-	-	-	-	-	-	-	-	-
lisina	21187	11011	29135	253	40943	3029	33694	1309	-	-	-	-	-	-	-	-	-
isoleucina	9454	918	10043	185	15433	2463	11387	253	-	-	-	-	-	-	-	-	-
leucina	18610	3472	22503	431	36251	4152	28758	609	-	-	-	-	-	-	-	-	-
fenilalanina	14932	317	15307	224	21542	1208	17205	427	-	-	-	-	-	-	-	-	-

^a La referencia en la cual se ha calculado el umbral de olfacción se da en el superíndice. [1] (Etiévant, 1991). [2] (Guth, 1997). [3] (Peinado y col., 2004). [4] (Culleré y col., 2007). [5] (Sellami y col., 2018) [6] (Ferreira y col., 2000). [7] (San Juan y col., 2012). [8] (López y col., 2002) [9] (Escudero y col., 2004). [10] (Ferreira y col., 2002). [11] (Buttery y Ling, 1995). [12] (Fariña y col., 2015). [13] (Boutou y Chatonnet, 2007). [14] (Gemert, 2003). [15] (Escudero y col., 2007). [16] (Ferreira y col., 2009). [17] (Boidron y col., 1988). [18] (Pickering y col., 2007). [19] (Sidhu y col., 2015). [20] (Roujou de Boubee y col., 2000). [21] (Culleré y col., 2016). [22] (Siebert y col., 2009). [23] (Solomon y col., 2010). [24] (Goniak y Noble, 1987). ^bUmbral no disponible. <LD: Concentración por debajo del límite de detección.

Tabla A7.2. Parámetros enológicos clásicos y valores de concentración de compuestos encontrados en el conjunto de los 16 vinos (todos expresados en microgramos por litro, excepto los parámetros enológicos clásicos) expresados como promedio de las dos añadas analizadas. Las diferentes letras indican diferencias significativas (según la prueba de Fischer por pares) entre añadas, donde: ns ($p > 0,1$); **** $p < 0,001$; *** $0,001 < p < 0,01$; ** $0,01 < p < 0,05$ y * $0,05 < p < 0,1$. <LD: Concentración por debajo del límite de detección.

	2017	2018	Significatividad (valor de p)
Parámetros enológicos clásicos			
glucosa -fructosa (g L ⁻¹)	0,16 a	0,20 a	ns
acidez total (g ácido tartárico L ⁻¹)	3,78 a	3,90 a	ns
pH	4,20 a	3,74 b	****
etanol (%)	14,0 a	10,9 b	****
ácido málico (g L ⁻¹)	0,54 a	0,40 a	ns
acidez volátil (g L ⁻¹)	0,49 a	0,44 a	ns
IPT	55,1 b	62,6 a	**
IC	1,11 b	2,38 a	****
Compuestos carbonílicos			
Origen Fermentativo			
acetoina	15211 a	5654 a	ns
diacetilo	732 a	384 a	ns
Relacionado con oxidación			
acetaldehído total	51436 a	40500 a	ns
acetaldehído "libre"	2766 a	1985 a	ns
benzaldehído	4,20 a	2,51 b	**
Norisoprenoides			
β-damascenona	1,03 b	3,39 a	****
α-ionona	0,880 a	1,12 a	*
β-ionona	0,297 b	0,359 a	***
Ésteres			
Derivados de ácidos grasos lineales			
propanoato etilo	30,6 b	70,4 a	***
butirato etilo	148 a	9,03 b	****
hexanoato etilo	277 b	498 a	****
octanoato etilo	226 b	429 a	****
decanoato etilo	257 b	445 a	**
Derivados de ácidos ramificados			
isobutirato de etilo	28,29 b	81,39 a	****
2-metilbutirato de etilo	2,44 b	5,54 a	****
isovalerato de etilo	5,12 b	9,76 a	****
Origen varietal			
vanillato de metilo	7,63 a	7,85 a	ns
vanillato de etilo	139,01 a	99,20 a	*
dihidrocinnamato de etilo	0,50 a	0,66 a	*
cinnamato de etilo	0,87 a	0,14 b	****
Origen fermentativo			
lactato etilo	45564 b	75590 a	****
succinato dietilo	1140 a	1932 a	ns
acetato de etilo	71028 a	75478 a	ns
acetato isoamilo	313 a	649 a	ns
acetato isobutilo	8,26 b	16,2 a	**
acetato butilo	3,68 a	3,20 a	ns
acetato feniletilo	5,38 a	23,5 a	*

Tabla A7.2. (Cont.)

Alcoholes			
isobutanol	25127 b	42911 a	****
1-butanol	1446 a	662 b	****
alcohol isoamílico	216422 b	288897 a	****
1-hexanol	1435 b	2910 a	****
(Z)-3-hexenol	263 b	510 a	***
metionol	2012 b	4328 a	****
alcohol bencílico	174 a	187 a	ns
β -feniletanol	29348 b	46836 a	****
Ácidos			
Ácidos lineales			
ácido acético	468283 a	469989 a	ns
ácido butírico	130 a	17 b	****
ácido hexanoico	1576 b	3312 a	****
ácido octanoico	1690 b	2588 a	***
ácido decanoico	718 b	1264 a	****
Ácidos ramificados			
ácido isobutírico	1571 b	2034 a	****
ácido isovaleriánico	1146 b	1722 a	****
Terpenos			
linalool	1,81 b	3,30 a	****
acetato de linalool	0,316 a	0,270 a	ns
α -terpineol	0,697 b	1,75 a	****
β -citronelol	2,96 b	6,31 a	****
geraniol	8,52 a	7,64 a	*
Fenoles volátiles			
guaiacol	7,18 b	26,5 a	****
o-cresol	0,975 a	0,673 b	****
4-etilguaiacol	0,044 b	1,45 a	***
m-cresol	0,141 a	0,092 b	**
4-propilguaiacol	0,000 a	0,011 a	ns
eugenol	5,76 b	9,71 a	****
4-etilfenol	0,374 a	0,646 a	ns
4-vinilguaiacol	15,1 b	20,0 a	**
(E)-isoeugenol	3,66 a	3,37 a	ns
2,6-dimetoxifenol	17,6 b	67,3 a	****
4-vinilfenol	26,1 b	60,8 a	****
4-alil-2,6-dimetoxifenol	10,7 a	13,2 a	*
vanillina	9,52 b	17,7 a	****
acetovanillona	58,2 b	87,3 a	***
Lactonas			
(E)-whiskylactona	0,546 a	0,480 a	ns
(Z)-whiskylactona	0,612 a	0,000 a	*
γ -nonalactona	6,90 a	8,70 a	ns
γ -decalactona	0,134 a	0,000 a	ns
γ -butirolactona	4135 a	4306 a	ns
Metoxipirazinas			
3-isopropil-2-metoxipirazina	0,00006 b	0,00132 a	****
3-secbutil-2-metoxipirazina	<LD b	0,00013 a	****
3-isobutil-2-metoxipirazina	0,00033 b	0,00109 a	****
Sesquiterpenos			
rotundona	0,00021 b	0,00253 a	****

Tabla A7.2. (Cont.)

Compuestos volátiles azufrados			
Compuestos volátiles azufrados libres			
ácido sulfhídrico (L)	2,31 b	6,88 a	***
metanotiol (L)	4,69 a	1,27 b	***
etanotiol (L)	1,07 b	2,23 a	***
sulfuro de dimetilo (L)	59,7 a	21,0 b	****
Compuestos volátiles azufrados totales			
ácido sulfhídrico (T)	61,2 a	22,3 b	**
metanotiol (T)	5,25 a	3,13 b	**
etanotiol (T)	0,59 b	4,17 a	****
sulfuro de dimetilo (T)	51,3 a	20,4 b	****

Referencias

- Boidron, J. N., Chatonnet, P., & Pons, M. (1988). Influence du bois sur certaines substances odorantes des vins. *Connaissance de la Vigne et du Vin* 22.
- Boutou, S., & Chatonnet, P. (2007). Rapid headspace solid-phase microextraction/gas chromatographic/mass spectrometric assay for the quantitative determination of some of the main odorants causing off-flavours in wine. *Journal of Chromatography A*, 1141(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.11.106>
- Buttery, R. G., & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>
- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- Culleré, L., Ontanon, I., Escudero, A., & Ferreira, V. (2016). Straightforward strategy for quantifying rotundone in wine at ng L-1 level using solid-phase extraction and gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Occurrence in different varieties of spicy wines. *Food Chemistry*, 206, 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.039>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Etiévant, P. X. (1991). Wine. In H. Maarse (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages* (pp. 483–547). Marcel Dekker.
- Fariña, L., Villar, V., Ares, G., Carrau, F., Dellacassa, E., & Boido, E. (2015). Volatile composition and aroma profile of Uruguayan Tannat wines. *Food Research International*, 69, 244–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.12.029>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6)
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M. P., & Cacho, J. (2009). Modeling quality of premium spanish red wines from gas chromatography-olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7490–7498. <https://doi.org/10.1021/jf9006483>
- Gemert, L. J. (2003). *Compilation of odor thresholds*. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Goniak, O. J., & Noble, A. C. (1987). Sensory Study of Selected Volatile Sulfur Compounds in White Wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 38(3), 223–227.

- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, 72(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Sellami, I., Mall, V., & Schieberle, P. (2018). Changes in the Key Odorants and Aroma Profiles of Hamlin and Valencia Orange Juices Not from Concentrate (NFC) during Chilled Storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(28), 7428–7440. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b02257>
- Sidhu, D., Lund, J., Kotseridis, Y., & Saucier, C. (2015). Methoxypyrazine Analysis and Influence of Viticultural and Enological Procedures on their Levels in Grapes, Musts, and Wines. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(4), 485–502. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.658587>
- Siebert, T., Bramley, B., & Solomon, M. (2009). Hydrogen sulfide: Aroma detection threshold study in white and red wines. *AWRI Technical Review*, 183, 14–16.
- Solomon, M. R., Geue, J., Osidazc, P., & Siebert, T. (2010). Aroma detection threshold study of methanethiol in white and red wine. *AWRI Technical Review*, 186, 8–10.

Anexo 8. Información suplementaria del Capítulo 9

Figura A8.1. Instrucciones empleadas en el test triangular.

TEST TRIANGULAR	Fecha:	Nombre:
Se presentan 3 copas de vino codificadas con un número de 3 cifras. Le pedimos que HUELA las copas de izquierda a derecha e indique cuál de ellas es diferente		
_____	_____	_____ ¿Por qué?
_____	_____	_____ ¿Por qué?
_____	_____	_____ ¿Por qué?
_____	_____	_____ ¿Por qué?

Figura A8.2 (cont.)

Prueba 2

- A continuación, **identifique** con ayuda de la hoja adjunta el **aroma, sabor y/o las sensaciones en boca**, que según su criterio **describen cada muestra**.
- A continuación, **marque en la escala** adjunta al atributo identificado, **la intensidad** del mismo.
- **Proceda a enjuagarse**
- Pase a probar la **siguiente muestra**

CÓDIGO SUJETO:

FECHA:

De los siguientes **atributos** aromáticos, del sabor y táctiles, **elija** los que encuentra en cada muestra y en dicho caso **evalúe su intensidad**

Código muestra: _____

AROMA	Intensidad						
	1	2	3	4	5	6	7
Fruta roja/negra							
Fruta fresca							
Fruta pasa							
Vegetal fresco							
Verdura cocida							
Madera							
Especias							
Tostado							
Animal							
SABOR							
Dulce							
Ácido							
Amargo							
SENSACIÓN TÁCTIL							
Astringente/secante							
Rugoso							
Tanino verde							
Tanino duro							
Pegajoso							
Granuloso							
Ardiente							
Graso							
Envolvente							
Sedoso							
Acuso/ligero							
Persistente							

A8.3. Purificación de metionol comercial y estudio de sus impurezas

1. Introducción y objetivo

La hipótesis de que el metionol podía tener una importancia relevante en la percepción del verdor surgió cuando se cuantificaron elevadas concentraciones de este compuesto ($7,3 \text{ mg L}^{-1}$) en vinos que habían sido descritos como muestras verdes por un panel de 16 enólogos de la zona de Somontano (**Capítulo 3**).

Cabe destacar también la presencia de un aroma “a geranio” en vinos dopados con metionol, cuando se empleaba un patrón sin purificar. Por ello, se contempló la posibilidad de que un derivado del metionol pudiese jugar un papel importante en el carácter verde de los vinos. Una contaminación del metionol con un gran poder odorante, que se percibe orthonasalmente con un potente aroma a geranio o metálico.

Por lo tanto, se llevó a cabo un estudio cuya finalidad era comprobar la pureza del compuesto metionol recién adquirido, e identificar y caracterizar las impurezas que puedan estar presentes en diferentes lotes de metionol (con diferentes condiciones de almacenamiento).

2. Material y métodos

2.1. Agentes y reactivos

Fisher Scientific (Loughborough, Reino Unido), Panreac (Barcelona, España) y Merck (Darmstadt, Alemania) proporcionaron diclorometano, etanol, metanol, isooctano, dietil éter y pentano para los análisis y técnicas cromatográficas. Las resinas LiChrolut EN fueron suministradas por Merck (Darmstadt, Alemania). Se obtuvo agua pura de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, EE. UU.). La extracción en fase sólida semiautomática se realizó con una estación Vac Elut 20 de Varian (Walnut Creek, EE. UU.). El metionol comercial (98%), el $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (99,9 %) y el $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (99,9 %) fueron suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) y el peróxido de hidrógeno (33% v/v) y el $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (99,5 %) por Panreac (Barcelona, España).

2.2. Análisis de pureza

La pureza del compuesto recién abierto (Met-N) se analizó por cromatografía de gases con un detector FID según el método descrito en la literatura (Tissot y col., 2012).

2.3. Análisis olfatométrico y espectrometría de masas (GC-O, GC-MS y GC-GC-MS)

Se llevó a cabo una caracterización del metionol y sus derivados mediante las técnicas olfatométricas que se describen en el **Capítulo 3**. Pero dichos análisis solo los llevó a cabo un único sniffer, con el respaldo de todo el panel en momentos puntuales. Se realizó el análisis

olfatométrico del metionol recién abierto (Met-N), del metionol con impurezas (como los que presentaban el aroma a hoja de geranio (Met-C1 y Met-C2)) y metionol purificado. En todos los casos se inyectó una disolución en diclorometano de 200 mg L⁻¹. También se cuantificó la concentración de metionol mediante la metodología descrita en la bibliografía (Ortega y col., 2001) o se determinó la presencia o ausencia de aldehídos (metional) mediante cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas (Ion trap) de las muestras purificadas.

2.4. Purificación de metionol y obtención de fracciones con la impureza

Para esta tarea se emplearon 3 procedimientos distintos:

Polímeros

El estándar comercial de metionol fue mezclado con la mínima cantidad necesaria de un polímero que presenta grupos sulfonil hidracina (Sigma-Aldrich). Se pusieron 0,5 g de resina con 2 mL de metionol (Met-N y Met-C1). Esta mezcla se agitó durante 4 horas y se filtró a través de un filtro de jeringa de nailon de 0,45 µm.

Cromatografía líquida en fase reversa

La siguiente alternativa que se tomó fue el uso de un HPLC con una columna semipreparativa en fase reversa (Columna Liquid Purple semipreparativa ODS 5 µm 250 x 10 mm AV= 4279) como se describe en (Ferreira y col., 1999).

Para la purificación del metionol se trabajó en isocrático (70% agua y 30% etanol) con un flujo de 2 mL min⁻¹. De este modo se inyectó 2 µL de metionol (Met-N) previamente purificado con resinas y se recolectó lo correspondiente a la parte central del pico del cromatograma que corresponde desde 12,65 hasta 13,65 minutos. De esta manera obtenemos una disolución hidroalcohólica con una alta concentración en metionol.

Para el metionol con impurezas (Met-C1) o el oxidado (Met-Oxi-Fe) se inyectaron 2 mL y se empleó un gradiente en una fase móvil formada por agua (A) y etanol (B). El gradiente (A% / B%) establecido fue: 0-5 min, 90/10; 5-35min, 55/45; 35-45min, 0/100.

Cromatografía líquida en fase normal

En este caso el aislamiento del metionol se llevó a cabo mediante cromatografía líquida preparativa mediante una columna de Silica gel 60, de la casa comercial Merck (Damstadt, Alemania), con un tamaño de partícula de 40-63 µm y empaquetado en una columna Omnifit (25 mm d.i. x 450 mm) como se explica en un estudio anterior (de-la-Fuente-Blanco y col., 2016). Se inyectó un volumen de 2 mL de metionol (Met-C1) operando con un flujo de 8 mL min⁻¹ y una fase móvil formada por n-pentano (A), dietil éter (B) e isooctano (C). El perfil de gradiente se estableció de la siguiente manera (con A% / B% / C%): 0-29 min, 100/0/0; 29-57 min, 99/1/0; 57-85 min, 98/2/0; 85-114 min,

95/5/0; 114-142 min; 90/10/0; 145-173 min, 80/20/0; 178-206 min, 50/50/0; 211-239 min, 0/100/0; y 239–249 min, 0/0/100. Con este gradiente se recogió la fracción de metionol puro (recogiendo desde las 3 h 42 min hasta 4 h 26 min) y la impureza desde 1 h 37 min hasta 1 h 43 minutos. Posteriormente se eliminó el disolvente de estas dos fracciones.

2.5. Oxidación de metionol

Para disponer de concentraciones altas de impurezas, se realizaron diferentes pruebas tratando de oxidar el metionol para ver si los compuestos con olor a geranio podían provenir de dicha reacción. Para ello, se realizaron diferentes experimentos con el patrón de metionol que se había abierto recientemente.

El primero consistió en añadir tres gotas de peróxido de hidrogeno a 500 μL de metionol en presencia de oxígeno y analizado 24 horas después (Laurie y Waterhouse, 2006). La segunda experiencia consistió en tratar de oxidar el metionol empleando nitrato de hierro, basándonos en el artículo de (Firouzabadi y col., 1998). Para ello, en un vial de 4 mL, añadimos 300 μL de metionol y lo sepultamos en 1,6 g de nitrato férrico en su forma nonahidratada. Se agitó durante una hora y media a temperatura ambiente. Posteriormente se obtuvo un extracto total del aroma de esta mezcla mediante extracción directa en fase sólida (SPE) como describe (López y col., 2002), con algunas modificaciones. De forma que se añadió el metionol a un cartucho con 2 gramos de resina LiChrolut. Se lavó con una salmuera con 5g L^{-1} ácido tartárico y pH 3 hasta que la disolución percolada dejó de salir con tonalidades amarillas. Posteriormente se eluyó con 10 ml de etanol obteniendo un extracto concentrado de lo que llamamos “metionol oxidado”.

A modo de resumen las muestras analizadas en este experimento se presentan en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Diferentes muestras analizadas en el trabajo

Muestras	Código
Patrón de metionol nuevo	Met-N
Patrón de metionol contaminado Lote 1	Met-C1
Patrón de metionol contaminado Lote 2	Met-C2
Patrón de metionol purificado Polímero	Met-Pur-P
Patrón de metionol purificado f. reversa	Met-Pur-H
Patrón de metionol purificado f. normal	Met-Pur-C
Patrón de metionol oxidado H_2O_2	Met-Oxi- H_2O_2
Patrón de metionol oxidado $(\text{Fe}(\text{NO}_3)_3)$	Met-Oxi-Fe

Por último, se buscaron otras formas de oxidar el metionol de forma más eficiente. En la **Tabla 2** aparecen las pruebas que se realizaron en recipientes con un gran espacio de cabeza, con 1 mL de metionol o 1mL de agua en diferentes condiciones oxidantes con hierro, cobre y/o agua oxigenada (Danilewicz, 2014; Laurie y Waterhouse, 2006).

Tabla 2: Pruebas de oxidación de metionol en diferentes condiciones.

	Agua	Metionol
1	0,09 mM Fe(II)	0,09 mM Fe(II)
2	2,54 mM H ₂ O ₂	2,54 mM H ₂ O ₂
3	0,09 mM Fe(II) + 2,54 mM H ₂ O ₂	0,09 mM Fe(II) + 2,54 mM H ₂ O ₂
4	0,36 mM Fe (II) + 4,76 10 ⁻³ mM Cu (II)	0,36 mM Fe (II) + 4,76 10 ⁻³ mM Cu (II)
5	0,09 mM Fe (II) + 2,4 10 ⁻³ mM Cu (II)	0,09 mM Fe (II) + 2,4 10 ⁻³ mM Cu (II)
6	50 μM Cu (II)	50 μM Cu (II)
7	100 μM Cu (II)	100 μM Cu (II)
8	200 μM Cu (II)	200 μM Cu (II)
9	0,09 mM Fe(II) + 2,54 mM H ₂ O ₂ + 2,4 10 ⁻³ mM Cu (II)	0,09 mM Fe(II) + 2,54 mM H ₂ O ₂ + 2,4 10 ⁻³ mM Cu (II)

Estas muestras solo se siguieron sensorialmente de un modo informal.

3. Resultados y discusión

3.1. Análisis de la pureza del metionol

El compuesto recién abierto presentó una pureza del 92%. Debido a que la etiqueta del producto comercial ponía 98%, pensamos que el compuesto puede sufrir un deterioro de su pureza durante el almacenamiento del mismo.

3.2. Análisis olfatométrico de los diferentes lotes de metionol

Los resultados de los análisis olfatométricos de las diferentes muestras se resumen en la **Tabla 3**. Cuando se realiza GCO al compuesto recién abierto (Met-N) se encontró claramente el metional y el metionol. Además, también aparecieron algunos compuestos con aroma a champiñón con menor intensidad.

En dos lotes comerciales de diferentes fuentes (Met-C1 y Met-C2), que no fueron abiertos recientemente, no se encuentran los compuestos con aroma a champiñón, sin embargo, sí que se percibe claramente una impureza con aroma a hoja de geranio (LRI DB-WAX = 1967).

Para el estudio y caracterización de este compuesto se empleó la fracción obtenida en la columna semipreparativa de Silica Gel por varias razones. La separación en fase normal con gradiente funcionó mejor que la separación en fase reversa con gradiente. Y el proceso de concentración era más sencillo debido a la naturaleza del disolvente (pentano:dietil éter:isooctano frente a agua:etanol). El fraccionamiento en fase reserva del metionol oxidado (Fe(NO₃)₃) y del metionol contaminado (Met-C1) no fue satisfactorio, debido a que la impureza no se obtuvo en las concentraciones deseadas ya que la separación no fue óptima.

Tabla 3. Estudio olfatométrico donde se presentan los datos de retención cromatográfica (LRI, índice de retención lineal en columna DB-WAX), descripción del aroma, identificación del compuesto químico, e intensidad (6 puntos en una escala de 3) para cada zona de olor de las 8 muestras a estudio.

LRI	Identificación	Descriptor	N	C 1	C 2	Pur-P	Pur-H	Pur-C	Oxi-H ₂ O ₂	Oxi-Fe
1059	dimetil disulfuro**	col, cárnico	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1154	(Z)-3-hexenal**	verde-papel	-	-	-	-	-	-	-	3
1207	n.i.	basura, desagradable	-	-	-	-	-	-	-	2
1228	n.i.	metal, verde, papel	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1275	tiocianato de metilo***	guiso, carne	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1390	etoxi (dimetil) fenilsilano***	ajo	-	-	-	-	-	-	-	3
1424	n.i.	salsa barbacoa	-	-	-	-	-	-	-	2
1459	n.i.	ajo, ketchup	-	-	-	-	-	-	-	2
1469	metional*	patata cocida	2	2	2,5	1,5	1	1	2	2,5
1482	n.i. (champiñón 1)	champiñón	1	-	-	-	-	-	1	2
1508	n.i.	patata cocida sucia	-	-	-	-	-	-	-	2
1521	ácido propanoico* / 2-(ethylthio)etanol	patata, guiso, rancio	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1546	n.i. (champiñón 2)	champiñón	1	-	1	-	-	-	1	-
1558	3-(metiltio) propionato de etilo*	metálico-champiñón	-	-	-	-	-	-	-	2
1589	tert-butil metilsulfóxido*	ketchup	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1594	dimetilsulfóxido*	metálico	-	-	-	-	-	-	-	2,5
1640	ácido 2-propenoico*	ajo	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1720	ácido 3-(isobutiltio) propiónico***	champiñón	1	-	-	-	-	-	1	3
1740	metionol*	patata cocida	2	2,5	3	2	3	3	2	3
1806	2-metil propanamida***	patata cocida limpia	-	-	-	-	-	-	-	2
1889	n.i.	geranio	-	-	-	-	-	-	-	1,5
1967	n.i. (impureza geranio)	metálico, geranio	-	1,5	1,5	-	-	-	-	1,5
2002/2015	S-metil metanotiosulfonato**	metálico, geranio	-	-	-	-	-	-	-	2
2045	n.i.	basura + geranio	-	-	-	-	-	-	-	1,5
2324	ácido 3-(metiltio) propanoico***	patata cocida	-	-	-	-	-	-	-	1

* Identificación basada en la coincidencia de índices de retención en columna cromatográfica de gases (DB-WAX) y datos de espectrometría de masas de los compuestos puros disponibles en el laboratorio.

** Identificación basada en la coincidencia de datos de retención cromatográfica, en la similitud de olores y en la inyección de los compuestos puros disponibles en el laboratorio. El compuesto no produjo ninguna señal clara en el espectrómetro de masas debido a su baja concentración.

*** Igual que la nota a pie de página ** pero sin disponibilidad de los compuestos puros.
n.i. compuestos no identificados.

La olfatometría de las muestras Met-C1 y Met-C2 se realizaron en dos fases diferentes. La impureza de geranio presenta un índice de retención en columna polar (DB-WAX) de 1971 y 1340 en columna apolar (DB-5). Cuando se inyectó la fracción de la impureza obtenida mediante la cromatografía en fase normal de la muestra Met-C1 en el equipo de GCO-GCO-MS se detectó el compuesto problema, pero su identificación resultó fallida por no encontrar el espectro de masas en ninguna de las bases de datos a las que tenemos acceso. El espectro de

masas se presenta en la **Figura 1**. Se valoraron varios candidatos, pero se fueron descartando por que no coincidían perfectamente sus índices de retención o el descriptor. Un ejemplo fue S-metil metanotiosulfonato, que presenta un índice de retención ligeramente más tardío (2002-2015 en DB-WAX ver **Tabla 3**).

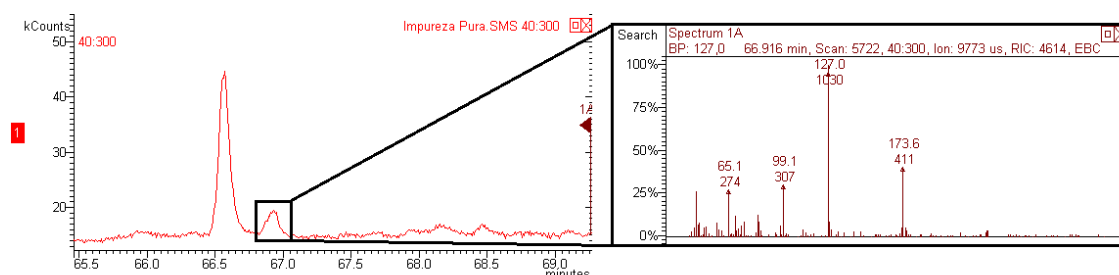


Figura 1: Cromatograma y espectro de masas correspondiente al compuesto responsable de la zona de olor a hojas de geranio con LRI 1967 en columna DB-WAX.

3.3. Purificación del metionol

A continuación, se presentan los resultados con las diferentes metodologías para purificar el metionol.

La primera, mediante el tratamiento del alcohol con el polímero con grupos sulfonil hidracina. Se inyectó el metionol en GC-MS después del tratamiento y no se encontró ninguna impureza. Sin embargo, en el olfatómetro se seguía detectando el metional. Se incrementó la dosis del producto y el tiempo de exposición, pero se siguió encontrando metional en la muestra purificada. Si bien es cierto, su intensidad se reducía en el olfatómetro pero su presencia seguía siendo patente. Sí se consiguieron eliminar las impurezas con olor a champiñón.

Mediante cromatografía líquida en fase reversa se obtuvo una disolución hidroalcohólica de 1348 ppm de concentración de metionol, que al inyectar en el olfatómetro la mayor parte de los jueces solo detectaron el metionol. Es cierto, que algún juez percibió el metional, pero debemos tener en cuenta que se está trabajando en olfatometría con disoluciones muy concentradas (200ppm) de metionol. De hecho, al analizar esta disolución en un espectrómetro de masas no se pudo encontrar el metional. Parece que esta metodología sería válida para emplear este patrón de metionol en una prueba sensorial.

Por último, los resultados de inyectar en el olfatómetro la muestra purificada mediante cromatografía líquida en fase normal fueron parejos al metionol purificado mediante fase reversa, como se puede observar en la **Tabla 3**. No se encuentra el metional en espectrometría de masas, pero algún juez es capaz de detectarlo en GCO. Como se dijo anteriormente se utilizó esta técnica para el estudio de la impureza con aroma a geranio (LRI DB-WAX 1967). Del mismo modo, fue este procedimiento el empleado para purificar el metionol en las pruebas sensoriales del **Capítulo 9**.

3.4. Compuestos derivados de la oxidación del metionol

La experiencia con agua oxigenada (Met-Oxi-H₂O₂) no resultó satisfactoria para oxidar el metionol, ya que no se hallaron grandes diferencias entre el compuesto al inicio del experimento y al final. Sin embargo, en la muestra Met-Oxi-Fe se encontraron muchas zonas de olor mediante olfatometría (**Tabla 3**).

Como se puede observar en dicha tabla se han generado una serie de compuestos al oxidar el patrón de metionol, entre estos podemos encontrar aldehídos, ácidos, sulfóxidos, sulfonas y la impureza a geranio que aparecía en dos lotes del compuesto Met-C1 y Met-C2. También aparece otra zona de olor con unos descriptores parejos al anterior, como col o una sensación metálica, pero con un índice de retención diferente (LRI en DB-WAX de 1889), como se muestra en la **Tabla 3**.

Muchos de los compuestos formados en la oxidación de metionol forman parte de la composición aromática de los vinos como el dimetil disulfuro, (*Z*)-3-hexenal, ácido propanoico, ácido 3-metilpropanoico, dimetilsulfóxido o 3-metilpropanoato de etilo (Fedrizzi y col., 2011; Moreira y col., 2002; San Juan y col., 2012). Sin embargo, ninguno de ellos aparece en olfatometrías de vinos con niveles elevados de metionol catalogados como verdes.

Otros compuestos identificados en la muestra oxidada Met-Oxi-Fe fueron tert-butilmetilsulfuro, ácido 2-propenoico y *S*-metilmetanotiosulfonato. Aunque parecen compuestos con importancia sensorial limitada, ya que por ejemplo el *S*-metilmetanotiosulfonato no fue detectado en olfatometría hasta alcanzar una concentración de 20 mg L⁻¹.

Los resultados de la oxidación no fueron los esperados, ya que se pretendía generar mayor cantidad de la impureza con olor a geranio y la olfatometría indicaba intensidades similares a los patrones contaminados (Met-C1 y Met-C2). Por ello buscamos otras formas de oxidar el metionol de forma más eficiente en diferentes condiciones oxidantes con hierro, cobre y/o agua oxigenada.

Estas últimas muestras que parecen en la **Tabla 2** se siguieron sensorialmente de una manera informal. Después de 3 años, la impureza con olor a geranio no se ha percibido claramente, sin embargo, parece que la evolución de las diferentes pruebas sigue caminos diferenciados. En primer lugar, parece que los diferentes ensayos han perdido intensidad aromática respecto al testigo (metionol patrón), puede ser que se haya transformado en otras especies con menor poder odorante. Por otra parte, las muestras oxidadas en presencia de hierro parecen desarrollar aromas de verdura cocida, posiblemente mayoritariamente el metional. Mientras que en aquellas que se pusieron en contacto con cobre se aprecian unos olores que recuerdan más al ajo.

4. Conclusiones

El patrón de metionol contiene impurezas provenientes del alcohol, y algunas de ellas tiene umbrales mucho más pequeños que el propio metionol. Especialmente conflictiva, pues presenta un aroma muy parecido al metionol pero mucho más potente, es el caso del metional o el compuesto no identificado que huele a geranio. La presencia de estas impurezas se puede revertir o minimizar, realizando un aislamiento del metionol en cromatografía líquida preparativa en fase normal o en fase reversa. Si no se llevan a cabo estas purificaciones se puede tergiversar las pruebas sensoriales que se lleven a cabo con este compuesto, como puede ser el cálculo de su umbral de olfacción.

Oxidando el metionol se han encontrado compuestos muy diversos (ácidos, aldehídos, sulfuros, sulfonas, etc.) con alto potencial aromático. Algunos de estos compuestos forman parte del aroma del vino y otros no.

Destacan los compuestos responsables de la zona de olor a hoja de geranio, por estar presentes en patrones almacenados correctamente en nuestro y otros laboratorios. Disponemos del índice en columna polar (LRI 1971) y apolar (LRI 1340), de su espectro de masas, pero no conocemos su identidad. Hay que destacar que en las olfatometrías de vinos verdes no se ha encontrado a estos tiempos de retención, una zona de olor con estos aromas.

Referencias

- Danilewicz, J. C. (2014). Role of Tartaric and Malic Acids in Wine Oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5149–5155. <https://doi.org/10.1021/jf5007402>
- de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, 210, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.021>
- Fedrizzi, B., Zapparoli, G., Finato, F., Tosi, E., Turri, A., Azzolini, M., & Versini, G. (2011). Model Aging and Oxidation Effects on Varietal, Fermentative, and Sulfur Compounds in a Dry Botrytized Red Wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 1804–1813. <https://doi.org/10.1021/jf104160m>
- Ferreira, V., Hernández-Orte, P., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (1999). Semipreparative reversed-phase liquid chromatographic fractionation of aroma extracts from wine and other alcoholic beverages. *Journal of Chromatography A*, 864(1), 77–88. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(99\)01004-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(99)01004-3)
- Firouzabadi, H., Iranpoor, N., & Zolfigol, M. A. (1998). Selective and efficient transformation of thioethers to their sulfoxides and catalytic conversions of thiols to the disulfides with hydrated iron(III) and copper(II) nitrates in aprotic organic solvents or under solvent free conditions. *Synthetic Communications*, 28(7), 1179–1187. <https://doi.org/10.1080/00397919808005959>
- Laurie, V. F., & Waterhouse, A. L. (2006). Oxidation of glycerol in the presence of hydrogen peroxide and iron in model solutions and wine. Potential effects on wine color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4668–4673. <https://doi.org/10.1021/jf053036p>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9)
- Moreira, N., Mendes, F., Pereira, O., de Pinho, P. G., Hogg, T., & Vasconcelos, I. (2002). Volatile sulphur compounds in wines related to yeast metabolism and nitrogen composition of grape musts. *Analytica Chimica Acta*, 458(1), 157–167. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)01618-X](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)01618-X)
- Ortega, C., López, R., Cacho, J., & Ferreira, V. (2001). Fast analysis of important wine volatile compounds Development and validation of a new method based on gas chromatographic-flame

- ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts. *Journal of Chromatography A*, 923(1–2), 205–214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)00972-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)00972-4)
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>
- Tissot, E., Rochat, S., Debonneville, C., & Chaintreau, A. (2012). Rapid GC-FID quantification technique without authentic samples using predicted response factors. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(4, SI), 290–296. <https://doi.org/10.1002/ffj.3098>

Annex 9. Supplementary information of Chapter 11

Table A9.1. Aroma contexts and composition of wine models used in the study (micrograms per litre).

	Compounds	Concentration ^c	Odour threshold ^a	CAS	Purity	Company	
	acetic acid	150000	300000[1]	64-19-7	99.0	Panreac	
	ethyl acetate	50000	12300[2]	141-78-6	99.5	PolyScience	
	diacetyl	400	100[1]	431-03-8	99.0	Sigma-Aldrich	
	isoamyl acetate	1000	30[1]	123-92-2	99.0	PolyScience	
	isoamyl alcohol	180000	30000[1]	123-51-3	99.0	Sigma-Aldrich	
	β -phenylethanol	30000	14000[3]	60-12-8	99.0	Fluka	
	ethyl vanillate	250	990[4]	617-05-0	99.0	Lancaster	
	vanillin	70	995[5]	121-33-5	99.0	Panreac	
Pool of compounds conforming the common aroma base	γ -nonalactone	20	25[6]	104-61-0	97.0	Sigma-Aldrich	
	guaiacol	10	9.5[3]	90-05-1	98.0	Sigma-Aldrich	
	β -damascenone	4	0.05[1]	23726-93-4	98.0	Firmenich	
	β -ionone	0.3	0.09[3]	79-77-6	85.0	Sigma-Aldrich	
	linalool	7	25[3]	126-91-0	98.5	Fluka	
	geraniol	13	20[5]	106-24-1	99.5	Fluka	
	furaneol	30	5[7]	3658-77-3	99.0	Sigma-Aldrich	
	hexanoic acid	2000	420[3]	142-62-1	99.5	PolyScience	
	isovaleric acid	300	33[3]	503-74-2	98.0	Lancaster	
	ethyl hexanoate	1000	62[8]	123-66-0	99.5	PolyScience	
	ethyl 2-methylbutyrate	120	18[3]	7452-79-1	98.0	Sigma-Aldrich	
	ethyl cinnamate	0.43	1.1[3]	103-36-6	99.0	Sigma-Aldrich	
	Saturated aldehydes context	hexanal	30	4.5[9]	66-25-1	98.0	Sigma-Aldrich
		heptanal	5	15-3[9]	111-71-7	95.0	Sigma-Aldrich
octanal		25	15[10]	124-13-0	99.0	Sigma-Aldrich	
nonanal		5	15[10]	124-19-6	95.0	Fluka	
decanal		5	10[10]	112-31-2	98.0	Sigma-Aldrich	
Unsaturated aldehydes context	(<i>E,Z</i>)-2,6-nonadienal	0.05	0.01[11]	100-52-7	99.0	Fluka	
	(<i>E,E</i>)-2,4-decadienal	0.05	0.07[9]	123-51-3	98.0	Sigma-Aldrich	
	(<i>E</i>)-2-hexenal	5	4[12]	557-48-2	95.0	Sigma-Aldrich	
	(<i>E</i>)-2-heptenal	5	4.6[12]	25152-84-5	89.0	Sigma-Aldrich	
	(<i>E</i>)-2-octenal	5	3[12]	6728-26-3	98.0	Sigma-Aldrich	
	(<i>E</i>)-2-nonenal	0.2	0.6[12]	18829-55-5	98.0	Fluka	
	(<i>E</i>)-2-decenal	0.5	0.3[13]	25-87-0	94.0	Sigma-Aldrich	
(<i>E</i>)-2-undecenal	5	n.a. ^b	18829-56-6	97.0	Sigma-Aldrich		
Benzaldehyde context	benzaldehyde	150	2000[14]	3913-81-3	95.0	Sigma-Aldrich	
Isoamyl alcohol context	isoamyl alcohol	500000	30000[1]	53448-07-0	99.0	Sigma-Aldrich	
Methoxypyrazine context	2-isopropyl-3-methoxypyrazine	0.0037	0.001[15]	65767-22-8	95.0	TRC-Canada	
	2-isobutyl-3-methoxypyrazine	0.012	0.015[16]	25773-40-4	99.0	Sigma-Aldrich	
(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-one context	(<i>Z</i>)-1,5-octadien-3-one	0.005	0.0012[17]	24683-00-9	99.0	Sigma-Aldrich	
Acetaldehyde	acetaldehyde	0-100000	500 [1]	75-07-0	99.0	Sigma-Aldrich	

^aReference in which the odour threshold value has been calculated is given in brackets: [1] Guth, H. (1997). Quantification and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>. [2] Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odour activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>. [3] Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of Food and Agriculture*, 80(11), 1659–1667. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(20000901\)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0010(20000901)80:11<1659::AID-JSFA693>3.0.CO;2-6). [4] López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966(1–2), 167–177. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00696-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00696-9). [5] Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odour families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>. [6] Gemert, L. J. van. (2003). Compilation of odour thresholds. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services. [7] Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>. [8] San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>. [9] Buttery, Ron G, & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>. [10] Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Gas Chromatography-Olfactometry and Chemical Quantitative Study of the Aroma of Six Premium Quality Spanish Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1653–1660. <https://doi.org/10.1021/jf0350820>. [11] Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., & Ling, L. C. (1969). Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(6), 1322–1327. <https://doi.org/10.1021/jf60166a061>. [12] Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>. [13] Buttery, Ron G, & Ling, L. C. (1998). Additional Studies on Flavor Components of Corn Tortilla Chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7), 2764–2769. <https://doi.org/10.1021/jf980125b>. [14] Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6). [15] Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxy-pyrazine in wine. *Journal of Food Science*, 72(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>. [16] Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdiou, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>. [17] Allamy, L., Darriet, P., & Pons, A. (2017). Identification and Organoleptic Contribution of (Z)-1,5-Octadien-3-one to the Flavor of Vitis vinifera cv. Merlot and Cabernet Sauvignon Musts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(9), 1915–1923. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05293>. In ref 1, threshold was calculated in a 10% water/ethanol mixture; in refs 2, 5, 8, 10 and 12 the matrix was a 10% water/ethanol solution containing 5 g/L tartaric acid and pH 3.2; in ref 3 the mixture was 11% water/ethanol, pH=3.4, 7 g/L glycerol and 5 g/L tartaric acid; in refs 4 and 7, the matrix was a synthetic wine containing 11% ethanol (v/v), pH=3.4, 7 g/L glycerol and 5 g/L tartaric acid; in ref 6, 9, 11 and 13 the thresholds were calculated in water; in ref 14, threshold was calculated in a 10% water/ethanol mixture adjusted to pH 3.5 with tartaric acid; in refs 15 and 16, the thresholds were calculated in red wine; and in ref 17 the matrix was a synthetic wine.

^bThreshold is not available.

^cThe concentrations of volatile compounds in different contexts correspond to the average concentration of aroma compounds found in a previous works and taking into account the odour threshold of these compounds and the preliminary bench top tastings. The references were:

Allamy, L., Darriet, P., & Pons, A. (2017). Identification and Organoleptic Contribution of (Z)-1,5-Octadien-3-one to the Flavor of Vitis vinifera cv. Merlot and Cabernet Sauvignon Musts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(9), 1915–1923. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b05293>

Buttery, R. G., Seifert, R. M., Guadagni, D. G., & Ling, L. C. (1969). Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(6), 1322–1327. <https://doi.org/10.1021/jf60166a061>

Buttery, Ron G, & Ling, L. C. (1995). Volatile Flavor Components of Corn Tortillas and Related Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(7), 1878–1882. <https://doi.org/10.1021/jf00055a023>.

Buttery, Ron G, & Ling, L. C. (1998). Additional Studies on Flavor Components of Corn Tortilla Chips. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2764–2769. <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>

- Culleré, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). An assessment of the role played by some oxidation-related aldehydes in wine aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(3), 876–881. <https://doi.org/10.1021/jf062432k>
- Culleré, L., Escudero, A., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Gas Chromatography-Olfactometry and Chemical Quantitative Study of the Aroma of Six Premium Quality Spanish Aged Red Wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1653–1660. <https://doi.org/10.1021/jf0350820>
- Culleré, L., Ferreira, V., & Cacho, J. (2011). Analysis, occurrence and potential sensory significance of aliphatic aldehydes in white wines. *Food Chemistry*, 127(3), 1397–1403. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.01.133>
- Culleré, L. (2005). Nuevas estrategias para el análisis de compuestos carbonílicos en vino y determinación de su impacto sensorial. *PhD thesis*, Universidad de Zaragoza, Spain.
- Darriet, P., Pons, M., Henry, R., Dumont, O., Findeling, V., Cartolaro, P., Calonnec, A., & Dubourdiou, D. (2002). Impact odorants contributing to the fungus type aroma from grape berries contaminated by powdery mildew (*Uncinula necator*); incidence of enzymatic activities of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(11), 3277–3282. <https://doi.org/10.1021/jf011527d>
- Escudero, A., Campo, E., Fariña, L., Cacho, J., & Ferreira, V. (2007). Analytical characterization of the aroma of five premium red wines. Insights into the role of odor families and the concept of fruitiness of wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(11), 4501–4510. <https://doi.org/10.1021/jf0636418>
- Escudero, A., Gogorza, B., Melús, M. A., Ortín, N., Cacho, J., & Ferreira, V. (2004). Characterization of the aroma of a wine from Maccabeo. Key role played by compounds with low odor activity values. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(11), 3516–3524. <https://doi.org/10.1021/jf0353411>
- Ferreira, V., Culleré, L., López, R., & Cacho, J. (2004). Determination of important odor-active aldehydes of wine through gas chromatography-mass spectrometry of their O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)oximes formed directly in the solid phase extraction cartridge used for selective isolation. *Journal of Chromatography A*, 1028(2), 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.11.104>
- Ferreira, V., López, R., & Cacho, J. F. (2000). Quantitative determination of the odorants of young red wines from different grape varieties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1659–1667.
- Ferreira, V., Ortín, N., Escudero, A., López, R., & Cacho, J. (2002). Chemical characterization of the aroma of Grenache rosé wines: Aroma extract dilution analysis, quantitative determination, and sensory reconstitution studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4048–4054. <https://doi.org/10.1021/jf0115645>
- Gemert, L. J. van. (2003). Compilation of odor thresholds. Zeist, The Netherlands: Boelens aroma chemical Information services.
- Guth, H. (1997). Quantitation and sensory studies of character impact odorants of different white wine varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(8), 3027–3032. <https://doi.org/10.1021/jf970280a>
- López, R., Aznar, M., Cacho, J., & Ferreira, V. (2002). Determination of minor and trace volatile compounds in wine by solid-phase extraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, 966, 167–177. www.elsevier.com/locate/chroma
- Moreira, N., Lopes, P., Ferreira, H., Cabral, M., & de Pinho, P. G. (2016). Influence of packaging and aging on the red wine volatile composition and sensory attributes. *Food Packaging and Shelf Life*, 8, 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.foodpack.2016.02.005>
- Peinado, R. A., Moreno, J., Bueno, J. E., Moreno, J. A., & Mauricio, J. C. (2004). Comparative study of aromatic compounds in two young white wines subjected to pre-fermentative cryomaceration. *Food Chemistry*, 84(4), 585–590. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00282-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00282-6)
- Pérez Olivero, S. J., & Pérez Trujillo, J. P. (2010). A new method for the determination of carbonyl compounds in wines by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-ion trap mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(24), 12976–12985. <https://doi.org/10.1021/jf1034064>
- Pickering, G. J., Karthik, A., Inglis, D., Sears, M., & Ker, K. (2007). Determination of ortho- and retronasal detection thresholds for 2-isopropyl-3-methoxypyrazine in wine. *Journal of Food Science*, 72(7). <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00439.x>
- Roujou de Boubee, D., Van Leeuwen, C., & Dubourdiou, D. (2000). Organoleptic impact of 2-methoxy-3-isobutylpyrazine on red Bordeaux and Loire wines. Effect of environmental conditions on concentrations in grapes during ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4830–4834. <https://doi.org/10.1021/jf000181o>
- San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V., & Escudero, A. (2012). Aroma chemical composition of red wines from different price categories and its relationship to quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5045–5056. <https://doi.org/10.1021/jf2050685>

Figure A9.2. List of 121 attributes provided to the judges to generate aromatic and chemesthetic descriptors for the generation of sensory descriptors session.

Lista de descriptores de aroma

FRUTAL

FRUTAS BLANCAS

Manzana

Membrillo

Pera

FRUTAS AMARILLAS

Albaricoque/melocotón/nectarina

Melón

FRUTAS PASAS/COMBOTADAS

Ciruela

Dátil

Higo seco

Orejón/melocotón seco

Uva pasa

Melocotón en almíbar

Guindas en alcohol/Kirsch

Fruta escarificada/mermelada

FRUTAS TROPICALES

Coco

Lichi

Mango

Maracuyá/fruta de la pasión

Piña

Plátano

FRUTAS ROJOS

Cereza

Fresa

Frambuesa

Grosella

FRUTAS NEGRAS

Arandano

Casís/Grosella negra

Mora

FRUTAS PASADA/PODRIDA

Manzana pasada

Pera podrida

FLORAL

Acacia

Azahar

Geranio

Jazmín

Uña

Manzanilla

Miel/Palen

Rosa

Tilo

Violeta

ESPECIAS

Anís/Regaliz

Canela

Clavo

Curry

Enebro

Laurel

Menta/eucalipto

Nuez moscada

Pimienta

Tomillo

Vanillita

TORREFACTO/MADERA

TORREFACTO

Caramelo/Torté

Café torrefacto

Pan tostado

Piel quemado

MADERA

Madera nueva

Madera tostada

Humo de madera

OTROS

Alcohól

Disolvente

Vinagre

Alquitran/Asfalto

Caucho

Azufre

Silex/Pedernal

Cartón/Palvo

Chocolate

Cera

Rancio

Grasa

VEGETAL

VERBUJAS COCIDAS

Apio

Cofílor

Agua de esparragos

Agua de olivas

Atrachofas

Alubia verde

Patata cocida

VEGETALES FRESCOS

Hierba/Césped

Pino/Resina

Pimiento Verde

Bol

Hoja de tomatera

HIERBAS SECAS

Tabaco

Heno

SENSACIONES ORTONASALES TÁCTILES

Frecor

Hormigueo

Picor

Irritación

Quemazón

Ardor

Sensación anestésica / Anestesia

Sensación Grasa

Metálico

ANIMAL

Cuero

Fumig./Aercrem"

Almizcle

Pipi de gato

Piel mojado

Transpiración/Sudor

SOTOBOSQUE


Champiñón

Humus/Tierra

Moho

Humedad/Trope mojado

Agua estancada/alcanarilla



laae
Laboratorio de Análisis
de Alimentos y Bebidas

Figure A9.3. Example of the instructions used in the specific training sessions of the sensory panel.

Entrenamiento. Sesión X.

Código juez _____

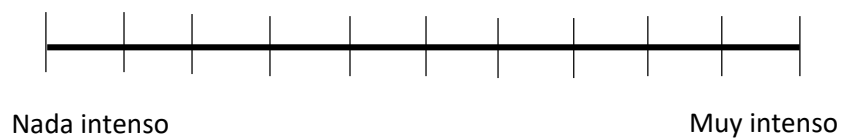
Parte A. Os pedimos que intentéis encontrar los atributos que corresponden a cada una de las 12 referencias.

REFERENCIA	ATRIBUTO
797	
235	
628	
723	
248	
350	
671	
907	
605	
846	
159	
349	

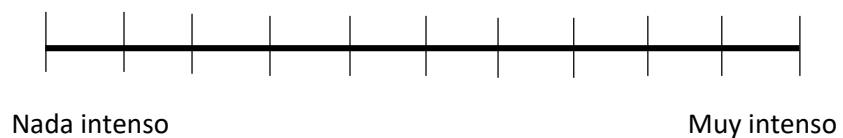
Figure A9.3. (Cont.)

Parte B. Se os presentan 4 vinos. Se os pide que oláis los vinos y a continuación evaluáis su **intensidad**.

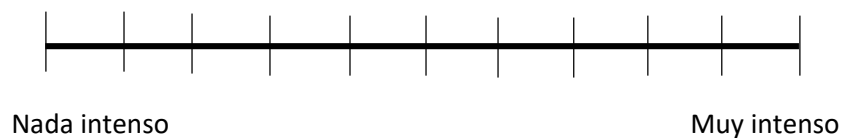
FRUTA ROJA



FRUTA TROPICAL



PIMIENTO VERDE



PICOR/IRRITACIÓN/ANESTESIA

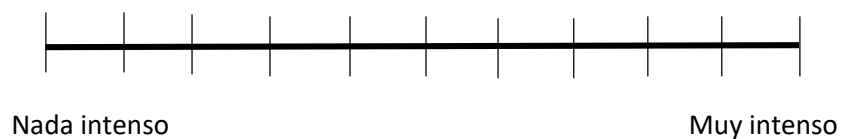



Figure A9.4. Instructions for the sensory evaluation sessions of the samples. The example shows the control context for reconstituted lyophilized wine.

Sesión 1

Código juez _____

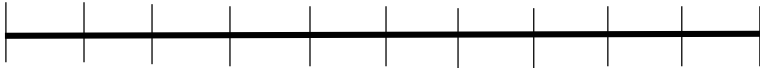
Se os presentan **6 vinos**. Se os pide que oláis los vinos y a continuación evaluéis su **intensidad para cada uno de los descriptores**. Entre copa y copa oler agua 30 segundos, dar un trago de agua y volver a oler agua durante otros 30 segundos.

FRUTA ROJA (fresa, frambuesa)




Nada intenso Muy intenso

FRESCOR (Sensación táctil)




Nada intenso Muy intenso

VERDURA COCIDA (coliflor, agua de olivas, caldo de espárragos)




Nada intenso Muy intenso

PICOR (Sensación táctil)




Nada intenso Muy intenso

VEGETAL FRESCO (Pimiento verde, hierba cortada...)



Nada intenso Muy intenso

FRUTA PASA (uva pasa, ciruela pasa, higo paso)



Nada intenso Muy intenso

Table A9.5. Average intensity of different descriptors in all the contexts in the two matrix (SW: synthetic wine and RLW: reconstituted lyophilised wine) at different acetaldehyde levels. Expressed as the average (among replicated samples) \pm standard deviation and the letters indicate significant differences ($p < 0.05$ according to pairwise Fisher test) in the same matrix.

Context	Attribute	Matrix	Free acetaldehyde concentration						<i>p</i> -value*	
			0.00 ppm	0.18 ppm	0.71 ppm	2.74 ppm	17.5 ppm	56.2 ppm		
Control	Red Fruit	SW	5.69 \pm 1.78 a	-	-	-	-	3.98 \pm 1.97 b	***	
		RLW	4.73 \pm 2.39 ab	6.05 \pm 3.55 a	5.81 \pm 2.52 a	4.31 \pm 2.09 bc	2.94 \pm 3.73 c	3.15 \pm 4.46 bc	***	
	Freshness	SW	4.29 \pm 3.29 a	-	-	-	-	4.29 \pm 3.33 a	-	
		RLW	2.66 \pm 2.25 c	4.84 \pm 3.11 a	4.73 \pm 2.03 a	2.94 \pm 2.17 bc	4.86 \pm 3.51 a	4.39 \pm 3.24 ab	**	
	Cooked vegetables	SW	3.19 \pm 3.79 a	-	-	-	-	3.43 \pm 4.38 a	-	
		RLW	4.26 \pm 3.27 bc	3.72 \pm 3.96 c	3.44 \pm 2.91 c	5.11 \pm 3.64 abc	6.99 \pm 3.78 a	6.30 \pm 5.24 ab	**	
	Itching	SW	2.85 \pm 2.64 a	-	-	-	-	3.26 \pm 3.25 a	-	
		RLW	4.03 \pm 3.45 bc	3.28 \pm 3.00 c	3.26 \pm 2.60 c	5.58 \pm 4.13 ab	6.01 \pm 3.82 ab	6.61 \pm 3.30 a	***	
	Green vegetables	SW	1.97 \pm 2.24 b	-	-	-	-	3.72 \pm 2.95 a	**	
		RLW	2.30 \pm 3.12 ab	1.73 \pm 2.49 a	2.22 \pm 2.24 ab	3.50 \pm 3.50 ab	2.87 \pm 2.94 ab	4.09 \pm 2.99 a	*	
	Dried fruit	SW	2.60 \pm 2.42 a	-	-	-	-	3.64 \pm 2.67 a	-	
		RLW	4.53 \pm 3.20 bc	3.79 \pm 2.62 bc	2.84 \pm 1.32 c	5.74 \pm 3.27 ab	5.22 \pm 4.24 ab	7.14 \pm 5.03 a	***	
	Alcoholic	SW	3.41 \pm 2.44 a	-	-	-	-	3.77 \pm 2.49 a	-	
		RLW	4.63 \pm 3.17 a	4.16 \pm 2.33 a	4.46 \pm 3.25 a	5.17 \pm 3.52 a	4.05 \pm 2.90 a	3.63 \pm 2.40 a	-	
Unsaturated aldehydes	Dried fruit	SW	3.07 \pm 1.86 a	-	-	-	-	2.67 \pm 2.15 a	-	
		RLW	3.60 \pm 2.84 b	3.98 \pm 2.00 b	4.04 \pm 2.66 b	4.04 \pm 2.86 b	4.97 \pm 2.86 b	7.40 \pm 3.43 a	***	
	Freshness	SW	3.11 \pm 2.58 a	-	-	-	-	3.36 \pm 3.01 a	-	
		RLW	2.95 \pm 1.86 a	3.22 \pm 2.12 a	2.93 \pm 2.45 a	3.56 \pm 2.46 a	3.46 \pm 2.63 a	3.78 \pm 3.24 a	-	
	Cooked vegetables	SW	3.68 \pm 3.35 a	-	-	-	-	3.64 \pm 3.42 a	-	
		RLW	2.87 \pm 2.61 b	4.24 \pm 2.74 ab	2.84 \pm 2.34 b	3.46 \pm 3.28 b	4.01 \pm 3.05 ab	5.67 \pm 3.53 a	**	
	Itching	SW	3.37 \pm 2.53 b	-	-	-	-	5.16 \pm 3.70 a	**	
		RLW	3.58 \pm 2.95 b	5.16 \pm 1.97 ab	3.91 \pm 2.45 b	5.52 \pm 3.67 a	6.07 \pm 3.85 a	6.67 \pm 3.09 a	***	
	Green vegetables	SW	2.55 \pm 2.63 b	-	-	-	-	4.56 \pm 3.58 a	***	
		RLW	2.63 \pm 2.71 b	2.39 \pm 2.40 b	2.77 \pm 2.31 b	2.61 \pm 2.14 b	3.68 \pm 3.26 ab	5.34 \pm 4.07 a	**	
	Humidity	SW	3.58 \pm 4.41 a	-	-	-	-	2.91 \pm 3.33 a	-	
		RLW	3.80 \pm 2.79 a	4.50 \pm 3.90 a	3.92 \pm 2.94 a	3.98 \pm 3.60 a	3.57 \pm 3.16 a	3.56 \pm 3.66 a	-	
	Benzaldehyde	Red Fruit	SW	5.47 \pm 3.69 a	-	-	-	-	2.87 \pm 2.56 b	**
			RLW	6.55 \pm 3.32 a	5.43 \pm 3.06 ab	4.49 \pm 3.04 bc	5.80 \pm 3.50 ab	3.46 \pm 3.38 c	4.04 \pm 3.35 bc	**
Burning		SW	4.86 \pm 2.58 a	-	-	-	-	5.29 \pm 3.12 a	-	
		RLW	5.31 \pm 3.68 a	5.74 \pm 3.65 a	7.20 \pm 3.11 a	5.88 \pm 3.07 a	5.65 \pm 3.65 a	6.24 \pm 3.92 a	-	
Cooked vegetables		SW	2.99 \pm 2.54 a	-	-	-	-	2.89 \pm 2.58 a	-	
		RLW	2.42 \pm 3.00 b	2.61 \pm 2.73 b	2.69 \pm 1.91 b	3.18 \pm 2.13 b	3.82 \pm 2.15 ab	5.33 \pm 2.95 a	**	
Humidity		SW	1.72 \pm 1.79 a	-	-	-	-	1.78 \pm 1.77 a	-	
		RLW	2.76 \pm 3.28 a	1.84 \pm 1.97 a	1.43 \pm 2.05 a	2.24 \pm 3.09 a	2.10 \pm 2.72 a	2.62 \pm 2.57 a	-	
Green vegetables		SW	1.01 \pm 1.15 b	-	-	-	-	1.97 \pm 1.85 a	**	
		RLW	2.40 \pm 2.22 b	3.06 \pm 2.82 b	3.18 \pm 2.36 b	3.25 \pm 3.24 b	3.25 \pm 2.85 b	5.34 \pm 3.36 a	**	
Dried fruit		SW	2.16 \pm 2.47 a	-	-	-	-	2.05 \pm 1.97 a	-	
		RLW	4.74 \pm 3.22 a	4.11 \pm 3.10 a	3.99 \pm 2.11 a	4.61 \pm 2.50 a	5.48 \pm 2.61 a	4.67 \pm 3.31 a	-	
Animal		SW	1.06 \pm 1.42 a	-	-	-	-	1.01 \pm 1.57 a	-	
		RLW	2.04 \pm 3.08 a	1.56 \pm 1.97 a	1.88 \pm 2.41 a	1.66 \pm 2.20 a	1.99 \pm 2.44 a	1.67 \pm 2.40 a	-	

Table A9.5. (Cont.)

Context	Attribute	Matrix	Free acetaldehyde concentration						p-value*	
			0.00 ppm	0.18 ppm	0.71 ppm	2.74 ppm	17.5 ppm	56.2 ppm		
Methoxy pirazines	Dried fruit	SW	2.51 ± 2.55 a	-	-	-	-	2.69 ± 2.07 a	-	
		RLW	3.52 ± 2.56 b	4.14 ± 3.11 b	4.09 ± 2.57 b	4.13 ± 3.26 b	4.93 ± 2.59 ab	6.58 ± 3.29 a	**	
	Alcoholic	SW	6.11 ± 2.79 a	-	-	-	-	5.50 ± 2.86 a	-	
		RLW	4.26 ± 3.28 a	4.00 ± 2.54 a	4.62 ± 3.00 a	4.79 ± 2.92 a	5.41 ± 3.40 a	5.25 ± 2.97 a	-	
	Cooked vegetables	SW	2.79 ± 2.97 a	-	-	-	-	1.09 ± 1.35 b	**	
		RLW	2.44 ± 2.76 b	3.08 ± 2.08 b	3.29 ± 3.25 b	2.19 ± 1.68 b	3.42 ± 2.58 b	5.73 ± 3.15 a	***	
	Itching	SW	4.49 ± 3.13 a	-	-	-	-	2.96 ± 2.60 b	**	
		RLW	5.23 ± 3.64 a	4.53 ± 2.98 ab	4.68 ± 3.89 ab	4.24 ± 2.80 ab	3.58 ± 3.05 b	5.08 ± 3.14 a	-	
	Green vegetables	SW	2.38 ± 2.12 b	-	-	-	-	3.99 ± 2.58 a	**	
		RLW	5.95 ± 3.28 a	6.03 ± 3.89 a	3.66 ± 3.25 b	4.63 ± 3.45 ab	4.10 ± 2.43 b	3.10 ± 1.89 b	***	
	Undergrowth	SW	1.92 ± 2.30 a	-	-	-	-	0.99 ± 1.61 b	**	
		RLW	3.85 ± 3.34 a	3.22 ± 2.60 ab	2.04 ± 2.41 bc	2.13 ± 2.80 bc	1.62 ± 2.44 c	1.45 ± 1.54 c	**	
	Saturated aldehydes	Undergrowth	SW	1.11 ± 1.17 a	-	-	-	-	1.48 ± 2.00 a	-
			RLW	2.88 ± 3.47 a	2.25 ± 2.55 a	1.83 ± 1.98 a	2.89 ± 3.91 a	2.54 ± 3.03 a	3.32 ± 4.18 a	-
Freshness		SW	2.99 ± 2.41 a	-	-	-	-	2.52 ± 2.25 a	-	
		RLW	2.52 ± 2.93 b	3.10 ± 2.75 ab	2.33 ± 2.49 b	4.14 ± 3.22 ab	5.03 ± 3.06 a	4.77 ± 3.31 a	*	
Cooked vegetables		SW	2.87 ± 2.91 a	-	-	-	-	2.35 ± 2.11 a	-	
		RLW	2.75 ± 2.33 b	2.60 ± 2.58 b	3.96 ± 3.14 ab	4.31 ± 2.76 ab	5.11 ± 3.05 a	5.52 ± 3.70 a	**	
Itching		SW	2.89 ± 3.50 b	-	-	-	-	4.50 ± 3.44 a	**	
		RLW	4.72 ± 2.69 bc	5.34 ± 3.04 b	3.30 ± 2.62 c	6.23 ± 3.07 ab	6.14 ± 2.65 ab	7.24 ± 2.86 a	****	
Green vegetables		SW	1.96 ± 2.05 b	-	-	-	-	3.22 ± 2.71 a	****	
		RLW	2.83 ± 2.67 c	2.46 ± 2.97 c	3.46 ± 2.23 bc	4.08 ± 3.13 bc	4.54 ± 3.33 b	6.64 ± 3.46 a	****	
Dried fruit		SW	2.44 ± 1.91 a	-	-	-	-	2.99 ± 2.50 a	-	
		RLW	4.31 ± 3.57 a	4.96 ± 3.33 a	4.51 ± 3.25 a	4.40 ± 3.14 a	5.39 ± 2.58 a	4.89 ± 4.09 a	-	
Animal		SW	1.18 ± 1.46 b	-	-	-	-	1.74 ± 1.73 a	**	
		RLW	1.96 ± 2.23 a	1.87 ± 1.84 a	2.43 ± 2.14 a	2.22 ± 3.22 a	1.94 ± 2.43 a	2.96 ± 3.13 a	-	
Alcoholic	SW	4.52 ± 2.58 a	-	-	-	-	4.95 ± 3.54 a	-		
	RLW	5.14 ± 2.66 a	5.41 ± 2.75 a	4.43 ± 2.51 a	4.41 ± 3.32 a	4.25 ± 2.61 a	5.15 ± 3.15 a	-		
Isoamyl alcohol	Wood	SW	2.12 ± 1.81 a	-	-	-	-	1.21 ± 1.39 b	**	
		RLW	3.32 ± 2.17 ab	4.73 ± 2.58 a	2.48 ± 1.89 b	3.06 ± 2.30 b	1.78 ± 1.51 b	2.57 ± 2.19 b	**	
	Burning	SW	3.78 ± 2.73 b	-	-	-	-	5.26 ± 3.09 a	**	
		RLW	5.01 ± 2.91 bc	5.89 ± 3.32 abc	4.26 ± 2.60 c	6.82 ± 2.74 a	6.05 ± 3.10 ab	6.70 ± 3.34 ab	**	
	Cooked vegetables	SW	1.06 ± 0.96 a	-	-	-	-	1.99 ± 2.26 a	-	
		RLW	3.08 ± 3.00 b	2.17 ± 2.19 b	2.41 ± 2.38 b	3.25 ± 1.76 b	2.81 ± 2.14 b	4.97 ± 2.94 a	***	
	Itching	SW	3.48 ± 2.94 b	-	-	-	-	5.44 ± 3.38 a	***	
		RLW	3.68 ± 3.17 bc	3.93 ± 3.07 bc	3.26 ± 2.89 c	3.42 ± 3.09 c	4.66 ± 2.78 ab	5.40 ± 3.20 a	***	
	Green vegetables	SW	3.53 ± 3.53 a	-	-	-	-	3.31 ± 3.24 a	-	
		RLW	1.94 ± 1.99 b	2.46 ± 2.43 b	2.24 ± 2.68 b	2.31 ± 3.22 b	3.71 ± 3.04 ab	4.72 ± 3.49 a	**	
	Dried fruit	SW	2.43 ± 2.08 a	-	-	-	-	2.76 ± 2.49 a	-	
		RLW	3.24 ± 2.34 bc	2.88 ± 2.25 c	3.13 ± 2.22 bc	4.77 ± 2.62 ab	5.55 ± 1.93 a	4.83 ± 3.45 ab	***	
	Animal	SW	1.09 ± 1.36 b	-	-	-	-	2.90 ± 3.55 a	**	
		RLW	1.54 ± 1.69 a	1.68 ± 1.63 a	2.45 ± 2.66 a	1.89 ± 2.19 a	1.33 ± 1.59 a	2.53 ± 2.82 a	-	
Solvent	SW	3.99 ± 3.16 a	-	-	-	-	3.46 ± 2.87 a	-		
	RLW	4.41 ± 2.23 a	3.43 ± 3.05 a	3.34 ± 2.94 a	3.44 ± 2.93 a	3.38 ± 2.95 a	3.63 ± 2.49 a	-		

Table A9.5. (Cont.)

Context	Attribute	Matrix	Free acetaldehyde concentration						<i>p</i> -value*
			0.00 ppm	0.18 ppm	0.71 ppm	2.74 ppm	17.5 ppm	56.2 ppm	
Z-1.5-octadien-3-one	Red fruit	SW	5.60 ± 2.99 a	-	-	-	-	3.62 ± 2.84 b	**
		RLW	3.55 ± 2.16 bc	2.94 ± 2.67 c	4.33 ± 3.33 ab	3.65 ± 2.48 bc	4.51 ± 3.05 ab	5.14 ± 3.07 a	**
	Burning	SW	4.76 ± 3.22 a	-	-	-	-	4.95 ± 3.33 a	-
		RLW	5.86 ± 3.70 a	6.39 ± 3.83 a	5.91 ± 3.09 a	4.86 ± 3.24 a	5.88 ± 3.52 a	6.15 ± 3.69 a	-
	Cooked vegetables	SW	2.63 ± 3.24 a	-	-	-	-	2.49 ± 3.12 a	-
		RLW	3.88 ± 3.70 ab	4.13 ± 2.53 ab	3.68 ± 2.55 ab	3.20 ± 2.78 b	3.63 ± 3.12 ab	4.99 ± 3.67 a	-
	Geranium	SW	1.88 ± 2.19 a	-	-	-	-	1.82 ± 2.49 a	-
		RLW	3.08 ± 3.27 a	3.11 ± 2.99 a	1.61 ± 1.71 b	2.10 ± 2.11 ab	1.51 ± 1.53 b	1.76 ± 1.70 b	**
	Green vegetables	SW	2.48 ± 2.45 a	-	-	-	-	3.06 ± 2.89 a	-
		RLW	2.55 ± 3.17 bc	3.34 ± 3.23 ab	3.06 ± 2.77 abc	1.82 ± 1.74 c	3.01 ± 2.90 bc	4.45 ± 3.11 a	**
	Dried fruit	SW	2.25 ± 1.82 a	-	-	-	-	2.15 ± 1.84 a	-
		RLW	3.61 ± 2.02 bc	3.14 ± 2.47 c	3.79 ± 3.03 bc	3.74 ± 2.43 bc	4.77 ± 2.06 ab	5.63 ± 2.32 a	**
	Humidity	SW	1.67 ± 1.37 a	-	-	-	-	0.86 ± 0.92 b	*
		RLW	3.54 ± 3.68 a	2.00 ± 2.19 b	1.49 ± 1.63 b	2.19 ± 1.95 ab	1.69 ± 1.44 b	0.98 ± 1.13 b	***
	Solvent	SW	2.33 ± 2.23 a	-	-	-	-	2.69 ± 2.58 a	-
		RLW	2.91 ± 2.22 a	2.51 ± 2.06 a	2.26 ± 2.95 a	2.81 ± 2.34 a	2.31 ± 2.07 a	2.86 ± 2.16 a	-

* Significance (*p*-value): *****p*<0.001; ***0.001<*p*<0.01; **0.01<*p*<0.05 and *0.05<*p*<0.1

