

Arancha de la Fuente Blanco

Perceptual interactions between
aroma vectors and wine sensory
properties. Consequences for
aroma modeling

Departamento
Química Analítica

Director/es
Sáenz Navajas, María Pilar
Ferreira González, Vicente

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



Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada (by-nc-nd): No se permite un uso comercial de la obra original ni la generación de obras derivadas.

© Universidad de Zaragoza
Servicio de Publicaciones

ISSN 2254-7606

Tesis Doctoral

PERCEPTUAL INTERACTIONS BETWEEN AROMA
VECTORS AND WINE SENSORY PROPERTIES.
CONSEQUENCES FOR AROMA MODELING

Autor

Arancha de la Fuente Blanco

Director/es

Sáenz Navajas, María Pilar
Ferreira González, Vicente

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Química Analítica

2019

TESIS DOCTORAL

**PERCEPTUAL INTERACTIONS BETWEEN AROMA
VECTORS AND WINE SENSORY PROPERTIES.
CONSEQUENCES FOR AROMA MODELING**

Autor/a

Arancha de la Fuente Blanco

Para optar al Grado de Doctora

Director/es

María Pilar Sáenz Navajas

Vicente Ferreira González

Mayo 2019

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Química Analítica



**Universidad
Zaragoza**

***A mi familia, porque sin su
apoyo no sería lo mismo***

Porque lo que está escrito, escrito está,
y no se borra nunca.
Las mil y una noches

La presente tesis doctoral ha dado lugar a un capítulo de libro y cuatro artículos publicados, otro en trámite de revisión y otro en curso de redacción. Las referencias completas de estos artículos se encuentran a continuación, así como el factor de impacto de las revistas en las que se encuentran y las áreas temáticas correspondientes a las publicaciones.

1. **Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances.**

Ferreira, V., Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Herrero, P., de la Fuente, A., & Fernández-Zurbano, P.

Food Chemistry 199 (2016) 447–456

Factor de impacto de la revista 2016 (JCR ISI): 4.529

Área temática (Ranking de la revista): Chemistry applied (7/72 Q1), Food Science and Technology (6/130 Q1), Nutrition and dietetics (10/81 Q1)

2. **On the effects of higher alcohols on red wine aroma.**

de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M.-P., & Ferreira, V

Food Chemistry 210 (2016) 107–114

Factor de impacto de la revista 2016 (JCR ISI): 4.529

Área temática (Ranking de la revista): Chemistry applied (7/72 Q1), Food Science and Technology (6/130 Q1), Nutrition and dietetics (10/81 Q1)

3. **Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions.**

de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V

Australian Journal of Grape and Wine Research (2017), 23(2), 162-169

Factor de impacto de la revista 2017 (JCR ISI): 1.193

Área temática (Ranking de la revista): Food Science and Technology (62/133 Q2),
Horticulture (5/37 Q1)

4. **Cross-modal interactions and effects of the level of expertise on the perception of bitterness and astringency of red wines.**

de-la-Fuente-Blanco, A., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D., Ferreira, V., & Sáenz-Navajas, M. P.

Food Quality and Preference (2017), 62, 155-161

Factor de impacto de la revista 2017 (JCR ISI): 3.652

Área temática (Ranking de la revista): Food Science and Technology (13/133 Q1)

5. **Volatile aroma compounds and wine sensory attributes.**

Ferreira, V., de-la-Fuente-Blanco, A., & Sáenz-Navajas, M. P. (2019).

In A. G. Reynolds (Ed.), *Managing Wine Quality: Viticulture and Wine Quality*, vol. 1 (pp. 620): Elsevier.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer a mi familia, que han estado siempre al pie del cañón, apoyándome con todas las decisiones que tomara, como la elección de la carrera que me ha llevado hasta aquí, a pesar de que pensabais que esto no tenía salida.

En segundo lugar quiero dar las gracias a mis directores de tesis, María Pilar y Vicente, sé que soy una pesada y una preguntona pero siempre me habéis contestado a todas mis dudas y guiado por el mejor camino.

En tercer lugar, quiero dar las gracias a Ricardo, por darme la oportunidad de hacer el TAD, allá en los tiempos en los que se hacía de eso, mis notas no eran las mejores pero confió en mí. Dar las gracias también a Ana por ayudarme con mi postgrado cuando acabé la carrera y gracias al cual seguí en este grupo. Juan y Puri por ser las relaciones sociales, enseñarnos a hacer vino y mostrarnos todos los tipos en las numerosas catas a las que nos habéis dado la oportunidad de ir. Puri Fer, no me podía olvidar de ti por cuidarme tan bien cada vez que iba a Logroño. También agradecer a Laura Culleré y a Cristina por organizarnos un poco, somos muchos y muy rebeldes.

En cuarto lugar a todos mis compis del LAEE durante estos 9 años, que han tenido paciencia conmigo cuando les iba persiguiendo con botecitos de aroma, copas o botellas, me habéis ayudado mucho. Comenzando por Felipe y Paula, que me enseñaron un montón durante mis inicios, pasando por nuestros internacionales Julián y Liliana y aquellos con los que he coincidido menos tiempo pero que aun así ha sido un placer conocer: Almudena Peña, Elisa y mis colegas de TAD Dani y Chema. Y como no, con todos los que he estado compartiendo más tiempo durante estos años. Entre estos se incluye Nacho O. y Mónica, con los que he compartido muchos años y que me han ayudado siempre que he tenido dudas

Agradecimientos

con los equipos o con lo que hiciera falta y a salir un poco de mi circulito de olores para hacer cosas nuevas. Belén por transmitir siempre tu alegría y buen rollo. Vanesa y Edu habéis sido compañeros de fatiga desde el inicio hasta el final de la tesis. Ernesto y Jorge siempre estáis ahí para echarnos unas risas, sea con lo que sea, o para ayudarme tanto en el laboratorio como en la estancia. Animo para las nuevas incorporaciones, temporales o no, Elayma, Laura, Diego, Bianca y Oscar. Y sobre todo a las chicas de oro y los domingos felices: Marie, Nachiño, Yan, Inés, Almu, Yonanna y Elena, sin vosotros no habría sido lo mismo. Marie mi superprofe de francés. Yan mi compañera de fatigas pilateras. Inés con todas mis fatigas (sé que me entiendes). Almu con su alegría continua y siempre haciendo reír a carcajadas. Nachiño por aguantar mis torturas con los defectos. Elena la peque del grupo pero con la que es un placer ir a donde sea. Y sobre todo a mi gemelier Yuyu, con villancicos incluidos, por toda tu ayuda en todo y por aguantarme, darme ánimos y hacerme siempre sonreír. Agradecer a mis lumpa lumpas, ayudándome durante las horas que hicieran falta. No cambiéis nunca, seguir siendo tan geniales, a pesar de nuestras diferencias.

Gracias también a todos mis amigos, el Mayazo y las Trinis por ayudarme a desconectar, y como dice Jesús a ser la futura Dra. de la fontaine. No me puedo olvidar de mis compis de piso Ana Belén, Marta y Maitane por estar siempre ahí.

Por último, a mis girls du foyer, por esa experiencia tan buena durante mi estancia en Dijon, siempre dispuestas a hacer turismo diurno o nocturno. También agradecer a Dominique, Jordi, Gaelle y Francine y a todos mis compis por toda su ayuda en el INRA, vous êtes tous très gentils.

Espero no olvidarme a ninguno, pero si es así gracias a vosotros también, porque sois muchos y estoy segura de que acordarse de todos es imposible.

INDICE

ESTRUCTURA DE LA TESIS	1
RESUMEN EN INGLES/ SUMMARY IN ENGLISH	5
INTRODUCTION	5
OBJETIVES	8
SECTION I: Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances.....	8
SECTION II. Study of the sensory importance of higher alcohols in wine aroma	
CHAPTER 1: On the effects of higher alcohols on red wine aroma.	11
CHAPTER 2: Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions.	13
SECTION III. Study of the sensory importance of ethyl esters in wine aroma	
CHAPTER 1: Sensory variability induced by ethyl esters in red wine	15
CHAPTER 2: Interactions between ethyl ester and woody aroma vectors. Effects on perception	18
SECTION IV: Aroma-bitterness and aroma-astringency interactions. Effect of consumer's level of expertise	21
CONCLUSIONS	25
REFERENCES.....	27
INTRODUCCIÓN	33
1. ATRIBUTOS SENSORIALES Y ESTÍMULOS QUÍMICOS	33
2. EL DESTACADO PAPEL DEL OLFATO EN LAS PROPIEDADES SENSORIALES DE LOS ALIMENTOS.....	35
3. EL OLFATO: DETECCIÓN DE MOLÉCULAS VOLÁTILES BIOLÓGICAMENTE RELEVANTES.....	36

4. LIMITACIONES DE LOS OAV	38
5. ¿SE PUEDE EXPLICAR EL AROMA DEL VINO A PARTIR DE SU COMPOSICIÓN QUÍMICA?.....	43
6. LA LÓGICA INTERNA DEL AROMA DEL VINO: EL BÚFER DEL VINO Y LOS VECTORES DE AROMA	45
6.1. El búfer de aroma	46
6.2. Vectores de aroma	50
7. INTERACCIÓN ENTRE LOS VECTORES DE AROMA Y LA PERCEPCIÓN GENERAL DEL AROMA	52
8. OBSERVACIONES FINALES.....	56
9. REFERENCIAS	56
OBJETIVOS.....	65

SECCIÓN I

*Interacciones sensoriales entre seis vectores de aroma capaces de explicar
cuatro atributos de aroma en vinos tintos*

1. INTRODUCCIÓN.....	69
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	74
2.1. Estándares.....	74
2.1.1. Reactivos y compuestos.....	74
2.1.2. Extractos no volátiles	74
2.2. Vinos modelo	75
2.2.1. Selección de los modelos por diseño factorial	75
2.2.2. Composición química de los vinos modelo	75
2.3. Evaluación sensorial	76
2.3.1. Expertos (estudio piloto)	76
2.3.2. Panel entrenado 1 (test descriptivo 1).....	78

2.3.3.	Panel entrenado 2 (test descriptivo 2).....	79
2.4.	Análisis de datos	80
2.4.1.	Evaluación del rendimiento del panel	80
2.4.2.	Análisis de factores (CA y PCA)	80
2.4.3.	Análisis de la varianza (ANOVA)	81
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1.	Vinos modelo y espacios sensoriales de los vinos	81
3.2.	Caracterización aromática de los vinos modelo	85
3.3.	Relación entre los vectores y los atributos de aroma	89
3.4.	Cambios principales y asociaciones vectoriales clave	95
4.	CONCLUSIONES	97
5.	REFERENCIAS	98

SECCIÓN II. Estudio de la importancia sensorial de los alcoholes superiores en el aroma del vino

Capítulo 1

Efecto de los alcoholes superiores en la percepción del aroma del

<i>vino tinto</i>	105
1. INTRODUCCIÓN.....	105
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	108
2.1. Compuestos y estándares.....	108
2.2. Preparación de los vinos modelos	108
2.2.1. Aislamiento y purificación de los alcoholes superiores	108
2.2.2. Preparación de los vinos modelo (WM).....	110
2.3. Análisis sensorial	112
2.3.1. Detección del umbral sensorial de las muestras de	
β-feniletanol	112
2.3.2. Test triangulares	113

2.3.3. Análisis descriptivo	116
2.4. Análisis de datos	118
2.4.1. Método GC-O: Confirmación de la pureza sensorial de los estándares	118
2.4.2. Umbral de detección sensorial	118
2.4.3. Test triangulares	119
2.4.4. Análisis descriptivo	119
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1. Aislamiento y purificación de los alcoholes	120
3.2. Análisis sensorial	122
3.2.1. Test triangulares (Test A)	122
3.2.2. Test triangulares (Test B)	124
3.2.3. Análisis descriptivo (DA)	125
4. CONCLUSIONES	130
5. REFERENCIAS	131

Capítulo 2

<i>Niveles de alcoholes superiores capaces de inducir cambios aromáticos y modular la preferencia de un panel de expertos en vinos modelo.....</i>	135
1. INTRODUCCIÓN.....	135
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	137
2.1. Compuestos y estándares.....	137
2.2. Preparación de los vinos modelos	137
2.2.1. Aislamiento y purificación de los alcoholes superiores	137
2.2.2. Preparación de los vinos modelo (WM).....	138
2.3. Análisis sensorial	140
2.3.1. Participantes	140
2.3.2. Procedimiento	140

2.4. Análisis de datos	143
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
3.1. Pureza de los estándares	143
3.2. Análisis sensorial	144
3.2.1. Vino modelo con aromas frutales.....	145
3.2.2. Vino modelo con aromas a madera.....	147
3.2.3. Vino modelo con aromas animales.....	152
4. CONCLUSIONES	155
5. REFERENCIAS	156

SECCIÓN III. Estudio de la importancia sensorial de los ésteres etílicos en el aroma del vino

Capítulo 1

Variabilidad sensorial inducida por los ésteres etílicos en vino tinto ... 163

1. INTRODUCCIÓN.....	163
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	166
2.1. Compuestos y estándares.....	166
2.2. Preparación de los vinos modelos	167
2.2.1. Purificación de los esteres	167
2.2.2. Preparación de vectores isointensos con diferente número de ésteres	167
2.2.3. Preparación del vino modelo (WM).....	170
2.3. Evaluación sensorial	172
2.3.1. Participantes	172
2.3.2. Evaluación de la intensidad del olor y la calidad de los vectores	172
2.3.2.1. Evaluación de la intensidad del olor de los vectores	172

2.3.2.2. Evaluación de diferencias sensoriales de vectores aislados mediante test triangulares	174
2.3.3. Evaluación de diferencias sensoriales inducidas por los vectores en vinos tinto modelo mediante test triangulares	175
3. RESULTADOS	178
3.1. Validación de la pureza de los ésteres	178
3.2. Desarrollo de los vectores de ésteres etílicos y estudio de los efectos en vinos tintos modelo	178
3.2.1. Simplificación de V1 a V2 y V2'	178
3.2.2. Simplificación de V1 a V3	180
3.2.3. Simplificación de V1 a V4	182
3.2.4. Simplificación de V1 a V5 y V6	183
3.2.5. Simplificación de V1 a V7	184
4. DISCUSIÓN	185
4.1. Efecto de la diversidad de los ésteres etílicos sobre la cualidad del aroma general del vino	185
4.2. Efecto de la diversidad de los ésteres etílicos sobre la intensidad del aroma global del vino	189
5. CONCLUSIONES	192
6. REFERENCIAS	194

Capítulo 2

<i>Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción.</i>	199
1. INTRODUCCIÓN	199
2. MATERIALES Y MÉTODOS	202
2.1. Compuestos y estándares	202
2.2. Preparación de los vinos modelos	202

2.2.1.	Purificación de los ésteres	202
2.2.2.	Preparación de los vinos modelo (WM).....	202
2.3.	Análisis sensorial	205
2.3.1.	Prueba de categorización libre	205
2.3.2.	Análisis descriptivo	205
2.4.	Tratamiento de datos	207
2.4.1.	Prueba de categorización libre	207
2.4.2.	Análisis descriptivo	208
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	209
3.1.	Tarea de agrupación libre	209
3.2.	Análisis descriptivo	212
4.	CONCLUSIONES	219
5.	REFERENCIAS	220

SECCIÓN IV

<i>Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astringencia en vinos tintos. Efecto del nivel de experiencia del consumidor</i>		<i>225</i>
1.	INTRODUCCIÓN.....	225
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	229
2.1.	Reactivos y estándares	229
2.2.	Preparación de los vinos modelos	229
2.2.1.	Preparación de la fracción astringente	229
2.2.2.	Muestras de vino	230
2.2.3.	Propiedades sensoriales de los vectores de aroma y los estímulos en boca	233
2.3.	Estudio de las interacciones sensoriales por análisis descriptivo	235
2.3.1.	Participantes	235
2.3.2.	Procedimiento	236

2.4. Análisis de datos	238
2.4.1. Propiedades sensoriales de los vectores de aroma y de los estímulos en boca	238
2.4.2. Estudio de las interacciones sensoriales por análisis descriptivo	239
3. RESULTADOS	239
3.1. Propiedades sensoriales de los vectores de aroma y los estímulos en boca	239
3.2. Estudio de las interacciones por análisis descriptivo	241
4. DISCUSIÓN.....	244
5. CONCLUSIONES	248
6. REFERENCIAS	248
CONCLUSIONES FINALES/ FINAL CONCLUSIONS	251
ANEXOS	259
ANEXO 1	261
ANEXO 2	263
ANEXO 3	267
ANEXO 4	271
ANEXO 5	277
ANEXO 6	285

ESTRUCTURA DE LA TESIS

Esta tesis está formada por una serie de trabajos enfocados a integrar de manera pionera el conocimiento químico acerca de los compuestos sensorialmente activos con conocimientos procedentes de áreas relacionadas con el análisis sensorial y la psicología cognitiva. La estructura que posee es la siguiente:

- * RESUMEN DE LA TESIS
- * INTRODUCCIÓN: Incluye una **introducción general** en la que se hace un repaso al estado del arte en lo referente a la formación del aroma y se desarrolla una teoría sobre la lógica interna del aroma, en la que se describen herramientas conceptuales útiles para modelizar el aroma percibido a partir de su composición química, poniendo el foco en el vino como producto.
- * SECCIONES: Está dividido en **cuatro secciones** con varios capítulos por sección según el tema a tratar:
 - SECCIÓN I: Estudio de las interacciones sensoriales entre seis vectores de aroma y la formación del aroma en modelos de vino tinto (1 capítulo).
 - SECCIÓN II: Estudio de la importancia sensorial de los alcoholes superiores en la formación del aroma búfer del vino (2 capítulos).
 - SECCIÓN III: Estudio de la importancia sensorial de los ésteres etílicos en la formación del vector frutal y como parte del aroma búfer del vino (2 capítulos).
 - SECCIÓN IV: Estudio de las interacciones sensoriales entre el amargor, astringencia y diferentes vectores de aroma (1 capítulo).

Estructura de la tesis

- * **CONCLUSIONES:** Incluye las **conclusiones generales** sobre la tesis e importancia en la industria del vino.
- * **ANEXOS:** Incluye **Anexos** con material suplementario y las fichas de cata de los trabajos que se recogen en la tesis.

Debido a que la tesis doctoral opta a la mención internacional, el resumen y las conclusiones se encuentran redactadas en inglés



Summary in English
Resumen en inglés

PERCEPTUAL INTERACTIONS BETWEEN AROMA VECTORS AND WINE SENSORY PROPERTIES. CONSEQUENCES FOR AROMA MODELING

INTRODUCTION

The understanding of the sensory properties of complex mixtures of odorants, such as wine, has interest in at least two scientific disciplines: psychophysics and aroma chemistry. The efforts made by psychophysicists have focused on issues such as the relationship between global and individual intensities of the stimuli, the ability of humans to discriminate and recognise odours in mixtures or when one scent dominates over the other, trying to find general laws regulating these aspects. It can be said that the search for generality has biased the type of examples studied and, indirectly, the conclusions that can be drawn from them. Questions critical in aroma chemistry, such as which characteristics of an odour –other than its intensity (defined in contrast to those of the other components of the mixture) are essential to determine how it will interact with the rest of odorants in the mixture, have not been systematically addressed. To this regard, the odour properties of the odorants in isolation are most of the time poor predictors of the effective role of the odorant in complex odour mixtures. Consequently, the understanding of the fundamental laws that regulate the perceptual interactions between odorants and groups of odorants, and hence that determine the overall aroma of complex odour mixtures is an essential element without which much of the work of the aroma chemist will remain purely empirical and will have to depend on statistical models of little generality.

Previous studies have more often been restricted to the study of very simple models, such as binary aroma mixtures (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013), which

may not reflect adequately what is found in complex systems. Additionally, a considerable number of perceptual interactions studies have been conducted at threshold levels (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013), where the degree of cooperation or additivity between odorants is much higher than those observed at supra-threshold levels.

Because of these reasons, in the present doctoral thesis we have taken advantage of the chemical knowledge on wine odorants acquired in the Laboratory for Aroma Analysis and Enology to build different sets of reconstituted wine models closely resembling real red wine aromas. Those models contained controlled compositions of wine odorants, so that the analysis of their sensory properties has made it possible to study how the different odorants interact between themselves to form the final sensory perception, and to propose some concepts which we believe will be of help to facilitate the interpretation and modeling of complex aromatic systems.

Given the high number of wine odorants, the number of variables to study and the number of interactions to consider would be boundless. In order to simplify, we first adapted the concept of aroma vector. Aroma vectors have not been properly defined, at least at the beginning of this experimental work, but relate to a group of odorants with similar odour characteristics and sometimes also belonging to the same chemical family, which seem to act in a concerted way (Aznar, Lopez, Cacho, & Ferreira, 2003; San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). This concept, still used in a quite limited and preliminary way, is the base of the first chapter of this Thesis. In it, we have studied the aroma variability induced by the interactions of different aroma families (vectors), where we could observe that most of the aroma nuances were indeed the result of the interactions between vectors. As one of the most outstanding results were the apparent suppression

effects caused by higher alcohols, we further studied in the two following chapters these effects, investigating which ones of the alcohols were responsible and the qualitative and quantitative aspects of the interaction. Remarkably, these works help explaining part of the properties of what in previous reports (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007; Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004; Ferreira, Ortin, Escudero, Lopez, & Cacho, 2002) had been referred as “aroma buffer”. In fact, the buffering effect noted in those previous reports, is most likely the direct consequence of the strong suppression effects caused by the presence of ethanol, higher alcohols and acetic acid.

We further decided to research in more detail the own concept of aroma vector. For that, we assessed the qualitative and quantitative effects associated to the progressive simplification of a mixture of fruity ethyl esters in different aromatic environments. What we found, is that while subthreshold ethyl esters play a surprising synergistic effect on aroma intensity, qualitatively the diversity introduced by the different ethyl esters is limited, in strong contrast with some previous reports (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013). In some aroma contexts, three odorants can perfectly replace the mixture, and in aroma contexts dominated by woody notes, a single odorant (the most intense) can replace the 14 original odorants, revealing a strong qualitative integration which justifies the use of the aroma vector concept.

Following, we approached the study of the interactions between these fruity vectors at different intensities with the different aroma vectors related to wood aroma extractables. Finally, in the last chapter, we briefly assessed the potential existence of cross-modal interactions between aroma volatiles (vectors) and bitter and astringency-related polyphenols.

OBJECTIVES

The **general objective** of this thesis is to understand how some of the main aroma vectors of wine interact between them to form the overall wine aroma nuances, with the ultimate goal to develop concepts of general interest for dealing with the interpretation of complex aroma mixtures.

The specific objectives are:

1. To investigate the sensory space associated to the perceptual interactions between six of the most common wine aroma vectors.
2. To investigate the aroma suppression effects associated to higher alcohols.
3. To investigate whether the 14 ethyl esters naturally found in red wine, can be adequately represented by simple mixtures without altering wine aroma.
4. To investigate the quantitative and qualitative consequences of the interactions between the ethyl ester vector and the three different vectors linked to wood extractables.
5. To evaluate, the cross-modal effects of aroma vectors on bitterness and astringency of red wines.

SECTION I. Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances.

1. Introduction

One of the major challenges of today's aroma research is to understand the rationale determining the qualitative and quantitative characteristics of the sensory perception elicited by complex mixtures of odorants. Wine aroma, as a complex matrix, is not just the sum of individual constituents, but the result of complex interactions between a large

number of chemical compounds (Francis & Newton, 2005). Odorants can interact, showing either additive or competitive effects, which may turn even into synergistic or antagonistic effects (Ferreira, 2012a). Some studies highlight important sensory effects linked to perceptual interactions between odorants. For example, Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, and Barbe (2015) have shown that the solvent-like aroma of isoamyl alcohol partially suppresses the fruity aroma caused by branched ethyl esters. Atanasova et al. (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004) have equally shown that woody notes tend to dominate over fruity notes in wine. Lytra, Tempere, Zhang, Marchand, de Revel, and Barbe (2014) have also reported, in agreement with previous results from Segurel, Razungles, Riou, Salles, and Baumes (2004) and Escudero, Campo, Farina, Cacho, and Ferreira (2007) that blackcurrant odour can be produced by the interaction between dimethyl sulphide and the ester pool. As can be seen, in most of these previous reports, researchers have studied the interaction between just two odours, often in very simple aroma mixtures, when the fact is that in wine there are many odorants creating different odours and competing simultaneously and contained in a powerful hydroalcoholic matrix with numerous non-volatile compounds which can exert additional chemo-physical interactions. Additionally, and to the best of our knowledge, at the time at which this study was launched there was no study in which major wine odour components have been systematically assessed for their contribution and interactions.

This work aims at assessing the aromatic sensory dimensions linked to 6 common wine aroma vectors (N, norisoprenoids; A, branched acids; F, enolones; E, branched ethyl esters; L, fusel alcohols, M, wood compounds) varying in their natural range of occurrence in wine models resembling as much as possible to real wines.

2. Methods

Wine models (WMs) were built by adding the six aroma vectors at two levels of concentration (fractional factorial design 2^{VI}) to a de-aromatised aged red wine. The 32 WMs derived from such fractional factorial design were first subjected to a pilot sensory test with the aim of reducing the number of samples for the subsequent descriptive study. From this pilot analysis, twenty-one wine models including the base aroma model (formed by the pool of base aromas and all vectors at low levels) were selected for further sensory characterisation with a trained panel. Finally, four of the samples were submitted to quantitative descriptive analysis (QDA) with the main aim of confirming the role of alcohols in the fruity and woody character of WMs.

3. Results and discussion

Individual vectors explained just 15% of the sensory space, which therefore mostly depended on perceptual interactions. Red, black and dried fruits and woody notes were satisfactorily reproduced. Norisoprenoids (N), which are formed by β -damascenone and β -ionone, influences dried and black fruits and suppresses red fruits. Branched acids (A) could be implicated in the type of fruit perceived, enhancing red fruit and dried fruits and depressing black fruit notes. Enolones (F), which are formed by furaneol and homofuraneol, contribute concertedly to red fruit notes in red wines. Branched ethyl esters (E) suppresses dried fruits and modulates black fruits. Whiskylactones, which are the strongest oak-wood aroma components with a very characteristic coconut odour, together with wood volatile phenols (eugenol) are responsible for the woody aroma note. Higher alcohols (L) are revealed as a strong suppressor of red fruits and particularly of woody notes.

For more information, see article: Ferreira, Sáenz-Navajas, Campo, Herrero, de la Fuente, and Fernández-Zurbano (2016)

SECTION II: Study of the sensory importance of higher alcohols in wine aroma

CHAPTER 1. On the effects of higher alcohols on red wine aroma.

1. Introduction

Higher alcohols, also known as fusel alcohols, refer to a fraction obtained during the distillation of fermented products smelling very strong and bad. It was said that higher alcohols could contribute positively to the aromatic profile of wines, increasing fruity and flowery notes and aroma complexity, while at levels above 400 mg/L a negative effect caused by the apparition of pungent and unpleasant notes would be noted (Rapp & Versini, 1991) quoting previous work. Also, Aznar, Lopez, Cacho, and Ferreira (2003) by means of PLS models, have suggested that isoamyl alcohol and isobutanol were positively related to the vegetal/pepper note of aged red wines and negatively related to the intensity of the toasted and woody-old attributes. Other authors (Saenz-Navajas, Avizcuri, Ballester, Fernandez-Zurbano, Ferreira, Peyron, et al., 2015; San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011) have observed that higher alcohols seemed to be negatively related to wine quality. Notwithstanding, the scientific literature is not unanimous about the role played by higher alcohols on wine aroma. For these reasons, the purpose of this work is to assess the contribution of the four most relevant wine higher alcohols (isobutanol/isoamyl alcohol (I), methionol (T) and β -phenylethanol (B)) to the aromatic sensory characteristics of red wines by means of a reconstitution strategy that comprises wine models with sensory properties similar to real wines.

2. Methods

High purity commercial standards are further purified by reactive SPE to remove traces of aldehydes. The four purified alcohols were added at two levels of concentration (I, i, B, b, T, t), within the natural range of occurrence, to eight different wine models (WM) differing in levels of fruity (F), woody (W), animal (A) or humidity (H) notes. Samples were submitted to discriminant and descriptive sensory analysis. Generated data were submitted to multivariate statistical analysis (two-way ANOVA and a PCA).

3. Results and discussion

The increase of the I vector (isobutanol/isoamyl alcohol) caused in all cases a displacement of the samples towards spirit/alcoholic/solvent notes. Also, a clear opposition between pleasant (strawberry, coconut) and unpleasant attributes (leather, humidity) is noted. Higher alcohols suppress strawberry/lactic/red fruit, coconut/wood/vanilla and humidity/TCA notes, and enhance animal/leather/ink. The spirit/alcoholic/solvent character generated by these compounds has shown to be wine dependent.

The present work confirms the sensory importance of the pair isobutanol/isoamyl alcohol on wine aroma perception, while demonstrates that the contributions of methionol and β -phenylethanol are negligible. The effects of the alcohols are extremely dependent on the aromatic context. Only in contexts in which aroma notes are clearly perceived the effects become clearly noticeable, mainly by suppressing the intensity of positive/negative odour notes (fruity, woody and humidity) but also by enhancing the negative animal/leather/ink note with which shares some similarity. Only secondarily, the alcohols are able to communicate to the wine their particular spirit/alcoholic/solvent notes. Because of those effects, aliphatic higher alcohols play a negative role on wine aroma quality.

For more information, see article: de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, and Ferreira (2016).

CHAPTER 2. Levels of higher alcohols inducing aroma changes and modulating experts' preferences in wine model solutions.

1. Introduction

The role played by higher alcohols, the major constituents of the wine volatile fraction, has been not much studied. Nevertheless, previous studies (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016) found that the pair of higher alcohols (isoamyl alcohol/isobutanol) produces a suppression of odor notes with either positive (fruity, woody) or negative hedonic tone (humidity), while specifically enhancing the animal aroma. In addition, we observed that the contribution of methionol and β -phenylethanol to wine aroma was negligible. Even if these compounds are usually considered important factors influencing wine flavour, there is a lack of empirical evidence, illustrating how the level of HA causes a readily discernible change in wine sensory properties or wine preference. For these reason, this study aimed to identify the minimal concentration of higher alcohols -HA- (isoamyl alcohol/isobutanol) which causes readily clear changes in aroma properties and preferences on three wine models (WMs) (fruity, woody and animal-like) according to a group of Spanish wine experts.

2. Methods

Sixteen Spanish wine experts carried out several series of 2- alternative forced-choice (2-AFC) sensory tests in three different aroma contexts (fruity-like, woody-like and animal-like aromas) generated in wine models. Panellists performed two tasks and were asked to orthonasally evaluate each pair of samples (Control and spiked) and indicate which

sample of the pair was 1) more intense (1st task) in two attributes: spirit-like aroma and in the predominant attribute corresponding to each WM (red fruity, woody or animal) or 2) preferred (2nd task). Control wine models (with a basal concentration of HA of 130 mg/L) were contrasted to the same wines containing increasing concentrations of HA. For each concentration of the HA vector (F1–F8), the number of times that the Control was considered more intense than (1st task) or preferred over (2nd task) spiked sample was counted.

3. Results and discussion

As aforementioned, the minimal concentration which causes readily discernible sensory changes can be defined as the point that represents the quantity of additional stimulus necessary for perceiving a difference. According to this criterion, it was observed that levels of 299 and 288 mg L⁻¹ of HA conferred their spirit-like characteristic aroma to fruity and woody-like wine models and diminished red fruit (299 mg/L) and woody (281 mg/L) attributes, respectively. In animal-like wine models, the animal aroma generated by ethyl phenols and the spirit-like nuances of HA increased at concentrations of 365 and 375 mg/L of HA, respectively. Nevertheless, a decrease of preference was observed by the presence of HA at concentrations ranging from 284 to 358 mg/L. In a fruity context, Control (containing 130 mg/L of HA) was significantly ($P < 0.05$) preferred over samples containing at least 326 mg/L of HA. Thus, the addition of at least 196 mg/L of HA to the Control fruity WM caused a decrease in preference. For woody context, samples containing 147 and 152 mg/L of HA were able to significantly decrease woody and increase spirit-like aromas, respectively. The minimal concentration, which causes sensory changes, can therefore be estimated as little as 17 and 22 mg/L for the less sensitive participants. With regards to animal WM preference, samples containing at least 358 mg/L of HA were significantly less preferred than the Control.

This is the first work estimating the concentration of HA able to affect aroma properties and hedonic character of red wines, demonstrating that isobutanol and isoamyl alcohol are essentially detrimental to wine quality according to the panel of wine experts that carried out the present work.

For more information, see article: de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, and Ferreira (2017)

SECTION III: Study of the sensory importance of ethyl esters in wine aroma

CHAPTER 1. Sensory variability induced by ethyl esters in red wine.

1. Introduction

Ethyl esters are a group of volatile compounds that impart fruity notes to wine (Etievant, 1991). Leaving aside ethyl esters of major acids, such as ethyl lactate or diethyl succinate, wines contain around 14 different ethyl esters bearing slightly different aroma descriptors. These ethyl esters include ethyl esters of linear and branched fatty acids and also of some hydroxy acids (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007). Interestingly, only some of them (ethyl isobutyrate, ethyl 2- and 3-methylbutyrates, ethyl butyrate, ethyl hexanoate and ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate) have been found to be at concentrations above or close to their sensory thresholds (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Some authors have suggested that individual components have crucial relevance in defining the fruity notes finally perceived in red wines (Falcao, Lytra, Darriet, & Barbe, 2012; Lytra, Cameleyre, Tempere, & Barbe, 2015; Lytra, Tempere, de Revel, & Barbe, 2012a, 2012b, 2014, 2015; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013; Pineau, Barbe, Van Leeuwen, & Dubourdieu, 2009). We, however, hypothesise that such sensory differences perceived in simple solutions cannot be perceived in a complex mixture

such as red wine. The main goal of the present work is to demonstrate that the specific sensory nuances of minor esters have, if any, small relevance on the overall wine aroma perception and that for modelling purposes, ethyl esters constitute a single aroma vector conveying a generic fruity-estery note well represented by a simple mixture of odorants or even by a single odorant. Regarding aroma intensity, the goal is to assess how the progressive simplification of the aroma vector affects to the intensity of the mixture, and to verify whether minor esters have a relevant impact on the overall aroma intensity.

2. Methods

In this work, a mixture of 14 esters (V1), formed by 5 lineal and 9 branched esters, was prepared in buffered solution (pH 6 and 1% ethanol) at concentrations found in wines (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). In parallel, other simpler and isointense vectors with 6 (V2'), 4 (V3), 3 (V4), 2 (V5-V6) or 1 (V7) individual esters were generated. The isointensity of the seven vectors was evaluated using a 1-butanol reference scale (Atanasova, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2004). In addition, the sensory differences of vectors in isolation was evaluated by triangle test. Then, ten different reconstituted wines were prepared mixing the volatile composition of a young red wine or an aged oaked red wine, the non-volatile matrix corresponding to each one and the selected ester vector.

3. Results and discussion

Results show that differences between the aroma vector containing 14 ethyl esters at maximum red wine levels and other isointense aroma vectors containing a reduced number of esters can be perceived just in some aromatic contexts. When the vectors are smelled in isolation, sensory differences are barely perceived. However, when the vectors are smelled in a young red wine context, vectors with just 1 or 2 components are easily

identified; but in an oaky red wine context, differences are not noticeable perceived. In practical terms, this implies that the mixture of 14 ethyl esters can be satisfactorily replaced by just 3 ethyl esters in a young red wine, or by just 1 –the most intense in the original vector- if woody notes are present. This result questions the alleged importance of some minor esters or specific enantiomeric forms on the specific odour descriptors of wine and confirms the need to work with complex mixtures similar to the target product in supra-threshold areas.

Notwithstanding this, results confirm that subthreshold or peri-threshold odorants play an outstanding role on the overall odour intensity of the mixture. Besides, it has been found that the process of aroma simplification concomitantly implies an increase in the amount of odorant (in OAV terms) required to keep the intensity of the aroma vector. It is suggested that such effects are the simple consequence of the power nature of psychophysical functions, evidencing the limited value of OAV for predicting importance or combining aroma vectors.

A full version of this chapter has been submitted to publication to Food Chemistry: “Fourteen ethyl esters of wine can be replaced by simpler ester vectors without compromising quality but at the expense of increasing aroma concentration”. de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, Valentin and Ferreira.

CHAPTER 2. Interactions between ethyl ester and woody aroma vectors. Effects on perception.

1. Introduction

Wine is a complex matrix composed of dozens of aroma compounds belonging to different chemical families. Among these different families, esters are one of the most important group of volatile molecules involved in the formation of the typical fruity-like aromas of wines. Different authors have addressed the study of the ester family. Some studies have been focused on the qualitative or quantitative impact of several esters on the perception of the fruity aroma (Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013). Other authors have studied sensory interactions of ethyl esters with woody aroma compounds such as whiskylactone (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005) in binary mixtures. However, most of studies focused on understanding sensory interactions between fruity esters and wood-like aromas have been carried out ignoring the influence of other important compounds of the matrix. Recent unpublished studies of our laboratory (chapter 5 of this doctoral thesis) have demonstrated that a pool of 14 esters can be replaced by 3 compounds (ethyl butyrate, ethyl hexanoate, and 2- or 3-methylbutyrates) without noticeable sensory change in wine models with simple aroma profiles (unoaked young wines). Interestingly, such pool of esters can be replaced by a single one (ethyl 2- or 3-methylbutyrate) at iso-intense levels in oaky red wines without any discernible sensory change. For this reason, it is thought that the aromatic context exerts a determinant influence over the perception of the compositional changes (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016). Therefore, the objective of this work has been to study the sensory interactions between the woody and the fruity vectors at different concentration levels and identify the sensory dimensions generated by such interactions.

2. Methods

Twenty-one different model wines were prepared by adding an ester (ethyl 2-methylbutyrate - E) at three levels of concentration and one (out of three) of the woody aroma vectors also at three possible levels of concentration together with the rest of aroma compounds present in all wines and the dearomatised non-volatile fraction of a red wine.

The three woody vectors studied were 1) vanilla-like (rich in vanillas - CV), 2) coconut-like (rich in whiskylactone - CC) and 3) clove/spicy-like (rich in eugenol - CL).

The sensory evaluation of the samples was divided in two phases. The first consisted in a similarity-based method called sorting task performed by 20 panellists. They were presented with the 21 model wines simultaneously and they had to group samples based on aroma similarities. In the second phase, 16-trained judges described the aroma profile of model wines.

3. Results and discussion

Results derived from the sorting task show a lack of consensus among participants and only three well defined groups of wines with consistently different aroma properties. The first group, mainly described with fruity aromas, is formed by unoaked wines (B, E1 and E2). The second group, mainly described with the vanilla term, includes wines with the vanilla-like vector at highest concentration (CC2). The third group of wines, mainly described with terms such as woody, roasted or spicy, is formed by all the remaining wines that contain woody vectors, regardless the concentration or type of vector.

The lack of consensus in the existence of clear sensory differences between wines containing different aroma vectors may be attributed to three main causes. First, the own sensory test, in which the high number of samples used (21) could difficult the memorisation of the aroma properties of the whole set of wines, that could also induce

fatigue. Second, the type of panellists, who were first-year oenology students and not received specific prior training (their experience in wine tasting could be limited and they tended to group wines according to basic and general sensory characteristics). And fourth, because of the lack of recognisable aroma differences among samples.

To overcome those prior limitations and further understand the sensory dimensions derived from the interaction between woody and fruity vectors, a descriptive sensory analysis was carried out. The same twenty-one different wine models were characterised by scoring 10 different sensory descriptors (fruit, strawberry, blackcurrant, apple, raisin, wood, coconut, clove, caramel and vanilla) on an 8-point structured scale.

A first two-way ANOVA (panellists as random factors and samples as a fixed) reveals the existence of significant effects ($P < 0.05$) on dried fruit, woody and coconut attributes. Specific three-way ANOVAs (panellists as random factors and level of ester and type of wood as fixed) were calculated for each type of wood to verify the origin of these effects. Results show significant effects for woody and dried fruit descriptors regardless of the woody vector employed. Besides, specific significant effects dependent on the type of woody vector were found for the coconut, blackcurrant and apple attributes.

Regarding the woody descriptor, its presence and level is correlated to the level of wood-related compounds in the mixture, showing higher intensities at higher levels of woody vectors (CC2, CV2 or CL2) regardless of the type of woody vector. In addition, a significant effect for the coconut descriptor is observed, which is only perceived when the vector rich in whiskylactone is at the highest concentration tested (CC2). Both results show a clear dominance of the woody vector over the fruity vector, which is further confirmed by a systematic decrease of the intensity of the fruity note whenever the woody vector is present.

Regarding the fruity descriptors, dried fruit aroma is especially high in the base wine (B), and thus mainly linked to the lack of esters and woody vector. Interestingly, a significant interaction between the ester vector and the whiskylactone-rich woody vector (E*CC) reveals that this coconut-like woody vector is an important contributor to fruity aromas in red wine. Another important observation is the significant effect found for the apple descriptor, which is mainly linked to the level of esters. The ester used is ethyl 2-methylbutyrate, whose main descriptors are fruit, strawberry and apple. This would explain that the highest intensity in the apple descriptor is found when the concentration of ethyl 2-methylbutyrate reaches 1730 mg/L (E2). Finally, the blackcurrant note was only perceived in models containing vanilla-rich woody vector at medium concentration (CV1) and lowest (B levels) or highest (E2) of esters. The apparition of this note seems to be the result of the hedonic integration of the fruit/strawberry/apple notes from the ester with the sweet/vanilla notes of the woody vector during the wine olfaction process.

SECTION IV. Aroma-bitterness and aroma-astringency interactions. Effect of consumer's level of expertise

1. Introduction

The flavour of a product is the result of the integration of all the sensations perceived in the mouth and nose cavities, including aroma, taste and tactile sensations, rather than the summation of individual discrete sensations (Prescott, 2012; Small & Prescott, 2005). Hence, understanding flavour integration is essential to understand consumer's choices. In the case of wine, bitterness and astringency are amongst the least understood perceptions. This can be due to a number of different reasons related to their complexity and multimodality, probably also because they induce fatigue generating great individual variability among consumer perception, but maybe also because most often previous

research has neglected interactions with other stimuli such as aroma or taste. Moreover, mathematical models predicting wine bitterness exclusively from non-volatile compounds are not satisfactory. Different authors studying aroma–bitterness and aroma–astringency interactions (Hernandez, 2016; Saenz-Navajas, Avizcuri, Ferreira, & Fernandez-Zurbano, 2014; Saenz-Navajas, Campo, Fernandez-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010) had suggested that odour could modulate bitterness in red wines, but astringency was mainly driven by non-volatile compounds, while odour played a secondary role. In these models: 1) astringency is positively correlated with bitterness and spicy aroma, and negatively correlated with roasted aroma; 2) bitterness is positively correlated with animal, vegetal and herbal aromas as well as with astringency and sourness, while is negatively correlated to spicy and dried fruit aromas. In this context, the present study aims to investigate specific sensory interactions between bitterness and sourness and between bitterness and six aromatic vectors and the effect of the level of expertise on such sensory interactions.

2. Methods

In the first experiment, a commercial red wine was spiked with quinine sulphate to produce two levels of bitterness. Seven samples with high and seven with low bitterness were further spiked with one of the following aroma vectors: vegetal, herbal, spicy, roasted, animal, dried fruit or with tartaric acid to modulate sourness. In the second experiment, the wine was spiked with an astringent proanthocyanidin fraction to produce two levels of astringency and with one of the seven vectors used in the first experiment or with quinine sulphate to modulate bitterness. Fourteen and 16 spiked samples of experiments 1 and 2, respectively, were sensory evaluated together with control samples to assess the intensity of the six aroma vectors, sourness, bitterness and astringency. Evaluation was performed using a descriptive analysis technique based on intensity rating on a structured 10-cm-scale by three groups of participants with different levels of expertise. The effect of the addition

of one aroma vector, sourness or bitterness on bitter or astringent intensity was evaluated by ANOVA.

3. Results and discussion

A sensory experiment was designed in order to validate predictive models obtained in previous works, which suggested that bitterness and astringency could be modified by taste-taste (bitterness-sourness), taste – aroma (animal, spicy, vegetal, herbal, roasted or dried fruit with bitterness), taste – astringency (astringency – sourness or astringency – bitterness) or astringency – aroma interactions (animal, spicy, vegetal, herbal, roasted or dried fruit with astringency). This was made under the hypothesis that these sensory interactions could be modulated by the level of expertise of consumers, interactions perceived by novices, trained panellists and experts were investigated.

No significant effect of aroma, sourness or bitterness was observed for astringent intensity, confirming that in these red wines, cross-modal interactions are not relevant in astringency. This perception is driven almost exclusively by polyphenols and it is not influenced by taste or aroma interactions, as previous results had suggested.

However, a small number of sensory interactions related to bitterness were observed. Bitter-aroma interactions were demonstrated for animal aroma just for less-experienced consumers (novices), which was attributed to a hedonic synergism. Novices tend to find more difficulties in separating odour and taste in complex mixtures, and tend to classify flavours based on their hedonic quality (negative for animal aroma and bitter taste).

Significant decreases in bitterness due to sour vector were observed regardless of consumer expertise. This is explained in terms of: 1) interactions at cognitive level and 2) interactions at receptor level. According to the first one, supression at central level

(cognitive) could be related with the inability of consumers to direct their attention to a specific attribute such as bitter when other sensory property such as sourness is perceived at higher intensity. Also, the confusion between sour and bitter tastes could be the cause of this suppression. On the other hand, sodium and potassium tartrates could compete with quinine receptors (affinity of both for the same receptor), and the occupation of this receptor by the first could generate the bitterness suppression.

Results demonstrate the presence of taste-taste (bitterness-sourness) and taste-aroma (bitterness-aroma) interactions in a complex matrix such as wine.

For more information, see article: de-la-Fuente-Blanco, Fernández-Zurbano, Valentin, Ferreira, and Sáenz-Navajas (2017).

CONCLUSIONS

One of the main conclusions of this doctoral thesis is that most wine aromatic notes are due to the existence of **perceptual interactions** between different aroma vectors. In fact, reconstitution works revealed that only 28% of the variance of the aromatic-sensory space can be explained by individual vectors and that the remaining 72% should be attributed to perceptual interactions.

The vector formed by isoamyl and isobutyl alcohols is one of the fundamental pieces of the so-called aromatic buffer and is capable of suppressing the notes of wood, fruit and humidity at levels of concentration at which their own aromatic notes are not perceived, which is an example of a perceptual **destructive interaction**. However, the animal / leather notes caused by ethyl phenols are enhanced by the isoamyl alcohol vector, which can be attributed to the congruence in both, negative hedonic tones and in the aromatic notes (alcohol/solvent and leather/animal/ink), which is an example of a perceptual **enhancement interaction**.

On the other hand, it has been demonstrated that odorants sharing common descriptors, such as ethyl esters, act in a concerted and integrated way, since in some aromatic contexts, the original 14 components in the mixture can be replaced by the single most intense (or even by one similar to it) without any loss of qualitative information. This integration allows simplifying the number of odorants taking part in reconstituted models or the number of variables taking part in mathematical models build to predict the aroma properties of complex mixtures. This interaction is an example of a perceptual **cooperative interaction**. From the quantitative point of view, some odorants present at sub-threshold levels exert a strong **synergistic effect**, while odorants present a supra-threshold concentrations interact mainly via **hypo-addition**. Even in the hypo-addition case, the

amount of aroma - in terms of OAV - necessary to keep the intensity of the simplified vectors at the same level than that of the original vector, is much increased (a factor >4 for the whole simplification process, close to 3 for the elimination of suprathreshold odorants). This demonstrates that OAVs are quite limited measures to predict not only the actual importance of an odorant in a mixture but also as criteria for combining odorants into vectors. Rather, results suggest that for modeling purposes, concentrations of individual odorants should be first translated into aromatic intensities and that then, those aromatic intensities should be added by using different approximations, such as the vector model first proposed by Berglund.

Interactions between the different components of woody aroma vectors and the fruity vector have been studied in detail. While results confirm the already observed tendency of the woody vector to dominate the aroma of the mixture, also reveal the existence of perceptual interactions leading to the creation of a new aroma concept (which can be defined as perceptual **creative interaction**), in the case of blackcurrant notes arising from the interaction between the vanilla-rich woody vector and the fruit vector.

Finally, a preliminary and simple study directed to assess the existence of cross-modal interactions (odor x taste or odor x astringency) has revealed that these effects are present but do not seem to be essential for the sensory attributes considered. In fact, no effect of aroma on astringency was observed, confirming previous results, and only one **taste-aroma interaction** (bitterness-animal aroma for naïve consumers) could be demonstrated. Such interaction was dependent on the level of expertise of consumers and thus on their holistic approach when evaluating wine.

As a final conclusion, this work suggests that studies seeking to interpret the aroma properties of a complex mixture of odorants, should approach the following working

scheme: First, identify the odorants present in the mixture; second, integrate in single aroma vectors those groups of odorants likely interacting cooperatively, not forgetting peri-threshold odorants; third, study the different perceptual interactions existing between the vectors in the mixture, and carrying the studies in systems as similar and complex as possible as the product object of study.

REFERENCES

- Atanasova, B., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2004). Evaluation of olfactory intensity: Comparative study of two methods. *Journal of Sensory Studies*, *19*(4), 307-326.
- Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: Odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, *30*(3), 209-217.
- Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2005). Perception of wine fruity and woody notes: influence of peri-threshold odorants. *Food Quality and Preference*, *16*(6), 504-510.
- Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, *19*(6), 476-482.
- Aznar, M., Lopez, 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.
- 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.
- de-la-Fuente-Blanco, A., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D., Ferreira, V., & Sáenz-Navajas, M. P. (2017). Cross-modal interactions and effects of the level of expertise on the perception of bitterness and astringency of red wines. *Food Quality and Preference*, *62*, 155-161.
- de-la-Fuente-Blanco, A., Saenz-Navajas, M. P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, *210*, 107-114.
- de-la-Fuente-Blanco, A., Saenz-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.

Escudero, A., Campo, E., Farina, 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.

Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortin, 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.

Etievant, P. (1991). Wine. In M. H. (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages*, vol. 1 (pp. 483–546). New York, US: Marcel Dekker.

Falcao, L. D., Lytra, G., Darriet, P., & Barbe, J. C. (2012). Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. *Food Chemistry*, 132(1), 230-236.

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.

Ferreira, V., Ortin, N., Escudero, A., Lopez, 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.

Ferreira, V., Saenz-Navajas, M. P., Campo, E., Herrero, P., de la Fuente, A., & Fernandez-Zurbano, P. (2016). Sensory interactions between six common aroma vectors explain four main red wine aroma nuances. *Food Chemistry*, 199, 447-456.

Francis, I. L., & Newton, J. L. (2005). Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 114-126.

Hernandez, M. G. (2016). *Características sensoriales y composición no volátil de vinos tintos: avances en la exploración de la calidad*. Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática.

Lytra, G., Cameleyre, M., Tempere, S., & Barbe, J. C. (2015). Distribution and organoleptic impact of ethyl 3-hydroxybutanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(48), 10484-10491.

Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2012a). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(6), 1503-1509.

Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2012b). Impact of perceptive interactions on red wine fruity aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12260-12269.

Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2014). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-methylbutanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5005-5010.

- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2015). Enantiomeric distribution of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in wine, a natural enhancer of fruity aroma. In B. Guthrie, J. Beauchamp, A. Buettner & B. K. Lavine (Eds.), *Chemical Sensory Informatics of Food: Measurement, Analysis, Integration*, vol. 1191 (pp. 67-76). Washington: Amer Chemical Soc.
- Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8504-8513.
- Lytra, G., Tempere, S., Zhang, S. Y., 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.
- Pineau, B., Barbe, J. C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3702-3708.
- Prescott, J. (2012). Multimodal chemosensory interactions and perception of flavor. In W. M. Murray MM (Ed.), *The Neural Bases of Multisensory Processes.*: Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis.
- Rapp, A., & Versini, G. (1991). *Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines*. Davis: American Society Enology & Viticulture.
- Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ballester, J., Fernandez-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D., & Valentin, D. (2015). Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *Lwt-Food Science and Technology*, 60(1), 400-411.
- Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ferreira, V., & Fernandez-Zurbano, P. (2014). Sensory changes during bottle storage of Spanish red wines under different initial oxygen doses. *Food Research International*, 66, 235-246.
- Saenz-Navajas, M. P., Campo, E., Fernandez-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.
- 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.
- 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.
- 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.

Summary in English

Small, D. M., & Prescott, J. (2005). Odor/taste integration and the perception of flavor. *Experimental Brain Research*, 166(3), 345-357.



Introducción

INTRODUCCIÓN

Vectores de aroma y atributos sensoriales

1. Atributos sensoriales y estímulos químicos

La percepción de calidad de los alimentos en general y del vino en particular está relacionada tanto con sus dimensiones extrínsecas, que son las propiedades del producto que se perciben sin llegar a evaluarlo organolépticamente (por ejemplo: precio, origen, diseño del envase, información en la etiqueta), como con las dimensiones intrínsecas, relacionadas con las propiedades organolépticas (apariencia, olor, sabor, gusto, sensaciones quemestésicas...) (Jover, Montes, & Fuentes, 2004; Veale & Quester, 2009). Las primeras han sido ampliamente estudiadas y aplicadas en el área del marketing con el objetivo de aumentar la percepción de calidad del producto, sin embargo, la formación de las propiedades intrínsecas se conoce relativamente poco, muy probablemente por la complejidad a la hora de abordar su estudio. En lo que se refiere a estas últimas, y según los expertos, los grandes vinos son aquellos capaces de inducir una amplia gama de percepciones sensoriales, y por lo tanto una mayor complejidad. Un requisito esencial para la calidad intrínseca y complejidad organoléptica de estos vinos es que esas percepciones no sean incompatibles o incongruentes entre sí, y que ninguna de ellas sea dominante, de modo que la percepción general sea “equilibrada” y “armónica” (Spence & Wang, 2018).

En cualquier caso, la percepción de las propiedades intrínsecas del vino es el resultado de la integración en diferentes áreas del cerebro de la información visual, olfativa, gustativa y quemestésica (son aquellas capaces de activar el nervio trigémino y están relacionadas con las sensaciones táctiles, térmicas y de dolor), generando lo que

denominamos percepción del sabor/flavor. Durante el consumo de vino, se genera una cascada de sensaciones que interaccionan con la información cognitiva del consumidor (Parr, Mouret, Blackmore, Pelquest-Hunt, & Urdapilleta, 2011), lo que le permite identificar y describir las sensaciones que percibe, y a su vez se activa el sistema de recompensa del cerebro, produciendo placer (Howard, Gottfried, Tobler, & Kahnt, 2015).

Es de destacar que casi toda la información que obtenemos sobre las propiedades sensoriales de un alimento por activación del sistema sensorial está relacionada con las especies químicas y su interacción con los receptores. Entre ellas el color, que es la consecuencia de la interacción entre la luz visible y la materia. Así, los pigmentos presentes en el vino, que son especies moleculares, absorben luz de una longitud de onda específica, generando el color. El olor del vino es el resultado directo de la presencia de moléculas volátiles con propiedades aromáticas (odorantes). El gusto es el resultado del contenido en el vino de ácidos, sales, azúcares, cationes metálicos y de diferentes moléculas que afectan al gusto amargo. Las percepciones quemestésicas están relacionadas con la presencia de estructuras moleculares capaces de interactuar con diferentes terminaciones trigeminales. La fracción de las moléculas que participan en la formación de las propiedades sensoriales de un producto, y por lo tanto que son sensorialmente activas, constituye su sensometaboloma (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004) o, para abreviar, su “sensoboloma”.

La respuesta sensorial es el resultado de la integración de las señales provocadas por la interacción de las moléculas químicas con los diferentes receptores sensoriales, lo que significa que las diferentes modalidades sensoriales (visual, olfativa, gustativa o quemestésica) interaccionan entre ellas para generar una respuesta sensorial integrada (Small & Prescott, 2005). Por ejemplo, es bien conocido el hecho de que el color influye en la percepción de los olores y gustos (Morrot, Brochet, & Dubourdieu, 2001), y el

sabor/flavor en sí mismo es la respuesta integrada de la información recopilada a través de los receptores sensoriales pertenecientes a los receptores olfativos, gustativos y trigeminales (Auvray & Spence, 2008; Spence, 2015).

2. El destacado papel del olfato en las propiedades sensoriales de los alimentos.

Entre las modalidades sensoriales, la olfativa por naturaleza es la que genera mucha más información. De hecho, se ha descrito recientemente que el sistema olfativo humano es capaz de identificar un número prácticamente ilimitado de olores (Bushdid, Magnasco, Vosshall, & Keller, 2014). Esto contrasta fuertemente con la baja dimensionalidad de los otros sentidos, especialmente el gusto y el tacto. Esto tiene que ver con la función específica de cada sentido. El olfato está diseñado para interactuar con un amplio y complejo número de moléculas de olor en constante cambio (Gottfried, 2009) - nuestro entorno -, y es increíblemente eficaz en la detección y discriminación de olores (aunque si bien es cierto que el ser humano tiene dificultades en la verbalización de las sensaciones). El olfato tiene una relación íntima con lo placentero, hasta el punto de que algunos autores han afirmado que los olores son de hecho emociones sensoriales (Yeshurun & Sobel, 2010). En consecuencia, los olores de los alimentos tienen un papel primordial en el comportamiento alimentario, induciendo el apetito. En lo que se refiere al gusto, éste es solo un sistema sensorial de (macro)nutrientes, junto con la textura, responsable de la tasa de ingesta y la duración de la exposición oral, que contribuye a la saciedad (Boesveldt & de Graaf, 2017). Del mismo modo, el sistema trigeminal proporciona información sobre la irritación química, así como información sobre la temperatura, la textura y la consistencia de los alimentos, y parece estar relacionado principalmente con la prevención de la ingestión de sustancias nocivas (Green, 2012).

En la mayoría de los casos, muchas percepciones sensoriales originadas durante el consumo de un producto se ubican erróneamente en la boca, ya que, aunque los sentidos están ubicados en zonas anatómicas diferentes, existe una integración de estas señales sensoriales en el cerebro, que hace que exista solapamiento en la región activada en el cerebro (Small & Prescott, 2005). El gusto es percibido principalmente por los receptores de la lengua (papilas gustativas) y el aroma por la nariz (receptores olfativos), pero el cerebro interpreta la sensación general como proveniente de la boca para que pueda asociarse con la comida que se consume (Auvray & Spence, 2008). La consecuencia práctica es que una gran parte de las percepciones observadas durante el consumo del vino provienen de los odorantes percibidos por los receptores olfativos. Esto, junto con el hecho de que las señales olfativas tienen un gran peso en la percepción de la calidad de los vinos (Sáenz-Navajas, Avizcuri, Echávarri, Ferreira, Fernández-Zurbano, & Valentin, 2016), hacen que el estudio de las moléculas olfativas sea de especial interés a la hora de comprender la calidad del vino.

3. El olfato: detección de moléculas volátiles biológicamente relevantes

El sentido olfativo es un complejo sistema de detección química que, en seres no acuáticos, se sitúa en la cavidad nasal. Esto implica que este sistema solo puede ser alcanzado por moléculas volátiles y, de hecho, todas las moléculas aromáticas conocidas hasta la fecha son volátiles. Lo contrario solo es cierto en parte: mientras nuestro sistema olfativo puede detectar casi todas las moléculas volátiles que producen cierto olor, solo algunas de ellas pueden detectarse a los bajos niveles en los que están presentes en la fase vapor que emana de los alimentos u otros objetos. Muchas moléculas volátiles carecen de propiedades aromáticas relevantes y solo pueden percibirse cuando están presentes a altos niveles en la fase vapor que alcanza nuestra cavidad nasal. Esto puede suceder solo cuando la molécula está en su estado químico puro y nunca sucederá a los niveles en que la

molécula se encuentra generalmente en los productos alimenticios normales. Por ejemplo, el metanol se detectará solo cuando esté presente a niveles tan altos como 100 mg/L de aire inhalado (Comettomuniz & Cain, 1994), lo que implica que el metanol se puede detectar solo cuando hay al menos una molécula de metanol por cada 12 moléculas inhaladas (8% de concentración absoluta). Justo en el otro lado de la sensibilidad, las moléculas como el disulfuro de bis-2 furfurilo o el 1-metoxi-3-metil-3-butanotiol (Guth & Grosch, 1991) se pueden percibir en concentraciones en el aire tan bajas como 0,1 ng/m³: es decir, las diferencias en las sensibilidades están muy por encima de los 10 órdenes de magnitud.

Las moléculas volátiles pueden alcanzar los receptores olfativos (RO) a través del aire inhalado por la nariz (ortonasal) para provocar lo que se conoce como olor, o por vía retranasal, donde la percepción se integra con la percepción del gusto y genera el sabor/flavor del producto. Así que, solo se percibirán aquellas moléculas de aroma que estén presentes en el producto en concentraciones lo suficientemente altas como para pasar a la fase vapor emanada del producto a niveles superiores al umbral de olor en aire.

Los umbrales en aire están relacionados con la capacidad real del odorante para impactar los RO, pero no están relacionados con la importancia del compuesto de aroma en un producto dado. Esto se debe a que algunos odorantes están tan fuertemente retenidos o disueltos en la matriz del producto que solo se liberan al espacio de cabeza de una manera muy limitada. Esta es la razón por la que los umbrales en agua son más útiles para predecir la importancia potencial de un compuesto aromático dado en un producto acuoso. En el agua, algunos compuestos hidrofílicos, como la vainillina, están muy bien disueltos y, por lo tanto, se liberan tan pobremente al aire que, aunque seamos muy sensibles a ellos (el umbral en aire es muy bajo), se requiere una gran concentración para obtener una clara señal de olor (el umbral en agua es muy alto) (Van Gemert, 2003).

Los umbrales son valores simples y su recopilación es relativamente fácil. Esta es la razón por la que estos valores son casi los únicos parámetros que definen el comportamiento de un odorante determinado y que se encuentran tabulados y se emplean de manera habitual, junto con la descripción del olor del producto químico. Muchos investigadores confían entonces en el cociente entre la concentración de un compuesto en un producto dado y el umbral de ese compuesto en una matriz similar a la del producto. Este parámetro se conoce como valor de actividad de olor (OAV) o valor de aroma (Grosch, 1993). Sin embargo, el umbral y, por lo tanto, el OAV son solo una primera y grosera aproximación a la hora de medir la importancia sensorial de un compuesto de aroma presente en un producto. Como primera aproximación, podemos decir que es necesario estar en una concentración por encima del umbral ($OAV > 1$) para que sea importante, pero no es suficiente, particularmente en productos complejos. También podemos decir que todos los compuestos aromáticos presentes en un producto en una concentración de un orden de magnitud por debajo del umbral ($OAV < 0,1$) son irrelevantes para el aroma de ese producto.

4. Limitaciones de los OAV

Muchos investigadores, incluidos nuestro grupo de investigación, han abusado en el pasado del concepto del OAV. Un OAV es una evaluación preliminar simple de la importancia de un odorante en un producto dado, pero no es un indicador fiable o definitivo de la importancia real del odorante en el producto. Hay al menos cuatro razones principales para esto:

1. Los umbrales son valores con una incertidumbre relativamente alta.
2. Los OAV no están estrictamente relacionados con las intensidades aromáticas.
3. Los OAV no tienen en cuenta la presencia de otras sustancias aromáticas.

4. Los OAV no tienen en cuenta la posible interacción físico-química con los elementos de la matriz.

La imprecisión en la medición de los OAV proviene principalmente de la imprecisión en la determinación de los umbrales. Ésta deriva, a su vez, primero, de las diferencias en la sensibilidad entre los individuos. En base a los datos encontrados en la literatura, se puede estimar que, en el caso más frecuente, las diferencias en las sensibilidades para un odorante entre el 16,7% de la población más sensible y el 16,7% de los individuos menos sensibles, se encuentra alrededor de un factor 16 (Punter, 1983). Para algunos compuestos particulares, tal rango de variación puede ser muy superior a 2 órdenes de magnitud. Además, para algunos odorantes, una fracción de la población puede ser anósmica, con una sensibilidad mucho menor. En la Figura INTRO.1 se muestran ejemplos de diferentes distribuciones de umbrales.

Cabe destacar que una de las principales contribuciones a dicha variabilidad es la fluctuación del umbral de cualquier individuo a lo largo del tiempo, que puede ser tan alta como la que existe entre individuos (Stevens & Cain, 1988). Algunas otras fuentes de imprecisión están relacionadas con la dificultad de preparar disoluciones calibradas y estables de algunos compuestos extremadamente volátiles o inestables, como el sulfuro de dimetilo o el sulfuro de hidrógeno. En algunos otros casos, es la pureza de los productos químicos lo que puede afectar seriamente al umbral. Por esta razón, muchos trabajos evalúan estos umbrales mediante GC-O (Pybus, Sell, & Chemistry, 1999).

En segundo lugar, es importante comprender que el parámetro que impulsa la importancia de un odorante en una mezcla dada no es su OAV sino su intensidad de olor y que los OAV no pueden predecir directamente las intensidades de olor. La relación entre

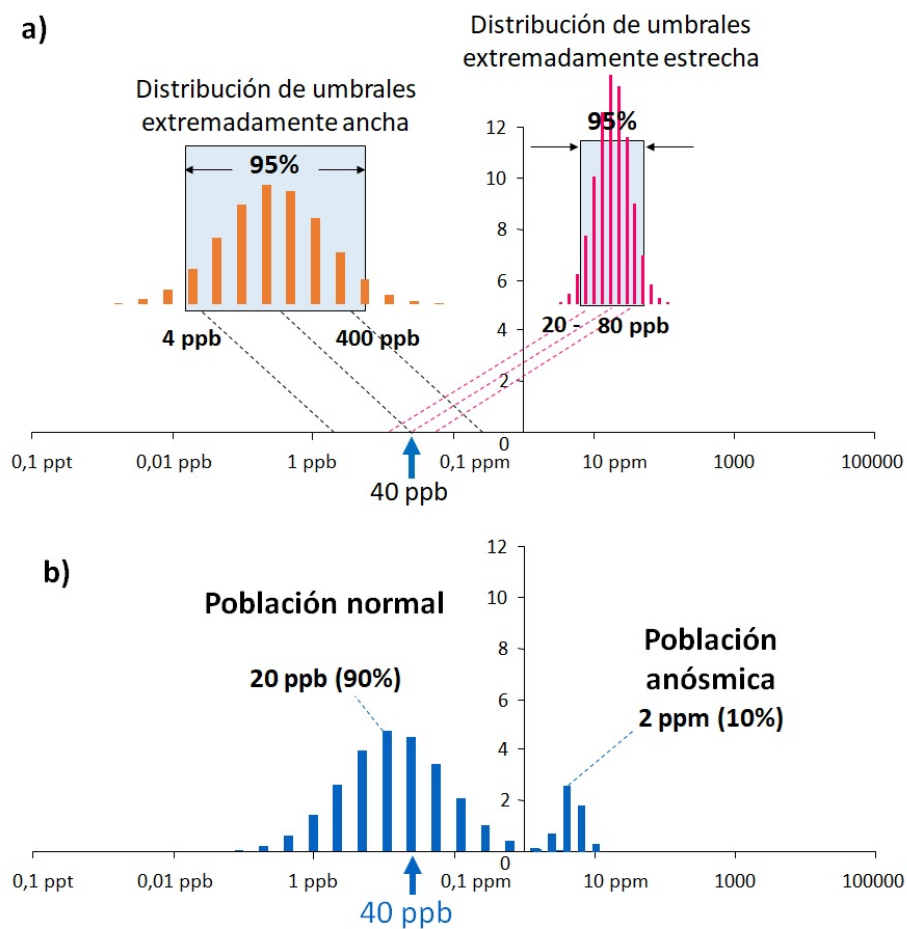


Figura INTRO.1. a) Dos distribuciones extremadamente diferentes de umbrales de olor individuales entre personas para odorantes con el mismo umbral medio (40 $\mu\text{g/L}$). En el mejor de los casos, las sensibilidades para el 95% de la población central difieren solo en un factor 4. En el peor de los casos, las diferencias son de dos órdenes de magnitud, b) Se encuentra una distribución diferente de los umbrales en el caso de que una fracción de la población sea anósmica al odorante. En el ejemplo, los individuos anósmicos son en promedio 100 veces menos sensibles al odorante.

la intensidad de un olor y su concentración (típicamente en escala logarítmica) es una característica de cada odorante y se conoce por su curva psicofísica. Algunas de estas gráficas están representadas en la Figura INTRO.2 para diferentes odorantes (Ferreira, Pet'ka, Aznar, & Cacho, 2003). Todas las gráficas tienen una estructura sigmoidea común y se pueden dividir aproximadamente en tres regiones: el área del umbral, el área lineal $I/\log C$ y el área de saturación. La parte más importante de la gráfica es la primera mitad

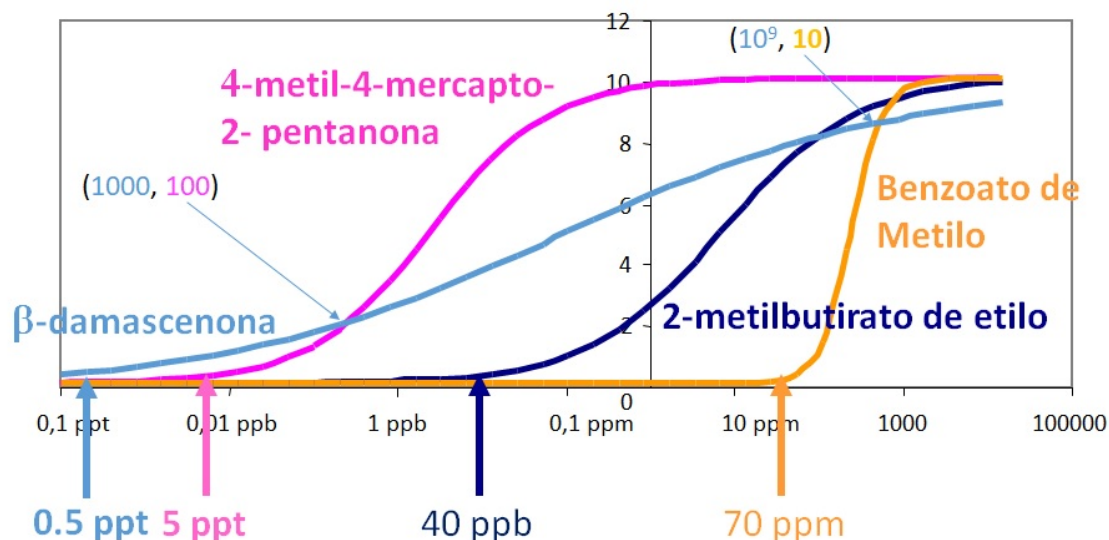


Figura INTRO.2. Gráficas que representan log C frente intensidad de olor para cuatro odorantes diferentes: β -damascenona (β -DM), 4-metil-4-mercapto-2-pentanona (4M4M2P), 2-metilbutirato de etilo (E2MB) y benzoato de metilo (MBz). Las gráficas difieren no solo en la posición del umbral, sino también en la inclinación de las curvas. En casos normales (4M4M2P y E2MB) la saturación se alcanza después de 4 órdenes de magnitud. β -DM y MBz representan casos extremos. También se puede observar que los puntos de isointensidad del olor pueden tener OAV muy diferentes (en la gráfica para el punto $I = 50\%$) que está representada con mayor frecuencia por una ley potente, conocida como la ley de Steven en la ecuación 1 (Stevens, 1957, 1961):

$$I_i = kC_i^{n_s}$$

Donde I_i es la intensidad de olor del odorante i , C_i es su concentración y k y n_s son dos coeficientes específicos para el odorante. En esta ley, C_i podría ser reemplazado por el OAV. La cuestión es que hay grandes diferencias entre las pendientes de estas gráficas entre compuestos, al estar determinadas por el exponente n_s . Este exponente (n_s) es un número positivo conocido como coeficiente de Steven, que toma valores frecuentemente entre 0,2 y 0,7, y que determina finalmente cuál es la intensidad del olor asociada a un OAV determinado. Se puede demostrar que un odorante con $OAV = 10$ y $n_s = 0,2$, tendrá 3,3 veces menos intensidad de olor que un segundo odorante con el mismo OAV y $n_s = 0,7$.

Para un OAV de 100, las diferencias de intensidad entre ambos compuestos estarán por encima de un factor 10. Lo contrario también es cierto, si ambos odorantes están presentes en el producto a la misma intensidad de olor, el OAV del odorante con $n_s = 0,2$ será mucho más alto que el OAV para el odorante con $n_s = 0,7$.

Las razones tercera y cuarta afectan no solo a los OAV, sino también a las intensidades de olor. La tercera razón tiene que ver con el hecho de que las propiedades de olor de los odorantes en aislamiento a veces son pobres predictoras del papel real del odorante en mezclas de olores complejas. Por ejemplo, algunos odorantes a bajas intensidades (u OAVs) pueden ejercer un efecto más importante en el aroma global, como se demostró para 4-metil-4-mercapto-2-pentanona (4M4M2P) en vinos blancos (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004), mientras que, por el contrario, se pueden añadir odorantes a intensidades de olor relativamente altas, como los ésteres etílicos, a mezclas de vino con efectos sensoriales nulos o muy bajos (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007). Estos efectos no son fáciles de predecir, pero están relacionados con la existencia de interacciones perceptuales entre los odorantes. En el primer caso, se puede decir que el carácter verde del aroma de 4M4M2P es necesario para que la mezcla de fruta dulce de los ésteres y alcoholes adquiriera un carácter de fruta fresca. La presencia de cantidades tan pequeñas como 1 ng/L (1 ppt) de 4M4M2P con un OAV de solo 1,2 hace que el aroma global se identifique más claramente como fruta real, lo que aumenta la intensidad de percepción de la mezcla (Mateo-Vivaracho, Zapata, Cacho, & Ferreira, 2010). Es decir, el carácter verde-fresco de la 4M4M2P “completa” las características de aroma de la mezcla para que se identifiquen más claramente como un “objeto de olor” específico. Para una discusión más detallada sobre los objetos de olor, consulte las referencias (Ferreira, 2012b; Gottfried, 2010; Yeshurun & Sobel, 2010). El efecto opuesto, es decir, la incapacidad de los ésteres etílicos frutales para ser percibidos en una mezcla de

aroma similar al vino, se atribuyó al “efecto de amortiguación del aroma” causado por el etanol y otros volátiles principales del vino (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004), como algunos alcoholes (propanol, isobutanol, butanol, y 2- y 3-metilbutanol). Estos compuestos se han identificado como fuertes supresores del aroma frutal (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015).

Finalmente, también se debe señalar que algunos odorantes pueden estar implicados en fuertes interacciones físico-químicas con los componentes de la matriz. Si esos componentes de la matriz no están presentes en el modelo para determinar los umbrales, y la mayoría de las veces nunca lo están, los umbrales se subestimarán y los OAV se sobreestimarán. Estas interacciones son particularmente intensas para el caso de odorantes que pueden formar complejos estables con diferentes componentes del vino. Los ejemplos más notables son los mercaptanos y los aldehídos y las dicetonas vecinales. Los primeros forman complejos fuertes con cationes metálicos (Cu^{2+} , Cu^+ , Fe^{2+} y, en menor medida, Zn^{2+}) (Franco-Luesma & Ferreira, 2014) y los últimos con dióxido de azufre (Bueno, Zapata, & Ferreira, 2014). Se han medido recientemente sus efectos en las concentraciones del espacio de cabeza, y por lo tanto en las propiedades aromáticas (Wen, Lopez, & Ferreira, 2018).

5. ¿Se puede explicar el aroma del vino a partir de su composición química?

La revisión de la literatura y su discusión en los apartados anteriores sugieren que ésta es una pregunta muy oportuna. Algunos autores simplemente no tienen en cuenta todas las consideraciones previas y tienden a simplificar demasiado. Otros, por el contrario, apuntan a la existencia de una red tan compleja de interacciones entre los compuestos de aroma que da la impresión de que entender la base química del aroma de vino es simplemente una ilusión.

Con respecto a la primera observación, a menudo los investigadores intentan deducir las propiedades sensoriales aromáticas de los vinos a partir de un set bastante limitado de datos cuantitativos de algunos compuestos aromáticos. Un primer problema es que los componentes del aroma que se cuantifican son, en la mayor parte de los casos, los que son más accesibles desde el punto de vista analítico, y no necesariamente los que tienen mayor relevancia en las propiedades sensoriales específicas del vino seleccionado. De manera que, los compuestos aromáticos del vino se pueden clasificar en función de su facilidad de ser analizados (Cullere, Lopez, & Ferreira, 2019) y la lista de compuestos de aroma que se puede determinar siguiendo los procedimientos estándar de GC o GC-MS incluye hasta 47 de los 76 principales aromas impacto que constituyen el vino. Desafortunadamente, los compuestos más importantes y que presentan mayor implicación en la formación del aroma de muchos tipos de vinos, como compuestos volátiles de azufre (VSC), mercaptanos polifuncionales, alquilmetoxipirazinas, rotundona, aldehídos de Strecker, furaneol y algunos otros compuestos polares u odorantes extremadamente diluídos, requieren estrategias analíticas específicas. Como se discutirá más adelante, se puede estimar que solo la mitad de compuestos requeridos para comprender las propiedades sensoriales de cualquier vino (no contaminado) se pueden determinar mediante procedimientos estándar de GC o GC-MS. Esto puede ser suficiente en algunos casos, pero, aun así, deberán procesarse primero los datos cuantitativos individuales teniendo en cuenta el concepto o vector de aroma, que se presentará en la siguiente sección. Lo que no se debe hacer es deducir las propiedades frutales o florales de un vino midiendo solo un componente secundario de cualquiera de esos vectores.

Con respecto a la segunda observación, algunos investigadores, incluyéndonos a nosotros mismos, hemos intentado en algún momento evaluar los efectos sensoriales de algunos odorantes o grupos de odorantes estimando sus efectos en los valores umbrales de

una mezcla (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015; Cullere, Cacho, & Ferreira, 2007; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013). Algunos de estos resultados sugieren que algunos compuestos presentes en el vino a niveles inferiores al umbral pueden ejercer un impacto significativo en las propiedades sensoriales del vino, dando la impresión de que es casi imposible adquirir una comprensión completa de las propiedades del aroma del vino. La verdad es que las propiedades sensoriales a niveles umbrales no se pueden usar para estimar las propiedades sensoriales a niveles supra-umbrales, donde el grado de cooperación o aditividad entre los odorantes es mucho menor (Ferreira, 2012a). Esto no significa que, eventualmente, algunos odorantes presentes en niveles cercanos al umbral puedan desempeñar un papel importante, pero, como se mencionó anteriormente, esto seguramente ocurrirá solo si dichos olores tienen una característica de olor que falta en el resto de componentes de la mezcla y que se requiere para completar un concepto de olor.

6. La lógica interna del aroma del vino: el búfer del vino y los vectores de aroma.

Se requieren dos elementos principalmente para comprender la relación entre los espacios químico y sensorial del aroma del vino: el búfer de aroma y los vectores de aroma. El búfer de aroma se refiere a las propiedades sensoriales específicas del grupo de moléculas de aroma derivadas de la fermentación alcohólica. Dicho búfer es común en todas las bebidas fermentadas naturalmente, como el vino, el vino de frutas, la cerveza o la sidra. El nombre de búfer proviene del hecho de que esta mezcla tiene un poder de supresión notable sobre muchas notas sensoriales (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007; Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004). Los vectores de aroma, por su parte, se refieren a las propiedades sensoriales vinculadas a moléculas o grupos de moléculas que pueden considerarse como las "unidades de aroma" básicas. Estos vectores

Introducción

de aroma explicarán la diversidad de notas sensoriales que pueden percibirse por encima del búfer de aroma.

6.1. El búfer de aroma

El búfer de aroma está compuesto por los 27 componentes que se encuentran en la Tabla INTRO.1. Todas esas moléculas son subproductos de fermentación característicos y muchas de ellas están presentes en niveles por encima del umbral. Forman una mezcla aromática que puede definirse como vinoso. Es ligeramente dulce y frutal, alcohólica y picante. Una mezcla de este tipo en la que cada compuesto está presente a niveles normales en vino, proporciona la firma aromática que hace que una bebida fermentada se reconozca como vino, como se demostró recientemente (Fairbairn, 2018). Seguramente, mezclas similares con sus perfiles de concentración específicos hacen también las firmas aromáticas de la cerveza y la sidra.

Tabla INTRO.1. Compuestos químicos aromáticos que integran el tampón aromático del vino.

Diversos	Alcoholes de fusel	Ácidos Orgánicos	Isoácidos	Esteres etílicos de ácidos orgánicos	Acetatos de alcoholes fusel	Esteres etílicos de isoácidos
Etanol	Isobutanol	Ácido acético	Ácido isobutírico	Acetato de etilo	Acetato de isobutilo	Isobutirato de etilo
Diacetilo	Alcohol Isoamilico	Ácido butírico	Ácido 2-metilbutírico	Butirato de etilo	Acetato de isoamilo	2-metil butirato de etilo
Acetaldehído	Hexanol	Ácido hexanoico	Ácido isovalérico	Hexanoato de etilo	Acetato de feniletilo	Isovalerato de etilo
	β -feniletanol	Ácido octanoico		Octanoato de etilo		
	Metionol	Ácido decanoico		Decanoato de etilo		

Como son subproductos metabólicos primarios o secundarios, su variabilidad no es tan grande como la observada en otros componentes del aroma del vino, derivados de la

uva, la madera u otras fuentes. A pesar de eso, existen importantes diferencias cuantitativas relacionadas con el tipo de vinificación, la variedad de uva (Ferreira, Fernandez, & Cacho, 1996) y, por supuesto, la cepa de la levadura (Swiegers, Bartowsky, Henschke, & Pretorius, 2005). La composición del búfer cambia durante el envejecimiento del vino debido a la evolución de los diferentes equilibrios de esterificación/hidrólisis. Los niveles de algunos ésteres aumentan con el tiempo, en particular los ésteres etílicos de los ácidos ramificados, mientras que los acetatos de los alcoholes de fusel/superiores prácticamente desaparecen. Los niveles de ésteres etílicos de ácidos grasos cambian en menor medida ya que durante la fermentación se producen en niveles cercanos a los del equilibrio.

Algunos componentes del búfer aromático pueden alcanzar concentraciones lo suficientemente altas como para ser percibidas específicamente, una de las razones por las que los componentes del búfer también se organizan en vectores de aroma, como se explica 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 superiores.

Las propiedades específicas que explican por qué el búfer se nombra como tal son:

1. El escaso impacto sensorial relacionado con la omisión de uno de sus componentes en las pruebas de omisión aromática (Ferreira, Ortin, Escudero, Lopez, & Cacho, 2002).
2. La capacidad de suprimir la intensidad aromática de un grupo de compuestos agregados a la mezcla (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007; Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004).

Estudios más recientes han demostrado que los efectos de supresión se pueden asociar a algunos componentes específicos del búfer. El efecto de supresión ejercido por el

etanol en las notas frutales del vino ya se describió en 2007 (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007). En dicho trabajo, los autores demostraron que la intensidad frutal de los vinos modelo que contenían una cantidad fija de ésteres frutales disminuyó considerablemente cuando se aumentó el contenido alcohólico, convirtiéndose en no perceptible a 14,5 % (v/v). Este efecto ha sido confirmado por otros autores (Goldner, Zamora, Di Leo Lira, Gianninoto, & Bandoni, 2009; Villamor, Evans, & Ross, 2013) que también encontraron una disminución en los matices de caramelo y un aumento en las notas herbáceas, químicas y a madera. No cabe duda de que una parte del efecto está relacionado con el complejo papel del etanol como disolvente. Un aumento en el nivel de etanol aumenta la solubilidad de los compuestos del aroma, disminuyendo la concentración en el espacio de cabeza en el equilibrio. Sin embargo, el etanol mejora las propiedades de transferencia de masa desde el líquido, mejorando la transferencia de compuestos volátiles en sistemas dinámicos (Ickes & Cadwallader, 2017). Dado que los sistemas dinámicos están más cerca de las condiciones de la degustación y del consumo de vino (Escudero, San-Juan, Franco-Luesma, Cacho, & Ferreira, 2014), parece razonable pensar que una gran parte de los efectos de supresión del etanol tienen un auténtico origen perceptual. El ácido acético también tiene un efecto supresor. A niveles tan bajos como 0,4 g/L, es capaz de disminuir fuertemente la intensidad de las notas florales en vinos blancos (Campo, Ferreira, Escudero, & Cacho, 2005) y la intensidad de la nota frutal en los vinos tintos (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011).

Pero los componentes más activos en el búfer parecen ser los alcoholes superiores, (isobutanol, alcohol isoamílico, β -feniletanol y metionol). Su papel no se ha abordado adecuadamente hasta el momento, a pesar del hecho de que fueron los primeros compuestos de aroma citados en el vino. Durante años, se afirmó que por debajo de 300 mg/L eran contribuyentes positivos al aroma del vino (Rapp & Versini, 1991), aunque esta afirmación

no parecía estar respaldada por resultados experimentales sólidos. Cameleyre y colaboradores (2015) demostraron recientemente que la mezcla de propanol, isobutanol, butanol y 2- y 3-metilbutanol añadidos a una disolución hidroalcohólica que contiene 13 ésteres frutales induce notas sensoriales que recuerdan a disolvente y butírico y disminuyen la intensidad de la nota frutal.

Los efectos bastante negativos del ácido acético, el alcohol y los alcoholes superiores son contrarrestados parcialmente por los efectos sorprendentemente positivos de los ácidos grasos, también componentes del búfer, que pueden potenciar las notas frutales (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Incluso los ácidos ramificados, como los ácidos isobutírico y 2- y 3-metilbutírico, a pesar de sus olores fuertes y desagradables, no suprimen las notas frutales, sino que suprimen o enmascaran específicamente los matices aromáticos de los etilfenoles (Romano, Perello, Lonvaud-Funel, Sicard, & de Revel, 2009).

El fuerte efecto de supresión causado por el búfer en muchos matices de aroma contrasta fuertemente con la facilidad con la cual algunos odorantes con descriptores frescos y verdes, como 4-metil-4-mercapto-2-pentanona (4M4M2P) o acetato de 3-mercaptohexilo (3MHA), introducen cambios en el búfer aromático (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004; Mateo-Vivaracho, Zapata, Cacho, & Ferreira, 2010). Como se mencionó anteriormente, este comportamiento variable se puede atribuir al hecho de que los descriptores frescos y verdes son parte de nuestros conceptos y objetos frutales. Estas observaciones son cruciales para comprender el concepto de vector de aroma y la importancia de los objetos de aroma en el estudio de las interacciones perceptuales entre vectores.

6.2. Vectores de aroma

Un vector de aroma es una unidad perceptual constituida por una o varias moléculas con descriptores de aroma similares, que juntas y de manera integrada, son responsables de un set específico de características sensoriales de un tipo de productos; el vino en nuestro caso.

Todos los vectores de aroma, cuando están presentes en sus niveles máximos de aparición, comunican al producto un conjunto de características de aroma bien definidas. Dejando a un lado algunos vectores dentro del búfer aromático, tales grupos de características de aroma en general permiten la identificación del olor específico del vector.

Los vectores de aroma son herramientas conceptuales y prácticas que se van a emplear para simplificar el estudio del aroma, ya que permitirán reducir en gran medida las dimensiones del espacio químico, facilitando su correlación con el espacio sensorial, como se describe en la Figura INTRO.3. En el caso del aroma de vino tinto, el espacio químico está formado por al menos las 75 moléculas de aroma diferentes que pueden estar presentes en este tipo de muestras a niveles por encima del umbral. Este número se puede simplificar a alrededor de 25 vectores de aroma para interpretar el espacio sensorial completo de todos los vinos tintos, y para subgrupos de muestras más reducidos podría reducirse a menos de 15 vectores de aroma, lo que parece ser un gran, aunque razonable, conjunto de variables para la modelización matemática.

La identificación y caracterización de los vectores de aroma es una tarea que hasta la fecha no se ha sistematizado adecuadamente. En el pasado, algunos autores, incluidos nosotros mismos, hemos hecho un uso intuitivo de esta idea. Por ejemplo, en uno de nuestros primeros trabajos de modelización, las notas frutales de vinos jóvenes españoles

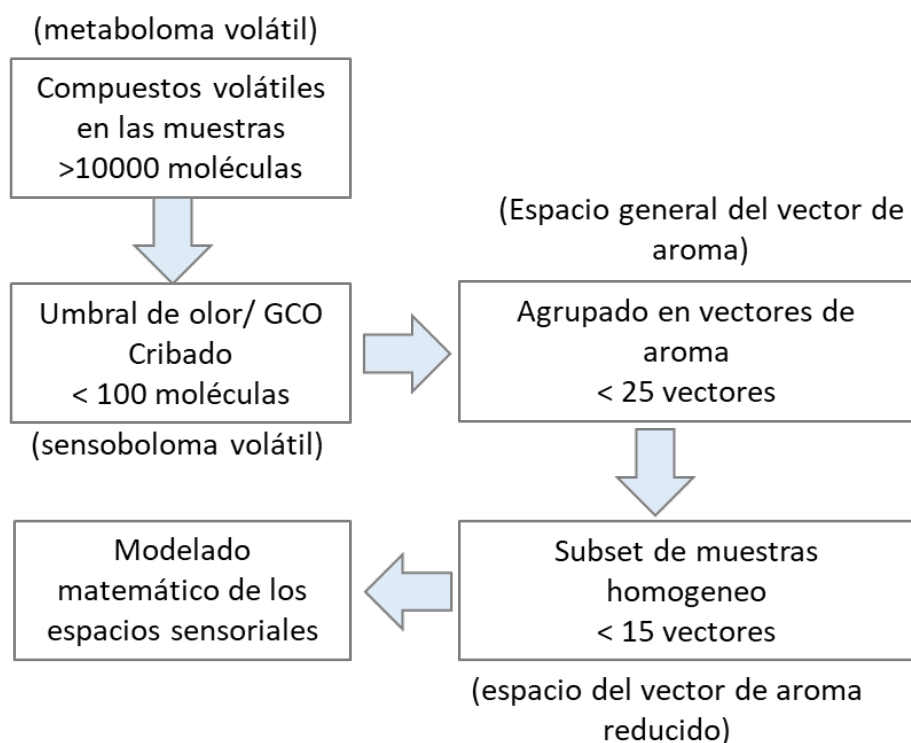


Figura INTRO.3. Esquema que muestra la reducción del espacio químico para facilitar la modelización matemática del espacio sensorial

se modelaron parcialmente mediante el uso de vectores de aroma constituidos por la suma directa de las concentraciones de diferentes tipos de ésteres (ésteres etílicos de ácidos grasos y acetatos de alcoholes fusel) (Ferreira, Fernandez, Pena, Escudero, & Cacho, 1995). En 2003, algunos grupos de odorantes de vino se integraron en vectores definidos como la suma de OAVs (Aznar, Lopez, Cacho, & Ferreira, 2003). Una estrategia similar también se utilizó en 2011 para construir un modelo PLS que explicaba las notas frutales de los vinos tintos (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Sin embargo, retrospectivamente, la integración de los compuestos aromáticos en los vectores fue bastante arbitraria, ya que hubo algunos vectores que mostraban matices de aroma demasiado próximos (por ejemplo, ésteres etílicos ramificados minoritarios y ésteres etílicos mayoritarios) y algunos otros que incluyen matices aromáticos demasiado dispersos (por ejemplo, extraíbles de madera).

7. Interacción entre los vectores de aroma y la percepción general del aroma

Si pensamos en la existencia de un número de vectores de aroma amplio en un vino dado, es plausible inferir el resultado sensorial más probable utilizando las pocas reglas generales comúnmente aceptadas sobre las interacciones sensoriales y derivando algunos patrones adicionales de todas las observaciones hechas a lo largo de los años.

El proceso tal como lo entendemos hoy está esquematizado en la Figura INTRO.4.

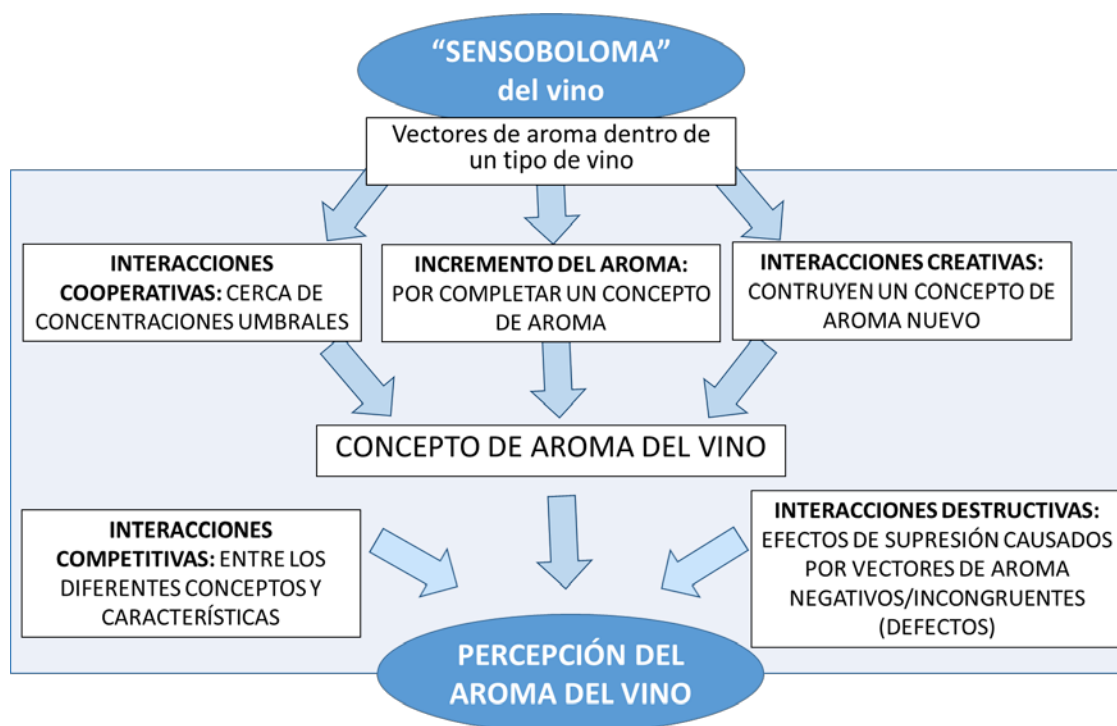


Figura INTRO.4. Esquema que muestra las posibles interacciones perceptuales entre los vectores de aroma presentes en el vino para producir la percepción final del aroma del vino. Para aclarar y con fines de modelización, el proceso de integración se ha dividido en dos etapas: transformación de vectores de aroma positivos en conceptos de aroma y efectos de supresión causados por defectos.

Los vectores de aroma iniciales sufren un proceso de integración de aroma bastante intenso en el que se pueden identificar tres resultados diferentes:

1. Integración del aroma. Si la muestra contiene vectores de aroma a muy baja intensidad, cerca del umbral, pertenecientes a las mismas categorías de olor o relacionadas, entonces existe la posibilidad de que esos vectores de aroma estén integrados dentro de un vector de aroma más fuerte que muestre un atributo sensorial común (interacciones cooperativas). Este tipo de integración se ha observado en vinos blancos neutros que contienen niveles muy bajos de terpenoles, cinamatos, γ -lactonas y vainillinas, que en conjunto son responsables de las notas de flores dulces (Loscos, Hernandez-Orte, Cacho, & Ferreira, 2007).

2. Potenciación del aroma. Los efectos de potenciación del aroma tienen lugar cuando un vector de aroma presente en niveles bajos produce un aumento importante en la intensidad de un descriptor de olor relacionado con otro vector de aroma presente en la mezcla. Los efectos de pequeñas cantidades de 4M4MP y 3MHA en las notas de frutas de baya en el vino (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004; Mateo-Vivaracho, Zapata, Cacho, & Ferreira, 2010), o de DMS en notas frutales de vino tinto (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007; Lytra, Tempere, de Revel, & Barbe, 2014; Segurel, Razungles, Riou, Salles, & Baumes, 2004) son buenos ejemplos de este comportamiento. Como se mencionó anteriormente, esta potenciación parece tener lugar cada vez que el vector de aroma débil agrega una característica que completa un concepto de aroma.

3. Creación de nuevos conceptos de aroma (interacciones creativas). Esto sucede cuando la mezcla de olores contiene, dentro de sus constituyentes, una serie de vectores de aroma con relaciones de intensidad específicas capaces de desencadenar lo que se conoce como un “proceso de reconocimiento de configuración” que termina con el reconocimiento de un objeto de olor diferente, es decir, cuando un grupo de vectores de aroma presentes en el vino se identifican como un objeto de olor diferente. Esta es la razón por la que algunos

vectores de aroma dentro del búfer de aroma, tales como los ácidos grasos o los ácidos ramificados, incluso cuando están presentes en intensidades relativamente altas nunca se identifican como tales: interactúan fuertemente con diferentes vectores frutales para formar diferentes conceptos frutales (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Otro ejemplo interesante es la interacción entre metional, β -damascenona y otros vectores frutales para formar notas de pasas (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011).

El resultado de este proceso de integración del aroma, transforma los vectores de aroma iniciales en un conjunto de conceptos de aroma presentes en el vino. Este conjunto incluye algunos vectores de aroma originales que no han sido afectados por el proceso de integración, y esos nuevos vectores conformados en el proceso de interacción.

De manera que, el resultado más frecuente será un tipo de mezcla en la que los diferentes descriptores de los diferentes conceptos de aroma se detectarán con una mayor probabilidad cuanto mayor sea la intensidad del concepto de aroma (Ferreira, 2012b). Estos conceptos de aroma no interactúan adecuadamente entre ellos; simplemente están compitiendo y nuestras narices simplemente están escogiendo a uno de ellos siguiendo un juego de probabilidades. Un aumento en la intensidad de uno de ellos, solo representa un aumento en su detectabilidad y una disminución concomitante en las detectabilidades de los otros vectores presentes en la muestra. La interacción entre el vector de olor floral (representado por una mezcla de linalool/fenilacetato de etilo) y el vector de olor tropical de 3MHA representa un buen ejemplo de este patrón (Campo, Ferreira, Escudero, & Cacho, 2005). Esto solo corresponde a la teoría del predominio de los olores derivados del estudio de mezclas binarias, así como de mezclas más complejas (Ferreira, 2012b).

Pero aun así, puede tener lugar un poderoso proceso de **interacción destructiva**. Siempre que la mezcla contenga un vector de aroma clasificado como “defecto”, en la

mayoría de los casos habrá una fuerte supresión de las intensidades de olor de todos los vectores de aroma (y conceptos) presentes, incluso cuando el defecto esté en niveles no suficientes para su identificación. Esto es bien conocido en el caso del 2,4,6-tricloroanisol, que es un potente supresor de señales olfativas (Takeuchi, Kato, & Kurahashi, 2013) incluso en concentraciones infra-umbral (Ferreira, San Juan, Escudero, Cullere, Fernandez-Zurbano, Saenz-Navajas, et al., 2009; Tempere, Schaaper, Cuzange, de Revel, & Sicard, 2017), pero se han observado patrones de comportamiento similares para los casos de ácido acético (Campo, Ferreira, Escudero, & Cacho, 2005), metoxipirazinas (Campo, Ferreira, Escudero, & Cacho, 2005) y etilfenoles (Aznar, Lopez, Cacho, & Ferreira, 2003; Ferreira, et al., 2009; Tempere, Schaaper, Cuzange, de Lescar, de Revel, & Sicard, 2016). Curiosamente, a veces el defecto puede potenciar un segundo defecto congruente presente en la muestra para formar un aroma defectuoso más fuerte: los azufrados volátiles H₂S y MeSH integran sus señales en un complejo olor denominado “reductor” (Franco-Luesma, Saenz-Navajas, Valentin, Ballester, Rodrigues, & Ferreira, 2016).

Los efectos de supresión ejercidos por los vectores de aroma negativos (o incongruentes) parecen ser una verdad general de la percepción del olor, y en todos los modelos en los que se relacionan las notas frutales positivas o la calidad con la concentración de odorantes (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Aznar, Lopez, Cacho, & Ferreira, 2003; Campo, Ferreira, Escudero, & Cacho, 2005; Ferreira, 2012b; Ferreira, et al., 2009; San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011; San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). En estos modelos, los “defectos” sistemáticos aparecen como contribuyentes negativos, independientemente del hecho de que en la mayoría de los casos se encontraban en concentraciones por debajo del umbral. El modelo de calidad de los vinos tintos españoles a partir de datos olfatométricos representa un buen ejemplo (Ferreira, et al., 2009).

8. Observaciones finales

En general, parece que modelar la percepción del aroma del vino no está tan lejos. Es cierto que aún existen algunos desafíos notables, en particular los derivados del esfuerzo analítico excesivo que se requiere hoy para recopilar información de todos los vectores de aroma relevantes presentes en un vino. También es cierto que la “teoría” aquí esbozada se encuentra en estado germinal y requiere pruebas exhaustivas y una definición mucho más clara de sus diferentes componentes conceptuales. Pero, sin embargo, también está claro que existen razones sólidas para pedir a los investigadores algo más que tratar de predecir las propiedades del aroma del vino a partir de los descriptores sensoriales de los odorantes secundarios.

9. Referencias

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, 30(3), 209-217.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 476-482.

Auvray, M., & Spence, C. (2008). The multisensory perception of flavor. *Consciousness and Cognition*, 17(3), 1016-1031.

Aznar, M., Lopez, 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.

Boesveldt, S., & de Graaf, K. (2017). The differential role of smell and taste for eating behavior. *Perception*, 46(3-4), 307-319.

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.

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.

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.

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.

Comettomuniz, J. E., & Cain, W. S. (1994). Perception of odor and nasal pungency from homologous series of volatile organic-compounds. *Indoor Air-International Journal of Indoor Air Quality and Climate*, 4(3), 140-145.

Cullere, 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.

Cullere, L., Lopez, R., & Ferreira, V. (2019). The instrumental analysis of aroma active compounds for explaining the flavor of red wines. In A. Morata (Ed.), *Red wine technology*, vol. 2): Academic Press.

Escudero, A., Campo, E., Farina, 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.

Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortin, 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.

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.

Fairbairn, S. C. (2018). *Defining the chemical features of wine perception*. Stellenbosch University, South Africa.

Ferreira, V. (2012a). 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.

Ferreira, V. (2012b). Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: a flavour chemistry view. Part 2: qualitative aspects. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(3), 201-215.

Ferreira, V., Fernandez, 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., Fernandez, P., Pena, C., Escudero, A., & Cacho, J. F. (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.

Ferreira, V., Ortin, N., Escudero, A., Lopez, 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.

Ferreira, V., Pet'ka, J., Aznar, M., & Cacho, J. (2003). Quantitative gas chromatography-olfactometry. Analytical characteristics of a panel of judges using a simple quantitative scale as gas chromatography detector. *Journal of Chromatography A*, 1002(1-2), 169-178.

Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Cullere, L., Fernandez-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.

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.

Franco-Luesma, E., Saenz-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.

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.

Gottfried, J. A. (2009). Function follows form: ecological constraints on odor codes and olfactory percepts. *Current Opinion in Neurobiology*, 19(4), 422-429.

Gottfried, J. A. (2010). Central mechanisms of odour object perception. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(9), 628-641.

Green, B. G. (2012). Chemesthesis and the chemical senses as components of a "Chemofensor Complex". *Chemical Senses*, 37(3), 201-206.

Grosch, W. (1993). Detection of potent odorants in foods by aroma extract dilution analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 4(3), 68-73.

Guth, H., & Grosch, W. (1991). A comparative study of the potent odorants of different virgin olive oils. *Fat Sci. Technol*, 93, 335-339.

Howard, J. D., Gottfried, J. A., Tobler, P. N., & Kahnt, T. (2015). Identity-specific coding of future rewards in the human orbitofrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(16), 5195-5200.

Ickes, C. M., & Cadwallader, K. R. (2017). Effects of ethanol on flavor perception in alcoholic beverages. *Chemosensory Perception*, *10*(4), 119-134.

Jover, A. J. V., Montes, F. J. L., & Fuentes, M. D. F. (2004). Measuring perceptions of quality in food products: the case of red wine. *Food Quality and Preference*, *15*(5), 453-469.

Loscos, N., Hernandez-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.

Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2014). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-methylbutanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *62*(22), 5005-5010.

Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(36), 8504-8513.

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.

Morrot, G., Brochet, F., & Dubourdieu, D. (2001). The color of odors. *Brain Lang*, *79*(2), 309-320.

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.

Piqueras-Fiszman, B., & Spence, C. (2015). Sensory expectations based on product-extrinsic food cues: An interdisciplinary review of the empirical evidence and theoretical accounts. *Food Quality and Preference*, *40*, 165-179.

Punter, P. H. (1983). Measurement of human olfactory threshold for several groups of structurally related compounds. *Chemical Senses*, *7*(3/4), 215-235.

Pybus, D. H., Sell, C. S., & Chemistry, R. S. o. (1999). *The Chemistry of Fragrances*: Royal Society of Chemistry.

Rapp, A., & Versini, G. (1991). *Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines*. Davis: American Society Enology & Viticulture.

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.

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*, *48*, 216-227.

- 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.
- 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.
- 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.
- Small, D. M., & Prescott, J. (2005). Odor/taste integration and the perception of flavor. *Experimental Brain Research*, 166(3), 345-357.
- Spence, C. (2015). Multisensory flavor perception. *Cell*, 161(1), 24-35.
- Spence, C., & Wang, Q. J. (2018). What does the term 'complexity' mean in the world of wine? *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 14, 45-54.
- Stevens, J. C., & Cain, W. S. (1988). Variability of olfactory thresholds. *Chemical Senses*, 13(4), 643-653.
- Stevens, S. S. (1957). On the psychophysical law. *Psychological Review*, 64(3), 153-181.
- Stevens, S. S. (1961). To honor Fechner and repeal his law- A power function, not a LOG function, describes operating characteristics of a sensory system. *Science*, 133(344), 80-86.
- 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.
- Takeuchi, H., Kato, H., & Kurahashi, T. (2013). 2,4,6-Trichloroanisole is a potent suppressor of olfactory signal transduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(40), 16235-16240.
- Tempere, S., Schaaper, M. H., Cuzange, E., de Lescar, R., de Revel, G., & Sicard, G. (2016). The olfactory masking effect of ethylphenols: Characterization and elucidation of its origin. *Food Quality and Preference*, 50, 135-144.
- Tempere, S., Schaaper, M. H., Cuzange, E., de Revel, G., & Sicard, G. (2017). Masking of several olfactory notes by infra-threshold concentrations of 2,4,6-trichloroanisole. *Chemosensory Perception*, 10(3), 69-80.
- Van Gemert, L. (2003). *Compilations of odour threshold values in air, water and other media*. Utrecht, The Netherlands: Oliemans Punter & Partners BV.

Veale, R., & Quester, P. (2009). Do consumer expectations match experience? Predicting the influence of price and country of origin on perceptions of product quality. *International Business Review*, 18(2), 134-144.

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.

Wen, Y., Lopez, R., & Ferreira, V. (2018). An automated gas chromatographic-mass spectrometric method for the quantitative analysis of the odor-active molecules present in the vapors emanated from wine. *Journal of Chromatography A*.

Yeshurun, Y., & Sobel, N. (2010). Multisensory integration: an inner tongue puts an outer nose in context. *Nature Neuroscience*, 13(2), 148-149.



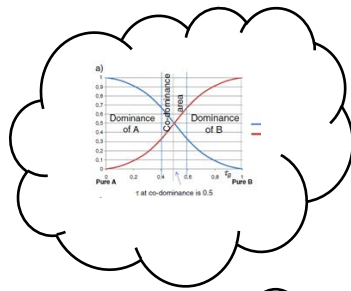
Objetivos

OBJETIVOS

El **objetivo general** de esta tesis es comprender como algunos de los principales vectores del aroma del vino interactúan entre ellos para formar los matices generales del aroma del vino, con el último propósito de desarrollar conceptos de interés general para hacer frente a la interpretación de mezclas de aroma complejas.

Los **objetivos específicos** son:

1. Investigar el espacio sensorial asociado a las interacciones perceptuales entre los seis vectores aromáticos más comunes en el vino.
2. Investigar los efectos de supresión asociados a los alcoholes superiores.
3. Investigar si los 14 ésteres etílicos encontrados de manera natural en el vino tinto pueden ser representados adecuadamente por mezclas simples sin alterar el aroma del vino.
4. Investigar las consecuencias cualitativas y cuantitativas de la interacción entre el vector de ésteres etílicos y los tres vectores diferentes unidos a los extraíbles de la madera.
5. Evaluar el efecto de las interacciones cruzadas de los vectores de aroma con el amargor y la astringencia de los vinos tintos.



Sección I:

Interacciones sensoriales entre seis vectores de aroma capaces de explicar cuatro atributos de aroma en vinos tintos

SECCIÓN I.

Interacciones sensoriales entre seis vectores de aroma capaces de explicar cuatro atributos de aroma en vinos tintos

1. Introducción

Uno de los principales desafíos de la investigación de los aromas de hoy en día es comprender las razones que determinan las características cualitativas y cuantitativas de la percepción sensorial provocada por mezclas complejas de odorantes. Como analizaron Francis y Newton (2005), el aroma del vino no es solo la suma de los componentes individuales, sino el resultado de complejas interacciones entre un gran número de compuestos químicos. Los odorantes pueden interactuar, mostrando efectos aditivos o competitivos, que pueden convertirse incluso en efectos sinérgicos o antagónicos (Ferreira, 2012a). Las interacciones que influyen en las propiedades del aroma del vino han sido objeto de las investigaciones sobre el vino y la psicofísica durante décadas, aunque la mayoría de esos estudios se han centrado en las interacciones del aroma en mezclas relativamente simples (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004; Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015).

Selfridge y Amerine (1978) estudiaron los efectos del enmascaramiento, la adición y el sinergismo en un vino artificial que contenía acetato de etilo y diacetilo en varias proporciones y concentraciones. Observaron que incluso cuando los compuestos estaban en concentraciones por debajo de su umbral de detección en el vino, se podía percibir un olor como resultado de la sinergia perceptual. Más específicamente, varios trabajos han

resaltado la existencia de interacciones perceptuales entre las notas a madera y las frutales en vino (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004), probando que las notas a madera tienden a dominar sobre las notas frutales en mezclas binarias que contienen niveles sub-umbrales y cercanos al umbral de los odorantes de la madera. El etanol puede cambiar algunos de estos efectos y ser enmascarado (Le Berre, Beno, Ishii, Chabanet, Etievant, & Thomas-Danguin, 2008).

Otros investigadores centraron sus estudios en los ésteres frutales de los vinos tintos, desarrollando experimentos de adición y omisión en vinos sintéticos (el conjunto de ésteres). Estos autores sugirieron que los ésteres ramificados están relacionados con los aromas a bayas negras, mientras que los ésteres lineales pueden estar vinculados con los aromas a bayas rojas (Pineau, Barbe, Van Leeuwen, & Dubourdieu, 2009). También han demostrado que el aroma frutal puede ser incrementado por el 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo y podría enmascararse con una mezcla de cuatro compuestos de fermentación (Lytra, Tempere, de Revel, & Barbe, 2012b) y que los ésteres a niveles sub-umbrales pueden aumentar el carácter frutal del conjunto de ésteres (Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013). En un estudio más reciente han demostrado que el olor a grosella negra puede ser producido por la interacción entre el dimetilsulfuro (DMS) y la mezcla de ésteres (Lytra, Tempere, Zhang, Marchand, de Revel, & Barbe, 2014). Otro trabajo importante ha subrayado el efecto de supresión ejercido por los compuestos relacionados con la oxidación en el carácter a fruta fresca generado por el 3-mercapto-1-hexanol (Coetzee, Brand, Emerton, Jacobson, Ferreira, & du Toit, 2015). Recientemente, Cameleyre y colaboradores (2015) han mostrado la presencia de interacciones perceptuales

entre el aroma frutal generado por los ésteres etílicos ramificados y el aroma a disolvente del alcohol isoamílico.

Si bien estos estudios subrayan importantes resultados sobre las interacciones perceptuales que tienen lugar entre los odorantes, algunos de ellos utilizan esquemas de trabajo simples, tales como disoluciones sintéticas, modelos simples o disoluciones de un único odorante, los cuales pueden limitar la generalización de sus resultados. Además, en muchos casos, los investigadores han estudiado la interacción entre dos olores, cuando el hecho es que en el vino hay muchos odorantes que crean olores diferentes y compiten simultáneamente. Finalmente, y hasta nuestro conocimiento, no hay estudios en los que se hayan valorado sistemáticamente los componentes principales del olor del vino según su contribución y sus interacciones. En este contexto, sería necesario una aproximación químico-sensorial más ambiciosa basada en la recreación de modelos complejos que representen las características del aroma tan próximas como sea posible al vino real y que se centren en los principales vectores de aroma del vino.

El vino se ha descrito como un búfer sensorial que contiene etanol y los principales compuestos de fermentación que son capaces de contrarrestar la adición u omisión de varios odorantes sin ningún cambio significativo en el aroma global (para una revisión completa ver Ferreira, 2008). Esta mezcla es ligeramente dulce, picante, alcohólica y un poco frutal, por lo que evoca el típico olor de bebida alcohólica normalmente definido como vinoso. Solo ciertos compuestos impacto o familias de compuestos que comparten propiedades químicas y de aroma pueden romper el búfer sensorial y por tanto transmitir al vino el matiz de aroma específico, formando por tanto un vector de aroma. Solo en algunos casos particulares es posible encontrar un compuesto impacto auténtico capaz de transmitir al producto sus olores primarios tales como para el Verdejo español (3-mercaptohexanol) o el Sauvignon Blanc (4-mercapto-4-metil-2-pentanona) (Darriet, Tominaga, Lavigne,

Boidron, & Dubourdieu, 1995; Mateo-Vivaracho, Zapata, Cacho, & Ferreira, 2010). Sin embargo, en los productos más complejos y más valorados, el perfil aromático se crea por acción concertada de muchas moléculas. El vino tinto es un buen ejemplo de matriz compleja: hay una rica matriz no-volátil, hay una gran cantidad de odorantes activos diferentes, y no hay a menudo compuestos impacto claros. En este contexto químico la percepción de las diferentes notas es extremadamente compleja.

Recientes investigaciones llevadas a cabo en nuestro grupo de investigación (Saenz-Navajas, Gonzalez-Hernandez, Campo, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012) han subrayado que la percepción de la calidad por parte de un grupo de expertos españoles de un grupo de vinos premium españoles (muestras del segmento de precio alto en el mercado) no está necesariamente ligada a intensos matices de olor explícitos, sino más bien a una gran paleta de muchos olores sutiles. Esto sugiere que la complejidad y la armonía son dimensiones esenciales relacionadas positivamente con la percepción de calidad tal y como mostró Charters y colaboradores (2007). El estudio de la composición analítica del mencionado grupo de vinos Premium españoles junto con otras dos categorías de vino pertenecientes a segmentos de precio más bajo: precio bajo y medio (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012), han proporcionado una base de datos cuantitativa extensa, que ha permitido identificar algunas pistas importantes relacionadas con la calidad del vino, los atributos del aroma y la composición en odorantes. Dos observaciones importantes de este estudio son el objetivo del presente trabajo. En primer lugar, los modelos de calidad tienen una estructura común basada en la oposición de compuestos de aroma positivos y defectos en todas las categorías de vino, pero los compuestos clave capaces de explicar la calidad son característicos del segmento de precio. Por ejemplo, los ácidos ramificados están positivamente relacionados con la calidad de los vinos Premium, mientras que están relacionados negativamente con los vinos de categoría de precio medio. Esto podría deberse

a la existencia de interacciones perceptuales entre los componentes de aroma específicos de la categoría del vino. En segundo lugar, dejando a un lado algunos atributos del aroma del segmento Premium (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011), no fue posible encontrar modelos predictivos satisfactorios para la mayoría de los atributos aromáticos en las otras categorías de vino (segmentos de precio medio y bajo). El fallo en la modelización puede tener múltiples causas, entre ellas los efectos de la matriz no volátil en la volatilidad de los compuestos del aroma (Sáenz-Navajas, Campo, Culleré, Fernández-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010) o la limitación de los modelos lineales usados en estos trabajos. En cualquier caso, esto implica que controlar perfectamente las variables composicionales sería esencial para aumentar el conocimiento sobre la percepción del aroma y por tanto, sobre la calidad del vino. De ahí que trabajar con mezclas complejas como los vinos modelos parece ser una herramienta interesante capaz de superar las principales limitaciones relacionadas con la comprensión de la formación del aroma.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar las dimensiones sensoriales aromáticas relacionadas con seis vectores de aroma del vino comunes que varían en un rango de concentraciones naturales en el vino y estudiar las interacciones sensoriales entre ellos. Los seis vectores de aroma estudiados fueron los norisoprenoides (N), los ácidos ramificados (A), los ésteres etílicos ramificados (E), alcoholes superiores (L), enolonas (F) y compuestos relacionados con la madera (M); todos ellos fueron elementos básicos esenciales de los modelos PLS que explican la calidad de los vinos tintos (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Una de los principales retos del estudio fue llevar a cabo el estudio con muestras “similares a vino”, de modo que pudieran identificarse interacciones realistas entre los componentes. Se prepararon diferentes vinos modelo (WM) mediante un protocolo basado en la reconstitución que proporciona muestras de vino casi reales (Saenz-

Navajas, Campo, Fernandez-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010), los cuales fueron posteriormente evaluados sensorialmente.

2. Materiales y métodos

2.1. Estándares

2.1.1. Reactivos y compuestos

Los estándares químicos fueron suministrados por Fluka (Buchs, Suiza), Lancaster (Estraburgo, Francia), Panreac (Barcelona, España) y Firmenich (Ginebra, Suiza). El diclorometano y el etanol de calidad Lichrosolv fueron suministrados por Merck (Dramstadt, Alemania). El agua pura se obtuvo de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, Bedford, MA).

2.1.2. Extractos no volátiles

Se liofilizaron cincuenta mililitros de muestra de vino (Muga reserva 2004, D.O. Rioja, España) en matraces redondos de 250 mL, las muestras se extrajeron después con 3 fracciones de 10 mL de diclorometano para eliminar los compuestos volátiles restantes. El diclorometano se eliminó posteriormente por el paso a través de la muestra de una corriente de nitrógeno puro (50 mL/min) durante 20 minutos. Se comprobó la ausencia total de diclorometano por microextracción en fase sólida de espacio de cabeza (Carboxen/PDMS 75 μm a 30 °C durante 10 min) y GC con detector de captura de electrones (límite de detección del sistema de 1 ng/muestra). Este extracto se disolvió posteriormente en agua de baja mineralización (Evian, Evian-les Bains, Francia) y se llevó a un volumen de 10 mL (5 veces concentrada). Estas muestras se colocaron en viales y se hizo pasar por el espacio de cabeza un flujo de nitrógeno para evitar el contacto de la muestra con oxígeno y se almacenó a 5 °C hasta la preparación de la muestra.

2.2. Vinos modelo (WM)

2.2.1. Selección de los modelos por diseño factorial

Se tuvieron en cuenta seis variables cuantitativas controladas (llamadas vectores de aroma) a dos niveles de concentración (bajo y alto) en el test de prueba preliminar siguiendo un diseño factorial. Las concentraciones alta y baja corresponden a los valores de concentración máxima y mínima encontrados en un grupo de 25 muestras de vinos Premium analizados en el laboratorio (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Los experimentos se plantearon siguiendo un diseño 2^{6-1} donde se estimaron los principales factores y pares de interacciones de dos factores, asumiendo que los efectos de las interacciones de alto orden eran limitados (Bisgaard, 1988). Se obtuvieron un total de 32 formulaciones diferentes de los vinos modelo según este diseño factorial.

2.2.2. Composición química de los vinos modelo

Los vinos modelo se prepararon mezclando un grupo de compuestos de aroma comunes del vino (búfer aromático) con las seis familias objeto de estudio (norisoprenoides (N), ácidos ramificados (A), ésteres etílicos ramificados (E), alcoholes mayoritarios (L), enolonas (F) y compuestos relacionados con la madera (M)), a dos posibles niveles de concentración (alto y bajo) (Tabla 1.1). En términos de codificación de las muestras, las letras mayúsculas (ej. NAEM) se establecen para un vino modelo en el que esos vectores (N, A, E y M) están presentes en alta concentración y los vectores faltantes (F y L en este caso) están presentes a bajas concentraciones.

Se adicionó esta mezcla sobre el extracto no volátil correspondiente a 375 mL de vino tinto envejecido (Saenz-Navajas, Gonzalez-Hernandez, Campo, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012) junto con el etanol y el agua mineral embotellada hasta completar el volumen final de 375 mL con un contenido en etanol del 12 % (v/v). Las concentraciones

del grupo de compuestos comunes del aroma base eran la media de los valores del mismo grupo de 25 vinos tintos Premium españoles citado anteriormente. Los niveles alto y bajo de los vectores correspondían a la concentración máxima y mínima encontradas en el mismo grupo de muestras. Estos vinos estaban elaborados con diferentes variedades y mediante diferentes procedimientos, de manera que cubriesen la mayor variabilidad en la composición del aroma y por tanto de los perfiles de aroma. El mismo grupo de muestras fue analizado en nuestro laboratorio en el marco de un estudio a gran escala durante el año anterior al presente trabajo (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Se preparó una disolución única en etanol, que contenía un grupo de 19 compuestos de fermentación, mientras que el resto de familias de aroma (vectores) se prepararon separadamente. Estas disoluciones se prepararon un día antes de la sesión formal de análisis sensorial y se almacenaron a - 20 °C. Los vinos modelo se prepararon al comienzo del día de las sesiones descriptivas y se almacenaron en botellas ámbar de 500 mL con cierre y en una vinoteca con temperatura controlada a 5 °C hasta su servicio.

2.3. Evaluación sensorial

En este estudio participaron tres tipos de paneles sensoriales:

2.3.1. *Expertos (estudio piloto)*

Este grupo estaba formado por 5 investigadores del mundo del vino (4 mujeres y 1 hombre, de edades comprendidas entre los 29 y 55 años de edad, media 41 años y desviación estándar de 10) regularmente implicados en la evaluación del vino y con una larga experiencia (> 10 años) en la cata de vinos. Ellos se ajustaban a la categoría de expertos en vino según Parr y colaboradores (2002). Pertenecían al personal del laboratorio y eran conscientes de la naturaleza de las muestras y del objetivo del estudio. Este panel llevó a cabo un experimento piloto en el cual evaluaron 32 vinos modelo del diseño factorial

Tabla 1.1. Concentraciones ($\mu\text{g/L}$) de los compuestos usados para preparar los vinos modelo (WM). Las concentraciones de los compuestos que constituyen el aroma base común son la media de los valores encontrados en vinos Premium y los niveles bajo y alto de los vectores de aroma son las concentraciones máximas y mínimas encontradas en el artículo de San Juan y colaboradores (2011).

	Compuesto	Descriptor	Concentración	
Grupo de compuestos que conforman el aroma base	2,3-butanodiona	Crema	200	
	Acetaldehido	Manzana	10000	
	Propanoato de etilo	Frutal	140	
	Butirato de etilo	Frutal, fresa	140	
	Hexanoato de etilo	Frutal, fresa	120	
	Octanoato de etilo	Jabón	90	
	Decanoato de etilo		60	
	Lactato de etilo		125000	
	Cinamato de etilo	Floral, polen	0,8	
	Acetato de feniletilo	Rosa	30	
	Acetato de isoamilo	Plátano	200	
	1-hexanol	Césped, verde	1000	
	(Z)-3-Hexenol	Césped, verde	100	
	Guaiacol	Ahumado	13	
	Ácido butírico	Queso	580	
	Ácido hexanoico	Queso	1100	
	Ácido octanoico	Queso	440	
	Ácido decanoico	Queso	160	
Ácido acético	Vinagre	300000		
Vector de aroma	Compuesto		Nivel bajo	Nivel alto
Norisoprenoides (N)	β -damascenona	Manzana	0,8	3,2
	β -ionona	Violeta	0,12	0,48
Ácidos ramificados (A)	Ácido 2- metilpropanoico	Queso	236	944
	Ácido 2-metilbutírico	Queso	120	480
	Ácido 3-metilbutírico	Queso	80	320
Enolonas (F)	Furaneol	Caramelo	10	40
	Homofuraneol	Caramelo	150	600
Esteres etílicos ramificados (E)	Isobutirato de etilo	Frutal, fresa	100	400
	2-metilbutirato de etilo	Frutal, fresa	15	60
	3-metilbutirato de etilo	Frutal, fresa	25	100
Alcoholes superiores (L)	2-metilpropanol	Fusel	22000	66000
	Alcohol isoamílico	Fusel	120000	360000
	β -feniletanol	Rosa	25000	75000
Compuestos de la madera (M)	Whiskylactona	Coco	100	500
	Eugenol	Clavo	10	50

fraccionado. Durante esta única sesión, los expertos evaluaron ortonasalmente los vinos modelo y se les pidió que proporcionaran descripciones abiertas de cada vino. Se llevó a

cabo una discusión entre los 5 expertos con el objetivo final de seleccionar un total de 20 vinos modelo (de los 32 preparados) que presentaron mayor variabilidad en sus perfiles de aroma. Las muestras que poseían unos perfiles de aroma muy similares se excluyeron del estudio posterior.

2.3.2. Panel entrenado 1 (test descriptivo 1)

Se reclutó a un grupo de 26 consumidores regulares de vino después de la distribución de un e-mail a través de la lista de la Universidad de Zaragoza. Se seleccionó a los participantes solo si bebían vino blanco y/o tinto al menos una vez a la semana. El grupo estaba compuesto de 16 mujeres y 19 hombres de edades comprendidas entre los 24 y 69 años de edad (media 36 años y desviación estándar de 9). Antes de las sesiones formales, los panelistas llevaron a cabo 12 sesiones de entrenamiento (60 minutos cada una, durante un periodo de cuatro meses) en el análisis sensorial descriptivo de vino siguiendo la metodología de frecuencia de citación, como describe Langlois y colaboradores (2010).

Durante el entrenamiento, se presentaron diferentes estándares de referencia representativos del aroma y se discutieron con los panelistas. Los estándares eran odorantes disponibles comercialmente de International Flavour and Fragrances (Dijon, Francia), Sentosphère (Paris, Francia), Le Nez du Vin (Jean Lenoir, Provence, Francia), Firmenich (Ginebra, Suiza) o productos frescos (frutas, zumos, especias, verduras, etcétera) preparados al inicio de cada sesión como se describe en el artículo de Saenz-Navajas y colaboradores (2011). Este panel evaluó ortonasalmente los 20 vinos modelo seleccionados por el panel de expertos en la primera etapa. Para ello, los panelistas tenían que elegir un máximo de cinco términos de una lista propuesta que contenía 85 términos agrupados en familias de olor (ver Figura 1.1 del Anexo 1). La selección de los términos discriminantes

se realizó según explica Saenz-Navajas y colaboradores (2012). Para controlar el rendimiento global del panel, uno de los vinos modelo se evaluó por duplicado (21 vinos a partir de ahora). Las medidas se llevaron a cabo en dos sesiones formales de 60 minutos y las respuestas se recogieron en formato papel.

2.3.3. *Panel entrenado 2 (test descriptivo 2)*

Este panel estaba formado por 15 participantes (6 hombres y 9 mujeres, de edad media 28 años y desviación estándar de 6) que ya habían participado en sesiones sensoriales en el pasado. El panel se entrenó en análisis descriptivo cuantitativo (QDA). Los panelistas recibieron siete sesiones de entrenamiento de 60 minutos antes de las sesiones formales. Este panel evaluó ortonasalmente cuatro vinos modelo (NAFM, NAFML, NAF, NAFL) por duplicado. Estas muestras se seleccionaron en base a los resultados descriptivos generados con los dos paneles anteriores (expertos y panel entrenado 1), con el objetivo principal de confirmar el papel de los alcoholes en el carácter frutal (por comparación de NAF con NAFL) y de madera (por comparación de NAFM con NAFML) de los vinos modelo. Durante las sesiones formales, a los panelistas se les pidió que olieran ortonasalmente cada muestra y que evaluaran la intensidad de los siete atributos de aroma (fruta fresca, fruta pasa, madera/tostado, especiado, vegetal, animal y sotobosque) en una escala estructurada de 11 puntos (0 = baja; 5 = intermedia y 10 = alta) (ver Figura 1.2 del Anexo 1). Las medidas de las ocho muestras se llevaron a cabo durante dos sesiones formales de 60 minutos.

Ambos tests, descriptivos 1 y 2, se llevaron a cabo en una sala de catas ventilada y acondicionada (temperatura de la sala de 20 °C), donde cada panelista se situó en una cabina individual. En los tres casos, quince minutos antes de la sesión formal, se sirvieron 15 mL de los vinos modelo (18 ± 1 °C) en una sala a temperatura ambiente, en copas negras ISO

codificadas con un número de tres cifras y cubiertas con una placa Petri, según un orden aleatorio monádico secuencial y diferente para cada juez. No se informó a los panelistas sobre la naturaleza de las muestras. Los datos se recogieron manualmente por medio de fichas de cata en formato papel.

2.4. Análisis de datos

2.4.1. *Evaluación del rendimiento del panel*

Panel entrenado 1 (test descriptivo 1): Se calculó la media de los índices de reproducibilidad (R_i) para cada panelista en las sesiones duplicadas, como define (Campo, Do, Ferreira, & Valentin, 2008). Los 26 panelistas presentaron un $R_i > 0,3$, por lo que se tuvieron en cuenta los resultados de todos los participantes. Los vinos modelo presentados por duplicado se agruparon juntos en el mapa CA, lo cual confirma la repetibilidad global del panel.

Panel entrenado 2 (test descriptivo 2): Se realizó un ANOVA de tres factores con los datos de intensidad de los atributos evaluados mediante QDA, en el que el modelo tenía en cuenta los vinos (W), jueces (J) y repeticiones (R) como factores fijos y todas las interacciones de primer orden. Se confirmó la ausencia de efectos significativos para ambas repeticiones (no se observó efecto significativo para R y $R*W$) y para la interacción vino x juez ($W*J$) en todos los atributos evaluados, confirmando el rendimiento del panel.

2.4.2. *Análisis factorial multidimensional (CA y PCA)*

Para los datos derivados del análisis descriptivo realizado por el panel entrenado 1, se realizó un análisis de correspondencias (CA) con la tabla de contingencia formada por la tabla vino x atributo de aroma, en la cual cada celda representa la frecuencia de citación (FC) de un término en un vino.

Se realizó un análisis de componentes principales normalizada (PCA) con las puntuaciones de intensidad media de los panelistas del panel entrenado 2 para los siguientes atributos significativos: fruta fresca, tostado/madera y vegetal. Según el ANOVA de dos factores (muestras y jueces como factores), el efecto del vino fue significativo (nivel del 5%) solo para esos tres atributos. El software estadístico empleado para estos análisis fue SPSS 19.0 (SPSS INC., Chicago, IL) y SPAD (versión 5.5, CISIA-CESRESTA, Montreuil, Francia).

2.4.3. Análisis de la varianza (ANOVA)

Se llevaron a cabo dos estudios ANOVA para identificar los vectores de aroma que influyen en la percepción de los descriptores en los vinos modelo con los datos derivados del panel entrenado 1: el primero, un ANOVA de un factor en el cual los vectores de aroma fueron los factores principales y los descriptores fueron las variables, el segundo considerando modelos factoriales más complejos. En este caso, para cada descriptor se testaron todas las posibles combinaciones de los seis factores principales y sus interacciones de segundo orden, eligiendo el mejor modelo en términos de significatividad y varianza explicada. Los análisis se realizaron con SPSS 19 (SPSS INC., Chicago, IL). En ambos casos, para aquellos descriptores que influyen significativamente en cualquier vector de aroma se calcularon las frecuencias medias del descriptor en el vino modelo que contenía el nivel bajo o el alto de ese vector.

3. Resultados y discusión

3.1. Vinos modelo y espacios sensoriales de los vinos

El primer objetivo del presente estudio fue evaluar las dimensiones de los espacios sensoriales generados por los vinos modelo en los cuales se hicieron variar seis vectores de aroma en los rangos de concentración encontrados en vinos tintos comerciales siguiendo

un diseño factorial 2^{6-1} . Los 32 vinos modelo derivados de tal diseño factorial fraccionado fueron primero sujetos a un test sensorial piloto con el objetivo de reducir el número de muestras del subsecuente estudio descriptivo. Se requirió tal reducción debido a las dificultades en la preparación de los vinos reconstituidos para el gran número de panelistas ($n = 26$) usados en el estudio descriptivo. El estudio piloto revela que la mayoría de los vinos modelo se percibieron como buenos ejemplares de vinos “reales”, confirmando que la estrategia de reconstitución del vino era adecuada. Se observó, asimismo, una gran diversidad de notas sensoriales, muchas de las cuales no estaban fácilmente relacionadas con los atributos específicos de los vectores estudiados. Se seleccionaron aquellas muestras que mostraron la máxima variabilidad sensorial, incluyendo los vinos modelo que se percibieron con poco o ningún aroma. Se excluyeron muestras con perfiles de olor muy similares. A partir de este análisis piloto, se seleccionaron veintiún vinos modelo, incluyendo el modelo de aroma base (formado por el conjunto de aromas de la base y todos los vectores a nivel bajo) y la réplica introducida, para un posterior análisis descriptivo.

En la estrategia descriptiva utilizada, se les pidió a los 26 jueces entrenados que eligieran los descriptores que mejor describía cada muestra de una lista preestablecida de 85 términos de aroma ordenados por familias de olores. En promedio, cada juez seleccionó 3 términos de la lista para la descripción de los vinos modelo seleccionados. Se determinó la significatividad de los términos por comparación entre las distribuciones de la frecuencia medida y la esperada calculadas asumiendo el azar. Los 12 términos que llegaron a ser significativos de acuerdo con este criterio se muestran en la primera fila de la Tabla 1.2. Teniendo en cuenta que algunos de esos términos estaban muy próximos y con el fin de obtener un número reducido de términos más generales que alcanzaran mayores frecuencias de citación, se combinaron términos individuales con otros términos pertenecientes a la misma categoría familiar. Los términos individuales combinados fueron los 12 que

Tabla 1.2. Términos sensoriales simples o combinados (Cx) usados de manera significativa por el panel para describir los vinos modelo. La significatividad está estimada (valor P) por el test χ^2 . Los datos cuantitativos se muestran como frecuencia de citación expresada en porcentaje (% FC).

Términos sensoriales principales	Fruta roja (C2)	Fruta negra (C2)	Fruta pasa (C3)	Tostado (C2)	Madera (C3)	Vegetal (C2)	Floral (C1)	Oliva (C1)
Términos individuales en los términos combinados	Fruta roja ($P<0,001$) Fresa ($P=0,83$)	Fruta negra ($P<0,001$) Mora ($P=0,39$)	Fruta pasa ($P<0,001$) Pasa ($P=0,26$) Ciruela pasa ($P<0,001$)	Tostado ($P<0,001$) Caramelo ($P<0,001$)	Madera ($P<0,001$) Barrica ($P<0,001$) Madera vieja ($P<0,001$)	Vegetal ($P<0,001$) Pimentón ($P<0,001$)	Floral ($P<0,001$)	Oliva ($P=0,1$)
Significatividad del término combinado	($P<0,001$)	($P<0,001$)	($P<0,001$)	($P<0,001$)	($P<0,001$)	($P<0,001$)	($P<0,001$)	($P=0,1$)
Máximo (% FC)^a	42%	38%	54%	31%	46%	23%	23%	19%
Muestras del máximo	FE	NFLM	NALM	NE	NALMNAEM	NELM AE AFLM	NFLM AFLM	base
Mínimo (% FC)^b	8%	8%	19%	8%	15%	4%	0%	0%
Muestras del mínimo	NELM	AFEM	FELM FE	AF base	NA FE	NAEM	NAFM	-
Rango (% FC)^c	34%	31%	35%	23%	31%	19%	23%	19%
Media (% FC)^d	24%	20%	36%	21%	31%	14%	11%	2%
Mediana (% FC)^e	23%	19%	38%	23%	31%	15%	12%	0%

^a Máximo (% FC) y ^b Mínimo (% FC) obtenida entre los 21 vinos modelo para un atributo dado y vinos modelo que adquirieron el máximo o el mínimo en ese atributo. ^c Rango (% FC): Diferencia entre los valores máximo y mínimo obtenidos para un atributo dado en los 21 vinos modelo descriptos. ^d Media (% FC): Valor medio de %FC obtenido para un atributo dado entre los 21 vinos modelo descriptos. ^e Mediana (% FC): valor de mediana de %FC obtenido para un atributo dado entre los 21 vinos modelo descriptos.

alcanzaron la significatividad y los cuatro términos no significativos (fresa, mora, pasa y oliva) con frecuencias de citación mayores del 15 % (nivel de azar para 85 términos y 26 panelistas) en al menos una muestra. La significatividad se estimó de nuevo calculando las distribuciones de frecuencias esperadas para los términos combinados y comparándolos con las distribuciones experimentales por medio del test Chi cuadrado (χ^2). Los 16 términos finales se fusionaron en 8 términos sensoriales (dos simples, 4 combinaciones de dos y 2 combinaciones de tres) como se muestra en la Tabla 1.2. El octavo término “oliva” parecía ser el descriptor del vino modelo que contiene todos los vectores de aroma en niveles mínimos (modelo de aroma base).

Como se muestra en la Tabla 1.2, el término que alcanza la mayor frecuencia de citación (FC) es el término combinado “frutas pasas”, el cual incluye “fruta pasa”, “uva pasa” y “ciruela pasa”, y alcanzan un máximo de frecuencia de citación del 54 %, seguido de “madera/barrica/viejo” (46 %), “fruta roja/fresa” (42 %) y “fruta negra/mora” (38 %). Todos estos términos presentan altos rangos (por encima del 30 %). Los términos menos citados fueron “vegetal”, “floral” (máximo = 23 %) y “oliva” (máximo = 19 %).

Las propiedades sensoriales de los vinos modelos resumidos en la Tabla 1.2 puede compararse con los vinos usados para la construcción de la base de datos química (Saenz-Navajas, Gonzalez-Hernandez, Campo, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012). Los términos fruta roja y negra tienen rangos coincidentes y alcanzan máximos de FC relativamente similares a aquellos encontrados en el grupo de vinos jóvenes de referencia, lo que significa que ambos atributos frutales están bien representados en los vinos modelo preparados con los seis vectores de aroma. Se pueden observar conclusiones similares para los términos “frutas pasas” y “madera”. Por el contrario, el término “tostado” tiene rangos muchos menores en los vinos modelo que los observados para los vinos reales, lo que indica que este término no está completamente representado por el limitado número de vectores

de aroma considerados en este estudio (seis). Un resultado similar tiene lugar para términos tales como “animal”, “especiado” y “vegetal”, de acuerdo con el hecho de que los compuestos que probablemente contribuyan a estos términos no han sido incluidos en estos modelos, como los etilfenoles, el furfuriltiol, el bencilmercaptano, la vanillina, la rotundona o las metoxipiracinas. Sin embargo, podemos concluir que los seis vectores probados en el presente trabajo son contribuyentes efectivos (positivos y negativos) para las notas a fruta roja, negra y frutas pasas y para las notas a madera de los vinos tintos comerciales españoles.

3.2. Caracterización aromática de los vinos modelo

Se realizó un primer análisis de correspondencias (CA) con los ocho descriptores mostrados en la Tabla 1.2. Este mapa (Figura 1.1) muestra que la varianza de la primera dimensión estaba explicada exclusivamente por el término “oliva”, el cual fue el descriptor elegido por cerca del 20 % del panel para describir el vino modelo que contenía los niveles mínimos de todos los vectores de aroma (modelo de aroma base). El resto de los vinos

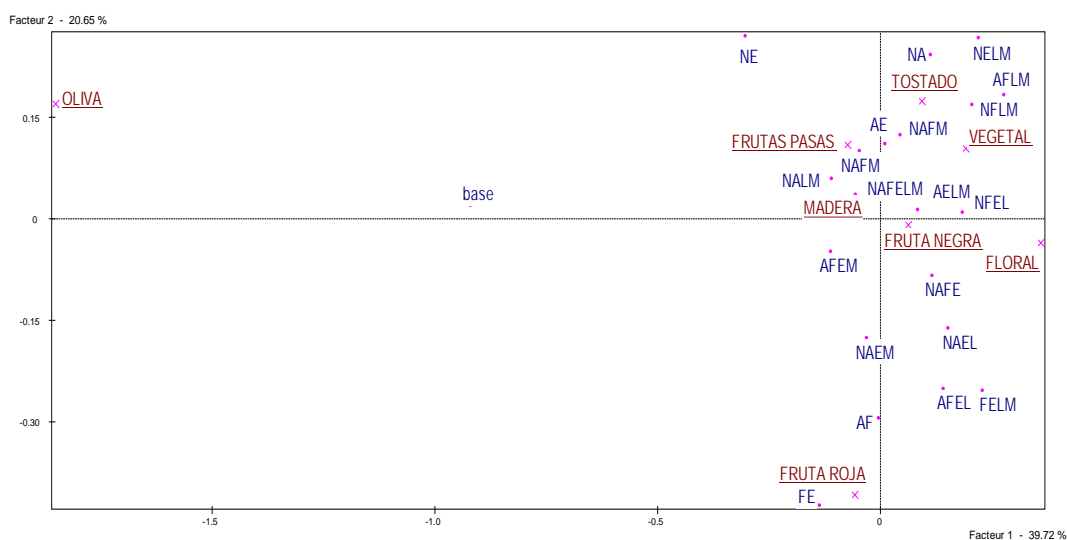


Figura 1.1. Proyección de los ocho descriptores de aroma y los modelos de vino en los dos primeros factores del espacio del análisis de correspondencias.

Interacciones sensoriales entre seis vectores de aroma capaces de explicar cuatro atributos de aroma en vinos tintos

modelo no fueron descritos apenas con este término (< 4 % del panel). Parece que este vino modelo tenía un olor a oliva que puede ser descrito como fondo de aroma global (como consecuencia probablemente de la combinación de alcoholes y ácidos); sin embargo, tan pronto como se adicionaba cualquier vector en nivel alto, el fondo de oliva desaparecía.

En vista de esto, se realizó un segundo CA dejando a un lado el término oliva y el vino modelo base. En la Figura 1.2 se puede observar la proyección de los vinos y los términos en las dos primeras dimensiones del espacio del CA. El primer factor (34 % de la varianza total) está definida principalmente por el atributo “fruta roja”, y el segundo factor (28 % de la varianza total) muestra una oposición del término “madera” frente al “floral”. El tercer factor (gráfico no mostrado) representa apenas un 14 % de la varianza, y está principalmente definido por el atributo “fruta negra”. Las diferentes estrategias empleadas para calcular el análisis clúster (Ward, enlace único) muestran cinco clústeres estables. En todos los casos, las dos muestras replicadas aparecen juntas confirmando que el panel era reproducible.

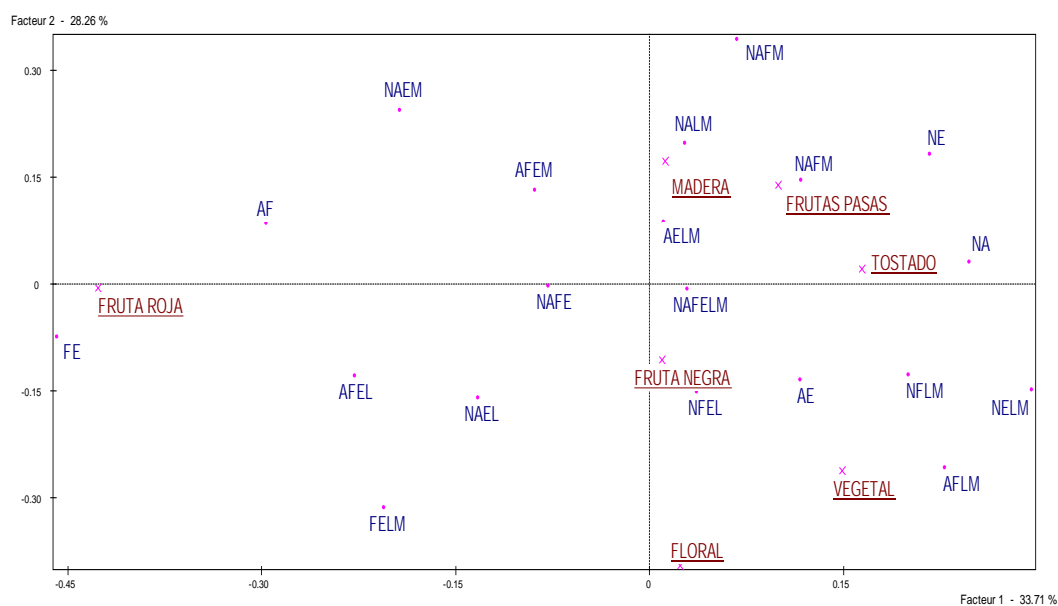


Figura 1.2. Proyección de los descriptores de aroma y los modelos de vino en los dos primeros factores del espacio del análisis de correspondencias.

La Figura 1.2 muestra que la mayoría de las mezclas binarias (FE, AF, NE, NA) se encuentran principalmente en los extremos del plano, algunas de ellas incluso encierran perfectamente la mezcla cuaternaria entre ellos, como puede observarse para FE, NA y NAFE, situándose ésta última entre medio de FE y NA. Además, el modelo que contiene los seis vectores de aroma NAFELM ocupa remarcablemente la posición central en el mapa CA, indicando que su perfil representa propiedades sensoriales intermedios entre los perfiles de todas las combinaciones binarias y cuaternarias, de acuerdo con un fenómeno conocido como “intermediación” observada en mezclas de varios odorantes presentes a niveles de iso-intensidad (Moskowitz & Barbe, 1977).

Algunos de los perfiles de aroma de estos vinos modelo fueron extremadamente diferentes, como puede observarse en detalle en la Figura 1.3. Los perfiles más simples corresponden a las mezclas binarias FE y NA, caracterizados por altas puntuaciones de un atributo único: “fruta roja” (FE) y “fruta pasa” (NA), respectivamente, y por bajas puntuaciones en el resto de los atributos. La mezcla cuaternaria NELM presentó un perfil más neutral, con muy bajas puntuaciones para todos los atributos. Finalmente, los perfiles más complejos y diversos corresponden a los modelos NALM y NFLM, como puede observarse en la Figura 1.3. El primero alcanza puntuaciones máximas de los términos “fruta pasa” y “madera”, mientras el segundo fue más rico en las notas a “fruta negra” y “floral”.

Los términos fruta negra (Mueller, Osidacz, Francis, & Lockshin, 2010), fruta roja (Lattey, Bramley, & Francis, 2010; Saenz-Navajas, Ballester, Pecher, Peyron, & Valentin, 2013) y frutas pasas (Saenz-Navajas, Martin-Lopez, Ferreira, & Fernandez-Zurbano, 2011; Varela & Gambaro, 2006), así como tostado y madera (Mueller, Osidacz, Francis, & Lockshin, 2010) han sido positivamente correlacionados con la percepción de la calidad del vino tinto.

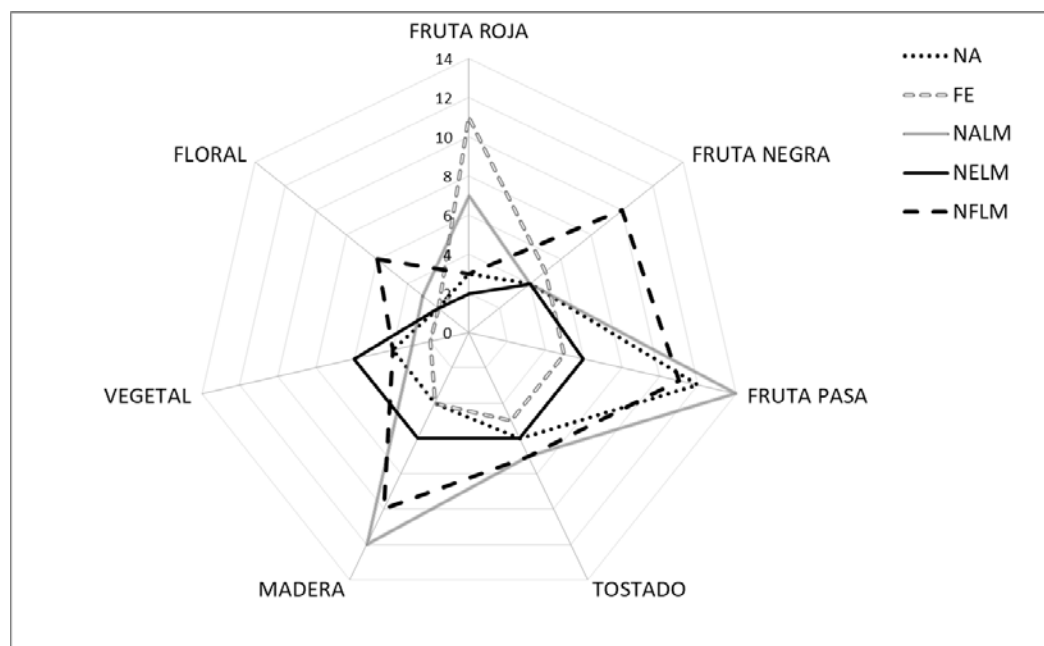


Figura 1.3. Perfil sensorial (expresado como frecuencia de citación de los atributos) de los vinos con propiedades sensoriales extremas.

De esta manera, las puntuaciones representadas por la suma de las puntuaciones individuales de esos descriptores individuales para cada vino deberían estar relacionadas con la intensidad global de aroma positivo percibido en un vino dado. Esas puntuaciones se pueden observar en la Tabla 1.3 y proporcionan algunas pistas interesantes. La primera es que 7 de los 8 primeros modelos contienen la pareja NA, y 5 el trio NAM, con la mayor puntuación. Remarcablemente, y dejando a un lado el modelo binario NA y el modelo completo NAFELM, estas combinaciones no se encuentran en cualquier otra posición de la lista, apuntando la relevancia de la presencia simultánea de norisoprenoides y ácidos en la percepción de las notas relacionadas con la fruta y la madera. Una segunda pista importante es que L y notablemente las combinaciones con LM están presentes en la parte baja de la lista. De hecho, 6 de los 8 cuartetos que contienen los alcoholes fusel (L) se encuentran en posiciones por debajo de la base en la tabla, y 5 de ellos ocupan las últimas 5 posiciones. Estos aspectos se discutirán a continuación.

Tabla 1.3. Clasificación de los vinos modelos según la FC de los términos combinados: frutal-madera y la suma de las frecuencias de citación de todos los descriptores para un vino modelo.

	Suma de los descriptores frutal y madera
NALM	44
NFLM	41
NAFM	40
NAEM	39
NAFE	39
NAFM	39
NAEL	39
NAFELM	38
base	35
AELM	35
NE	33
AFEM	33
AE	33
NFEL	32
AFEL	31
FE	30
NA	29
AF	29
AFLM	29
FELM	26
NELM	24

*Termino combinado calculado como la suma de la FC de los atributos siguientes: fruta roja, negra y pasa, tostado y madera.

3.3. Relación entre los vectores y los atributos de aroma

Se llevaron a cabo dos estudios diferentes ANOVA para estimar la significatividad de los vectores individuales y de sus interacciones para formar las notas sensoriales. Los resultados de esos análisis están resumidos en la Tabla 1.4. El ANOVA de un factor revela que en solo tres de los atributos (fruta pasa, madera y floral) hay un vector de aroma que presenta un efecto positivo significativo ($P < 0,05$). Se debe indicar que, en los tres casos, incluso si se alcanza la significatividad, el efecto del vector en el atributo del aroma no es muy grande, explicando en todos los casos menos de un tercio de la intensidad del atributo (dado en la tabla 1.2). En lo referente al vector, N (norisoprenoides), éste tiene un efecto positivo en la intensidad de los atributos “fruta pasa” y “tostado” (no alcanza la significatividad), confirmando aún más el complejo papel de la β -ionona y la β -damascenona en el aroma del vino (Pineau, Barbe, Van Leeuwen, & Dubourdieu, 2007). Como se esperaba, el vector madera M (whiskylactona y eugenol) influye en el término

“madera”; sin embargo, explica un escaso 25 % del rango de aparición de la nota “madera”, sugiriendo la participación activa de otros vectores en dicho atributo. Finalmente, el vector alcoholes L, que contiene isobutanol, alcohol isoamílico y β -feniletanol, está relacionado de manera significativa con la percepción de la nota floral ($P < 0,001$).

En general, esto significa que tres atributos completos (fruta negra, fruta roja y oliva) y más de dos tercios de otros tres (fruta pasa, madera y floral) no pueden explicarse con los modelos univariantes. Esta falta de capacidad explicativa resalta la pobre capacidad de los vectores individuales para dar lugar a un olor emergente en la mezcla, y sugiere que la mayoría de los cambios en el aroma son causados por fuertes interacciones perceptuales entre los vectores. Estas interacciones se han descrito en mezclas binarias de odorantes del vino (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004), dejando patente el enmascaramiento de los esteres frutales del vino (acetato de isoamilo y butirato de etilo) por parte de los odorantes de la madera (como whiskilactona y guaiacol) o el alcohol isoamílico (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015). Estos autores ya habían sugerido que las interacciones perceptuales que tienen lugar en medios complejos tales como el vino serían determinantes en la formación del sabor/flavor del producto final.

El ANOVA multifactorial consideró los factores principales y las interacciones de segundo orden (binarias) entre ellos. Las interacciones de nivel superior no se pudieron analizar con el presente enfoque experimental. Los resultados mostraron que dejando de lado el atributo “floral”, cuyo modelo no alcanza la significatividad, y “vegetal”, que ni siquiera está presente en la tabla, es posible encontrar modelos estadísticamente significativos que expliquen una fracción importante de la varianza para el resto de términos. Los modelos para los cinco atributos principales (fruta roja, fruta negra, frutas

pasas, tostado y madera) muestran una gran complejidad, revelada por el alto número de factores principales (13) y las interacciones significativas (21), que muestran una pobre aditividad de los efectos y confirmando un papel relevante de las interacciones.

El modelo para el aroma a fruta roja revela que este atributo está vinculado positivamente a la presencia de enolonas (F), lo que concuerda con trabajos anteriores que sugieren que las enolonas estaban involucrados en el carácter a fruta fresca de los vinos tintos (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Por otro lado, la fruta roja parece sufrir una supresión a causa de los alcoholes (L) y los norisoprenoides (N). Esto está de acuerdo con literatura reciente que sugiere un efecto enmascarante de los ésteres frutales del vino debido al alcohol isoamílico (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015). Además, se ha citado que los norisoprenoides inducen la formación de un aroma dulce, similar a las pasas, cuando se encuentran en altas concentraciones, por lo que estos compuestos podrían ser los responsables del efecto de enmascaramiento sobre el vector de las enolonas observado para el atributo fruta roja fresca (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Adicionalmente, se han encontrado cinco interacciones binarias significativas, particularmente para los vectores de ácidos ramificados (A) y compuestos de la madera (M), revelando que la percepción de la fruta roja está impulsada principalmente por las enolonas (F), pero está de hecho fuertemente influenciado por casi todos los vectores. Por ejemplo, la interacción F x M revela que altos niveles de compuestos relacionados con la madera pueden suprimir la nota de fruta roja generada por altos niveles de enolonas. Este resultado está de acuerdo con el efecto de enmascaramiento atribuido al aroma de la madera sobre el carácter frutal en mezclas binarias (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004). Del mismo modo, la interacción L x M revela que altos niveles de compuestos de la madera (M) potencian el efecto de supresión del aroma de los alcoholes de fusel (L). Al contrario, las interacciones N x A, A x L y

Tabla 1.4. Modelos de ANOVA de un factor y multifactor que explican los descriptores sensoriales como función de los vectores químicos. Los datos cuantitativos son frecuencia de citación expresada en porcentaje (%FC)

ANOVA de un factor	P	FRUTA ROJA	FRUTA NEGRA	FRUTAS PASAS	TOSTADO	MADERA	FLORAL	OLIVA
		ns	ns	<0,05 N	<0,1 N	<0,05 M	<0,001 L	ns
Vector de aroma								
Efecto (incremento de % FC)				10%	+5,2%	+8,2%	7%	
ANOVA multifactor	P	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	ns	<0,01
% Varianza		74,9%	91,6%	76,8%	75,5%	72,2%		86,8%
N		-6,6%*	+4,9%***	+9,3%***	+5,1%***			-2,2%***
A			-3,3%***					-2,9%***
F		+5,0%***	+0,4%***					-2,2%***
E				-10,4%***				
L		-4,2%***			-0,4%***	-5,5%*		-2,9%***
M					+2,0*	+7,4%***		
Interacciones de segundo nivel ¹	NxA	32/25/13/24**	22/15/24/22****		13/21/27/22****			7/1/2/1**
ab/aB/Ab/AB	NxF							7/1/1/1**
	NxE		16/18/23/22**		13/21/25/22**			6/0/1/1**
	NxL		17/18/19/27***		16/22/25/23**			8/1/1/1***
	NxM							
	AxF					18/11/15/17***		
	AxE		31/20/18/21***	45/27/42/35***				
	AxL	27/17/25/24**						
	AxM	26/15/28/22**						
	FxE		18/22/24/19*****					
	FxL		20/22/17/24***					
	FxM	21/21/34/20****						
	ExL			46/36/32/32**				6/0/1/1***
	ExM				13/25/24/20**			
	LxM	26/25/31/17****		36/43/31/34**	21/23/20/22**			

*P < 0,1; **P < 0,05; ***P < 0,01; ****P < 0,001

¹Interacciones de segundo nivel (ab/aB/Ab/AB) para un interacción binaria dada (AxB) indica el %FC para un atributo cuando los componentes están a bajo (a, b) o a alto nivel (A, B)

A x M revelan que altos niveles de ácidos (A) disminuyen los efectos de supresión de los compuestos de la madera (M), norisoprenoides. (N) y alcoholes de fusel (L).

El modelo para el aroma de fruta negra muestra que el vector norisoprenoide (N) ejerce un efecto positivo significativo en la percepción de esta nota, mientras que el vector de los ácidos (A) actúa como supresor. Se observan seis interacciones significativas en este caso, particularmente notables para los norisoprenoides (N) y los ésteres etílicos ramificados (E). Las interacciones N x A y A x E revelan que los vectores de los norisoprenoides (N) y de los ésteres etílicos ramificados (E) son capaces de mitigar el efecto supresor de los ácidos (A), mientras que la interacción N x E sugiere que los ésteres (E) pueden disminuir el efecto positivo de los norisoprenoides (N). Cabe destacar que las interacciones N x L y F x L indican que altos niveles de alcoholes (L) pueden ser positivos en la percepción de las frutas negras, pero solo si hay altos niveles de norisoprenoides (N) o enolonas (F). Finalmente, la interacción F x E sugiere que altos niveles de ambos vectores (enolonas y ésteres) van en detrimento de esta nota.

El modelo para el aroma de frutas pasas es relativamente simple, ya que el vector norisoprenoides (N) está vinculado positivamente a esta nota, mientras que el vector ésteres (E) actúa como supresor principal. Esto está de acuerdo con trabajos anteriores (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011). Las interacciones A x E y E x L son dignas de mencionar ya que revelan que la percepción de las frutas pasas es máxima cuando ambos pares de vectores se encuentran en niveles bajos (% FC = 45 para A x E y 46 % para E x L), como se muestra en la Tabla 1.4. Esto indica que tanto los ácidos (A) como los alcoholes (L) mitigan el efecto supresor de los ésteres etílicos (los propios alcoholes inducen la supresión). Finalmente, las interacciones A x M y L x M revelan que los ácidos (A) y los compuestos de la madera (M) contribuyen a esta nota a frutas pasas, pero solo cuando M es alto y L es bajo (Tabla 1.4).

El modelo de aroma tostado muestra que esta nota está vinculada positivamente a los norisoprenoides (N) y a los compuestos de la madera (M). Sin embargo, hay 5 interacciones significativas que afectan notablemente a estos dos vectores. Esto indica que, en particular, el vector de los norisoprenoides parece ser un modulador clave del papel desempeñado por diferentes vectores en esta nota tostada. Las interacciones N x A, N x E y N x M revelan que los ácidos (A), los ésteres etílicos ramificados (E) y los compuestos de la madera (M) pueden potenciar el atributo tostado, pero solo en bajos niveles de norisoprenoides (N), al mismo tiempo que lo suprimen en altos niveles de N (ver Tabla 1.4). La interacción E x M revela un efecto modulador similar de los ésteres (E) en el papel de los compuestos de madera (M) y viceversa. El término “madera” se ajusta al modelo más simple, ya que este término está significativamente relacionado con la presencia de compuestos de la madera (M) y negativamente con el de los alcoholes de fusel (L). La interacción A x E simplemente revela que los ésteres (E) ejercen un papel supresor a bajos niveles de ácidos. Finalmente, el término “oliva” tiene muchos componentes, pero tiene una estructura sorprendentemente simple. Como se puede ver, esta nota de olor está relacionada negativamente con cuatro de los vectores (N, A, F y L) y todos los términos de interacción tienen en común que el modelo que contiene los dos vectores adicionados en niveles mínimos es siempre el que tiene la más alta FC, confirmando que el olor no está vinculado a ningún vector particular, sino más bien a la ausencia de odorantes concentrados en la mezcla.

En un intento de resumir y clasificar los roles específicos desempeñados por cada vector de aroma podemos concluir que, el vector norisoprenoide (N) tiende a mostrar la influencia más fuerte, ya que determina directamente las “frutas pasas”, ejerce un efecto positivo significativo también sobre “frutas negras” y “tostado” y un efecto negativo interesante sobre “frutas rojas”. El vector de alcoholes de fusel (L) es el segundo más

influyente, ya que desempeña un papel directo en “floral” y también un efecto negativo significativo en las notas a “frutas rojas”, “tostado” y en particular en las notas a “madera”. El tercero en esta jerarquía es el vector madera (M), que es responsable directo del descriptor “madera” y también ejerce una influencia significativa sobre “tostado”. El vector enolonas (F) está significativamente relacionado con “frutas rojas” y ligera pero significativamente con “frutas negras”. Por lo que sabemos, es la primera vez que se establece un vínculo directo entre el furaneol y el homofuraneol y la percepción de las notas a fruta roja en el vino. Finalmente, el papel de los ácidos ramificados (A) y los ésteres etílicos ramificados (E) es menos obvio, lo que podría deberse en parte al hecho de que la base aromática del vino ya contenía ácidos grasos y ésteres etílicos en su composición. A pesar de esto, el vector de ácidos ramificados (A) tiene una influencia negativa significativa sobre las “frutas negras” y los ésteres etílicos (E) en “frutas pasas”, y ambos participan en numerosas interacciones con otros vectores que ocultan, por ejemplo, un papel esencial de los ácidos ramificados (A) en la percepción de “frutas rojas” y “frutas pasas”.

3.4. Cambios principales y asociaciones vectoriales clave

A pesar del papel limitado que desempeñan los vectores individuales, algunos pequeños cambios en la composición dan como resultado cambios sensoriales dramáticos. Como era de esperar, los más fuertes se observan en mezclas binarias, como NE y FE, para las cuales el reemplazo del vector norisoprenoides (N) por enolonas (F) modifica completamente la calidad del olor de la mezcla, pasando de “frutas pasas” a “frutas rojas” (Figura 1.2). También se registran cambios dramáticos en modelos de cuatro componentes. A veces, este cambio está directamente relacionado con las características del aroma del vector reemplazado, como sucede cuando el vector de madera (M) en los modelos NAEM y AFEM (arriba a la izquierda en la Figura 1.2) se reemplaza por alcoholes de fusel (L), que forman modelos (NAEL y AFEL, abajo a la izquierda) sin carácter a madera. Más

sorprendente es el hecho de que algunas muestras perdieron su carácter a madera, incluso si se mantenía el vector M en la formulación. Esto es lo que sucede cuando los ácidos (A) o los ésteres etílicos (E) en NAEM, AFEM o NAFM se reemplazan con alcoholes fusel (L). En los cuatro casos probados (NELM, AFLM, FELM y NFLM) hay una pérdida manifiesta del aroma a madera, llevando las nuevas muestras al área inferior de la figura (Figura 1.2). Además, los tres modelos NELM, AFLM y FELM son ejemplos interesantes de “perfiles de aroma neutros”, donde parece ocurrir un fenómeno de supresión generalizada, como se revela en la Tabla 1.3. El efecto de supresión potencial del vector alcohol (L) ya ha sido puesto de manifiesto en párrafos anteriores.

Para confirmar este efecto de supresión, se ha llevado a cabo un experimento independiente. Se seleccionaron los modelos NAFM (madera y frutal) y NAF (frutal), ambos ricos en notas a madera y frutales, y se enriquecieron con el vector L. Las muestras se evaluaron por duplicado por el panel entrenado 2. Los resultados de esta prueba adicional se presentan en la Figura 1.4 y confirman que la adición de alcoholes de fusel (L) cambia dramáticamente los perfiles de aroma de los modelos, lo que induce a una clara pérdida de su carácter a fruta y a madera. Solo algunos perfiles específicos, como NFLM y NAEL, parecen ser capaces de superar dicha supresión, lo cual debería abordarse en futuras investigaciones.

Un aspecto final que debe mencionarse es la existencia de “perfiles estables”, como las combinaciones NAM o AEM; como se muestra en la Figura 1.2, la adición del cuarto vector no tiene un efecto dramático, ya que todos los modelos derivados (NAEM, NAFM, AFEM y AELM) mantienen un carácter de madera y a frutas pasas y se proyectan juntos en la gráfica de CA de la Figura 1.2 (área superior central). Se puede suponer que en las mezclas que contienen tripletes estables, el triplete ya tiene un aroma característico y que la adición del cuarto vector tiene un papel secundario.

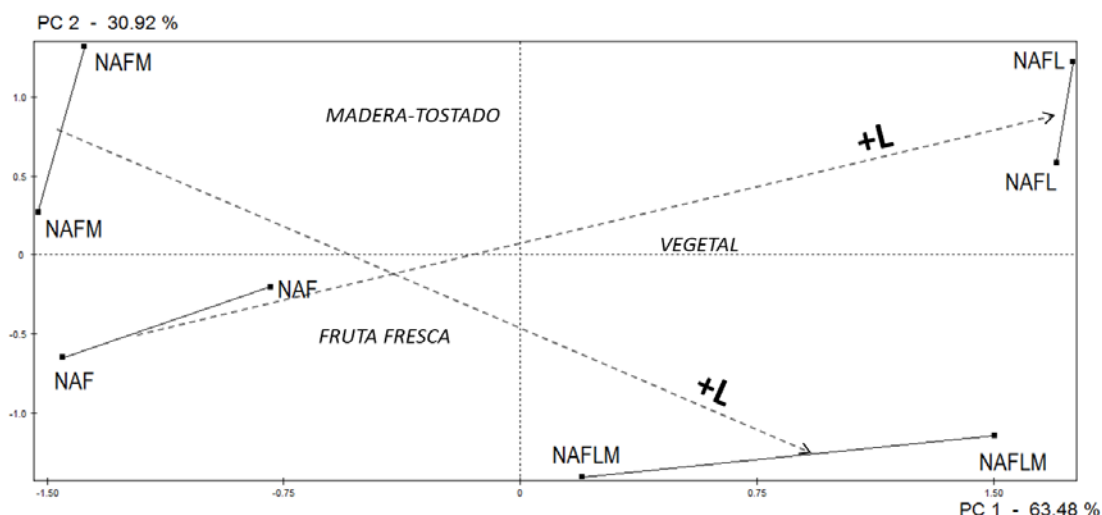


Figura 1.4. Proyecciones de los descriptores de aroma y los vinos modelo para las dos primeras componentes del espacio del PCA obtenido con los descriptores dados por el panel 2 para evaluar el efecto del vector de alcoholes (L) en los vinos modelos con carácter frutal (NAF vs NAFL) y con madera (NAFM vs NAFML).

4. Conclusiones

1. La estrategia de reconstitución con modelos de vino desaromatizados se confirma como una herramienta adecuada para la investigación del aroma del vino.
2. Los seis vectores de aroma considerados son capaces de reproducir satisfactoriamente cuatro notas sensoriales principales del vino tinto (“frutas rojas”, “frutas negras”, “frutas pasas” y “madera”), lo que demuestra la implicación de los 15 componentes del aroma incluidos en los vectores que explican estas notas.
3. Los vectores individuales que actúan de manera unívoca pueden explicar una fracción reducida del espacio sensorial (alrededor del 15 %), lo que demuestra que la mayor parte de las propiedades del aroma son en realidad causadas por interacciones perceptuales entre los vectores.
4. La β -damascenona y β -ionona (vector N) y los alcoholes de fusel (vector L) son las piezas clave. El primero tiene una influencia positiva en las “frutas pasas”, “frutas

negras” y “tostado” y ejerce un efecto de supresión sobre las “frutas rojas”. Este último ejerce una influencia positiva en el atributo “floral” y un fuerte efecto de supresión en “frutas rojas”, “tostado” y particularmente en notas a “madera”.

5. El furaneol y el homofuraneol (F) desempeñan un importante papel positivo en las “frutas rojas” y uno menor en las “frutas negras”.
6. Los ácidos grasos ramificados (A) ejercen un efecto de supresión sobre las “frutas negras” y un efecto potenciador en las “frutas rojas” y “frutas pasas” al reducir los efectos de supresión de otros factores. Los ésteres etílicos ramificados (E) suprimen las “frutas pasas” e interactúan con otros factores que modulan las “frutas negras”.

El presente trabajo proporciona pistas importantes para el control y la mejora del aroma del vino durante la vinificación. Los niveles de alcoholes de fusel, ácidos grasos ramificados y sus ésteres etílicos se pueden controlar ajustando los niveles de nitrógeno asimilables y la composición de aminoácidos en los mostos de uva. Se puede ejercer un control adicional a través de levaduras y/o bacterias capaces de modular la formación de esos compuestos. Los niveles de norisoprenoides pueden controlarse mediante diferentes acciones en la vid o mediante el uso de levaduras o bacterias con diferentes actividades β -glucosidasas. Los niveles de enolonas pueden estar relacionados con la uva y también pueden controlarse eligiendo el tipo adecuado de madera de roble utilizado para el envejecimiento, como es el caso de la whiskylactona y el eugenol.

5. Referencias

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: Odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, 30(3), 209-217.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2005). Perception of wine fruity and woody notes: influence of peri-threshold odorants. *Food Quality and Preference*, 16(6), 504-510.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 476-482.

Bisgaard, S. (1988). *A practical aid for experiments*. Madison, WI (USA).

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.

Campo, E., Do, B. V., Ferreira, V., & Valentin, D. (2008). 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.

Coetzee, C., Brand, J., Emerton, G., Jacobson, D., Ferreira, A. C. S., & du Toit, W. J. (2015). Sensory interaction between 3-mercaptohexan-1-ol, 3-isobutyl-2-methoxypyrazine and oxidation-related compounds. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(2), 179-188.

Charters, S., & Pettigrew, S. (2007). The dimensions of wine quality. *Food Quality and Preference*, 18(7), 997-1007.

Darriet, P., Tominaga, T., Lavigne, V., Boidron, J. N., & Dubourdieu, 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.

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.

Ferreira V, E. A., Campo E, Cacho J. (2008). The chemical foundations of wine aroma - a role game aiming at wine quality, personality and varietal expression. In P. J. W. R.J. Blair, I.S.Pretorius (Ed.), *13th Australian Wine Industry Technical Conference*, (pp. 142-150). Adelaide.

Francis, I. L., & Newton, J. L. (2005). Determining wine aroma from compositional data. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(2), 114-126.

Langlois, J., Ballester, J., Campo, E., Dacremont, C., & Peyron, D. (2010). Combining olfactory and gustatory clues in the judgment of aging potential of red wine by wine professionals. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(1), 15-22.

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.

Le Berre, E., Beno, N., Ishii, A., Chabanet, C., Etievant, P., & Thomas-Danguin, T. (2008). Just noticeable differences in component concentrations modify the odor quality of a blending mixture. *Chemical Senses*, 33(4), 389-395.

- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2012). Impact of perceptive interactions on red wine fruity aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(50), 12260-12269.
- Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(36), 8504-8513.
- Lytra, G., Tempere, S., Zhang, S. Y., 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.
- 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.
- Moskowitz, H. R., & Barbe, C. D. (1977). Profiling of odor components and their mixtures. *Sensory Processes*, *1*(3), 212-226.
- Mueller, S., Osidacz, P., Francis, I. L., & Lockshin, L. (2010). Combining discrete choice and informed sensory testing in a two-stage process: Can it predict wine market share? *Food Quality and Preference*, *21*(7), 741-754.
- Parr, W. V., Heatherbell, D., & White, K. G. (2002). Demystifying wine expertise: Olfactory threshold, perceptual skill and semantic memory in expert and novice wine judges. *Chemical Senses*, *27*(8), 747-755.
- 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.
- Pineau, B., Barbe, J. C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(9), 3702-3708.
- Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Culleré, L., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D., & Ferreira, V. (2010). Effects of the nonvolatile matrix on the aroma perception of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(9), 5574-5585.
- Saenz-Navajas, M. P., Ballester, J., Pecher, C., Peyron, D., & Valentin, D. (2013). Sensory drivers of intrinsic quality of red wines Effect of culture and level of expertise. *Food Research International*, *54*(2), 1506-1518.
- Saenz-Navajas, M. P., Campo, E., Fernandez-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.
- Saenz-Navajas, M. P., Gonzalez-Hernandez, M., Campo, E., Fernandez-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Orthonasal aroma characteristics of Spanish red wines from different price categories and their relationship to expert quality judgements. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *18*(3), 268-279.

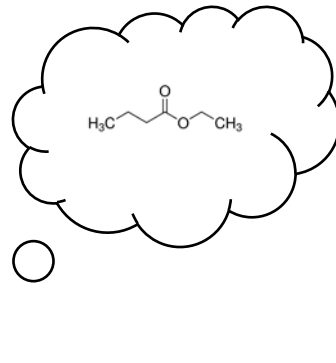
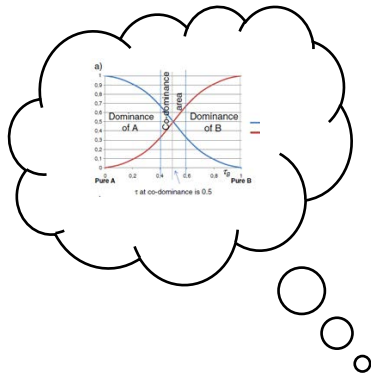
Saenz-Navajas, M. P., Martin-Lopez, C., Ferreira, V., & Fernandez-Zurbano, P. (2011). Sensory properties of premium Spanish red wines and their implication in wine quality perception. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(1), 9-19.

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.

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.

Selfridge, T. B., & Amerine, M. A. (1978). Odor thresholds and interactions of ethyl-acetate and diacetyl in an artificial wine medium. *American Journal of Enology and Viticulture*, 29(1), 1-6.

Varela, P., & Gambaro, A. (2006). Sensory descriptive analysis of Uruguayan Tannat wine: Correlation to quality assessment. *Journal of Sensory Studies*, 21(2), 203-217.



Sección II:

Estudio de la importancia sensorial de los alcoholes superiores en el aroma del vino

SECCIÓN II.- Capítulo 1

Efecto de los alcoholes superiores en la percepción del aroma del vino tinto

1. Introducción

La fracción volátil del vino, como cualquier producto procedente de la fermentación alcohólica, contiene no solo alcohol, sino también los principales metabolitos de la fermentación alcohólica, tales como alcoholes superiores y sus acetatos, ácidos grasos volátiles y sus ésteres etílicos, ácidos grasos ramificados y sus ésteres etílicos, acetoína, diacetilo o acetaldehído. Esta compleja mezcla de compuestos volátiles, la mayoría de los cuales se encuentran naturalmente presentes en concentraciones muy por encima de su umbral sensorial, exhibe un aroma específico definido con términos como “vinoso” o “fermentado”. En esta mezcla, los atributos del aroma de los componentes individuales suelen ser difícilmente reconocibles, por ello puede asegurarse que esto constituye un objeto de olor, como fue definido por Yeshurun y Sobel (2010). Esta mezcla posee las propiedades de un búfer aromático (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004), ya que la omisión de alguno de los componentes de la mezcla puede ser difícilmente detectable (Ferreira, Ortin, Escudero, Lopez, & Cacho, 2002; Guth, 1997), y la adición de varios compuestos de aroma puede producir un efecto mucho menos intenso de lo que *a priori* se espera. A pesar de este hecho, las diferentes familias de compuestos de aroma que componen esta mezcla juegan papeles específicos diferentes en la percepción del aroma del vino, así como en su calidad. Por ejemplo, se ha demostrado que los ácidos grasos son esenciales para la percepción del aroma a fruta fresca (San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011), se ha encontrado también que los ácidos ramificados suprimen el carácter

animal de los etilfenoles (Romano, Perello, Lonvaud-Funel, Sicard, & de Revel, 2009), mientras que los acetatos y los ésteres etílicos de los alcoholes fusel son esenciales para proporcionar el aroma frutal al vino (Ferreira, Fernandez, Pena, Escudero, & Cacho, 1995; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013; Pineau, Barbe, Van Leeuwen, & Dubourdieu, 2009). Sin embargo, no se ha estudiado sistemáticamente el papel jugado por los alcoholes superiores, uno de los principales constituyentes de la fracción volátil del vino. Solo algunos artículos recientes, posteriores a la realización del presente trabajo, abordan parte de esta cuestión (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015).

Los alcoholes superiores son también conocidos como alcoholes de fusel. La palabra fusel hace referencia a la fracción obtenida durante la destilación de productos fermentados y cuyo olor es muy fuerte y desagradable. Fusel, de hecho, es el término alemán que se refiere al licor malo (Hazelwood, Daran, van Maris, Pronk, & Dickinson, 2008). Ésta puede ser la razón por la que no hay estudios específicos dirigidos a su estudio. Muchos investigadores citan un artículo publicado por Rapp y Versini (1991), anteriormente propuesto por Etievant, que subraya que una concentración total inferior a 300 mg/L de alcoholes superiores puede contribuir positivamente al perfil aromático de los vinos, aumentando las notas frutales y florales y la complejidad aromática, mientras que niveles superiores a 400 mg/L tienen un efecto negativo causado por la aparición de notas punzantes y desagradables (Etievant, 1991). Hasta lo que nosotros conocemos, estos supuestos no han sido respaldados por ningún estudio de investigación.

Posteriormente, por medio de modelos PLS, Aznar, Lopez, Cacho y Ferreira (2003) sugirieron que el alcohol isoamílico y el isobutanol estaban positivamente relacionados con las notas a vegetal o pimiento en vinos tintos envejecidos, y negativamente relacionado con la intensidad de los atributos tostado y madera. Usando una estrategia similar, San Juan y colaboradores (2011) observaron que los alcoholes superiores parecían estar negativamente

relacionados con la calidad de vinos jóvenes o de bajo precio, pero no en vinos premium, incluso si éstos se encontraban en niveles similares en ambos grupos de datos. Un estudio posterior de Sáenz-Navajas y colaboradores (2015) concordaba parcialmente con estos resultados. Ellos observaron que los vinos con altos niveles de isobutanol y alcohol isoamílico fueron puntuados con menor puntuación de calidad evaluada por un panel de expertos. Ninguna de todas estas hipótesis y observaciones ha sido comprobada con posterioridad. Recientemente, un estudio de Cameleyre y colaboradores (2015) ha demostrado que la adición de propanol, isobutanol, butanol, y 2- y 3-metilbutanol sobre una disolución alcohólica que contenía 13 esteres frutales generaba un descriptor a disolvente o butírico asociado a la presencia de tales alcoholes. Sugirieron que este aroma competía con las notas a fruta fresca de la mezcla de ésteres, cuyo resultado fue un descenso de la intensidad del carácter a fruta fresca. Por otro lado, algunos autores han sugerido además que el alcohol isoamílico y el β -feniletanol eran compuestos impacto en los vinos Negroamaro (Capone, Tufariello, & Siciliano, 2013), mientras Gomez-Miguez y colaboradores (2007) observaron que el alcohol isoamílico era uno de los compuestos con un impacto sensorial más potente en los vinos de Zalema.

Por lo tanto, la literatura científica no tiene una conclusión unánime sobre el papel que juegan los alcoholes superiores en el aroma del vino. Aunque las evidencias parecen estar a favor del papel negativo de éstos, hay muchas cuestiones abiertas sobre la naturaleza sensorial de dicho papel, así como sobre el papel que juega cada uno de los alcoholes encontrados en la fracción volátil del vino y a que niveles de concentración. Este trabajo, por lo tanto, tiene como objetivo la caracterización sensorial de los efectos jugados por los alcoholes superiores más potentes aromáticamente en el vino (isobutanol, alcohol isoamílico, β -feniletanol y metionol), así como entender su relevancia en diferentes

contextos aromáticos para conocer el papel jugado por los diferentes alcoholes superiores en contextos de vinos tintos.

2. Materiales y métodos

2.1. Compuestos y estándares

Disolventes: Se adquirieron etanol de calidad LiChrosolv, éter dietílico y n-pentano en Merck (Darmstadt, Alemania), el isooctano fue adquirido en Panreac (Barcelona, España). El agua pura fue obtenida de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, Bedford, MA).

Estándares: Los estándares químicos de la mayor pureza posible fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Madrid, España) y Firmenich (Ginebra, Suiza).

Reactivos: El ácido tartárico y el hidróxido de sodio fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España).

2.2. Preparación de los vinos modelos

2.2.1. Aislamiento y purificación de los alcoholes superiores

Paso 1. Extracción reactiva sólido-líquido: Cada estándar comercial fue mezclado con la mínima cantidad necesaria de un polímero que contenía unidos grupos Sulfonyl hidracina (Sigma-Aldrich). Las cantidades fueron: 2 g/10 mL para el alcohol isoamílico, el isobutanol y el β -feniletanol, y 0,5 g/2 mL para el metionol. Esta mezcla fue agitada durante 4 h y posteriormente filtrada a través de un filtro de jeringa de nylon de 0,45 μ m. El percolado fue analizado por Cromatografía de gases acoplada a un detector de masas de captura de iones para confirmar la ausencia de aldehídos.

Paso 2. Cromatografía líquida semi-preparativa: El aislamiento del metionol final fue llevado a cabo mediante una cromatografía líquida semi-preparativa (HPLC) con Silica gel

60, adquirido a Merck (Damstadt, Alemania), de un tamaño de partícula de 40-63 μm y empaquetado en una columna Omnifit (25 mm d.i. x 450 mm), operando a una temperatura de 20 °C con una velocidad de flujo de 8 mL/min y una fase móvil formada por n-pentano (A), dietil éter (B) e isooctano (C). El perfil de gradientes de la fase móvil se puede encontrar en la Tabla 2.1. El volumen de inyección de metionol fue de 2 mL. Se recogió la fracción pura de metionol (eluída a las 3 h y 42 min hasta las 4 h 26 min) y se eliminó el disolvente.

Tabla 2.1. Perfil de gradientes de la fase móvil en la metodología HPLC aplicada en la purificación del metionol

Tiempo (min)	Gradiente (%)		
	A	B	C
0-29	100	0	0
29-57	99	1	0
57-85	98	2	0
85-114	95	5	0
114-142	90	10	0
145-173	80	20	0
178-206	50	50	0
211-239	0	100	0
239-249	0	0	100

Paso 3. Método de cromatografía de gases acoplado a olfatometría. Confirmación de la pureza sensorial de los estándares: Se inyectó 1 μL de estándar diluido al 1% en diclorometano en modo splitless (tiempo de splitless de 60 segundos) en un cromatógrafo de gases Trace GC (ThermoQuest, Milán, Italia) con un detector de ionización a la llama (FID) y un puerto olfatométrico ODO-I de SGE (Ringwood, Australia). Se empleó una columna capilar polar DB-WAX (polietilenglicol) suministrada por J&W (Folsom, CA, Estados Unidos), de dimensiones 30 m x 0,32 mm d.i. x 0,5 mm de espesor de fase, a la que estaba unida una precolumna desactivada de dimensiones 3 m x 0,32 mm d.i. suministrada por Supelco (Bellefonte, PA). El gas portador empleado fue el hidrógeno, con

un flujo constante de 3,5 mL/min. Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron constantes a 250 °C. La rampa de temperatura del horno empleada en el análisis fue como sigue: 40 °C durante 5 min, aumentando a 4 °C/min hasta 100 °C y luego un incremento de 6 °C/min hasta 220 °C, manteniéndolo a esa temperatura durante 10 min.

Se empleó un panel de jueces entrenados (2 hombres y cuatro mujeres, de edades comprendidas entre los 26 y los 29 años, y con una media de 26 años) que llevaron a cabo la olfacción de los extractos. A los participantes se les pidió que proporcionaran un descriptor que caracterizara al olor que eluía y que anotaran la intensidad de éste usando una escala de intensidad de siete puntos (0 = no hay olor; 1 = olor débil o baja intensidad; 2 = percepción clara del olor u olor fuerte; 3 = olor extremadamente intenso; se permitió el uso de los valores intermedios con un intervalo de 0,5 puntos).

2.2.2. Preparación de los vinos modelo (WM)

Se prepararon vinos modelo mediante la mezcla de un conjunto de compuestos comúnmente presentes en el vino (volátiles y no volátiles). Esta mezcla, con aroma frutal, se mezcló posteriormente con unos de los siguientes vectores de aroma: frutal (F), madera (M), animal (A) o humedad/corcho (H). Estos últimos vectores se añadieron a dos posibles niveles de concentración (alto o bajo) tal y como se puede ver en la Tabla 2.2. En total, se prepararon ocho vinos modelo: F (vector frutal a alta concentración), f (sin adición de un vector adicional), M (vector madera a alta concentración), m (vector madera a baja concentración), A (vector animal a alta concentración), a (vector animal a baja concentración), H (vector humedad/corcho a alta concentración), h (vector humedad/corcho a baja concentración). Para estudiar el efecto de los alcoholes en cada uno de los ocho vinos modelos, se generaron tres vectores de alcoholes (alcohol isoamílico/isobutanol: I; β -feniletanol: B; y metionol: T) que fueron añadidos a altos (I, B,

Tabla 2.2. Composición de los vinos modelo (mg/L) y la codificación para cada vector

Compuesto		Concentración	
Mezcla de compuestos que conforman el aroma base común	Ácido acético	150	
	Acetato de etilo	50	
	Ácido hexanoico	2,0	
	Ácido 3-metilbutírico	0,30	
	2,3-butanodiona	0,40	
	Hexanoato de etilo	1,0	
	Acetato de isoamilo	1,0	
	2-metilbutanoato de etilo	0,12	
	Vanillato de etilo	0,25	
	vanillina	0,070	
	γ -nonalactona	0,020	
	guaiacol	0,010	
	β -damascenona	0,0040	
β -ionona	0,00030		
No volatil	Ácido tartárico	5000	
	Glicerol	10000	
	Ácido tánico	50	
	Quinina	7,0	
	Goma arábica	75	
VECTOR	Compuesto	Baja concentración	Alta concentración
FRUTAL		(f)	(F)
	2,3-butanodiona	-	14
	Acetato de isoamilo	-	5,5
	Acetato de etilo	-	50
	Cinamato de etilo	-	0,12
	β -damascenona	-	0,0030
MADERA		(m)	(M)
	Whiskylactona	0,15	0,30
	Vanillina	0,050	0,10
	Eugenol	0,0075	0,015
	Guaiacol	0,0075	0,015
	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona	0,050	0,10
HUMEDAD/ CORCHO	2,4,6-tricloroanisol	(h) 4,0	(H) 11
ANIMAL		(a)	(A)
	4-etilfenol	35	100
	4-etilguaiacol	4,5	13
ALCOHOL ISOAMÍLICO/ ISOBUTANOL		(i)	(I)
	Alcohol isoamílico	110	360
	Isobutanol	20	70
β -FENILETANOL	β -feniletanol	(b) 15	(B) 80
METIONOL	Metionol	(t) -	(T) 1,5

T) o a bajos (i, b, t) niveles de concentración. El alcohol isoamílico y el isobutanol formaron parte del mismo vector (I) ya que ellos comparten un descriptor similar (notas alcohólicas), además, ellos siempre aparecen juntos en vinos reales y se han encontrado repetidamente en una ratio 5:1 en vinos comerciales inoculados con levaduras *Saccharomyces* (Amerine & Joslyn, 1970; Lee & Cooley, 1981; Yoshizawa, K., 1966).

En términos de codificación de las muestras, la primera letra establece el nivel de concentración del vector añadido al vino modelo siendo las letras minúsculas (f, m, a, h) cuando se adiciona a baja concentración, o las mayúsculas (F, M, A, H) cuando es añadido a alta concentración. Las siguientes tres letras indican el nivel de concentración de cada uno de los vectores de alcoholes siguiendo el mismo patrón de codificación (minúsculas para el nivel bajo y mayúsculas para el alto). Por ejemplo, M_Ibt significa que este es el vino modelo formado por el vector madera a alta concentración (M), el vector alcohol isoamílico/isobutanol a alta concentración (I) y una baja concentración de los vectores β -feniletanol (b) y metionol (t).

El contenido final de etanol de los WM se ajustó al 12 % (v/v) y se estableció un pH = 3,5. La concentración de los compuestos presentes en el vino modelo (Tabla 2.2) varían dentro del rango natural presente en vinos tintos comerciales, siendo éstas las concentraciones medias encontradas en muestras comerciales (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012).

2.3. Análisis sensorial

2.3.1. Determinación del umbral sensorial de las muestras de β -feniletanol

Muestras: Se prepararon doce series de tres muestras conteniendo dos muestras sin dopar (control, formada por vino sintético al 12 % de etanol, 5 g/L de ácido tartárico y con un pH = 3,5) y una muestra dopada con el estándar de β -feniletanol antes y después de su

purificación. Las concentraciones de este alcohol se encontraban en el rango desde los 0,9 a los 51,2 mg/L, preparando diluciones 1:1,5 entre estos dos extremos.

Participantes: Esta tarea fue llevada a cabo por un total de doce participantes (4 hombres y 8 mujeres, con edades comprendidas entre los 23 y los 38 años, media de 28 años de edad), pertenecientes al personal del laboratorio y con una larga experiencia en la descripción del aroma del vino.

Procedimiento: El umbral de detección sensorial de los estándares de β -feniletanol antes y después de la purificación se calculó siguiendo una tarea de elección forzada o *three-alternative forced choice* (3-AFC) (ASTM E-679) como la descrita por Lawless y Heymann (2010). Según esta tarea, a los panelistas se les presentaron un total de 12 series de tres muestras conteniendo dos muestras control y una muestra dopada, presentadas en orden ascendente de concentración. Para cada serie se les pidió a los panelistas que olieran las tres muestras de manera ortonasal y de izquierda a derecha e indicaran cuál de ellas era diferente de las otras tres (ver consignas en Figura 2.1 del Anexo 2). Para todos los tests se estableció un volumen de muestra de 15 mL (20 ± 1 °C) y se les presentó en copa negra según la normativa ISO, codificadas con un código de tres cifras y cubiertas con una placa Petri según un orden aleatorio y diferente para cada juez. El orden de presentación de las muestras dentro de cada serie también fue aleatorio.

2.3.2. Test triangulares

Se llevaron a cabo dos series de test triangulares (Tests A y B) con dos objetivos diferentes. En los tests A se evaluó el efecto conjunto de los tres vectores de alcoholes en cada uno de los ocho vinos modelo (F_ibt vs F_IBT; M_ibt vs M_IBT; A_ibt vs A_IBT; H_ibt vs H_IBT). En los tests B se llevó a cabo el estudio del efecto individual de cada vector de alcoholes.

Muestras:

Tests A: Se prepararon dieciséis vinos modelo diferentes (Tabla 2.3): ocho vinos modelo (M, m, F, f, A, a, H, h) con los tres vectores de alcoholes (alcohol isomilico/isobutanol, β -feniletanol y metionol) en alto nivel de concentración (IBT) y otros ocho vinos modelo con bajo nivel de concentración (ibt).

Tests B: Se prepararon treinta y dos vinos modelo (Tabla 2.3): cuatro vinos modelo con los vectores exclusivamente a alta concentración (M, F, A, H) con ocho diferentes combinaciones de cada vector de alcoholes (ibt, Ibt, iBt, IbT, iBT, IbT, iBT, IBT) siguiendo la conformación de la Figura 2.1.

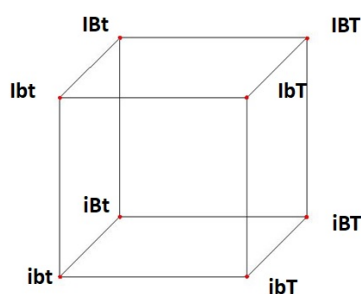


Figura 2.1. Esquema de los vectores de alcoholes con sus diferentes niveles de concentración

Participantes: Estos tests fueron llevados a cabo por un panel formado por doce sujetos (3 hombres y 9 mujeres, con un rango de edad comprendido entre los 23 y los 37 años de edad, y una media de 29 años) pertenecientes al personal del laboratorio y con una larga experiencia en la descripción del aroma del vino.

Procedimiento: Para los test triangulares, se presentaron tres copas a cada juez y se les pidió que olieran cada muestra de manera ortonasal y que seleccionaran aquella que era diferente

Tabla 2.3. Test triangulares realizados para comprobar el efecto de los alcoholes superiores (I: isobutanol/alcohol isoamilico, B: β -feniletanol, T: metionol) en los diferentes vinos modelo.

Tests A	Vino modelo	Vinos confrontados	P ^a
A. 1	Alta madera (M)	M_IBT vs M_ibt	< 0,05
A. 2	Baja madera (m)	m_IBT vs m_ibt	< 0,1
A. 3	Alta fruta (F)	F_IBT vs F_ibt	< 0,01
A. 4	Baja fruta (f)	f_IBT vs f_ibt	ns
A. 5	Alta humedad (H)	H_IBT vs H_ibt	< 0,05
A. 6	Baja humedad (h)	h_IBT vs h_ibt	ns
A. 7	Alto animal (A)	A_IBT vs A_ibt	< 0,05
A. 8	Bajo animal (a)	a_IBT vs a_ibt	< 0,05
Tests B	Vino modelo	Vinos confrontados	P ^a
B. 1		M_Ibt vs M_ibt	< 0,001
B. 2		M_ibT vs M_ibt	ns
B. 3		M_ibT vs M_ibt	< 0,1
B. 4	Alta madera (M)	M_IBt vs M_IBt	ns
B. 5		M_iBT vs M_ibT	ns
B. 6		M_Ibt vs M_IbT	ns
B. 7		M_IbT vs M_IBT	ns
B. 8		F_Ibt vs F_ibt	< 0,001
B. 9		F_ibT vs F_ibt	ns
B. 10		F_ibT vs F_ibt	ns
B. 11	Alta fruta (F)	F_IBt vs F_Ibt	ns
B. 12		F_iBT vs F_ibt	< 0,1
B. 13		F_Ibt vs F_IbT	ns
B. 14		F_Ibt vs F_IBT	ns
B. 15		H_Ibt vs H_ibt	< 0,001
B. 16		H_ibT vs H_ibt	ns
B. 17		H_ibT vs H_ibt	ns
B. 18	Alta humedad (H)	H_IBt vs H_Ibt	ns
B. 19		H_iBT vs H_ibt	ns
B. 20		H_Ibt vs H_IbT	ns
B. 21		H_Ibt vs H_IBT	ns
B. 22		A_Ibt vs A_ibt	< 0,001
B. 23		A_ibT vs A_ibt	ns
B. 24		A_ibT vs A_ibt	ns
B. 25	Alto animal (A)	A_IBt vs A_Ibt	ns
B. 26		A_iBT vs A_ibt	ns
B. 27		A_Ibt vs A_IbT	ns
B. 28		A_Ibt vs A_IBT	ns

^a Nivel de significatividad; ns: no significativo. Efecto significativo marcado en negrita ($P < 0,05$).

(ver consignas en Figura 2.2 del Anexo 2). Para todos los test se presentaron 15 mL de muestra en copa negra según la normativa ISO, etiquetadas con un número aleatorio de tres cifras y cubiertas con una placa Petri siguiendo un orden aleatorio y diferente para cada juez. En los Tests A, se confrontó cada vino modelo con alta (IBT) concentración de

alcoholes con su correspondiente con baja (ibt) concentración (Tabla 2.3). Se realizaron ocho comparaciones *IBT* vs *ibt* (una por vino modelo), por duplicado y siguiendo un diseño de bloque completo. Para el test B, se llevaron a cabo veintiocho test triangulares con todos los jueces (siguiendo un diseño de bloque completo). En este caso se confrontaron muestras con el vector de alcoholes individual a alta o baja concentración para cada vino modelo (M, F, A, H) (Tabla 2.3).

Generación de atributos: En el test B, para aquellos casos en los que se detectaron diferencias significativas, se les preguntó a los panelistas que citaran libremente el descriptor que generaba esas diferencias sensoriales. Estos descriptores fueron recogidos y posteriormente empleados en la siguiente tarea de análisis descriptivo. Solo se consideraron los descriptores para aquellos panelistas que proporcionaron respuestas correctas en los test triangulares.

2.3.3. Análisis descriptivo

Muestras: Ocho vinos fueron descritos sensorialmente: M_ibt, M_Ibt, F_ibt, F_Ibt, H_ibt, H_Ibt, A_ibt y A_Ibt.

Participantes: La tarea fue llevada a cabo por quince panelistas semi-entrenados (5 hombres y 10 mujeres, con edades comprendidas entre los 23 y los 59 años, y una media 34 años) pertenecientes al personal del laboratorio y con una larga experiencia en descripción del aroma.

Procedimiento: Se llevó a cabo el análisis descriptivo según la técnica del Perfil Descriptivo Optimizado o *Optimized Descriptive Profile* (ODP) (da Silva, Minim, Simiqueli, Moraes, Gomide, & Minim, 2012) pero con algunas modificaciones. Cada participante asistió a 11 sesiones de 15 minutos de duración. En la primera sesión, los panelistas se familiarizaron con los 5 vectores de aroma (frutal, madera, animal, humedad/corcho y alcohol

isoamílico/isobutanol) y posteriormente los describieron. Para ello, a los panelistas se les presentó una lista con 19 atributos (generados durante el test triangular B) junto con cinco copas de vino que contenían los cinco vectores de aroma puros (Tabla 2.2). Se les pidió que olieran ortonasalmente cada una de las muestras y que eligieran un máximo de dos atributos de la lista propuesta (ver consignas Figura 2.3 del Anexo 2). Solo se consideraron aquellos atributos citados por al menos un 20 % del panel. Los cinco descriptores asociados a cada uno de los cinco vectores derivados de esta sesión fueron fresa/láctico/fruta roja (para el vector frutal), cuero/animal/tinta (para el vector animal), coco/madera/vainilla (para el vector madera), humedad/TCA (para el vector humedad/corcho) y alcohol/disolvente (para el vector de alcoholes alcohol isoamílico/isobutanol).

En las siguientes 10 sesiones, a los panelistas se les pidió que olieran los ocho vinos modelo ortonasalmente y que puntuaran la intensidad de cada uno de los cinco atributos (un atributo por sesión y por duplicado) en una escala no estructurada continua de 10 cm de longitud y marcada con las palabras “ausencia” y “alta intensidad” en los extremos izquierdo y derecho, respectivamente, siendo estos también elegibles (ver consignas en Figura 2.4 del Anexo 2). Durante la evaluación, tuvieron a su disposición los materiales de referencia (“alta intensidad” con el vector de aroma puro y “ausencia” con una disolución hidroalcohólica) para el atributo dado. De hecho, se les impuso oler primero las referencias y posteriormente realizar la evaluación sobre las escalas de las ocho muestras, para permitir a los panelistas comparar las muestras con los materiales de referencia.

Todas las muestras fueron presentadas simultáneamente según un orden aleatorio y diferente para cada juez. Se presentaron 15 mL de muestra en copa negra (según la normativa ISO 3591, 1977) y etiquetadas con códigos aleatorios de tres cifras y cubiertas con una placa Petri. Todos los vinos modelo fueron servidos en una sala a temperatura

ambiente y fueron evaluados en cabinas individuales. Los panelistas no fueron informados sobre la naturaleza de las muestras que iban a ser evaluadas.

2.4. Análisis de datos

2.4.1. Método GC-O: Confirmación de la pureza sensorial de los estándares

Los datos procesados fueron calculados teniendo en cuenta la intensidad y la frecuencia de detección de cada odorante. Este parámetro, llamado frecuencia modificada, es denotado como FM y se calcula siguiendo la ecuación de Dravnieks (1985):

$$\% FM = \sqrt{Fr (\%) \times \bar{I} (\%)}$$

donde Fr (%) es la frecuencia de detección del odorante expresado como porcentaje del número total de jueces ($n = 6$) e \bar{I} (%) es la intensidad media expresada como porcentaje de la intensidad máxima.

2.4.2. Umbral de detección sensorial

Para comenzar, se calculó un umbral individual para cada panelista calculando la media geométrica de dos concentraciones (la raíz cuadrada del producto de los dos valores). Un valor fue la concentración a la cual ellos respondieron correctamente y donde las concentraciones superiores también fueron correctas. El otro valor fue la concentración justo inferior (último juicio incorrecto). La media de los valores individuales fue considerada como el umbral sensorial.

Se calculó el test t por parejas de una cola para las diferencias de los umbrales individuales para el estándar antes y después de la purificación (expresado como el logaritmo de la concentración) para evaluar las diferencias entre ambos umbrales sensoriales (para un nivel de significatividad de 0,05).

2.4.3. Test triangulares

Se comparó el número de respuestas correctas con los valores tabulados (distribución binomial) para evaluar la presencia de diferencias sensoriales significativas entre las muestras confrontadas.

2.4.4. Análisis descriptivo

Rendimiento del panel: Se realizó un ANOVA de 3 factores que incluía a las muestras (S), jueces (J) y repeticiones (R) como factores fijos y se calcularon todas las interacciones de primer orden (Tabla 2.4). El efecto juez (J) fue significativo para tres atributos. Este efecto es comúnmente encontrado en análisis sensorial y puede ser explicado en términos de diferencias fisiológicas inter-individuo. El efecto muestra (S) fue significativo para todos los atributos, lo que sugiere que los cinco atributos fueron útiles en la caracterización de las diferencias entre este set de muestras y confirmaba la habilidad de discriminación del panel. El efecto réplica (R) fue significativo para los atributos humedad/TCA y alcohol/disolvente, mientras ninguna de las interacciones muestra x replica (S x R) fue significativa, indicando una evaluación consistente de los cinco atributos y reflejando la reproducibilidad del panel. Las interacciones muestra x juez (S x J) fueron significativas para la mayoría de los atributos. Por ello, se realizó un PCA para cada uno de estos atributos (jueces en columnas y muestras en filas) mostrando que la primera componente explicaba la mayoría de la varianza original (> 60 %) para todos los casos. Esto, junto con el hecho de que las proyecciones de los jueces se agrupaban juntas en el gráfico, indica que estas interacciones fueron principalmente debidas al desacuerdo en el uso de la escala. Estos resultados demuestran la consistencia del panel (acuerdo) en la interpretación de los atributos evaluados. En resumen, el rendimiento del panel, evaluado en términos de

Efecto de los alcoholes superiores en la percepción del aroma de vino tinto

habilidad de discriminación, reproducibilidad y consistencia del panel, fue confirmado para los cinco atributos evaluados.

Tabla 2.4. Modelo ANOVA fijado para la evaluación de los atributos (15 jueces) para los cinco atributos (gl, grados de libertad; F, valor F; P, valor de significatividad P)

	Juez (J) (gl=14)		Muestra (S) (gl= 7)		Réplica (R) (gl= 1)		S*J (gl= 98)		S*R (gl = 7)		J*R (gl = 14)	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Fresa/Láctico/Fruta roja	4,7	<0,001	39	<0,001	0,00	0,95	1,4	0,037	0,85	0,55	0,76	0,71
Coco/Madera/Vainilla	4,4	<0,001	32	<0,001	0,06	0,81	1,1	0,29	0,66	0,70	0,69	0,78
Cuero/Animal/Tinta	1,8	0,090	29	<0,001	4,0	0,058	1,9	0,001	0,73	0,65	2,0	0,024
Humedad/TCA	2,4	0,031	20	<0,001	5,6	0,030	1,7	0,007	0,60	0,76	1,1	0,36
Alcohol/Disolvente	0,65	0,81	2,1	0,050	8,5	0,005	3,4	<0,001	0,61	0,74	1,3	0,22

*Efectos significativos marcados en negrita

Caracterización del producto: las puntuaciones obtenidas para cada atributo fueron sometidas a un análisis de la varianza de dos factores (jueces como factor aleatorio y vino como factor fijo). Se realizó posteriormente un análisis de componentes principales (PCA) con las puntuaciones de intensidad medias sobre los panelistas para los cinco atributos significativos. Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando XLSTAT (Addinsoft, versión 2015) y Panelcheck (versión 1.4.2, Matforsk).

3. Resultados y discusión

3.1. Aislamiento y purificación de los alcoholes

Uno de los requisitos más importantes para preparar modelos de aroma es poseer estándares de aroma puros de los compuestos a estudiar, libres de cualquier impureza olfativa que pueda desviar las conclusiones. Una impureza puede tener un gran efecto si están presentes a concentraciones muy bajas (Pybus, Sell, & Chemistry, 1999) e incluso el

revisar la pureza del estándar no te garantiza la pureza olfativa de éste. Esta puede ser evaluada mediante GC-O y por medio de análisis cuantitativo de las impurezas esperadas. A través de ambas estrategias fue posible verificar que, en el caso de los alcoholes superiores, incluso en patrones comerciales de la máxima pureza disponible recientemente abiertos, pudieron encontrarse niveles significativos de aroma de los correspondientes aldehídos. Los aldehídos son los productos de oxidación de los alcoholes y se encontraron presentes a niveles muy por debajo del 0,05 % en todos los casos (128 ng/L de isobutiraldehído, en 1 mg/L de isobutanol - 0,0128 % -, 20 ng/L de isovaleraldehído en 1 mg/L de alcohol isoamílico - 0,0020 % -, 12 ng/L de metional en 1 mg/L de metionol - 0,0012 % - y 69 ng/L de benzaldehído y 324 ng/L de fenilacetaldehído en 1 mg/L de β -feniletanol - 0,0324 % -). Sin embargo, alguno de estos aldehídos tiene umbrales de olor entre 3 y 4 órdenes de magnitud por debajo de sus correspondientes alcoholes (Van Gemert, 2003), y de hecho pueden estar presentes a niveles en los que su potencia olfativa es comparable o incluso mayor que la del correspondiente alcohol puro. Esto es particularmente evidente en el caso del β -feniletanol y el fenilacetaldehído. En este caso, el panel encontró un umbral de detección de 4 mg/L en un vino sintético para el supuesto patrón comercial de β -feniletanol. Sin embargo, según el análisis de aldehídos del compuesto en cuestión, se observó que este patrón comercial contenía 1,2 μ g/L de fenilacetaldehído, cuyo umbral sensorial encontrado en la bibliografía corresponde a 1 μ g/L (Gomez-Miguez, Cacho, Ferreira, Vicario, & Heredia, 2007), sugiriendo que el olor del vino sintético no era el del alcohol, sino también el del aldehído presente como impureza minoritaria. Confirmado esto, el umbral sensorial para el estándar de β -feniletanol después de la rigurosa eliminación del fenilacetaldehído fue de 11 mg/L, el cual fue significativamente mayor que los 4 mg/L obtenidos con el supuesto estándar comercial puro. Este resultado confirma que la presencia de impurezas en las disoluciones de

estándares de alcoholes superiores, particularmente la presencia de sus correspondientes aldehídos, es capaz de incrementar falsamente su impacto sensorial. De ahí que todos los alcoholes superiores usados en el presente estudio fueron purificados por una extracción en fase sólida reactiva y una cromatografía rápida con sílica gel.

3.2. Análisis sensorial

3.2.1. *Test triangulares (Test A)*

Para obtener una primera valoración sobre la relevante importancia de los alcoholes superiores en el aroma del vino, se prepararon ocho vinos modelos diferentes que contenían un aroma base formado por 14 compuestos de aroma (Tabla 2.2), al que se le adicionaron uno de los cuatro vectores de aroma (madera - M -, frutal - F -, humedad/corcho - H -, o animal - A -) a dos niveles de concentración diferente y que contenía también un bajo nivel del vector de alcoholes (ibt), el cual se dopó posteriormente con una mezcla que contenía los cuatro alcoholes estudiados. La adición de esta última mezcla llevó el nivel de alcoholes superiores desde bajos hasta altos niveles de alcoholes en las muestras, tal y como se había encontrado en vinos tintos comerciales (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Todos los modelos recreaban satisfactoriamente el aroma de diferentes tipos de vinos tintos. Los modelos que contenían los vectores aromáticos a bajos niveles (m, f, h, a) se caracterizaban por sus aromas débiles definidos como vinosos y ligeramente frutales. Además, el modelo que contenía el vector madera a bajos niveles (m) se definió también como dulce, y el vino modelo que contenía el vector animal a bajos niveles (a) se caracterizó también por sus matices sucios y a animal. Sin embargo, los vinos modelo que contenían los vectores aromáticos a altos niveles (M, F, H, A) tenían unos aromas más definidos a madera, vainilla o coco para el vino M, fresa o fruta roja para el F, humedad o mohoso para el vino H y animal o cuero para el A.

Los resultados del test triangular se pueden ver en la parte superior de la Tabla 2.3 y muestran que el efecto de los alcoholes superiores es extremadamente dependiente de la intensidad de aroma del vino modelo, así como de sus características aromáticas. Como se puede observar en la tabla, las cuatro adiciones llevadas a cabo en modelos que contienen los altos niveles (M, F, H, A) de los cuatro vectores de aroma testados (test A.1, A.3, A.5 y A.7) se detectaron significativamente, mientras que la adición a los modelos que contenían los vectores de aroma a bajos niveles (m, f, h, a) se detectaron de manera significativa solo en el caso del vector A (test A.8), el cual se expresó como el atributo de aroma más claro e intenso (descrito como sucio/animal) de entre los cuatro vectores de aroma. Este resultado es interesante ya que es normal considerar que la presencia de un aroma en un fondo constituido por un aroma diferente es más fácilmente identificada cuanto más baja sea la intensidad del aroma base, como demostraron Kurtz y colaboradores (2009). Según esto, la presencia de altos niveles de alcoholes superiores debería haber sido detectada más fácilmente en los vinos modelo que contenían los vectores aromáticos a bajas intensidades. Sin embargo, tal incapacidad de producir cualquier cambio al adicionar los alcoholes a los vinos modelos con baja intensidad es consistente con la idea anteriormente expuesta del búfer aromático (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004) y confirma que el aroma del vino base, esencialmente representado por los modelos con bajos niveles de los vectores estudiados, tiene propiedades perceptuales que pueden estar relacionadas con el concepto del búfer aromático. Como primera aproximación, esas propiedades podrían consistir en una completa anulación del olor de un segundo componente, de algún modo relacionado con los componentes de olor del propio búfer, añadido a la mezcla. Los vinos modelos que contienen altas cantidades de un vector aromático, ya no mostrarían tales propiedades del búfer, ya que estos tendrían unos matices

de aroma por sí mismos. El efecto del búfer podría ser compatible con la señal de saturación pero su naturaleza tendrá que ser abordada específicamente en otras investigaciones.

3.2.2. Test triangulares (Test B)

Atendiendo a sus similitudes químicas, bioquímicas y de olor, el alcohol isoamílico y el isobutanol se agruparon en el mismo vector de aroma. Por ello, se estudiaron los efectos de la adición de uno (I, B o T) o dos (solo BT) vectores de alcoholes superiores en modelos que contenían el aroma base además de altos niveles de uno de los vectores de aroma (M, F, H o A) y diferentes combinaciones de los alcoholes superiores (ibt, Ibt, iBt, ibT o IbT) en 28 test triangulares, cuyos resultados están resumidos en la Tabla 2.3 (test B.1 a B.28). Los resultados muestran que solo el vector formado por el alcohol isoamílico y el isobutanol (I) inducía un efecto sensorial significativo ($P < 0,001$) en los cuatro vinos modelo estudiados. Sorprendentemente, la adición de metionol o β -feniletanol no genera ningún cambio sensorial en el perfil de aroma de las muestras estudiadas. Esto ocurre incluso si estos compuestos son adicionados en casi todas las combinaciones posibles, a pesar de su distintivo y específico aroma y a pesar de que los niveles de adición fueran por encima de su umbral sensorial (1 mg/L y 11 mg/L, respectivamente). Es de destacar que el β -feniletanol se había descrito como un contribuyente importante en el carácter frutal de los vinos (Clemente-Jimenez, Mingorance-Cazorla, Martinez-Rodriguez, Heras-Vazquez, & Rodriguez-Vico, 2004; Katarina, Katarina, Katarina, Ivan, & Fedor, 2014) atribuyéndolo a su distintivo olor similar a las rosas. Sin embargo, los presentes resultados confirman que su impacto sensorial real en niveles de concentración normalmente presentes en vino es insignificante. Esto refuerza la importancia de llevar a cabo estrategias de reconstitución (omisión o adición) con estándares purificados para confirmar el impacto sensorial real de compuestos potencialmente activos desde el punto de vista sensorial.

3.2.3. *Análisis descriptivo (DA)*

Se utilizó análisis sensorial descriptivo para estudiar el efecto sensorial específico del vector isobutanol/alcohol isoamílico (I) en las propiedades aromáticas de los vinos modelo. Se caracterizaron ocho vinos modelo diferentes que contenían altos niveles de un vector de aroma (M, F, H o A) y bajos o altos niveles del vector I usando 5 descriptores sensoriales diferentes. Los resultados están resumidos en la Figura 2.2, la cual muestra el gráfico PCA bidimensional con las proyecciones de los 5 descriptores y las 8 muestras. Los dos primeros PCs explican al menos el 90 % de la varianza original.

El primer PC explica el 57 % de la varianza original y muestra una clara oposición entre los atributos agradables (fresa/láctico/fruta roja y coco/madera/vainilla) y desagradables (cuero/animal/tinta y humedad/TCA). Tal oposición ya había sido observada de manera repetida en la descripción del vino (Saenz-Navajas, Ballester, Pecher, Peyron, & Valentin, 2013; Saenz-Navajas, Gonzalez-Hernandez, Campo, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012) y puede ser el resultado de la integración hedónica de las percepciones durante el proceso de olfacción del vino. Según esto, los panelistas pueden tender a clasificar simultáneamente los descriptores en aromas agradables y desagradables (basándose en sus experiencias previas) y a describir las muestras. Prescott (2015) sugirió que la percepción del sabor/flavor parece ser principalmente el resultado de la integración de distintas señales sensoriales a través de la acción del aprendizaje asociativo.

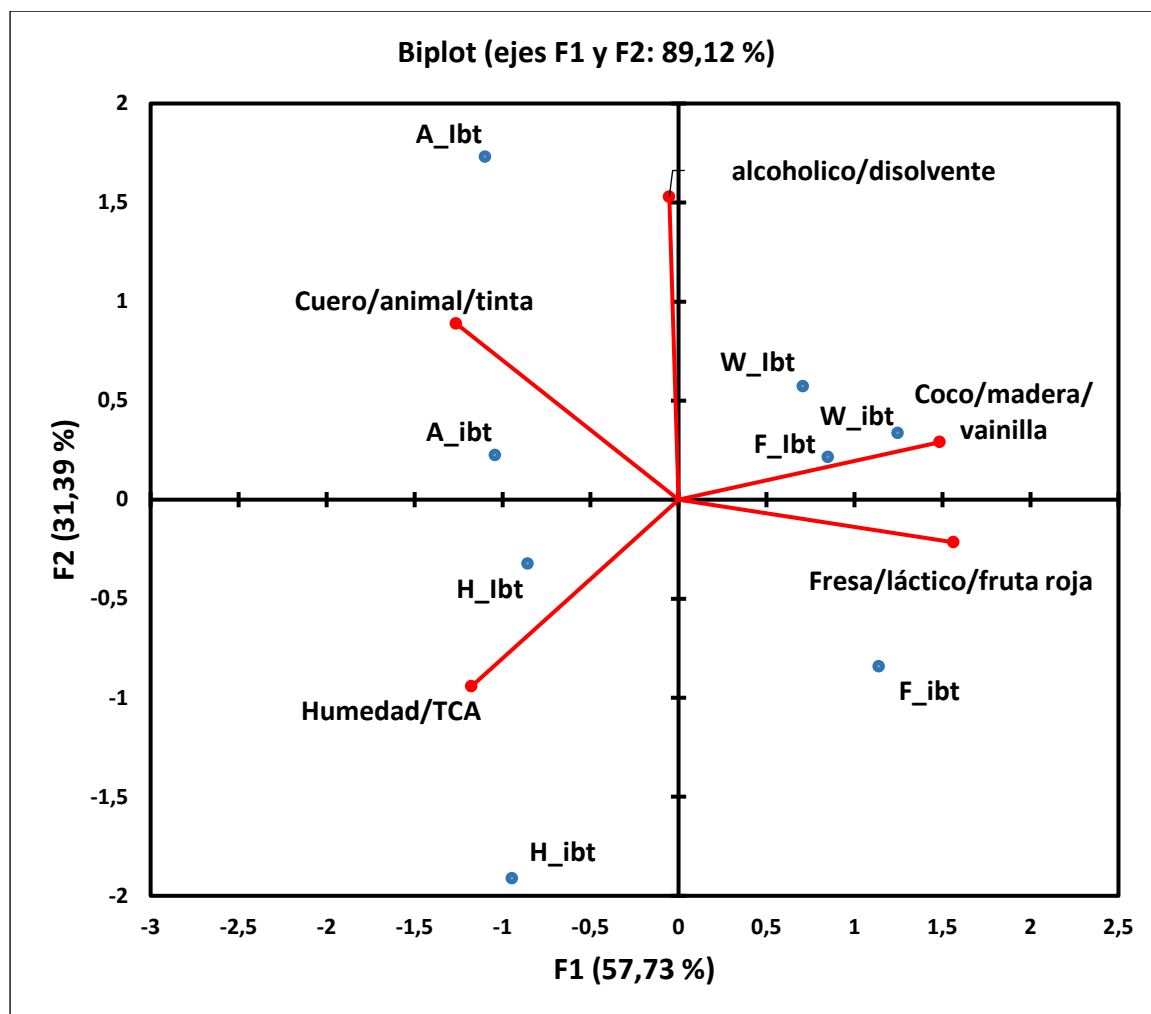


Figura 2.2. Biplot con las proyecciones de los descriptores de aroma y los vinos modelo en las dos primeras componentes del espacio del PCA. Ocho vinos modelo conteniendo altos niveles del vector de aroma (M: madera, F: frutal, H: humedad/corcho o A: animal) y al que se le adicionó bajo nivel (ibt) o alto nivel (Ibt) del par alcohol isoamílico/isobutanol.

Como se observa en la Figura 2.2, el aumento del vector I provoca en todos los casos un desplazamiento de las muestras hacia la parte superior del biplot (altos valores del PC2). Este desplazamiento es menos importante en el vector M. En este caso, y también para el caso del vector F, el aumento de I también implica un desplazamiento de las muestras hacia la izquierda del plano (bajos valores del PC1). El gráfico mostrado en la Figura 2.3 puede ayudar a comprender estos efectos.

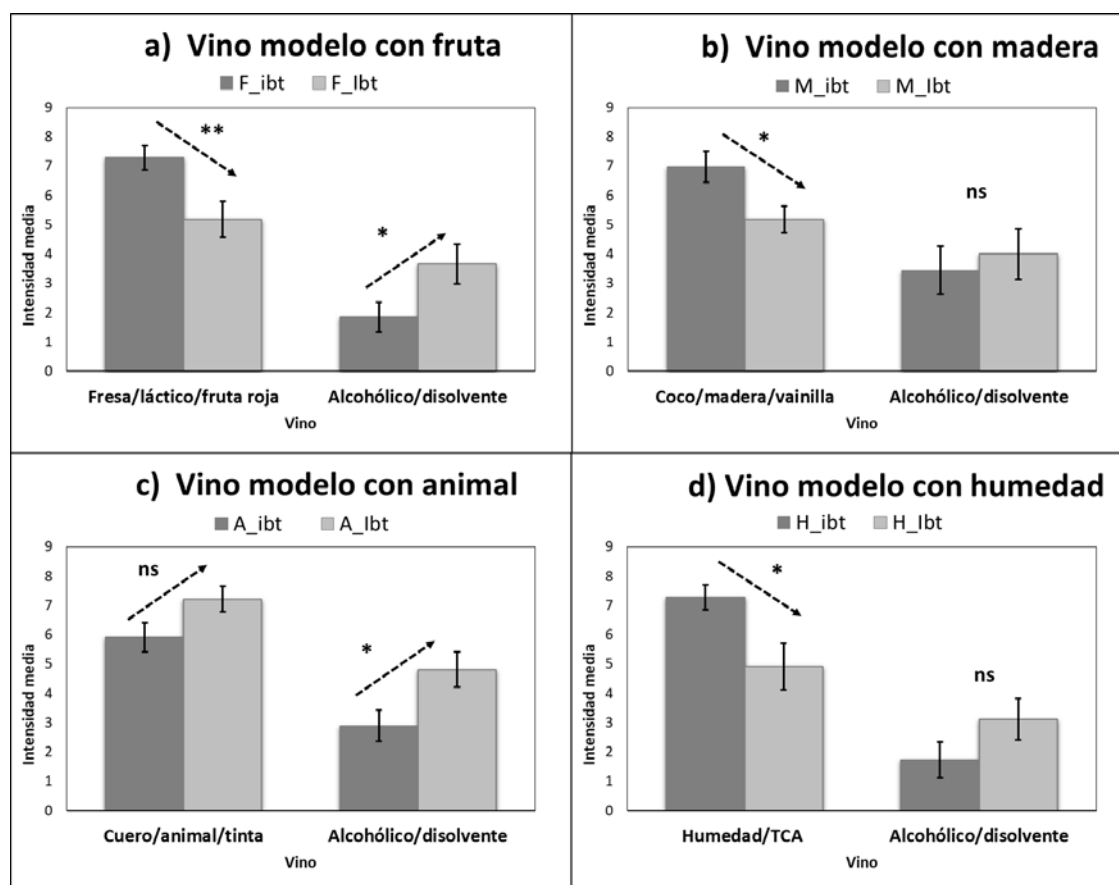


Figura 2.3. Comparación de las intensidades medias (para los descriptores principales) de los vinos modelos con alta (Ibt) vs baja (ibt) concentración del vector I en los cuatro vinos modelo: a) frutal, b) madera, c) animal y d) humedad. Las barras de error son los errores estándar medios. Las diferencias han sido calculadas según un ANOVA de dos factores (vino modelo como factor fijo y panelistas como aleatorio); * y ** indican el nivel de significatividad estadística con $P < 0,05$ y $0,01$, respectivamente.

El aumento de I trae consigo un descenso significativo ($P < 0,05$) de los atributos *fresa/láctico/fruta roja*, *coco/madera/vainilla* y *humedad/TCA* al aumentar la concentración del vector alcohol isoamílico/isobutanol desde 130 mg/L a 430 mg/L (Figura 2.3. a, b y d). Contrariamente, en el vino modelo con el vector animal (A) hay un incremento no significativo ($P > 0,05$) de la intensidad de la nota *cuero/animal/tinta* (Figura 2.3.c) al adicionar el vector alcohol isoamílico/isobutanol. El descenso observado en *fresa/láctico/fruta roja* está de acuerdo con los resultados encontrados en estudios de mezclas de aroma menos complejos, en los cuales se observó un descenso en la intensidad

de las notas frescas y a mermelada (atribuida a la mezcla de ésteres y acetatos) en presencia de 131 (88 y 43 mg/L de isobutanol y alcohol isoamílico, respectivamente) y 226 mg/L (148 y 78 mg/L de isobutanol y alcohol isoamílico, respectivamente) del vector I (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015). El descenso en *coco/madera/vainilla* y *humedad/TCA* no se había observado con anterioridad, y parece indicar que los alcoholes superiores son capaces de suprimir parcialmente la intensidad de muchos matices de olor diferentes de acuerdo con la tendencia general de la supresión señalada por Kurtz y colaboradores (2009). Es de destacar que el vector I parece afectar de una manera similar a las percepciones causadas por compuestos de aroma normales, tales como los integrados en la fruta o el vector de la madera y el vector humedad, integrado por un compuesto recientemente descrito por ser un potente supresor de la transducción de la señal olfativa (Takeuchi, Kato, & Kurahashi, 2013). Debido a esto, la falta de efecto observada para la nota *cuero/animal/tinta* resulta más sorprendente, particularmente teniendo en cuenta que se observa un aumento de ésta, incluso si no alcanza el nivel significancia estadística del 0,05. Las razones por las cuales esta nota se comporta de manera diferente no están claras y comprenderlas podría seguramente requerir un trabajo sensorial específico. Se puede hipotetizar, sin embargo, que las características del olor a alcohol y a disolvente proporcionadas por los alcoholes superiores complementan las características de *cuero/animal/tinta* generadas por los etilfenoles, haciendo más explícito el concepto aromático completo. Esto implica que la mezcla experimenta un procesado configuracional fuerte (Zou & Buck, 2006) que puede ser explicado en términos de categorización de olores. Por ello, e incluso aunque los etilfenoles (vector A) y el par isobutanol/alcohol isoamílico son estímulos diferentes, ellos comparten una característica, que puede permitir a los panelistas el categorizar ambas notas de aroma juntas (Prescott, 2015). Esta categorización podría tener como resultado una integración de las respuestas de ambos aromas y por ello

conllevar un aumento de la intensidad evaluada para la nota animal de los etilfenoles y la nota alcohólica de los alcoholes a través de interacciones perceptuales (Laing, Eddy, & Best, 1994) o mecanismos sinérgicos (Gottfried, 2010).

El segundo factor del PCA (31 % de la varianza explicada) está principalmente explicado por el atributo *alcohol/disolvente* (Figura 2.2). Se observó un claro desplazamiento hacia arriba (altas puntuaciones del PC2) para todas las muestras, que puede ser atribuida a un incremento de las notas a *alcohol/disolvente* en presencia de 430 mg/L del vector de alcoholes. La Figura 2.3 confirma que el aumento en este vector de aroma fue significativo ($P < 0,05$) para el vino modelo frutal (Figura 2.3a) y animal (Figura 2.3c), pero no para el vino modelo con madera ni el vino modelo con humedad. Este resultado confirma en parte la premisa de que los alcoholes superiores le proporcionan al vino un aroma punzante (Rapp & Versini, 1991) o un matiz de aroma a disolvente (Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015), pero sugiere que tal contribución se vuelve significativa solo en algunos contextos aromáticos.

Se ha identificado con anterioridad que los aromas a fruta y a madera están relacionados con la preferencia y con la calidad percibida por consumidores y expertos en vino de diferentes países (Hopfer & Heymann, 2014; Saenz-Navajas, Ballester, Pecher, Peyron, & Valentin, 2013). Por otro lado, el carácter *cuero/animal/tinta* generado por los etilfenoles presenta una correlación negativa con la preferencia y la calidad percibida por los expertos en vino (Frøst & Noble, 2002; Saenz-Navajas, et al., 2015; Torri, Noble, & Heymann, 2013). Como consecuencia, los resultados observados en este capítulo de tesis destacan que el alcohol isoamílico y el isobutanol son esencialmente perjudiciales para la calidad del vino.

Este trabajo incrementa el conocimiento acerca de las interacciones sensoriales y la formación del aroma en vinos tintos, dando pistas interesantes a los enólogos a la hora de tomar decisiones en la elaboración (selección de levaduras, condiciones de fermentación, mezclas de vinos...), especialmente encaminadas a reducir la formación de alcohol isoamílico e isobutanol. Además, estos resultados sugieren que el control de la calidad del vino debería no estar orientada exclusivamente a evitar la ausencia de defectos explícitos tales como los etilfenoles o TCA, sino también en el control de la formación de los compuestos capaces de disminuir las notas positivas. El siguiente capítulo tiene como objetivo fijar los niveles de intensidad críticos de los pares isobutanol y alcohol isoamílico que inducen el descenso en la calidad y/o la preferencia de los consumidores, lo cual puede proporcionar información importante para la implementación de estrategias de control de calidad en bodega.

4. Conclusiones

El presente trabajo confirma la importancia sensorial del par alcohol isoamílico/isobutanol en la percepción del aroma del vino, y demuestra que la contribución al aroma del vino del metionol y el β -feniletanol es despreciable.

Los efectos de los alcoholes son extremadamente dependientes del contexto aromático. En contextos aromáticos pobres, a falta de matices de aroma específicos distintos a los de la base aromática del vino, los efectos sensoriales son insignificantes confirmando el efecto del búfer de aroma en la base aromática del vino. Solo en contextos en los cuales las notas de aroma son claramente perceptibles, los efectos comienzan a ser claramente importantes. Los alcoholes superiores alifáticos suprimen las notas de olor tales como *fresa/láctico/fruta roja*, *coco/madera/vainilla* y *humedad/TCA*, mientras que no afecta a la nota *cuero/animal/tinta*. Solo secundariamente y en ciertos contextos

aromáticos, los alcoholes son capaces de comunicar al vino su particular aroma a alcohol o disolvente, lo cual evidencia la importancia de estudiar las interacciones sensoriales en matrices que simulen en la medida de lo posible las características sensoriales de los productos reales.

Debido a su habilidad de suprimir las notas a fruta y a madera, pero no las notas a *cuero/animal/tinta*, los alcoholes superiores alifáticos juegan un papel negativo en la calidad del aroma del vino.

5. Referencias

Amerine, M. A., & Joslyn, M. A. (1970). *Table wines: the technology of their production*: University of California Press.

Aznar, M., Lopez, 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.

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.

Capone, S., Tufariello, M., & Siciliano, P. (2013). Analytical characterisation of Negroamaro red wines by "Aroma Wheels". *Food Chemistry*, 141(3), 2906-2915.

Clemente-Jimenez, J. M., Mingorance-Cazorla, L., Martinez-Rodriguez, S., Heras-Vazquez, F. J. L., & Rodriguez-Vico, F. (2004). Molecular characterization and oenological properties of wine yeasts isolated during spontaneous fermentation of six varieties of grape must. *Food Microbiology*, 21(2), 149-155.

da Silva, R., Minim, V. P. R., Simiqueli, A. A., Moraes, L. E. D., Gomide, A. I., & Minim, L. A. (2012). Optimized Descriptive Profile: A rapid methodology for sensory description. *Food Quality and Preference*, 24(1), 190-200.

Dravnieks, A. (1985). *Atlas of odor character profiles*. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials.

Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortin, 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.

Etievant, P. (1991). Wine. In M. H. (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages*, vol. 1 (pp. 483-546). New York, US: Marcel Dekker.

Ferreira, V., Fernandez, P., Pena, C., Escudero, A., & Cacho, J. F. (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.

Ferreira, V., Ortin, N., Escudero, A., Lopez, 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.

Frøst, M. B., & Noble, A. C. (2002). Preliminary study of the effect of knowledge and sensory expertise on liking for red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 275-284.

Gomez-Miguez, M. J., Cacho, J. F., Ferreira, V., Vicario, I. M., & Heredia, F. J. (2007). Volatile components of Zalema white wines. *Food Chemistry*, 100(4), 1464-1473.

Gottfried, J. A. (2010). Central mechanisms of odour object perception. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(9), 628-641.

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.

Hazelwood, L. A., Daran, J. M., van Maris, A. J. A., Pronk, J. T., & Dickinson, J. R. (2008). The ehrlich pathway for fusel alcohol production: a century of research on *Saccharomyces cerevisiae* metabolism (vol 74, pg 2259, 2008). *Applied and Environmental Microbiology*, 74(12), 3920-3920.

Hopfer, H., & Heymann, H. (2014). Judging wine quality: Do we need experts, consumers or trained panelists? (vol 32, pg 221, 2014). *Food Quality and Preference*, 36, 1-2.

Katarina, F., Katarina, M., Katarina, D., Ivan, S., & Fedor, M. (2014). Influence of yeast strain on aromatic profile of Gewurztraminer wine. *Lwt-Food Science and Technology*, 59(1), 256-262.

Kurtz, A. J., Lawless, H. T., & Acree, T. E. (2009). Reference matching of dissimilar binary odor mixtures. *Chemosensory Perception*, 2(4), 186-194.

Laing, D. G., Eddy, A., & Best, D. J. (1994). Perceptual characteristics of binary, trinary, and quaternary odor mixtures consisting of unpleasant constituents. *Physiology & Behavior*, 56(1), 81-93.

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: Principles and practices*: Springer.

Lee, C. Y., & Cooley, H. J. (1981). Higher-alcohol contents in New-York wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32(3), 244-246.

Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8504-8513.

- Pineau, B., Barbe, J. C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3702-3708.
- Prescott, J. (2015). Flavours: the pleasure principle. *Flavour*, 4(1), 15.
- Pybus, D. H., Sell, C. S., & Chemistry, R. S. o. (1999). *The Chemistry of Fragrances*: Royal Society of Chemistry.
- Rapp, A., & Versini, G. (1991). *Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines*. Davis: American Society Enology & Viticulture.
- 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.
- Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ballester, J., Fernandez-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D., & Valentin, D. (2015). Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *Lwt-Food Science and Technology*, 60(1), 400-411.
- Saenz-Navajas, M. P., Ballester, J., Pecher, C., Peyron, D., & Valentin, D. (2013). Sensory drivers of intrinsic quality of red wines. Effect of culture and level of expertise. *Food Research International*, 54(2), 1506-1518.
- Saenz-Navajas, M. P., Gonzalez-Hernandez, M., Campo, E., Fernandez-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Orthonasal aroma characteristics of Spanish red wines from different price categories and their relationship to expert quality judgements. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(3), 268-279.
- 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.
- 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.
- Takeuchi, H., Kato, H., & Kurahashi, T. (2013). 2,4,6-Trichloroanisole is a potent suppressor of olfactory signal transduction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(40), 16235-16240.
- Torri, L., Noble, A. C., & Heymann, H. (2013). Exploring American and Italian consumer preferences for Californian and Italian red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), 1852-1857.
- Van Gemert, L. (2003). *Compilations of odour threshold values in air, water and other media*. Utrecht, The Netherlands: Oliemans Punter & Partners BV.
- Yeshurun, Y., & Sobel, N. (2010). Multisensory integration: an inner tongue puts an outer nose in context. *Nature Neuroscience*, 13(2), 148-149.

Yoshizawa, K. (1966). On various factors affecting formation of Isobutanol and Isoamyl alcohol during alcoholic fermentation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 30(7), 634-641.

Zou, Z. H., & Buck, L. B. (2006). Combinatorial effects of odorant mixes in olfactory cortex (Retracted article. See vol. 329, pg. 1598, 2010). *Science*, 311(5766), 1477-1481.

SECCIÓN II.- Capítulo 2

Niveles de alcoholes superiores capaces de inducir cambios aromáticos y modular la preferencia de un panel de expertos en vinos modelo

1. Introducción

En el capítulo anterior se ha confirmado la importancia sensorial de los HA tales como el isobutanol y el alcohol isoamílico en vinos tintos y su implicación en el búfer aromático (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016), mientras que la contribución de otros HA tales como el metionol y el β -feniletanol parece ser despreciable. En este sentido, el objetivo de este capítulo es determinar el nivel de isobutanol y alcohol isoamílico capaz de inducir cambios aromáticos, así como de modular la preferencia evaluada por expertos en vinos modelo.

Los niveles de isobutanol y alcohol isoamílico en vinos son principalmente dependientes del contenido en aminoácidos en el mosto, valina y leucina, y del metabolismo de la levadura (Amerine & Berg, 1980; Giudici, Romano, & Zambonelli, 1990). Se ha observado que el uso de diferentes cepas, tales como las no-*Saccharomyces* empleadas para la reducción de la concentración de alcohol en vino, induce la producción de niveles importantes de HA (Contreras, Hidalgo, Henschke, Chambers, Curtin, & Varela, 2014).

Una antigua afirmación de Rapp y Versini (1991) en un libro de resúmenes sugería que una concentración total de HA inferior a 300 mg/L podía contribuir de manera positiva al perfil aromático de los vinos, mientras una concentración superior a 400 mg/L podía ejercer un efecto negativo. Sin embargo, esta afirmación no se ha respaldado con

investigación documentada. Incluso si estos compuestos se consideran normalmente factores importantes en la modulación del aroma del vino, existe una falta de evidencia empírica que ilustre como los HA causan un cambio perceptible en las propiedades sensoriales o en la preferencia del vino. Este tema se puede estudiar usando un test de elección forzada o *two-alternative forced choice* (2-AFC) con un estímulo constante como muestra de control (Lawless & Heymann, 2010). Por medio de este test, se puede calcular la cantidad de cambio en un estímulo físico (en este caso en la concentración del odorante objetivo) necesario para producir una diferencia sensorial perceptible. Esta metodología ya ha sido usada en diferentes matrices complejas, tales como en bebidas modelo (Camacho, Dop, de Graaf, & Stieger, 2015), disoluciones punzantes (Orellana-Escobedo, Ornelas-Paz, Olivas, Guerrero-Beltran, Jimenez-Castro, & Sepulveda, 2012) o en alimentos enriquecidos para personas mayores (Kremer, Bult, Mojet, & Kroeze, 2007). Son pocas las investigaciones que han tratado con los componentes del vino en disoluciones simples (Le Berre, Beno, Ishii, Chabanet, Etievant, & Thomas-Danguin, 2008). Hay ausencia también de estudios que lo aborden en disoluciones más complejas similares al vino. Lo más probable es que sea porque solo recientemente se ha abordado la recreación de modelos complejos con propiedades de aroma similar a muestras de vino real (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016; Franco-Luesma, Saenz-Navajas, Valentin, Ballester, Rodrigues, & Ferreira, 2016).

En este contexto, el presente capítulo tiene como objetivo determinar la mínima concentración de HA (alcohol isoamílico/isobutanol) capaz de causar un cambio realmente discernible en las propiedades del aroma y en la preferencia sobre tres vinos modelo (WM) (frutal, madera y animal) de acuerdo a un grupo de 16 expertos en vino. Se eligieron los expertos como los panelistas por dos razones. En primer lugar, su opinión ejerce una importante influencia en el mercado del vino, y ellos tienden a generar los prototipos de

calidad o preferencia entre los consumidores de vino. En segundo lugar, la mayoría de los productores de vino basan sus decisiones durante la elaboración del vino en la información proporcionada por otros expertos en vino. Esto ocurre principalmente porque ellos tienen prototipos de vino memorizados, especialmente dentro del mismo área de producción (Hopfer & Heymann, 2014; Torri, Noble, & Heymann, 2013). Ocurre lo contrario para consumidores menos experimentados (Urdapilleta, Parr, Dacremont, & Green, 2011). Por ello, los datos específicos relacionados con la mínima concentración de HA que causan un cambio realmente discernible y su influencia en la preferencia basada en los juicios de un panel de expertos, puede ser información de interés para los fabricantes de vino cuando toman decisiones durante la elaboración de este.

2. Materiales y métodos

2.1. Compuestos y estándares

Disolventes: Se adquirieron etanol de calidad LiChrosolv, éter dietílico y n-pentano a Merck (Darmstadt, Alemania); el isooctano fue suministrado por Panreac (Barcelona, España). El agua pura fue obtenida de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

Estándares: Los estándares químicos fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Gillingham, Inglaterra) y Firmenich (Ginebra, Suiza).

Reactivos: El ácido tartárico y el hidróxido de sodio fueron suministrados por Panreac.

2.2. Preparación de los vinos modelos

2.2.1. Aislamiento y purificación de los alcoholes superiores

Los estándares de alcohol isoamílico e isobutanol se aislaron y purificaron según el procedimiento descrito en el capítulo anterior y publicado por de-la-Fuente-Blanco y

colaboradores (2016). Resumido brevemente, consistía en un proceso en dos pasos. El primero implicaba una extracción sólido-líquido reactiva con un eliminador de grupos carbonilo fijado sobre un soporte sólido. El segundo paso implicaba la confirmación de la pureza sensorial del estándar por olfatometría de gases.

2.2.2. Preparación de los vinos modelo (WM)

Los vinos se prepararon mezclando un grupo de compuestos del vino (volátiles y no volátiles) con uno de los siguientes vectores de aroma: frutal (F), madera (M), o animal (A) para obtener los tres vinos control (WM) diferentes (Tabla 3.1). Las muestras de control contenían 110 y 20 mg/L del HA objetivo: alcohol isoamílico e isobutanol, respectivamente.

Estos valores (Tabla 3.1) corresponden a las concentraciones más bajas encontradas en vinos tintos comerciales (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Para evaluar la concentración mínima de alcohol isoamílico/isobutanol que causa cambios discernibles en las propiedades de aroma orthonasal en los modelos, cada uno de los tres vinos modelo WM (F0) se dopó con 8 niveles diferentes (F1-F8) de ambos HA (Tabla 3.2) cubriendo los rangos de concentración encontrados en vinos tintos reales (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). La concentración final de etanol se ajustó al 12 % (v/v) y a pH = 3,5. Se añadieron juntos el alcohol isoamílico y el isobutanol, como un vector, ya que repetidamente se han encontrado datos cuantitativos con un ratio 5:1 en vinos comerciales inoculados con levaduras *Saccharomyces* (Amerine & Joslyn, 1970; Lee & Cooley, 1981; Yoshizawa.K, 1966).

Tabla 3.1. Vectores de aroma y composición de los vinos modelo (mg/L) empleados en el estudio.

		Compuestos	Concentración
Grupo de compuestos que conforman el aroma base común	Volátil	β -feniletanol	15
		Ácido acético	150
		Acetato de etilo	50
		Ácido hexanoico	2,0
		Ácido 3-metilbutírico	0,30
		2,3-butanodiona	0,40
		Hexanoato de etilo	1,0
		Acetato de isoamilo	1,0
		2-metilbutanoato de etilo	0,12
		Vanillato de etilo	0,25
		vanillina	0,070
		γ -nonalactona	0,020
		guaiacol	0,010
		β -damascenona	0,0040
	β -ionona	0,00030	
	No volátil	Ácido tartátrico	5000
		Glicerol	10000
		Ácido tánico	50
Quinina		7,0	
Goma arábica		75	
VECTOR	Compuestos	Concentración	
FRUTAL (F)	2,3-butanodiona	14	
	Acetato de isoamilo	5,5	
	Acetato de etilo	50	
	Cinamato de etilo	0,12	
	β -damascenona	0,0030	
MADERA (M)	whiskylactona	0,30	
	vanillina	0,10	
	eugenol	0,015	
	guaiacol	0,015	
	4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona	0,10	
ANIMAL (A)	4-etilfenol	100	
	4-etilguaiacol	13	

Tabla 3.2. Niveles de alcohol isoamílico e isobutanol (mg/L) en las muestras usados para determinar la concentración mínima capaz de inducir cambios en la percepción del aroma y en la preferencia.

Codificación	Alcohol isoamílico	Isobutanol
F0	110	20
F1	132	24
F2	158	29
F3	190	35
F4	228	41
F5	274	50
F6	328	60
F7	394	72
F8	473	86

2.3. Análisis sensorial

2.3.1. Participantes

El análisis sensorial para los vinos frutal y animal se llevó a cabo con un grupo de dieciséis participantes (cuatro hombres y doce mujeres, de edades comprendidas entre los 24 y 60 años, de edad media 33 años), pertenecientes a la categoría de productores de vino, investigadores en la ciencia del vino y personal implicado regularmente en la producción del vino y/o la evaluación de éste. Para el vino modelo con madera, debido a razones de disponibilidad, solo 14 de los 16 pudieron completar la tarea. Todos ellos formaron parte de la categoría de expertos en vino según Ballester y colaboradores (2008), Parr y colaboradores (2002) y Melcher y Schooler (1996).

2.3.2. Procedimiento

Tabla 3.3. Composición (mg/L) de los vectores presentados en la fase de familiarización

Vector	Compuestos del vector	Nivel 1 Baja concentración	Nivel 2 Alta concentración
FRUTAL (F)	2,3-butanodiona	0,4	14
	Acetato de isoamilo	1	5,5
	Acetato de etilo	50	50
	Cinamato de etilo	-	0,12
	β -damascenona	0,04	0,0030
MADERA (W)	wiskilactona	0,15	0,30
	vainillina	0,050	0,10
	eugenol	0,0075	0,015
	guaiacol	0,0075	0,015
	4-hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona	0,050	0,10
ANIMAL (A)	4-etilfenol	35	100
	4-etilguaicol	4,5	13

La tarea sensorial comprende tres partes. La primera parte consistió en dos sesiones de 15 minutos (mantenidas en días diferentes) y que tenían por objeto: i) la familiarización de los participantes con los vectores de aroma y ii) la cualificación de los participantes. En la primera sesión, los participantes se familiarizaron con el aroma alcohólico del vector alcohol isoamílico/isobutanol así como con los otros tres vectores de aroma que diferenciarían los vinos modelo (Tabla 3.1): vectores de fruta roja, madera y animal. Para ello, se les presentaron los cuatro vectores de aroma puros individualmente y a alta concentración (ver consignas en Figura 3.1 del Anexo 3). En la segunda sesión, se les presentaron cuatro series, cada una contenía un vector a tres niveles de concentración diferentes (nivel 0, ausencia; nivel 1, baja concentración; y nivel 2, alta concentración) (Tabla 3.3). Los participantes estarían cualificados si eran capaces de identificar correctamente el vector aislado y ordenarlo según su intensidad (ver consignas en Figura 3.2 del Anexo 3).

En la segunda parte, los participantes realizaron un total de seis sesiones (mantenidas en días diferentes) de unos 15 minutos cada una (una sesión por duplicado para cada uno de los tres vinos modelo). Durante cada sesión, los participantes llevaron a cabo una serie de nueve tests de comparación según la técnica de elección forzada 2-AFC (ver consignas en Figura 3.3 del Anexo 3) para calcular la mínima concentración de alcoholes superiores que inducen diferencias sensoriales. Cada test de comparación consistía en dos vinos: Control (F0) y muestra dopada (de F1 a F8), las cuales diferían únicamente en la concentración del vector alcohol isoamílico/isobutanol. Como ayuda en el reconocimiento de los atributos, al inicio de cada sesión y antes de llevar a cabo la tarea 2-AFC, los participantes debían oler el vector de aroma puro de HA y el vector predominante en cada vino modelo (vector fruta roja, madera o animal). Posteriormente, debían evaluar ortonasalmente cada par de muestras (control y dopada) e indicar cuál de las dos muestras de cada par era más intensa en dos atributos: aroma a alcohol y en el atributo predominante correspondiente a cada vino modelo (fruta roja, madera o animal).

De manera similar a la segunda parte, la tercera parte consistía en seis sesiones (mantenidas en días diferentes) de unos 15 minutos (una sesión por duplicado para cada vino modelo: fruta roja, madera o animal). A los participantes se les presentaron las mismas muestras y test que en la segunda parte (ver consignas en Figura 3.4 del Anexo 3). Para cada par de muestras (control y dopada), debían anotar cual preferían.

En la segunda y tercera parte el orden de presentación del vino control dentro de cada par (izquierda o derecha) fue aleatorizado y diferente para cada participante. Las muestras dopadas se les presentaron en orden ascendente de concentración, de F1 a F8, y se les proporcionó un nuevo par de muestras cada dos minutos. Se sirvieron 15 mL de muestra (20 ± 1 °C) en todos los test, se presentaron en copa negra ISO etiquetadas con un número de tres cifras aleatorio y cubiertas por una placa Petri. Las muestras se sirvieron 5

minutos antes de comenzar la tarea sensorial. Todas las respuestas se recogieron en formato papel.

2.4. Análisis de datos

Para cada concentración del vector HA (F1-F8), se contabilizó el número de veces que la muestra de control se consideró más intensa que (segunda parte del análisis sensorial) o preferida que (tercera parte del análisis sensorial) la muestra dopada. Los test 2-AFC se consideraron independientemente. Ambos tipos de respuestas (más intenso que el control o preferida sobre el control) se expresaron como una proporción, dicha proporción se representó en un gráfico frente a la concentración total de HA (alcohol isoamílico + isobutanol). El criterio de significatividad ($P < 0,05$) se basó en la tabla de distribución binomial de una cola para el test de comparación. La concentración de HA que causa cambios realmente discernibles en las propiedades del aroma se calculó extrapolando en el gráfico (porcentaje de respuestas que seleccionaron la muestra de control como la más intensa vs la concentración total de HA) el porcentaje de respuestas que alcanzaron el criterio de significatividad. La mínima concentración de HA que induce diferencias en la preferencia se calculó siguiendo el mismo criterio.

3. Resultados y discusión

3.1. Pureza de los estándares

Al igual que se explicó y llevó a cabo en el capítulo anterior, la pureza de los estándares empleada en la elaboración de los vinos modelo se evaluó por GC-O y por análisis cuantitativo de las impurezas esperadas. Ambas estrategias mostraron de nuevo que, en el caso de los HA, incluso estándares recién abiertos de la máxima pureza química disponible, contenían un nivel significativo de sus correspondientes aldehídos de potente olor. Estos resultados ponen de manifiesto de nuevo la importancia de la evaluación de las

impurezas olfativas presentes en los estándares que pueden arruinar el experimento y desviar las conclusiones. Se empleó la estrategia propuesta en la sección experimental del capítulo 1 de esta misma sección y descrita en el artículo (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016) para eliminar las impurezas.

3.2. Análisis sensorial

Se determinó la mínima cantidad de estímulo requerida para percibir una diferencia o generar un cambio significativo en la preferencia según un grupo de expertos en vino españoles. La estrategia que se siguió consistió en una serie de tests 2-AFC en el cual a los participantes se les dio una muestra de control, que tenía un atributo aromático predominante (fruta roja, madera o animal), y una segunda que contenía el mismo atributo predominante, pero dopado con una cantidad creciente de HA. Los panelistas tuvieron que elegir cuál de las dos muestras era más intensa en el atributo aromático indicado y en el aroma a disolvente generado por los HA. Con las mismas muestras, pero en actividades independientes, los participantes tuvieron que indicar que muestra del par preferían en términos de aroma. Para asegurarse de que los participantes eran capaces de asociar los términos/descriptores a los aromas específicos que debían evaluar, se llevó a cabo una sesión de familiarización con los cuatro aromas (frutal, madera, animal y disolvente/alcohol) antes de los tests 2-AFC. Se encontró necesario el realizar esta tarea porque los expertos en vino son mejores que los participantes no experimentados en el reconocimiento de olores importantes en el vino. Sin embargo, sus habilidades verbales (identificación del olor y consistencia en el nombramiento de estos), son similares a las de los evaluadores novicios (Parr, Heatherbell, & White, 2002; Parr, White, & Heatherbell, 2004).

3.2.1. *Vino modelo con aromas frutales*

Las Figuras 3.1 y 3.2 ilustran los resultados para el vino modelo frutal. La Figura 3.1 muestra la proporción de respuestas de los participantes que seleccionaron la muestra de control (que contenía 130 mg/L de HA) como la más intensa en los atributos fruta roja y disolvente/alcohólico si se compara con los modelos frutales que contenían cantidades crecientes de HA (156-559 mg/L).

Las respuestas de los participantes ($n = 31$) derivaban de 16 participantes por duplicado: una respuesta se perdió porque un participante no llevó a cabo la tarea por duplicado. Los vinos modelos que contenían al menos 299 mg/L de HA se percibieron de manera significativa ($P < 0,05$) con menor y mayor aroma de fruta roja y disolvente/alcohol, respectivamente, que las muestras de control. El modelo frutal control representaba a un vino con la mínima concentración de HA (130 mg/L) encontrada en vinos reales comerciales (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012).

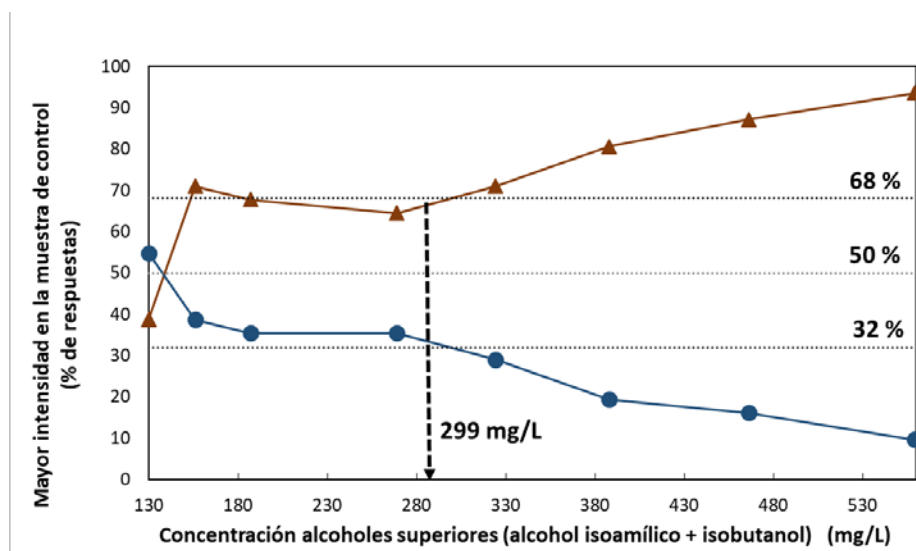


Figura 3.1. Porcentaje de respuestas ($n = 31$) que seleccionaron la muestra de control del modelo frutal como la más intensa en los atributos de *fruta roja* (\blacktriangle) y *disolvente/alcohol* (\bullet) comparada con las muestras dopadas. Las líneas de puntos superior e inferior (superior: 68 % e inferior: 32 %) indican el 5 % del criterio de significatividad para los test por parejas.

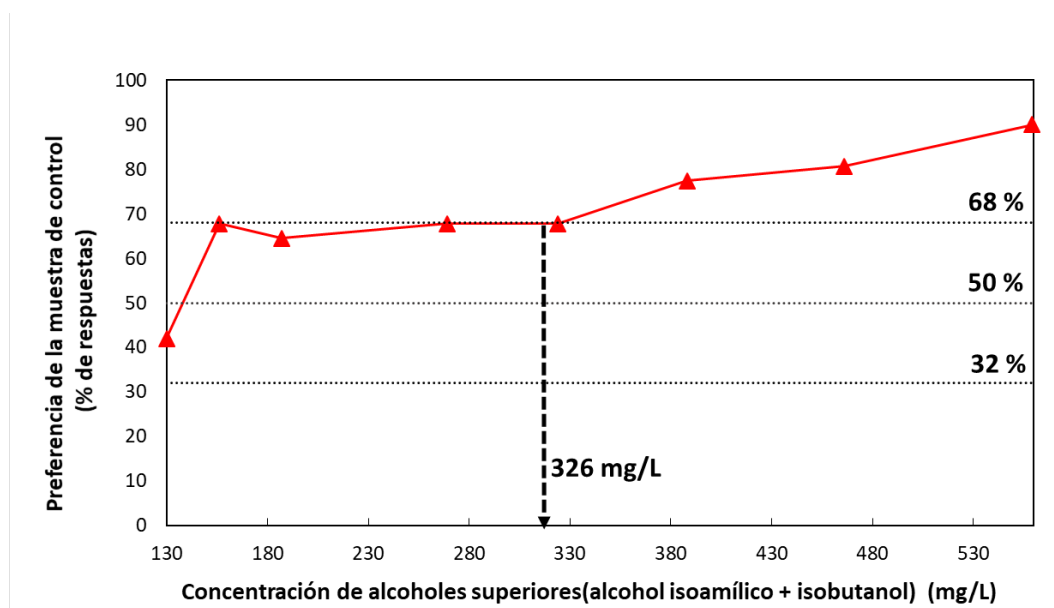


Figura 3.2. Porcentaje de respuestas (n = 31) que seleccionaron la muestra de control del vino modelo frutal como la preferida en contraposición a las dopadas. Las líneas de puntos superior e inferior (superior: 68 % e inferior: 32 %) indican el 5 % del criterio de significatividad para los test por parejas.

Se definió la mínima concentración que causa cambios sensoriales apreciables como el punto que representa la cantidad de estímulo adicional necesario para percibir una diferencia, por ello, la mínima concentración para el vino modelo frutal se estimó en 169 mg/L. Este descenso y aumento en los aromas frutal y disolvente/alcohol, respectivamente, concuerda con los resultados obtenidos en la tarea descriptiva descrita en el capítulo 1 de esta misma sección (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016), en la cual la concentración del vector alcohol isoamílico/isobutanol se incrementó de 130 a 430 mg/L. Estos resultados también están en concordancia con los resultados presentados recientemente por Cameleyre y colaboradores (2015). Estos autores observaron, por medio de análisis descriptivo, que la adición de 131 mg/L de isobutanol y alcohol isoamílico (88 y 43 mg/L, respectivamente) a mezclas de aroma simples de esteres frutales y acetatos generaba un descenso significativo en la intensidad de los atributos de fruta fresca y mermelada y aumentaba la intensidad del aroma a alcohol de la mezcla.

Se realizaron series de tests independientes para evaluar la preferencia de aroma de los vinos modelo frutal que contenían diferentes niveles de HA (Figura 3.2). Se ha citado repetidamente que los aromas frutales aumentan la calidad del vino o la preferencia según los juicios de expertos de diferentes países (Hopfer & Heymann, 2014; Lattey, Bramley, & Francis, 2010; Saenz-Navajas, Ballester, Pecher, Peyron, & Valentin, 2013; Varela & Gambaro, 2006). Teniendo en cuenta que se ha demostrado que la preferencia está altamente correlacionada con la percepción de la calidad por expertos en vino (Hopfer & Heymann, 2014), se puede hipotetizar que la presencia de HA, los cuales son capaces de enmascarar las notas a fruta roja, parecen inducir un descenso de la preferencia de las muestras para este grupo de expertos. Los resultados del presente estudio indican que la muestra de control (que contenía 130 mg/L de HA), fue significativamente ($P < 0,05$) preferida sobre las muestras que contenían al menos 326 mg/L de HA, lo que confirma la hipótesis inicial. Por ello, la adición de al menos 196 mg/L de HA al control del vino modelo frutal causa un descenso de la preferencia. Este umbral era cercano, pero ligeramente mayor (+ 30 mg/L) a la concentración mínima que induce cambios sensoriales (169 mg/L). Esto sugiere que las muestras que contienen 299 mg/L de HA ya disponían de un ligero aroma a disolvente/alcohol provocado por estos compuestos, sin embargo, esta concentración no fue suficiente como para generar un rechazo significativo de las muestras. Esto apoya la idea de que las preferencias de los expertos podrían estar más relacionadas con la armonía en el aroma alcanzada por la mezcla de atributos sensoriales diferentes más que por la presencia de una nota de aroma predominante en el vino (Saenz-Navajas, Gonzalez-Hernandez, Campo, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012).

3.2.2. Vino modelo con aromas a madera

La Figura 3.3a muestra la proporción de respuestas de participantes que indicaron que el vino modelo con madera poseía mayor aroma a madera y a disolvente/alcohol que

el mismo vino modelo dopado con HA. Las respuestas, $n = 27$, derivan de 14 participantes por duplicado: una respuesta se perdió porque un participante no llevó a cabo la tarea por duplicado. Los resultados muestran que los vinos modelo que contenían 150 mg/L de HA se percibieron significativamente menos intensas para el atributo madera que el vino modelo control (130 mg/L de HA). Esto indica que la adición de solo 20 mg/L de HA (un incremento del 15 % del estímulo) causaba un descenso sensorial realmente apreciable para el atributo madera. Sin embargo, se tuvieron que añadir unas cinco veces más (115 mg/L) de HA (concentración final de las muestras dopadas de 245 mg/L) para observar un aumento sensorial significativo del atributo disolvente/alcohol generado por los HA. Cuando se analizaron los datos individuales en detalle, se observaron dos comportamientos diferentes. Por un lado, tres de los 14 participantes que realizaron esta tarea (21 % expertos) no fueron capaces de detectar el aroma disolvente/alcohólico en los vinos modelo con madera a bajas concentraciones de HA, lo que sugiere que éstos no son especialmente sensibles a los cambios generados por los HA en el vino con madera. Por el contrario, tres participantes diferentes (21 % del total) fueron capaces de detectar la supresión del aroma a madera en todos los tests. Estos participantes eran especialmente sensibles al efecto enmascarante causado por los HA en el aroma de madera.

El resultado es cuantitativamente sorprendente incluso si se considera normal en términos de diferencias fisiológicas inter-individuo en cuanto a la sensibilidad a notas de olor específicas normalmente encontrados con paneles sensoriales (Lawless & Heymann, 2010). Por esta razón, se estudió el efecto que las diferentes sensibilidades podían tener sobre la mínima concentración que induce cambios sensoriales en los vinos modelos con madera. Primero, dejando a un lado las respuestas de los tres participantes menos sensibles, en las muestras que contenían 147 y 150 mg/L de HA se observó un descenso significativo de los aromas a madera y a disolvente/alcohol, respectivamente (Figura 3.3b). Todas las

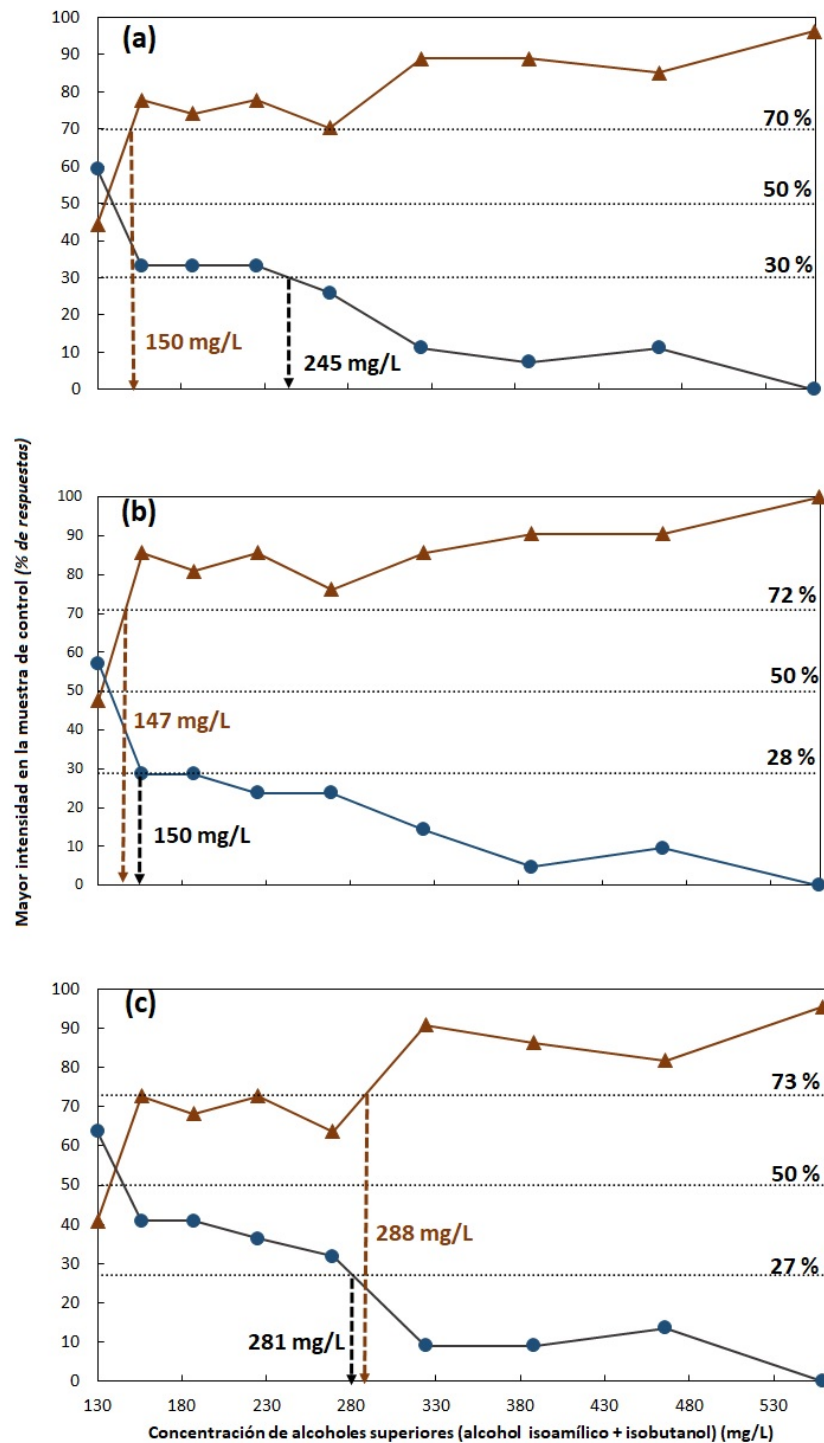


Figura 3.3. Porcentaje de respuestas: a) $n = 27$, todos los panelistas; b) $n = 21$, sin los panelistas menos sensibles; c) $n = 22$, sin los panelistas más sensibles, seleccionaron la muestra control del vino modelo con madera como la más intensa en los atributos *madera* (\blacktriangle) y *disolvente/alcohol* (\bullet) que las muestras dopadas. Las líneas de puntos (superior: a) 70 % b) 72 % c) 73 % e inferior: a) 30 % b) 28 % c) 27 %) indican el 5 % del criterio de significatividad para los test por parejas.

respuestas, $n = 21$, derivaron de 11 participantes por duplicado: una respuesta se perdió porque un participante no pudo llevar a cabo las tareas por duplicado. La mínima concentración que causa cambios sensoriales, basados en la respuesta de este grupo de participantes (11 participantes con 21 respuestas, $n = 21$), puede ser estimada en 17 y 20 mg/L para los atributos de madera y disolvente/alcohol, respectivamente. Es interesante observar que la mínima concentración para el aroma a disolvente/alcohol fue menor (dos veces más baja: 150 vs 299 mg/L) en el vino modelo con madera que en el vino modelo frutal. En segundo lugar, se tuvieron en cuenta los datos de todos los participantes menos los de los participantes más sensibles (todas las respuestas, $n = 22$, se derivaron de 11 participantes que llevaron a cabo la tarea por duplicado). Teniendo en cuenta los datos de estos 11 participantes, la concentración a la cual los participantes percibieron el vino modelo control como significativamente diferente en términos de atributos madera y alcohol se estableció en 288 y 281 mg/L, respectivamente (Figura 3.3c). La mínima concentración que generó diferencias significativas en este último caso se estimó a 158 y 151 mg/L para los atributos madera y disolvente/alcohol, respectivamente. Estos valores de concentración son comparables con los encontrados para el vino modelo frutal (169 mg/L). Estos resultados confirman la existencia de importantes diferencias en la sensibilidad para el aroma a disolvente/alcohol generado por los HA en los vinos modelo con madera.

En lo referente a la respuesta hedónica, los tres participantes más sensibles prefirieron en todos los casos el control, en el cual percibieron mayores aromas a madera y menores a disolvente/alcohol que en los vinos modelo dopados con solamente 20 mg/L de HA. Esto hace que el umbral de preferencia de este panel completo sea tan bajo como 184 mg/L (Figura 3.4, modelo madera 1, $n = 27$). Cuando se eliminan los datos de los panelistas menos sensibles, la concentración de alcoholes superiores que induce cambios en la

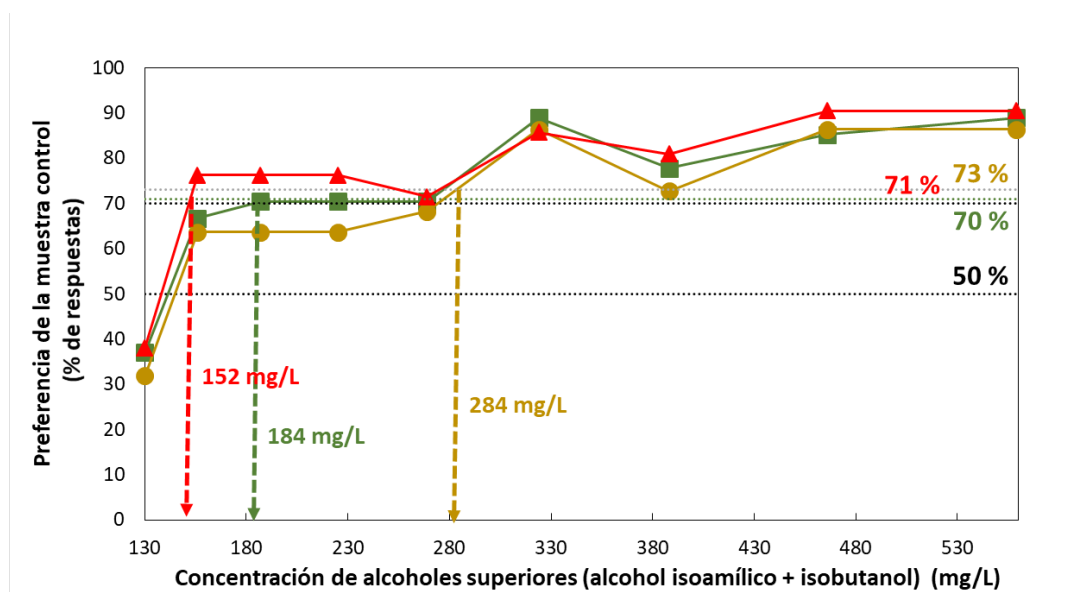


Figura 3.4. Porcentaje de respuestas de los tres subgrupos de participantes con diferentes niveles de sensibilidad a los HA (modelo 1 (■), n = 27; modelo 2 (▲), n = 21; modelo 3 (●), n = 22) que prefirieron la muestra de control sobre las muestras dopadas en un vino modelo con madera. Las líneas de puntos (superior: 70 % para n = 27; 71 % para n = 21 y 73 % para n = 22) indican el 5 % del criterio de significatividad para los test por parejas.

preferencia desciende aproximadamente 30 mg/L, hasta 152 mg/L (Figura 3.4, modelo madera 3, n= 21). Si se eliminan los datos de los panelistas más sensibles, la concentración de HA necesaria para cambiar significativamente la apreciación del aroma aumenta 100 mg/L hasta 284 mg/L (Figura 3.4, modelo madera 2, n = 22), el cual es un valor similar a los 288 mg/L encontrados en la Figura 3.3c para el vino modelo con madera. Estos resultados reflejan la importancia de los panelistas altamente sensibles, cuyos resultados son capaces de disminuir la concentración de HA que induce diferencias en la preferencia. En cualquier caso, los participantes prefirieron las muestras de control sobre las muestras dopadas a alta concentración de HA (> 284 mg/L en cualquier caso). El hecho de que los HA enmascaren el carácter a madera y desciendan la preferencia de las muestras, está de acuerdo con estudios previos que asociaron los aromas a madera con la aceptación y la

preferencia de vinos tintos cuando era evaluado por profesionales del vino (Lattey, Bramley, & Francis, 2010).

3.2.3. Vino modelo con aromas animales

Para el vino modelo que contenía explícitamente el vector animal, la Figura 3.5 muestra que las muestras que contenían 365 y 375 mg/L de HA se percibieron significativamente más intensas en los atributos animal y disolvente/alcohol que para la muestra control, respectivamente. Este resultado está parcialmente de acuerdo con los resultados obtenidos en el capítulo 1 de esta misma sección (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016) en las cuales la presencia de 430 mg/L de alcohol isoamílico/isobutanol causó un aumento significativo de la nota disolvente/alcohol, pero no significativo del atributo animal/cuero/tinta. En la aproximación sensorial llevada a cabo en el presente capítulo, los participantes parecen ser más sensibles a la detección del aroma a disolvente/alcohol y un poco menos al animal/cuero/tinta. Este aparente desacuerdo puede ser explicado en términos de la naturaleza de las aproximaciones usadas. En test discriminantes, como el usado en el presente trabajo (2-AFC), los participantes son forzados a encontrar la muestra diferente dentro de un grupo de dos muestras. Esta tarea favorece la habilidad de discernir entre muestras con perfiles relativamente similares o con diferencias sutiles mejor que los métodos sensoriales analíticos que usan evaluación sobre escala (Barylko-Pikielna, Matuszewska, Jeruszka, Kozłowska, Brzozowska, & Roszkowski, 2004; Villanueva, Petenate, & Da Silva, 2005), tal como el usado en el capítulo anterior (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016). Además, en las tareas de evaluación sobre escala (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016), la intensidad del matiz animal fue próximo al límite superior de la escala, lo cual puede complicar la valoración cuantitativa.

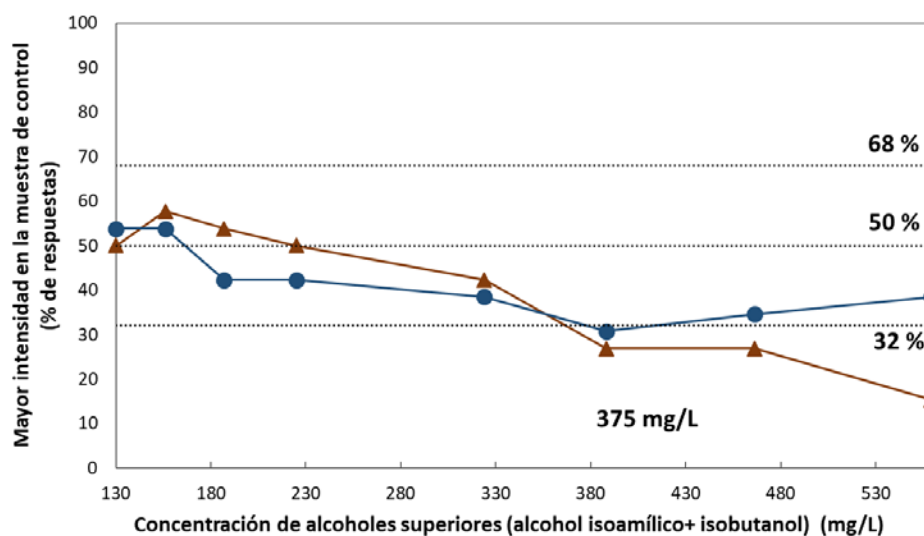


Figura 3.5. Porcentaje de respuestas (n = 31) que seleccionaron la muestra de control del vino modelo animal como más intenso en los atributos *animal* (▲) y *disolvente/alcohol* (●) que las muestras dopadas. Las líneas de puntos superior e inferior (superior: 68 % e inferior: 32 %) indican el 5 % del criterio de significatividad para los test por parejas.

Adicionalmente, los datos de la Figura 3.5 revelan que los jueces encuentran progresivamente más difícil la detección del atributo animal/cuero/tinta. Esto puede ser el resultado de interacciones sensoriales (Laing, Eddy, & Best, 1994; John Prescott, 2015), que dan lugar a la integración de atributos (Lawless, 1995) que comparten una categoría hedónica (ej, con valencia positiva o negativa). Resulta muy probable que a estos niveles de concentración, los participantes integran la señal de los aromas disolvente/alcohol y animal/cuero/tinta en una única señal desagradable principalmente identificada como animal (Figura 3.6). Este hecho se apoya en los trabajos del Dr. Prescott (2015), quien puso de manifiesto que el principal objetivo de la integración sensorial es conferir una valencia hedónica (positiva o negativa) al sabor/flavor de los objetos más que a su identificación.

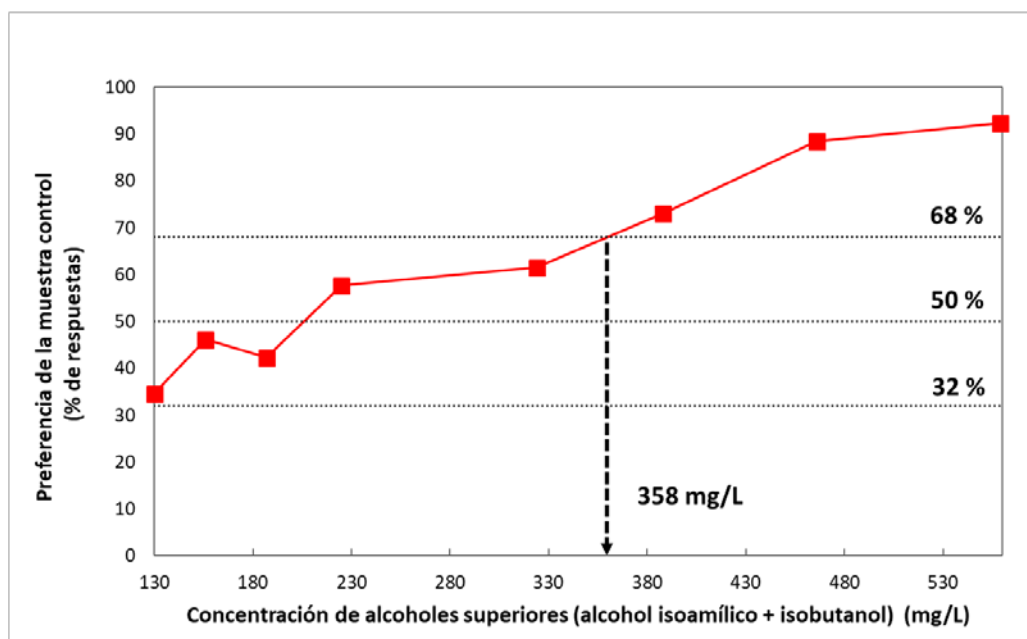


Figura 3.6. Porcentaje de respuestas (n = 31) que seleccionaron la muestra de control para el vino modelo animal sobre la muestra dopada. Las líneas de puntos superior e inferior (superior: 68 % e inferior: 32 %) indican el 5 % del criterio de significatividad para los test por parejas.

En lo referente a la concentración de HA que induce diferencias en la preferencia del aroma, las muestras que contenían al menos 358 mg/L de HA se prefirieron significativamente menos que las muestras de control, las cuales estaban próximas a los umbrales de concentración determinados previamente (365 y 375 mg/L). Estos resultados están en concordancia con el hecho de que el carácter animal es considerado para los profesionales del vino como una causa importante de rechazo de muestras (Frost & Noble, 2002; Saenz-Navajas, et al., 2015; Saenz-Navajas, Ballester, Pecher, Peyron, & Valentin, 2013; Torri, Noble, & Heymann, 2013), por tanto, el aumento de la intensidad de este defecto puede ser perjudicial para la calidad del vino y para su preferencia. Es de remarcar que estos umbrales fueron mucho mayores que los encontrados para los modelos frutal y madera, confirmando cómo el tono hedónico negativo de los HA era mucho más fácil de identificar en contextos frutal o madera que en contextos desagradables como ya había sugerido el Dr. Prescott (2015).

4. Conclusiones

En resumen, los resultados muestran que niveles de aproximadamente 281 a 299 mg/L de HA son capaces de conferir su característico aroma a disolvente/alcohol a vinos modelo con aromas explícitos frutales o de madera así como suprimir las notas a frutas rojas (299 mg/L) y a madera (288 mg/L), respectivamente. A concentraciones de 365 y 375 mg/L de HA se produce un aumento de los aromas a animal/cuero/tinta generado por los etilfenoles y a disolvente/alcohol de los HA, respectivamente. Se ha sugerido que existe una integración de las intensidades de los aromas a disolvente/alcohol y animal atribuido al hecho de que comparten una categoría hedónica común (valencia negativa o desagradable).

La presencia de HA en el rango de concentraciones de 284-358 mg/L causan un descenso de la preferencia de los vinos modelo estudiados, lo cual demuestra que el isobutanol y el alcohol isoamílico son esencialmente perjudiciales para la calidad del vino, según el panel de expertos que llevaron a cabo la presente evaluación. En el contexto del vino con madera, los panelistas altamente sensibles fueron capaces de detectar y percibir como negativas adiciones de HA tan bajas como 17 y 22 mg/L, respectivamente.

Este resultado es de gran interés para la industria del vino ya que proporciona una estimación de la concentración de HA capaz de afectar a la calidad del vino modelo tinto, lo cual puede ayudar a la toma de decisiones durante el proceso de elaboración del vino, especialmente en la etapa de fermentación alcohólica (ej. selección de las levaduras para reducir la formación de isobutanol y el alcohol isoamílico). Sería interesante llevar a cabo investigaciones futuras con vinos con diferentes propiedades sensoriales y estimar la concentración capaz genera cambios en la percepción del aroma y la preferencia de un gran grupo de consumidores de diferentes países o regiones y con diferentes niveles de

experiencia. Una aparente limitación importante del presente estudio podría ser el uso de vinos modelo en vez de vinos reales. Esta aproximación es, sin embargo, la única manera de controlar perfectamente las variables composicionales, las cuales son esenciales para comprender la formación del aroma y además, alcanzar unas conclusiones generales.

5. Referencias

Amerine, M. A., & Berg, H. W. (1980). *The technology of wine making*: Avi Pub. Co.

Amerine, M. A., & Joslyn, M. A. (1970). *Table wines: The technology of their production*: University of California Press.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: Odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, *30*(3), 209-217.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2005). Perception of wine fruity and woody notes: influence of peri-threshold odorants. *Food Quality and Preference*, *16*(6), 504-510.

Ballester, J., Patris, B., Symoneaux, R., & Valentin, D. (2008). Conceptual vs. perceptual wine spaces: Does expertise matter? *Food Quality and Preference*, *19*(3), 267-276.

Barylko-Pikielna, N., Matuszewska, I., Jeruszka, M., Kozłowska, K., Brzozowska, A., & Roszkowski, W. (2004). Discriminability and appropriateness of category scaling versus ranking methods to study sensory preferences in elderly. *Food Quality and Preference*, *15*(2), 167-175.

Camacho, S., Dop, M., de Graaf, C., & Stieger, M. (2015). Just Noticeable Differences and Weber fraction of oral thickness perception of model beverages. *Journal of Food Science*, *80*(7), S1583-S1588.

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.

Contreras, A., Hidalgo, C., Henschke, P. A., Chambers, P. J., Curtin, C., & Varela, C. (2014). Evaluation of non-saccharomyces yeasts for the reduction of alcohol content in wine. *Applied and Environmental Microbiology*, *80*(5), 1670-1678.

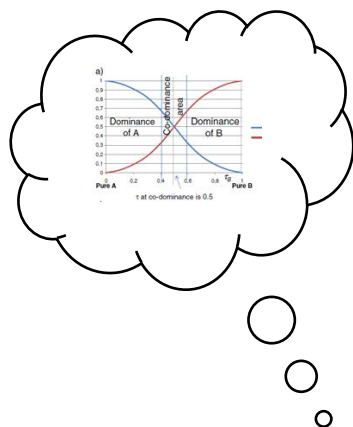
de-la-Fuente-Blanco, A., Sáenz-Navajas, M.-P., & Ferreira, V. (2016). On the effects of higher alcohols on red wine aroma. *Food Chemistry*, *210*, 107-114.

Dravnieks, A. (1985). *Atlas of odor character profiles*. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials.

- Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortin, 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.
- 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.
- Ferreira, V., Ortin, N., Escudero, A., Lopez, 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.
- 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.
- Frost, M. B., & Noble, A. C. (2002). Preliminary study of the effect of knowledge and sensory expertise on liking for red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4), 275-284.
- Giudici, P., Romano, P., & Zambonelli, C. (1990). A biometric study of higher alcohol production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Canadian Journal of Microbiology*, 36(1), 61-64.
- 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.
- Hopfer, H., & Heymann, H. (2014). Judging wine quality: Do we need experts, consumers or trained panelists? (vol 32, pg 221, 2014). *Food Quality and Preference*, 36, 1-2.
- Kremer, S., Bult, J. H. F., Mojet, J., & Kroeze, J. H. A. (2007). Food perception with age and its relationship to pleasantness. *Chemical Senses*, 32(6), 591-602.
- Laing, D. G., Eddy, A., & Best, D. J. (1994). Perceptual characteristics of binary, trinary, and quaternary odor mixtures consisting of unpleasant constituents *Physiology & Behavior*, 56(1), 81-93.
- Lattey, 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.
- Lawless, H. (1995). Dimensions of sensory quality - a critique. *Food Quality and Preference*, 6(3), 191-199.
- Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory evaluation of food: principles and practices*: Springer.
- Le Berre, E., Beno, N., Ishii, A., Chabanet, C., Etievant, P., & Thomas-Danguin, T. (2008). Just noticeable differences in component concentrations modify the odor quality of a blending mixture. *Chemical Senses*, 33(4), 389-395.

- Lee, C. Y., & Cooley, H. J. (1981). Higher-Alcohol contents in New-York wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 32(3), 244-246.
- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2012). Impact of perceptive interactions on red wine fruity aroma. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(50), 12260-12269.
- Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8504-8513.
- Melcher, J. M., & Schooler, J. W. (1996). The misremembrance of wines past: Verbal and perceptual expertise differentially mediate verbal overshadowing of taste memory. *Journal of Memory and Language*, 35(2), 231-245.
- Orellana-Escobedo, L., Ornelas-Paz, J. J., Olivas, G. I., Guerrero-Beltran, J. A., Jimenez-Castro, J., & Sepulveda, D. R. (2012). Determination of absolute threshold and Just Noticeable Difference in the sensory perception of pungency. *Journal of Food Science*, 77(3), S135-S139.
- Parr, W. V., Heatherbell, D., & White, K. G. (2002). Demystifying wine expertise: Olfactory threshold, perceptual skill and semantic memory in expert and novice wine judges. *Chemical Senses*, 27(8), 747-755.
- Parr, W. V., White, K. G., & Heatherbell, D. A. (2004). Exploring the nature of wine expertise: What underlies wine experts' olfactory recognition memory advantage? *Food Quality and Preference*, 15(5), 411-420.
- Pineau, B., Barbe, J. C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3702-3708.
- Prescott, J. (2015). Flavours: the pleasure principle. *Flavour*, 4(1), 15.
- Rapp, A., & Versini, G. (1991). *Influence of nitrogen compounds in grapes on aroma compounds of wines*. Davis: American Society Enology & Viticulture.
- Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ballester, J., Fernandez-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D., & Valentin, D. (2015). Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *Lwt-Food Science and Technology*, 60(1), 400-411.
- Saenz-Navajas, M. P., Ballester, J., Pecher, C., Peyron, D., & Valentin, D. (2013). Sensory drivers of intrinsic quality of red wines. Effect of culture and level of expertise. *Food Research International*, 54(2), 1506-1518.
- Saenz-Navajas, M. P., Gonzalez-Hernandez, M., Campo, E., Fernandez-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Orthonasal aroma characteristics of Spanish red wines from different price categories and their relationship to expert quality judgements. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(3), 268-279.

- 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.
- Torri, L., Noble, A. C., & Heymann, H. (2013). Exploring American and Italian consumer preferences for Californian and Italian red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(8), 1852-1857.
- Urdapilleta, I., Parr, W., Dacremont, C., & Green, J. (2011). Semantic and perceptive organisation of Sauvignon blanc wine characteristics: Influence of expertise. *Food Quality and Preference*, 22(1), 119-128.
- Varela, P., & Gambaro, A. (2006). Sensory descriptive analysis of Uruguayan Tannat wine: Correlation to quality assessment. *Journal of Sensory Studies*, 21(2), 203-217.
- Villanueva, N. D. M., Petenate, A. J., & Da Silva, M. (2005). Performance of the hybrid hedonic scale as compared to the traditional hedonic, self-adjusting and ranking scales. *Food Quality and Preference*, 16(8), 691-703.
- Yoshizaw.K. (1966). On various factors affecting formation of Isobutanol and Isoamyl alcohol during alcoholic fermentation. *Agricultural and Biological Chemistry*, 30(7), 634-641.



Sección III:

Estudio de la importancia sensorial de los ésteres etílicos en el aroma del vino

SECCIÓN III.- Capítulo 1

Variabilidad sensorial inducida por los ésteres etílicos en vino tinto

1. Introducción

Los ésteres etílicos son un grupo de compuestos volátiles que se han considerado importantes en el aroma del vino durante varias décadas debido a sus olores frescos y frutales (Etievant, 1991). La mayoría de ellos son el resultado de la esterificación de los ácidos grasos producidos por las levaduras durante la fermentación alcohólica y constituyen uno de los grupos de compuestos más grandes e importantes involucrados en la formación del sabor/flavor de las bebidas fermentadas (Lambrechts & Pretorius, 2000). Algunos investigadores han demostrado que, dejando de lado los ésteres etílicos de los ácidos principales, como el lactato de etilo o el succinato de dietilo, los vinos contienen alrededor de 14 ésteres etílicos diferentes con descriptores de aromas ligeramente diferentes. Estos ésteres etílicos incluyen ésteres etílicos de ácidos grasos lineales y ramificados y también de algunos hidroxiácidos (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007). Curiosamente, solo algunos de ellos (2- y 3-metilbutirato de etilo, butirato de etilo, hexanoato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo) se encuentran en concentraciones por encima de su umbral sensorial (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012).

Se ha descrito por varios autores que el carácter frutal en los vinos, como el de frutas rojas y negras y, en particular, a mora y casis, es capaz de aumentar la percepción de calidad de los mismos (Pineau, Barbe, van Leeuwen, & Dubourdieu, 2010; Saenz-Navajas, et al., 2015). Diferentes investigaciones han demostrado que estas notas están relacionadas con

la interacción entre los ésteres frutales y otros compuestos aromáticos, en particular el sulfuro de dimetilo (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007; Segurel, Razungles, Riou, Salles, & Baumes, 2004), mercaptanos polifuncionales (Rigou, Triay, & Razungles, 2014) y otros vectores básicos del aroma del vino (Franco-Luesma, Saenz-Navajas, Valentin, Ballester, Rodrigues, & Ferreira, 2016). Investigadores de Burdeos han llevado a cabo una investigación bastante intensiva que se ha centrado en demostrar que estos aromas a baya estarían vinculados a la existencia de perfiles específicos de ésteres etílicos, incluidos odorantes a concentraciones subumbrales. Si bien los resultados experimentales obtenidos por estos autores son incuestionables, algunas de sus conclusiones resultan difíciles de generalizar. Algunas de ellas se basan en observaciones realizadas a niveles umbrales, donde son más frecuentes tanto la hiperadición como el sinergismo (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004; Ferreira, 2012a), y algunas otras se derivan de estudios en disoluciones simples en las que tan sólo los ésteres estarían presentes, obviando el resto de componentes presentes en el vino y sus interacciones con estos compuestos.

En este sentido, Pineau, Barbe, Van Leeuwen, y Dubourdieu (2009) han sugerido que el tipo de fruta que se percibe está relacionado con el perfil específico de los ésteres etílicos. Los vinos que contienen niveles de ésteres lineales superiores a la media mostrarían el carácter de frutas rojas, mientras que los vinos que contienen más ésteres ramificados tendrían el carácter de mora. De acuerdo con estos autores, debido a los fuertes efectos perceptuales y sinérgicos, el aumento de tan solo 3 o 24 $\mu\text{g/L}$ (0,05 % o 1,3 % de los umbrales respectivos de la bibliografía) de 2-metilbutirato de etilo y 2-metilpropanoato de etilo, respectivamente, conducirían a una modificación del perfil de olor del vino. En trabajos posteriores, Falcao, Lytra, Darriet, y Barbe (2012) afirmaron que el 2-hidroxi-4-metilpentanoato a niveles ligeramente por debajo del umbral juega un papel destacado en

los aromas de mora fresca. Lytra, Tempere, de Revel y Barbe (2012, 2015) afirmaron que específicamente la mezcla de enantiómeros R:S 95:5 de este compuesto es la responsable del aumento de las notas de fruta fresca y de la supresión parcial de las notas de mermelada de frutas. En otro trabajo de investigación, Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel y Barbe (2013) mostraron que a niveles subumbrales, el propanoato de etilo, acetato de butilo, 3-hidroxibutirato de etilo y acetato de isobutilo también actúan como potenciadores del aroma frutal. Apuntando que el 3-hidroxibutirato de etilo y el acetato de isobutilo estarían implicados en una hiperadición, y el propanoato de etilo y el acetato de isobutilo tendrían un efecto significativo en la percepción de las notas de fruta fresca y de mora. Por el contrario, Lytra y colaboradores (Lytra, Tempere, de Revel, & Barbe, 2015; Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013) han mostrado que es la relación S/R 85:15 de los enantiómeros de 3-hidroxibutirato de etilo la responsable del aumento de la intensidad a frutas rojas. Además, Lytra, Tempere, de Revel, y Barbe (2014) afirmaron que el enantiómero S del 2-metilbutirato de etilo aumenta específicamente la intensidad del descriptor mora. Finalmente, Cameleyre, Lytra, Tempere y Barbe (2017) mostraron que el enantiómero S del acetato de 2-metilbutilo actúa como potenciador del aroma específicamente de las notas de frutas negras, frescas y mermelada de frutas.

Cabe señalar que, si estas observaciones fueran totalmente aplicables, la tarea de predecir las propiedades del aroma del vino a partir de su composición química sería difícilmente posible, debido a la gran cantidad de odorantes y a la gran cantidad de efectos no lineales y difícilmente previsibles que esto conlleva. Por el contrario, investigaciones previas de nuestro propio laboratorio (Aznar, Lopez, Cacho, & Ferreira, 2003; San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011) sugieren que los ésteres etílicos individuales actúan de manera concertada e integrada para formar lo que puede definirse como un vector de aroma. El nivel de integración sería lo suficientemente alto como para que los descriptores del

aroma específicos de los componentes individuales sean difíciles de percibir. El concepto de vector de aroma, incluso si se ha usado implícitamente en trabajos anteriores, se ha definido recientemente (Ferreira, de-la-Fuente-Blanco, & Sáenz-Navajas, 2019) como "una unidad perceptual constituida por una o varias moléculas con descriptores de aroma similares, que juntas y de una forma integrada, son responsables de un conjunto específico de características sensoriales de un tipo de producto" y pretende ser un concepto básico para modelizar la percepción del aroma.

En este contexto, el objetivo principal del presente trabajo es demostrar que los matices sensoriales específicos de los ésteres minoritarios tienen, en su caso, poca relevancia en la percepción general del aroma del vino y que, con la finalidad de modelizar, los ésteres etílicos constituyen un único vector de aroma que transmite una nota genérica frutal, bien representada por una mezcla simple de odorantes o incluso por un solo odorante. Con respecto a la intensidad del aroma, el objetivo es evaluar cómo la simplificación progresiva del vector del aroma afecta a la intensidad de la mezcla y verificar si los ésteres minoritarios tienen un impacto importante en la intensidad del aroma global de la mezcla.

2. Materiales y métodos

2.1. Compuestos y estándares

Disolventes: Se adquirieron etanol de calidad LiChrosolv en Merck (Darmstadt, Alemania) y 1-butanol de la máxima pureza disponible (99,4 %) a Thermo Fisher Scientific (Kandel, Alemania). El agua pura fue obtenida de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, Bedford, MA).

Estándares: Los estándares químicos fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Madrid, España) y Firmenich (Ginebra, Suiza) y fueron de la mayor pureza disponible.

Reactivos: El ácido tartárico, el hidróxido de sodio, el fosfato de mono- y di-potasio y el sulfato de sodio anhidro fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España).

2.2. Preparación de los vinos modelo

2.2.1. Purificación de los ésteres

Paso 1: extracción líquido-líquido: se mezclaron 500 microlitros de cada estándar de éster comercial con 2 ml de una disolución de bicarbonato al 5 %. Esta mezcla se agitó durante 10 minutos y se eliminó la fase acuosa. Este paso se llevó a cabo por triplicado. La última mezcla se centrifugó durante 5 minutos a una velocidad de 4000 rpm a una temperatura de 10 °C para asegurar la separación completa. El compuesto purificado se transfirió a un vial y se secó con sulfato de sodio anhidro hasta estar seguro de la ausencia de agua en el compuesto purificado. Estos patrones se conservaron y analizaron mediante cromatografía de gases con detector de ionización a la llama para confirmar la ausencia de impurezas.

Paso 2: Método GC-FID. Confirmación de la pureza de los estándares: se inyectó un microlitro de la disolución del éster purificado y el octanoato de metilo (estándar interno) en un cromatógrafo de gases y se calculó la pureza según el método para sustancias inestables descrito por Tissot, y colaboradores (2012). Se consideró que el estándar era suficientemente puro cuando la pureza alcanzada fue mayor del 96 % y el contenido del correspondiente ácido graso era menor de su umbral sensorial.

2.2.2. Preparación de vectores isointensos con diferente número de ésteres.

Se preparó un primer vector V1 que contenía los 14 ésteres etílicos presentes de manera natural en el vino a las concentraciones máximas encontradas en vinos tintos (Tabla 4.1) (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). A continuación, se prepararon disoluciones progresivamente más simples que contenían un menor número de ésteres (denominados V2, V2', V3, V4, V5, V6 y V7, como se ve en la Tabla 4.2) con intensidades

Variabilidad sensorial inducida por los ésteres etílicos en vino tinto

de olor similares a las de V1. Cada vector simplificado se construyó, primero seleccionando los ésteres que se eliminarían, luego ajustando la concentración de la mezcla para asegurar que su intensidad de olor era igual a la de V1, y finalmente ajustando las proporciones de los que se mantendrían para obtener una mezcla con cualidad del aroma lo más similar posible a V1.

Tabla 4.1. Concentración ($\mu\text{g/L}$) de los diferentes ésteres encontrados en diferentes grupos de vinos tintos.

Compuestos	Descriptor ^a	Rangos de concentración (media) ^b	Umbral de olor ^b
ÉSTERES			
<i>Derivados de ácidos grasos lineales</i>			
Propanoato de etilo	Frutal, disolvente, acetona	85-1966 (260) ¹	5500 ¹
Butirato de etilo	Frutal, fresa, dulce, chicle de fresa	87-252 (152) ¹	125 ¹
Hexanoato de etilo	Frutal, fresa, piña , anís	78-337 (169) ¹	62 ¹
Octanoato de etilo	Jabonoso, graso, frutal	26-225 (103) ¹	580 ³
Decanoato de etilo	Frutal, uva	29-163 (72) ¹	200 ²
<i>Derivados de ácidos grasos ramificados</i>			
2-metilpropanoato de etilo	Frutal, fresa, dulce, chicle de fresa	<4,0-419 (114) ¹	15 ²
2-metilbutirato de etilo	Frutal, fresa, manzana, mora	6,5-59 (14) ¹	2 ⁶
3-metilbutirato de etilo	Frutal, fresa, manzana	11-89 (26) ¹	0,7 ⁶
3-hidroxibutirato de etilo	Almendrado, coco, uva	100-370 (221) ¹	21000 (S), 63000 (R) ⁴
2-metilpentanoato de etilo	Frutal, fresa	<0,0007 (<0,0007) ¹	10 ¹
3-metilpentanoato de etilo	Frutal, fresa	<0,0006 (<0,0006) ¹	0,50 ¹
4-metilpentanoato de etilo	Frutal, fresa,	<0,0005-0,53 (0,110) ¹	0,75 ¹
Ciclohexanoato de etilo	Anís, fresa	<0,0008 (<0,0008) ¹	0,030 ¹
<i>Otros ésteres</i>			
2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo	Fresa, mora , frutal	135 (135) ⁵	126 (R), 55 (S), 51 (mezcla) ⁵

^a Los descriptores proceden de diferentes artículos: Kotseridis y colaboradores (2000), Campo y colaboradores (2008), Campo, Ferreira, Escudero y colaboradores (2006), Campo, Ferreira, López y colaboradores (2006), Lytra y colaboradores (2012).

^b Las referencias están en superíndices. ¹San Juan y colaboradores (2012), ²Ferreira y colaboradores (2000), ³Etievant (1991), ⁴Lytra y colaboradores (2015), ⁵Lytra y colaboradores (2012), ⁶los umbrales de olor se calcularon en el laboratorio en una mezcla agua/etanol al 12 %, 5 g/L de ácido tartárico y pH 3,5.

Se prepararon un total de ocho grupos diferentes de ésteres (V1-V7, V2'), a partir de ahora llamados vectores, con los compuestos purificados. Estos vectores contenían diferente número de ésteres, desde el más complejo (V1 con 14 ésteres) hasta el más simple (V7 con 1 éster). El vector de ésteres más complejo V1, contenía 5 ésteres etílicos lineales y 9 ramificados (propanoato de etilo, butirato de etilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo, 2-metilpropanoato de etilo, 2-metilbutirato de etilo, 3-metilbutirato de etilo, 2-metilpentanoato de etilo, 3-metilpentanoato de etilo, 4-metilpentanoato de etilo, 3-hidroxibutirato de etilo, ciclohexanoato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo).

Tabla 4.2. Concentración ($\mu\text{g/L}$) de los diferentes ésteres encontrados en los vectores.

Compuesto	Concentración							
	V1	V2	V2'	V3	V4	V5	V6	V7
Propanoato de etilo	1966	-	-	-	-	-	-	-
Butirato de etilo	252	296	444	690	740	850	-	-
Hexanoato de etilo	337	411	617	434	460	-	589	-
Octanoato de etilo	225	-	-	-	-	-	-	-
Decanoato de etilo	163	-	-	-	-	-	-	-
2-metilpropanoato de etilo	419	419	629	-	-	-	-	-
2-metilbutirato de etilo	59	72	108	593	630	877	943	1733
3-metilbutirato de etilo	89	89	134	-	-	-	-	-
2-metilpentanoato de etilo	0,0007	-	-	-	-	-	-	-
3-metilpentanoato de etilo	0,0006	-	-	-	-	-	-	-
4-metilpentanoato de etilo	0,53	-	-	-	-	-	-	-
3-hidroxibutirato de etilo	370	-	-	-	-	-	-	-
Ciclohexanoato de etilo	0,0008	-	-	-	-	-	-	-
2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo	135	137	206	137	-	-	-	-

El vector V2 y V2', que corresponden al segundo nivel de complejidad, se prepararon con 6 ésteres (butirato de etilo, hexanoato de etilo, 2-metilpropanoato de etilo, 2-metilbutirato de etilo, 3-metilbutirato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo), V3 con 4 (butirato de etilo, hexanoato de etilo, 2-metilbutirato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo), V4 con 3 (butirato de etilo, hexanoato de etilo y 2-metilbutirato de etilo), V5 y V6 con 2 (butirato de etilo y 2-metilbutirato de etilo para el vector V5, y hexanoato de etilo y 2-metilbutirato de etilo para el vector V6) y V7 que representa el vector más simple, que incluye solo un éster (2-metilbutirato de etilo).

Los vectores se prepararon con el objetivo de ser lo más similares posible al vector más complejo (V1) en términos de intensidad y cualidad del olor. La isointensidad se evaluó mediante una escala de referencia de 1-butanol descrita en la sección 2.3.2.1. La similitud en la cualidad se logró al eliminar los ésteres con una cualidad de aroma similar y considerando la concentración relativa de los componentes (esta idea se desarrolla en la sección de resultados y discusión). La similitud sensorial entre los vectores simplificados y V1 se evaluó mediante test triangulares.

Para evitar la hidrólisis espontánea de los ésteres purificados, que podrían producir pequeñas cantidades de ácidos con una actividad sensorial importante, las disoluciones de ésteres puros se evaluaron en disoluciones hidroalcohólicas al 1 % y a pH 6.

2.2.3. Preparación del vino modelo (WM).

Se generaron dos vinos modelo que simulaban: a) un vino tinto joven y b) un vino tinto con barrica. Se prepararon mezclando un conjunto de componentes comunes de vino tinto volátiles y no volátiles. Los no volátiles se obtuvieron mediante liofilización de un vino tinto desaromatizado (el índice de polifenoles total se midió como absorbancia a 280 nm = 59,5 a.u., azúcares reductores = 5,8 g/L, acidez total = 3,6 g/L expresada en ácido

Tabla 4.3. Composición aromática de los vinos modelo ($\mu\text{g/L}$)

	Compuesto	Concentración	
	Alcohol isoamílico	180000	
	β -feniletanol	30000	
	Ácido acético	150000	
	Acetato de etilo	50000	
	Ácido hexanoico	2000	
	Ácido 3-metilbutírico	300	
Mezcla de compuestos	2,3-butanodiona	400	
	Acetato de isoamilo	1000	
que conforman el aroma	Vanillato de etilo	250	
	Vainilla	70	
base común	γ -nonalactona	20	
	Guaiacol	10	
	β -damascenona	4,0	
	β -ionona	0,30	
	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol)	30	
	Cinamato de etilo	0,43	
	Linalool	7,0	
	Geraniol	0,13	
		Whiskylactona	300
	Vector madera *	Vainilla	100
		Eugenol	15
Guaiacol		15	
4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol)		100	

* El vector madera se añadió solamente al vino tinto con madera.

sulfúrico; ácido láctico = 1,9 g/L y ácido málico = 0,3 g/L). La concentración de compuestos volátiles (Tabla 4.3) varió dentro de los rangos naturales de aparición en los vinos tintos comerciales (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012), siendo las concentraciones promedio las elegidas para este estudio. A dos vinos base, uno imitando a un tinto joven y el otro un tinto con barrica, se les añadió uno de los vectores isointensos formados por distinto número de ésteres (V1, V2', V3, V4, V5, V6 o V7). En total se prepararon diez vinos modelo, seis modelos de vino tinto que imitan a vino tinto joven (W-V1, W-V2', W-V3, W-V4, W-V5, W-V6) y cuatro que imitan al vino tinto con barrica (oW-V1, oW-V5, oW-V6 y oW-V7). El contenido final de etanol de WM se ajustó al 12 % (v/v) y pH = 3,5.

2.3. Evaluación sensorial

2.3.1. Participantes

Doce participantes (cuatro hombres y ocho mujeres, de 23 a 60 años de edad, promedio = 33 años), pertenecientes al personal del laboratorio y con una larga experiencia en la descripción del aroma del vino, realizaron las tareas sensoriales.

2.3.2. Evaluación de la intensidad del olor y la calidad de los vectores

La isointensidad de los vectores de ésteres se confirmó utilizando una escala de referencia de 1-butanol adaptada de Atanasova, Langlois, Nicklaus, Chabanet, y Etievant (2004) tal y como se describe en la sección 2.3.2.1. La similitud global, en términos de intensidad y calidad, de los vectores se evaluó mediante test triangulares (sección 2.3.2.2).

2.3.2.1. Evaluación de la intensidad del olor de los vectores

Selección de la escala de olor de referencia 1-butanol

Procedimiento: Este primer paso tuvo como objetivo elegir el rango de concentraciones de la escala de 1-butanol. Se prepararon una serie de diluciones 1:2 de 1-butanol (dilución geométrica) de 6,25 a 12800 mg/L de acuerdo con el método descrito en Atanasova, Langlois, Nicklaus, Chabanet y Etievant (2004). Se presentaron 10 ml de cada una de las doce disoluciones preparadas en copas negras ISO, etiquetadas con códigos aleatorios de 3 dígitos y cubiertas con placas Petri a todos los participantes. Estas disoluciones se compararon con la muestra de control (vector V1 en una disolución tamponada con fosfato, pH 6 y 1 % de etanol). La serie de diluciones de 1-butanol se presentaron en orden ascendente de concentración para minimizar los efectos de la adaptación olfativa y con un descanso de 1 minuto después de cada par. Se instruyó a los participantes para que indicaran la similitud en la intensidad entre cada estándar de 1-butanol y el control en una escala

lineal de 13 cm de largo marcada en el lado derecho con "totalmente similar" y en el lado izquierdo con "totalmente diferente" (ver Figura 4.1 del Anexo 4).

Los resultados mostraron que las puntuaciones más altas de similitud fueron para la disolución que contenía alrededor de 2500 mg/L de 1-butanol. Así, la escala seleccionada cubría el rango entre 0 y 6400 mg/L.

Sesión de entrenamiento

Procedimiento: Comprende dos partes. La primera parte consistió en dos sesiones de 15 minutos (celebradas en días diferentes). Su objetivo era (1) familiarizar a los participantes con las disoluciones de 1-butanol y (2) cualificar a los participantes. En la primera sesión, los participantes se familiarizaron con las cinco intensidades diferentes de la escala de 1-butanol (12.5, 550, 1802, 3773 y 6400 mg/L) y se les pidió que las memorizaran. Para hacer coincidir la intensidad percibida con las intensidades de la escala de 1-butanol, se pidió a los participantes que usaran una escala lineal de 13 cm etiquetada en cada extremo (de intensidad cero a intensidad muy fuerte) en la que las 5 posiciones estaban asociadas a cada uno de los 5 niveles de intensidad de 1-butanol. El nivel 0 se corresponde con agua (ver Figura 4.2 del Anexo 4). En la segunda sesión, se verificó la capacidad de los participantes para asociar correctamente las concentraciones de 1-butanol con su intensidad en la escala. Para ello, se les presentaron cinco muestras de 1-butanol junto con el agua y se les pidió que las clasificaran por orden de intensidad (ver Figura 4.3 del Anexo 4). Esta actividad se realizó por triplicado. El orden de presentación fue aleatorio para cada serie y repetición.

La segunda parte de la sesión de entrenamiento consistió en la evaluación del uso de la escala. A los participantes se les presentaron 24 muestras. Las muestras correspondían a cuatro series idénticas de las seis disoluciones de 1-butanol y agua presentadas en copas negras ISO, etiquetadas con códigos aleatorios de 3 dígitos y cubiertas con placas Petri. Se

pidió a los panelistas que asociaran la intensidad percibida de cada disolución con la intensidad en una escala lineal de 13 cm (ver Figura 4.4 del Anexo 4), tal como fueron instruidos en la fase de entrenamiento. Todas las respuestas fueron recogidas en formato papel. Los participantes se cualificaron cuando asociaban correctamente la intensidad de al menos el 90 % de las disoluciones. Si eran descalificados, repetían las sesiones de entrenamiento desde el principio.

Evaluación de la intensidad de olor de los vectores

Procedimiento: Antes de cada sesión, cada participante olió ortonasalmente cada una de las seis disoluciones pertenecientes a la escala de 1-butanol generada en el paso anterior con el fin de que las memorizasen. Una vez consideraban que las habían memorizado, se les retiraron las copas. En una sesión, los participantes tuvieron que evaluar la intensidad de olor de un vector dado (V2, V3, V4, V5, V6, V7 y V2') junto con la muestra de control (V1) (se presentaron 5 repeticiones para cada vector) sobre la escala lineal de 13 cm empleada en las sesiones de entrenamiento.

Análisis de los datos: las puntuaciones obtenidas para la intensidad del olor se sometieron a un análisis de varianza de dos factores (con los panelistas como factor aleatorio y los vectores como factor fijo). Se calcularon siete ANOVAs que comparaban la intensidad de olor de V1 con el vector dado (V2-V7, V2') para confirmar la ausencia de diferencias significativas ($P < 0,05$) en la intensidad de los vectores y así poder confirmar la isointensidad de los mismos. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando XLSTAT (Addinsoft, versión 2018).

2.3.2.2 Evaluación de diferencias sensoriales de vectores aislados mediante test triangulares

La evaluación de las diferencias sensoriales globales, tanto en cualidad como en intensidad, entre V1 y los vectores simplificados (V2'-V7) se llevó a cabo mediante test triangulares.

Muestras: Se prepararon los mismos vectores de ésteres (V1 y V2'-V7) con los compuestos purificados en disoluciones hidroalcohólicas al 1 % mantenidas a pH 6,0. El vector V2 no se evaluó porque su intensidad era significativamente diferente de V1, como se detalla en la sección de resultados.

Procedimiento: Se realizaron un total de seis comparaciones (pruebas A.1-A.6 en la Tabla 4.4) confrontando los vectores más simples a V1 en test triangulares (V1 vs V2'; V1 vs V3; V1 vs V4; V1 vs V5; V1 vs V6; V1 vs V7). Se presentaron dos juegos de tres copas de vino a cada participante (V1-Vi-Vi y Vi-Vi-V1), lo que dio como resultado 24 respuestas para cada prueba. Se les pidió que olieran ortonasalmente cada muestra y que seleccionaran la que era diferente.

En todas las pruebas, se presentaron 10 ml de muestra (20 ± 1 °C) en copas negras ISO etiquetadas con códigos aleatorios de 3 dígitos y cubiertas con placas Petri según un orden aleatorio y diferente para cada participante.

Análisis de los datos: el número de respuestas correctas se comparó con los valores tabulados (distribución binomial) para evaluar la presencia de diferencias sensoriales significativas ($P < 0,05$) entre las muestras confrontadas.

2.3.3. Evaluación de diferencias sensoriales inducidas por los vectores en vinos tinto modelo mediante test triangulares

Muestras: Se prepararon diez vinos modelo con los vinos base (jóvenes y con barrica, como se detalla en la Tabla 4.3) dopados con uno de los vectores de ésteres isointensos (V1, V2', V3, V4, V5, V6 y V7): seis imitando modelos de vino tinto (W-V1, W-V2', W-V3, W-V4,

W-V5 y W-V6) y cuatro imitando los vinos tintos con barrica (oW-V1, oW-V5, oW-V6 y oW-V7).

Procedimiento: En un primer set de cinco test triangulares, el modelo de vino tinto joven conteniendo el vector más complejo (W-V1) se enfrentó a los modelos de vino tinto joven que contenían vectores más simples desde W-V2' a W-V6 (pruebas B.1 -B.5 en la Tabla 4.4). La comparación W-V1 frente a W-V7 no se realizó porque los modelos de vino que contienen vectores más complejos (W-V5 y W-V6) presentaron diferencias sensoriales significativas, por lo que se asumió que un vector más simple (W-V7) generaría diferencias sensoriales más importantes.

En una segunda serie de tres test triangulares, el modelo de vino tinto con barrica conteniendo el vector más complejo (oW-V1) se enfrentó a los modelos de vino tinto con barrica más simples desde W-V5 a W-V7 (pruebas C.1-C.3 en Tabla 4.4). Trabajamos bajo el supuesto de que las diferencias sensoriales serían más evidentes en contextos más simples (modelo de vino tinto joven) que en modelos más complejos (modelo de vino tinto con barrica). Por lo tanto, no se realizaron las comparaciones de oW-V1 a oW-V2', oW-V3 y oW-V4 porque no se observaron diferencias sensoriales significativas entre W-V1 y W-V2', W-V3 y W-V4 en el contexto de vino tinto joven más sencillo.

Se presentaron dos juegos de tres copas de vino a cada participante (W-V1/W-Vi/W-Vi y W-Vi/W-Vi/W-V1), lo que dio como resultado 24 respuestas para cada test. En todos los test, se presentaron 10 ml de muestra (20 ± 1 °C) en copas negras ISO etiquetadas con códigos aleatorios de 3 dígitos y cubiertas con placas Petri de acuerdo con un orden aleatorio y diferente para cada participante.

Tabla 4.4. Test triangulares realizados para comprobar el efecto de la simplificación de la composición de ésteres en contextos de aroma simples y complejos. En los test A, se confrontaron directamente los vectores. En los tests B, los vectores formaron parte de un vino tinto joven. En el test C, estos formaban parte de un vino modelo con barrica.

Test A	Medio	Vectores confrontados	P^a
A. 1	Agua 1 % etanol pH 6	V1 vs V2'	< 0,05
A. 2	Agua 1 % etanol pH 6	V1 vs V3	n.s.
A. 3	Agua 1 % etanol pH 6	V1 vs V4	n.s.
A. 4	Agua 1 % etanol pH 6	V1 vs V5	n.s.
A. 5	Agua 1 % etanol pH 6	V1 vs V6	n.s.
A. 6	Agua 1 % etanol pH 6	V1 vs V7	< 0,05
Total	-	V1 vs Vi	< 0,01
Test B	Vinos modelo	Vinos confrontados	P^a
B. 1	Vino tinto joven	W-V1 vs W-V2'	n.s.
B. 2	Vino tinto joven	W-V1 vs W-V3	n.s.
B. 3	Vino tinto joven	W-V1 vs W-V4	n.s.
B. 4	Vino tinto joven	W-V1 vs W-V5	< 0,01
B. 5	Vino tinto joven	W-V1 vs W-V6	< 0,01
Test C	Vinos modelo	Vinos confrontados	P^a
C. 1	Vino tinto con barrica	oW-V1 vs oW-V5	n.s.
C. 2	Vino tinto con barrica	oW-V1 vs oW-V6	n.s.
C. 3	Vino tinto con barrica	oW-V1 vs oW-V7	n.s.

^a Significatividad del efecto; ns: no significativo. Los efectos significativos están marcados en negrita ($P < 0,05$).

Análisis de los datos: el número de respuestas correctas se comparó con los valores tabulados (distribución binomial) para evaluar la presencia de diferencias sensoriales significativas ($P < 0,05$) entre las muestras confrontadas.

3. Resultados

3.1. Validación de la pureza de los ésteres

El uso de modelos de aroma requiere el uso de estándares puros libres de cualquier impureza olfativa que pueda sesgar las conclusiones. En el presente trabajo, los estándares comerciales se prepurificaron lavándolos con una disolución de bicarbonato al 5 % para eliminar las trazas de ácidos grasos, algunos de los cuales son compuestos aromáticos muy potentes. Este procedimiento permitió obtener estándares de ésteres puros. Además, y para evitar la hidrólisis espontánea de los ésteres purificados, que podrían producir pequeñas cantidades de ácidos, las disoluciones de ésteres puros se evaluaron en medio hidroalcohólico al 1 % y pH 6,0.

3.2. Desarrollo de los vectores de ésteres etílicos y estudio de los efectos en vinos tintos modelo

El objetivo principal del presente trabajo fue evaluar si los 14 ésteres etílicos frutales que se encuentran en vinos normales podrían reemplazarse por vectores de ésteres más simples que contengan un número reducido de componentes sin comprometer las características sensoriales del vino. Por lo tanto, el primer paso consistió en la construcción de vectores con un menor número de ésteres que V1, pero con una intensidad y calidad similar (evaluados mediante test triangulares A.1-A6, Tabla 4.4). A continuación, las diferencias sensoriales inducidas por estos vectores simplificados en vinos modelo se evaluaron mediante test triangulares (B.1-B.6 para modelos de tinto joven y C.1-C.3 para vinos tintos con barrica, Tabla 4.4).

3.2.1. Simplificación de V1 a V2 y V2'

Preparación de un vector de aroma isointenso simplificado: en la primera etapa de simplificación (de V1 a V2), se eliminaron los ocho ésteres de V1 con concentraciones por

debajo de sus umbrales de olfacción (que figuran en la Tabla 4.1), manteniendo para V2 solo seis ésteres: butirato de etilo, hexanoato de etilo, 2-metilpropanoato de etilo, 2-metilbutirato de etilo, 3-metilbutirato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo. Cuatro de los ésteres eliminados (propanoato de etilo, octanoato de etilo, decanoato de etilo y 4-metilpentanoato de etilo) se encontraban en concentraciones cercanas al umbral (a menudo denominadas concentraciones periumbrales), mientras que los otros cuatro estaban en concentraciones de más de un orden de magnitud por debajo del umbral. En términos de OAV, que no son una medida psicofísica al no medir la respuesta sensorial, sino una forma de expresar la concentración de los odorantes, la cantidad eliminada es 2,3, que es apenas un 1,2 % del OAV en V1. Estos cálculos de OAV se dan en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5. Valor de aroma (OAV) para los diferentes ésteres encontrados en los diferentes vectores.

	OAV							
	V1	V2	V2'	V3	V4	V5	V6	V7
Propanoato de etilo	0,36	-	-	-	-	-	-	-
Butirato de etilo	2,0	2,4	3,6	5,5	5,9	6,8	-	-
Hexanoato de etilo	5,4	6,7	10	7,0	7,4	-	9,5	-
Octanoato de etilo	0,39	-	-	-	-	-	-	-
Decanoato de etilo	0,82	-	-	-	-	-	-	-
2-metilpropanoato de etilo	28	28	42	-	-	-	-	-
2-metilbutirato de etilo	30	36	54	297	315	439	472	867
3-metilbutirato de etilo	127	127	191	-	-	-	-	-
2-metilpentanoato de etilo	0,000070	-	-	-	-	-	-	-
3-metilpentanoato de etilo	0,0012	-	-	-	-	-	-	-
4-metilpentanoato de etilo	0,71	-	-	-	-	-	-	-
3-hidroxibutirato de etilo	0,018	-	-	-	-	-	-	-
Ciclohexanoato de etilo	0,027	-	-	-	-	-	-	-
2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo	2,6	4,0	4,0	2,7	-	-	-	-
OAV TOTAL	197	203	305	312	328	445	481	867

Inicialmente, las concentraciones de algunos de los odorantes remanentes en V2 se aumentaron ligeramente para compensar dicha "pérdida de aroma", de modo que el OAV

total en V2 no fue menor que el de V1. A pesar de eso, el vector simplificado V2 (Tabla 4.5) tuvo una intensidad de olor (6,14) significativamente más baja ($F = 5,86$, $P < 0,01$) que V1 (7,68). Las concentraciones de los odorantes en V2 debían incrementarse un 50 % para igualar la intensidad del olor de V1, de modo que V2' terminó con un OAV de 305, un 50% más alto que el de V1 (Tabla 4.5). Este vector V2' fue isointenso con V1 (6,76 para V1 y 6,77 para V2', $F = 0,522$, $P = 0,792$).

Evaluación de la calidad: las diferencias sensoriales entre V1 y el vector isointenso simplificado V2' se compararon mediante test triangulares. Los resultados revelaron que ambos vectores fueron ligera, pero significativamente diferentes ($P < 0,05$) (Tabla 4.4, prueba A.1).

Efectos en los modelos de vino tinto: También verificamos si V2' podía reemplazar a V1 en un contexto de vino. Para hacer eso, se construyeron y compararon dos vinos modelos semi-sintéticos (WM). Esos WM contenían material no volátil extraído directamente de un vino tinto y los compuestos de aroma agregados a los niveles indicados en la primera parte de la Tabla 4.3, a éstos también se les adicionaron el vector de ésteres etílicos V1 o V2'. Los dos vinos tinto modelo (W-V1 y W-V2'), que difieren solo en la composición del vector de éster, se enfrentaron en un test triangular, y como se muestra en la Tabla 4.4 (prueba B. 1), no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$), lo que indica que la simplificación de V1 a V2' no conduce a diferencias sensoriales notables en el contexto del vino estudiado. Visto este resultado se buscaron vectores de ésteres más simples.

3.2.2. Simplificación de V1 a V3

Para reducir aún más el número de componentes que generasen el mínimo cambio sensorial posible, fue necesario garantizar que la mezcla simplificada conservaba todas las características de olor principales de la mezcla original V1 y de su primera simplificación,

V2': frutal, manzana y fresa. La simplificación se basó en los principales descriptores encontrados en la bibliografía (Tabla 4.1). Para esto, se observó que los seis componentes en V2' pueden clasificarse aproximadamente en dos pares en función de sus características de olor: butirato de etilo y 2-metilpropanoato de etilo, que comparten descriptores de fresa, dulce o chicle, y 2-metilbutirato de etilo y 3-metilbutirato de etilo, que presentan descriptores comunes de manzana. Teniendo esto en cuenta, se preparó V3, una mezcla que contenía solo cuatro componentes. Los ésteres eliminados fueron 2-metilpropanoato de etilo y 3-metilbutirato de etilo. Las concentraciones de los compuestos que quedaban en la disolución se reajustaron intentando reproducir cualitativamente y cuantitativamente a V1.

Evaluación de la intensidad: se puede observar que las concentraciones de hexanoato de etilo y 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo han disminuido en comparación con las de V2' y que las concentraciones de butirato de etilo y 2-metilbutirato de etilo han aumentado mucho. El OAV total de la mezcla V3 es muy similar al de V2', como puede verse en la Tabla 4.5. La intensidad del aroma de V3 (6,82) no fue significativamente diferente de la intensidad de V1 (6,76) o V2' (6,77) ($F = 0,522$, $P = 0,792$).

Evaluación de la calidad: se midió la evaluación de las diferencias sensoriales entre V1 y el vector simplificado V3; V1 no fue significativamente diferente ($P > 0,05$) de V3 en base a los resultados de los test triangulares (Tabla 4.4, prueba A.2).

Efectos en los vinos tinto modelo: Los test triangulares que enfrentaron W-V3 y W-V1 (test B.2) no mostraron diferencias sensoriales significativas ($P > 0,05$) entre ambos vinos modelo (Tabla 4.4). De este modo, se buscó el siguiente paso en la simplificación del vector de ésteres.

3.2.3. Simplificación de V1 a V4

Evaluación de la intensidad: V4, la mezcla que contiene solo tres componentes, se preparó eliminando el 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo, tal y como se explica en el siguiente párrafo. En este caso, no hubo necesidad de cambiar los contenidos relativos, por lo que los tres compuestos aromáticos en V4 tienen la misma proporción que tenían en V3 en concentraciones ligeramente más altas (entre un 6 o un 7 % de aumento). El OAV de V4 fue bastante similar a los de V2' y V3 (Tabla 4.5), su intensidad de olor (7,43) no fue significativamente diferente de V1 (6,77), V2' (6,77) o V3 (6,82), $F = 0,522$, $P = 0,792$.

Evaluación de la calidad: como se mencionó anteriormente, para reducir aún más el número de componentes, fue necesario garantizar que la mezcla simplificada conservaba todas las características principales de olor de la mezcla original V1 y de sus siguientes simplificaciones: V2' y V3 con descriptores frutal, manzana y fresa. Se observó que los cuatro componentes en V3 mantienen sus características de olor: butirato de etilo con descriptores de fresa, dulce o chicle, 2-metilbutirato de etilo con descriptores de manzana y mora, y hexanoato de etilo con descriptores de fresa y frutal (Tabla 4.1). Por esta razón, se esperaba que la omisión del 2-hidroxi-4-metilpentanoato de etilo (con descriptores de fruta, de fresa y de mora) no generara diferencias notables. Los test triangulares no mostraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre V1 y V4 (Tabla 4.4, prueba A.3).

Efectos en los modelos de vino tinto: Los test triangulares que enfrentan W-V4 y W-V1 (prueba B.3) no mostraron diferencias sensoriales significativas ($P > 0,05$) entre ambos modelos de vino (Tabla 4.4). De este modo, se buscó el siguiente paso en la simplificación del vector de ésteres.

3.2.4. Simplificación de V1 a V5 y V6

Evaluación de la intensidad: se generaron dos vectores binarios diferentes: V5 y V6, en los que se omitieron butirato de etilo o hexanoato, mientras que se mantuvo el 2-metilbutirato de etilo. Sus concentraciones se aumentaron para mantener la isointensidad. No se observaron diferencias significativas ($F = 0,522$, $P = 0,792$) en la intensidad entre V1 (6,76) y V5 (6,93), o V6 (7,07). Se puede observar en la Tabla 4.5 que los OAV de V5 y V6 superan en más de un factor 2 al de V1 y en factores alrededor de 1,5 y 1,6, respectivamente, los de V2', V3 y V4.

Evaluación de la calidad: la reducción a dos componentes parecía *a priori* mucho más difícil, ya que la eliminación de cualquiera de los tres componentes en V4 parecía implicar inevitablemente un cambio notable en la calidad (eliminar una de las características principales de la mezcla: frutal, manzana y fresa). De todos modos, se generaron dos vectores binarios diferentes: V5 y V6. En ambos casos, las mejores soluciones (es decir, las que proporcionaban cualidades de aroma menos distintas a las de V1) consistieron en niveles crecientes de butirato de etilo o hexanoato de etilo en un 15 y un 28 %, para V5 o V6, respectivamente, y los de 2-metilbutirato de etilo en un 39 y 50 %. Una vez que se aseguró la isointensidad con V1, estos vectores se confrontaron con V1 mediante test triangulares, y sorprendentemente, no pudieron discriminarse significativamente ($P > 0,05$) (Tabla 4.4, pruebas A.4 y A.5).

Efectos en los modelos de vino tinto: aunque V5 y V6 no fueron significativamente diferentes de V1 cuando se encontraban aislados (Tabla 4.4, pruebas A.4 y A.5), se observaron diferencias sensoriales significativas entre W-V1 y W-V5 ($P < 0,01$) así como entre W-V1 y W-V6 ($P < 0,01$) en los test triangulares (Tabla 4.4, pruebas B.4 y B.5). Para verificar si estas diferencias cualitativas podrían pasar inadvertidas en un contexto de aroma

más sofisticado, se preparó un segundo modelo de vino reconstituido. Este modelo era similar al vino tinto joven, pero contenía compuestos de la madera en los niveles indicados en la Tabla 4.3, cuya concentración se encuentran dentro del rango normal de aparición en vinos. En este caso, el modelo que contiene V1 (oW-V1) no fue significativamente diferente de V5 ni V6 (oW-V5 y oW-V6) en base a los test triangulares, como se muestra en la Tabla 4.4 (pruebas C.1 y C.2).

3.2.5. Simplificación de V1 a V7

Evaluación de la intensidad: Finalmente, V7, el último vector con solo un componente, contenía solo 2-metilbutirato de etilo. Para lograr una intensidad similar a V1, la concentración de su único odorante debería aumentarse a 1,7 mg/L (ver Tabla 4.2), aproximadamente el doble de la cantidad de este odorante en los vectores V5 y V6, lo que lleva a un OAV de 867 (Tabla 4.5). A pesar de estas diferencias en los valores de OAV, se confirmó la isointensidad entre V1 (6,76) y V7 (6,80) ($F = 0,522$, $P = 0,792$).

Evaluación de la cualidad: En cuanto a los vectores V5 y V6, la eliminación de cualquiera de sus componentes parece implicar inevitablemente un cambio notable en la cualidad. El único compuesto que mantiene los tres descriptores de la mezcla: frutal, manzana y fresa parece ser 2-metilbutirato de etilo (Tabla 4.1). Este vector, V7, fue significativamente ($P < 0,05$) diferente de V1 (Tabla 4.4, prueba A.6).

Efectos en los modelos de vino tinto: La comparación W-V1 vs W-V7 no se llevó a cabo en el vino tinto joven, ya que el hecho de que se observaran diferencias significativas para mismo vino con vectores más complejos (V5 y V6), hizo suponer que un vector más simple (V7), que ya era significativamente diferente de V1 (Tabla 4.4, prueba A.6), induciría también diferencias sensoriales significativas en el mismo contexto de vino tinto joven (W-V7). Por esta razón, se evaluó el efecto de V1 en un contexto más complejo, como el

modelo de vino tinto con barrica (oW-V1), confrontando esta muestra con el modelo de vino tinto con barrica más simple (oW-V7) en un test triangular. A pesar de las diferencias encontradas en la comparación de los vectores aislados V1 frente a V7, los resultados mostraron que oW-V7 no fue significativamente diferente ($P > 0,05$) de oW-V1 en el modelo de vino tinto con barrica (Tabla 4.4, prueba C.3).

4. Discusión

4.1. Efecto de la diversidad de los ésteres etílicos sobre la cualidad del aroma general del vino

Un primer resultado notable e inesperado son las grandes similitudes de olor entre V1 y los vectores simplificados (excepto para V2' y V7) cuando se presentan aisladamente en una disolución hidroalcohólica a $\text{pH} = 6$ (Tabla 4.4, pruebas A.2 - A.5). A pesar de estas grandes similitudes, si consideramos el total de comparaciones realizadas (considerando la suma de las pruebas A, con 65/144, respuestas correctas/totales), se puede decir que globalmente, los vectores simplificados son significativamente diferentes ($P < 0,01$) de V1. Por otra parte, una segunda observación interesante es que a los panelistas les resultó mucho más difícil percibir la diferencia en las comparaciones V_i-V_i-V1 (la disolución más compleja, V1, es la diferente), que en la condición $V1-V1-V_i$ (el vector más simple, V_i , es el diferente) (con 28/72 frente a 37/72 respuestas correctas/totales en el primer conjunto de ensayos, respectivamente, estando el nivel de significatividad ($P < 0,05$) en 32/72). Estas dos observaciones resaltan la existencia de diferencias sutiles, no fácilmente identificables, vinculadas a la eliminación de compuestos de aroma secundarios.

Los resultados obtenidos cuando los vectores de ésteres se integraron en el modelo de vino tinto joven (Tabla 4.4, pruebas B.1 - B.5), mostraron que solo V2', V3 y V4 fueron capaces de reemplazar a V1 sin introducir cambios sensoriales notables ($P > 0,05$). Sin

embargo, el reemplazo podría extenderse hasta V5, V6 y V7 cuando se integraron en un modelo de vino tinto con barrica, también sin cambios sensoriales (Tabla 4.4, pruebas C.1 - C.3). Esto implica que la mezcla de 14 ésteres podría reemplazarse por solo tres ésteres (butirato de etilo, hexanoato de etilo y 2- o 3-metilbutirato de etilo) en un modelo de vino tinto joven y por solo un éster (2- o 3-metilbutirato de etilo) en un modelo de vino tinto con barrica.

Los resultados sugieren que, en términos cualitativos, las interacciones de olor entre los diferentes ésteres en la mezcla pueden interpretarse en términos de la teoría de la dominancia. Según esta teoría, el olor de una mezcla es muy cercano al olor de su odorante más intenso. Como se muestra en la Tabla 4.5, el 2- o 3-metilbutirato de etilo (cuyos olores son muy similares y que de hecho se pueden intercambiar fácilmente) es el más abundante en la mezcla. El resto de componentes, cualitativamente, agregarían matices de olor secundarios que no son esenciales. Este hecho puede explicarse también en términos de cualidad del aroma. Berglund, Berglund y Lindvall (1976) mostraron que cuando la percepción inducida por una mezcla es heterogénea, al menos algunos de los componentes de olor pueden percibirse dentro de la mezcla. Esto se debe a un procesamiento analítico de la información olfativa (Berglund & Olsson, 1993) también calificado como elemental (Kay, Crk, & Thorngate, 2005). En ese caso, se pueden observar algunas interacciones perceptuales, como la dominancia perceptual o la supresión parcial (Atanasova, Thomas-Danguin, Chabanet, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2005; Ferreira, 2012b; Kurtz, Lawless, & Acree, 2009). De acuerdo con esta teoría, como sugieren Romagny, Coureaud y Thomas-Danguin (2018), es posible percibir algunos elementos individuales presentes en la mezcla de ésteres en una disolución hidroalcohólica, a pesar del hecho de que la similitud entre la mezcla completa (V1) y los elementos es fuerte. Sin embargo, con la adición de otros compuestos, con el fin de imitar el contexto vino, los elementos ya no se perciben a través

de su propia identidad y crean una asociación clave, el concepto "frutal". En los modelos de vino tinto, la eliminación de compuestos secundarios en la mezcla de ésteres puede producir una pérdida parcial en la identidad del concepto "frutal" que conduce a diferencias significativas (V5 y V6 fueron significativamente diferentes, $P < 0,01$, de V1 en un contexto de vino tinto joven, tabla 4.4, prueba B.4 - B.5). El concepto "frutal" sigue la hipótesis de que las características de los ésteres etílicos solo se expresan completamente cuando coexisten con otros objetos de aroma, que naturalmente coinciden con ellos en las frutas naturales. Estos odorantes concurrentes podrían ser ácidos grasos volátiles, como el ácido hexanoico y los ácidos isovaléricos o el furaneol (Romano, Perello, Lonvaud-Funel, Sicard, & de Revel, 2009; San-Juan, Ferreira, Cacho, & Escudero, 2011).

Por otro lado, las diferencias entre V1 y V5 y V6 desaparecieron en un modelo de vino tinto con barrica (Tabla 4.4, prueba C.1 - C.2), porque en este nuevo contexto, el concepto dominante no es el "frutal" sino el aroma "madera". Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet y Etievant (2005) ya mostraron que las notas a madera tienden a dominar sobre las notas frutales, pero su trabajo se realizó con disoluciones binarias, por lo que este problema merecería una investigación específica adicional para poder ser generalizada en contextos más complejos.

En cualquier caso, nuestros resultados indican que la percepción de algunas características de olor secundarias de la mezcla original depende en gran medida del contexto de aroma. Los contextos de aroma demasiado simples, como la disolución hidroalcohólica, disminuyen la percepción de diferencias sutiles y, en contextos de aroma demasiado complejos, esas sutilezas pueden perderse por completo. Un corolario práctico es que el papel de los odorantes o ingredientes siempre debe verificarse en el producto final, ya que algunas de las diferencias o particularidades observadas o no detectadas en contextos aromáticos más simples pueden, o no, traducirse finalmente en la percepción global. Este

es probablemente el caso de algunas de las observaciones sobre el papel específico de los ésteres en las características sensoriales de los vinos (Lytra, Cameleyre, Tempere, & Barbe, 2015; Lytra, Tempere, de Revel, & Barbe, 2012a, 2014, 2015).

Pero la consecuencia más relevante de todas las observaciones anteriores es la propia existencia de vectores de aroma como unidades perceptuales. Los resultados han demostrado que las señales correspondientes a los 14 ésteres etílicos se integran en un solo vector con al menos tres dimensiones cualitativas diferentes en contextos aromáticos simples, y con solo una en los contextos más complejos. Los vectores de aromas deben constituir un concepto básico para la interpretación y la modelización de mezclas de aromas complejos. Esto sugiere que la modelización de mezclas complejas parece ser una tarea difícil, pero no imposible. Para hacer un uso completo del concepto, primero debe adquirirse una comprensión más profunda de la similitud cualitativa que conduce a una percepción unitaria. Aquí, hemos agrupado intencionadamente en el vector solo ésteres etílicos con un grado relativamente alto de similitud entre sus atributos, dejando fuera del vector algunos otros ésteres que tienen notas de aroma específicamente diferentes, como acetato de etilo (disolvente, vinagre), acetato de isoamilo (plátano) o cinamato de etilo (flor), que estaban presentes como componentes en los vinos modelo (ver Tabla 4.3). Lo hemos hecho porque nuestra experiencia con vinos modelo mostró que estos componentes transmiten al búfer de aroma del vino (la mezcla de aroma formada por etanol y por los metabolitos volátiles principales de la fermentación alcohólica) sus atributos de olor específicos cuando están presentes a niveles adecuados.

4.2. Efecto de la diversidad de los ésteres etílicos sobre la intensidad del aroma global del vino

Un tercer resultado remarcable es que es innegable el papel de los odorantes a niveles subumbrales o periumbrales en la intensidad de olor de la mezcla. Esta afirmación se basa en la importante disminución de la intensidad producida al simplificar V1 a V2 mediante la eliminación de compuestos que se encuentran por debajo de su umbral sensorial. Este resultado está de acuerdo con algunas observaciones de Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, y Barbe (2013) y con los resultados más recientes presentados por Niu, Wang, Xiao, Zhu, Sun, y Wang (2019). Estos últimos autores han encontrado que la eliminación del decanoato de etilo (a niveles subumbrales) de una disolución de ésteres que imita la composición de los vinos de cereza produjo una fuerte disminución en la intensidad del olor de la mezcla ($I_{\text{final}} = 0,72 I_{\text{original}}$). Este aumento del olor o, en términos psicofísicos efecto de hiperadición, puede relacionarse con observaciones previas, como los fuertes efectos causados por pequeñas cantidades de 4-metil-4-mercapto-2-pentanona en el aroma del vino blanco (Escudero, Gogorza, Melus, Ortin, Cacho, & Ferreira, 2004), o por cantidades subumbrales de salicilato de etilo (Niu, Wang, Xiao, Zhu, Sun, & Wang, 2019). Sin embargo, el aumento de la intensidad observado en estos dos últimos casos puede atribuirse a las características específicas introducidas por esos odorantes, tales como fresco, o verde. Dichas características específicas pueden completar o mejorar el concepto de olor representado por la mezcla, aumentando su intensidad. Sin embargo, es intrigante saber qué característica especial de aroma sería la proporcionada por el decanoato de etilo en el experimento de Niu, Wang, Xiao, Zhu, Sun y Wang (2019), o cualquiera de los otros 7 odorantes que se eliminaron en dicho experimento. Esta pregunta merecería una investigación específica adicional.

Un cuarto resultado remarcable es que el proceso de simplificación implica inevitablemente un aumento en la concentración de los odorantes que forman la nueva mezcla en una proporción muy superior a la correspondiente a un reemplazo estricto. Esta afirmación se basa en el continuo y fuerte aumento en los OAV que se ve en la Tabla 4.5. Por ejemplo, en el modelo más simplificado, V7, el OAV fue 4,4 veces más alto que el de V1. La simplificación del aroma conlleva inevitablemente un aumento de la masa de odorante. Este resultado es la simple consecuencia de la naturaleza de las funciones psicofísicas, que relacionan la intensidad del olor y la concentración del odorante. La función psicofísica que relaciona la intensidad del olor con el logaritmo de la concentración del estímulo debe tener una forma sigmoidea, y puede describirse mediante la función propuesta por Chastrette, Thomas-Danguin y Rallet (1998):

$$I = \frac{I_m \cdot C^{n_s}}{C_{ip}^{n_s} + C^{n_s}}$$

donde I es la intensidad calculada de la respuesta, I_m es el valor máximo de intensidad percibida, C es la concentración del estímulo, C_{ip} es la concentración en el punto de inflexión e intensidad media y n_s es el exponente de Steven para el odorante (que varía entre 0 y 1). Esta función sigmoidea está representada en la Figura 4.1A.

Como la función sigmoidea más importante es la función logística, cuya primera derivada es la función Gaussiana, que alcanza el valor máximo en el punto de inflexión (o concentración media; $z = 0$), tendemos a pensar que en todas las funciones sigmoideas, la primera derivada será máxima en el punto de inflexión. Sin embargo, este no es el caso de la función psicofísica descrita por la ecuación 1 y representada en escala logarítmica en la Figura 4.1A y en la escala lineal en la Figura 4.1B. La primera derivada de esta función, que representa las pendientes en escalas logarítmica o lineal en las Figuras 4.1C y 4.1D, respectivamente, toma valores máximos a los valores más pequeños de concentración y

disminuye continuamente con la concentración (C). Esto implica que, a medida que aumenta la concentración del odorante, incrementos iguales en intensidad implican incrementos mucho mayores de la concentración y, por lo tanto, de OAV. Por ejemplo, en una situación hipotética ($I_m = 10$, $C_{ip} = 450$ mg/L, umbral de olor = 6,77 mg/L y $n_s = 0,54$, Figura 4.1), la eliminación de un odorante presente a niveles umbrales (6,77 mg/L, ●) significaría una disminución en la intensidad de 0,068 unidades (Figura 4.1C y 4.1D). Sin

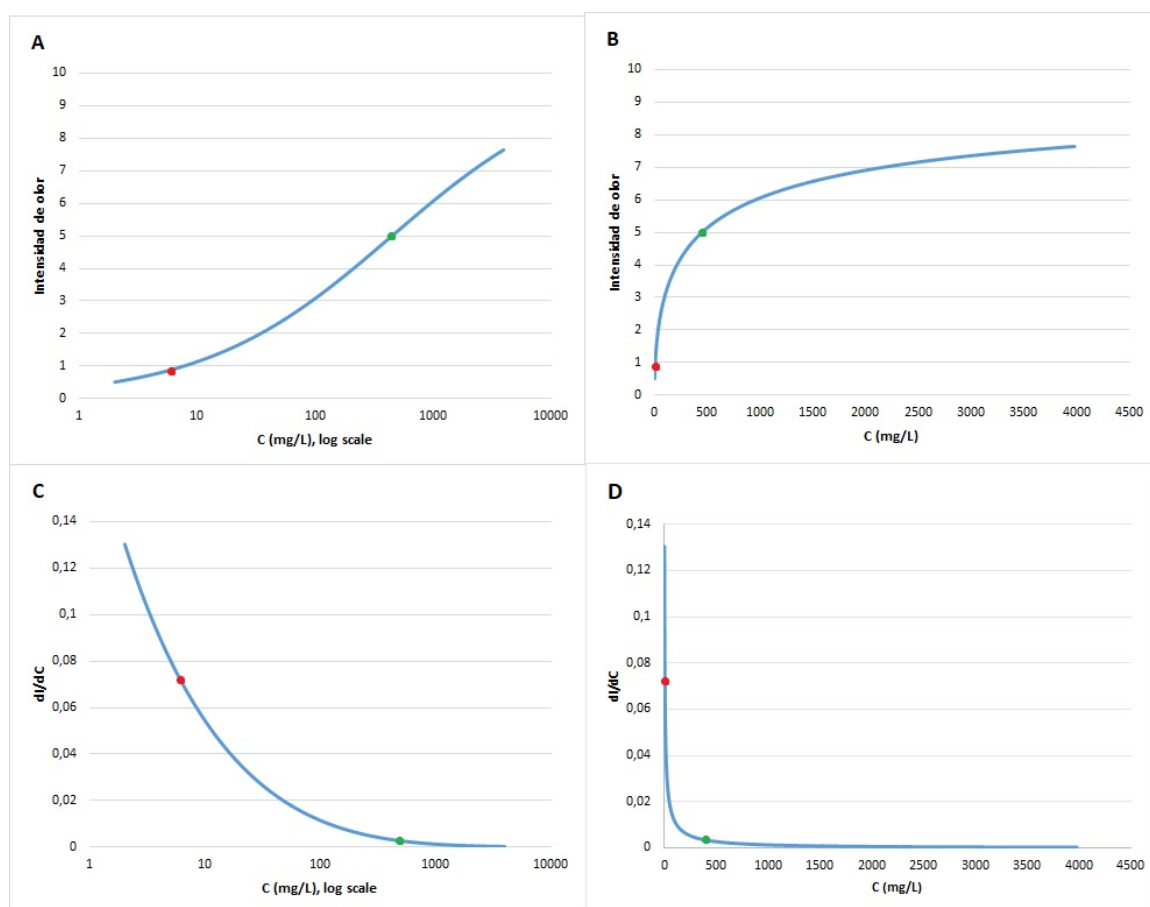


Figura 4.1. Función psicofísica teórica y su primera derivada, que representa un odorante con un umbral de 6,77 mg/L, una concentración de intensidad media de 450 mg/L y un coeficiente de Stevens (n_s) de 0,54. La función ha sido representada utilizando la ecuación propuesta por Chastrette, Thomas-Danguin, y Rallet (1998). A) Representación estándar con la concentración en escala logarítmica; B) Representación en escala lineal; C) Primera derivada de la función en escala logarítmica; D) Primera derivada de la función en escala lineal.

embargo, la concentración en el punto de inflexión e intensidad media ($I = 5$) (450 mg/L, ●) representa una intensidad de solo 0,003 unidades. Cabe destacar que este resultado se producirá independientemente de la naturaleza del tipo de interacción entre los odorantes en la mezcla. Excepto en los casos menos habituales en los que la intensidad de la mezcla está por debajo de la intensidad del odorante más intenso (en aislamiento), que a menudo se define como compromiso, el resultado será el mismo en hipoadición, adición perfecta e hiperadición o sinergia. Por supuesto, a medida que el grado de aditividad aumenta, aumentará la divergencia entre los OAV de las mezclas de odorantes más simples y las más complejas.

Uno de los corolarios prácticos de este hecho es que los OAV son medidas bastante limitadas para predecir no solo la importancia real de un odorante en una mezcla sino, como se ve aquí, también como criterios para combinar los odorantes en vectores. Frijters (1978) formuló las limitaciones sobre los OAV por primera vez hace 40 años, pero las consecuencias prácticas generalmente son ignoradas por los investigadores del aroma (incluidos nosotros mismos), que siguen utilizando los OAV (una medida física) para inferir propiedades psicofísicas. Más bien, es la intensidad del olor el parámetro que debe usarse, lo que hace que sea aconsejable determinar las curvas psicofísicas de los principales odorantes y estudiar la aditividad de las señales.

Una precaución similar debe plantearse igualmente respecto a las observaciones realizadas a niveles umbrales, en las que se espera una mayor interacción entre los odorantes (Lytra, Tempere, Le Floch, de Revel, & Barbe, 2013).

5. Conclusiones

Los resultados muestran que las diferencias entre el vector de aroma que contiene 14 ésteres etílicos en los niveles máximos de vino tinto y otros vectores de aroma

isointensos que contienen un número reducido de ésteres pueden percibirse solo en algunos contextos aromáticos. Cuando los vectores se huelen de forma aislada, estas diferencias apenas se perciben. Sin embargo, cuando los vectores se encuentran presentes en un contexto de vino tinto joven, los vectores con solo 1 o 2 componentes se identificaron fácilmente; pero en un contexto de vino tinto con barrica, las diferencias no son perceptibles. En términos prácticos, esto implica que la mezcla de 14 ésteres etílicos se puede reemplazar satisfactoriamente por solo 3 ésteres etílicos en un vino tinto joven, o por solo 1, el más intenso en el vector original, si hay notas de barrica presentes. Este resultado cuestiona la supuesta importancia de algunos ésteres minoritarios o formas enantioméricas específicas en los descriptores de olor específicos del vino y confirma la necesidad de trabajar con mezclas complejas similares al producto objetivo en zonas supraumbrales.

A pesar de esto, los resultados confirman que los odorantes a niveles subumbrales o periumbrales desempeñan un papel destacado en la intensidad del olor global de la mezcla. Además, se ha encontrado que el proceso de simplificación del aroma concomitantemente implica un aumento en la cantidad de odorante (en términos de OAV) requerido para mantener la intensidad del vector de aroma. Se sugiere que tales efectos son la consecuencia simple del poder de la naturaleza de las funciones psicofísicas, lo que a su vez evidencia el valor limitado del empleo del OAV para predecir la importancia sensorial de los odorantes o combinar vectores de aroma.

Finalmente, el hecho de que las señales olfativas de 14 compuestos se integran, en un vector con tres o solo una dimensión, sugiere que las mezclas de olores complejas podrían interpretarse y modelizarse haciendo uso del concepto de vectores aromáticos como unidades perceptuales básicas que contienen información cualitativa específica. Este resultado constituye una prueba de concepto de la existencia de vectores de aroma que deberían ser de interés general para las industrias de alimentos y sabores/flavores.

6. Referencias

- Atanasova, B., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2004). Evaluation of olfactory intensity: Comparative study of two methods. *Journal of Sensory Studies*, 19(4), 307-326.
- Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Chabanet, C., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2005). Perceptual interactions in odour mixtures: Odour quality in binary mixtures of woody and fruity wine odorants. *Chemical Senses*, 30(3), 209-217.
- Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2005). Perception of wine fruity and woody notes: influence of peri-threshold odorants. *Food Quality and Preference*, 16(6), 504-510.
- Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(6), 476-482.
- Aznar, M., Lopez, 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.
- Berglund, B., Berglund, U., & Lindvall, T. (1976). Psychological processing of odor mixtures. *Psychological Review*, 83(6), 432-441.
- Berglund, B., & Olsson, M. J. (1993). Odor-intensity interaction in binary mixtures. *Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance*, 19(2), 302-314.
- Cameleyre, M., Lytra, G., Tempere, S., & Barbe, J. C. (2017). 2-Methylbutyl acetate in wines: Enantiomeric distribution and sensory impact on red wine fruity aroma. *Food Chemistry*, 237, 364-371.
- Campo, E., Cacho, J., & Ferreira, V. (2008). 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.
- Campo, E., Ferreira, V., Escudero, A., Marques, J. C., & Cacho, J. (2006). Quantitative gas chromatography-olfactometry and chemical quantitative study of the aroma of four Madeira wines. *Analytica Chimica Acta*, 563(1-2), 180-187.
- Campo, E., Ferreira, V., Lopez, R., Escudero, A., & Cacho, J. (2006). Identification of three novel compounds in wine by means of a laboratory-constructed multidimensional gas chromatographic system. *Journal of Chromatography A*, 1122(1-2), 202-208.
- Chastrette, M., Thomas-Danguin, T., & Rallet, E. (1998). Modelling the human olfactory stimulus-response function. *Chemical Senses*, 23(2), 181-196.
- Escudero, A., Campo, E., Farina, 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.

- Escudero, A., Gogorza, B., Melus, M. A., Ortin, 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.
- Etievant, P. (1991). Wine. In M. H. (Ed.), *Volatile compounds in foods and beverages*, vol. 1 (pp. 483–546). New York, US: Marcel Dekker.
- Falcao, L. D., Lytra, G., Darriet, P., & Barbe, J. C. (2012). Identification of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in red wines, a compound involved in blackberry aroma. *Food Chemistry*, 132(1), 230-236.
- Ferreira, V. (2012a). 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.
- Ferreira, V. (2012b). Revisiting psychophysical work on the quantitative and qualitative odour properties of simple odour mixtures: a flavour chemistry view. Part 2: qualitative aspects. A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 27(3), 201-215.
- 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.
- Ferreira, V., Lopez, 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.
- 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.
- Frijters, J. E. R. (1978). Critical analysis of odor unit number and its use. *Chemical Senses & Flavour*, 3(2), 227-233.
- Kay, L. M., Crk, T., & Thorngate, J. (2005). A redefinition of odor mixture quality. *Behavioral Neuroscience*, 119(3), 726-733.
- 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.
- Kurtz, A. J., Lawless, H. T., & Acree, T. E. (2009). Reference matching of dissimilar binary odor mixtures. *Chemosensory Perception*, 2(4), 186-194.
- Lambrechts, M., & Pretorius, I. (2000). Yeast and its importance to wine aroma-a review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 21, 97-129.
- Lytra, G., Cameleyre, M., Tempere, S., & Barbe, J. C. (2015). Distribution and organoleptic impact of ethyl 3-hydroxybutanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(48), 10484-10491.

- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2012). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(6), 1503-1509.
- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2014). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-methylbutanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5005-5010.
- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2015). Enantiomeric distribution of ethyl 2-hydroxy-4-methylpentanoate in wine, a natural enhancer of fruity aroma. In B. Guthrie, J. Beauchamp, A. Buettner & B. K. Lavine (Eds.), *Chemical Sensory Informatics of Food: Measurement, Analysis, Integration*, vol. 1191 (pp. 67-76). Washington: Amer Chemical Soc.
- Lytra, G., Tempere, S., Le Floch, A., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2013). Study of sensory interactions among red wine fruity esters in a model solution. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(36), 8504-8513.
- Niu, Y. W., Wang, P. P., Xiao, Z. B., Zhu, J. C., Sun, X. X., & Wang, R. L. (2019). Evaluation of the perceptual interaction among ester aroma compounds in cherry wines by GC-MS, GC-O, odor threshold and sensory analysis: An insight at the molecular level. *Food Chemistry*, 275, 143-153.
- Pineau, B., Barbe, J. C., Van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2009). Examples of perceptive interactions involved in specific "red-" and "black-berry" aromas in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9), 3702-3708.
- Pineau, B., Barbe, J. C., van Leeuwen, C., & Dubourdieu, D. (2010). Olfactory specificity of red- and black-berry fruit aromas in red and contribution to the red Bordeaux wine concept. *Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin*, 44(1), 39-49.
- Rigou, P., Triay, A., & Razungles, A. (2014). Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine. *Food Chemistry*, 142, 242-248.
- Romagny, S., Coureaud, G., & Thomas-Danguin, T. (2018). Key odorants or key associations? Insights into elemental and configural odour processing. *Flavour and Fragrance Journal*, 33(1), 97-105.
- 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.
- Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ballester, J., Fernandez-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D., & Valentin, D. (2015). Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *Lwt-Food Science and Technology*, 60(1), 400-411.
- 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.

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.

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.

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), 290-296.

SECCIÓN III.- Capítulo 2

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

1. Introducción

La complejidad del aroma del vino (entendida como el número de atributos reconocibles) está en consonancia con su complejidad química ya que es el resultado de interacciones complejas entre muchos componentes químicos con olor. Sólo en algunos casos particulares y sencillos es posible encontrar compuestos impacto capaces de transmitir al producto sus características aromáticas más específicas. En lo que se refiere al aroma del vino, los vinos tintos son mucho más complejos que los blancos o rosados ya que entre otras muchas variables, contienen cantidades grandes de fenoles volátiles (eugenol, 4-etilfenol, 4-etilguaiacol y guaiacol, entre otros) que ejercen un importante efecto de supresión de las notas frutales (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004). Este fenómeno todavía es más importante si los vinos han sido envejecidos en barricas de roble, lo que aumenta el nivel de fenoles volátiles y añade whiskylactonas a la mezcla. En este contexto químico, la predicción de la intensidad de los distintos atributos del vino, particularmente de los frutales, es muy compleja. No es sorprendente, por tanto que, en los vinos tintos, dejando de lado la whiskylactona, no se encuentren compuestos impacto genuinos, sino más bien grupos relativamente grandes de compuestos que contribuyen a las distintas notas aromáticas.

En el caso de las notas frutales de los vinos tintos, y hasta la fecha, se han identificado varios componentes o grupos de componentes implicados en la formación de notas pertenecientes a esta categoría de aroma. Por un lado, está ampliamente reconocido que los ésteres etílicos (incluyendo aquí los ésteres ramificados, lineales e hidroxíesteres),

de manera concertada, están implicados en la formación de aromas no específicos de fruta. La interacción de estos compuestos con norisoprenoides, como la β -damascenona y β -ionona parece favorecer la aparición de notas a fruta pasa. Mientras que los ácidos grasos añadirían frescor a la fruta proporcionada por los ésteres, el sulfuro de dimetilo (DMS) tendría un efecto potenciador del aroma frutal dando lugar a notas específicas a fruta negra (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007).

En el caso de los compuestos que se extraen de la madera, los más relevantes serían la familia de las vainillas (vainillato de metilo y etilo, acetovainillona) con descriptores avainillados, las whiskylactonas con aroma a coco, el eugenol con aroma a clavo, el guaiacol con descriptores ahumados y el furaneol, con descriptores a caramelo (Escudero, Campo, Farina, Cacho, & Ferreira, 2007; Jarauta, Cacho, & Ferreira, 2005).

Tanto los ésteres etílicos como los extractables de la madera pueden estar presentes en proporciones y niveles de concentración muy diversos según el tipo de vino. Así, durante el envejecimiento, los ésteres etílicos de los ácidos grasos de mayor peso molecular (desde el hexanoato hasta el decanoato de etilo) descienden, mientras que el butirato de etilo parece mantenerse constante (Makhotkina & Kilmartin, 2012). En lo que se refiere a los ésteres etílicos procedentes de los ácidos ramificados (Diaz-Maroto, Schneider, & Baumes, 2005; Ugliano & Moio, 2005) así como los hidroxieésteres se ha sugerido que se sintetizan por esterificación de sus ácidos correspondientes durante el envejecimiento (Diaz-Maroto, Schneider, & Baumes, 2005). En lo que se refiere a los extractables de la madera, sus niveles dependen de varios factores como son el tipo de madera (por ejemplo: especie, origen geográfico, tratamiento silvicultural), el método de secado de la madera, el tipo de tostado o el número de usos de la barrica (Cadahia, De Simon, & Jalocha, 2003; Cerdan, Mozaz, & Azpilicueta, 2002; Chatonnet & Dubourdiou, 1998). Algunos compuestos están ya presentes en la madera sin tostar, como ocurre con las (Z) y (E)-whiskylactonas. Durante

el secado de la madera, algunos compuestos fenólicos y las whiskylactonas incrementan su concentración (Cadahia, Munoz, de Simon, & Garcia-Vallejo, 2001), mientras que durante el proceso de tostado de la madera se produce la degradación térmica de la lignina que lleva a la formación de fenoles volátiles (como por ejemplo el guaiacol o el eugenol) y aldehídos fenólicos (como la vainilla o el siringaldehído) (Faix, Meier, & Fortmann, 1990). Es por ello que la composición de los extractables de la madera varía enormemente.

Cabe destacar que tanto los aromas a fruta como a madera han sido repetidamente identificados como marcadores de la calidad y de la preferencia en vinos tintos por consumidores con distintos niveles de experiencia, desde expertos hasta consumidores naïve de diferentes orígenes (Hopfer & Heymann, 2014; Saenz-Navajas, Ballester, Pecher, Peyron, & Valentin, 2013). Este hecho ha hecho que se hayan llevado a cabo varios trabajos enfocados a entender las interacciones perceptuales entre las notas a madera y las notas frutales en vino (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004). Estos estudios han puesto de manifiesto que las notas a madera tienden a dominar sobre las notas frutales en disoluciones con niveles peri- y sub- umbrales de los odorantes de la madera, sobre todo aquellas mezclas formadas por whiskylactona y otro éster (butirato de etilo) o acetato (acetato de isoamilo). Sin embargo, a pesar de ser objeto de numerosas investigaciones psicofísicas, la mayoría de ellas han estado centradas en interacciones de mezclas relativamente sencillas (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant, 2004; Margaux Cameleyre, Lytra, Tempere, & Barbe, 2015), generalmente mezclas binarias, por lo que la extrapolación a mezclas más complejas como es el vino, no ha sido abordada hasta el momento. En este contexto, el objetivo del presente trabajo ha sido estudiar las interacciones sensoriales entre el vector frutal de los ésteres etílicos y tres tipos de vectores

de la madera, en diferentes niveles de concentración e identificar las dimensiones sensoriales generadas por dichas interacciones.

2. Materiales y métodos

2.1. Compuestos y estándares

Disolventes: Se adquirieron etanol de calidad LiChrosolv en Merck (Darmstadt, Alemania).

El agua pura fue obtenida de un sistema de purificación Milli-Q (Millipore, Bedford, MA).

Estándares: Los estándares químicos fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Madrid, España) y Firmenich (Ginebra, Suiza) y fueron de la mayor pureza disponible.

Reactivos: El bicarbonato y el sulfato de sodio anhidro fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España).

2.2. Preparación de los vinos modelo

2.2.1. Purificación de los ésteres

Los estándares de los ésteres etílicos se aislaron y purificaron según el procedimiento descrito en el capítulo anterior de esta misma sección.

2.2.2. Preparación de los vinos modelo

Se generaron veintiún vinos modelo que se prepararon mezclando un conjunto de componentes comunes de vinos tintos, tanto volátiles como no volátiles. Los no volátiles se obtuvieron por liofilización de un vino tinto (el índice de polifenoles total se midió como la absorbancia a 280 nm = 59,5 a.u., azúcares reductores = 5,8 g/L, acidez total = 3,6 g/L expresada en ácido sulfúrico; ácido láctico = 1,9 g/L y ácido málico = 0,3 g/L). La concentración de compuestos volátiles (Tabla 5.1) varió dentro de los rangos naturales de aparición en los vinos tintos comerciales, siendo la concentración media encontrada en

muestras comerciales para los compuestos que forman el aroma base común, la empleada en este estudio (San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Esta mezcla corresponde al vino base (B). Sobre esta mezcla de vino base se adicionó o no un vector de aroma frutal compuesto por un éster (2-metilbutirato de etilo) a dos niveles posibles de concentración (434,7 y 1292 mg/L para los niveles 1 y 2, respectivamente, según la simplificación llevada a cabo en el capítulo 5 de la presente tesis, siendo 1730 mg/L de 2-metilbutirato los alcanzados en el nivel 2). Para cada nivel de ésteres (vino base - B, nivel 1- E1 y nivel 2- E2), se le adicionó o no un vector madera a dos niveles posibles de concentración. Se seleccionaron tres vectores de madera diferentes, que estaban formados por los mismos componentes (whiskylactona, vanillina, vanillato de etilo, acetovanillona, guaiacol, furaneol y eugenol) pero en concentraciones variables entre vectores (ver Tabla 5.1). El contenido final de etanol del vino modelo se ajustó al 12 % (v / v) y a un pH = 3,5.

En términos de codificación de las muestras, la primera letra establece el nivel de concentración del vector ésteres del vino modelo (vino base - B, nivel 1- E1 y nivel 2- E2). Las siguientes dos letras indican el vector de madera adicionada. Estos vectores son mezclas de compuestos que se extraen de la madera y que representan 3 tipos de barrica diferentes. El primero (CC) imita un tipo de madera de roble americano, siendo más rico en whiskylactona, el segundo (CL), representa un tipo de madera de roble francés, siendo más rico en eugenol, y el tercero (CV), imita un tipo de madera de roble francés más tostado, siendo más rico en vainillas (Herrero, Saenz-Navajas, Avizcuri, Cullere, Balda, Anton, et al., 2016; San Juan, Cacho, Ferreira, & Escudero, 2012). Asimismo, el número posterior es el que determina el nivel de concentración del vector de madera (1 y 2 para cada tipo de vector madera: CC, CV y CL). Por ejemplo, E2CV2 significa que este es el vino modelo formado por el vector ésteres a nivel 2 y el vector madera rica en vainilla a alta concentración (nivel 2).

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

Tabla 5.1. Composición aromática de los vinos modelo ($\mu\text{g/L}$)

Compuesto		Concentración	
Mezcla de compuestos que conforman el aroma base común (B)	Alcohol isoamílico	180000	
	β -feniletanol	30000	
	Ácido acético	150000	
	Acetato de etilo	50000	
	Ácido hexanoico	2000	
	Ácido 3-metilbutírico	300	
	2,3-butanodiona	400	
	Acetato de isoamilo	1000	
	Vanillato de etilo	250	
	Vainilla	70	
	γ -nonalactona	20	
	Guaiacol	10	
	β -damascenona	4,0	
	β -ionona	0,30	
	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol)	30	
Cinamato de etilo	0,43		
Linalool	7,0		
2-metilbutirato de etilo	432		
Geraniol	0,13		
		Nivel 1	Nivel 2
Vector ésteres (E)	2-metilbutirato de etilo	434,7	1292
Vector madera (CC)	Whiskylactona	333	667
	Vainilla	170	333
	Vanillato de etilo	833	1667
	Acetovanillona	333	667
	Eugenol	333	667
	Guaiacol	33	67
	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol)	33	67
Vector madera (CL)	Whiskylactona	111	222
	Vainilla	167	333
	Vanillato de etilo	833	1667
	Acetovanillona	333	667
	Eugenol	333	667
	Guaiacol	33	67
	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol)	17	33
Vector madera (CV)	Whiskylactona	111	222
	Vainilla	333	667
	Vanillato de etilo	833	1667
	Acetovanillona	333	667
	Eugenol	185	370
	Guaiacol	19	37
	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-furanona (furaneol)	9	19

2.3. Análisis sensorial

2.3.1. Prueba de categorización libre

Participantes: Esta tarea fue llevada a cabo por veinte panelistas semi-entrenados (12 hombres y 8 mujeres, de edades comprendidas entre los 20 y los 30 años, con una media de edad de 23 años), formado por alumnos del master de enología de la Universidad de Borgoña (Dijon, Francia) y consumidores habituales de vino. A los panelistas no se les pagó por su participación.

Procedimiento: Se evaluaron un total de veintiún vinos tinto modelo en términos de aroma. Se les pidió a los veinte panelistas que evaluaran las muestras únicamente por vía orthonasal y que las agruparan según su similitud aromática. Una vez habían formado los grupos, se les proporcionó una hoja para escribieran los resultados de sus agrupaciones. Posteriormente, se les pidió que asociaran a cada grupo de los que habían formado un máximo de 2 o 3 atributos que los describieran (ver consignas en Figura 5.1 del Anexo 5) (Lawless, 1995).

Todas las muestras se les presentaron de forma simultánea, atendiendo a un orden aleatorio y diferente para cada juez. Se sirvieron 18 mL de muestra en copa negra ISO (ISO 3591, 1977) etiquetadas con un código aleatorio de tres cifras y cubiertas por una placa Petri. Todos los vinos modelos se sirvieron a temperatura ambiente y se evaluaron en cabinas individuales. A los panelistas no se les informó de la naturaleza de las muestras que iban a evaluar.

2.3.2. Análisis descriptivo

Participantes: Esta tarea fue llevada a cabo por dieciséis panelistas semi-entrenados (10 hombres y 6 mujeres, de edades comprendidas entre los 20 y los 29 años, con una media

de edad de 23 años), formado por alumnos del master de enología de la Universidad de Borgoña (Dijon, Francia) y con experiencia en la evaluación del aroma del vino. A los panelistas no se les pagó por su participación.

Procedimiento: Esta tarea se llevó a cabo en dos etapas: 1) entrenamiento y evaluación de la reproducibilidad; 2) Familiarización y evaluación de las muestras del estudio.

Paso 1: Entrenamiento de los panelistas y evaluación de la reproducibilidad: Los dieciséis participantes acudieron a seis sesiones de entrenamiento descriptivo de 60 min durante un periodo de tres semanas (ver consignas en Figuras 5.2-5.5 del Anexo 5). Los panelistas trabajaron en subgrupos de 7-9 personas. Durante el entrenamiento, para las sesiones 1 y 2, se presentaron diferentes estándares de referencia representativos de los 10 descriptores de aroma (frutal, fresa, casis, manzana verde, fruta confitada, madera, coco, clavo, caramelo y vainilla) y se discutieron con los panelistas. Los estándares eran odorantes disponibles comercialmente procedentes de siropes o productos frescos preparados al inicio de cada sesión tal y como describe en el artículo de Sáenz-Navajas y colaboradores (2011). Los panelistas debían ser capaces de identificarlos correctamente. En la sesión 3, se prepararon diferentes vinos con distintos niveles de estos productos/atributos para entrenarles en la ordenación por intensidad. En la sesión 4 y 5, se les enseñó y entrenó en la evaluación sobre escala de los diferentes atributos sobre vino comercial dopado, así como en diferentes combinaciones de los vectores de aroma. Por último, se llevó a cabo una sesión de selección en la que se evaluó la capacidad de los panelistas de evaluar los diferentes descriptores. Para ello, se presentaron nueve vinos correspondientes a tres vinos por triplicado etiquetados con un código aleatorio de tres cifras y cubiertas por una placa Petri. Se les pidió que valoraran los diez atributos: frutal, fresa, casis, manzana verde, fruta confitada, madera, coco, clavo, caramelo y vainilla en una escala estructurada de 8 puntos, siendo 0

= “ausencia” y 7 = “muy intenso”. Los vinos empleados en las sesiones de entrenamiento y selección se detallan en el Anexo 5, tabla 5.1.

Paso 2: Familiarización y evaluación de las muestras: Solo llevaron a cabo las sesiones de familiarización y evaluación aquellos panelistas que fueron reproducibles en la sesión anterior. En la sesión de familiarización se evaluaron 8 vinos modelo similares a las muestras de la evaluación. La sesión de familiarización se llevó a cabo para comprobar el funcionamiento de los atributos en vinos similares a las muestras del estudio final. Por último, durante la sesión de evaluación se analizaron los veintiún vinos tintos modelo descritos en el apartado 2.2.2, los cuales se detallan a continuación: B, BCV1, BCV2, BCL1, BCL2, BCC1, BCC2, E1, E1CV1, E1CV2, E1CL1, E1CL2, E1CC1, E1CC2, E2, E2CV1, E2CV2, E2CL1, E2CL2, E2CC1, E2CC2. Se les pidió que evaluaran los diez atributos: frutal, fresa, casis, manzana, fruta confitada, madera, coco, clavo, caramelo y vainilla en una escala estructurada de 8 puntos, siendo 0 = “ausencia” y 7 = “muy intenso”, para ambas sesiones (ver consignas en Figura 5.6 del Anexo 5). Las muestras se prepararon el día de antes de la sesión sensorial, y se almacenaron a 10 °C y se sirvieron 15 min antes de la sesión de evaluación. En ambas sesiones, se presentaron dieciocho mililitros de muestra (20 ± 1 °C) en copa negra ISO etiquetada con un código de tres cifras, cubierta con una placa Petri según un orden aleatorio y diferente para cada juez. Se impuso un descanso de 5 minutos cada siete muestras para evitar el efecto fatiga. Todos los vinos se presentaron a temperatura ambiente y se evaluaron en cabinas individuales. A los panelistas no se les informó de la naturaleza de las muestras. Todas las respuestas se recogieron en formato papel.

2.4. Tratamiento de datos

2.4.1. Prueba de categorización libre

Se contabilizó el número de veces que cada vino se clasificó en el mismo grupo. De esta manera se creó una tabla en la que los panelistas se situaron en columnas y las muestras en filas. Con esta tabla se llevó a cabo un análisis de distancias mediante DISTATIS (Lahne, Abdi, & Heymann, 2018). Con las dimensiones elegidas según DISTATIS (4 en este caso), se realizó una Clusterización Aglomerativa Jerárquica (CAJ) y con las mismas dimensiones una posterior representación bidimensional.

Como se ha comentado anteriormente, cada panelista describió cada grupo de vinos con dos o tres términos. Para cada panelista, se asociaron los términos dados para un grupo a cada uno de los vinos del grupo considerándose la aproximación de que todas las muestras pertenecientes al mismo grupo se describían por los términos de la misma manera (Saenz-Navajas, Campo, Avizcuri, Valentin, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012). Estos descriptores fueron pre-procesados a través de triangulación por tres sujetos diferentes según sinonimación y lematización, y se almacenaron en una tabla de contingencia de descriptores por productos. Esta tabla de contingencia se analizó mediante análisis de correspondencias con SPAD (versión 5.5, CISIA-CESRESTA, Montreuil, Francia).

2.4.2. Análisis descriptivo

Evaluación del rendimiento del panel: Se realizó un ANOVA de 3 factores considerando a las muestras (S), jueces (J) y repeticiones (R) como factores fijos y se calcularon todas las interacciones de primer orden.

Caracterización de los vinos del estudio: las puntuaciones obtenidas para cada atributo fueron sometidas a un análisis de la varianza de dos factores (jueces como factor aleatorio y vino como factor fijo). Posteriormente, para evaluar el efecto del tipo de madera se realizó un análisis de la varianza de tres factores (nivel de ésteres y tipo de madera como factores fijos y panelistas como factor aleatorio) para cada tipo de vector madera CC, CV y CL. Por

último, se evaluó el efecto del nivel de ésteres mediante un análisis de la varianza de dos factores (nivel de ésteres como factor fijo y panelistas como factor aleatorio). Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) con las puntuaciones de intensidad medias de los panelistas para los diez atributos empleados en el estudio. Todos los análisis estadísticos fueron realizados usando XLSTAT (Addinsoft, versión 2015) y R (versión 3.5.1).

3. Resultados y discusión

3.1. Tarea de agrupación libre

Veinte panelistas realizaron una tarea de agrupación libre sobre las 21 muestras empleadas en el estudio y las agruparon en función de la similitud aromática, proporcionando 2-3 atributos que caracterizaran cada grupo. Los resultados derivados del test de agrupación libre están resumidos en la Figura 5.1.

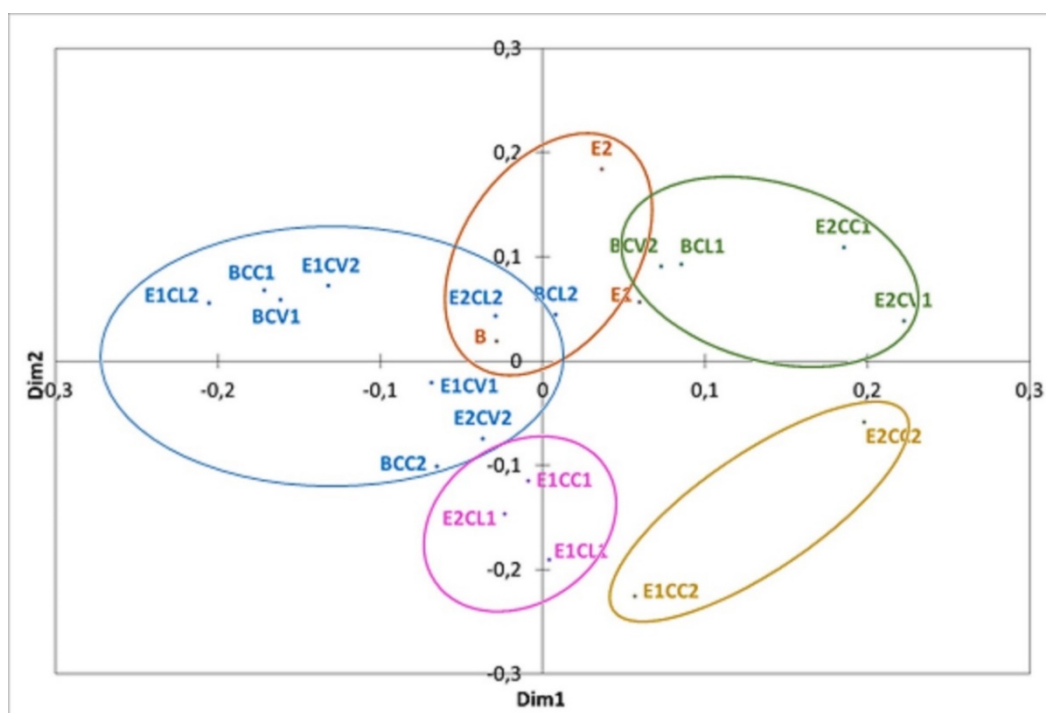


Figura 5.1. Gráfico de dispersión obtenido sobre las 2 primeras dimensiones provenientes de DISTATIS para los 21 vinos sometidos a la tarea de agrupación libre. El color muestra el grupo al que pertenece cada muestra según el dendograma derivado del análisis clúster.

La Figura 5.1 muestra la agrupación de los vinos en 5 clusters diferentes. Sobre estos cabe destacar que las muestras que no poseen madera (B, E1 y E2) fueron agrupadas juntas por al menos 6 catadores (30 % del panel). Otro de los grupos destacables es el formado por el vector madera rica en whiskylactona (CC) en alta concentración (E1CC2 y E2CC2), agrupados juntos 10 veces por el panel de catadores (50 % del panel). Además, en lo referente a este vector CC2, se puede observar en la Figura 5.1 como la adición de este vector sobre cualquiera de los vinos (B, E1 o E2), produce un desplazamiento de las muestras hacia la parte inferior del gráfico, lo que puede marcar el efecto de la aparición de las notas a vainilla.

Según el análisis de correspondencias (CA) realizado con los atributos provenientes de la tarea de agrupación libre (Figura 5.2), podemos ver que el único atributo bien definido es el aroma a vainilla que explica el 21,85 % de la inercia del segundo factor, englobando principalmente a los vinos que poseen el vector CC2. Por otro lado, el vector CL2 parece contribuir a la aparición de las notas a especias, animal, madera, al encontrarse todos los vinos en la parte inferior derecha del CA. El resto de vectores, CL1, CV1, CC1 y CV2 parecen compartir las notas a madera, especias y tostado/ahumado.

La posible falta de información proporcionada por esta tarea de agrupación libre y relacionada con el efecto de los vectores de la madera y las intensidades de los mismos en la formación del aroma puede ser debida a varios factores, entre los que se encuentra 1) el elevado número de muestras empleadas, que ha podido dar lugar a problemas relacionados con la memoria a corto plazo de los participantes, 2) la falta de entrenamiento del panel (Delarue, Lawlor, & Rogeaux, 2014) y/o 3) una falta de diferencias entre las muestras evaluadas. Un elevado número de muestras (> 20) puede provocar la fatiga de los catadores sobre todo teniendo en cuenta la complejidad de las muestras (el vino es una matriz compleja que además contiene etanol). Por otro lado, contamos con un panel de estudiantes

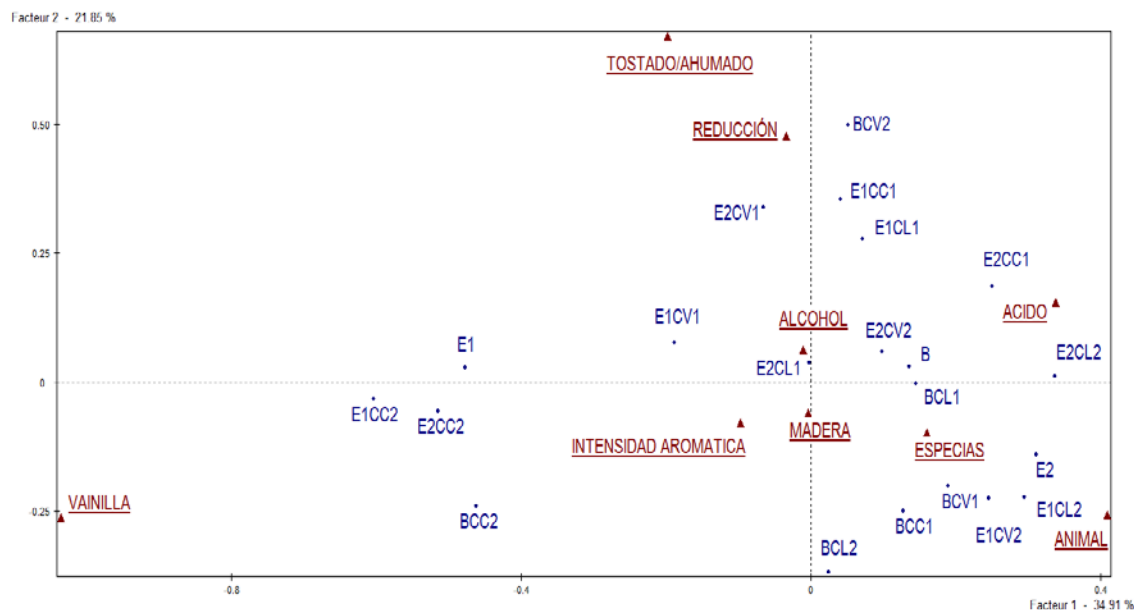


Figura 5.2. Análisis de correspondencias realizado sobre los atributos provenientes de la agrupación libre de los 21 vinos, asumiendo que todos los vinos agrupados en el mismo grupo comparten los mismos atributos.

de enología, que hasta la fecha no habían sido entrenados en la evaluación sensorial y que por tanto tendrán tendencia a comportarse como consumidores los cuales tienden a agrupar los productos según características sensoriales básicas, donde los expertos tenderían a ser más precisos en su agrupación (Ballester, Patris, Symoneaux, & Valentin, 2008; Patris, Gufoni, Chollet, & Valentin, 2007). Además, el gran número de muestras puede provocar un problema relacionado con la memoria, ya que los productos tienen que ser evaluados varias veces y puede producirse un problema de confusión entre productos (Sylvie Chollet, Valentin, & Abdi, 2014). Por último, las muestras podrían ser realmente similares, lo que provocaría una agrupación de las muestras en grupos amplios. En este caso parecen ser posibles varios de estos factores ya que los principales descriptores proporcionados por los panelistas fueron madera, intensidad aromática, alcohol o vainilla, siendo madera el término más citado, lo que parece indicar la falta de vocabulario (entrenamiento) a la hora de buscar diferencias, citando principalmente los términos más genéricos. En segundo

lugar, puede ser posible también la complejidad de las muestras o la similitud entre ellas ya que se tratan de vinos reconstituidos en los que la variación en la composición no es muy elevada y puede ser difícil el encontrar las diferencias al ser realizado con un panel no entrenado.

3.2. Análisis descriptivo

En vista de los resultados obtenidos, se procedió a realizar un análisis descriptivo con un panel de 16 jueces entrenados en la evaluación de 10 atributos (frutal, fresa, casis, manzana, fruta pasa, madera, coco, clavo, caramelo y vainilla) sobre una escala estructurada de 8 puntos.

Rendimiento del panel: Se realizó un ANOVA de 3 factores que implicaba a las muestras (S), jueces (J) y repeticiones (R) como factores fijos y se calcularon todas las interacciones de primer orden (Tabla 5.2). El efecto juez (J) fue significativo para todos los atributos excepto para coco. Este efecto es comúnmente encontrado en análisis sensorial y puede ser explicado en términos de diferencias fisiológicas inter-individuo. El efecto muestra (S) fue significativo para todos los atributos excepto para clavo, lo que sugiere que todos los atributos, a excepción del clavo, fueron útiles en la caracterización de las diferencias entre este grupo de muestras y confirma la habilidad de discriminación del panel. El efecto réplica (R) fue significativo para los atributos frutal, fresa y fruta pasa, mientras que ninguna de las interacciones muestra x réplica (S x R) fue significativa, indicando una evaluación consistente de todos los atributos y reflejando la reproducibilidad del panel. Las interacciones muestra x juez (S x J) fueron significativas para la mayoría de los atributos. Por ello, se realizó un PCA para cada uno de estos atributos (jueces en columnas y muestras en filas) mostrando que la primera componente explicaba la mayoría de la varianza original (> 30 %) para todos los casos (gráficos no mostrados). Esto, junto con el hecho de que las

proyecciones de los jueces se agrupaban juntas en el gráfico, indica que estas interacciones fueron principalmente debidas al desacuerdo en el uso de la escala. Estos resultados demuestran la consistencia del panel (acuerdo) en la interpretación de los atributos evaluados. En resumen, el rendimiento del panel, evaluado en términos de habilidad de discriminación, reproducibilidad y consistencia del panel, fue confirmado para los atributos evaluados.

Tabla 5.2. Modelo ANOVA de 3 factores calculado con los 16 jueces y los 10 atributos (gl, grados de libertad; F, valor F; P, valor de significatividad P)

	Juez (J) (gl = 15)		Muestra (S) (gl = 8)		Réplica (R) (gl = 2)		S*J (gl = 120)		S*R (gl = 16)		J*R (gl = 30)	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Frutal	6,558	< 0,0001	15,583	< 0,0001	6,577	0,003	2,437	0,002	1,545	0,201	1,036	0,441
Fresa	3,268	0,001	27,582	< 0,0001	5,724	0,005	2,186	0,005	1,579	0,191	1,045	0,431
Casis	5,874	< 0,0001	7,193	0,002	2,007	0,143	2,316	0,003	1,094	0,368	0,932	0,573
Manzana	2,368	0,010	53,468	< 0,0001	1,505	0,230	2,168	0,005	4,020	0,006	1,538	0,078
Fruta pasa	6,112	< 0,0001	10,229	0,000	3,293	0,044	4,192	< 0,0001	0,791	0,536	1,357	0,157
Madera	5,809	< 0,0001	12,761	< 0,0001	2,298	0,109	5,217	< 0,0001	6,916	0,000	1,489	0,095
Clavo	4,653	< 0,0001	0,174	0,841	1,452	0,242	2,122	0,007	0,436	0,782	0,819	0,721
Vainilla	3,774	0,000	79,383	< 0,0001	0,774	0,466	2,013	0,011	1,827	0,135	0,796	0,749
Caramelo	3,538	0,000	31,590	< 0,0001	2,907	0,062	1,531	0,080	1,035	0,397	1,023	0,458
Coco	1,806	0,055	7,317	0,001	1,605	0,209	1,939	0,015	2,429	0,057	1,084	0,386

*Efectos significativos marcados en negrita

Tabla 5.3. Resultados del ANOVA de dos factores (participantes como factor aleatorio y vino como factor fijo) calculados para evaluar la existencia de efectos significativos.

Descriptor	F	Pr > F ^a
Frutal	0,979	0,487
Fresa	0,979	0,487
Casis	1,448	0,099
Manzana	1,564	0,060
Fruta pasa	2,201	0,003
Madera	2,867	< 0,0001
Clavo	1,128	0,320
Vainilla	0,557	0,939
Caramelo	0,690	0,836
Coco	1,993	0,008

^a Efecto significativo marcado en negrita (P < 0,05).

Caracterización del producto: Un primer ANOVA de dos factores (muestras como factor fijo y panelistas como aleatorio), revela la existencia de efectos significativos para los

Tabla 5.4. Resultados del ANOVA de dos factores (participantes como factor aleatorio y vino como factor fijo) calculados para evaluar la existencia de efectos significativos. Los efectos significativos se encuentran marcados en negrita ($P < 0,05$).

	Tipo de madera CC						Tipo de madera CL						Tipo de madera CV										
	E		P		F		E		P		F		E		P		F		E		P		
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	
Frutal	0,843	0,433	1,116	0,331	0,589	0,671	1,339	0,266	0,042	0,959	0,322	0,863	0,940	0,394	2,617	0,077	0,207	0,934					
Fresa	1,309	0,274	1,961	0,145	1,039	0,390	1,924	0,151	0,097	0,907	0,601	0,663	1,284	0,281	0,458	0,634	0,706	0,589					
Casis	0,281	0,756	0,191	0,827	0,592	0,669	0,999	0,371	0,003	0,997	1,392	0,241	0,432	0,650	2,005	0,139	3,318	0,013					
Manzana	1,209	0,302	0,388	0,679	1,977	0,102	3,325	0,039	1,245	0,292	1,176	0,325	6,123	0,003	1,158	0,317	1,169	0,328					
Fruta pasa	1,326	0,269	8,110	0,000	2,958	0,023	2,809	0,064	5,561	0,005	1,110	0,355	1,310	0,274	7,976	0,001	1,798	0,134					
Madera	1,214	0,301	12,685	< 0,0001	0,806	0,523	1,106	0,334	12,594	< 0,0001	1,120	0,350	0,579	0,562	9,006	0,000	1,464	0,218					
Clavo	0,677	0,510	2,184	0,117	1,572	0,186	0,405	0,668	1,433	0,243	1,002	0,409	1,110	0,333	0,232	0,793	1,566	0,188					
Vainilla	0,082	0,921	0,882	0,417	1,080	0,369	2,176	0,118	1,064	0,348	0,283	0,889	0,361	0,698	1,334	0,267	0,853	0,495					
Caramelo	1,264	0,286	1,401	0,250	0,376	0,825	0,128	0,880	0,180	0,835	0,824	0,512	0,070	0,932	1,751	0,178	0,692	0,599					
Coco	0,979	0,379	9,946	0,000	0,953	0,436	1,096	0,337	1,294	0,278	0,849	0,497	0,427	0,653	1,537	0,219	0,915	0,457					

atributos fruta pasa, madera y coco (Tabla 5.3). Dada la presencia de efectos significativos en algunos descriptores, se estudió el efecto individual de cada tipo de madera (CL, CC y CV) mediante tres ANOVAs de tres factores (nivel de ésteres y tipo de madera como factores fijos y panelistas como factor aleatorio, así como las interacciones de segundo orden). Los resultados para los tres tipos de madera (CL, CC y CV) y para los 10 atributos se encuentran recogidos en la Tabla 5.4.

Asimismo, con los datos de intensidad recogidos para los 16 jueces en la evaluación de los 21 vinos para los 10 descriptores se calcularon las intensidades medias y se representaron en un gráfico PCA bidimensional que recoge las proyecciones de los 10 descriptores y las 21 muestras. Los dos primeros PCs explican al menos el 48 % de la varianza original.

El primer PC de la Figura 5.3 explica el 32,7 % de la varianza original y muestra una clara oposición entre los atributos frutales (frutal, fresa, casis, manzana) y los atributos de la madera (madera, coco, clavo, vainilla y caramelo). Tal oposición puede ser entendida como una contraposición entre los vinos que han sido envejecidos en barrica de roble, en la que aparecen las notas relacionadas con la madera (caramelo, coco, vainillas u otras especias) con respecto a los vinos jóvenes en los cuales predominan las notas a fruta (Tavares, Jordao, & Ricardo-da-Silva, 2017). El descriptor madera es significativo ($P < 0,001$), como se observa en la Tabla 5.4, sea cual sea el tipo de madera añadida a la mezcla (CL, CV o CC). Tal significatividad está altamente influenciada por el nivel de madera en la mezcla, mostrando intensidades más altas del descriptor madera cuando el nivel del vector madera es alto (CC2, CV2 o CL2).

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

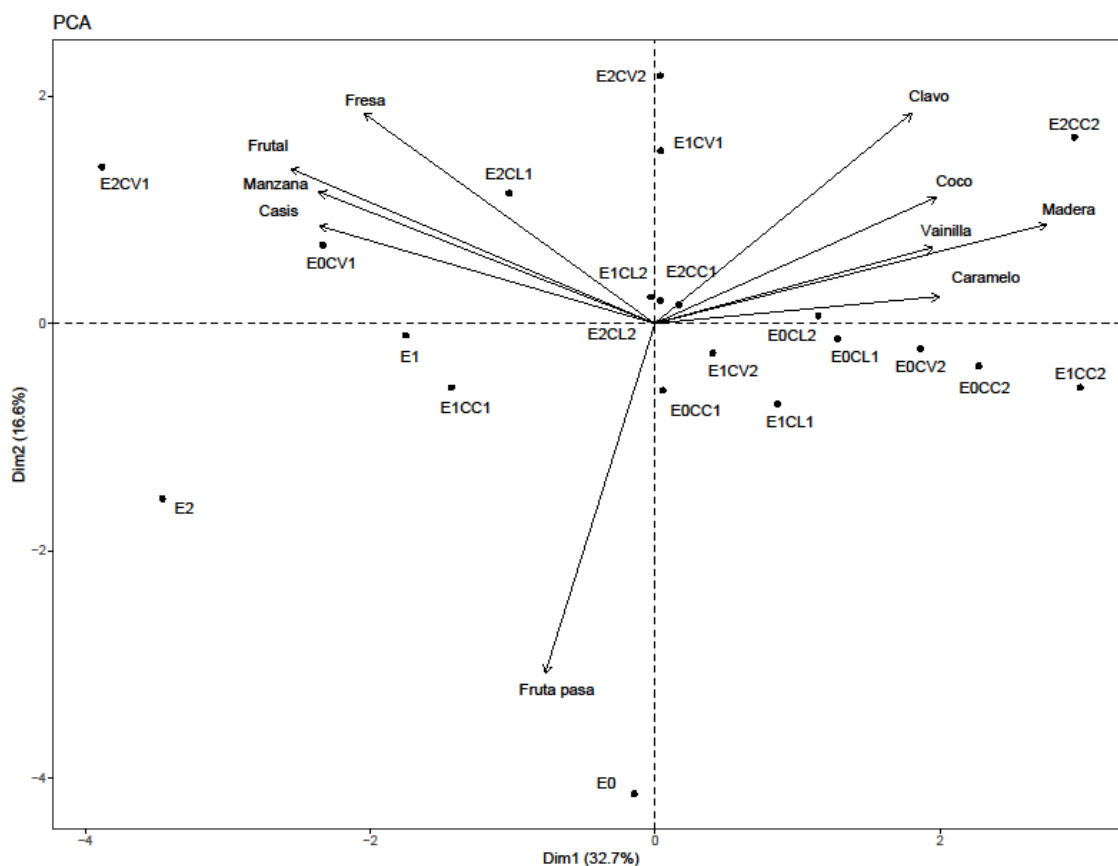


Figura 5.3. Biplot con las proyecciones de los descriptores de aroma y los vinos modelo en las dos primeras componentes del espacio del PCA. Veintiún vinos modelo conteniendo el vector éster (E) y los vectores de la madera (CC, CV y CL) en diferentes niveles de concentración.

Relacionado con las notas a madera se encuentra el descriptor coco, que es significativo ($P < 0,001$) en presencia del vector madera CC. La aparición de este descriptor era de esperar ya que su componente mayoritario es la whiskylactona. Este compuesto ya se había definido como un compuesto impacto, ya que a una concentración elevada es capaz de suministrar al vino sus matices de aroma específicos de coco/madera (Reynolds, 2010). Por esta razón, la aparición de estas notas solo es clara cuando el nivel del vector rico en whiskylactonas es alto (CC2), como puede observarse en la Figura 5.3. La supresión de las notas frutales del butirato de etilo en presencia de la whiskylactona ya se había encontrado en otros trabajos de investigación (Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, Chabanet, & Etievant, 2005; Atanasova, Thomas-Danguin, Langlois, Nicklaus, & Etievant,

2004), sin embargo, éstas se habían realizado en mezclas binarias, por lo que no tenían por qué darse en mezclas más complejas como es el caso del vino.

En contraposición a las notas a madera se han observado efectos significativos ($P < 0,05$) para las notas frutales. Una de las interacciones encontradas en la Tabla 5.4 es la relacionada con el descriptor manzana vinculado principalmente con el nivel de ésteres. El éster empleado como vector es el 2-metilbutirato de etilo, cuyos descriptores principales son fruta, fresa y manzana (Lytra, Tempere, de Revel, & Barbe, 2014). Por ello, era de esperar que la mayor intensidad en el descriptor manzana verde se encuentre cuando la concentración de 2-metilbutirato de etilo alcanza los 1730 mg/L (E2).

Otra de las interacciones relacionadas con las notas frutales es la encontrada para el descriptor grosella negra. Este descriptor aromático solo aparece en unas condiciones específicas que están ligadas a la presencia del vector rico en vainillas a concentración media (CV1) y niveles B o E2 de ésteres. La aparición de esta nota parece ser el resultado de la integración de las notas a fruta/fresa/manzana procedentes del éster con las notas dulces/vainilla del vector de madera durante el proceso de olfacción del vino. Algunos investigadores ya habían relacionado este aroma a grosella negra con compuestos como el DMS y los ésteres frutales (Lytra, Tempere, Zhang, Marchand, de Revel, & Barbe, 2014) o con compuestos como la 4-mercapto-4-metil-2-pentanona (Rigou, Triay, & Razungles, 2014), pero hasta nuestro conocimiento es la primera vez que se relaciona con compuestos como las vainillas. Loscos, Hernandez-Orte, Cacho, y Ferreira (2007) ya habían encontrado la acción concertada de las vainillas con otros vectores de aroma como los terpenos, los cinamatos o las lactonas en la aparición de notas dulces y florales, pero no con las notas a grosella negra.

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

La segunda componente del PC (Figura 5.3) explica el 16 % de la varianza original y está principalmente dominada por el atributo fruta pasa. En los análisis ANOVA de la Tabla 5.4 ya se había observado efecto del tipo de madera en la aparición de las notas a fruta pasa para los tres tipos de madera (CC, CL y CV). La aparición de este efecto se debe principalmente a que las notas a fruta pasa son más altas en ausencia del vector madera (B, E1 y E2). Las notas a fruta pasa pueden ser consecuencia directa de la ausencia de ésteres frutales con aromas frescos, lo que definiría la mezcla aromática B como fruta pasa. Sin embargo, se observa un efecto en la interacción ésteres x tipo de madera para la madera rica en whiskylactona (E*CC). Se puede observar en la Figura 5.4 que cuando el nivel de madera se encuentra en el nivel 1 (CC1) y el nivel de ésteres es intermedio (E1), se pueden percibir todavía las notas a fruta pasa, mientras que este descriptor apenas se percibe a niveles altos del vector de ésteres (E2CC1).

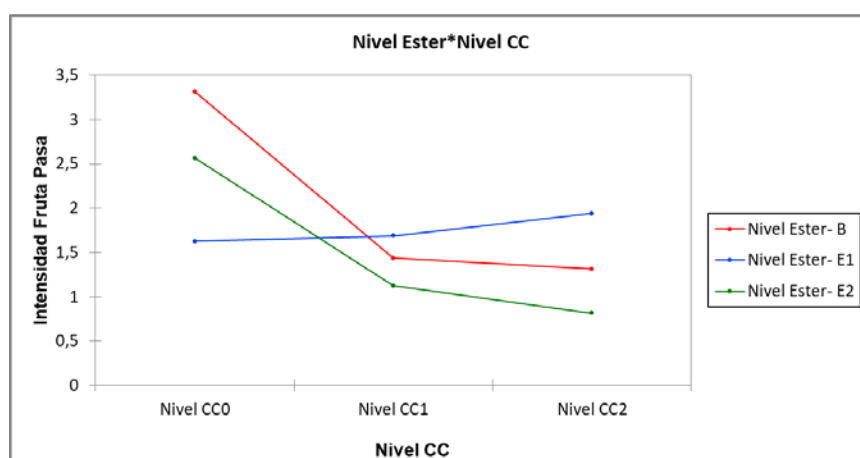


Figura 5.4. Gráfico de barras con las intensidades del atributo fruta pasa para la interacción nivel de ésteres x tipo de madera CC.

Como se mostró en el capítulo 1 de la presente tesis, los compuestos de la madera pueden contribuir a la aparición de estas notas a fruta pasa, mientras que los ésteres actúan como supresores, de manera que las notas a fruta pasa descienden al aumentar la concentración de ésteres.

4. Conclusiones

El presente trabajo confirma la existencia de interacciones entre los vectores de la madera y el vector de ésteres. Sin embargo, el efecto de la madera es altamente dependiente del nivel adicionado a la mezcla y del nivel en el que se encuentre el vector ésteres. Altos niveles del vector madera rico en whiskylactonas (CC2) produce la aparición de las notas propias de la whiskylactona (coco), independientemente del nivel de ésteres. Sin embargo, concentraciones más bajas de este vector producen la aparición únicamente de notas no específicas a madera y la disminución de la fruta.

Por el contrario, el vector rico en vainillas en alta concentración (CV2) y el vector rico en eugenol (CL2) solo proporcionan notas a madera no específicas, sin ser perceptibles las notas específicas del vector (vainilla o clavo). Para contextos aromáticos más pobres, en los que existe una falta de matices específicos diferentes a los propios del vino, como ocurre a nivel 1 del vector madera (CV1, CL1, o CC1), los efectos sensoriales son más leves. La única excepción se encuentra para el vector CV1 en presencia de B o E2, en los que se produce la aparición de notas a grosella negra, que no habían sido descritas hasta el momento.

Por tanto, los vectores adicionados a la mezcla podrían transmitir al vino sus matices específicos solo si están presentes a niveles adecuados, siendo en casi todo momento el vector madera el predominante sensorialmente.

Este resultado puede ser de interés para la industria del vino ya que proporciona al enólogo herramientas para elegir el tipo de barrica a emplear para el envejecimiento del vino en función de las notas aromáticas que pretenda conseguir en el producto. Esto pondría de relieve que aquellos vinos envejecidos en barricas de roble americano, similar al vector CC, podrían manifestar aromas a coco específicas si hay una alta extracción de los

compuestos de la madera (barrica nueva y tiempos de contacto altos), mientras que barricas de roble francés independientemente del nivel de tostado (CV tostado alto y CL tostado bajo) aportarían notas no específicas de madera. Además, que la presencia de barricas con niveles moderados de vainillas, y por lo tanto con tostados medios, podrían dar lugar a notas a grosella negra en vinos con niveles de ésteres específicos.

5. Referencias

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., Chabanet, C., & Etievant, P. (2005). Perception of wine fruity and woody notes: Influence of peri-threshold odorants. *Food Quality and Preference*, *16*(6), 504-510.

Atanasova, B., Thomas-Danguin, T., Langlois, D., Nicklaus, S., & Etievant, P. (2004). Perceptual interactions between fruity and woody notes of wine. *Flavour and Fragrance Journal*, *19*(6), 476-482.

Ballester, J., Patris, B., Symoneaux, R., & Valentin, D. (2008). Conceptual vs. perceptual wine spaces: Does expertise matter? *Food Quality and Preference*, *19*(3), 267-276.

Cadahia, E., De Simon, B. F., & Jalocha, J. (2003). Volatile compounds in Spanish, French, and American oak woods after natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(20), 5923-5932.

Cadahia, E., Munoz, L., de Simon, B. F., & Garcia-Vallejo, M. C. (2001). Changes in low molecular weight phenolic compounds in Spanish, French, and American oak woods during natural seasoning and toasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(4), 1790-1798.

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.

Cerdan, T. G., Mozaz, S. R., & Aspilicueta, C. A. (2002). Volatile composition of aged wine in used barrels of French oak and of American oak. *Food Research International*, *35*(7), 603-610.

Chatonnet, P., & Dubourdieu, D. (1998). Comparative study of the characteristics of American white oak (*Quercus alba*) and European oak (*Quercus petraea* and *Q-robur*) for production of barrels used in barrel aging of wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, *49*(1), 79-85.

Chollet, S., Valentin, D., & Abdi, H. (2014). Free sorting task. *Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling*. Valera P. & Ares, G.(Eds.). Boca Raton: Taylor and Francis, 207-227.

- Diaz-Maroto, M. C., Schneider, R., & Baumes, R. (2005). Formation pathways of ethyl esters of branched short-chain fatty acids during wine aging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(9), 3503-3509.
- 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.
- Delarue, J., Lawlor, B., & Rogeaux, M. (2014). *Rapid sensory profiling techniques: applications in new product development and consumer research*: Elsevier Science.
- Escudero, A., Campo, E., Farina, 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.
- Faix, O., Meier, D., & Fortmann, I. (1990). Thermal degradation products of wood. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 48(7), 281-285.
- 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.
- Herrero, P., Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Cullere, L., Balda, P., Anton, E. C., Ferreira, V., & Escudero, A. (2016). Study of Chardonnay and Sauvignon blanc wines from DOCa Rioja (Spain) aged in different French oak wood barrels: Chemical and aroma quality aspects. *Food Research International*, 89, 227-236.
- Hopfer, H., & Heymann, H. (2014). Judging wine quality: Do we need experts, consumers or trained panelists? (vol 32, pg 221, 2014). *Food Quality and Preference*, 36, 1-2.
- Jarauta, I., Cacho, J., & Ferreira, V. (2005). Concurrent phenomena contributing to the formation of the aroma of wine during aging in oak wood: An analytical study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4166-4177
- Lahne, J., Abdi, H., & Heymann, H. (2018). Rapid sensory profiles with DISTATIS and Barycentric Text Projection: An example with amari, bitter herbal liqueurs. *Food Quality and Preference*, 66, 36-43.
- Lambrechts, M., & Pretorius, I. (2000). Yeast and its importance to wine aroma-a review. *South African Journal for Enology and Viticulture*, 21, 97-129.
- Lawless, H. (1995). Dimensions of sensory quality - a critique. *Food Quality and Preference*, 6(3), 191-199.
- Loscos, N., Hernandez-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.
- Lytra, G., Tempere, S., de Revel, G., & Barbe, J. C. (2014). Distribution and organoleptic impact of ethyl 2-methylbutanoate enantiomers in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(22), 5005-5010.

- Lytra, G., Tempere, S., Zhang, S. Y., 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.
- Makhotkina, O., & Kilmartin, P. A. (2012). Hydrolysis and formation of volatile esters in New Zealand Sauvignon blanc wine. *Food Chemistry*, 135(2), 486-493.
- Patris, B., Gufoni, V., Chollet, S., & Valentin, D. (2007). Impact of training on strategies to realize a beer sorting task: behavioral and verbal assessments. *New trends in Sensory Evaluation of Food and Non-Food Products*, 17-29.
- Reynolds, A. G. (2010). *Managing wine quality: Viticulture and wine quality* (Vol. 1): Elsevier.
- Rigou, P., Triay, A., & Razungles, A. (2014). Influence of volatile thiols in the development of blackcurrant aroma in red wine. *Food Chemistry*, 142, 242-248.
- Saenz-Navajas, M. P., Ballester, J., Pecher, C., Peyron, D., & Valentin, D. (2013). Sensory drivers of intrinsic quality of red wines Effect of culture and level of expertise. *Food Research International*, 54(2), 1506-1518.
- Saenz-Navajas, M. P., Campo, E., Avizcuri, J. M., Valentin, D., Fernandez-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Contribution of non-volatile and aroma fractions to in-mouth sensory properties of red wines: Wine reconstitution strategies and sensory sorting task. *Analytica Chimica Acta*, 732, 64-72.
- Saenz-Navajas, M. P., Martin-Lopez, 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.
- 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.
- Tavares, M., Jordao, A. M., & Ricardo-da-Silva, J. M. (2017). Impact of cherry, acacia and oak chips on red wine phenolic parameters and sensory profile. *Oeno One*, 51(3), 329-342.
- 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), 290-296.
- Ugliano, M., & Moio, L. (2005). Changes in the concentration of yeast-derived volatile compounds of red wine during malolactic fermentation with four commercial starter cultures of *Oenococcus oeni*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26), 10134-10139.



Sección IV:
**Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor
y aroma-astringencia en vinos tintos. Efecto del
nivel de experiencia del consumidor**

SECCIÓN IV

Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astrigencia en vinos tintos. Efecto del nivel de experiencia del consumidor

1. Introducción

Los alimentos contienen una combinación de compuestos volátiles y no volátiles que impactan con los diferentes receptores sensoriales. El sabor/flavor de estos productos es el resultado de la integración de todas las sensaciones percibidas en la cavidad bucal y nasal, que incluyen el aroma, el gusto y las sensaciones quemestésicas, y no es la suma discreta de las sensaciones individuales (Prescott, 2012; Small & Prescott, 2005). De ahí que entender la integración de las señales sensoriales para descifrar el sabor/flavor de los alimentos sea esencial para entender las preferencias y por tanto las elecciones de los consumidores. Hay un amplio rango de bibliografía científica que aborda el estudio de las interacciones entre dos modalidades sensoriales tales como aroma-aroma (de-la-Fuente-Blanco, Sáenz-Navajas, & Ferreira, 2016), aroma-gusto (Gaudette, Delwiche, & Pickering, 2016) o aroma-sensación quemestésica (Ferrer-Gallego, Hernandez-Hierro, Rivas-Gonzalo, & Escribano-Bailon, 2014) en diferentes matrices. La mayoría de los trabajos se han llevado a cabo en disoluciones simples tanto dulces como ácidas (Prescott, Johnstone, & Francis, 2004; Stevenson, Prescott, & Boakes, 1999). Sin embargo, solo algunos de ellos han trabajado con matrices más complejas como sidra (Symoneaux, Guichard, Le Quere, Baron, & Chollet, 2015), aceite de oliva (Caporale, Policastro, & Monteleone, 2004), productos lácteos (Tomaschunas, Hinrichs, Köhn, & Busch-Stockfisch, 2012) o vino, el cual es un buen ejemplo de una matriz compleja (Arvisenet, Guichard, & Ballester, 2016;

Saenz-Navajas, Campo, Avizcuri, Valentin, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012; Saenz-Navajas, Campo, Fernandez-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010).

En el caso del vino, el amargor y la astringencia son las percepciones menos comprendidas. Esto puede ser debido a numerosas razones relacionadas con su complejidad y multimodalidad, probablemente también debido a que su evaluación induce fatiga y da lugar a una gran variabilidad en la percepción de los consumidores, pero quizás también porque muy a menudo, las investigaciones previas han ignorado las interacciones con otros estímulos tales como el aroma o el gusto.

Solo unos pocos trabajos han estudiado las interacciones aroma-amargor y aroma-astringencia en la matriz vino. Saenz-Navajas y colaboradores (2010) emplearon una estrategia de deconstrucción seguida de construcción de vinos modelo que permitió demostrar este tipo de interacciones. Así, la adición de extractos volátiles frutales de un vino blanco Chardonnay sobre extractos no volátiles de vinos blancos y tintos generó un descenso en la astringencia y el amargor percibidos y un aumento en el dulzor. En un trabajo posterior (Saenz-Navajas, Campo, Avizcuri, Valentin, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012), estos autores demostraron que el papel del aroma era secundario en la percepción de la astringencia de vinos tintos, siendo los compuestos no volátiles los principales responsables de esta sensación quemestésica. Otro punto de vista metodológico, que ha permitido estudiar este tipo de interacciones sensoriales, ha sido la construcción de modelos matemáticos predictivos de las propiedades sensoriales de vinos reales a partir de su composición química. Algunos de estos modelos (Hernandez, 2016; Saenz-Navajas, Avizcuri, Ferreira, & Fernandez-Zurbano, 2014; Saenz-Navajas, Campo, Fernandez-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010) sugieren que el aroma puede modular la astringencia y el amargor en vinos tintos. En estos modelos: 1) la astringencia está positivamente correlacionada con el amargor y el especiado, y negativamente con las notas tostadas; 2) el

amargor está positivamente correlacionado con los aromas animal, vegetal y herbal así como la astringencia y la acidez, mientras que están correlacionados negativamente con los aromas especiado y a frutas pasas. Aunque todos los modelos fueron significativos desde el punto de vista estadístico, estos no han sido validados hasta el momento, por lo que no pueden ser considerados concluyentes. Dado el interés en comprender el amargor y la astringencia en vinos tintos, el presente trabajo pretende evaluar la presencia de las interacciones del tipo aroma-amargor, aroma-astringencia y amargor-acidez sugeridas por los modelos matemáticos descritos en trabajos anteriores.

Por otro lado, se ha demostrado que la percepción sensorial (Hughson & Boakes, 2001) y en particular, las interacciones sensoriales (Arvisenet, Guichard, & Ballester, 2016), están influenciadas por el nivel de experiencia de los consumidores. Este hecho parece ser la consecuencia de la mayor experiencia cognitiva y perceptual desarrollada por los expertos en comparación con los novicios (consumidores naïve) o los consumidores menos experimentados (Hughson & Boakes, 2001; Hughson & Boakes, 2002). Las diferencias en el nivel de experiencia de los consumidores parecen ser el resultado de las diferentes estrategias empleadas en el procesado de la información del sabor/flavor. Castriota-Scanderbeg y colaboradores (2005) mostraron los diferentes patrones de activación del cerebro de los consumidores expertos y no expertos cuando beben vino. Los no expertos presentan una activación de las áreas del cerebro relacionadas con las emociones, las cuales parecen estar automáticamente atribuidas a la valencia hedónica global, positiva o negativa, del sabor/flavor percibido como resultado de la integración aroma-gusto generada por el aprendizaje asociativo (Prescott, 2015). Esto concuerda con el hecho de que los no expertos tienden a clasificar los sabores/flavores en términos de la cualidad hedónica del producto, y por lo tanto tienden a seguir una estrategia más sintética u holística (Ballester, Patris, Symoneaux, & Valentin, 2008). Por el contrario, los expertos

del mundo del vino son más propensos a usar términos analíticos (Chollet & Valentin, 2000) y son capaces de etiquetar y/o clasificar las cualidades perceptuales separadamente (Ballester, Patris, Symoneaux, & Valentin, 2008). La capacidad de los expertos de evaluar cada percepción (ejemplo aroma y gusto) de manera separada les permite seguir una estrategia más analítica que los no expertos. En línea con estos resultados, Arvisenet, Guichard y Ballester (2016) confirmaron que el uso de diferentes estrategias (sintética o analítica) depende del nivel de experiencia. Ellos concluyeron que en situaciones en las cuales son posibles las estrategias analíticas, los participantes más experimentados (entrenados y expertos) son capaces de reducir el grado de interacciones entre el aroma y el dulzor, contrariamente a los participantes no entrenados, quienes mantienen el uso de la estrategia sintética en las cuales las interacciones aroma-dulzor son muy fuertes.

En este contexto, el presente estudio tiene como objetivo principal investigar específicamente las interacciones sensoriales en el vino como función de la experiencia del consumidor. Más específicamente, el presente trabajo intenta evaluar:

- i) La capacidad que poseen el gusto ácido y el aroma (herbal, vegetal, especiado, tostado, fruta pasa y animal) de modular la percepción del amargor (interacciones del tipo amargor-acidez y amargor-aroma).
- ii) La capacidad que poseen la acidez, el amargor y el aroma en la modulación de la percepción de astringencia (interacciones del tipo astringencia-acidez, astringencia-amargor y astringencia-aroma).
- iii) El efecto del nivel de experiencia de los consumidores (novicios, panel entrenado y expertos en vino) sobre las interacciones sensoriales antes mencionadas.

2. Materiales y métodos

Brevemente, el protocolo experimental incluye la preparación de vinos modelos por adición de estímulos gustativos, astringentes o aromáticos (6 vectores), que generan sensaciones del gusto, astringencia o aroma únicas o monodimensionales. En estos vinos se midieron las interacciones aroma-amargor, acidez-amargor, aroma-astringencia, acidez-astringencia y amargor-astringencia combinando vectores de aroma o un estímulo ácido con otro amargo o astringente. La modulación de las intensidades de amargor o astringencia por parte del aroma y la acidez se midieron con tres paneles de consumidores con diferentes niveles de experiencia en torno al mundo del vino.

2.1. Reactivos y estándares

Disolventes: Se adquirió etanol de calidad LiChrosolv en Merck (Darmstadt, Alemania).

Estándares: Los estándares químicos de la mayor pureza posible fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Gillingham, Reino Unido), Alfa Aesar (Karlsruhe, Alemania) y Firmenich (Ginebra, Suiza).

2.2. Preparación de los vinos modelo

2.2.1. Preparación de la fracción astringente

La fracción astringente añadida al vino comercial para obtener vinos con alta astringencia (As) se obtuvo como describe Saenz-Navajas y colaboradores (2017). La elección de esta fracción astringente, así como el vino del que procedía se basó en estudios previos de nuestro laboratorio y descritos en Saenz-Navajas y colaboradores (2017). Brevemente, se rotaevaporó una muestra de 200 mL de vino astringente en un matraz redondo de 500 mL durante 30 min a 28 °C para eliminar el etanol. El líquido resultante se congeló y secó en un sistema liofilizador LyoQuest-85 de Telstar (Terrasa, España). El

sirope desaromatizado se disolvió posteriormente en 20 mL de disolución hidoralcohólica al 12 % (v/v) y se fraccionó usando una columna HW-50F Millipore Vantage L (120 mm x 36 mm d.i.) de Millipore (Bedford, MA), empaquetada con un gel TSK Toyopearl y a presión atmosférica. La velocidad de flujo se reguló con una bomba peristáltica a 4 mL/min. La primera fracción (F1), contenía principalmente los polifenoles de bajo peso molecular y pigmentos derivados de antocianos, se obtuvo al eluir con 720 mL de etanol/agua/ácido fórmico (55:44:1, v/v/v). Una segunda fracción (F2), que contenía proantocianidinas (PAs) poco astringentes, se recogió tras eluir con 80 mL de acetona al 100 %. Ambas fracciones, F1 y F2, se descartaron. Una tercera fracción (F3), que contenía las PAs más astringentes, se eluyó con 160 mL de acetona/agua (60/40, v/v). La acetona se eliminó en el rotavapor durante 15 min, y posteriormente se liofilizó. Se evaluó la ausencia total de disolventes por microextracción en fase sólida por espacio de cabeza (Carboxen/PDMS 75 μ mat 30 °C x 10 min) en un cromatógrafo de gases GCMSQP2010 (Shimadzu, Tokio, Japon) con un sistema con un límite de detección de 1 ng/muestra. La fracción F3 se añadió a los vinos al doble de concentración que la encontrada en el vino original para asegurar que la intensidad de astringencia era percibida fácilmente por todos los participantes.

2.2.2. Muestras de vino

Un vino tinto comercial y neutro (en términos de aroma y propiedades en boca) se dopó o no con quinina para obtener un vino con alto (Bi) o bajo (B) nivel de amargor. Los vinos astringentes con alto (As) o bajo (B) nivel de astringencia se generaron dopando o no el vino comercial con la fracción de proantocianidinas (F3). Estos vinos se doparon posteriormente con un vector de aroma o un estímulo de gusto (ácido tartárico para acidez o sulfato de quinina para amargor). Se usaron un total de seis vectores aromáticos (herbal - He, animal - An, vegetal - Ve, tostado - Ro, especiado - Sp y fruta pasa - Df) y dos estímulos del gusto (acidez - So, y amargor - Bi). Las muestras y el rango de concentraciones

Tabla 6.1. Composición química de los vinos dopados con diferentes niveles de vectores de aroma o gusto y sometidos a análisis sensorial.

		Concentración en vino ($\mu\text{g/L}$)		
		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
ANIMAL (An)	4-Etilfenol	42	125	250
	4-Etilguaiacol	5,0	15	30
	Ácido 3-Metilbutírico	0,21	0,63	1,3
ESPECIADO (Sp)	Guaiacol	60	180	540
	Eugenol	600	1801	5403
	Vainillato de etilo	1500	4500	13500
HERBAL (He)	cis-3-Hexenal	90	270	810
VEGETAL (Ve)	2-Isobutil-3-metoxipirazina	0,023	0,068	0,20
TOSTADO (Ro)	4-Hidroxi-2,5-dimetil-3(2H)-Furanona	300	900	2700
	Furfuril mercaptano	0,12	0,36	1,1
	L-Cisteina	600000	600000	600000
FRUTA PASA (Df)	Isovaleraldehido	470	940	1880
	Fenilacetaldehido	340	680	1360
	Metional	50	100	200
	Furfural	22000	44000	88000
	β -Damascenona	50	100	200
	Ciclohexanoato de etilo	0,13	0,25	0,50
	Hidrocinnamato de etilo	2,0	3,9	7,8
	Guaiacol	14	27	54
	Whiskylactona	123	245	490
	4,5-Dimetil-3-hidroxi-2,5-dihidrofuran-2-ona	880	1760	3520
2,3-Butanodiona	6250	12500	25000	
Linalool	29	57	114	
AMARGOR (Bi)	Quinina hemisulfato monohidrato	50000	100000	200000
ACIDEZ (So)	Ácido tartárico	8120	11400	15900
ASTRINGENCIA (As)	F3	0,5 fracción	1 fracción	2 fracciones

Las concentraciones de los vectores empleadas en los vinos dopados para la tarea de evaluación están en negrita.

posibles de los vectores se recogen en la Tabla 6.1. Estas concentraciones aseguran que los panelistas son capaces de reconocerlas fácilmente.

Los vectores de aroma concentrados se prepararon en etanol y se añadieron al vino hasta alcanzar la concentración deseada (Tabla 6.1). El sulfato de quinina, el ácido tartárico y la fracción de proantocianidinas se disolvieron directamente sobre el vino base. Se ajustó la concentración final de etanol en los vinos al 13 %.

Muestras del entrenamiento: Se prepararon diferentes vinos modelo para el entrenamiento:

1) 27 muestras de vino tinto comercial dopadas con uno de los vectores a los tres niveles de concentración (Tabla 6.1); y 2) muestras con diferentes combinaciones de los vectores aroma-gusto

Muestras de evaluación: Se prepararon un total de 38 vinos para la tarea de evaluación. La concentración de los vectores empleada para dopar los vinos está marcada en negrita en la Tabla 6.1. Se prepararon 16 muestras para evaluar el efecto del aroma y la acidez sobre la percepción del amargor (experimento 1). Para ello, se mezclaron 12 botellas de 750 mL de vino tinto comercial y el volumen total resultante (9 L) se dividió en dos partes de 4,5 L. Una parte se dopó con 10 mg/L de quinina (etiquetada como Bi – alto nivel de amargor) y la otra parte no se dopó (etiquetada como B – bajo nivel de amargor). Cada vino (Bi y B) se dividió en nueve muestras de 500 mL. Siete de estas muestras se doparon con uno de los vectores de aroma (animal – An, especiado – Sp, vegetal – Ve, tostado – Ro, herbal – He, fruta pasa –Df) o gusto (acidez – So). Las muestras octava y novena se consideraron como las muestras de control (Bi – alto amargor y B- bajo amargor por duplicado) y no se doparon con ningún otro vector. Se prepararon un total de dieciséis vinos diferentes: ocho vinos con alto amargor (Bi, AnBi, SpBi, VeBi, RoBi, HeBi, DfBi y SoBi) y ocho vinos con bajo amargor (B, An, Sp, Ve, Ro, He, Df, So).

Se prepararon dieciocho muestras diferentes para evaluar el efecto del aroma, la acidez o el amargor (Bi) sobre la percepción de la astringencia (experimento 2). El mismo procedimiento descrito para el amargor se siguió para obtener las muestras con alto (As, AnAs, SpAs, VeAs, RoAs, HeAs, DfAs, SoAs, BiAs) y bajo (B, An, Sp, Ve, Ro, He, Df, So, Bi) nivel de astringencia.

2.2.3. Propiedades sensoriales de los vectores de aroma y los estímulos en boca individuales

Se llevó a cabo un análisis sensorial descriptivo específico e independiente para confirmar que los vectores de aroma, así como el gusto (amargor y acidez) y el estímulo astringente, generaban diferencias específicas aroma/gusto y no inducían otras.

Participantes: Un total de 17 participantes (60 % mujeres, de edades comprendidas entre los 22 y los 54 años, con una media de 39 años de edad) llevaron a cabo la tarea de descripción sensorial. Todos ellos formaban parte de un panel sensorial del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Logroño (La Rioja, España). Los panelistas participaron en al menos 17 sesiones de entrenamiento durante un periodo de tres meses, en las cuales se les presentaron un amplio rango de estándares de gusto, astringencia y aroma. Durante una sesión de entrenamiento típica, los panelistas se familiarizaron con el vocabulario específico de una lista de 110 descriptores de aroma (Saenz-Navajas, Martín-Lopez, Ferreira, & Fernández-Zurbano, 2011) y con cuatro atributos evaluados en boca: dulzor, acidez, amargor y astringencia. En cada sesión, las referencias se presentaron como describe Saenz-Navajas y colaboradores (2011) para ilustrar los atributos de aroma y en boca. Los panelistas se cualificaron cuando fueron capaces de identificar correctamente al menos el 85 % de las referencias.

Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astringencia en vinos tintos. Efecto del nivel de experiencia del consumidor

Muestras: Se describieron diez muestras exclusivamente para aroma y cuatro para propiedades en boca. Los vinos descritos para aroma fueron: 1) B (vino base), 2) Bi (vino base dopado con quinina), 3) As (vino base dopado con la fracción de proantocianidinas), 4) So (vino base dopado con el vector ácido), 5) Ro (vino base dopado con el vector tostado), 6) An (vino dopado con el vector animal), 7) Ve (vino dopado con el vector vegetal), 8) He (vino dopado con el vector herbal), 9) Sp (vino dopado con el vector especiado) y 10) Df (vino base dopado con el vector fruta pasa). Los vinos descritos para las propiedades en boca fueron: 1) B, 2) Bi, 3) As, y 4) So.

Procedimiento: Los panelistas entrenados describieron los vinos siguiendo el procedimiento descrito en Saenz-Navajas y colaboradores (2011). Se presentaron 20 mL de las muestras de vino en copa negra ISO etiquetada con un número de tres cifras aleatorio y cubierto con una placa Petri según una disposición aleatoria y un orden de presentación monádico secuencial. Cada participante completó una sesión que comprendía dos partes (de 30 y 10 min cada una, respectivamente) para el análisis de 10 y 4 muestras en la parte 1 y 2, respectivamente. En la primera parte, se les pidió a los panelistas que olieran ortonasalmente cada vino, describieran su olor eligiendo un máximo de cinco atributos de la lista de 113 (ver consignas en Figura 6.1 del Anexo 6) según la metodología *check-all-that-apply* (CATA). Posteriormente, en la segunda parte de la sesión, se les pidió que probaran las 4 muestras y evaluaran la acidez, amargor y astringencia en una escala estructurada de 10 cm (ver consignas en Figura 6.2 del Anexo 6). Los panelistas entrenados evaluaron las muestras siguiendo el protocolo de enjuague definido por Colonna y colaboradores (2004). Todos los vinos se sirvieron a temperatura ambiente y se evaluaron en cabinas individuales según un orden de presentación monádico secuencial. Los panelistas no fueron informados sobre la naturaleza de las muestras empleadas para la evaluación.

2.3. Estudio de las interacciones sensoriales mediante análisis descriptivo

2.3.1. *Participantes*

En el estudio participaron tres paneles diferentes con diferentes niveles de experiencia en el mundo del vino:

- i) Novicios: consumidores regulares de vino tinto (consumo de vino tinto de al menos una vez cada dos semanas), nunca han participado en estudios sensoriales y no tienen experiencia en la industria del vino.
- ii) Panelistas entrenados: personal del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV) y estudiantes de la Universidad de La Rioja. Se reclutaron en base a su interés y su disponibilidad durante 6 semanas (dos sesiones de 60 min cada semana) y se entrenaron específicamente para este estudio para evaluar la intensidad del aroma y el gusto del vino.
- iii) Expertos: grupo de profesionales del vino o enólogos, con formación técnica en elaboración de vinos y participación de manera regular a degustaciones de vino (Parr, Heatherbell, & White, 2002).

Los experimentos 1 y 2 se llevaron a cabo por un total de cuarenta y nueve participantes (18 novicios, 15 panelistas entrenados y 16 expertos). En el experimento 1, en base a los resultados de sensibilidad a la percepción del amargor (ver sección 2.3.2), se tuvieron en cuenta las respuestas de treinta y nueve participantes (51 % mujeres, de edades comprendidas entre los 22 y 62 años, con una edad media de 37 años): 16 novicios, 9 entrenados y 14 expertos. En el experimento 2, se consideraron las respuestas de cuarenta y nueve participantes (59 % mujeres, de edades comprendidas entre los 22 y 62 años, con una edad media de 37 años). El proceso de screening y la selección de los tres paneles

aseguraba una distribución de edades y géneros similar entre novicios, panel entrenado y expertos.

Los panelistas se reclutaron en base a su interés y su disponibilidad, y no fueron remunerados por su actividad.

2.3.2. Procedimiento

El análisis sensorial descriptivo consistía en tres etapas: 1) entrenamiento (solo para el panel entrenado) o sesión de familiarización (solo para novicios y expertos); 2) sesión de evaluación (para los tres paneles) y 3) evaluación de la sensibilidad al amargor (para los tres paneles).

Paso 1: Entrenamiento o familiarización

Sesión de entrenamiento: quince participantes acudieron a seis sesiones de entrenamiento descriptivo de 60 min durante un periodo de tres semanas (ver consignas en Figura 6.3 del Anexo 6). Los panelistas trabajaron en subgrupos de 7-9 personas y se entrenaron en la evaluación de las propiedades en boca (acidez, amargor, astringencia) y vectores de aroma (animal, especiado, vegetal, herbal, tostado y fruta pasa) en vino. Se presentaron diferentes niveles de los vinos de referencia dopados con aroma o gusto (ver rangos de concentración en Tabla 6.1) para ayudar a los panelistas con la identificación y la evaluación de la intensidad de los atributos. Solo llevaron a cabo las sesiones de evaluación finales aquellos panelistas que fueran capaces de identificar y ordenar por intensidad correctamente los atributos.

Sesión de familiarización: Los expertos y novicios participaron en una sesión de familiarización (15 min) antes de las sesiones de evaluación, en la cual se les presentaron

referencias de aroma (animal, especiado, vegetal, herbal, tostado, y fruta pasa), gusto (acidez y amargor) y astringencia.

Paso 2: Sesión de evaluación

Experimento 1: Los participantes acudieron a dos sesiones formales para la caracterización de las 18 muestras de vino. En la sesión 1, evaluaron B, Bi, An, AnBi, He, HeBi, Df, DfBi, So y SoBi, y en la sesión 2, evaluaron B, Bi, Sp, SpBi, Ve, VeBi, Ro, RoBi. Se les pidió que puntuaran la intensidad de ocho atributos: amargor, acidez, animal, herbal, fruta pasa, especiado, vegetal y tostado en una escala no estructurada de 10 cm (0 = “ausencia”; 5 = “media”; y 10 = “muy intenso”) (ver consignas en Figura 6.4 y 6.5 del Anexo 6).

Experimento 2: Los participantes acudieron a dos sesiones formales para la caracterización de 20 muestras de vino. En la primera sesión evaluaron los vinos siguientes: B, As, An, AnAs, So, SoAs, Am, AmAs, Df, DfAs, y en la segunda sesión evaluaron B, As, Sp, SpAs, Ve, VeAs, Ro, RoAs, He, HeAs. Se les pidió que evaluaran la intensidad de nueve atributos: amargor, acidez, astringencia, animal, herbal, fruta pasa, especiado, vegetal y tostado en una escala no estructurada de 10 cm (0 = “ausencia”; 5 = “media”; y 10 = “muy intensa”) (ver consignas en Figura 6.4 y 6.6 del Anexo 6).

Las muestras se prepararon tres horas antes de la sesión sensorial, y se almacenaron a 10 °C y se sirvieron 15 min antes de la sesión de evaluación. En ambos experimentos, se presentaron diez mililitros de muestra (20 ± 1 °C) en copa negra ISO etiquetada con un código de tres cifras, cubierta con una placa Petri según un orden aleatorio y diferente para cada juez. A los panelistas se les pidió que expectoraran las muestras y se enjuagaran con manzana fresca (experimento 1), disolución de pectina de manzana y agua mineral (experimento 1 y 2). Las muestras se presentaron monádicamente y se impuso un descanso de 15 min en cada sesión con el objetivo de evitar el efecto arrastre. Por ello, evaluaron un

máximo de 5 muestras en cada parte de la sesión. Todos los vinos se presentaron a temperatura ambiente y fueron evaluados en cabinas individuales. A los panelistas no se les informó de la naturaleza de las muestras. Todas las respuestas se recogieron en formato papel.

Paso 3: Evaluación de la sensibilidad al amargor

Esta tarea se llevó a cabo una vez que el experimento 2 había terminado para evitar que los participantes se centraran en el amargor durante la sesión de evaluación. Se presentaron 9 series de tres muestras que contenían dos muestras sin dopar (control, agua mineral) y una muestra dopada con concentraciones crecientes de quinina (1,56 – 400 mg/L en series de dilución 1:2). En cada serie, los panelistas debían probar las tres muestras, de izquierda a derecha e indicar la muestra que era diferente a las otras dos (ver consignas en Figura 6.7 del Anexo 6). Para todos los test, se presentaron 10 mL de muestra (20 ± 1 °C) en vaso de plástico etiquetados con códigos de tres cifras aleatorios. El orden de presentación de las muestras dentro de cada serie se aleatorizó.

Solo se analizaron los datos dados por los participantes que identificaron correctamente todas las muestras dopadas desde la serie 2 (3,3 mg/L de quinina) hasta la serie 9 (400 mg/L). Esto aseguró que los participantes eran capaces de detectar el amargor en los vinos.

2.4. Análisis de datos

2.4.1. Propiedades sensoriales de los vectores de aroma y de los estímulos en boca

Se consideraron solo los términos de aroma citados por al menos el 40 % del panel en los diez vinos (B, Bi, As, So, Ro, An, Ve, He, Sp, y Df). La tabla de contingencia, en la

cual los vinos eran las filas y las columnas los términos, se sometió a un Análisis de Correspondencias (CA).

Se calcularon tres ANOVAs de dos factores (juez como factor aleatorio y vino como factor fijo), con las intensidades de acidez, amargor y astringencia puntuadas en los cuatro vinos (B, Bi, As, So).

2.4.2. Estudio de las interacciones sensoriales por análisis descriptivo

Se evaluaron los efectos del aroma y la acidez sobre la intensidad de amargor y los efectos del aroma, la acidez y el amargor sobre la intensidad de astringencia mediante ANOVA de tres factores (participantes como factor aleatorio y vino (V) y nivel de experiencia (NE) como factores fijos) considerando los efectos principales (V y NE) y sus interacciones (V x NE). En cada ANOVA, la muestra dopada se comparó con la muestra de control (B para bajo amargor y astringencia, Bi para alto amargor o As para alta astringencia) presentada en la misma sesión. Por ejemplo, para evaluar el efecto del aroma vegetal (Ve) sobre la percepción del amargor en los vinos con bajo nivel de amargor (B), se calculó un ANOVA de tres factores con las puntuaciones de amargor para las muestras Ve (vino sin adición de quinina o bajo nivel de amargor y dopada con el vector vegetal) y su correspondiente muestra de control (B: vino sin adición de quinina y sin dopar con ningún vector).

3. Resultados

3.1. Propiedades sensoriales de los vectores de aroma y los estímulos en boca

La Figura 6.1 muestra que la adición de ácido tartárico, sulfato de quinina o la fracción de proantocianidinas no generó ningún cambio aromático en los vinos, ya que se encuentran proyectados próximos al vino base en el mapa CA. Además, las muestras de

Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astringencia en vinos tintos. Efecto del nivel de experiencia del consumidor

vino dopados con vectores de aroma presentan propiedades de aroma distintivas. Los vinos dopados con: el vector tostado (Ro) se describen con términos como pan tostado, caramelo o café; el vector animal (An) con descriptores de animal y cuero; el vector vegetal (Ve) con pimienta verde; el vector herbal (He) con hoja de tomatera o herbal; el vector especiado (Sp) con especias; y el vector fruta pasa (Df) con fruta pasa, ciruela, caramelo y tofe.

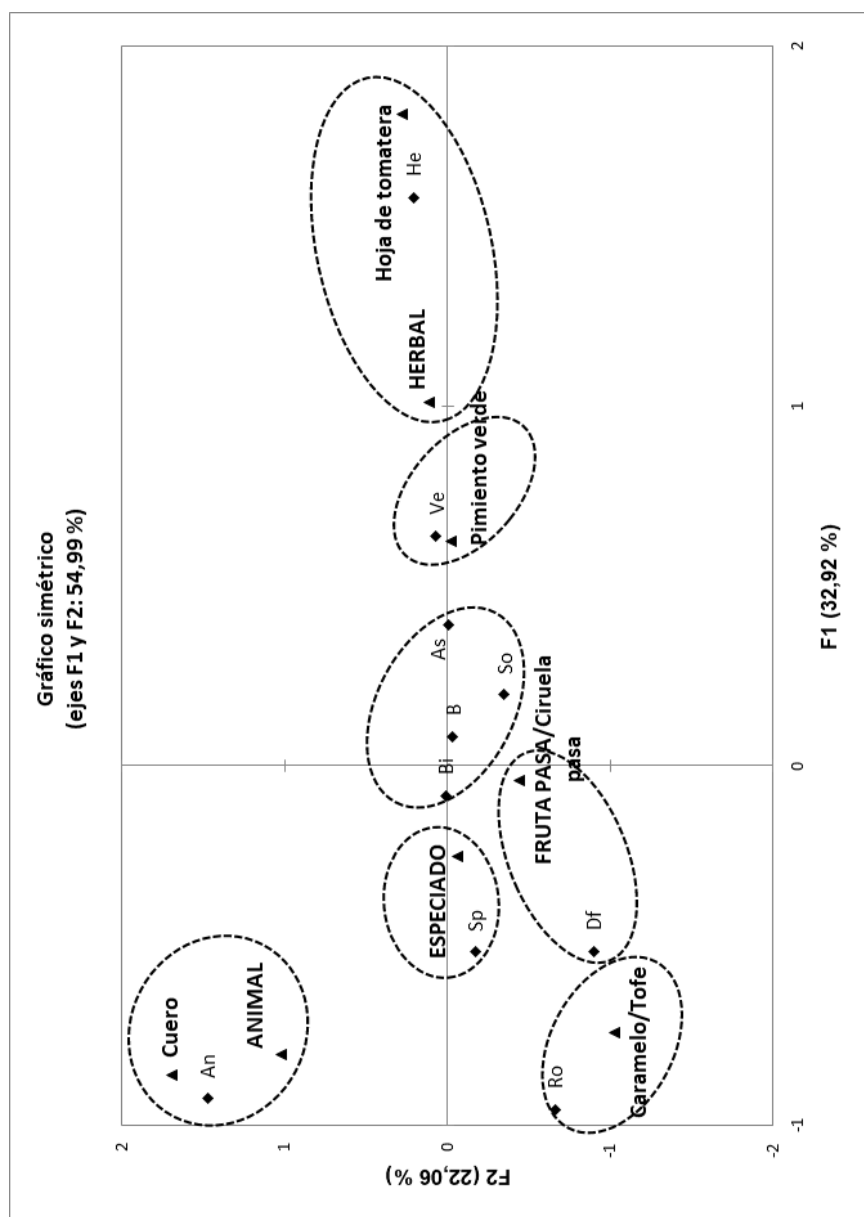


Figura 6.1. Proyección de los descriptores de aroma y los vinos modelo en los dos primeros factores del espacio del Análisis de Correspondencias basado en la percepción de aroma ortonasal de un panel entrenado.

En cuanto a los atributos en boca, la Figura 6.2 muestra que las muestras dopadas con ácido tartárico, sulfato de quinina o la fracción de proantocianidinas (So, Bi y As, respectivamente) generan propiedades en boca únicas correspondientes a acidez, amargor y astringencia, respectivamente.

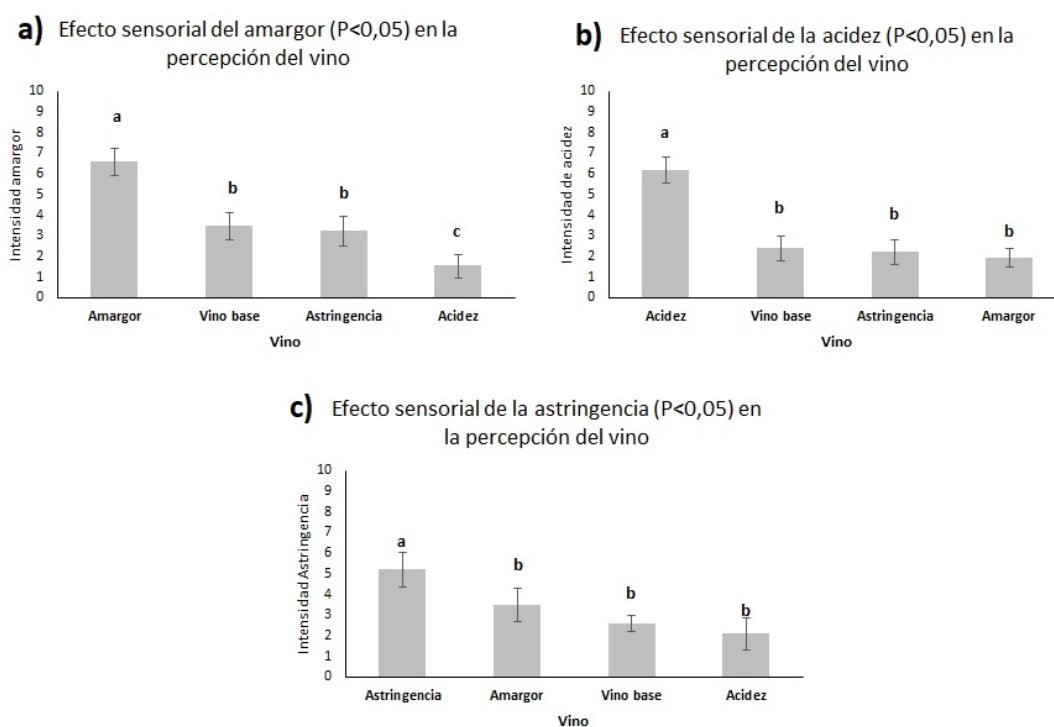


Figura 6.2. Comparación de las puntuaciones de las intensidades medias (para un panel externo) de los vinos: B (vino base), Bi (vino base dopado con sulfato de quinina), As (vino base dopado con la fracción de proantocianidinas) y So (vino base dopado con el vector acidez). Cada figura explica la intensidad media de (a) amargor, (b) acidez y (c) astringencia. Las diferentes letras indican diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los vinos B, Bi, So y As; ns: diferencias no significativas. Las barras de error son los errores estándar de la media.

3.2. Estudio de las interacciones por análisis descriptivo

Los ANOVAs muestran que no hay efecto significativo para ningún vector de aroma (animal, herbal, fruta pasa, especiado, vegetal y tostado) o gusto (amargor o acidez)

Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astringencia en vinos tintos. Efecto del nivel de experiencia del consumidor

en las puntuaciones de astringencia, independientemente del nivel de experiencia de los participantes.

Tabla 6.2. Resultados del ANOVA de tres factores (participantes como factor aleatorio y nivel de experiencia y vino como factores fijos) calculados para evaluar el efecto del gusto ácido o de los 6 vectores de aroma sobre la intensidad de amargor percibida en vinos con alto (Bi) y bajo (B) amargor. Solo se han incluido en la tabla los efectos significativos ($P < 0,05$); ns: no significativo.

<i>Factores</i>	<i>Nivel de experiencia</i>		<i>Vino</i>		<i>Nivel de experiencia x Vino</i>	
	F	P	F	P	F	P
<i>Acidez (Bi)</i>	0,21	ns	14,0	< 0,001	0,315	ns
<i>Animal (Bi)</i>	1,85	ns	4,20	< 0,05	3,45	< 0,05
<i>Animal (B)</i>	0,76	ns	4,25	< 0,05	4,36	< 0,05

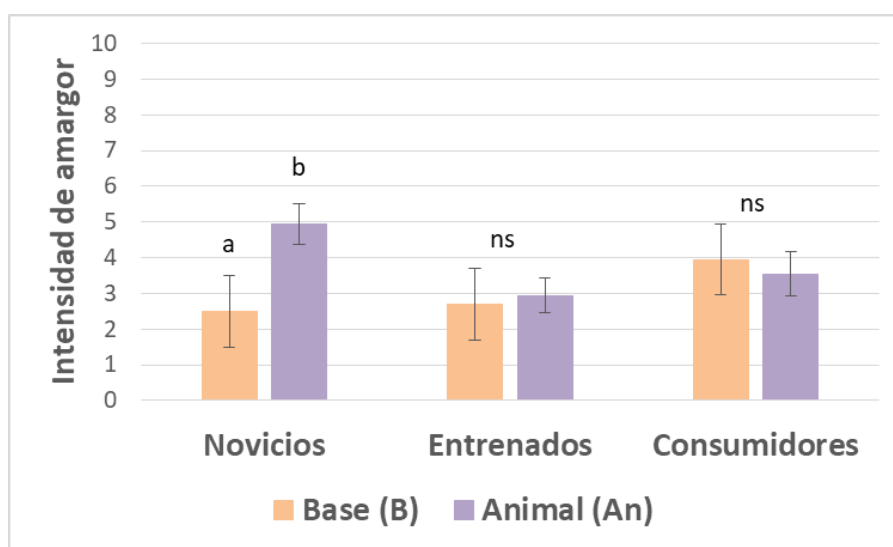


Figura 6.3. Comparación de las puntuaciones de intensidad media (para novicios, panel entrenado y expertos) de los vinos con baja intensidad de amargor sin adición de ningún vector de aroma o gusto (B) y con la adición del vector de aroma animal (An). Letras diferentes dentro de los grupos novicios, entrenados o expertos significan que hay diferencias significativas ($P < 0,05$) para la puntuación de amargor entre B y An; ns: no hay diferencias significativas. Las barras de error son los errores estándar de la media.

La Tabla 6.2 muestra los efectos significativos de la adición de los vectores de aroma o los estímulos del gusto en los vinos con bajo (B) o alto (Bi) nivel de amargor. Se

puede observar cómo la adición del vector de aroma *animal* ya sea a B (An) o Bi (AnBi) genera un efecto significativo sobre la puntuación de amargor. El efecto significativo de la interacción (nivel de experiencia x vino) indica que tal efecto depende del grupo de participantes que evalúen los vinos.

Las Figuras 6.3 y 6.4 muestran que el aroma animal genera un aumento significativo de la intensidad de amargor, pero solo en el grupo de consumidores menos especializados (novicios), siendo no significativo para los participantes más experimentados (panel entrenado o panel de expertos).

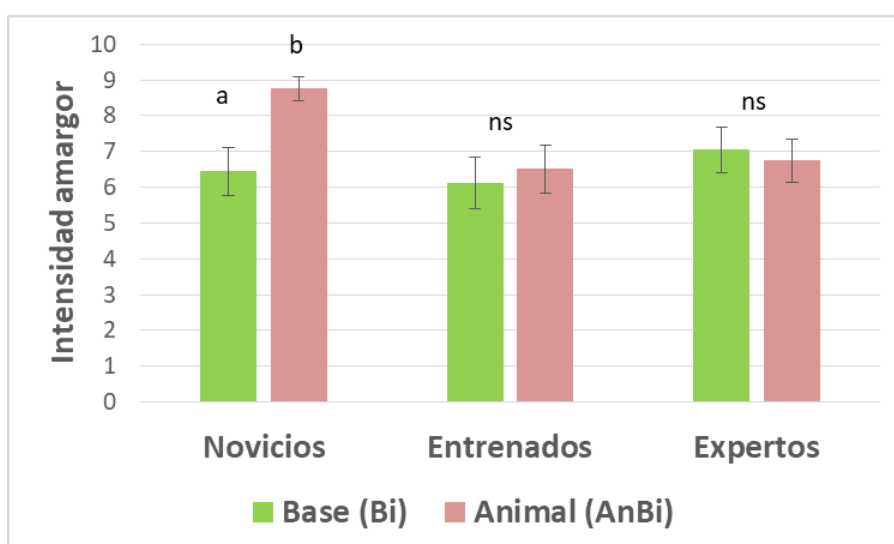


Figura 6.4. Comparación de las puntuaciones de intensidad media (para novicios, panel entrenado y expertos) de los vinos con alta intensidad de amargor sin adición de ningún vector de aroma o gusto (Bi) y con la adición del vector de aroma animal (AnBi). Letras diferentes dentro de los grupos novicios, entrenados o expertos significan que hay diferencias significativas ($P < 0,05$) para la puntuación de amargor entre Bi y AnBi; ns: no hay diferencias significativas. Las barras de error son los errores estándar de la media.

Se encontró un segundo efecto significativo para el estímulo acidez (Tabla 6.2), pero solo en el caso de los vinos con alto amargor (Bi), independientemente del nivel de experiencia de los participantes. La Figura 6.5 muestra cómo la adición de ácido tartárico

(estímulo ácido) a los vinos amargos genera un descenso del amargor para los tres grupos de participantes.

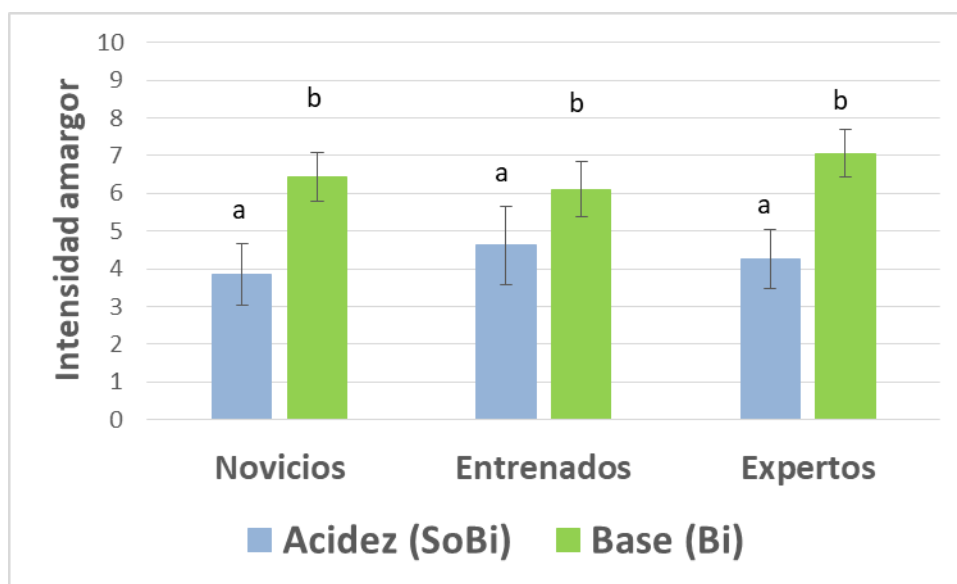


Figura 6.5. Comparación de las puntuaciones de intensidad media (para novicios, panel entrenado y expertos) de los vinos con alta intensidad de amargor, sin adición de ningún vector de aroma o gusto (Bi) y con la adición del vector de gusto ácido (SoBi). Letras diferentes dentro de los grupos novicios, entrenados o expertos significan que hay diferencias significativas ($P < 0,05$) para la puntuación de amargor entre Bi y SoBi; ns: no hay diferencias significativas. Las barras de error son los errores estándar de la media.

4. Discusión

En el presente trabajo, se diseñó un experimento sensorial para validar los modelos predictivos obtenidos en trabajos previos (Hernandez, 2016; Saenz-Navajas, Avizcuri, Ferreira, & Fernandez-Zurbano, 2014; Saenz-Navajas, Campo, Fernandez-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010), los cuales sugieren que el amargor y la astringencia pueden estar modulados por interacciones del tipo gusto-gusto (amargor-acidez), gusto-aroma (animal, especiado, vegetal, herbal, tostado o fruta pasa con amargor), gusto-astringencia (astringencia-acidez o astringencia-amargor) o astringencia-aroma (animal, especiado, vegetal, herbal, tostado o fruta pasa con astringencia). Bajo estas hipótesis, se investigaron

si esas interacciones sensoriales podían ser moduladas por el nivel de experiencia de los consumidores, por ello se evaluaron las interacciones percibidas por novicios, un panel entrenado o expertos en vino.

Los resultados, sin embargo, revelan la existencia de un número bastante limitado de interacciones sensoriales y que afectan exclusivamente al amargor (amargor-acidez y amargor-animal), mientras que se confirma que en un contexto de vino tinto la astringencia está dirigida exclusivamente por los polifenoles y no por las interacciones con el gusto (amargor o acidez) o el aroma, como se había sugerido previamente. Incluso si se esperaba observar más interacciones, los resultados son altamente importantes ya que, hasta nuestro conocimiento, es la primera vez que se observan casos de supresión del amargor a causa de la acidez en mezclas complejas, independientemente del nivel de experiencia de los participantes, y el aumento del amargor provocado por el aroma animal, el cual en este caso está altamente relacionado con la experiencia de los consumidores.

En la literatura aparece descrito, que las interacciones del tipo aroma-gusto o gusto-gusto pueden ser el resultado de tres tipos de interacciones: interacciones fisicoquímicas en el producto mismo, interacciones a nivel de receptor o interacciones cognitivas (Small & Prescott, 2005). Aunque las interacciones fisicoquímicas no han sido medidas directamente en el presente trabajo, éstas no parecen ser las principales responsables de los efectos observados. Esto es especialmente improbable para las interacciones amargor-animal por varias razones. Primero porque tal efecto se ha observado exclusivamente para novicios y no para el resto de participantes, segundo porque esta interacción ocurre para ambos niveles de amargor: alto (adición de sulfato de quinina) o bajo (sin adición de sulfato de quinina). La ausencia de sulfato de quinina en vinos con bajo nivel de amargor (no añadido en B y no estando presente de forma natural en el vino) implica que las interacciones

fisicoquímicas de sulfato de quinina con el vector de aroma animal (compuesto por 4-etilfenol y ácido isovalérico) son simplemente imposibles.

De manera similar, las interacciones del tipo amargor-acidez observadas para todos los participantes, independientemente de su nivel de experiencia, pueden explicarse a nivel de receptor o a nivel cognitivo (supresión central). Algunos trabajos han indicado que ciertas sales, especialmente las sales de sodio, pueden suprimir el amargor generado por la quinina (Keast, Breslin, & Beauchamp, 2001; Kroeze & Barthoshuk, 1985) debido a la afinidad de las sales y el sulfato de quinina por receptores comunes. Esto puede ser el caso del ácido tartárico y el sulfato de quinina usado en el presente estudio, porque al pH del vino, el ácido tartárico está presente de dos formas: completamente protonado o asociado con su base conjugada. Esta última forma puede estar como sodio o como sal protonada, la cual puede competir con los receptores de la quinina, generando la supresión del amargor. Sin embargo, la supresión a nivel central no se puede descartar y se puede explicar en términos de desviación de la atención (incapacidad de los consumidores de dirigir su atención a un atributo específico tal como el amargor cuando otra propiedad sensorial tal como la acidez se percibe a mayor intensidad) o de confusión de los gustos ácido y amargo a nivel cognitivo (McAuliffe & Meiselman, 1974; O'Mahony, Goldenberg, Stedmon, & Alford, 1979). El presente trabajo no puede explicar inequívocamente la clase de interacción que ocurre entre el amargor y el gusto ácido, incluso si parece plausible sugerir que es el resultado de interacciones a nivel de receptor y a nivel cognitivo como han sido propuesto para otras sales (Kroeze & Barthoshuk, 1985).

En lo concerniente al sinergismo observado para el aroma animal y el gusto amargo encontrado exclusivamente para los consumidores menos experimentados (novicios), parece ser el resultado de interacciones cognitivas causadas por su congruente tono hedónico negativo. Esta idea se apoya en el hecho de que los novicios tienden a encontrar

más dificultades a la hora de separar el olor y el gusto en mezclas complejas, es decir en ser más analíticos, y tienden a clasificar los gustos/flavores según su cualidad hedónica (Ballester, Patris, Symoneaux, & Valentin, 2008; Royet, Plailly, Saive, Veyrac, & Delon-Martin, 2013), contrariamente a los consumidores más experimentados que son más propensos a discernir las cualidades perceptuales (ej. aroma y gusto). Por ello, los novicios parecen adoptar una estrategia perceptual sintética u holística integral, es decir que tienden a evaluar las diferentes percepciones (aroma, gusto y sensaciones táctiles) como un todo, mientras que los panelistas entrenados y expertos parecen actuar de una manera más analítica.

En lo referente a las interacciones aroma-astringencia o gusto-astringencia, no se han observado efectos significativos en el presente trabajo. Este resultado está en concordancia con trabajos previos relacionados con vinos reconstituidos formados por fracciones volátiles y no volátiles de vinos altamente astringentes (Saenz-Navajas, Campo, Avizcuri, Valentin, Fernandez-Zurbano, & Ferreira, 2012). La ausencia de interacciones gusto-astringencia o aroma-astringencia confirma que para la astringencia, producida por las proantocianidinas, éstas son las principales responsables de esta sensación táctil que se percibe en los vinos, siendo por tanto secundario el papel del aroma, la acidez o el amargor a la hora de modularla. Esto está en aparente contradicción con otros trabajos, que demuestran que el aroma es capaz de modular la astringencia (Ferrer-Gallego, Hernandez-Hierro, Rivas-Gonzalo, & Escribano-Bailon, 2014; Saenz-Navajas, Campo, Fernandez-Zurbano, Valentin, & Ferreira, 2010), aunque si bien es cierto que estas discrepancias pueden ser el simple resultado de las diferencias en la composición de las matrices de vino y en la aproximación experimental. Las interacciones observadas por Ferrer-Gallego y colaboradores (2014) se observaron en una matriz acuosa a pH ajustado y que contenía solo uno o una mezcla simple de compuestos fenólicos y un único compuesto de aroma. En el

trabajo realizado por Saenz-Navajas y colaboradores (2012) se observó solo el efecto de la astringencia en vino tinto cuando se añadía la fracción de aroma frutal, extraída de un vino blanco Chardonnay, sobre las matrices no volátiles de un vino tinto. Por lo tanto, los resultados obtenidos en el presente trabajo confirman que las interacciones del aroma o del gusto con la astringencia no son importantes cuantitativamente en la determinación de los niveles de astringencia en vinos tintos normales.

5. Conclusiones

El presente trabajo incrementa el conocimiento sobre las interacciones sensoriales en matrices complejas y es valioso para los investigadores en el campo sensorial, así como para la industria alimentaria. Se podrían llevar a cabo investigaciones posteriores con vinos con diferentes niveles de complejidad en términos de composición volátil y no volátil. Una limitación aparente, pero importante del presente estudio puede ser el empleo de sulfato de quinina para inducir diferentes niveles de amargor, la cual no está naturalmente presente en el vino. Sin embargo, la falta de conocimiento sobre los compuestos que generan exclusivamente el amargor en vinos tintos hace esencial el uso de este compuesto para comprender las interacciones del amargor en el vino.

6. Referencias

- Arvisenet, G., Guichard, E., & Ballester, J. (2016). Taste-aroma interaction in model wines: Effect of training and expertise. *Food Quality and Preference*, 52, 211-221.
- Ballester, J., Patris, B., Symoneaux, R., & Valentin, D. (2008). Conceptual vs. perceptual wine spaces: Does expertise matter? *Food Quality and Preference*, 19(3), 267-276.
- Caporale, G., Policastro, S., & Monteleone, E. (2004). Bitterness enhancement induced by cut grass odorant (cis-3-hexen-1-ol) in a model olive oil. *Food Quality and Preference*, 15(3), 219-227.
- Castriota-Scanderbeg, A., Hagberg, G. E., Cerasa, A., Committeri, G., Galati, G., Patria, F., Pitzalis, S., Caltagirone, C., & Frackowlak, R. (2005). The appreciation of wine by sommeliers: A functional magnetic resonance study of sensory integration. *Neuroimage*, 25(2), 570-578.

Colonna, A. E., Adams, D. O., & Noble, A. C. (2004). Comparison of procedures for reducing astringency carry-over effects in evaluation of red wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(1), 26-31.

Chollet, S., & Valentin, D. (2000). Le degré d'expertise a-t-il une influence sur la perception olfactive ? Quelques éléments de réponse dans le domaine du vin. *L'Année psychologique*, 11-36.

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.

Ferrer-Gallego, R., Hernandez-Hierro, J. M., Rivas-Gonzalo, J. C., & Escribano-Bailon, M. T. (2014). Sensory evaluation of bitterness and astringency sub-qualities of wine phenolic compounds: synergistic effect and modulation by aromas. *Food Research International*, 62, 1100-1107.

Gaudette, N. J., Delwiche, J. F., & Pickering, G. J. (2016). The contribution of bitter blockers and sensory interactions to flavour perception. *Chemosensory Perception*, 9(1), 1-7.

Hernandez, M. G. (2016). *Características sensoriales y composición no volátil de vinos tintos: avances en la exploración de la calidad*. Universidad de La Rioja, Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática.

Hughson, A. L., & Boakes, R. A. (2001). Perceptual and cognitive aspects of wine expertise. *Australian Journal of Psychology*, 53(2), 103-108.

Hughson, A. L., & Boakes, R. A. (2002). The knowing nose: The role of knowledge in wine expertise. *Food Quality and Preference*, 13(7-8), 463-472.

Keast, R. S. J., Breslin, P. A. S., & Beauchamp, G. K. (2001). Suppression of bitterness using sodium salts. *Chimia*, 55(5), 441-447.

Kroeze, J. H. A., & Barthoshuk, L. M. (1985). Bitterness suppression as revealed by split-tongue taste stimulation in humans. *Physiology & Behavior*, 35(5), 779-783.

McAuliffe, W. K., & Meiselman, H. L. (1974). The roles of practice and correction in the categorization of sour and bitter taste qualities. *Perception & Psychophysics*, 16(2), 242-244.

O'Mahony, M., Goldenberg, M., Stedmon, J., & Alford, J. (1979). Confusion in the use of the taste adjectives 'sour' and 'bitter'. *Chemical Senses*, 4(4), 301-318.

Parr, W. V., Heatherbell, D., & White, K. G. (2002). Demystifying wine expertise: Olfactory threshold, perceptual skill and semantic memory in expert and novice wine judges. *Chemical Senses*, 27(8), 747-755.

Prescott, J. (2012). Multimodal chemosensory interactions and perception of flavor. In W. M. Murray MM (Ed.), *The Neural Bases of Multisensory Processes*. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis.

Prescott, J. (2015). Flavours: the pleasure principle. *Flavour*, 4(1), 15.

Prescott, J., Johnstone, V., & Francis, J. (2004). Odor-taste interactions: Effects of attentional strategies during exposure. *Chemical Senses*, 29(4), 331-340.

Royet, J.-P., Plailly, J., Saive, A.-L., Veyrac, A., & Delon-Martin, C. (2013). The impact of expertise in olfaction. *Frontiers in Psychology*, 4.

Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ferreira, V., & Fernandez-Zurbano, P. (2014). Sensory changes during bottle storage of Spanish red wines under different initial oxygen doses. *Food Research International*, 66, 235-246.

Saenz-Navajas, M. P., Avizcuri, J. M., Ferrero-del-Teso, S., Valentin, D., Ferreira, V., & Fernandez-Zurbano, P. (2017). Chemo-sensory characterization of fractions driving different mouthfeel properties in red wines. *Food Research International*, 94, 54-64.

Saenz-Navajas, M. P., Campo, E., Avizcuri, J. M., Valentin, D., Fernandez-Zurbano, P., & Ferreira, V. (2012). Contribution of non-volatile and aroma fractions to in-mouth sensory properties of red wines: Wine reconstitution strategies and sensory sorting task. *Analytica Chimica Acta*, 732, 64-72.

Saenz-Navajas, M. P., Campo, E., Fernandez-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.

Saenz-Navajas, M. P., Martin-Lopez, 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.

Small, D. M., & Prescott, J. (2005). Odor/taste integration and the perception of flavor. *Experimental Brain Research*, 166(3), 345-357.

Stevenson, R. J., Prescott, J., & Boakes, R. A. (1999). Confusing tastes and smells: How odours can influence the perception of sweet and sour tastes. *Chemical Senses*, 24(6), 627-635.

Symoneaux, R., Guichard, H., Le Quere, J. M., Baron, A., & Chollet, S. (2015). Could cider aroma modify cider mouthfeel properties? *Food Quality and Preference*, 45, 11-17.

Tomaschunas, M., Hinrichs, J., Köhn, E., & Busch-Stockfisch, M. (2012). Effects of casein-to-whey protein ratio, fat and protein content on sensory properties of stirred yoghurt. *International Dairy Journal*, 26(1), 31-35.



Conclusiones

CONCLUSIONES FINALES

Una de las principales conclusiones de esta tesis es que una gran parte de las notas aromáticas del vino son debidas a la presencia de fuertes **interacciones perceptuales** entre los diferentes vectores de aroma. De hecho, gracias a los trabajos de reconstitución realizados en esta tesis se ha observado que tan solo el 28 % de la varianza del espacio sensorial aromático puede ser explicada por vectores individuales y que el 72 % restante puede ser atribuido a interacciones perceptuales entre los mismos.

El vector formado por el alcohol isoamílico y el isobutanol es una de las piezas fundamentales del denominado búfer aromático y es capaz de suprimir las notas a madera, frutal y a humedad a niveles de concentración a los cuales no se perciben sus propias notas aromáticas, lo que es un ejemplo de **interacción destructiva**. Sin embargo, el alcohol isoamílico y el isobutanol potencian las notas de animal/cuero causadas por los etilfenoles, lo que puede atribuirse tanto a la congruencia hedónica negativa como a la congruencia en las notas aromáticas de ambos vectores (*alcohol/disolvente* y *cuero/animal/tinta*), lo que es un ejemplo de **interacciones de potenciación**.

Por otro lado, se ha demostrado que puede tener lugar la integración de los odorantes que comparten descriptores comunes, como es el caso de los ésteres etílicos, que actúan de una manera concertada. Esta conclusión se basa en el hecho de que en algunos contextos aromáticos, se ha podido simplificar la mezcla original de 14 componentes por el compuesto más intenso (o incluso el más similar a él) sin pérdida de información cualitativa. Esta integración permite simplificar el número de odorantes que constituyen los modelos reconstituidos o el número de variables a tener en cuenta a la hora de generar modelos que predigan las propiedades aromáticas de mezclas complejas. Esta interacción

es un ejemplo de **interacción cooperativa**. Desde el punto de vista cuantitativo, se ha podido observar un fuerte **efecto sinérgico** de los odorantes en concentraciones sub-umbrales, mientras los odorantes presentes en concentraciones supra-umbrales interactúan principalmente vía **hipoadición**. Incluso en el caso de la hipoadición, la cantidad de aroma – en términos de OAV – necesaria para mantener la intensidad de los vectores simplificados al mismo nivel que el vector original, aumenta de manera muy importante (factor > 4 para el proceso de simplificación completo, cercano a 3 para la eliminación de odorantes a niveles supra-umbrales). Esto demuestra que los OAVs son medidas bastante limitadas en la predicción no solo de la importancia de un odorante en una mezcla sino también como criterio para combinar odorantes en vectores. En este sentido, los resultados sugieren que, para fines de modelización de las propiedades sensoriales a partir de la composición química, las concentraciones de los odorantes individuales se deben traducir primero en intensidades aromáticas y que, entonces, esas intensidades aromáticas se deben combinar utilizando diferentes aproximaciones, como por ejemplo el modelo vectorial propuesto por primera vez por Berglund.

En la presente tesis doctoral, se han estudiado en mayor detalle las interacciones entre el vector madera y el vector frutal. Mientras que los resultados confirman la ya observada tendencia del vector madera a dominar el aroma de la mezcla, también revelan la existencia de interacciones perceptuales que han dado lugar a la creación de un nuevo concepto aromático (que podría denominarse **interacción creativa**), como es el caso de la nota a grosella negra. La formación de esta nota aromática ha surgido por interacción entre el vector madera rico en vainillas y el frutal.

Por último, el estudio de la existencia de interacciones sensoriales del aroma con el gusto (amargor) o la astringencia ha revelado que estos efectos o no parecen ser esenciales en la modulación de los atributos sensoriales considerados. De hecho, no se observó ningún

efecto del aroma sobre la astringencia, confirmando resultados previos, y solo se pudo demostrar una **interacción** del tipo **aroma-gusto** (amargor-animal para consumidores novicios o naïve), la cual era dependiente del nivel de experiencia de los consumidores y por tanto de su aproximación holística cuando evaluaban un vino.

Como conclusión final, este trabajo sugiere que los estudios que buscan interpretar las propiedades de aroma de una mezcla compleja de odorantes deben abordar el siguiente esquema de trabajo. Primero, identificar los odorantes presentes en la mezcla; segundo, integrar en los vectores de aroma individuales aquellos grupos de odorantes que interactúan de manera cooperativa, sin olvidar los odorantes a niveles cercanos al umbral; tercero, estudiar las diferentes interacciones perceptuales que existen entre los vectores en la mezcla y llevar a cabo los estudios en matrices similares y tan complejos como el producto objeto de estudio.

FINAL CONCLUSIONS

One of the main conclusions of this doctoral thesis is that most wine aromatic notes are due to the existence of **perceptual interactions** between different aroma vectors. In fact, reconstitution works revealed that only 28 % of the variance of the aromatic-sensory space can be explained by individual vectors and that the remaining 72 % should be attributed to perceptual interactions.

The vector formed by isoamyl and isobutyl alcohols is one of the fundamental pieces of the so-called aromatic buffer and is capable of suppressing the notes of wood, fruit and humidity at levels of concentration at which their own aromatic notes are not perceived, which is an example of a perceptual **destructive interaction**. However, the animal / leather notes caused by ethyl phenols are enhanced by the isoamyl alcohol vector, which can be attributed to the congruence in both, negative hedonic tones and in the aromatic notes (alcohol/solvent and leather/animal/ink), which is an example of a perceptual **enhancement interaction**.

On the other hand, it has been demonstrated that odorants sharing common descriptors, such as ethyl esters, act in a concerted and integrated way, since in some aromatic contexts, the original 14 components in the mixture can be replaced by the single most intense (or even by one similar to it) without any loss of qualitative information. This integration allows simplifying the number of odorants taking part in reconstituted models or the number of variables taking part in mathematical models build to predict the aroma properties of complex mixtures. This interaction is an example of a perceptual **cooperative interaction**. From the quantitative point of view, some odorants present at sub-threshold levels exert a strong **synergistic effect**, while odorants present a supra-threshold

concentrations interact mainly via **hypo-addition**. Even in the hypo-addition case, the amount of aroma - in terms of OAV - necessary to keep the intensity of the simplified vectors at the same level than that of the original vector, is much increased (a factor > 4 for the whole simplification process, close to 3 for the elimination of suprathreshold odorants). This demonstrates that OAVs are quite limited measures to predict not only the actual importance of an odorant in a mixture but also as criteria for combining odorants into vectors. Rather, results suggest that for modeling purposes, concentrations of individual odorants should be first translated into aromatic intensities and that then, those aromatic intensities should be added by using different approximations, such as the vector model first proposed by Berglund.

Interactions between the different components of woody aroma vectors and the fruity vector have been studied in detail. While results confirm the already observed tendency of the woody vector to dominate the aroma of the mixture, also reveal the existence of perceptual interactions leading to the creation of a new aroma concept (which can be defined as perceptual **creative interaction**), in the case of blackcurrant notes arising from the interaction between the vanilla-rich woody vector and the fruit vector.

Finally, a study directed to assess the existence of cross-modal interactions (odor x taste or odor x astringency) has revealed that these effects do not seem to be essential for the sensory attributes considered. In fact, no effect of aroma on astringency was observed, confirming previous results, and only one **taste-aroma interaction** (bitterness-animal aroma for naïve consumers) could be demonstrated. Such interaction was dependent on the level of expertise of consumers and thus on their holistic approach when evaluating wine.

As a final conclusion, this work suggests that studies seeking to interpret the aroma properties of a complex mixture of odorants, should approach the following working

Conclusiones finales/Final conclusions

scheme: First, identify the odorants present in the mixture; second, integrate in single aroma vectors those groups of odorants likely interacting cooperatively, not forgetting perithreshold odorants; third, study the different perceptual interactions existing between the vectors in the mixture, and carrying the studies in systems as similar and complex as possible as the product object of study.



JUEZ SESION 1 7 junio 2015

En la mesa se presentan 8 copias de video. Cada copia será codificada con un número de tres cifras.

- La pedreira que HUELA cada MUESTRA (exclusivamente por día ordenado)
- A continuación selección un MÁXIMO de 2 descripciones de los propuestos en la lista siguiente a cada muestra.


Nombres

<input type="checkbox"/> ALONDRO	<input type="checkbox"/> ANTONIO	<input type="checkbox"/> HUMBERTO	<input type="checkbox"/> JOE
<input type="checkbox"/> ANITA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> LUIS	<input type="checkbox"/> JUAN
<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA
<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA
<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA	<input type="checkbox"/> ANA

ANEXO 1

Figura 1.1. Lista de 85 términos seleccionados para la descripción de los 20 vinos evaluados por el panel entrenado 1.

Lista de descriptores de aroma



<input type="checkbox"/> FRUTAS BLANCAS	<input type="checkbox"/> FRUTAS PASAS	<input type="checkbox"/> FLORAL	<input type="checkbox"/> ESPECIAS	<input type="checkbox"/> TOSTADOS	<input type="checkbox"/> OTROS
<input type="checkbox"/> Plátano <input type="checkbox"/> Manzana <input type="checkbox"/> Pera	<input type="checkbox"/> Ciruela seca <input type="checkbox"/> Higo seco <input type="checkbox"/> Orejón <input type="checkbox"/> Uvas pasas	<input type="checkbox"/> Flor de azahar <input type="checkbox"/> Flor blanca <input type="checkbox"/> Rosa <input type="checkbox"/> Violeta	<input type="checkbox"/> Anís <input type="checkbox"/> Canela <input type="checkbox"/> Clavo <input type="checkbox"/> Pimienta <input type="checkbox"/> Regaliz <input type="checkbox"/> Vainilla	<input type="checkbox"/> Ahumado <input type="checkbox"/> Caramelo <input type="checkbox"/> Café <input type="checkbox"/> Pan tostado	<input type="checkbox"/> Alcohol <input type="checkbox"/> Azufre <input type="checkbox"/> Caldo de olivas
<input type="checkbox"/> FRUTAS AMARILLAS	<input type="checkbox"/> FRUTOS SECOS	<input type="checkbox"/> Miel	<input type="checkbox"/> MADERA	<input type="checkbox"/> MADERA	<input type="checkbox"/> Coliflor
<input type="checkbox"/> Melocotón <input type="checkbox"/> Melón maduro	<input type="checkbox"/> Almendra <input type="checkbox"/> Nuez	<input type="checkbox"/> VEGETAL	<input type="checkbox"/> Barrica de roble <input type="checkbox"/> Madera añeja (licoroso) <input type="checkbox"/> Serrín	<input type="checkbox"/> SOTOBOSQUE	<input type="checkbox"/> Cartón/Polvo <input type="checkbox"/> Caucho <input type="checkbox"/> Cacao
<input type="checkbox"/> CITRICOS	<input type="checkbox"/> FRUTAS EXÓTICAS	<input type="checkbox"/> ANIMAL	<input type="checkbox"/> SOTOBOSQUE	<input type="checkbox"/> SOTOBOSQUE	<input type="checkbox"/> Levadura <input type="checkbox"/> Láctico <input type="checkbox"/> Mantequilla
<input type="checkbox"/> Limón <input type="checkbox"/> Naranja/Pomelo	<input type="checkbox"/> Lichi <input type="checkbox"/> Fruta de la pasión <input type="checkbox"/> Mango <input type="checkbox"/> Piña	<input type="checkbox"/> Animal mojado <input type="checkbox"/> Avecrem <input type="checkbox"/> Cuero <input type="checkbox"/> Transpiración	<input type="checkbox"/> Champiñón <input type="checkbox"/> Moho <input type="checkbox"/> Humedad/cerrado	<input type="checkbox"/> OTROS	<input type="checkbox"/> Tinta <input type="checkbox"/> Silex/pedernal
<input type="checkbox"/> FRUTAS ROJAS	<input type="checkbox"/> FRUTAS NEGRAS	<input type="checkbox"/> HERBAL	<input type="checkbox"/> OTROS	<input type="checkbox"/> OTROS	<input type="checkbox"/> OTROS
<input type="checkbox"/> Cereza <input type="checkbox"/> Fresa <input type="checkbox"/> Frambuesa	<input type="checkbox"/> Mora <input type="checkbox"/> Arándano <input type="checkbox"/> Cassis	<input type="checkbox"/> Menta/hierbabuena <input type="checkbox"/> Tabaco	<input type="checkbox"/> OTROS	<input type="checkbox"/> OTROS	<input type="checkbox"/> OTROS

Término 1º nivel - Genérico
 Términos independientes
 Término 2º nivel

LAAE 2018®

Interacciones sensoriales entre seis vectores de aroma capaces de explicar cuatro atributos de aroma en vinos tintos

Figura 1.2. Ficha de evaluación empleada para el análisis sensorial descriptivo realizado por el panel entrenado 2 para los vinos NAFM, NAFML, NAF, NAFL evaluados orthonasalmente.

Código juez:	Fecha:
CÓDIGO COPA:	
<p>EVALÚE EN ORDEN Y <u>UNO A UNO</u> LA INTENSIDAD AROMÁTICA DE <u>TODOS</u> LOS DESCRIPTORES presentes en la lista con la escala de 0 a 10 propuesta.</p>	
	<p>Intensidad Baja Intensidad Media Intensidad Alta</p>
FRUTA FRESCA (fresa, mora, arándano, cereza)	
FRUTAS PASAS (ciruela seca, higo, orejón)	
ESPECIADO (clavo, regaliz, pimienta)	
TOSTADO/BARRICA (caramelo, café, ahumado, madera, vainilla)	
VEGETAL (verde, pimiento, terroso, espárrago)	
SOTOBOSQUE (humedad, moho, cerrado)	
ANIMAL/FENÓLICO (cuero, tinta, betún)	

ANEXO 2

Figura 2.1. Instrucciones empleadas en test de elección forzada o *three-alternative forced choice* (3-AFC).

Nombre:	Fecha:
---------	--------

A continuación se presentan **12 test**, formado cada uno por 3 copas codificadas con un número de tres cifras.

- Le pedimos que HUELA las tres copas que forman cada test **DE IZQUIERDA A DERECHA Y DE DELANTE HACIA ATRÁS.**
- Anote los códigos de las copas en la serie correspondiente en el orden que se les presenta, de izquierda a derecha
- **RODEE** en cada test cuál de las copas presenta un aroma diferente.
- Pase al siguiente test.

Serie 1. _____

Serie 2. _____

Serie 3. _____

Serie 4. _____

Serie 5. _____

Serie 6. _____

Serie 7. _____

Serie 8. _____

Serie 9. _____

Serie 10. _____

Serie 11. _____

Serie 12. _____

Figura 2.2. 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 2.3. Instrucciones empleadas en la elección de atributos del procedimiento de Perfil Descriptivo Optimizado u *Optimized Descriptive Profile*.

JUEZ _____ SESIÓN 1 2 junio 2015

En la mesa se presentan **5 copas de vino**. Cada una está codificada con un número de tres cifras.

- Le pedimos que **HUELA** cada **MUESTRA** (exclusivamente por vía orthonasal)
- A continuación seleccione un **MÁXIMO de 2 descriptores** (de los propuestos en la lista siguiente) a cada muestra.

Muestra _____

<input type="checkbox"/>	ALCOHÓLICO	<input type="checkbox"/>	ESPECIADO	<input type="checkbox"/>	HUMEDAD	<input type="checkbox"/>	TCA
<input type="checkbox"/>	ANIMAL	<input type="checkbox"/>	FRESA	<input type="checkbox"/>	LICOROSO	<input type="checkbox"/>	TINTA
<input type="checkbox"/>	COCO	<input type="checkbox"/>	FRUTA	<input type="checkbox"/>	MADERA	<input type="checkbox"/>	TOSTADO
<input type="checkbox"/>	CUERO	<input type="checkbox"/>	FRUTA BLANCA	<input type="checkbox"/>	PINTURA	<input type="checkbox"/>	VAINILLA
<input type="checkbox"/>	DISOLVENTE	<input type="checkbox"/>	FRUTA ROJA	<input type="checkbox"/>	PUNZANTE		

Muestra _____

<input type="checkbox"/>	ALCOHÓLICO	<input type="checkbox"/>	ESPECIADO	<input type="checkbox"/>	HUMEDAD	<input type="checkbox"/>	TCA
<input type="checkbox"/>	ANIMAL	<input type="checkbox"/>	FRESA	<input type="checkbox"/>	LICOROSO	<input type="checkbox"/>	TINTA
<input type="checkbox"/>	COCO	<input type="checkbox"/>	FRUTA	<input type="checkbox"/>	MADERA	<input type="checkbox"/>	TOSTADO
<input type="checkbox"/>	CUERO	<input type="checkbox"/>	FRUTA BLANCA	<input type="checkbox"/>	PINTURA	<input type="checkbox"/>	VAINILLA
<input type="checkbox"/>	DISOLVENTE	<input type="checkbox"/>	FRUTA ROJA	<input type="checkbox"/>	PUNZANTE		

Muestra _____

<input type="checkbox"/>	ALCOHÓLICO	<input type="checkbox"/>	ESPECIADO	<input type="checkbox"/>	HUMEDAD	<input type="checkbox"/>	TCA
<input type="checkbox"/>	ANIMAL	<input type="checkbox"/>	FRESA	<input type="checkbox"/>	LICOROSO	<input type="checkbox"/>	TINTA
<input type="checkbox"/>	COCO	<input type="checkbox"/>	FRUTA	<input type="checkbox"/>	MADERA	<input type="checkbox"/>	TOSTADO
<input type="checkbox"/>	CUERO	<input type="checkbox"/>	FRUTA BLANCA	<input type="checkbox"/>	PINTURA	<input type="checkbox"/>	VAINILLA
<input type="checkbox"/>	DISOLVENTE	<input type="checkbox"/>	FRUTA ROJA	<input type="checkbox"/>	PUNZANTE		






Muestra _____

<input type="checkbox"/>	ALCOHÓLICO	<input type="checkbox"/>	ESPECIADO	<input type="checkbox"/>	HUMEDAD	<input type="checkbox"/>	TCA
<input type="checkbox"/>	ANIMAL	<input type="checkbox"/>	FRESA	<input type="checkbox"/>	LICOROSO	<input type="checkbox"/>	TINTA
<input type="checkbox"/>	COCO	<input type="checkbox"/>	FRUTA	<input type="checkbox"/>	MADERA	<input type="checkbox"/>	TOSTADO
<input type="checkbox"/>	CUERO	<input type="checkbox"/>	FRUTA BLANCA	<input type="checkbox"/>	PINTURA	<input type="checkbox"/>	VAINILLA
<input type="checkbox"/>	DISOLVENTE	<input type="checkbox"/>	FRUTA ROJA	<input type="checkbox"/>	PUNZANTE		

Muestra _____

<input type="checkbox"/>	ALCOHÓLICO	<input type="checkbox"/>	ESPECIADO	<input type="checkbox"/>	HUMEDAD	<input type="checkbox"/>	TCA
<input type="checkbox"/>	ANIMAL	<input type="checkbox"/>	FRESA	<input type="checkbox"/>	LICOROSO	<input type="checkbox"/>	TINTA
<input type="checkbox"/>	COCO	<input type="checkbox"/>	FRUTA	<input type="checkbox"/>	MADERA	<input type="checkbox"/>	TOSTADO
<input type="checkbox"/>	CUERO	<input type="checkbox"/>	FRUTA BLANCA	<input type="checkbox"/>	PINTURA	<input type="checkbox"/>	VAINILLA
<input type="checkbox"/>	DISOLVENTE	<input type="checkbox"/>	FRUTA ROJA	<input type="checkbox"/>	PUNZANTE		

Figura 2.4. Instrucciones para la evaluación de los atributos sobre la escala siguiendo el procedimiento de Perfil Descriptivo Optimizado u *Optimized Descriptive Profile*.

JUEZ _____	SESIÓN 2	2 junio 2015
<p>En la mesa se presentan 8 copas de vino codificadas con un número de tres cifras junto con 2 copas que representan el nivel débil y fuerte de intensidad, respectivamente para un atributo dado.</p> <p>Le pedimos que para un único atributo COMPARE la intensidad de las 8 copas de vino CON las REFERENCIAS y coloque sus códigos en la escala siguiente.</p>		
ATRIBUTO _____		
		
ATRIBUTO _____		
		
ATRIBUTO _____		
		
ATRIBUTO _____		
		
ATRIBUTO _____		
		

ANEXO 3

Figura 3.1. Instrucciones de la sesión 1, presentación de aromas individuales.

Sobre la mesa se les presentan 4 copas de vino etiquetadas con los cuatro descriptores a los que hace referencia. Le pedimos que huelga cada copa, exclusivamente por vía orthonasal, y que memorice los descriptores de cada una de ellas:

- FRESA/LÁCTICO/FRUTA ROJA
- MADERA/COCO/VAINILLA
- CUERO/ANIMAL/TINTA
- LICOROSO/ALCOHÓLICO

Figura 3.2. Instrucciones para la ordenación.

A continuación se le presentan 3 copas etiquetadas un número de tres cifras.
Le pedimos que huela cada copa, exclusivamente por vía orthonasal, y que ordene las muestras por orden de intensidad.

- Le recomendamos que comience de izquierda a derecha
- Deje un espacio de tiempo de al menos 20 segundos entre cada olfacción

Menos intensa Más intensa

Muchas gracias por su participación.

Figura 3.3. Ejemplo de instrucciones para los tests de comparación según la técnica de elección forzada 2-AFC.

JUEZ _____ Fecha: _____

En la mesa se presentan **9 test, formado cada uno por dos copas**. Cada copa de vino, está codificada con un número de tres cifras.

- Le pedimos que en primer lugar **HUELA LAS REFERENCIAS** para los descriptores madera/coco/vainilla y licoroso/alcohólico
- Le pedimos que **HUELA** cada **PAR DE MUESTRAS DE VINO** (exclusivamente por vía orthonasal y de izquierda a derecha).
- Para cada test, anote el número del vino que posea **MAYOR INTENSIDAD EN LAS NOTAS MADERA/COCO/VAINILLA Y LICOROSO/ALCOHÓLICO**
- Pase al siguiente test.

Código test	Más intensa en MADERA/COCO/VAINILLA	Más intensa en LICOROSO/ALCOHÓLICO
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		

Niveles de alcoholes superiores capaces de inducir cambios aromáticos y modular la preferencia de un panel de expertos en vinos modelo

Figura 3.4. Instrucciones para la evaluación de la preferencia

JUEZ _____	Fecha:																				
En la mesa se presentan 9 test, formado cada uno por dos copas . Cada copa de vino, está codificada con un número de tres cifras.																					
<ul style="list-style-type: none">• Le pedimos que HUELA cada PAR DE MUESTRAS DE VINO (exclusivamente por vía orthonasal) de izquierda a derecha.• Para cada test, anote el código del vino que posee el aroma que más le gusta• Pase al siguiente test.																					
<table border="1"><thead><tr><th>Código test</th><th>Muestra que más le gusta</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td></td></tr><tr><td>2</td><td></td></tr><tr><td>3</td><td></td></tr><tr><td>4</td><td></td></tr><tr><td>5</td><td></td></tr><tr><td>6</td><td></td></tr><tr><td>7</td><td></td></tr><tr><td>8</td><td></td></tr><tr><td>9</td><td></td></tr></tbody></table>	Código test	Muestra que más le gusta	1		2		3		4		5		6		7		8		9		
Código test	Muestra que más le gusta																				
1																					
2																					
3																					
4																					
5																					
6																					
7																					
8																					
9																					

ANEXO 4

Figura 4.1. Instrucciones para la elección de la escala de 1-butanol cuando se compara cada una de las 13 diluciones de 1-butanol con el vector de referencia de intensidad V1.

En la mesa se presentan 13 series con 2 copas/serie. Le pedimos que huela cada serie de izquierda a derecha y evalúe si la muestra codificada **es similar o diferente en función de la intensidad a la referencia.**

Serie 1: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 2: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 3: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 4: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 5: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 6: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 7: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Serie 8: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

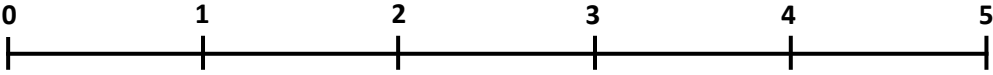
Serie 9: _____

Totalmente diferente Totalmente similar

|-----|

Figura 4.2. Instrucciones empleadas en la fase de entrenamiento de los 20 panelistas en los 5 niveles de intensidad de la escala de 1-butanol.

A continuación se le presentan 6 copas **etiquetadas con nivel 0, nivel 1, nivel 2, nivel 3, nivel 4 y nivel 5**. Cada copa corresponde a un punto de anclaje de la siguiente **escala de intensidad**:



De manera que la copa numerada con el nivel 0 corresponderá con el número 0 de la escala, y así sucesivamente.

Le pedimos que huela cada copa, exclusivamente por vía ortonasal, y que memorice la intensidad que corresponde con cada punto de la escala.

- Le recomendamos que comience de **izquierda a derecha**
- Deje un espacio de tiempo de **al menos 20 segundos** entre cada olfacción
- Una vez haya realizado la tarea, puede volver a olerlas tantas veces como necesite para **memorizar las referencias así como las diferencias entre ellas**

Muchas gracias por su participación.

Figura 4.3. Instrucciones empleadas en la fase de entrenamiento de los 20 panelistas en los 5 niveles de intensidad de la escala de 1-butanol., en la que debían ser capaces de ordenar por intensidad las 6 disoluciones de 1-butanol.

A continuación se le presentan 6 copas **etiquetadas un número de tres cifras**.
Le pedimos que huela cada copa, exclusivamente por **vía ortonasal**, y que **ordene las muestras por orden de intensidad**.

- Le recomendamos que comience de **izquierda a derecha**
- Deje un espacio de tiempo de **al menos 20 segundos** entre cada olfacción

Menos intensa Más intensa

Muchas gracias por su participación.

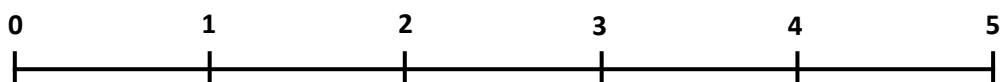
Figura 4.4. Instrucciones empleadas en la fase de entrenamiento de los 20 panelistas en los 5 niveles de intensidad de la escala de 1-butanol, en la que debían ser capaces de elegir correctamente el nivel de la escala a la que correspondía cada copa.

A continuación se le presentan **24 copas codificadas** con un número de tres cifras. Las muestras corresponden con los niveles de la escala evaluada en la sesión anterior.

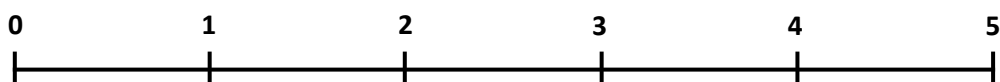
Le pedimos que huela cada copa y **marque en la escala el nivel de intensidad** que cree que corresponde a cada copa.

- **Anote el código** de la muestra que está evaluando.
- **Marque con un círculo el nivel de la escala que cree que posee la muestra.**
- Debe **esperar unos 20 segundos** entre cada olfacción y entre copa y copa.
- **Cuando terminéis** con la evaluación de una muestra **pasaréis al siguiente** y os pedimos que **no volváis** a evaluar la muestra anterior.

Código muestra: _____



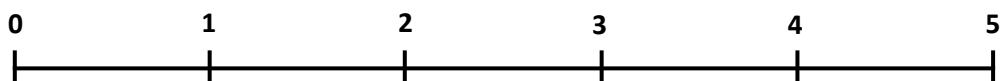
Código muestra: _____



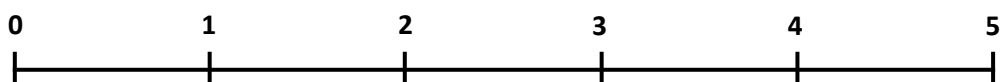
Código muestra: _____



Código muestra: _____



Código muestra: _____



Código muestra: _____

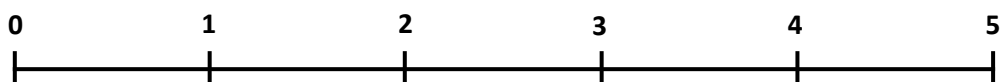


Figura 4.5. Instrucciones empleadas en el test triangular.

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?

ANEXO 5

Figura 5.1. Instrucciones empleadas en la prueba de clasificación libre llevada a cabo con los 20 panelistas en la evaluación de los 21 vinos modelo.

Partie A :

Sur la table vous allez trouver **21 verres de vin**. Chacun est codé avec un code à trois chiffres.

Nous vous demandons de **SENTIR chaque ÉCHANTILLON (vous ne pouvez pas les goûter)** et de **FORMER DES GROUPES DE VINS en fonction de LA SIMILARITÉ AROMATIQUE :**

- ⌚ Pour commencer, veuillez sentir les échantillons **de gauche à droite**.
- ⌚ Ensuite, vous pourrez les **re-sentir autant de fois que vous souhaitez**.
- ⌚ Vous pouvez utiliser tout le temps que vous voulez pour effectuer le test.
- ⌚ Vous pouvez mettre autant de vins que vous voulez dans une groupe. Un groupe peut être constitué d'un unique échantillon.
- ⌚ Informez-nous dès que vous avez fini les groupes.

Partie B :

Vous devez **recopier les groupes** que vous avez formés. Pour chaque groupe, vous devez **écrire deux ou trois descripteurs** qui décrivent les groupes formés.

GROUPE	CODES D'ÉCHANTILLON	DESCRIPTEURS (un maximum de 2-3 descripteurs)

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

Figura 5.2. Instrucciones empleadas para la evaluación de las referencias de aroma de los 10 atributos.

Sur la table vous pouvez trouver **12 références**. Chacune est codée avec un chiffre.

Partie A :
Vous devez sentir les 12 références proposées. Choisissez le descripteur qui, à votre avis, les décrit le mieux. Ecrivez-le dans la 1^{ère} colonne.

Partie B :
Après avoir mis en commun, écrivez le descripteur qui a été établi pour cette référence dans la 2^{ème} colonne. Sentez les références à nouveau et évaluez si, à votre avis, l'odeur représente bien le descripteur choisi en commun.

CODE	DESCRIPTEUR	DESCRIPTEUR EN COMMUN	CORRESPONDANCE AVEC VOTRE PROPE IDEE			
			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
1			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
2			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
3			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
4			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
5			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
6			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
7			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
8			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
9			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
10			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
11			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait
12			Pas de tout	Un peu	Assez	Tout à fait

Figura 5.3. Instrucciones empleadas en la fase de entrenamiento para la identificación de las referencias aisladas o sobre vino.

Partie A :

Sur la table vous pouvez trouver **12 références**. Chacun est codé avec un chiffre. Vous devez les sentir et choisir le descripteur qui à votre avis les décrit le mieux. Pour cela, reliez la 1^{ère} colonne avec la 2^{ème} avec une ligne.

CODE	Descripteurs
• 5	• Vanille
• 9	• Pomme
• 8	• Clou de girofle
• 1	• Caramel
• 7	• Alcool
• 11	• Noix de coco
• 4	• Cassis
• 6	• Boisé
• 2	• Fraise
• 10	• Fruit cuit/ raisins secs
• 3	• Fruité

Partie B :

Sur la table vous pouvez trouver **5 verres de vin** codés avec un code à trois chiffres. Vous devez les sentir et écrire, dans le carré correspondant, le **CODE** d'échantillon qui correspond à chaque **descripteur aromatique**.

<u>Descripteur</u>	<u>CODE</u>
Pomme	<input type="text"/>
Cassis	<input type="text"/>
Fraise	<input type="text"/>
Fruit cuit/ Raisins secs	<input type="text"/>
Fruité	<input type="text"/>

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

Figura 5.4. Instrucciones empleadas en la fase de entrenamiento para la identificación de los descriptores de la madera sobre vino y la ordenación sobre escala para los atributos propuestos.

Partie A :

Sur la table vous pouvez trouver **5 verres de vin** codés avec un code à trois chiffres. Vous devez les sentir et écrire, dans le carré correspondant, le **CODE** d'échantillon qui correspond à chaque **descripteur aromatique**.

<u>Descripteur</u>	<u>CODE</u>
Noix de coco	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
Vanille	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
Clou de girofle	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
Boisé	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
Caramel	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>

Partie B :

Sur le tableau, il y a 5 séries de 4 codés à lettre. Pour chaque série, vous devez **classer les échantillons par intensité croissante du descripteur de la série. Pour cela**, notez les codes dans les cases ci-dessous.

Après finir avec chaque série, lavez les verres à vin avec l'eau pour servir la prochaine série.

	Moins (-)		Plus (+)
Cassis	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>
Noix de coco	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>
Vanille	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>
Pomme	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>
Fraise	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>	<input style="width: 80px; height: 25px;" type="text"/>

Figura 5.5. Instrucciones empleadas en la fase de entrenamiento para la evaluación sobre escala para todos los atributos propuestos.

Sur la table vous allez trouver 3 verres de vin. Chacun est codé avec une lettre. Vous devez **noter le CODE** et **indiquer sur l'échelle** (avec un X) le **niveau d'intensité du descripteur** indiqué dans chaque échantillon.

DESCRIPTEUR: FRAISE

	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

DESCRIPTEUR: CASSIS

	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

DESCRIPTEUR: POMME

	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

DESCRIPTEUR: FRUIT CUIT/RAISINS SECS

	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
CODE : _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Interacciones entre el vector de ésteres etílicos y el vector madera. Efectos en la percepción

Figura 5.6. Instrucciones empleadas en la sesión de selección, familiarización y evaluación para todos los atributos propuestos.

Sur la table vous allez trouver 9 verres de vin. Chacun est codé avec un chiffre. Vous devez **noter le CODE** et **indiquer sur l'échelle** (avec un X) le **niveau d'intensité de TOUS LES DESCRIPTEURS** indiqués dans **chaque échantillon**.

CODE: _____


	0	1	2	3	4	5	6	7
FRUITÉ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
FRAISE	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CASSIS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
POMME	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
FRUIT CUIT	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
BOISÉ	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CLOU DE GIROFLE	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
VANILLE	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
CARAMEL	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	0	1	2	3	4	5	6	7
NOIX DE COCO	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tabla 5.1. Referencias de olor presentadas durante el entrenamiento del panel para el análisis descriptivo.

Estándar comercial		Cantidad o concentración	Cantidad o concentración		
Disolvente	-	10 mL agua	500 mL vino		
Nivel	-	-	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Descriptor					
FRUTAL	Mezcla de siropes de frutas	+ 4,2 µL fresa + 4,36 µL manzana + 3,02 µL casis + 8,4 µL macerado pasa	-	2,25 mL frutal	5,625 mL frutal
FRESA	Sirope de fresa (La Pateliere)	+ 60 µL	-	2 mL	5 mL
CASIS	Sirope de casis (Teisseire)	+ 60 µL	-	1,875 mL	3,75 mL
MANZANA	Sirope de manzana verde (Vedrenne)	+ 40 µL	-	3,75 mL	9,375 mL
FRUTA PASA	Macerado de uvas pasas (Carrefour)	10 mL macerado	-	29,87 mL macerado	59,75 mL macerado
MADERA	Chips	+ 1 mL Macerado de Chips de madera	-	dilucion ½ del nivel 3	2 g chips en 500 mL
COCO	Sirope de Coco (Vedrenne)	+ 40 µL	1,5 mL	3,75 mL	6 mL
VAINILLA	Aroma de vainilla (La Pateliere)	+ 120 µL	-	2,25 mL	5,625 mL n
CARAMELO	Furaneol	4,21 mg/L furaneol	-	2,5 mg/L furaneol	5 mg/L furaneol
CLAVO	Eugenol	1,5 mg/L Eugenol	-	1,5 mg/L Eugenol	3 mg/L Eugenol

ANEXO 6

Figura 6.1. Lista de 113 atributos empleada para la descripción sensorial mediante la metodología *check-all-that-apply* (CATA) para la tarea de confirmación de los descriptores que generaban los vectores de aroma empleados en el estudio.



Lista de descriptores aromáticos

<input type="checkbox"/> FRUTAL	<input type="checkbox"/> FLORAL	<input type="checkbox"/> ESPECIAS	<input type="checkbox"/> TORREFACTO / MADERA	<input type="checkbox"/> LACTEO
<input type="checkbox"/> FRUTAS BLANCAS Manzana Membrillo Pera	<input type="checkbox"/> FRUTAS PASAS/COMPOTADAS Ciruela pasa Dátil Higo seco Orejón/melocotón seco Uva pasa Melocotón en almibar Guindas en alcohol/Kirsch Fruta escañada/mermelada	<input type="checkbox"/> ANIS/Regaliz Canela Clavo Curry Enebro Laurel Menta/eucalipto Nuez moscada Pimienta Tomillo Vainilla	<input type="checkbox"/> TORREFACTO Caramelo/Tofe Café torrefacto Pan tostado	<input type="checkbox"/> Levadura Leche Mantequilla Yogur/cuajada
<input type="checkbox"/> FRUTAS AMARILLAS albaricoque / melocotón / Nectarina Melón	<input type="checkbox"/> FRUTAS TROPICALES Coco Lichi Mango Maracuyá/fruta de la pasión Piña Plátano	<input type="checkbox"/> ANIMAL Cuero Fumé/ "Avecream" Pelo mojado Transpiración/Sudor	<input type="checkbox"/> MADERA Madera nueva Madera tostada Humo de madera	<input type="checkbox"/> OTROS Alcohol Pegamento Vinagre
<input type="checkbox"/> CITRICOS Limón Naranja Pomelo	<input type="checkbox"/> VEGETAL VERDURAS COCIDAS Agua de espárragos Agua de olivas Alcachofa Alubia verde Patata cocida	<input type="checkbox"/> SOTOBOSQUE Champiñón Humus/Tierra Moho Humedad/Trapo mojado Agua estancada/cantarilla Trufa	<input type="checkbox"/> REDUCCIÓN Huevo podrido Coliflor Azufre Silex/Pedernal Cerilla quemada	<input type="checkbox"/> Alquitrán / Asfalto Caucho Cartón / Polvo Chocolate
<input type="checkbox"/> FRUTAS ROJOS Cereza Fresa Frambuesa Grosella	<input type="checkbox"/> VEGETALES FRESCOS Pimiento verde	<input type="checkbox"/> HERBAL Hierba/Césped Hoja de tomatera Bujoboj Pino/resina	<input type="checkbox"/> REDUCCIÓN Huevo podrido Coliflor Azufre Silex/Pedernal Cerilla quemada	<input type="checkbox"/> REDUCCIÓN Huevo podrido Coliflor Azufre Silex/Pedernal Cerilla quemada

término 1^{er} nivel-genérico
 término 2^o nivel
 término 3^{er} nivel

LAAE 2017 ©

**Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astringencia en vinos tintos.
Efecto del nivel de experiencia del consumidor**

Figura 6.2. Instrucciones empleadas en la fase de evaluación de los atributos en boca en una escala estructurada de 10 cm evaluada por el panel entrenado independiente para confirmar que los atributos en boca generaban los atributos correspondientes.

2ª Sesión	<u>CÓDIGO JUEZ:</u>
 Marca la intensidad de las muestras en las escalas para los 3 atributos:	
<u>Muestra:</u>	
AMARGOR	
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
Ausencia Medio Muy intenso	
ACIDEZ	
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
Ausencia Medio Muy intenso	
ASTRINGENCIA	
0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10	
Ausencia Medio Muy intenso	

Figura 6.3. Instrucciones empleadas en las 6 sesiones de entrenamiento (de 60 min cada una) del panel sensorial, entrenado específicamente para la evaluación de las muestras de este estudio.

2ª Sesión	<u>CÓDIGO JUEZ:</u>		
A: Anota el número de la muestra que corresponde a cada gusto			
ACIDEZ	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>		
AMARGOR	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>		
B: Anota el número de muestra que corresponde a cada atributo aromático			
ANIMAL (Cuero, establo)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	VEGETAL (pimiento verde, terroso)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
ESPECIADO (pimienta, nuez moscada, clavo)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	TOSTADO (café, pan tostado, tofe, caramelo)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
HERBAL (Hoja tomate, Hierba cortada, aceite)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	FRUTA PASA (uva pasa, ciruela pasa, orejón)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
C: Anota el número de muestra que corresponde a cada gusto			
ACIDEZ	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>		
AMARGOR	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>		
D: Anota el número de muestra que corresponde a cada atributo aromático			
ANIMAL (Cuero, establo)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	VEGETAL (pimiento verde, terroso)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
ESPECIADO (pimienta, nuez moscada, clavo)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	TOSTADO (café, pan tostado, tofe, caramelo)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
HERBAL (Hoja tomate, Hierba cortada, aceite)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>	FRUTA PASA (uva pasa, ciruela pasa, orejón)	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>
E: Anota el número de muestra que corresponde a cada gusto			
ACIDEZ	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>		
AMARGOR	<input style="width: 100px; height: 20px;" type="text"/>		

3ª Sesión

CÓDIGO JUEZ:

A: En primer lugar **ordena por intensidad** de aroma las 6 series de AROMA
A continuación **anota el descriptor** en base al que has ordenado las muestras:

- **Animal** (Cuero, establo)
- **Vegetal** (pimiento verde, terroso)
- **Herbal** (Hoja tomate, Hierba cortada, aceite)
- **Fruta pasa** (uva pasa, ciruela pasa, orejón)
- **Tostado** (café, pan tostado, tofe, caramelo)
- **Especiado** (pimienta, nuez moscada, clavo)

	MUY ALTA	ALTA	MEDIA	BAJA	DESCRIPTOR
SERIE 1					
SERIE 2					
SERIE 3					
SERIE 4					
SERIE 5					
SERIE 6					

B: En primer lugar **ordena por intensidad** de aroma las 2 series de GUSTO
A continuación **anota el descriptor** en base al que has ordenado las muestras:

- **Acidez**
- **Amargor**

	MUY ALTA	ALTA	MEDIA	BAJA	DESCRIPTOR
SERIE 1					
SERIE 2					

4ª Sesión

CÓDIGO JUEZ:

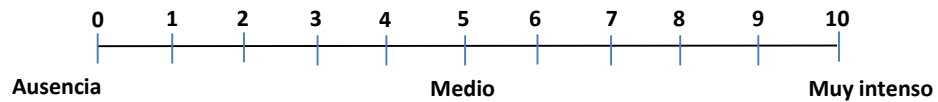
A: En primer lugar **identifica** en cada una de las 6 series de vinos el **atributo** que comparten, a continuación, **marca en la escala el nivel de intensidad de dicho atributo en cada muestra**

A continuación **anota el descriptor** en base al que has ordenado las muestras:

- **Animal** (Cuero, establo)
- **Vegetal** (pimiento verde, terroso)
- **Herbal** (Hoja tomate, Hierba cortada, aceite)
- **Fruta pasa** (uva pasa, ciruela pasa, orejón)
- **Tostado** (café, pan tostado, tofe, caramelo)
- **Especiado** (pimienta, nuez moscada, clavo)

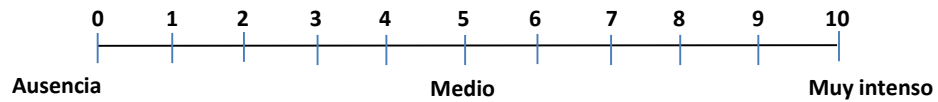
SERIE 1

ATRIBUTO: _____



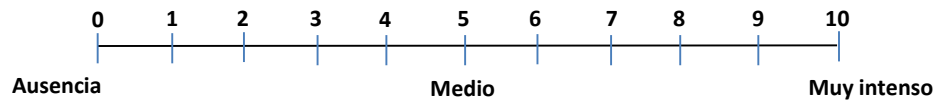
SERIE 2

ATRIBUTO: _____



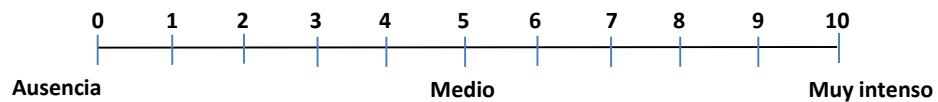
SERIE 3

ATRIBUTO: _____



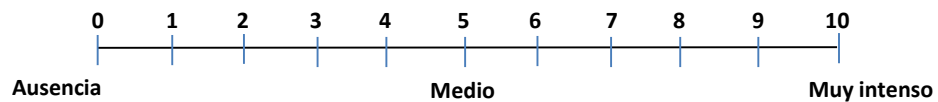
SERIE 4

ATRIBUTO: _____



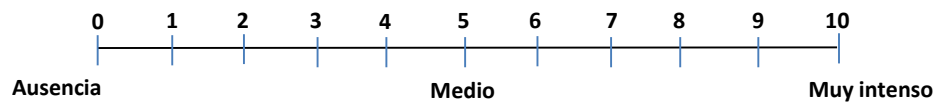
SERIE 5

ATRIBUTO: _____



SERIE 6

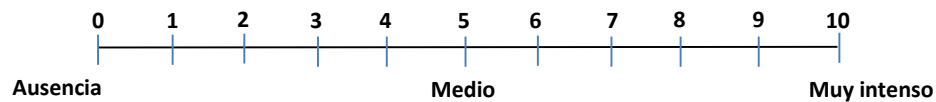
ATRIBUTO: _____



B: Haz lo mismo para las dos series de GUSTO: **Acidez y amargor**

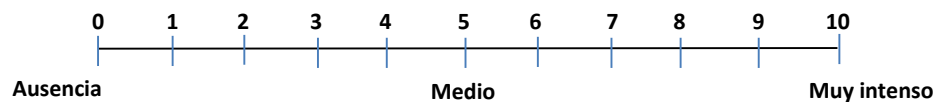
SERIE 1

ATRIBUTO: _____



SERIE 2

ATRIBUTO: _____



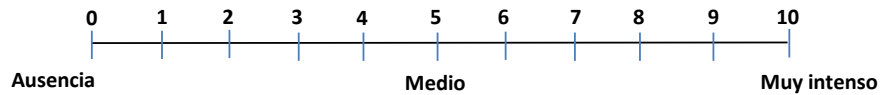
5ª Sesión

CÓDIGO JUEZ:

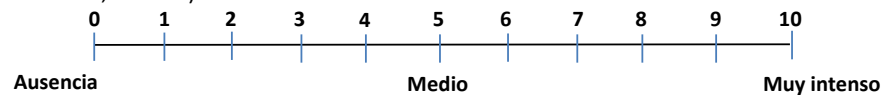
Marca la intensidad de cada una de las muestras en las escalas para los 8 atributos:

Muestra:

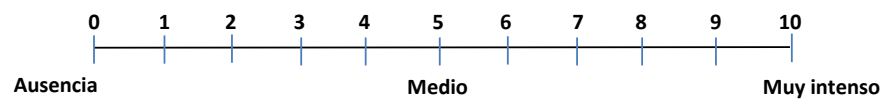
ANIMAL (Cuero, establo)



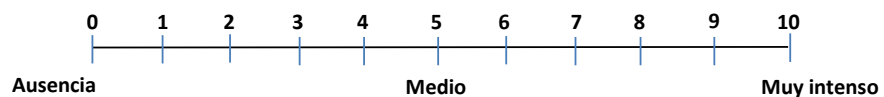
VEGETAL (pimiento verde, terroso)



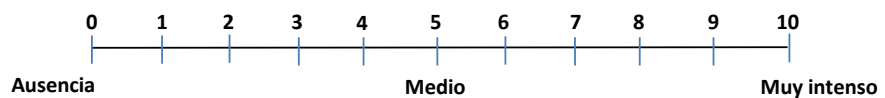
HERBAL (Hoja tomate, Hierba cortada, aceite)



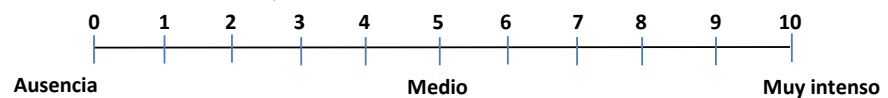
FRUTA PASA (uva pasa, ciruela pasa, orejón)



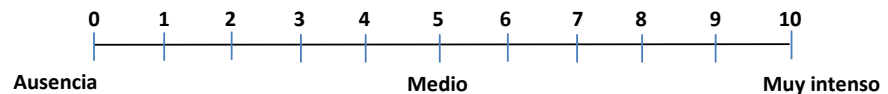
TOSTADO (café, pan tostado, tofe, caramelo)



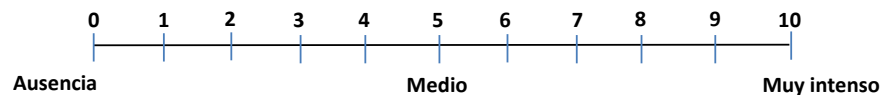
ESPECIADO (pimienta, nuez moscada, clavo)



AMARGOR



ACIDEZ



Las fichas de las sesiones 5 y 6 son similares por corresponder a muestras diferentes pero con la misma hoja de evaluación.

Figura 6.4. Instrucciones para las sesiones de evaluación sensorial de las muestras empleadas en el estudio.

¡Bienvenido a esta sesión de análisis sensorial!

Delante de vosotros tenéis unas copas de vino codificadas cada una por un número de tres cifras.

Os pedimos que **empecéis probando** los vinos **por la izquierda**.

Para cada uno de ellos, vais a **evaluar la intensidad** de cada uno de los atributos mediante el **uso de la escala**.

Cuando terminéis con el primer vino **pasaréis al siguiente** y os pedimos que **no volváis** a probar la muestra anterior.

Cuando hayas acabado, avísanos y te **diremos cómo seguir**.

No existe una respuesta correcta ni ninguna incorrecta.

¡Simplemente sigue tu intuición!

MUCHAS GRACIAS POR TU PARTICIPACIÓN

Figura 6.5. Instrucciones empleadas en la fase de evaluación para la caracterización de las 18 muestras del experimento 1 que tienen como objetivo evaluar el efecto del aroma y la acidez sobre la percepción del amargor.

CÓDIGO JUEZ:

Muestra:

ANIMAL (Cuero, establo)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

VEGETAL (pimiento verde, terroso)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

HERBAL (Hoja tomate, Hierba cortada, aceite)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

FRUTA PASA (uva pasa, ciruela pasa, orejón)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

TOSTADO (café, pan tostado, tofe, caramelo)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

ESPECIADO (pimienta, nuez moscada, clavo)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

AMARGOR

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

ACIDEZ

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
 Ausencia Medio Muy intenso

Interacciones sensoriales del tipo aroma-amargor y aroma-astringencia en vinos tintos. Efecto del nivel de experiencia del consumidor

Figura 6.6. Instrucciones empleadas en las sesiones de evaluación para la caracterización de las 20 muestras del experimento 2 que tienen como objetivo la evaluación de las interacciones con el vector astringente.

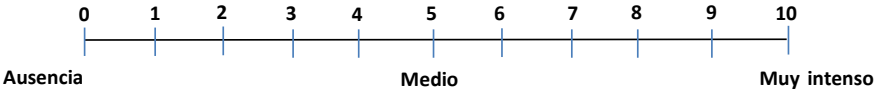
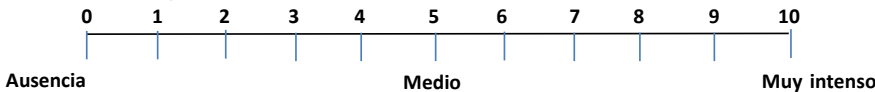


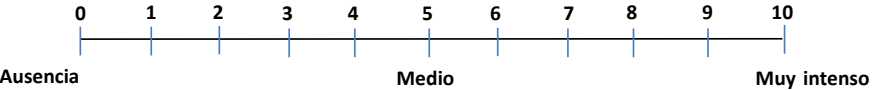
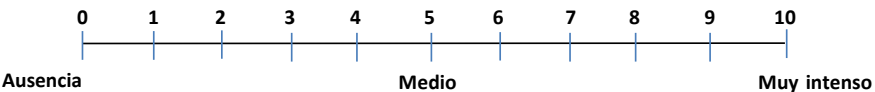


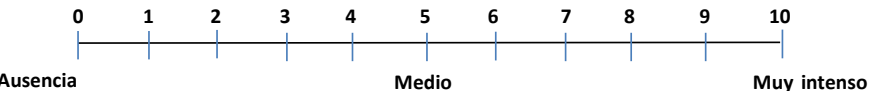
Muestra:	CÓDIGO JUEZ:
ANIMAL (Cuero, establo)	
	
VEGETAL (pimiento verde, terroso)	
	
HERBAL (Hoja tomate, hierba cortada, aceite)	
	
FRUTA PASA (uva pasa, ciruela pasa, orejón)	
	
TOSTADO (café, pan tostado, tofe, caramelo)	
	
ESPECIADO (pimienta, nuez moscada, clavo)	
	
AMARGOR	
	
ACIDEZ	
	
ASTRINGENCIA	
	

Figura 6.7. Fichas de cata de la sesiones de evaluación de la sensibilidad al amargor.

<u>CÓDIGO JUEZ:</u>	Fecha _____
Delante de usted tiene 9 series de vasos , cada uno formado por tres vasos .	
Para cada serie, le pedimos que anote el código de la muestra que es diferente .	
Si no encuentra diferencias, elija una al azar.	
SERIE 1	_____
SERIE 2	_____
SERIE 3	_____
SERIE 4	_____
SERIE 5	_____
SERIE 6	_____
SERIE 7	_____
SERIE 8	_____
SERIE 9	_____

