

## Trabajo Fin de Grado

Caracterización química e identificación de los compuestos responsables de los malos olores que aparecen durante el proceso de desalcoholización.

Chemical characterization and identification of the compounds responsible for the bad odour that appear during the dealcoholization process.

Autor/es

Irene Franco Molás

Director/es

Arancha de la Fuente Blanco

Departamento de Química Analítica. Laboratorio de Análisis del Aroma y Enología.

Facultad de Ciencias

2024

## ÍNDICE

1. RESUMEN .....	3
2. INTRODUCCIÓN .....	4
2.1. Técnicas de análisis .....	5
2.1.1. HS-SPE (Head-Space Solid Phase Extraction) .....	6
2.1.2. SPE (Solid Phase Extraction) .....	7
2.1.3. Análisis por cromatografía de gases con detección olfatométrica (CG-O).....	7
3. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO .....	7
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	8
4.1. Reactivos y disolventes .....	8
4.2. Muestras .....	9
4.3. Evaluación del grado alcohólico .....	9
4.4. Desalcoholización .....	10
4.5. Evaluación sensorial de los vinos desalcoholizados .....	10
4.6. Desalcoholización extrema .....	11
4.7. Evaluación sensorial de los 2 vinos seleccionados .....	11
4.8. Determinación del grado alcohólico de los vinos sometidos a desalcoholización extrema .....	11
4.9. Identificación de los compuestos que generan las desviaciones sensoriales .....	11
4.9.1. Extracción en fase sólida con espacio de cabeza (HS-SPE) .....	12
4.9.2. Extracción en fase sólida (SPE) .....	14
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
5.1. Determinación del grado alcohólico inicial en las muestras y tras la desalcoholización a 40 y 50°C .....	16
5.2. Identificación de los compuestos que generan las desviaciones sensoriales .....	20
6. CONCLUSIONES.....	23
7. BIBLIOGRAFÍA.....	24

## **1. RESUMEN**

El presente Trabajo de Fin de Grado se centra en el conocimiento químico de las sustancias que aportan olores desagradables en los vinos que han sido sometidos a un proceso de desalcoholización, concretamente mediante destilación a vacío, empleando distintos vinos tintos de varios orígenes y variedades. Como técnica principal para la identificación y semi-cuantificación se ha empleado la cromatografía de gases con puerto olfatométrico (GC-O). Habiendo sido obtenidos los extractos inyectados mediante extracción en fase sólida con espacio de cabeza con borboteo (HS-SPE).

Una vez obtenido el perfil sensorial, se analizó el extracto mediante cromatografía de gases-espectrometría de Masas (GC-MS), para de forma complementaria al GC-O, poder caracterizar estos compuestos químicos de aroma desagradable.

Los compuestos que se ha visto que presentan una mayor influencia en la pérdida de la calidad sensorial del vino desalcoholizado han sido el 2-hexen-1-ol, el 4-vinilguaiacol, el metionol y el metional.

## **ABSTRACT**

This thesis focuses on the chemical knowledge of substances that cause unpleasant odours in wines that have undergone a dealcoholization process, specifically through vacuum distillation, using different red wines from various origins and varieties. The main technique used for the identification and semi-quantification was gas chromatography with an olfactometric port (GC-O), with extracts injected obtained through headspace solid-phase extraction (HS-SPE).

Once the sensory profile was obtained, the extract was analysed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to complement the GC-O in characterizing these unpleasant aroma compounds.

The compounds that were found to have the greatest influence on the loss of sensory quality of the dealcoholized wine were 2-hexen-1-ol, 4-vinylguaiacol, methionol, and methional.

## 2. INTRODUCCIÓN

Tal y como se define en la OIV: “El vino es, exclusivamente, la bebida resultante de la fermentación alcohólica, completa o parcial, de uvas frescas, estrujadas o no, de mosto de uva. Su contenido en alcohol adquirido no puede ser inferior a 8,5% vol”<sup>[1]</sup>. Sin embargo, tanto el calentamiento global como las exigencias del mercado piden vinos con menor graduación alcohólica. En primer lugar, el aumento de la temperatura global del planeta deriva en que la cantidad de azúcar contenida en las uvas sea más elevada. Esto implica, por consiguiente, un mayor porcentaje de alcohol en la elaboración<sup>[2]</sup>. En segundo lugar, existe una problemática muy importante acerca del consumo de alcohol, no solo las médicas sino también las religiosas o las debidas a las altas tasas económicas a las que están sometidas por su grado alcohólico.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que el etanol juega un papel fundamental en las bebidas alcohólicas, ya que no solo afecta al consumidor a nivel del sistema nervioso, sino que también es crucial a nivel sensorial por afectar a las propiedades organolépticas del vino, y, por tanto, al sabor y aroma de los vinos. El contenido de alcohol es capaz de suprimir los aromas afrutados en los vinos al enmascarar la percepción de los ésteres y aportando sabor metálico y sensación de calor<sup>[3]</sup>. Por ello, es necesario conocer las propiedades físico-químicas de las mezclas de agua/etanol para comprender los efectos que tiene el alcohol en la percepción de los sabores y la capacidad de este a la hora de liberar los aromas al espacio de cabeza en una copa de vino.

De acuerdo con la bibliografía disponible, en una disolución acuosa, sin ningún contenido en etanol, las moléculas de agua forman enlaces de hidrogeno de corto alcance, donde los enlaces se van formando y rompiendo entre moléculas contiguas. Sin embargo, en mezclas de agua y etanol con baja concentración de este último, las moléculas de etanol se encuentran dispersas individualmente entre la matriz acuosa. Este comportamiento se mantiene hasta una concentración alcohólica del 15%. En valores superiores el comportamiento observado es la formación de micelas de etanol. Este comportamiento se mantiene hasta un porcentaje alcohólico del 57%, a partir del cual, las moléculas de agua pierden los enlaces de hidrogeno que las cohesionan entre sí, por lo que el fenómeno inicial se ve invertido. Las moléculas de agua están dispersas individualmente en una matriz etanólica<sup>[4][5]</sup>. El aumento del contenido de etanol también aumenta la solubilidad de los compuestos aromáticos, reduciendo la concentración en el espacio de cabeza en equilibrio y, por tanto, los coeficientes de partición gas-líquido.

Todas estas razones han llevado a la industria vitivinícola a buscar diferentes estrategias para producir vinos con contenido alcohólico reducido, pero que mantengan las mismas propiedades sensoriales que el vino original <sup>[2]</sup>.

De acuerdo con la legislación actual, un vino desalcoholizado es aquel obtenido mediante las prácticas definidas en el Código internacional de prácticas enológicas definidas por la OIV, cuyo grado volumétrico de alcohol es de menos del 0,5% <sup>[1]</sup>. Dentro de esta legislación, las prácticas permitidas para la reducción de este grado alcohólico incluyen la aplicación de técnicas de membrana, la evaporación parcial a vacío o la destilación. En este último caso, los productos obtenidos no podrán ser denominados vinos <sup>[1]</sup>.

Hasta la fecha se han estudiado muchos métodos de desalcoholización, como conos rotatorios, filtraciones selectivas a través de membranas o procedimientos de ósmosis. Aunque estos sistemas buscan una eliminación selectiva del etanol, evitando la pérdida de otros componentes aromáticos, esto en la práctica no es factible. Particularmente, porque en la práctica se prefieren las desalcoholizaciones parciales en las que se vea reducido el contenido global de etanol sin que se vea modificado el perfil sensorial del vino. Si bien esto no es el caso de las desalcoholizaciones totales, ya que presentan una problemática sensorial por la pérdida de muchos volátiles. Los desalcoholizados obtenidos de esta manera, muestran desviaciones aromáticas que, o bien se introducen durante el proceso de desalcoholización (procesos de oxidación), o son inducidas por el mismo (la pérdida de SO<sub>2</sub> por evaporación), o bien ya estaban presentes en el producto de partida, pero quedaban enmascaradas por el resto de los aromas del vino. Estas desviaciones aromáticas son solventadas en la práctica industrial con la adición de aromas artificiales que modifican en gran medida el perfil sensorial, que se hace artificial, y no es característico del vino. En cualquier caso, evita que el producto pueda denominarse vino, ya que la legislación actual prohíbe explícitamente la aromatización artificial en el vino <sup>[1]</sup>.

Desde esta problemática, conocer la identidad de las moléculas responsables de los olores extraños, como serían cocido o vegetal, perceptibles en los vinos desalcoholizados parece el primer paso para, primero, conocer su origen y poder, posteriormente, poner medios para su control o incluso eliminación a largo plazo.

### 2.1. Técnicas de análisis

Para estudiar la liberación de aromas de la matriz de la bebida se van a emplear dos metodologías ampliamente utilizadas en este campo. La primera sería la extracción en fase

sólida con espacio de cabeza dinámico (HS-SPE). La segunda, la extracción en fase sólida total (SPE).

### 2.1.1. HS-SPE (Head-Space Solid Phase Extraction)

La mayoría de los estudios han sido realizados con análisis de espacio de cabeza estático, en el que se analiza el vapor que se encuentra en contacto con el líquido en condiciones de equilibrio. Algunos de estos han estudiado el efecto del etanol en la concentración del espacio de cabeza en bebidas alcohólicas, concretamente cómo afecta la concentración de etanol a la liberación de compuestos volátiles respecto a disoluciones de matriz puramente acuosa <sup>[6]</sup>. Sin embargo, resulta especialmente útil una extracción con espacio de cabeza estático para la determinación de algunos compuestos volátiles, aunque su uso en GC-O tiene grandes limitaciones debido a su baja sensibilidad.

Sin embargo, la técnica HS-SPE aquí empleada es un proceso dinámico que sería similar al que se lleva a cabo al oler una copa de vino, en el que una inspiración del aire del espacio de cabeza en contacto con el líquido (y por tanto en el que están disueltas las moléculas volátiles) equivale a 700 mL de aire a una velocidad de 100 mL/s <sup>[6]</sup>.

Esta técnica de extracción en fase sólida con espacio de cabeza dinámico, lo imita con borboteo de un gas inerte, que podría resolver el problema de sensibilidad del estático. En este sistema se borbotea una corriente de gas N<sub>2</sub>, lo que permite extraer los compuestos volátiles atrapados en la matriz del vino y las retiene sobre un cartucho con una resina específica (material adsorbente), que posteriormente puede eluirse con un disolvente, permitiendo su análisis mediante cromatografía de gases con detección olfatométrica (GC-O) <sup>[7]</sup>. Esta última variante simula de manera más precisa el proceso de olfato orthonasal, definido por la American Psychology Association como: "las sensaciones olfativas que surgen al introducir un odorante por los orificios nasales" <sup>[8]</sup>.

Dado que los aromas son compuestos volátiles, la técnica de espacio de cabeza presenta ciertas ventajas frente a otros métodos de extracción de estos compuestos. En primer lugar, los extractos obtenidos de esta manera tienen menos riesgo de exagerar la presencia de compuestos que se transfieren con dificultad al espacio de cabeza y que, por lo tanto, serían aromas difícilmente detectables en un análisis sensorial. En segundo lugar, los extractos estarán libres de cualquier compuesto no volátil, ya que estos permanecerán en los residuos tras la extracción. Y, en tercer lugar, la mayoría de los compuestos volátiles

que conforman los aromas no se perderán por evaporación ni serán enmascarados por el disolvente <sup>[7]</sup>. Todo ello hace que su uso sea óptimo para el análisis por GC-O.

#### 2.1.2. SPE (Solid Phase Extraction)

La extracción en fase sólida (SPE) es una técnica empleada para la separación de compuestos que puede adaptarse según las características de la muestra y dependiendo del tipo de material adsorbente empleado en el cartucho. La SPE tradicional no es muy utilizada en el análisis de los volátiles del vino ya que se obtienen extractos muy sucios que perjudican la integridad de la columna cromatográfica a la hora de su análisis.

Presentan además una problemática causada porque los compuestos adsorbidos en los cartuchos empleados comúnmente para SPE son todos los compuestos que se encuentran dentro del propio vino, no solo los volátiles. Por ello, no son muy representativos de la experiencia que tendría el usuario al oler una copa de vino, ya que, aunque haya ciertos compuestos en la matriz del vino, estos podrían no pasar al espacio de cabeza y, a nivel sensorial, estos aromas no serían percibidos.

#### 2.1.3. Análisis por cromatografía de gases con detección olfatométrica (GC-O)

A la hora de analizar los extractos obtenidos tras la extracción en fase sólida con espacio de cabeza se hace uso de un equipo de cromatografía de gases con detección olfatométrica (GC-O) para la detección e interpretación de compuestos con aroma. Este tipo de equipos son de especial utilidad a la hora de identificación de los compuestos químicos que dan aroma a los vinos, ya que permiten la identificación sensorial mediante el olfato de un grupo de personas entrenadas para ello. El funcionamiento del equipo es muy similar al de un cromatógrafo de gases común, con la salvedad de la existencia de una división en forma de Y en la columna que bifurca el flujo a la salida, llegando una parte al detector y otra a una salida llamada el puerto olfatométrico, donde se colocará la persona que va a realizar la olfatometría. Esto es especialmente útil porque la nariz humana es capaz de detectar compuestos que algunos detectores instrumentales no son capaces de detectar.

### **3. OBJETIVOS Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO**

Por ello, el objetivo de este trabajo se centra en explorar el campo de la desalcoholización total de vinos de diferentes variedades y denominaciones de origen y los efectos que tiene

el proceso tan agresivo aplicado a la generación de los aromas desagradables que se encuentran posteriormente en este tipo de vinos desalcoholizados.

Los objetivos específicos de este trabajo fueron:

- Conocer qué moléculas son las que generan malos olores, como serían vegetal y cocido, en los vinos desalcoholizados, desde el punto de vista de la química analítica aplicada a la enología.
- Estudiar la posibilidad de la remediación de estos malos olores en función de la naturaleza que presenten estas moléculas.

Además, el presente trabajo tiene otros objetivos formativos que son los siguientes:

- Búsqueda bibliográfica
- Diseño de experimentos
- Ejecución de tareas experimentales, como la preparación de disoluciones
- Ejecución de tareas instrumentales avanzadas, como la cromatografía de gases con detección olfatométrica.
- Obtención y evaluación de datos cromatográficos

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Reactivos y disolventes**

Tanto el metanol como el diclorometano y el etanol empleados fueron obtenidos por Fisher Scientific (Loughborough, UK), ambos eran de calidad de CG. La pureza del metanol y del etanol eran superior al 99,9% y la del diclorometano de 99,8%. El dietiléter para cromatografía de gases FID usado fue de Merck (Darmstadt, Alemania). También se usó otro dietiléter de VWR (Bélgica) de calidad reactivo con pureza mayor al 99,7%. Se obtuvo agua Milli-Q a través de un sistema de purificación (Millipore, Billerica, MA, USA).

El 2-butanol, se compró a Sigma Aldrich con calidad de CG y una pureza superior al 99,5%. Otro reactivo empleado fue ácido tartárico de pureza 99% de ITW Reagents (Darmstadt, Alemania).

También se empleó Resina Isolute Env+, fue comprado a Biotage (Uppsala, Suecia); y cartuchos de polipropileno comprados a Merck.

#### 4.2. Muestras

Se seleccionaron 7 vinos tintos jóvenes de diferentes de diferentes orígenes y variedades, todos ellos disponibles comercialmente en España al momento de la realización del estudio. Los vinos seleccionados fueron Los Molinos (DOP Valdepeñas, tempranillo), Glárima (DOP Somontano, tempranillo), Torrelongares (DOP Cariñena, garnacha), Borsao (DOP Campo de Borja, garnacha), Diácono (DOP Navarra, tempranillo), Vega de Nava (DOP Ribera del Duero, tempranillo) y La Llanura (DOP La Mancha, tempranillo). Todos los vinos empleados tuvieron un coste inferior a 5 euros.

#### 4.3. Evaluación del grado alcohólico

En primer lugar, se midió el grado alcohólico de todos los vinos seleccionados mediante cromatografía de gases con detector de llama (GC-FID). Para ello, se prepararon 9 disoluciones de 5 mL de vino sintético (ácido tartárico a 5 g/L y un pH de 3,5) con cantidades crecientes de etanol. Las concentraciones de etanol para las disoluciones de vino sintético fueron de: 0%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%.

A partir de estos vinos sintéticos se preparó la recta de calibrado. Para cada punto de la recta se tomaron 125 µL del vino sintético correspondiente y se le añadieron 4 µL de estándar interno, 2-butanol puro, enrasando hasta un volumen final de 10 mL con agua Milli-Q.

Se inyectaron 0,5 µL de muestra, en modo Split, en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer, equipado con una columna DB5 (15 m x 0,53 mm x 1 µm), usando Helio como gas portador a un flujo de 14,5 psi. La temperatura de tanto el inyector como del detector se mantuvo a 250°C. La temperatura del horno se mantuvo en isoterma a 70°C. El tiempo de análisis fue de 3 minutos. Los parámetros del detector FID se establecieron en rango 1 y atenuación 8.

Una vez obtenida la recta de calibrado, se prepararon las muestras de los 7 vinos iniciales siguiendo el mismo procedimiento. Se tomaron 125 µL de cada muestra de vino y se añadieron 4 µL de 2-butanol, enrasando hasta un volumen final de 10 mL con agua Milli-Q.

En los cromatogramas obtenidos se midieron las áreas de los dos picos (el estándar interno y el etanol) para todos los puntos de la recta de calibrado, y se calcularon las áreas relativas para cada concentración según la ecuación 1.

$$\text{Área relativa} = \frac{\text{Área EtOH}}{\text{Área SI}} \quad \text{Ecuación 1.}$$

Los valores de área relativa así obtenidos se representaron frente a la concentración conocida para la obtención de la recta de calibrado.

El mismo procedimiento de cálculo de áreas relativas se repitió para todas las muestras de vino real. Estas áreas relativas de las muestras de los 7 vinos seleccionados se interpolaron en la recta, obteniendo el valor del grado alcohólico en la muestra. Se calculó la media y la desviación estándar debido a la realización de dos réplicas para cada una de las muestras.

#### 4.4. Desalcoholización

Para evitar que las diferencias del proceso se debieran al grado alcohólico, en primer lugar, y dado que se conocía la concentración de etanol en todos los vinos, se ha ajustado el grado alcohólico a 14% (v/v). Para ello, los vinos que tuvieran un valor inferior a 14% (v/v) fueron enriquecidos en etanol (retirando la cantidad de vino que correspondiera y añadiendo la misma cantidad de etanol, para mantener fijo el volumen de muestra), y los que tuvieran un porcentaje alcohólico mayor a 14% fueron rebajados con agua (de la misma manera, retirando la cantidad de muestra necesaria y añadiéndola de agua).

Los 7 vinos seleccionados se sometieron a un protocolo de desalcoholización intenso en rotavapor. Para ello, 100 mL de vino corregido (de acuerdo con su grado alcohólico) se dispusieron en un matraz de fondo redondo y se desalcoholizaron en el rotavapor a máximo vacío (~15 mbar) y temperatura alta (40 °C). Este proceso de desalcoholización se realizó hasta volumen constante y este residuo se llevó a un volumen final de 50 mL con agua mineral.

Para estos vinos desalcoholizados resultantes se midió el grado alcohólico según el procedimiento descrito en el apartado 4.3.

#### 4.5. Evaluación sensorial de los vinos desalcoholizados

Los vinos desalcoholizados obtenidos por el proceso anterior se sometieron a una evaluación sensorial de la calidad de manera cualitativa para determinar cuáles eran los vinos con perfiles olfativos más desviados y de peor calidad. Para ello, se tomaron 10 mL de vino desalcoholizado y se pusieron en copa negra AFNOR, conforme a la normativa ISO 3591-1977<sup>[9]</sup>, para su evaluación.

Estos vinos desalcoholizados fueron evaluados por un panel de 6 jueces (1 hombre y 5 mujeres, de edades comprendidas entre los 21 y los 55 años, con una edad media de 39

años) y se les pidió a los jueces que seleccionaran aquellos vinos desalcoholizados que presentaran un perfil de olor desagradable más intenso.

#### 4.6. Desalcoholización extrema

Debido a los resultados obtenidos tras la evaluación sensorial se llevó a cabo una modificación de las condiciones de la destilación, que se basaban en una destilación más intensa de los 2 vinos seleccionados, partiendo nuevamente desde el vino con alcohol corregido, y aumentando la temperatura del baño a 50°C y manteniendo máximo vacío hasta volumen constante y este residuo se llevó a un volumen final de 50 mL con agua mineral.

#### 4.7. Evaluación sensorial de los 2 vinos seleccionados

Los dos vinos producto de la desalcoholización extrema se sometieron a una evaluación sensorial. Esta se hizo del mismo modo que la descrita en el apartado 4.5 y se les pidió a los jueces que evaluaran la calidad del aroma de estos vinos desalcoholizados de manera extrema (50°C) y se compararan frente a los desalcoholizados a 40°C.

#### 4.8. Determinación del grado alcohólico de los vinos sometidos a desalcoholización extrema

Se midió el grado alcohólico de todos los vinos desalcoholizados a 50°C. Para ello, se preparó una segunda recta de calibrado para los vinos desalcoholizados a 50°C y se inyectaron en el CG-FID siguiendo el mismo protocolo para la cuantificación de su concentración de etanol.

En este caso, los vinos sintéticos preparados fueron acordes al grado alcohólico esperado en los vinos desalcoholizados. Por tanto, se realizaron disoluciones de concentraciones 0%, 0'3%, 0'6%, 1%, 1'3%.

Se procedió de igual forma a como se ha descrito en el apartado 4.3. Se obtuvieron las áreas relativas de los vinos desalcoholizados de acuerdo con la ecuación 1 y se interpolaron estos valores en la nueva recta de menores concentraciones patrón de etanol.

#### 4.9. Identificación de los compuestos que generan las desviaciones sensoriales

Los desalcoholizados elegidos por generar los aromas más desagradables se extrajeron mediante 2 técnicas: extracción en fase sólida con espacio de cabeza (HS-SPE) y extracción en fase sólida (SPE), con el objetivo de identificar aquellos compuestos que generan las desviaciones sensoriales. De acuerdo con este objetivo, la metodología HS-

SPE se empleó para conocer el perfil sensorial de los dos vinos elegidos antes y después del proceso de desalcoholización, mientras que la segunda metodología se empleó para llevar a cabo la identificación de esas zonas de olor.

#### 4.9.1. Extracción en fase sólida con espacio de cabeza (HS-SPE)

##### Preparación del vino desalcoholizado

Se tomaron 500 mL de cada uno de los dos vinos iniciales y se les ajustó previamente el grado alcohólico a 14% (v/v), según lo descrito en el apartado 4.4. Los vinos resultantes se destilaron de igual forma a una temperatura de 50°C y máximo vacío, como se describe en el apartado 4.6. Este vino se desalcoholizó hasta volumen constante y se llevó este residuo a un volumen final de 250 mL con agua mineral (mitad del volumen inicial).

Todos los vinos desalcoholizados fueron guardados en frascos de vidrio de color topacio, debidamente etiquetados y conservados a una temperatura de -18°C hasta su uso.

##### Preparación del extracto por extracción en fase sólida con espacio de cabeza (HS-SPE)

Para la preparación de los extractos, en primer lugar, se preparó un cartucho de resina de 400 mg de Isolute Env+ en un cartucho de 3 mL. Este cartucho se acondicionó con 20 mL de diclorometano y después se secó a vacío.

Los 250 mL de vino desalcoholizado se añadieron sobre un bote pyrex de 500 mL y se puso a la salida el cartucho de resina para capturar los volátiles. A la entrada se le conectó una corriente de N<sub>2</sub> a 500 mL/min, de manera que hubiera un borboteo de nitrógeno a través del vino para arrastrar esos volátiles hasta el cartucho.

Una vez detectada la saturación del cartucho transcurridas 4h, se quitó el cartucho y este se secó con corriente ligera de nitrógeno durante un tiempo máximo de 10 minutos, para eliminar la posible humedad alojada en el cartucho. Posteriormente, el cartucho se eluyó con éter, hasta un volumen de 4 mL.

Finalmente, este extracto se concentró hasta 200 µL bajo corriente de N<sub>2</sub>. Para ello se trasvasó el volumen eluido a un Kuderna y se puso bajo flujo suave de N<sub>2</sub>, agitando periódicamente con ayuda de una pipeta para evitar la concentración exclusiva de la capa superficial del líquido. Una vez alcanzado el volumen deseado de 200 µL se trasvasó la totalidad de la muestra a un vial de inserto.

Este procedimiento se realizó de igual manera para los dos vinos sin desalcoholizar. Según este, 250 mL de vino original se pusieron en el pyrex de 500 mL y el resto del procedimiento es igual que para el vino desalcoholizado.

#### Análisis del extracto por GC-O-FID

##### *Panelistas:*

El proceso de determinación sensorial por olfatometría se realiza con un panel de jueces expertos en la detección de aromas. El panel de 6 jueces estaba constituido por cinco mujeres y un hombre entre las edades de 21 y 55 años, siendo todos ellos miembros del Laboratorio de Análisis del Aroma y Enología y habiendo sido entrenados previamente para la evaluación de la intensidad e identificación de aromas.

##### *Inyección del extracto:*

Previo a la evaluación mediante GC-O, se realizó la inyección de la disolución Grob para comprobar que la columna se encontraba en condiciones apropiadas para ser usada y posteriormente. Se realizó también la inyección de la disolución de alcanos para poder calcular los índices de retención, ya que los índices de retención de las zonas olfativas se calculan teniendo en cuenta los tiempos de retención de los picos cromatográficos de los alcanos, su número de carbonos y el tiempo al que se huele en la olfatometría. La fórmula empleada para el cálculo de estos índices de retención está reflejada en la ecuación 2.

$$IR = 100 \cdot \left( \frac{tr_i - tr_z}{tr_{(z+1)} - tr_z} + z \right) \quad \text{Ecuación 2.}$$

Siendo  $t_{ri}$  el tiempo de retención al que se ha detectado el odorante,  $t_{rz}$  el tiempo de retención del alcano anterior al odorante detectado y  $t_{r(z+1)}$  el tiempo de retención del alcano posterior, siendo  $z$  el número de carbonos del alcano.

Se inyectó 1  $\mu$ L del extracto en modo Splitless en un cromatógrafo de gases Trace GC-FID (Thermoquest, Milan, Italia), dotado con un puerto olfatométrico ODO-I de SGE (Ringwood, Australia). La columna fue una columna polar DBWAX (polietilenglicol) de J&W (Folsom, CA, USA), de 30 m de longitud x 0.32 mm de diámetro interno y 0.5  $\mu$ m de espesor de fase, precedida por una precolumna desactivada de sílica fundida de 3 m x 0.32 mm. Se trabajó con 7,5 psi a presión constante. El gas portador empleado fue  $N_2$  con un flujo de 1,5 mL/min. El inyector y el detector FID se mantuvieron a 250 °C durante todo el programa. El

programa de temperaturas del horno fue el siguiente: los primeros 2 minutos se mantuvo a 40 °C, con una rampa de 10 °C/min hasta 100 °C y posteriormente se aumentó hasta 220 °C con una rampa de 6 °C/min y se mantuvo 10 min a esa temperatura. El software del cromatógrafo era Chrom-Card de Thermo Electron, versión 2.3.

Durante la olfatometría los jueces debían indicar el tiempo, el descriptor y la intensidad con los que percibían cada uno de los aromas detectados. La escala de intensidades utilizada comprendía valores desde el 0 hasta el 3 (0 = olor no detectado, 1 = olor muy débil, 2 = olor claro, 3 = olor intenso) siendo válidos números enteros y semienteros.

Este procedimiento se repite para el total de los 6 jueces y para cada una de las muestras de vino, tanto las desalcoholizadas como las comerciales.

#### *Tratamiento de datos:*

Los descriptores otorgados por los jueces a cada una de las muestras se agruparon por similitud olfativa e índices de retención. Para cada aroma se calculó su frecuencia modificada (FM), en base a la ecuación 3, o ecuación de Dravnieks <sup>[10]</sup>. El análisis de datos fue llevado a cabo con Excel.

$$FM(\%) = \sqrt{F(\%) \cdot I(\%)} \quad \text{Ecuación 3.}$$

Siendo F (%) el porcentaje de frecuencia de citación de un odorante, siendo el panel de 6 jueces (si fuera detectado por todos, entonces la frecuencia sería del 100%) e I (%) es la intensidad media del odorante expresada como porcentaje del máximo de intensidad (si los 6 jueces lo detectaran con una intensidad de 3, sería del 100% <sup>[10]</sup>).

Solo se tuvo en cuenta aquellos compuestos cuyo valor de frecuencia modificada fuera mayor a 30, el resto se consideraron ruido. Una vez obtenidos los valores de FM (%) y habiendo caracterizado las zonas de olor encontradas en las muestras, se realiza una primera búsqueda de compuestos responsables de dichas zonas en bases de datos del laboratorio y externas como The Pherobase <sup>[11]</sup> y PubChem <sup>[12]</sup>, para encontrar posibles candidatos.

#### 4.9.2. Extracción en fase sólida (SPE)

##### Preparación del vino desalcoholizado

Se tomaron 600 mL de cada uno de los dos vinos iniciales y se les ajustó previamente el grado alcohólico a 14% (v/v), según lo descrito en el apartado 4.4. Los vinos resultantes se destilaron de igual forma a una temperatura de 50°C y máximo vacío, como se describe en el apartado 4.6. Este vino se desalcoholizó hasta volumen constante y se llevó este residuo a un volumen final de 300 mL con agua mineral (mitad del volumen inicial).

#### Preparación del extracto por extracción en fase sólida (SPE)

Se realizó la extracción en fase sólida (SPE) de las muestras desalcoholizadas para luego realizar la identificación en GC-MS. Para la extracción en fase sólida se preparó un cartucho de resina de 400 mg de Isolute Env+ en un cartucho de 3 mL. Este cartucho se acondicionó posteriormente con 20 mL de diclorometano, para eliminar los posibles residuos del ambiente que hubieran podido quedar adheridos a la resina. Se emplearon 10 mL de metanol seguidos de 10 mL de agua para ajustar gradualmente la polaridad, y finalmente se cargaron 300 mL de vino desalcoholizado. Posteriormente, se lavó el cartucho con 10 mL de agua desionizada y se secó a vacío. Este cartucho se eluyó con éter hasta un volumen de 4 mL. Este procedimiento se llevó a cabo para cada uno de los 2 vinos desalcoholizados seleccionados.

#### Inyección del extracto

Los análisis se realizaron con un cromatógrafo Varian 450-GC acoplado a un sistema de detección de espectrometría de masas de trampa iónica Saturn 2200, Varian. La columna cromatográfica fue una DB-WAX (J&W Scientific, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm diámetro interno, con un espesor de fase de 0.25 µm, precedida de una precolumna sin fase estacionaria (polaridad intermedia, desactivada) de 3 m x 0.25 mm. El gas portador empleado fue He a un flujo de 1,5 mL/min. El programa del horno fue el siguiente: los primeros 3 minutos se mantuvo a 35 °C, con una rampa de 2 °C/min hasta 220 °C y posteriormente se aumentó hasta 240 °C con una rampa de 20 °C/min y se mantuvo 30 min a esa temperatura.

Se inyectaron 2 µL con inyección en frío, pasando de 40°C a 300°C. Se realizó una inyección en scan, lo que permitió ver todas las masas desde 35 hasta 220 (m/z).

#### Interpretación de espectros en GC-MS

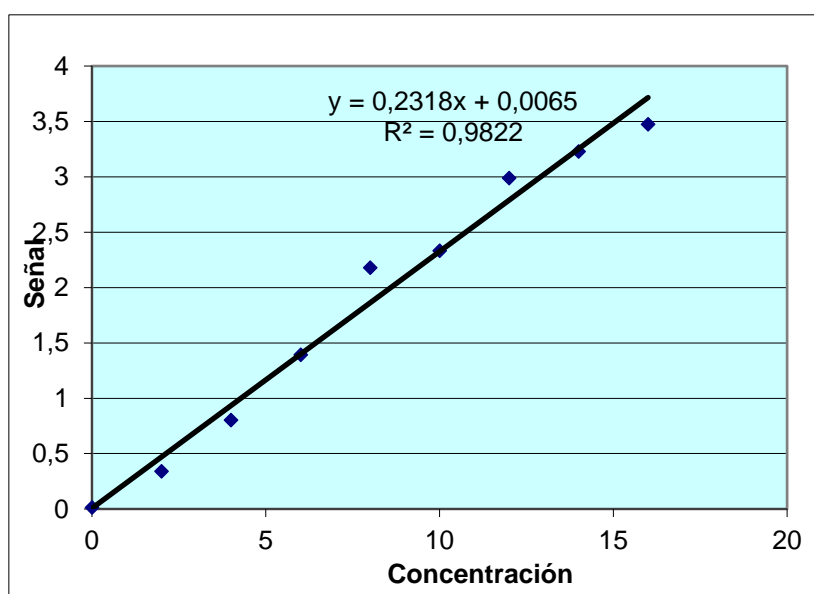
El espectro obtenido en la medida con GC-MS fue interpretado con ayuda del software MS Search v2. Solapando el espectro de la disolución de alcanos con el de la muestra fue posible establecer una referencia entre el número de carbonos de los alcanos y el índice de retención de las especies, como sería el caso de un pico encontrado en un valor de IR DBWax = 1789, que se situaría entre los picos de los alcanos C17 y C18.

Para la identificación de las especies se tuvo en cuenta la primera interpretación realizada en el apartado 4.9.1, y se realizó la búsqueda teniendo en cuenta las posibles fragmentaciones de estas especies en un espectro de masas. También se tuvo en cuenta los descriptores olfativos de las especies encontradas en el espectro y de que estos coincidieran con los hallados en la muestra. Adicionalmente, los índices de retención dados en el tipo de columna DBWax empleando páginas de búsqueda como PubChem <sup>[12]</sup> o The Pherobase <sup>[11]</sup> tenían que coincidir con los obtenidos experimentalmente en la medida de la muestra problema para poder asignar un compuesto como posible.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1. Determinación del grado alcohólico inicial en las muestras y tras la desalcoholización a 40 y 50°C

En la Figura 1 se encuentra la recta de calibrado obtenida para el grado alcohólico, donde se representaron los valores de área relativa (según el procedimiento descrito en el apartado 4.3) y se representaron frente a la concentración de etanol de los vinos sintéticos preparados.



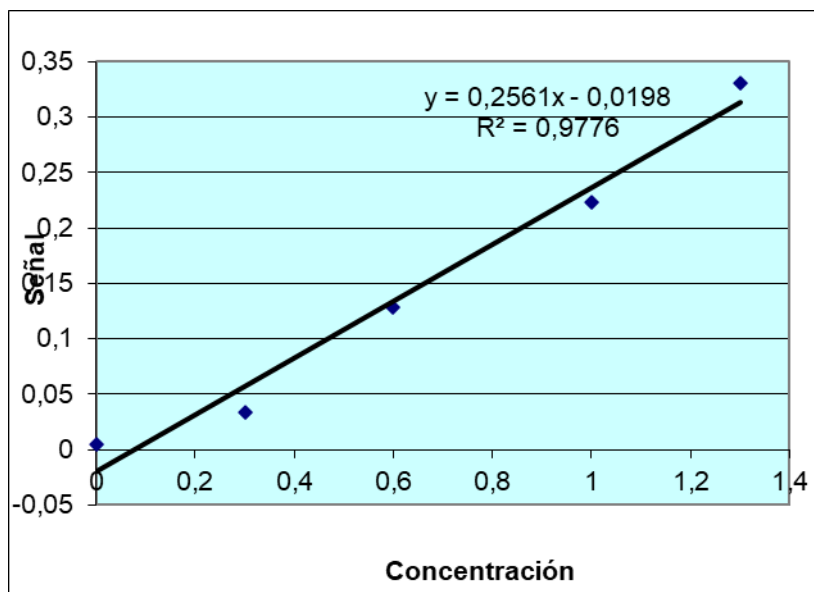
**Figura 1.** Recta de calibrado de vinos sintéticos para el análisis de vino comercial

Se interpolaron en esta recta los resultados obtenidos en la medida de las muestras de vino directamente sacado de la botella abierta y preparadas como se describe en el apartado 4.3. Los resultados obtenidos se encuentran en la Tabla 1. Como se puede observar, los grados alcohólicos son variables entre las muestras, por esta razón, se ajustó el grado alcohólico inicial de los vinos previo al proceso de desalcoholización, para que el procedimiento fuera el mismo para todos los vinos.

**Tabla 1.** Grado alcohólico de los vinos comerciales medidos por GC-FID

Vinos	Grado alcohólico (%)	Área relativa media	Desvest de las áreas relativas
Diacono	11,31	2,630	0,005
Glárima de Sommos	11,00	3,209	0,003
Los Molinos	11,12	2,556	0,004
Vega De Nava	13,85	2,748	0,004
La Llanura	12,42	2,761	0,005
Borsao	13,73	2,897	0,002
Torrelongares	12,81	2,586	0,003

Por otro lado, se midieron los grados alcohólicos de los vinos desalcoholizados preparados para conocer su grado alcohólico de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 4.8. La recta de calibrado obtenida para bajas concentraciones de etanol se encuentra en la Figura 2.



**Figura 2.** Recta de calibrado para bajas concentraciones de alcohol para el análisis de vino desalcoholizado

Se interpolaron en la recta las señales obtenidas tras medir los extractos desalcoholizados a 40°C y 50°C. Los resultados obtenidos para ambas temperaturas se encuentran en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Grado alcohólico de las muestras de vino desalcoholizadas a 40°C

	Grado alcohólico (%)	
	Destilación a 40 °C	Destilación a 50°C
Los Molinos 0%	0,11	0,11
Borsao 0%	0,10	-
Torrelongares 0%	0,14	0,11
Glárima 0%	0,10	-
La Llanura 0%	0,13	-
Vega de Nava 0%	0,12	-
Díacono 0%	0,13	-

Es de esperar que, al aumentar la temperatura, y por tanto a condiciones de destilación más extremas, se lleve a cabo una mayor eliminación del alcohol de la muestra. Sin embargo, se ha podido comprobar que solo para el vino Torrelongares se consigue descender algo el grado alcohólico, desde 0,14% hasta 0,11%, mientras que para el vino

Los Molinos, el grado alcohólico se mantiene estable. Ello parece indicar que alcanzados ciertos valores de desalcoholización, el aumento de la temperatura de la destilación hasta valores extremos de 50°C no supone una mayor eliminación del alcohol restante en los vinos. El punto a partir del cual ya no se puede eliminar más porcentaje de grado alcohólico utilizando un método como es el de la destilación con rotavapor a vacío, parece encontrarse en torno al 0,11% (v/v).

El método de la desalcoholización por destilación a vacío es uno de los métodos más agresivos para la eliminación del etanol, consiguiéndose vinos con menos del 1% de etanol (v/v) <sup>[13]</sup>. Modificando las condiciones bajo las cuales se lleva a cabo la destilación (temperatura y presión) se puede llegar a extraer casi la totalidad del alcohol presente en el vino. En el caso de este trabajo, al haberse empleado condiciones de temperatura extrema y máximo vacío, se pudo conseguir un porcentaje alcohólico muy reducido en los vinos desalcoholizados. Sin embargo, diferentes autores asocian esta tecnología de desalcoholización por destilación, no solo con la reducción extrema del grado alcohólico, sino con la pérdida de casi todos los compuestos volátiles, principalmente esteres etílicos y alcoholes alifáticos <sup>[14]</sup>.

#### Evaluación sensorial de los vinos desalcoholizados

Tras la desalcoholización descrita en el apartado 4.4, se realizó la evaluación sensorial de los extractos desalcoholizados tal y como se ha detallado en el apartado 4.5. Algunos de los descriptores dados por los jueces en la evaluación sensorial de estos vinos fueron olores a cocido y desagradables, verdura y amaderados, además de algún aroma frutal agradable como a compota o mermelada de frutos rojos o también fresa-nata.

Como se puede observar, de manera general, no existían olores suficientemente desagradables, o los olores desagradables encontrados no eran muy intensos. Por ello, se seleccionaron solo 2 de los 7 vinos (Los Molinos y Torrelongares), por presentar desviaciones más acusadas del perfil olfativo de entre todos los vinos desalcoholizados a 40°C (aromas a cocido y desagradables).

Para poder aumentar la cantidad de estos aromas desagradables se decidió aumentar la temperatura a la que se realizaron las destilaciones. Se elevó a 50 °C y se realizó una desalcoholización de estos dos vinos seleccionados.

Se repitió el análisis sensorial una vez más con el vino resultante a 50 °C, como se ha descrito en el apartado 4.5. Tras esta, se concluyó que los olores percibidos en Los Molinos (DOP Valdepeñas, tempranillo) y Torrelongares (DOP Cariñena, garnacha) eran de peor calidad olfativa que los mismos vinos, pero desalcoholizados a 40°C. Algunos de los descriptores dados por el panel de jueces fueron olor a cocido o verdura con elevada intensidad apenas pudiendo percibirse los descriptores dulces de compota o fresa-nata hallados en los vinos desalcoholizados a 40°C. Estos aromas altamente desagradables aumentaron significativamente su intensidad impidiendo diferenciar más aromas con facilidad. Ello parece indicar que la temperatura es un factor importante en el desarrollo de esos aromas desagradables o a cocido. Esto es respaldado por varios estudios, ya que una mayor temperatura empleada durante el procedimiento de la desalcoholización perjudica notablemente a las cualidades sensoriales del producto final, tanto en aroma como en sabor y sensación en boca <sup>[15][16]</sup>.

## 5.2. Identificación de los compuestos que generan las desviaciones sensoriales

Para los dos vinos seleccionados por generar el perfil sensorial más desagradable (Los Molinos y Torrelongares) se llevó a cabo una caracterización olfatométrica que nos permitiera la identificación de las zonas de olor y, por tanto, de los compuestos que aportan el aroma desagradable a los vinos desalcoholizados a 50°C. Estos vinos se compararon con el perfil de sus vinos originales y que no fueron sometidos al proceso de desalcoholización.

Los resultados encontrados para las diferentes zonas de olor en los cuatro vinos se encuentran reflejados en la Tabla 3. En ella se han ordenado las diferentes zonas de olor de mayor a menor frecuencia modificada. De acuerdo con este orden, el compuesto predominante en los dos vinos con alcohol es el alcohol isoamílico tal y como se refleja en la Tabla 3, con frecuencias modificadas de 88. Este alcohol aporta parte del aroma característico a alcohol y además contribuye a la percepción de la sensación cálida en boca del vino <sup>[3]</sup>. Sin embargo, el alcohol isoamílico se pierde al someterlo al proceso de desalcoholización, como ya habían observado otros autores <sup>[14]</sup>. Lo mismo ocurre con el acetato de isoamilo, con frecuencias modificadas de 78 en el vino Torrelongares y de 44 en el vino Los Molinos y perdiéndose en los dos vinos sin alcohol.

Otros aromas predominantes son el aportado por los cresoles, con frecuencias superiores a 60 en todos los casos. Esto debe ser una peculiaridad de los vinos empleados en sí. También hay valores altos de hexanoato de etilo, que se pierde en el vino Los Molinos tras el proceso de la desalcoholización.

De forma general, y según diferentes fuentes bibliográficas, los compuestos que se deberían ver más comprometidos tras la desalcoholización serían los ésteres, generalmente los ésteres etílicos, como sería el 2-metilbutirato de etilo. En los trabajos encontrados que realizaban destilación a vacío se encontraron unos descensos muy acusados en la concentración percibida de estos, junto a los terpenos. Esta reducción se debería a las condiciones agresivas de la eliminación del etanol usadas en la destilación, la cual no se da en otros métodos con membranas u ósmosis <sup>[17]</sup>. Sin embargo, en nuestro estudio se ha encontrado que los ésteres etílicos se mantienen constantes en uno de los vinos (Torrelongares), mientras que en el otro (Los Molinos) se produce un descenso de estos esterios, como son el isobutirato de etilo o el isovalerato de etilo. Las diferencias observadas entre los dos vinos del estudio pueden deberse a que los parámetros que afectan a la destilación, como serían la presión de vacío empleada o la temperatura, afectan en gran medida al proceso y resultado final de la desalcoholización. Por otro lado, la propia matriz del vino empleado y los contenidos fenólicos de esta, que en el caso de los dos vinos seleccionados es considerablemente alta, podrían repercutir en la percepción o liberación de los aromas <sup>[18][19]</sup>. La mayoría de los descriptores dulces o frutales y demás olores agradables que tienen valores de frecuencia bastante elevados en los vinos con alcohol, desaparecen por completo en los vinos desalcoholizados o se ven extremadamente reducidos, como sería el caso de la 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo, del 1-hexanol o del isobutirato de etilo. Esto se debe a que la eliminación del etanol facilita la unión de los compuestos del aroma a sustancias proteicas, reduciendo su volatilidad y consiguientemente afectando a las características sensoriales del vino <sup>[20]</sup>.

En los vinos desalcoholizados se llegaron a apreciar nuevos compuestos que no eran perceptibles en los vinos con alcohol y que presentan aromas agradables en intensidades bajas, como son el 2-metilbutirato de metilo o el acetato de butilo. Estos compuestos quedaron tapados por otros compuestos desagradables surgidos tras la desalcoholización. En los vinos desalcoholizados se encuentran dos compuestos como son el metionol y el metional, con descriptores de verdura cocida y sudor, con frecuencias entre el 30 y el 60 % de FM en ambos vinos desalcoholizados.

**Tabla 3.** Compuestos identificados, sus IR y sus FM (%) para los 2 vinos desalcoholizados seleccionados y sus homónimos comerciales con alcohol.

IR DBWax	Descriptor	Compuesto	FM(%)			
			TLG	TLG sin	LM FM	LM sin
1225	lejía, queso, humedad, rancio, chocolate negro	alcohol isoamílico	88		88	
1137	producto limpieza pino, plátano, melón, ambientador, grasa	acetato de isoamilo	85		41	
2093	fenólico, cuero, cuadra de caballos, granja, plástico, rancio, humedad, goma, cerrado	p-/m-cresol	73	73	67	51
1249	floral, verde, dulce, frutos rojos, compota, champiñón, disolvente, fruta, tubo de escape	hexanoato de etilo	65	65	45	65
1312	nube de azúcar, anisado, mantequilloso, vainilla	n.i. 1319	61		25	
1845	alcohol, frutal, fresco, dulce, mora, frambuesa, ciruela	alfa-ionona/beta-damascenona	61		45	
1710	estiércol vómito, lejía, queso, pies	ácido isovaleriánico	59		53	
1064	fresa, fresa ácida, fresa-nata, fresa medicamento	2-metilbutirato etilo	45	41	37	31
1083	arándanos, manzana, anisado, medicinal, chicle de melón, cereza, fruta, fresa, manzana	isovalerato de etilo	43	43	69	36
1377	colonia, flores, salmón ahumado, láctico, papel, cítrico, verde, láctico, seco	1-hexanol	43	17		43
1913	desagradable, ambientador, dulce	n.i. 1913	38		24	
985	fresa medicinal, fresa ácida, fruta tropical, fresa-nata, láctico	isobutirato de etilo	37	17	43	31
1946	floral, colonia, rosas, violetas, verde, disolvente	b-feniletanol	37	82	45	
1525	disolvente, kiwi pan, avellana, fruto seco, floral, pan reseco, cartón	2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo	36		24	
1050	fresa, frutos rojos, fruta madura, dulce	butirato etilo	35	45	22	50
1658	seco, madera, desagüe, amargo, quemado, cartón, seco, tostado	2-acetilpirazina/ bencenometanotiol	26	22		41
2079	verdura cocida, clorado, cuero, desagradable	n.i. 2079	26		33	
2172	cuero, animales, neumático, cuero	3-/4-etilfenol	24	33	19	47
1403	geranio, pescado, aceite, cuero, cocido, desagradable, seco, hierba, barro, estiércol	E-2-hexen-1-ol/Z-2-hexen-1-ol	22	38	17	
2222	cocido carne, ahumado, barbacoa, verde	4-vinil-guaiacol/eugenol	22	33	41	
973	fresa	acetato de isopropilo	19		39	
984	fresa, (piña)	2-metilbutirato de metilo		12		39
1144	verde, flores blancas, plátano, melón, (manzana, frutal, dulce)	acetato butilo		17		47
1423	champiñón, metálico, húmedo, anisado	1-nonen-ona		38		43
1483	verdura cocida, levadura, almendra amarga	metional (2,4-heptadienal)		41		37
1713	sudor, humedad, queso, lejía, cocido, agar, caldo, pescado, queso, lejía, vinagre	metionol		65		45
1967	rosas, floral, dulce, alcohol, fuel	n.i. 1967				54

La aparición de diferentes aldehídos, concretamente los que aportan olores cocidos a los vinos desalcoholizados, constituye un posible punto a resolver en el caso de que estos fueran la fuente mayoritaria de olores desagradables. Sin embargo, en este trabajo no se ha observado que dichos compuestos aldehídicos sean la fuente principal del mal olor de los vinos desalcoholizados, sino que contribuyen en cierta medida, pero no lo suficiente como para que sea necesario enmascararlos y que con ello consiguiéramos mejorar globalmente la calidad sensorial de este tipo de vinos.

También se ha observado que la concentración de compuestos fenólicos se ha mantenido constante o incluso se ha visto acrecentada tras la desalcoholización de los vinos. Compuestos como el 3-etilfenol/ 4-etilfenol han incrementado su frecuencia en los vinos sin alcohol, pasando de cerca de 20 a casi 40. Otros estudios encontrados en la bibliografía que empelaban la destilación a vacío constatan un aumento de la cantidad de fenoles en los vinos desalcoholizados de esta manera <sup>[21]</sup>. Otros compuestos encontrados en este trabajo como el 2-hexen-1-ol, 4-vinilguaiacol, o los ya mencionados, metionol y metional, unido a la reducción de compuestos que aportan dulzor, aromas frutales y florales, resultan en una gran pérdida de calidad sensorial del vino desalcoholizado final, como han encontrado otros estudios <sup>[22]</sup>.

A esto añadir las observaciones de los vinos desalcoholizados a 40°C en la evaluación sensorial, donde la mayoría de los vinos no generaban aromas desagradables tras la desalcoholización. Una de las principales razones por las que no se encontraron aromas desagradables en los vinos desalcoholizados o con contenido reducido de etanol es que contienen ésteres como el hexanoato de etilo y diferentes ácidos grasos de cadena corta, que en este tipo de vinos son los responsables del sabor afrutado a diferencia de los vinos comunes <sup>[23]</sup>.

## **6. CONCLUSIONES**

En este trabajo se ha podido cuantificar el grado alcohólico que se puede alcanzar al realizar un proceso de desalcoholización mediante una metodología de destilación a vacío en rotavapor. Por otro lado, se han podido caracterizar los compuestos de olor desagradable más predominantes en los vinos desalcoholizados empleando la técnica de cromatografía de gases con puerto olfatométrico. Esto se ha podido evaluar mediante la comparación tras realizar olfatometrías con los vinos comerciales frente a los desalcoholizados. Los compuestos que se ha visto que influyen en mayor medida en la

pérdida de la calidad sensorial del vino desalcoholizado han sido el 2-hexen-1-ol, el 4-vinilguaicol, el metionol y el metional, así como el incremento de algunos fenoles como el 3- o 4-etilfenol.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

[1] *International Organisation of Vine and Wine Código Internacional de Prácticas Enológicas Edición 2016*. Disponible en: <https://www.oiv.int/public/medias/4902/code-2016-es.pdf>.

[2] Alston, J. M., Fuller, K. B., Lapsley, J. T., & Soleas, G. Too much of a good thing? Causes and consequences of increases in sugar content of California wine grapes. *Journal of Wine Economics*. **2011**, 6 (2), pp. 135-159; DOI: 10.1017/S1931436100001565.

[3] Ellena S. King, Randall L. Dunn, Hildegard Heymann. The influence of alcohol on the sensory perception of red wines. *Food Quality and Preference*. **2013**, 28 (1), 235-243; DOI: 10.1016/j.foodqual.2012.08.013.

[4] D'Angelo M, Onori G, Santucci A. Self-association behaviour of alcohols in diluted aqueous solutions. *Il Nuovo Cimento D*. **1994a**, 16 (9), 1499– 1514; DOI: 10.1007/BF02462035.

[5] D'Angelo M, Onori G, Santucci A. Self-association of monohydric alcohols in water: compressibility and infrared absorption measurements. *The Journal of Chemical Physics*. **1994b**, 100 (4), 3107–3113; DOI:10.1063/1.466452.

[6] Escudero, A., San-Juan, F., Franco-Luesma, E., Cacho, J., & Ferreira, V. 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*. **2014**, 29(5), 296-304; DOI: 10.1002/ffj.3204.

[7] De-la-Fuente-Blanco, A.; Ferreira, V. Gas Chromatography Olfactometry (GC-O) for the (Semi)Quantitative Screening of Wine Aroma. *Foods*. **2020**, 9 (12), 1892; <https://doi.org/10.3390/foods9121892>.

[8] *APA Dictionary of Psychology*. American Psychological Association. Disponible en: <https://dictionary.apa.org/orthonasal-olfaction> (Consultado el 13 de junio de 2024)

- [9] *International Organization for Standardization. ISO 3591:1977*. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/9002.html> (Consultado el 26 de junio de 2024).
- [10] *Atlas of Odor Character Profiles*; Dravnieks, A; ASTM Ed. California University, 1985.
- [11] *The Pherobase: Database of pheromones and semiochemicals: The world largest database of behavioural modifying chemicals. The Pherobase: Database of pheromones and semiochemicals*. Disponible en: <https://pherobase.com/> (Consultado el 10 de junio de 2024)
- [12] PubChem. National Centre for Biotechnology Information. PubChem Compound Database. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Consultado el 10 de junio de 2024)
- [13] Taran, N., Stoleicova, V. S., Soldatenco, G. O., & Morari, B. The influence of pressure on chemical and physical parameters of white and red wines obtained by dealcoholization method. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*. **2014**, 3 (20), 215-218; ISSN: 2069-0053.
- [14] Gómez-Plaza, E.; López-Nicolás, J.M.; López-Roca, J.M.; Martínez-Cutillas, A. Dealcoholization of Wine. Behaviour of the Aroma Components during the Process. *LWT Food Sci. Technol.* **1999**, 32, pp. 384–386; DOI: 10.1006/fstl.1999.0565.
- [15] Kujawski W. Application of pervaporation and vapor permeation in environmental protection. *Polish Journal of Environmental Studies*. **2000**, 9 (1), 13–26; ISSN: 1230-1485.
- [16] Montgomery D. C. Design and Analysis of Experiments. *John Wiley & Sons*, New York, USA: NY, 1997; pp. 200–201. ISBN: 978-1-119-49244-3.
- [17] Fedrizzi, B., Nicolis, E., Camin, F., Bocca, E., Carbognin, C., Scholz, M., Barbieri, P., Finato, F., & Ferrarini, R. Stable isotope ratios and aroma profile changes induced due to innovative wine dealcoholisation approaches. *Food and Bioprocess Technology*. **2014**, 7(1), 62–70; DOI: 10.1007/s11947-013 1068-x.
- [18] Muñoz-González, C., Martín-Álvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayón, M. Á. Impact of the nonvolatile wine matrix composition on the in vivo aroma release from wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **2014**, 62(1), 66–73; DOI: 10.1021/jf405550y.

- [19] Muñoz-González, C., Sémon, E., Martín-Álvarez, P. J., Guichard, E., Moreno-Arribas, M., & v., Feron, G., & Pozo-Bayón, M. Wine matrix composition affects temporal aroma release as measured by proton transfer reaction – time-of-flight – mass spectrometry. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. **2015**, 21(3), 367–375; DOI: 10.1111/AJGW.12155.
- [20] Longo, R., Blackman, J. W., Torley, P. J., Rogiers, S. Y., & Schmidtke, L. M. Changes in volatile composition and sensory attributes of wines during alcohol content reduction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **2017**, 97(1), 8–16; DOI: 10.1002/JSFA.7757.
- [21] Kumar, Y., Ricci, A., Parpinello, G.P. et al. Dealcoholized Wine: A Scoping Review of Volatile and Non-Volatile Profiles, Consumer Perception, and Health Benefits. *Food Bioprocess Technol*. **2024**; DOI: 10.1007/s11947-024-03336-w.
- [22] Sam, F. E., Ma, T., Wang, J., Liang, Y., Sheng, W., Li, J., Jiang, Y., & Zhang, B. Aroma improvement of dealcoholized Merlot red wine using edible flowers. *Food Chemistry*. **2023**, 404, 134711. DOI: 10.1016/J.FOODCHEM.2022.134711.
- [23] Lukić, I., Jedrejčić, N., Ganić, K. K., Staver, M. & Peršurić, D. Composition of white wine after prolonged maceration and maturation. *Food Technology and Biotechnology*. **2015**, 53 (3), 407–418; DOI: 10.17113/ftb.53.04.15.4144.