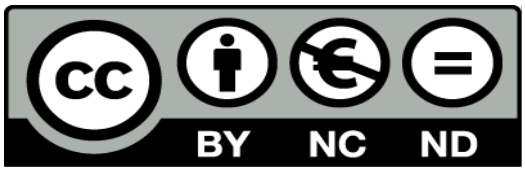
UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

TESIS DOCTORAL

Título
Características sensoriales y composición no volátil de vinos tintos: avances en la exploración de la calidad
Autor/es
Marivel González Hernández
Director/es
Marta María Inés Dizy Soto y Purificación Fernández Zurbano
Facultad
Facultad de Ciencias, Estudios Agroalimentarios e Informática
Titulación
Departamento
Agricultura y Alimentación
Curso Académico



Características sensoriales y composición no volátil de vinos tintos: avances en la exploración de la calidad, tesis doctoral
de Marivel González Hernández, dirigida por Marta María Inés Dizy Soto y Purificación Fernández Zurbano (publicada por la Universidad de La Rioja), se difunde bajo una Licencia
Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 3.0 Unported.
Permisos que vayan más allá de lo cubierto por esta licencia pueden solicitarse a los titulares del copyright.

© El autor
© Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones, 2016
publicaciones.unirioja.es
E-mail: publicaciones@unirioja.es

UNIVERSIDAD DE LA RIOJA

DEPARTAMENTO DE

AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN

CARACTERÍSTICAS SENSORIALES Y COMPOSICIÓN NO VOLÁTIL DE VINOS TINTOS: AVANCES EN LA EXPLORACIÓN DE LA CALIDAD

Presentada por:

MARIVEL GONZALEZ HERNANDEZ

Ingeniero Agroindustrial

para optar al grado de Doctor con Mención de Doctor Internacional

Dirigida por:

Dra. Marta DIZY SOTO

Dra. Purificación FERNÁNDEZ ZURBANO

Diciembre, 2015

INFORME DIRECTORES

PRESENTACIÓN TESIS DOCTORAL

Dña. Purificación FERNÁNDEZ ZURBANO, Profesora Titular del Departamento de Química, Área Química Analítica de la Universidad de La Rioja e investigadora del Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino y Dña. Marta DIZY SOTO, Profesora Titular del Departamento de Agricultura y Alimentación de la Universidad de La Rioja e investigadora del Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino.

CERTIFICAN

Que la presente memoria, titulada "**Características sensoriales y composición no volátil de vinos tintos: avances en la exploración de la calidad**" **presentada por Dña. Marivel GONZALEZ HERNANDEZ** para optar al grado de Doctor con mención de "Doctor Internacional" por la Universidad de La Rioja, ha sido realizada bajo nuestra dirección autorizando su presentación para proseguir los trámites oportunos y proceder a su calificación por el tribunal correspondiente.

Logroño, 10 de diciembre 2015

Fdo. Marta DIZY SOTO

Fdo. Purificación FERNÁNDEZ ZURBANO

Esta tesis doctoral ha sido realizada en los Departamento de Agricultura y Alimentación y Química Analítica de la Universidad de La Rioja y en el Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino, Instituto Mixto de Ttularidad compartida entre la Universidad de La Rioja (UR), el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y el Gobierno de La Rioja bajo la dirección de **Purificación FERNÁNDEZ ZURBANO** y **Marta DIZY SOTO**.

La realización de esta investigación ha contado con las siguientes ayudas institucionales:

- ✓ Consejería de Educación Cultura y Deportes del Gobierno de La Rioja mediante el proyecto "Parámetros que son responsables de la calidad gustativa de los vinos españoles. Desarrollo de estrategias para determinación de los factores gustativos negativos" FOMENTA 2008/07.
- ✓ Ministerio Ciencia e Innovación y fondos FEDER mediante el proyecto "Definición molecular de la potenciabilidad del envejecimiento del vino mediante el control de precursores aromáticos, moléculas astringentes, estados redox y proceso de evolución" AGL2010-22355-C02-02.
- ✓ Ministerio de Educación y Competitividad, mediante el proyecto "Nuevas herramientas y conceptos cuantitativos para la construcción de vinos tecnológicamente mejores, más estables y con menos sulfitos" AGL2014-59840-C2-1R.
- ✓ Agencia de Desarrollo Económico de la Rioja, "Validación y contrastación de la tecnología de aplicación del ozono de EKINSA sobre las barricas a recuperar, frente al método actual" ADER2010-J-JD- 00281.
- ✓ Instituto de Estudios Riojanos, Consejería de Educación Cultura y Turismo del Gobierno de La Rioja mediante la ayuda concedida en año 2011 el proyecto "Polifenoles: Factores que influencian las propiedades sensoriales y sus efectos en los vinos tintos riojanos durante el envejecimiento".
- ✓ Instituto de Estudios Riojanos, Consejería de Educación Cultura y Turismo del Gobierno de La Rioja mediante la ayuda concedida en año 2012 para el proyecto "Relación entre el análisis sensorial descriptivo y las preferencias del consumidor: Una herramienta útil para el marketing de vinos rioja".

Con todo mi amor,

A mi madre

A mis herman@s

AGRADECIMIENTOS

Dios. ***Gracias por las bendiciones y las oportunidades que me brindas cada mañana.***

Ha llegado el momento de agradecer a todos aquellos que han puesto su granito de arena para que esta memoria se llevara cabo.

A mis directoras de tesis ***Puri*** y ***Marta***, gracias por brindarme la oportunidad de iniciarme en la investigación, sus consejos, el tiempo de dedicación y la colaboración para poder llegar a cabo este trabajo de investigación.

A ***Pilar Sáenz Navajas***, por guiarme en el complicado mundo de la estadística y por las orientaciones en el desarrollo experimental de esta tesis.

A ***Dominique***, por transmitirme tu conocimiento y por todas las reuniones dedicadas a la búsqueda de soluciones.

A ***Agustin***, por su colaboración y paciencia en el desarrollo de los modelos estadisticos Logit.

A ***Ana Gonzalo***, ***José Miguel Avizcurí*** y ***Txino Vaquero***, ha sido genial trabajar con ustedes en el laboratorio, gracias por ayudarme con las correcciones y sugerencias de mejora para escribir los capítulos de la tesis.

A ***Fede***, por su colaboración con las medidas de color y las recomendaciones cuando estaba buscando mi estancia de investigación.

A ***Rodrigo, Maite, Judith, Jesús*** y ***Miguel*** por todos los momentos buenos en la cafetería, cenas y comidas navideñas.

A ***Irene, David*** y ***familia***, por animarme a continuar cuando quería tirar la toalla.

A ***Nines*** y ***Ernesto***, por el tiempo y paciencia cuando llegaba con las muestras de vino para analizar en el UPLC. Gracias por brindarme sus conocimientos de espectrometría.

A ***Virgilio Falco*** y ***Rui Costa***, por su acogida en la UTAD durante mi estancia de investigación en Portugal.

A ***Nora, Fernando*** y ***Javi***, por la colaboración en la realización del experimental del análisis sensoriales y compuestos químicos.

A todas las personas con las que he compartido el laboratorio, especialmente a ***Pilar Martinez, Cristina Moreta, Diego Cilla, Laura, Crespo, Tao*** y ***Celia***.

A los ***Panelistas*** que han participado en los experimentales, han sido la base principal para llevar a cabo esta investigación.

A todo el personal de ***Conserjería*** y ***Limpieza***, por esas sonrisas al inicio y final de cada jornada, así como la paciencia en el momento de pedir las llaves cuando las mías me las olvidaba en casa.

A ***Salvatorianos***, por darme alojamiento en la residencia cuando tenía que realizar los experimentales.

A ***Afroestudiantes***, por su apoyo incondicional. Gracias a ustedes puede dar este gran paso.

A ***Ana*** y ***Pedro***, mi Ana como suelo decirte, gracias por tus consejos. Por esas largas horas de risas, nervios extremos cuando se acumulaban los pedidos y las cervezas al finalizar la jornada de trabajo.

A ***Ceci*** y ***Jose***, gracias por la ayuda que me has brindado desdes que los conocí. Son excepcionales.

A ***Naira***, por compartir con nosotras risas y tristezas. Por esas largas noches de fiestas que alguna vez me has regalado queriéndome marchar a casa a primeras hora de la noche cuando tú no parabas de bailar. Por que las tres juntas estamos muy locas jajaja....

A ***Fernando Rodrigo***, muito obrigrado por sua amizade. Eres una persona increíble.

Finalmente y no por ello son los menos importantes, gracias y mil gracias a mi ***familia***. Gracias a ustedes he llegado hasta aquí.

A mi ***Rucki***, para las dos ha sido difícil la distancia y el estar tantos años lejos de casa, pero como siempre te digo estamos unidas en alma y corazón. Gracias por impulsarme a vivir nuevas experiencias y por escucharme cada día. Me siento muy orgullosa de tenerte a mi lado. Haz hecho un enorme esfuerzo por introducirte en el mundo de la tecnología para estar cerca de nosotr@s. Gracias por estar ahí al pie del cañón cuando te necesito. Te amo.

A mis hermanos ***Arnold, Mario, Elber*** y ***Orlando***, gracias por el apoyo y la energía positiva que envían constantemente.

A ***Sandra*** y ***Enrique***, gracias por acogerme en su casa, por aguantar mis angustias y soportar todas mis rarezas. Durante estos años hemos vivido de todo un poco. Con vosotros he vivido la experiencia de ser madre sin haber tenido hijos jajaja.

Gracias a mis dos Amores ***Alberto*** y ***Enriquecito*** por hacer cada día genial, por los besos de cada mañana y por el buen comportamiento cuando he estado agobiada con la tesis.

A mi ***Guille***, por caminar a mi lado y como dices tú por ser mi media naranja.

A mis ***cuñadas***, por los buenos deseos que tenéis conmigo y los míos.

A mis sobris de Colombia ***Jhonatan, Paula, Richard, Maria*** y ***Michelle*** como suelo llamarles siempre. Ustedes junto con mis dos peques españoles son la continuación del legado de la Familia Gonzalez Hernandez.

Gracias y mil gracias a todos.

Abreviaturas

<	Menor que
>	Mayor que
%	Porcentaje
%EV	Porcentaje de variación explicada
=	Igual a
°C	Grados centígrados
ANOVA	Análisis de varianza
BSA	Albumina de suero bovino
χ^2	Chi cuadrado
CA	Análisis de correspondencias
C_x	Termino combinado
DO	Denominación de Origen
DOCa	Denominación de Origen Calificada
DoT	*Dose Over Taste*
EGC	Epigalocatequina
Et al	(Abreviatura latina) y otros o/y los demás
FC	Frecuencia de citación
FC_{max}	Frecuencia de citación máxima
FC_{prom}	Frecuencia de citación promedio
GPC	Gel de permeación cromatográfica
HCA	Análisis clúster jerárquico
IC	Intensidad colorante
IPT	Índice de polifenoles totales
ISO	Organización Internacional de Normalización
J	Juez
kV	Kilovoltio
L_{10^*}	Luminosidad
LOD	Limite de detección
LOQ	Limite de cuantificación
LPP	Pigmentos poliméricos de alto peso molecular
M	Molar
mDp	Grado medio de polimerización
ME	Efecto matriz
min	Minutos
MLR	Regresión lineal múltiple
mM	Milimolar

Abreviaturas

MP	Pigmentos monoméricos
NaCL	Cloruro de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NH_2	Grupo funcional amino
Nº	Número
NS	No significativo
P	Probabilidad
PAs	Proantocianidinas
PC	Componentes
PCA	Análisis de componentes principales
PD	Poder de discriminación
PLSR	Regresión por mínimos cuadrados parciales
PPAs	Proantocianidinas precipitables con proteínas
PROP	6-n-propiltiouracilo
PRPs	Proteínas ricas en prolina
PTC	Feniltiocarnamida
R	Replica
R_i	Índice de reproducibilidad
RMSEP	Error medio cuadrático de la predicción
rpm	Revoluciones por minuto
RSD	Desviación estándar relativa
SO_2	Dióxido de azufre
SPP	Pigmentos monoméricos de bajo peso molecular
T	Tonalidad
TDA	Prueba de comparación por pares
t_R	Tiempo de retención
TRC	Célula receptora del gusto
%v/v	Porcentaje volumen/volumen
UPLC	Cromatografía líquida de ultra resolución
UHPLC	Cromatografía líquida de ultra alta resolución
W	Vino
λ	Longitud de onda
Σ	Sumatoria

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN 9

1. ANÁLISIS SENSORIAL 13

1.1 Pruebas sensoriales 13

1.2 Tipos de paneles sensoriales 15

2. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES 17

2.1 Percepción del aroma 17

2.2 Percepción del gusto y las sensaciones táctiles 18

2.2.1 El gusto 19

2.2.2.1 Estímulos ácidos 21

2.2.2.1 Estímulos dulces y amargos 21

2.2.2 La astringencia 22

3. COMPUESTOS NO VOLÁTILES IMPLICADOS EN LA PERCEPCIÓN DEL SABOR Y LA ASTRINGENCIA 23

3.1 Dulzor 23

3.2 Acidez 25

3.3 Amargor 27

3.4 Astringencia 30

4. COMPUESTOS FENÓLICOS 36

4.1 Flavonoides 36

4.1.1 Los flavanoles 38

4.1.2 Los flavonoles 39

4.1.3 Pigmentos antociánicos 39

4.2 No flavonoides 40

4.2.1 Los ácidos fenólicos 40

4.2.2 Los estilbenos 41

5. INTERACCIONES SENSORIALES 41

6. CALIDAD 43

REFERENCIAS 46

CAPÍTULO 1. Cromatografía líquida de ultra resolución acoplada a un detector ultravioleta visible y espectrómetro de masas para el análisis de ácidos orgánicos y polifenoles en vinos tintos 61

1.1 INTRODUCCIÓN 63

1.2 MATERIAL Y MÉTODOS 66

1.2.1 Reactivos 66

1.2.2 Preparación de disoluciones patrón 66

1.2.3 Muestras 67

1.2.4 Preparación de las muestras 67

1.2.5 Análisis UPLC 68

1.2.5.1 Equipo 68

1.2.5.2 Condiciones de operación 68

1.2.5.2.1 Ácidos orgánicos 68

1.2.5.2.2 Polifenoles no pigmentados 68

1.2.5.2.3 Antocianos 69

1.2.6 Determinación del efecto matriz 70

1.2.7 Validación del método 70

1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 72

1.3.1 Optimización de los métodos mediante UPLC 72

1.3.1.1 Ácidos orgánicos 72

1.3.1.2 Polifenoles no pigmentados 73

1.3.1.2.1 Efecto matriz 81

1.3.1.3 Pigmentos antociánicos 83

1.3.2 Procedimiento de validación 86

1.3.3 Aplicación del método en muestras de vino 91

1.4 CONCLUSIONES 91

REFERENCIAS 95

CAPÍTULO 2. Características aromáticas de vinos tintos españoles pertenecientes a distintas categorías de precio y su relación con la calidad 101

2.1 INTRODUCCIÓN 103

2.2 MATERIAL Y MÉTODOS 105
2.2.1 Referencias aromáticas 105
2.2.2 Vinos 105
2.2.3 Análisis sensorial descriptivo por un panel entrenado 105
2.2.3.1 Panel 105
2.2.3.2 Entrenamiento 109
2.2.3.3 Evaluación de los vinos 109
2.2.4 Evaluación de calidad por un panel de expertos 110
2.2.5 Análisis estadístico 111
2.2.5.1 Análisis del comportamiento del panel entrenado 111
2.2.5.2 Análisis del comportamiento del panel de expertos 112
2.2.5.3 Cálculo de la frecuencia de citación (FC) de los descriptores aromáticos y creación de términos combinados 112
2.2.5.3.1 Cálculo de la FC de los descriptores aromáticos 112
2.2.5.3.2 Creación de términos combinados 113
2.2.5.4 Análisis multivariante 114
2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 116
2.3.1 Comportamiento del panel entrenado 116
2.3.2 Comportamiento del panel de expertos 116
2.3.3 Selección de términos significativos 118
2.3.4 Espacio sensorial definido por la descripción del aroma ortonasal 121
2.3.4.1 Vinos de la categoría gama alta 122
2.3.4.2 Vinos de la categoría gama media 125
2.3.4.3 Vinos de la categoría gama baja 127
2.3.4.4 Comparación entre categorías de precio 130
2.3.5 Correlación entre los descriptores de aroma ortonasal y la calidad 131
2.3.6 Predicción de la calidad a partir del aroma ortonasal 134
2.3.6.1 Vinos de gama alta 134
2.3.6.2 Vinos de gama media 135
2.3.6.3 Vinos de gama baja 135

2.4 CONCLUSIONES 136

REFERENCIAS 138

CAPÍTULO 3. Propiedades orosensoriales de vinos tintos españoles comerciales y su correlación con la calidad percibida 142

3.1 INTRODUCCIÓN 144

3.2 MATERIAL Y MÉTODOS 146

3.2.1 Reactivos 146

3.2.2 Vinos 146

3.2.3 Análisis sensorial descriptivo 146

3.2.3.1 Entrenamiento 146

3.2.3.2 Evaluación de los vinos 147

3.2.4 Evaluación de calidad por un panel de expertos 148

3.2.5 Análisis estadístico 148

3.2.5.1 Análisis del comportamiento del panel entrenado 148

3.2.5.2 Análisis del comportamiento del panel expertos 148

3.2.5.3 Análisis multivariante 148

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 150

3.3.1 Comportamiento del panel entrenado 150

3.3.2 Comportamiento del panel de expertos 153

3.3.3 Espacio sensorial de los atributos en boca y su relación con la calidad 153

3.3.3.1 Vinos de la categoría gama alta 153

3.3.3.2 Vinos de categoría gama media 157

3.3.3.3 Vinos de categoría de gama baja 160

3.3.4 Comparación entre categorías de precios 163

3.3.5 Correlación entre los atributos en boca y la calidad 168

3.3.6 Predicción de la calidad a partir de los atributos en boca 169

3.3.6.1 Vinos de la categoría gama alta 170

3.3.6.2 Vinos de la categoría gama media 171

3.3.6.3 Vinos de la categoría gama baja 171

3.4 CONCLUSIONES 172

REFERENCIAS 173

CAPÍTULO 4. Estudio de la composición no volátil en vinos tintos pertenecientes a tres categorías de precio y su relación con los atributos sensoriales evaluados en boca

4.1 INTRODUCCIÓN 179

4.2 MATERIAL Y MÉTODOS 182

4.2.1 Reactivos 182

4.2.2 Muestras de vinos 182

4.2.3 Evaluación sensorial 183

4.2.3.1 Análisis sensorial descriptivo por un panel entrenado 183

4.2.3.2 Evaluación de calidad por un panel de expertos 183

4.2.4 Análisis químicos 183

4.2.4.1 Análisis de los parámetros enológicos convencionales 183

4.2.4.2 Parámetros de color 183

4.2.4.2.1 Intensidad colorante 183

4.2.4.2.2 Tonalidad 183

4.2.4.2.3 Determinación de las coordenadas de color CIELAB 184

4.2.4.3 Análisis de la composición polifenólica de los vinos 184

4.2.4.3.1 Determinación de polifenoles totales 184

4.2.4.3.2 Determinación del contenido de pigmentos poliméricos 184

4.2.4.3.3 Determinación del índice de etanol (PAs unidas a polisacáridos) 185

4.2.4.3.4 Análisis de las proantocianidinas precipitables con proteína (PPAs) 185

4.2.4.4 Fraccionamiento de compuestos fenólicos del vino 186

4.2.4.4.1 Preparación de las muestras 186

4.2.4.4.2 Análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular 186

4.2.4.4.3 Determinación de las proantocianidinas totales 187

4.2.5 Análisis estadísticos 187

4.2.5.1 Análisis univariante. 187
4.2.5.2 Análisis multivariante. 188
4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 190
4.3.1 Diferencias entre la composición química de las tres categorías de precio 190
4.3.1.1 Análisis de componentes principales 194
4.3.1.2 Análisis clúster jerárquico 194
4.3.2 Correlación entre los compuestos químicos y los atributos sensoriales evaluados en boca 200
4.3.2.1 Dulzor 200
4.3.2.2 Acidez 201
4.3.2.3 Amargor 203
4.3.2.4 Astringencia 205
4.3.2.4.1 Vinos de gama alta 208
4.3.2.4.2 Vinos de gama media 213
4.3.2.4.3 Vinos de gama baja 216
4.3.2.4.4 Comparación entre categorías de precio 221
4.4 CONCLUSIONES 222
REFERENCIAS 223

CAPÍTULO 5. Atributos sensoriales y compuestos químicos con capacidad predictiva en el amargor de vinos tintos

5.1 INTRODUCCIÓN 235
5.2 MATERIAL Y MÉTODOS 237
5.2.1 Vinos 237
5.2.2 Análisis sensorial descriptivo por un panel entrenado 237
5.2.3 Análisis químicos 237
5.2.4 Análisis estadísticos 237
5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 239
5.3.1 Comportamiento del panel entrenado 239

5.3.2 Espacio sensorial y químico de los vinos 239
5.3.3 Relación entre las propiedades sensoriales y el amargor 240
5.3.4 Relación entre las características químicas y el amargor 240
5.3.5 Predicción del amargor a partir de la composición no volátil y atributos sensoriales mediante PLSR 242
5.3.5.1 Capacidad predictiva de los atributos sensoriales en el amargor 242
5.3.5.2 Capacidad predictiva de los compuestos no volátiles en el amargor 244
5.3.5.3 Capacidad predictiva de los atributos sensoriales y compuestos no volátiles en el amargor 245
5.4 CONCLUSIONES 247
REFERENCIAS 249

CAPÍTULO 6. Atributos sensoriales de vinos tintos crianza riojanos y su relación con la calidad percibida por expertos, consumidores y puntuaciones de guías de vino 251

6.1 INTRODUCCIÓN 253
6.2 MATERIALES Y MÉTODOS 261
6.2.1 Vinos 261
6.2.2 Guías de vino 261
6.2.3 Diseño experimental 263
6.2.4 Análisis sensorial descriptivo, de calidad y categorización 268
6.2.4.1 Análisis descriptivo por un panel entrenado 270
6.2.4.1.1 Panelistas entrenados 270
6.2.4.1.2 Entrenamiento 270
6.2.4.1.3 Procedimiento experimental 271
6.2.4.1.4 Validación del comportamiento del panel 271
6.2.4.2 Análisis de la calidad por un panel de expertos 273
6.2.4.2.1 Panelistas expertos 273
6.2.4.2.2 Procedimiento experimental 273

6.2.4.2.3Validación del comportamiento del panel de expertos 274
6.2.4.3 Prueba de categorización por un panel de consumidores 275
6.2.4.3.1 Panel de consumidores 275
6.2.4.3.2 Procedimiento experimental 275
6.2.4.3.3 Comportamiento del panel de consumidores 276
6.2.5 Análisis estadístico 277
6.2.5.1 Predicción de la calidad percibida mediante la regresión logística binomial 277
6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 281
6.3.1 Fases del análisis de la información recabada sobre los vinos analizados 281
6.3.2. Medición de la calidad percibida (variables predichas) 284
6.3.2.1. Puntuaciones de calidad por las guías de vino 284
6.3.2.2 Valoración de la calidad percibida por un panel de expertos 286
6.3.2.3 Evaluación de la calidad percibida por un panel de consumidores 287
6.3.3 Análisis sensorial por un panel entrenado (variables predictoras) 288
6.3.3.1 Análisis sensorial del aroma de los vinos 288
6.3.3.2 Análisis sensorial de los atributos en boca 291
6.3.3.3 Multicolinealidad 293
6.3.4 Predicción de la calidad de distintos grupos de colectivos vinculados con el mercado del vino mediante la aplicación de modelos logit 295
6.3.4.1 Predicción de las puntuaciones de las guías de vino 296
6.3.4.2 Predicción de la calidad percibida por el panel de expertos 300
6.3.4.3 Predicción de la calidad percibida por el panel de consumidores 305
6.3.4.4 Comparación de los modelos de predicción de la calidad percibida por los diferentes grupos 308
6.4 CONCLUSIONES 315
REFERENCIAS 317

CONCLUSIONES GENERALES 323

GENERAL CONCLUSIONS 329

ANEXOS 335

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

PRESENTACIÓN

La presente memoria de tesis doctoral se ha desarrollado dentro del grupo de investigación: "Ciencia Química y Sensorial Enológica" de la Universidad de La Rioja. Una importante línea de trabajo de este grupo se centra en la elucidación de la base química de la percepción sensorial en boca de los vinos, combinando el análisis químico y el análisis sensorial con el objetivo de determinar la implicación de estas variables (químicas y sensoriales) en la calidad del vino.

La investigación realizada en esta memoria se ha centrado especialmente en el estudio de la descripción sensorial (aromática y gustativa) y su relación con la calidad percibida, así como la influencia de la composición no volátil en las propiedades gustativas y la calidad del vino.

Antes de iniciar esta investigación, se había reconocido que los compuestos fenólicos contribuyen a la formación del perfil sensorial, especialmente en el color, gusto y sensaciones táctiles como la astringencia, los cuales son parámetros importantes en la percepción de calidad. Actualmente, se han logrado varios avances con respecto a este tema, sin embargo hay que tener en cuenta que los mecanismos fisiológicos y fisicoquímicos útiles en el análisis sensorial de vinos no están plenamente comprendidos y su estudio sigue en curso. Aunque existe cierta información sobre los compuestos responsables del amargor y astringencia en vinos. Hasta el momento, existe un gran desconocimiento sobre el comportamiento de los mismos, así como las posibles interacciones que pueden producirse entre ellos en una matriz tan compleja como es el vino.

El vino es una bebida compleja desde el punto de vista químico-sensorial que contribuye a diferentes sensaciones olfativas, gustativas y táctiles únicas que son producidas durante su consumo, y las cuales están relacionadas con calidad.

Por estas razones, el presente trabajo aborda el estudio de las características sensoriales y la composición no volátil de vinos tintos en seis diferentes capítulos como sigue a continuación:

- ✓ Introducción general. Este apartado recoge revisión bibliográfica acerca de la contribución sensorial de los compuestos no volátiles y el rol que juegan estos compuestos en el vino, incluyendo así una descripción de las diferentes moléculas responsables de cada sabor y astringencia.
- ✓ Capítulo 1. Compuestos no volátiles fueron identificados y cuantificados utilizando la metodología cromatografica UPLC conectado al UV-Vis y ESI-MS/MS.
- ✓ Capítulo 2 y 3. Correlación de la calidad de vinos tintos pertenecientes a tres categorías de precio con las propiedades sensoriales.
- ✓ Capítulo 4. Caracterización química de vinos tintos pertenecientes a tres categorías de precio y su correlación con los atributos en boca y la calidad.
- ✓ Capítulo 5. Capacidad predictiva del amargor en vinos tintos a partir de la composición no volátil y propiedades sensoriales.
- ✓ Capítulo 6. Correlación entre los atributos sensoriales y la calidad percibida por guías de vino, expertos y consumidores de vino.

PRESENTATION

The present doctoral thesis has been developed within the research group "Enological sensory and Chemical Science" at the University of La Rioja. An important line of work of this group is focused on the elucidation of the chemical basis of the sensory perception in-mouth in wines, combining the chemical analysis and the sensory analysis with the aim to determine the implication of these variables (chemical and sensory) in wine quality.

The investigation realized in this memory has been specially focused on the study of the sensory description (aromatic and gustatory) and his relation with the perceived quality, as well as the influence of the no-volatile composition in the gustatory properties and the quality of the wine.

Before starting this investigation, has been recognized that phenolic compounds contribute to the formation of the sensory profile, especially to the color, taste and tactile sensations such as astringency, which are important parameters in the quality perception. Currently, several advances have been developments with regards to this subject. However, be taken into account that the physiological and physicochemical mechanisms useful in the sensory analysis are not fully understood and its study is an ongoing process. Although, there is some information about the compounds responsible for the bitterness and astringency in wine, so far, there is a great unknown about the performance of them, as well as possible interactions that may occurs between them in a complex matrix as the wine.

The wine is a complex drink from point of view chemical and sensory, contribute to different olfactory, gustatory and tactile sensations that are produced during its consumption, and which are related to quality.

For these reasons, the present dissertation is approached in the study of the sensory characteristics and no-volatile composition of red wine into six different chapters as follows:

- ✓ General introduction. This paragraph includes literature review about of the sensory contribution of non-volatile compounds and the role played

by these compounds in wine, including a description of the responsible molecules of flavor and astringency.

- ✓ Chapter 1. Non-volatile compounds were identified and quantified using the UPLC chromatographic methodology connected to the UV-Vis and ESI-MS/MS.
- ✓ Chapter 2 and 3. Correlation of the quality of red wines belonging to three categories of price with the sensory properties (aromatic and in-mouth).
- ✓ Chapter 4. Chemical characterization of red wines belonging to three categories of price and its correlation with the attributes in-mouth and the quality.
- ✓ Chapter 5. Predictive capacity of the bitterness in red wines as from the non-volatile composition and sensory properties.
- ✓ Chapter 6. Correlation between the sensory attributes and the quality perceived by wine guides, experts and consumers.

OBJETIVOS

Por las razones expuestas en la presentación de esta memoria se aborda el presente trabajo, cuyos objetivos principales son:

- ✓ Desarrollar una metodología cromatográfica utilizando el UPLC conectado a ESI-MS/MS y UV-Vis que permita la identificación y cuantificación de ácidos orgánicos, ácidos fenólicos, antocianos, flavanoles, flavonoles y estilbenos en vinos.
- ✓ Estudiar el espacio sensorial olfativo y gustativo de vinos tintos españoles pertenecientes a distintas categorias de precio.
- ✓ Correlacionar las caracteristicas sensoriales de los vinos con la calidad percibida por expertos.
- ✓ Profundizar en el conocimiento de los compuestos no volátiles implicados en las propiedades orosensoriales y evaluar su capacidad predictiva.
- ✓ Estudiar la influencia de los atributos sensoriales en la percepción de calidad de los expertos y consumidores de vino, así como las puntuaciones recogidas en guías de vinos.

AIMS

For the reasons exposed in the presentation of this memory, the present work has been approached, which is aimed primarily at:

- ✓ To develop a chromatographic methodology using the UPLC connected to ESI-MS/MS and UV-Vis that allows the identification and quantification of organic acids, phenolic acids, anthocyanins, flavanoles, flavonoles and stilbenes in wines.
- ✓ To study the olfactory and gustatory sensory space of Spanish red wines belonging to different price categories.
- ✓ To correlate the sensory characteristics of the wines with the quality perceived by experts.
- ✓ To deepen knowledge of non-volatile compounds involved in orosensory properties and to evaluate its predictive capacity.
- ✓ To study the influence of the sensory attributes in the quality perception of the experts and consumers of wine, as well as the scores collected of wines guides'.

INTRODUCCIÓN

La calidad es una cualidad irrenunciable en la elaboración de cualquier producto y por supuesto también en el vino, de la que, no existe una definición única y clara. La calidad, es un concepto multivariante y complejo formado por dimensiones intrínsecas y extrínsecas (Charters y Pettigrew, 2007). La dimensión intrínseca esta relacionada al contenido en botella o depósito y a las características organolépticas mientras que la dimensión extrínseca hace referencia al conjunto de atributos para conseguir almacenar, transportar, distribuir y comercializar el producto, esto supone incorporar al envase el precio, la reputación de la bodega, la marca, la región, la añada, la etiqueta, el diseño de botella, la presencia o ausencia de premios, las valoraciones en guías de vino, la producción y el marketing (Rouzet y Seguin, 2005, Charters y Pettigrew, 2007, Viot, 2012).

El vino es una bebida compleja desde el punto de vista químico y sensorial (Thorngate, 1997, Jones *et al.*, 2008, Noguerol-Pato *et al.*, 2009, Etaio *et al.*, 2009), contribuye a diferentes sensaciones olfativas, gustativas y táctiles únicas percibidas durante su consumo (Thorngate, 1997), las cuales están vinculadas a la calidad. La tarea de decidir la compra de un vino en base a su calidad puede ser un reto para muchos consumidores, por ello la evaluación de la calidad de un vino generalmente ha sido realizado por enólogos y expertos, puesto que cuentan con entrenamiento y experiencia para detectar defectos y cualidades en el vino, además poseen un amplio conocimiento sobre los procesos vitícolas y de vinificación, los cuales impactan en el carácter y estilo de vino, razones suficientes que explican por qué muchos consumidores confían en la opinión de los expertos durante la elección de compra (Lesschaeve, 2007, Gawel y Godden, 2008).

Por todo esto, comprender los factores que afectan a las propiedades sensoriales responsables de defectos o virtudes, así como entender que están buscando los consumidores en los vinos es crucial para la industria del vino, ya que esto permitirá controlar las características del producto final desde el comienzo de su elaboración. Para ello, algunas investigaciones se han centrado en la importancia de los compuestos químicos en la percepción de aromas, sabores, texturas y sensaciones en boca tales como la astringencia. De hecho, el uso de análisis olfactométricos ha

permitido identificar moléculas responsables de las propiedades aromáticas del vino (Escudero *et al.*, 2007, Ferreira *et al.*, 2009, San-Juan *et al.*, 2011, San Juan *et al.*, 2012), esta técnica combinada con el desarrollo de estrategias para el aislamiento, identificación y cuantificación de estos compuestos, junto con el análisis sensorial ha hecho posible que se haya avanzado en la comprensión de los compuestos que contribuyen al aroma, así como en sus relaciones con la calidad percibida en el vino a partir de la composición química volátil. En relación, a la composición no volátil, el uso de la cromatografía líquida ha permitido avanzar en el conocimiento de los diferentes compuestos implicados en el color, sabor, sensaciones táctiles y la calidad del vino (Pati *et al.*, 2006, Gomez-Alonso *et al.*, 2007, Perez-Lamela *et al.*, 2007, Hufnagel y Hofmann, 2008a, Hufnagel y Hofmann, 2008b, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011a, Frank *et al.*, 2011).

En este contexto, esta introducción pretende dar una visión general de las características sensoriales aromáticas y en boca, así como la implicación de la composición no volátil en el sabor y la astringencia en vinos tintos.

1. ANÁLISIS SENSORIAL

En los alimentos, la evaluación sensorial es ampliamente utilizada en actividades propias tales como la investigación, desarrollo de nuevos productos, control de calidad, evaluación de cambios en materias primas o procesos y la determinación de vida útil de un producto. La *División de Evaluación Sensorial del Instituto de Tecnólogos de los Alimentos* (1975) define la evaluación sensorial como una disciplina científica utilizada para obtener, medir, analizar e interpretar las reacciones de aquellas características de los alimentos y otras sustancias que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto y tacto. En otras palabras, en un alimento o bebida, el análisis sensorial está relacionado con la aceptabilidad, apariencia, color, aroma, sabor o sensaciones en boca (Wu *et al.*, 1977) producidos a través de percepciones organolépticas (Thorngate, 1997). Para ello, se acude a la experiencia de individuos/jueces que deseen trabajar como instrumentos de medida y que sean capaces de establecer diferencias objetivas.

1.1 Pruebas sensoriales

En la evaluación sensorial, el tipo de método a utilizar depende del objetivo que se busque al analizar un producto. Las pruebas sensoriales empleadas se dividen en dos grupos; pruebas sensoriales de tipo *analítico* (*discriminatorias* y *descriptivas*) y *afectivas*.

a) *Pruebas discriminativas.* En estas pruebas interesa determinar si hay diferencias entre dos o más muestras. De hecho son utilizadas para evaluar la influencia de tratamientos vitícolas o enológicos sobre el vino, y en general para juzgar la homogeneidad de un producto. Las mas empleadas son la comparación por pares, la prueba triangular y el dúo trío (Nicod, 2000, Meilgaard *et al.*, 2007).

b) *Pruebas descriptivas.* La naturaleza de estas pruebas es diferenciar entre muestras, y se emplea cuando las diferencias son evidentemente perceptibles. Básicamente, este análisis se basa en la detección y descripción de aspectos sensoriales de tipo cualitativo y cuantitativo. Existen varios métodos de análisis descriptivo que han sido desarrollados

con la finalidad de evaluar sensorialmente un producto, cada uno de ellos refleja distintas filosofías y enfoques, los más utilizados en la descripción del vino se detallan a continuación:

- ✓ *Pruebas de ordenamiento.* Consisten en ordenar las muestras de acuerdo a la intensidad de un descriptor sensorial determinado (Roessler *et al.*, 1956).
- ✓ *Prueba de escalas de categorías.* Consiste en que los panelistas ubiquen la valoración de un atributo empleando una escala grafica o categorías. A través de esta prueba se puede evaluar el color, la intensidad de los sabores básicos, la viscosidad, la calidad, entre otras (Sauvageot y Dacremont, 2001).
- ✓ *Pruebas de puntaje.* En estas pruebas los jueces deben ordenar las muestras según la intensidad sensorial del atributo a evaluar pero a diferencia de las pruebas de ordenamiento, se trabaja tanto con escalas estructuradas o como no estructuradas. Es necesario contar con un panel con cierto nivel de entrenamiento y conocimiento sobre el uso de escalas (Amerine *et al.*, 1965).
- ✓ *Perfil sensorial clásico.* Esta prueba está basada en la búsqueda y selección de descriptores que permitan dar la máxima información sobre las propiedades sensoriales del producto a analizar. Para que este tipo de análisis sea exitoso es necesario un previo entrenamiento de los panelistas con estándares de referencia, hecho que permite desarrollar una terminología adecuada (Rainey, 1986). Con esta metodología, todos los panelistas utilizan el mismo vocabulario para describir los atributos sensoriales de los vinos que van a evaluar de un modo consensuado. Sin embargo, esta metodología presenta dificultades con la utilización de escalas de intensidad durante la evaluación de atributos aromáticos. De aquí la noción de que el juicio de los atributos aromáticos mediante técnicas descriptivas por consenso son más complejas que el juicio visual, textura y gusto (Lawless y Heymann, 1988). Es importante resaltar que el

análisis sensorial descriptivo cuantitativo (QDA) es una opción bastante empleada para la descripción de los atributos en boca (Heymann y Noble, 1987, Guinard y Cliff, 1987, Heymann y Noble, 1989, De La Presa Owens y Noble, 1995, Gutierres, 1998, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010b).

- ✓ *Perfil libre.* Esta metodología permite al individuo seleccionar y después cuantificar sus propios descriptores para caracterizar un grupo de productos (Depledt, 1990). El perfil libre no busca un vocabulario consensuado, asume que los panelistas no difieren en la manera de percibir un producto, sino en el modo de como lo describen.

- ✓ *Método de elección entre atributos.* Este método permite la descripción de las características sensoriales de un producto a partir de una lista de términos que se suelen agrupar por categorías (Campo *et al.*, 2008). Esta metodología está conformada por dos fases, la primera consiste en la familiarización con términos aromáticos presentados en una lista similar a la presentada en el Anexo II. En la segunda fase, los panelistas efectúan la evaluación sensorial seleccionando de la lista de descriptores entre cinco y diez términos que mejor describen el producto (Mccloskey *et al.*, 1996, Piombino *et al.*, 2004). El extenso entrenamiento que se realiza con el método de elección de atributos conduce a una mayor exactitud del panel, y a la destreza de evaluar diferentes vinos con cuatro sesiones especificas enfocadas en las muestras objeto de estudio (Campo *et al.*, 2008).

c) *Pruebas afectivas.* Estas pruebas son empleadas para evaluar el grado de aceptación y preferencia de un producto determinado (Nicod, 2000, Drake, 2007, Parpinello *et al.*, 2009, Sáenz-Navajas *et al.*, 2013) con respecto a las cualidades extrínsecas del producto tales como el embalaje, el precio, la marca, la publicidad, entre otros. Así como características intrínsecas percibidas durante la degustación (Yegge y Noble, 2001, Lesschaeve *et al.*, 2002, Hersleth *et al.*, 2003, Lesschaeve y Findley, 2005).

1.2 Tipos de paneles sensoriales

En la evaluación sensorial, los jueces son instrumentos de medida donde sus respuestas permiten integrar todos los comportamientos individuales y equiparar las diferencias entre los miembros que conforman el panel. De hecho, los jueces son detectores multidimensionales eficaces, lo que permite la validez de las pruebas sensoriales (Saint Pierre, 2000). En el ámbito del análisis sensorial, la Norma ISO (8586-1, 1993, 8586-2, 1994) propone algunas definiciones vinculadas a la experiencia, en los cuales se distinguen cuatro tipo de individuos:

a) Individuos novatos, no responden a ningún criterio en particular.
b) Individuos cualificados, son sujetos que han sido seleccionados y entrenados.
c) Individuos expertos, demuestran tener una agudeza particular en el momento de realizar un juicio y gozan de una buena memoria sensorial a largo plazo, permitiendo realizar juicios fiables.
d) Individuos expertos especializados, son aquellos que han adquirido conocimientos específicos sobre uno o varios productos a evaluar, procedimientos de elaboración y marketing con el fin de hallarse en situación de interpretar datos sensoriales y sacar conclusiones.

La *American Society of Testing Materials* define a un experto como un individuo con amplia experiencia en una categoría de productos, los cuales son capaces de realizar evaluaciones perceptuales generando conclusiones sobre la materias prima, el procesamiento, el almacenamiento, el envejecimiento, etc, (ASTM 2005). De hecho, un experto es un individuo con alto grado de agudeza sensorial, que posee experiencia y habilidad para hacer una evaluación consistente y repetible.

En el mundo del vino, el nivel de conocimiento que tenga un individuo sobre el producto influye en la respuesta sensorial. Los enólogos y sumilleres son considerados expertos, ya que conocen la influencia de las prácticas enológicas sobre las distintas características sensoriales del vino y su profesión les ha permitido degustar una gran cantidad de vinos, lo que les conlleva a tomar decisiones técnicas y comerciales. Estudios realizados por Hughson y Boakes, (2002) sugieren que los

expertos tienen una habilidad superior que los novatos para discriminar entre vinos y describir diferentes vinos. Valentin *et al.*, (2003) indicaron que los expertos son capaces de usar descripciones más precisas que los novatos, lo que facilita una habilidad de descripción más apropiada de un vino correspondiente. Parr *et al.*, (2004) demostraron que los expertos tienen una memoria de reconocimiento de olor superior a los novatos.

Por otro lado, los miembros de un panel sensorial son por lo tanto seleccionados en base a su agudeza sensorial, y son entrenados para realizar tareas sensoriales objetivas y consistentes (Issanchou *et al.*, 1997). De hecho, los expertos consideran a los paneles sensoriales como un equivalente a instrumentos analíticos de alta tecnología que pueden generar resultados fiables, repetibles y reproducibles (Lesschaeve y Findley, 2005).

2. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES

En el vino, las características sensoriales son percibidas a través de los sentidos de la vista, el olfato, el gusto y de sensaciones táctiles transmitidas por el nervio trigémino (Thorngate, 1997, Etaio, 2007).

2.1 Percepción del aroma

Los aromas del vino se derivan de compuestos presentes en las uvas, procesos enzimáticas, metabolismo de las levaduras y bacterias, así como compuestos formados por reacciones de oxidación/reducción que han tenido lugar en la botella o barrica (Thorngate, 1997). La percepción del aroma es un proceso en el cual intervienen los sentidos del olfato y el gusto (Reineccius, 2005).

La percepción del olor está situada en las fosas nasales (Figura 1). La primera impresión del olor de un alimento se produce durante la inhalación de moléculas odorantes que entran directamente a través de las fosas nasales externas al epitelio olfativo (ruta ortonasal). La segunda impresión se produce durante la ingestión de los alimentos cuando el aroma se libera e interactúa con los receptores olfativos por recorrido de la boca a la cavidad nasal vía nasofaringe (ruta retronasal).

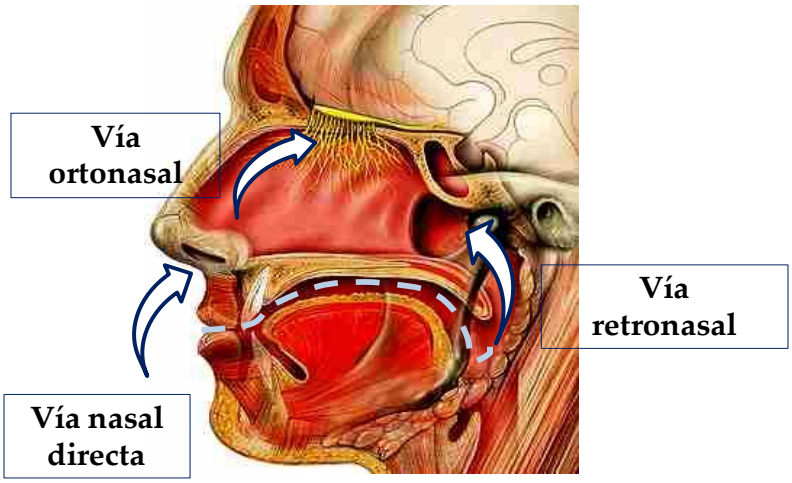


Figura 1. Percepción vía ortonasal y retronasal.

Estudios basados en el análisis sensorial de vinos Pinot Noir de Borgoña, mostraron que hay una alta correlación entre la percepción ortonasal y retronasal, pero en la discriminación de los vinos y la repetibilidad del panel fueron ligeramente superiores mediante la percepción ortonasal (Aubry *et al.*, 1999). Una investigación en destilados de pisco chileno proponen limitar el protocolo de olfacción a la percepción ortonasal con la finalidad de disminuir la fatiga de los catadores (Lillo *et al.*, 2005).

2.2 Percepción del gusto y las sensaciones táctiles

El sabor es una compleja combinación de información sensitiva proporcionada por el gusto, el olfato y la sensación táctil que se tiene de un alimento cuando se introduce en la boca. El gusto se ha definido como una sensación transformada por una célula receptora del gusto (TRC) excluyendo las sensaciones de calor, frio y dolor (Thorngate, 1997), ya que se aplica exclusivamente a las sensaciones que provienen de las células especializadas de la boca (Smith y Margolskee, 2001b). En general, la percepción humana del gusto se acota a cinco sabores básicos; salado, dulce, ácido, amargo y umami. Este último fue propuesto por Kikunae Ikeda profesor de la Universidad Imperial de Tokio, quien sugirió que el glutamato era el responsable de un sabor único asociado a la comida asiática al cual lo denominó con la palabra japonesa umami y se traduce como sabroso (Yamaguchi, 1979, Reilly, 2000, Bradbury, 2004). En el vino, los ácidos glutámico y aspártico presentes en el vino se han descrito con el sabor umami. Sin embargo, estos compuestos parecen no tener implicación

sensorial, ya que sus concentraciones están por debajo de sus umbrales de percepción correspondientes (Hufnagel y Hofmann, 2008b).

2.2.1 El gusto

En las células del gusto existen botones gustativos que se alojan sobre todo en la lengua y en el paladar blando (Smith y Margolskee, 2001b). Los botones gustativos o receptores sensoriales (Figura 2a), son estructuras en forma de bulbo con una apertura en su extremo superior entre las que se encuentra 50 y 100 células gustativas por botón (Kinnamon, 1987). Las células gustativas presentan unas proyecciones digitiformes y microvellosidades que sobresalen del poro gustativo. Los botones gustativos, que se hallan a su vez dentro de las papilas gustativas, son prominencias pequeñas de la lengua que le confieren un aspecto aterciopelado. Las papilas (Figura 2b) se clasifican según su morfología en:

a) Papilas fungiformes, residen en los dos tercios posteriores de la lengua. La densidad de las mismas está relacionada con la agudeza gustativa (Zuniga *et al.*, 1993).

b) Papilas caliciformes (Figura 2c), se encuentran ubicadas en la parte posterior de la lengua, distribuidas en forma de "V" invertida.

c) Papilas foliadas, crean pequeños surcos en los bordes laterales y posteriores de la lengua.

d) Papilas filiformes son las más numerosas, estas carecen de botones gustativos y están implicadas en la sensación táctil en boca. Son estructuras cónicas muy sutiles, en su mayoría ubicadas en las zonas anteriores de la superficie dorsal de la lengua.

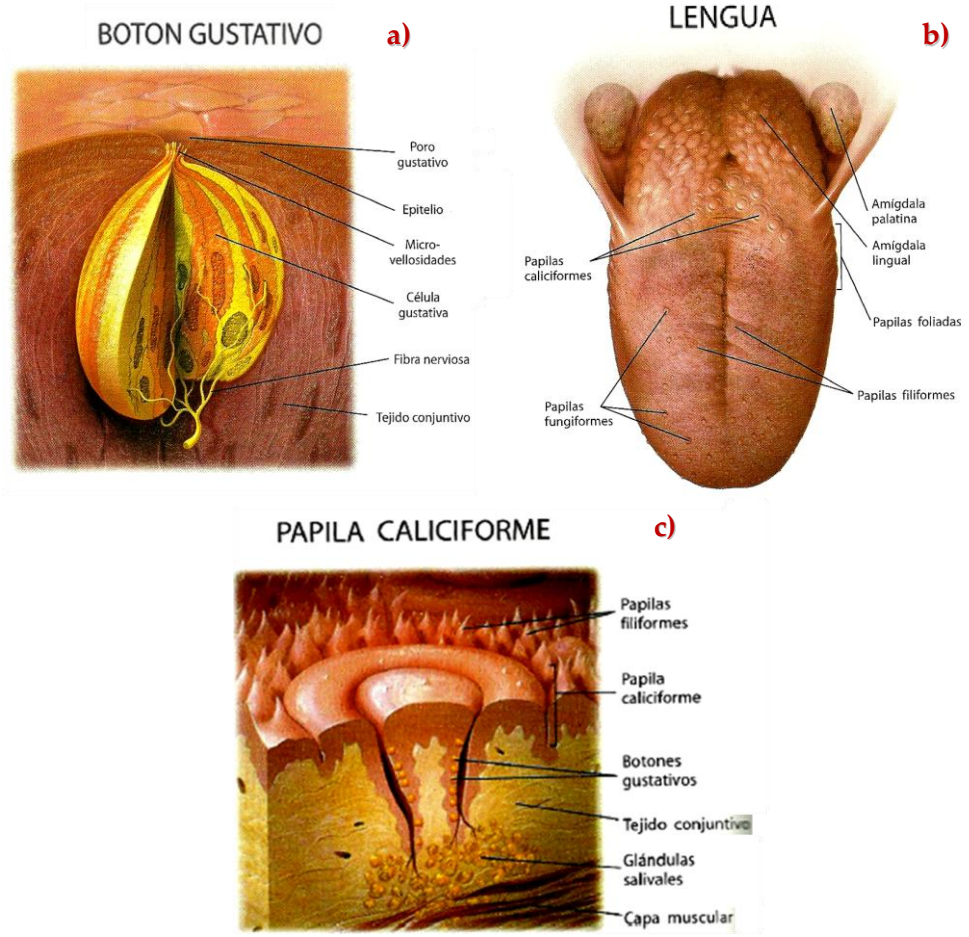


Figura 2. Funcionamiento del sentido del gusto **a)** botones gustativos, **b)** papila caliciforme, **c)** estructura de las papilas gustativas y su distribución en la lengua. Extraído de Smith y Margolskee, (2001a).

Cuando las sustancias químicas de los alimentos se disuelven en la saliva entrando en contacto con las células gustativas a través del poro gustativo, se presenta una interacción con los receptores del gusto produciendo cambios eléctricos. Estos cambios estimulan la emisión de señales químicas, actividad que se traduce dando lugar a una señal en el cerebro (Smith y Margolskee, 2001b). El origen de dichas señales se halla en la concentración de átomos provistos de carga eléctrica o iones. De hecho, las células gustativas presentan una carga neta negativa en su interior y una carga neta positiva en su exterior, y son las sustancias químicas de los alimentos quienes modifican esta situación a través de distintos mecanismos que incrementan la concentración de iones positivos en las células gustativas. Esta explicación sobre el sentido del gusto muestra que la detección del dulce, ácido,

amargo, salado y umami no se encuentra en regiones especificas de la lengua (Peynaud, 1996) sino distribuida por toda la lengua.

Los productos químicos asociados a los gustos salados y ácido actúan directamente sobre los canales iónicos. En cambio, los responsables del sabor dulce y amargo se unen a ciertos receptores de la superficie celular generando una cascada de señales en el interior de las células, produciendo una apertura y cierre de los canales iónicos. De hecho, cuando una molécula gustativa se une a una célula gustativa receptora, las subunidades de gustoducina (proteína G), se separan y catalizan una serie de reacciones bioquímicas que desembocan en la apertura o cierre de canales iónicos (Smith y Margolskee, 2001b).

2.2.2.1 Estímulos ácidos

En este estímulo, los iones de hidrógeno (H^+) entran directamente en la célula gustativa, bloqueando los canales de potasio (K^+) y uniéndose a los canales de las microvellosidades produciendo su apertura, con la finalidad de permitir la entrada de otros iones de carga positiva.

Estudios realizados por Ganzevles y Kroeze, (1987) indicaron que la tendencia de los ácidos a disociarse en iones se ve afectada por cargas negativas de la molécula, así como por el pH, afectando de manera importante la percepción del sabor ácido. A pesar de que las moléculas ácidas no disociadas no estimulan eficazmente las neuronas receptoras, afectan a la acidez percibida. Otras investigaciones han descrito que la acumulación de cargas positivas despolariza las células gustativas y desencadena la liberación de neurotransmisores (Ossebaard *et al.*, 1997, Smith y Margolskee, 2001b). Sin embargo, Gilbertson y Boughter (2003) expusieron que la detección del sabor ácido está basada en un canal iónico sensible a los iones, el cual se encuentra controlado por un gen denominado ASIC2.

2.2.2.1 Estímulos dulces y amargos

Los estímulos dulces y amargos se unen a los receptores situados en la superficie de la célula gustativa que están conectados a proteínas G (Smith y Margolskee, 2001b). La reacción que se produce con las moléculas gustativas inducen

indirectamente la despolarización de la membrana celular asociada con la activación de la adenilato ciclasa, la cual modifica el paso del ión de potasio K^+ y la concentración intracelular del calcio (Gilbertson y Boughter, 2003). La acumulación de calcio resultante en las células gustativas conduce a la despolarización y liberación de neurotransmisores (Kinnamon, 1996, Huang *et al.*, 2007).

2.2.2 La astringencia

La astringencia ha sido descrita como una sensación táctil percibida por las papilas filiformes inervadas a través del nervio trigeminal (Jackson, 1994). La *American Society for Testing and Materials* definió la astringencia como un conjunto complejo de sensaciones de sequedad y aspereza en el epitelio por la exposición a sustancias como el alumbre o los taninos (ASTM, 2004).

Múltiples términos han sido empleados para describir las subcualidades astringentes de los vinos tintos, entre ellas se incluyen rugosidad, granulado, aterciopelado, sequedad, aspereza, rudeza, sedosidad, dureza, constricción, entre otras (Lee y Lawless, 1991, Breslin *et al.*, 1993, Gawel *et al.*, 2000, Gawel *et al.*, 2001, Vidal *et al.*, 2004a). La rueda de las sensaciones en boca "*the mouth-feel sensations*" conformada por 53 términos (Gawel *et al.*, 2000) es el resultado de un vocabulario estructurado de un panel de catadores experimentados de vinos tintos.

En cuanto a los mecanismos moleculares y fisiológicos que influyen en la percepción de la astringencia no están explicados de manera definitiva (Bajec y Pickering, 2008, Ma *et al.*, 2014). Se ha descrito que la sensación astringente, se aprecia cuando los taninos entran en contacto con las proteínas salivares mediante enlaces covalentes formando precipitados insolubles taninos-proteínas que conllevan a la perdida de lubricación en la cavidad bucal (Baxter *et al.*, 1997). Un estudios basado en cromatografía líquida demuestra que las proteínas de la saliva son capaces de precipitar con los fenoles (Kallithraka *et al.*, 1998). Charlton *et al.*, (2002) han evidenciado que las interacciones hidrofóbicas entre tanino-proteína, básicamente ocurren entre la estructura plana del anillo aromático del tanino con el anillo pirrolidínico del residuo de la prolina. De Freitas y Mateus, (2012) plantearon que los

enlaces iónicos y covalentes están implicados en el efecto que generan los puentes de hidrogeno al estabilizar la interacción que ocurre entre los grupos hidroxilos de los taninos y los grupos carbonilo y NH_2 de las proteínas. Lee *et al.*, (2012) describieron que las proteínas ricas en prolina (PRPs) precipitan con los taninos y el alumbre, mas no con el ácido clorhídrico, mientras las mucinas son capaces de precipitar con el ácido clorhídrico y el alumbre pero no con los taninos. Esto demostró que la precipitación de las PRPs están involucradas en los mecanismos de la astringencia pero no son un requisito para el desarrollo de la astringencia.

Varios estudios indican que la sensación de astringencia está condicionada por el caudal y la composición de la saliva de cada individuo, sugiriendo que los individuos con poco caudal de saliva perciben con mayor intensidad y duración la astringencia que los que poseen un flujo de saliva alto (Fischer *et al.*, 1994, Ishikawa y Noble, 1995, Guinard *et al.*, 1997, Condelli *et al.*, 2006).

Aunque, generalmente se ha aceptado que la interacción entre los taninos y las proteínas de la saliva juegan un papel importante en la percepción de astringencia en el vino (Rossetti *et al.*, 2009, Dinnella *et al.*, 2010, Gibbins y Carpenter, 2013). Hasta el momento, los mecanismos fisiológicos y fisicoquímicos en la astringencia, no han sido totalmente definidos (Ma *et al.*, 2014).

3. COMPUESTOS NO VOLÁTILES IMPLICADOS EN LA PERCEPCIÓN DEL SABOR Y LA ASTRINGENCIA

3.1 Dulzor

El sabor dulce de los vinos se ha relacionado principalmente con la concentración de los dos azúcares reductores mayoritarios; fructosa y glucosa (Ough y Amerine, 1988). El contenido en vinos secos se ha descrito en un intervalo entre 0.2 a 0.8 g L^{-1} para la glucosa y 1 a 2 g L^{-1} para la fructosa, mientras en vinos dulces asciende hasta 30 y 60 g L^{-1}, respectivamente (Peynaud., 1999). El umbral sensorial para estos compuestos es de 3.2 g L^{-1} para la glucosa y 1.8 g L^{-1} para la fructosa (Hufnagel y Hofmann, 2008b), aunque ambos azúcares parecen no ser responsables del dulzor en los vinos secos, juegan un papel importante en los vinos dulces.

Varias investigaciones indican que el sabor dulce esta potenciado por la presencia del etanol y glicerol (Wilson *et al.*, 1973, Thorngate, 1997, Scinska *et al.*, 2000, Mattes y DiMeglio, 2001). El glicerol se describe como un compuesto que dependiendo de su concentración y tipo de vino, genera un efecto perceptible en el dulzor. El umbral sensorial para el glicerol en un vino blanco seco es de 5.2 g L^{-1} (Noble y Bursick, 1984), mientras en un vino tinto seco es de 7.5 g L^{-1} (Hufnagel y Hofmann, 2008a). Aunque no es probable que el glicerol contribuya al dulzor en vinos dulces, puesto que el contenido de azúcares reductores esta generalmente en un rango entre 30 y 60 g L^{-1}, estos azúcares actuarán como el principal impulsor de la percepción del dulzor.

En relación al etanol, este proporciona un ligero dulzor en disoluciones sintéticas con contenidos en etanol entre 2 - 4 % (Peynaud, 1996, Zamora *et al.*, 2006). Sin embargo, las concentraciones habituales de etanol en el vino (> 10% v/v) son descritas como amargas e irritantes (Noble, 1994).

Los umbrales de percepción disponibles para diversos compuestos implicados en el dulzor se recogen en la Tabla 1. Un estudio basado en la reconstrucción cuantitativa de la fracción no volátil de un vino tinto seco realizado por Hufnagel y Hofmann, (2008b), mostró diferentes compuestos con propiedades sensoriales dulces, entre ellos seis aldosas y cetosas, ocho alditoles y seis aminoácidos, de este grupo de compuestos, la fructosa y el glicerol presentaron una concentración superior al umbral de percepción o factor DoT (*Dose-over-Threshold*), hecho que sugirió que ambos compuestos estuvieran implicados en la percepción del sabor dulce en el vino de estudio. Blackman *et al.*, (2010) describieron la implicación de ambos compuestos en el dulzor de vinos blancos.

Ciertos ácidos fenólicos como el siríngico, vainíllico y ferúlico han sido referidos como ligeramente dulces (Dadic y Belleau, 1973). Sin embargo, las concentraciones presentes en vinos sugieren que su impacto sensorial en el dulzor es limitado.

Tabla 1. Compuestos implicados en el sabor dulce detectados en vino tinto. Umbrales de percepción, tipo de prueba y medio de disolución. Extraído de Hufnagel y Hofmann, (2008b).

Compuesto	Umbral sensorial g L^{-1}	Prueba sensorial	Medio
Aldosas y cetosas			
Fructosa	1.84	TDA	agua
Glucosa	3.24	TDA	agua
Arabinosa	2.66	TDA	agua
Galactosa	9.00	TDA	agua
Xilosa	1.88	TDA	agua
Ramnosa	1.14	TDA	agua
Alditoles			
Glicerol	7.48	TDA	agua
1,2-propanodiol	3.36	TDA	agua
Inositol	3.18	TDA	agua
Manitol	7.28	TDA	agua
Arabitol	6.57	TDA	agua
Eritriol	4.43	TDA	agua
Sorbitol	6.16	TDA	agua
Ribitol	6.89	TDA	agua
Aminoácidos			
L-prolina	2.88	TDA	agua
L-alanina	1.07	TDA	agua
Glicina	1.88	TDA	agua
L-metionina	0.75	TDA	agua
L-serina	2.63	TDA	agua
L-treonina	4.17	TDA	agua

TDA: Prueba de comparación por pares con diluciones sucesivas de compuestos, utilizando como referencia una disolución más diluida que la disolución objeto de estudio.

3.2 Acidez

En los mostos y vinos, los ácidos orgánicos son los principales responsables de la acidez y de la modificación del sabor ácido generando sensaciones "agradables" y de "frescor" (Ebeler, 2001). El ácido tartárico, es el ácido orgánico mayoritario en los vinos (Thorngate, 1997, Margalit, 2004) y junto al ácido málico son los responsables del 90% de la acidez total. Se ha descrito que las altas concentraciones (> 5 g L^{-1}) de los ácidos tartárico y málico provocan un sabor "intenso" y "desagradable" en el vino (Clarke y Bakker, 2004, Sass-Kiss *et al.*, 2008). El ácido cítrico contribuye a la acidez

del mosto, proporcionando un sabor ácido "refrescante" mientras el ácido láctico contribuye a la acidez del vino, aportando un sabor ácido "agradable" o "suave" (Whiting, 1976). El ácido málico se ha definido con notas "verdes" y "duras", las cuales disminuyen durante la fermentación maloláctica al transformarse el ácido málico en láctico (Biasoto *et al.*, 2010). Por otro lado, se ha descrito que concentraciones inferiores a 300 mg L^{-1} de ácido acético proporciona una complejidad deseable en el aroma y sabor de vino, mientras concentraciones superiores a 600 mg L^{-1} generan un sabor "agrio" y por lo tanto olores desagradables (Jackson, 2000).

Diversas investigaciones, han estudiado el umbral de percepción de ácidos orgánicos, ácidos fenólicos y aminoácidos implicados en la acidez del vino (Maga y Lorenz, 1973, Warmke *et al.*, 1996, Scharbert y Hofmann, 2005, Hufnagel y Hofmann, 2008b). Los umbrales sensoriales para estos compuestos se muestran en la Tabla 2.

Los resultados publicados por Maga y Lorenz, (1973) han descrito los ácidos fenólicos; sináptico y clorogénico como compuestos que contribuyen a los sabores ácido y amargo. Hufnagel y Hofmann, (2008b) detallaron que en un vino tintos seco, los ácidos D-galacturónico y *L*-tartárico son estimulantes importantes del sabor ácido, ya que sus concentraciones son 10 veces mayores que su umbral de percepción sensorial. Así mismo, los ácidos acético, succínico, *L*-málico y *L*-láctico, también parecen tener un impacto sensorial en el vino, ya que presentan concentraciones por encima de su umbral de percepción. Otros ácidos tales como el maléico, fórmico, glutámico, isocítrico y aconítico están presentes en concentraciones inferiores a su umbral de percepción correspondientes.

En el caso de los ácidos hidroxicinámicos sus umbrales de percepción determinados en agua oscilan entre 20 y 50 mg L^{-1} (Verette *et al.*, 1988, Tian *et al.*, 2009). Sin embargo, Verette *et al.*, (1988) concluyeron que la adición de 150 mg L^{-1} de ácido cafeico y sus ésteres no generan cambios en la percepción del sabor ácido en el vino.

Tabla 2. Compuestos implicados en el sabor ácido detectados en vino tinto. Umbrales de percepción, tipo de prueba, medio de disolución y referencia.

Compuestos	Umbral sensorial mg L^{-1}	Prueba sensorial	Medio	Referencia
Ácidos orgánicos				
Ácido tartárico	44	Prueba triangular[a]	Agua	[1]
	200	n.e.[b]	Agua	[2]
Ácido galacturónico	125[c]	Prueba	Agua	[1]
Ácido acético	119	Prueba triangular	Agua	[1]
	122	n.e.	Agua	[2]
Ácido succínico	106	Prueba triangular	Agua	[3]
	47	n.e.	Agua	[2]
Ácido málico	494	Prueba triangular	Agua	[3]
	76	n.e.	Agua	[2]
Ácido láctico	1393	Prueba triangular	Agua	[2]
	1400	n.e.	Agua	[2]
Ácido cítrico	499	Prueba triangular	Agua	[3]
	350	n.e.	Agua	[2]
Ácido glutárico	413	Prueba triangular	Agua	[1]
Ácido fórmico	187	Prueba triangular	Agua	[1]
Ácido isocítrico	1018	Prueba triangular	Agua	[1]
Ácido maléico	348	Prueba triangular	Agua	[1]
Ácido *cis*-aconítico	87	Prueba triangular	Agua	[1]
Ácido *trans*-aconítico	87	Prueba triangular	Agua	[1]
Ácido oxálico	506	Prueba triangular	Agua	[3]
	50	n.e.	Agua	[2]
Ácido ascórbico	134	Prueba triangular	Agua	[3]
Ácidos fenólicos				
Ácido sináptico	20[d]	n.e.	Cerveza	[4]
Ácido clorogénico	20[d]	n.e.	Cerveza	[4]

1 (Hufnagel y Hofmann, 2008b); 2 (Warmke *et al.*, 1996); 3 (Scharbert y Hofmann, 2005), 4 (Maga y Lorenz, 1973); [a] umbrales de detección determinados para la acidez en una prueba triangular usando agua corriente (pH 6.5) como disolvente (Desportes *et al.*, 2001); n.e: no especificado; [b] Metodología para la evaluación del reconocimiento de umbrales no especificada en la referencia; [c] Umbral sensorial para la acidez y la astringencia; [d] Umbral sensorial para la acidez y el amargor.

3.3 Amargor

Los compuestos amargos están presentes en las plantas, incluyen ácidos grasos, péptidos, aminoácidos, aminas, compuestos N-heterocíclicos, ureas, ésteres y fenoles (Meyerhof *et al.*, 2011). En el vino, el sabor amargo esta principalmente provocado

por ácidos hidroxicinámicos (Peleg y Noble, 1995), flavanoles y sus polímeros (Noble, 1994, Hufnagel y Hofmann, 2008b) y flavonoles (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c). Compuestos fenólicos de bajo peso molecular, como las agliconas de los flavonoles (miricetina y quercetina) han sido descritos como amargos (Preys *et al.*, 2006).

En relación a los flavanoles, los monómeros como la (+)-catequina y la (-)-epicatequina y sus polímeros son responsables del sabor amargo (Arnold *et al.*, 1980, Robichaud y Noble, 1990, Rapp, 1990). Se ha descrito que la percepción del sabor amargo varía en función de la estereoquímica de los compuestos, demostrando que la (-)-epicatequina resulta ser más amarga que su esteroisómero (+)-catequina (Peleg *et al.*, 1999, Noble, 1994). Otras diferencias estructurales capaces de producir cambios en la percepción del amargor se han observado con la procianidina B6, la cual parece ser más amarga que las procianidinas B3 o B4. De hecho se ha demostrado que la (-)-epicatequina y (+)-catequina son más amargos que una procianidina dímera y esta a su vez que una procianidina trímera (Peleg *et al.*, 1999). Sin embargo, Hufnagel y Hofmann, (2008b) han detectado que los umbrales de percepción del amargor son inferiores para las procianidinas dímeras y trímeras, que para las formas monómericas como la (+)-catequina y la (-)-epicatequina.

Un estudio realizado con fracciones de vino tinto sugirió que el amargor percibido es generado por la presencia de (+)-catequina, (-)-epigalocatequina, ácido cutárico, ácido caftárico y miricetina (Sáenz-Navajas *et al.*, 2012c).

Diversas investigaciones se han enfocado en el umbral de percepción de flavanoles, ácidos y ésteres etílicos de ácidos fenólicos, flavonoles y elagitaninos implicados en la percepción del amargor (Delcour *et al.*, 1984, Rossi y Singleton, 1966, Maga y Lorenz, 1973, Dadic y Belleau, 1973, Scharbert *et al.*, 2004, Glabasnia y Hofmann, 2006, Hufnagel y Hofmann, 2008b). Los umbrales sensoriales para estos compuestos se muestran en la Tabla 3.

Estudios realizados por Hufnagel y Hofmann, (2008b) describieron la (+)-catequina y (-)-epicatequina, las cuatro procianidinas (B1, B2, B3, C1) y los siete ésteres etílicos de ácidos fenólicos como potencialmente amargos. Investigaciones llevadas a cabo en infusiones de té observaron que la ausencia de flavanoles y

flavonoles glicosilados disminuían el amargor percibido (Scharbert y Hofmann, 2005). Un comportamiento similar se presentó en los derivados de los ácidos hidroxicinámicos identificados en arándanos (Laaksonen *et al.*, 2010).

Tabla 3. Compuestos implicados en el sabor amargo detectados en vino tinto. Umbrales de percepción, tipo de prueba, medio de disolución y referencia.

Compuestos	Umbral sensorial mg L^{-1}	Prueba sensorial	Medio	Referencia
Flavanoles				
(+)-Catequina	290	Prueba triangular	Agua	[1]
(-)-Epicatequina	270	Prueba triangular	Agua	[1]
(-)-Epigalocatequina-3-galato	87	Prueba triangular	Agua	[1]
Procianidina C1	347	Prueba triangular	Agua	[2]
Procianidina B1	231	Prueba triangular	Agua	[2]
Procianidina B2	280	Prueba triangular	Agua	[2]
Procianidina B3	289	Prueba triangular	Agua	[2]
Trímeros y tetrámeros	4.1[a]	Prueba triangular	Agua	[3]
Taninos condensados	0.12	Diferencia	Agua	[4]
Ácidos				
Ácido sináptico	5 - 20[b]	n.e[c]	5% Etanol	[5]
Ácido clorogénico	10[b]	n.e[c]	5% Etanol	[5]
Ésteres etílicos de ácidos fenólicos				
Éster etílico de ácido gálico	438	Prueba triangular	Agua	[2]
Éster etílico de ácido *p*-cumárico	137	Prueba triangular	Agua	[2]
Éster etílico de ácido siríngico	130	Prueba triangular	Agua	[2]
Éster etílico de ácido vainíllico	294	Prueba triangular	Agua	[2]
Éster etílico de ácido cafeico	229	Prueba triangular	Agua	[2]
Éster etílico de ácido ferúlico	158	Prueba triangular	Agua	[2]
Éster etílico de ácido protocatéquico	182	Prueba triangular	Agua	[2]
Flavonoles				
Quercetina	10[a]	Por pares	5% Etanol	[6]
Kaempferol	20[a]	Por pares	5% Etanol	[6]
Miricetina	10[a]	Por pares	5% Etanol	[6]
Quercetina-3-*O*-ramnósido	8.9[a]	Prueba triangular	Agua	[6]
Elagitaninos				
Grandinina	656	Prueba triangular	Agua	[7]
Roburina E	437	Prueba triangular	Agua	[7]
Vescalagina	1579	Prueba triangular	Agua	[7]
Castalagina	1579	Prueba triangular	Agua	[7]
33-desoxi-33-carboxivescalagina	640	Prueba triangular	Agua	[7]
Roburina A	1536	Prueba triangular	Agua	[7]
Roburina D	1373	Prueba triangular	Agua	[7]
Roburina B	1160	Prueba triangular	Agua	[7]
Roburina C	1199	Prueba triangular	Agua	[7]

1 (Scharbert *et al.*, 2004); 2(Hufnagel y Hofmann, 2008b); 3 (Delcour *et al.*, 1984); 4 (Rossi y Singleton, 1966); 5 (Maga y Lorenz, 1973); 6 (Dadic y Belleau, 1973); 7 (Glabasnia y Hofmann, 2006); [a] Umbral sensorial para el amargor y la astringencia; [b] Umbral sensorial para el amargor y la acidez; [c] Metodología para la evaluación del reconocimiento de umbrales sensoriales no especificada en la referencia; n.e: No especificado.

Singleton y Noble, (1976) describieron que el tirosol en concentraciones entre 20 y 30 g L^{-1} aporta amargor en los vinos. Fischer *et al.*, (2000) demostraron que la naringina presenta un sabor amargo, pero su concentración en los vinos es insuficiente como para generar un impacto sensorial, tal y como se observó en los vinos Riesling.

Por otro lado, ciertos terpenos glicosidados han sido descritos por proporcionar amargor en vinos de la variedad Moscatel (Noble *et al.*, 1988). Los péptidos, importante fuente de aminoácidos han sido descritos con relativo perfil amargo (Desportes *et al.*, 2001). Se ha mostrado que el etanol acentúa el sabor amargor en disoluciones sintéticas (Fontoin *et al.*, 2008, Jones *et al.*, 2008) y en vinos (Demiglio y Pickering, 2008). Cambios en el pH del vino también se han señalado como modificadores en la percepción, así el aumento en el pH del vino incrementa el amargor en vinos tintos, a diferencia de disoluciones sintéticas donde el aumento de 2.5 hasta 3.0 en el pH no mostró cambios en la percepción (Demiglio y Pickering, 2008, Fontoin *et al.*, 2008).

Hasta el momento, sólo una investigación propone un modelo predictivo del amargor en una fracción descrita como amarga (Gonzalo-Diago *et al.*, 2014), en el cual encontraron un ácido fenólico como el ácido cutárico, un flavonol como la quercetina-3-*O*-rutinósido, un flavanol como la (+)-catequina, dos dímeros como las procianidinas B1 y B2) y cuatro antocianos (petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido, malvidina-3-*O*-glucósido-8-etil-(epi)catequina, petunidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido y malvidina-3-*O*-(6-*O*-p-cumaril)-glucósido piruvato) contribuyeron positivamente al sabor amargo mientras el éster etílico del ácido protocatéquico contribuyó negativamente a dicho sabor. Hay que resaltar que el amargor de esta fracción no mostró correlación con el amargor evaluado en los vinos.

3.4 Astringencia

La astringencia puede ser provocada por sales de aluminio, ácidos orgánicos y minerales, azúcares, taninos, polifenoles de bajo peso molecular y agentes

deshidratantes tales como el etanol y la acetona (Chung *et al.*, 1998, Peleg *et al.*, 1999, Brossaud *et al.*, 2001, Cliff *et al.*, 2007, Preys *et al.*, 2006, Bajec y Pickering, 2008).

La relación existente entre la composición no volátil y la astringencia ha sido ampliamente estudiada (Peleg *et al.*, 1999, Brossaud *et al.*, 2001, Monteleone *et al.*, 2004, Vidal *et al.*, 2004b, Lesschaeve y Noble, 2005, Preys *et al.*, 2006). Estudios realizados por Gawel *et al.*, (2007a) sugirieron que las subcualidades de la astringencia podrían estar relacionadas con la cantidad de polifenoles presentes en el vino. De ahí que varios autores han identificado compuestos químicos con contribución astringente, así como su subcualidad y umbral de percepción (Dadic y Belleau, 1973, Okamura y Watanabe, 1981, Scharbert *et al.*, 2004, Scharbert y Hofmann, 2005, Glabasnia y Hofmann, 2006, Hufnagel y Hofmann, 2008b). En la Tabla 4, se muestra un resumen de los compuestos astringentes identificados en el vino junto a los umbrales de percepción, subcualidad, medio y método sensorial utilizado para su determinación.

En relación a los flavanoles, Sarni-Manchado *et al.*, (1999) concluyeron que los taninos de las semillas muy polimerizados precipitan junto a las proteínas salivares, caso contrario a los taninos de bajo peso molecular que se mantienen en disolución. En cuanto a las proantocianidinas poliméricas, estas han sido descritas como causantes de una mayor rugosidad en relación con las proantocianidinas oligoméricas. Diversos estudios indican que tanto el aumento en el grado medio de polimerización (mDP), así como el porcentaje de galoilación, incrementan la percepción de astringencia secante y rugosa (Vidal *et al.*, 2003, Vidal *et al.*, 2004a, Vidal *et al.*, 2004b, Preys *et al.*, 2006).

Una relación positiva entre el mDP de las proantocianidinas y la astringencia ha sido observados por Chira *et al.*, (2009). Estudios realizados por Quijada-Morin *et al.*, (2012) determinaron que la astringencia de los vinos está influenciada más por la composición química que por la concentración o el mDP.

Tabla 4. Compuestos implicados en la astringencia detectados en vino tinto. Umbrales de percepción, tipo de prueba, medio de disolución y referencia.

Compuesto	Umbral sensorial (mg L^{-1})	Prueba sensorial	Medio	Referencia
Ácidos				
Ácido *cis*/*trans*-aconítico[a]	0.1	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido gálico[a]	45	Prueba de media lengua	Agua	[2]
Ácido protocatéquico[a]	32	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido vainíllico[a]	53	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido siríngico[a]	52	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido caftárico[a]	5	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido cafeico[a]	13	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido ferúlico[a]	13	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido *p*-cumárico[a]	23	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Ácido cutárico	25	Sólo detección	Agua	[3]
Ácido gentísico	140	Prueba por pares	Agua	[4]
Ácido gentísico	20 / 2	Prueba por pares /triangular	5 % etanol	[5]
Ácido *o*-salicílico	90	Prueba por pares	Agua	[4]
Ácido *m*-salicílico	20	Prueba por pares	Agua	[4]
Ácido *p*-salicílico	40	Prueba por pares	Agua	[4]
Ácido *p*-salicílico	20 / 2	Prueba por pares /triangular	5 % etanol	[5]
Ésteres etílicos de ácidos fenólicos				
Éster etílico de ácido protocatéquico[a]	9	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Éste etílico de ácido gálico[a]	37	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Éster etílico de ácido *p*-cumárico[a]	27	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Éster etílico de ácido siríngico[a]	4	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Éster etílico de ácido vainíllico[a]	25	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Éster etílico de ácido cafeico[a]	69	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Éster etílico de ácido ferúlico[a]	15	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Flavanoles				
Procianidina B1[b]	139	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Procianidina B2[b]	110	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Procianidina C1[b]	260	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Procianidina B3[b]	116	Prueba de media lengua	Agua	[1]
(-)-Epigalocatequina[b]	169	Prueba de media lengua	Agua	[6]
(+)-Catequina[b]	119	Prueba de media lengua	Agua	[1]
(-)-Epicatequina[b]	270	Prueba de media lengua	Agua	[1]
(+)-Catequina-3-galato[b]	110	Prueba de media lengua	Agua	[6]
(-)-Epicatequina-3-galato[b]	110	Prueba de media lengua	Agua	[6]
(-)-Epigalocatequina-3-galato[b]	87	Prueba de media lengua	Agua	[6]
(+)-Galocatequina[b]	165	Prueba de media lengua	Agua	[6]
(+)-Galocatequina-3-galato[b]	179	Prueba de media lengua	Agua	[6]
Trímeros y tetrámeros	4.1[d]	Prueba triangular	Agua	[8]

Tabla 4. Continúa.

Compuesto	Umbral sensorial (mg L^{-1})	Prueba sensorial	Medio	Referencia
Oligómeros	0.2	Prueba de media lengua	Agua	[9]
Taninos condensados	0.035	Prueba por pares	Agua	[9]
Taninos condensados	3.5	Prueba por pares	Agua	[10]
Taninos condensados (> 5 Kda)[a]	22	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Flavonoles				
Quercetina-3-*O*-glucupiranosído[c]	1.0	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Siringetina-3-*O*-glucopiranosído[c]	0.1	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Isorhamnetina-3-*O*-glucopiranosído[c]	1.1	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Dihidroquercetina-2-ramnopiranosído[c]	1.7	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Quercetina-3-*O*-galactopiranósido[c]	0.2	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Dihidrokaempferol-3-*O*-ramnósido[c]	2.1	Prueba de media lengua	Agua	[1]
Quercetina-3-*O*-ramnósido	8.9[d]	Prueba por pares	Agua	[8]
Miricetina	10[d]	Prueba por pares	5 % etanol	[7]
Quercetina	10[d]	Prueba por pares	5 % etanol	[7]
Kaempferol	20[d]	Prueba por pares	5 % etanol	[7]

Compuestos descritos con la subcualidad de astringencia [a] rugosa, [b] secante y [c] sedosa; [d] Umbral sensorial para compuestos astringentes y amargos; 1 (Hufnagel y Hofmann, 2008b); 2 (Glabasnia y Hofmann, 2006); 3 (Okamura y Watanabe, 1981); 4 (Gutierres *et al.*,, 1998); 5 (Fowles, 1992); 6 (Scharbert *et al.*, 2004); 7 (Dadic y Belleau, 1973); 8 (Delcour *et al.*, 1984); 9 (Rossi y Singleton, 1966); 10 (Singleton y Esau, 1969).

En este contexto Wollmann y Hofmann, (2013) observaron que mDP y la galoilación no tienen una influencia significativa en la percepción de la astringencia. Por otro lado, Gonzalo-Diago *et al.*, (2013) mostraron que un mayor porcentaje de las unidades de extensión de (+)-catequina y (-)-epigalocatequina, conducen al aumento de la astringencia secante, mientras un mayor porcentaje de las unidades de extensión de (-)-epicatequina disminuyen la astringencia secante y aumentan la sedosa.

Otras investigaciones muestran que la concentración de los taninos no es suficiente para explicar las diferentes astringencias percibidas en el vino (Ishikawa y Noble, 1995, Hufnagel y Hofmann, 2008a, Sáenz-Navajas *et al.*, 2012), al igual que los métodos químicos utilizados que miden la "astringencia analítica" a través de la precipitación de taninos con proteínas (Llaudy *et al.*, 2004).

Es importante destacar que la estimación de la astringencia analítica en los vinos sólo mide los flavanoles oligoméricos con más de tres unidades de monómeros,

excluyendo los flavanoles monoméricos, dímeros y trímeros, así como otros compuestos con impacto sensorial en la astringencia de los vinos, debido a que no son capaces de precipitar al unirse con proteínas (Robichaud y Noble, 1990, Peleg y Noble, 1995, Thorngate y Noble, 1995, Kallithraka *et al*., 1997, Peleg *et al*., 1999, Kallithraka *et al*., 2001).

En cuanto a los ácidos, Peleg *et al*., (1998) plantearon que la adición de ácidos en soluciones modelo incrementaba la sensación de astringencia, mientras la adición de alumbre reducía la capacidad de los polifenoles de interactuar con las proteínas salivales. Otras investigaciones indican que los ácidos fenólicos parecen tener una aportación a la astringencia rugosa (Hufnagel y Hofmann, 2008ab), al igual que los ácidos orgánicos, que también son considerados como amplificadores de la astringencia (Rubico y McDaniel, 1992, Thomas y Lawless, 1995, Lawless *et al*., 1997, Sowalsky y Noble, 1998, Jones *et al*., 2008). Por otra parte, la astringencia causada por una fracción polimérica mayor a 5 kDa se ha visto amplificada por la presencia de los ácidos caftárico, gálico y carboxílico-2-furano (Hufnagel y Hofmann, 2008b). En relación al ácido aconítico en los vinos tintos, este parece jugar un papel importante en la astringencia debido al bajo umbral sensorial que presenta 0.1 mg L^{-1} para esta sensación (Hufnagel y Hofmann, 2008a, Sáenz-Navajas *et al*., 2012a).

Los flavanoles como la (+)-catequina y la (-)-epicatequina, así como sus dímeros y trímeros han sido descritos como astringentes (Delcour *et al*., 1984, Scharbert *et al*., 2004, Gonzalo-Diago *et al*., 2014). Sin embargo, su implicación en la astringencia de los vinos parece estar limitada por su umbral sensorial (Hufnagel y Hofmann, 2008a), el cual está por encima de la concentración presente en los vinos.

Los flavanoles glicosilados contribuyen a la percepción de astringencia sedosa en vinos tintos (Hufnagel y Hofmann, 2008a) y en arándanos (Laaksonen *et al*., 2010). Por otro lado, la quercetina-3-*O*-rutinósido, identificada en vinos tintos ha sido considerada un compuesto relevante en la astringencia percibida en el té negro (Scharbert *et al*., 2004). En estudios realizados por Gonzalo-Diago *et al*., (2014) atribuyeron a este compuesto la percepción de astringencia secante en vinos tintos. El

impacto sensorial de esta familia de compuestos parece ser muy importante debido a sus bajos umbrales sensoriales (Hufnagel y Hofmann, 2008b).

Las investigaciones basadas en la adicción de fracciones antociánicas en vinos blancos y en soluciones sintéticas (Brossaud *et al.*, 2001, Oberholster *et al.*, 2009), han demostrado que los antocianos provocan un aumento en la percepción de la astringencia. Este hecho podría depender de la presencia de otros compuestos astringentes en las fracciones. Vidal *et al.*, (2004) observaron que los antocianos libres contribuyen a la astringencia del vino. Varios estudios han encontrado que los pigmentos derivados de antocianos formados por polimerización y los pigmentos poliméricos de alto peso molecular (LPP) han sido positivamente correlacionados con la astringencia percibida en vinos tintos (Brossaud *et al.*, 2001, Boselli *et al.*, 2004, Gawel *et al.*, 2007a, Landon *et al.*, 2008, Oberholster *et al.*, 2009).

Por otra parte, el pH y el etanol parecen jugar un papel importante en la percepción de la astringencia, pero hay algunas controversias en cuanto a los resultados obtenidos. Se ha descrito que el incrementó del etanol del 8 al 10 % no modificó la astringencia percibida (Fischer *et al.*, 1994), así mismo tratamientos combinados de pH (3.4 y 3.6) y etanol (12 y 15 %) demostraron que no generan ningún efecto en la astringencia y sus subcualidades (DeMiglio *et al*, 2002). Sin embargo, otros autores enuncian que la disminución del pH provoca un incremento en la percepción de la astringencia en los vinos (Sowalsky y Noble, 1998, Fontoin *et al.*, 2008), mientras la presencia de etanol incrementa la viscosidad, lo que provoca una reducción de la astringencia percibida (Smith *et al.*, 1996, Smith y Noble, 1998). Algunas publicaciones sugieren que la influencia de etanol en la viscosidad y el cuerpo de los vinos es mínima o nula (Gawel *et al.*, 2007b, Runnebaum *et al.*, 2011). No obstante, la fluctuación de características como el pH, la acidez total y el contenido en etanol en el vino son limitadas como para provocar tendencias en la evolución del vino con respecto a la astringencia y sensaciones en boca (Chira *et al.*, 2012, Mcrae *et al.*, 2012).

En general, algunos de los compuestos citados anteriormente con capacidad de tener implicación en la percepción de la astringencia han permitido identificar

correlaciones significativas útiles en la construcción de modelos predictivos de la astringencia evaluada por un panel sensorial (Boselli *et al*., 2004, Preys *et al*., 2006, Sáenz-Navajas *et al*., 2010ab, Sáenz-Navajas *et al*., 2012, Gonzalo-Diago et al., 2013, Gonzalo-Diago et al., 2014). Sin embargo, hay que tener en cuenta que los mecanismos fisiológicos y fisicoquímicos en el análisis de la astringencia no están plenamente comprendidos y su estudio es todavía necesario.

4. COMPUESTOS FENÓLICOS

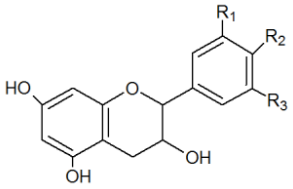
De los compuestos fenólicos citados en los apartados anteriores se les atribuye un papel importante en la percepción de las características organolépticas en boca. Desde el punto de vista enológico, particularmente en los vinos tintos, los compuestos fenólicos juegan un papel importante en el color, la percepción del sabor y las sensaciones táctiles, los cuales están directamente relacionados con la calidad del vino (Pati *et al*., 2006, Gomez-Alonso *et al*., 2007, Perez-Lamela *et al*., 2007, Hufnagel y Hofmann, 2008a, Hufnagel y Hofmann, 2008b, Sáenz-Navajas *et al*., 2010d, Sáenz-Navajas *et al*., 2011a, Frank *et al*., 2011, Ma *et al*., 2014). Según su estructura química (Figura 3), los compuestos fenólicos se caracterizan por presentar un núcleo aromático acompañado de uno o varios grupos hidroxilo. Su clasificación está basada en dos grandes categorías: flavonoides (flavonoles, flavanoles y antocianos) y no flavonoides (ácidos fenólicos y estilbenos).

4.1 Flavonoides

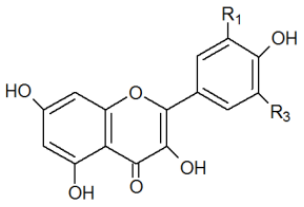
En las uvas y los vinos, los flavonoides son el grupo de compuestos fenólicos de mayor importancia (Cheynier *et al*., 2006). Los flavonoides presentan una estructura base conformada por un esqueleto C_6-C_3-C_6 y están principalmente representados por los flavanoles, flavonoles y pigmentos antociánicos.

FLAVONOIDES

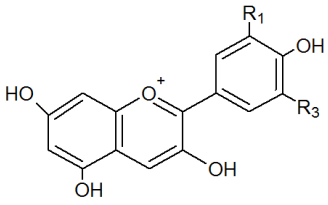
Flavanoles	R_1	R_2	R_3
(+)-Catequina	OH	H	H
(-)-Epicatequina	H	OH	H
(-)-Epigalocatequina	H	OH	OH



Flavonoles	R_1	R_3
Isoharmnetina	H	OCH_3
Kaempferol	H	H
Miricetina	OH	OH
Quercetina	H	OH
Siringetina	OCH_3	OCH_3

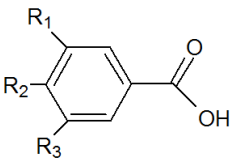


Antocianos	R_1	R_3
Cianidina	OH	H
Delfinidina	OH	OH
Peonidina	OCH_3	H
Petunidina	OCH_3	OH
Malvidina	OCH_3	OCH_3

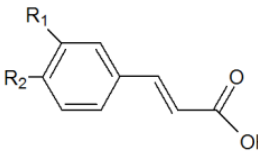


NO FLAVONOIDES

Hidroxibenzoicos	R_1	R_2	R_3
Ácido protocatéquico	OH	OH	H
Ácido gálico	OH	OH	OH
Ácido vainíllico	OCH_3	OH	
Ácido siríngico	OCH_3	OH	OCH_3



Hidroxicinámicos	R_1	R_2
Ácido *p*-cumárico	OH	H
Ácido cafeico	OH	OH
Ácido ferúlico	OCH_3	OH



Estilbenos - Resveratrol

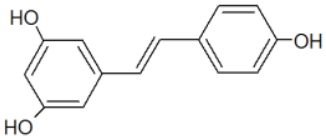


Figura 3. Estructura química de los principales compuestos fenólicos presentes en vinos tintos. Extraído de Gonzalez Hernandez *et al.*, (2014).

4.1.1 Los flavanoles

Este grupo de compuestos está presente como monómeros o formando oligómeros y polímeros. Los oligómeros y los polímeros son conocidos con el nombre de taninos condensados o proantocianidinas (PAs). Se distinguen dos grupos de PAs dependiendo de la naturaleza de la antocianidina liberada (cianidina o delfinidina) en medio ácido. Las *procianidinas* están formadas por unidades de (+)-catequina y (+)-epicatequina mientras que las *prodelfinidinas* están compuestas por unidades de (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina.

En las uvas y vinos, las unidades monómericas habitualmente encontradas son la (+)-catequina, (+)-epicatequina, (+)-galocatequina y (-)-epigalocatequina (Su y Singleton, 1969, Cheynier *et al.*, 2000, Monagas *et al.*, 2005). De hecho, los monómeros de flavanol aparecen en menor concentración, ya que la mayor parte está en forma de taninos condensados (Kennedy *et al.*, 2006). En la estructura química de los monómeros de flavanol, la catequina presenta dos carbonos asimétricos que forman 4 isómeros (+)/(-) catequina y (+)/(-) epicatequina. La presencia de un grupo OH más en el anillo aromático externo de su estructura da lugar a (+)/(-) galocatequinas y (+)/(-) epigalocatequinas. También puede encontrarse sustituido el grupo OH de la posición 3 del heterociclo por una molécula de ácido gálico, dando lugar a (+)/(-) galocatequina-3-*O*-galato y (+)/(-) epigalocatequina-3-*O*-galato.

En relación a las proantocianidinas (oligómeros y polímeros). El término "oligómero" se refiere generalmente a moléculas con un grado de polimerización medio (mDP) entre 2 y 5, mientras que los polímeros consisten en moléculas con un mDP > 5. Las proantocianidinas son un grupo heterogéneo formado por la condensación de dos o más unidades de diversos monómeros de flavanoles unidos por enlaces de tipo B C_4-C_6 ó C_4-C_8 (dímeros) y tipo C (trímeros) o mediante una unión suplementaria de tipo éter entre las posiciones C_2 y los C_5 o C_7 denominados enlaces de tipo A (Xie y Dixon, 2005). Los dímeros de las procianidinas más frecuentemente descritos en los alimentos, presentan generalmente uniones interflavánicas mediante enlaces de tipo B, siendo la más habitual la unión tipo C_4-C_8.

La mayor parte de dímeros identificados en uvas y vinos se unen mediante enlaces de tipo B, se destacan las procianidinas B1, B2, B3 y B4, o por la presencia de dímeros de la serie A, entre ellas la procianidina A1 y A2 (Gonzalez-Manzano *et al.*, 2004).

4.1.2 Los flavonoles

Son pigmentos amarillos que aunque no contribuyen de modo importante al color de los vinos tintos, influyen levemente en la componente amarilla. Varias investigaciones han descrito la participación de estos compuestos en el fenómeno de la copigmentación de las antocianinas (Boulton, 2001, Gutierrez *et al.*, 2005). Los flavonoles presentes en uvas y vinos pueden existir como agliconas o bajo la forma de heterósidos tales como glucósidos, galactósidos, ramnósidos, rutinósidos y glucurónidos. Los mayoritarios en las uvas y vinos son las formas libres de quercetina, miricetina, kaempferol, y sus formas glicosiladas con la glucosa y la galactosa (Cheynier y Rigaud, 1986, Price *et al.*, 1995, Castillo-Munoz *et al.*, 2007).

4.1.3 Pigmentos antociánicos

Son los compuestos responsables del color rojo de las uvas y vinos tintos. En las uvas, están presentes principalmente en los hollejos de las bayas, mientras en las variedades tintoreras están presentes también en la pulpa. Químicamente, son pigmentos formados por una aglicona denominada antocianidina. Estas agliconas son la delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina.

Las antocianidinas identificadas en las uvas y vinos de *Vitis vinifera* se encuentran unidos a monoglucósidos en la posición C_3 del heterociclo. La glucosa puede encontrarse acilada, es decir esterificada en la posición C_6 principalmente con el ácido acético, ácido *p*-cumárico y ácido cafeico, ya que estas uniones les confieren estabilidad (Mazza y Brouillard, 1987, Furtado *et al.*, 1993, Flamini, 2003). También, se han identificado antocianidinas aciladas con ácido láctico en vinos (Alcalde-Eon *et al.*, 2006) y la presencia de 3,5- y 3,7-diglucósido en uvas y vinos (Vidal *et al.*, 2004c, Alcalde-Eon *et al.*, 2006, Castillo-Munoz *et al.*, 2009).

Durante el envejecimiento del vino, los antocianos pueden estar involucrados en diferentes tipos de reacciones; condensación directa entre antocianos y flavanoles

(Haslam, 1977, Remy-Tanneau *et al.*, 2003), condensación mediada por puente de etilo (Timberlake y Bridle, 1976), cicloadición mediante la incorporación del ácido pirúvico, vinilfenol, vinicatecol y acetaldehído al anillo flavilio del antociano (Fulcrand *et al.*, 1996, Fulcrand *et al.*, 1998, Romero y Bakker, 1999, Mateus *et al.*, 2001, Hakansson *et al.*, 2003) y asociaciones intra e intermoleculares como la copigmentación (Boulton, 2001). Este conjunto de reacciones junto con el pH y el contenido de SO_2 afectan al color del vino.

4.2 No flavonoides

En la uva y el vino, los principales compuestos no flavonoides son los ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos) en sus formas libres y esterificadas, y los estilbenos.

4.2.1 Los ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos se dividen en ácidos hidroxibenzoicos y hidroxicinámicos.

a) Los ácidos hidroxibenzoicos y sus derivados están compuestos por un núcleo bencénico con sustituciones en una estructura base C_6-C_1. Los principales ácidos identificados en uvas y vinos tintos son los ácidos gálico, protocatéquico, *p*-hidroxibenzoico, siríngico y vainíllico (Flamini, 2003). Complementariamente a estos compuestos, se han descrito una serie de derivados tales como el éster etílico de los ácidos protocatéquico, vainíllico y gálico, entre otros (Monagas *et al.*, 2005). Durante la crianza, los vinos que han estado en contacto con la madera poseen taninos hidrolizables tales como los galotaninos o elagitaninos, los cuales se hidrolizan a ácido gálico y elágico, respectivamente, a causa de su inestabilidad debida al pH del vino (Jindra y Gallander, 1987, Wilker y Gallander, 1988).

b) Los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados están compuestos por un núcleo bencénico con una cadena lateral insaturada y sustituciones en una estructura base C_6-C_3. En la uva y el vino, los más importantes son los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico, los cuales se encuentran

esterificados con el ácido tartárico dando lugar al ácido caftárico, cutárico y fertárico.

4.2.2 Los estilbenos

Estos compuestos poseen una estructura molecular formada por dos anillos bencénicos unidos generalmente por una cadena de etanol (C_6-C_2-C_6) o eventualmente etileno. Los estilbenos no interfieren en el color y el sabor del vino. El compuesto más abundante y estudiado en las uvas y vinos es el resveratrol, el cual puede encontrarse en sus formas libres (isómeros *cis*/*trans*) o glucosilados (Wang *et al.*, 2002, Chiva-Blanch *et al.*, 2011). Su importancia se debe principalmente a sus funciones beneficiosas para la salud humana entre las que se destacan el potencial efecto antioxidante, anticarcinogénico y protector del sistema circulatorio (Saiko *et al.*, 2008).

5. INTERACCIONES SENSORIALES

Hasta el momento, la revisión se ha centrado en la implicación de compuestos no volátiles en la percepción del sabor y la astringencia del vino. Sin embargo, es importante recordar que el vino posee una matriz compleja, donde la presencia de uno o varios compuestos pueden afectar a las propiedades físicas y químicas de otros compuestos, generando así interacciones tales como "sabor - sabor", "sabor - aroma", "sabor - astringencia" y "astringencia - aroma" (Zamora *et al.*, 2006, Pfeiffer *et al.*, 2006, Hewson *et al.*, 2008, Sáenz-Navajas *et al.*, 2012a). Las posibles interacciones de las sensaciones táctiles y los sabores en alimentos y bebidas sugieren la implicación de mecanismos fisiológicos y psicológicos, los cuales son esenciales para comprender adecuadamente la percepción sensorial.

Se ha descrito que el dulzor afecta la astringencia y el amargor percibido (Fischer *et al.*, 1994, Ares *et al.*, 2009). A concentraciones altas de compuestos astringentes como el sulfato de aluminio o el ácido tánico, la adición de sacarosa genera una disminución de la astringencia percibida, todo lo contrario para bajas concentraciones, donde no se observan efectos (Brannan *et al.*, 2001). Valentova *et al.*, (2002) describieron que la adición de sacarosa suprime la intensidad de la

astringencia percibida en vinos tintos. Martin, (2002) confirmó que la supresión del sabor ácido por parte del dulzor es debido a la variación en la concentración de ácido tartárico y sacarosa en champán. Estudios realizados en un vino tinto reconstituido por Hufnagel y Hofmann, (2008b) detallaron que la omisión de varios compuestos dulces como las aldosas, cetosas y alditoles se convierten en una pérdida de dulzor y en un ligero incremento de la astringencia secante y rugosa, así como del amargor y la acidez.

En relación con la acidez, Tang *et al.*, (2001) y Tiitinen *et al.*, (2005) han establecido que la acidez y las subcualidades astringentes percibidas pueden ser explicadas mas por la relación azúcar/acidez que por el contenido total de ácidos. Hufnagel y Hofmann, (2008b) han demostrado que la omisión de ácidos orgánicos genera la disminución de la astringencia rugosa y el incremento de la astringencia sedosa.

Con respecto al amargor, la presencia de azúcares o glicerol modifica la percepción del amargor (Lyman y Green, 1990, Keast *et al.*, 2004, Jones *et al.*, 2008). Scharbert y Hofmann (2005) comprobaron que la supresión de flavonoles glicosilados y catequina disminuyen el amargor percibido.

En cuanto a la astringencia, en un estudio basado en la supresión de compuestos astringentes y no amargos han observado una disminución de la astringencia y el amargor percibido, lo que parece sugerir una interacción entre ambos (Scharbert y Hofmann, 2005). El descenso del pH y el aumento de la acidez del vino provocan un aumento en la astringencia percibida (Jones *et al.*, 2008), este hecho se debe a que existe un descenso del número de iones fenolato y así un aumento de moléculas no cargadas, las cuales son capaces de formar puentes de hidrogeno con las proteínas.

Un estudio realizado con vinos tintos preparados a partir de la combinación de la fracción volátil y no volátil de distintos vinos, señala que un aumento de las notas frutales provoca un aumento del dulzor, lo que genera un descenso en la astringencia y amargor percibido (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010a). Este hecho se ha relacionado con la presencia de interacciones cognitivas, ya que el aroma frutal hace que un vino sea

percibido como más dulce y por lo tanto menos astringente (Bonnans y Noble, 1993, Prescott, 1999, Zamora y Guirao, 2002). También, se han descrito asociaciones cognitivas entre moléculas con aroma a hierba presentes en el vino con la astringencia (Caporale *et al.*, 2004), así como los aromas a caramelo o fresa con el sabor dulce (Stevenson y Oaten, 2010).

6. CALIDAD

La calidad es un concepto bastante complejo de definir, las normas ISO (2000) han descrito la calidad de los alimentos y bebidas como la habilidad que tienen un grupo de características inherentes de un producto, sistema o proceso para cumplir los requerimientos de los consumidores y las partes interesadas. Charters y Pettigrew, (2007) han detallado la calidad como un concepto multivariante y complejo que en un alimento está relacionado con el valor, la seguridad nutricional y las características organolépticas. Veale y Quester, (2009) han expuesto la calidad como la capacidad que tiene un producto para satisfacer las necesidades.

La calidad del vino puede ser evaluada de diferentes formas, esto depende del tipo de estudio a desarrollar y de los jueces que lo van a realizar. Las puntuaciones de los vinos en términos de calidad percibida van desde mediados del siglo diecinueve con la clasificación oficial del vino de Burdeos de 1855 y el primer concurso de vinos australianos en 1845 (Walsh, 2002). Las competiciones de vinos han sido utilizadas por productores y comerciales del vino como una oportunidad para realizar un control de calidad al producto, así como para publicidad de los mismo (Parr *et al.*, 2006). La forma de cuantificar la calidad del vino se ha realizado por medio de puntuaciones numéricas, premios y medallas que simbolizan el rango de clasificación para cada vino, esta información es habitualmente publicada en guías, artículos de revistas divulgativas, páginas web y en la propia etiqueta del vino. Las escalas de puntuación de las guías más usadas son entre 20 o 100 puntos. La puntuación de 100 puntos parece ser la más aceptada en los Estados Unidos de América, mientras la utilización una escala de hasta 20 puntos parece tener una historia relativamente importarte en Europa (Crettenand, 1999, Peñín, 2012). En lo que se refiere a la forma de evaluación, los paneles o grupos de profesionales realizan tareas descriptivas

puntuando la intensidad de parámetros incluidos en una ficha de cata preestablecida similar a la expuesta en los Anexos XV y XVI empleada por la Organización Internacional de la Viña y el Vino en la cual evalúan caracteres organolépticos relacionados con la vista, el olfato y la nariz (Resolución OIV/concours 332A/2009). Estos parámetros pueden corresponder a atributos monodimensionales como por ejemplo la limpidez o multidimensionales como la calidad del aroma en nariz o en boca. De hecho, los parámetros multidimensionales comprenden una serie de atributos monodimensionales, por ejemplo el "equilibrio en boca" comprende atributos como la astringencia, acidez o amargor (Sáenz-Navajas *et al.*, 2015b).

Otros métodos empleados para evaluar la calidad son las pruebas de categorización. Este tipo de pruebas pueden ser realizadas tanto por expertos como por consumidores, esto depende de los objetivos del estudio. La utilización de este tipo de pruebas permite evaluar la calidad como un único atributo multidimensional bien sea empleando una escala cuyos extremos suelen indicarse con "baja calidad" y "alta calidad", o bien utilizando las categorías; "rechazable/aceptable", "pobre/decepcionante", "correcto/aceptable", "bueno/muy bueno" y "excepcional" como una herramienta para evaluar la calidad del vino por grupos de expertos. (Ferreira *et al.*, 2009, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b).

Sáenz-Navajas *et al.*, (2015) han empleado las pruebas de categorización con cuatro categorías; "muy baja calidad", "baja calidad", "alta calidad" y "muy alta calidad" para evaluar la calidad percibida de consumidores. En este estudio Sáenz-Navajas considera que la puntuación de calidad intrínseca es el resultado de la integración de todos los estímulos recibidos (sabor, aroma y sensaciones táctiles) y no la suma de atributos individuales. Este tipo de pruebas necesita realizarse por un número elevado de jueces o al menos por 20 expertos para generar puntuaciones consensuales y estables.

Gawel y Godden, (2008) indicaron que la evaluación de la calidad debe ser realizada por expertos, ya que estos poseen experiencia y entrenamiento que permite identificar defectos, además de reconocer algunas características típicas del vino tales como la variedad, región o estilo que representan.

Investigaciones recientes realizadas por Sáenz-Navajas *et al.*, (2015) han empleado una prueba de categorización conformada por cuatro categorías; "muy baja calidad", "baja calidad", "alta calidad" y "muy alta calidad" para evaluar la calidad del vino con grupos de consumidores. Aunque los consumidores habitualmente emplean pruebas afectivas que tratan de evaluar el grado de aceptación y preferencia (Stone y Sidel, 2004, Parpinello *et al.*, 2009, Torri *et al.*, 2013, De-Magistris *et al.*, 2014).

Es importante resaltar que la mayoría de consumidores confían en la opinión de los expertos y guías de vinos en el momento comprar un vino (Charters y Pettigrew, 2007, Gawel y Godden, 2008).

La evaluación de la calidad del vino ha sido tradicionalmente realizada por enólogos y otros expertos (Lattey *et al.*, 2010). Sin embargo, la competencia del mercado y la necesidad de incrementar las ventas ha hecho redireccionar el enfoque del marketing tratando de entender el comportamiento, preferencias y la motivación de compra de los consumidores (Lesschaeve, 2007). Para ello, es necesario tratar de definir los atributos sensoriales que hacen que un individuo valore o rechace en vino, de hecho una alternativa es relacionar los datos sensoriales de un panel entrenado y las valoraciones de calidad percibida o preferencias para así definir la calidad (Stone y Sidel, 2004). Diversas investigaciones planteadas explican la calidad percibida o preferencias de los diferentes tipos de jueces "expertos", "guías de vino" y "consumidores" a partir de los atributos sensoriales evaluados por un panel entrenado (Yegge y Noble, 2001, Lesschaeve *et al.*, 2002, Stone y Sidel, 2004, Lesschaeve y Findley, 2005, Parr *et al.*, 2006, Gawel y Godden, 2008, Lattey *et al.*, 2010, Szolnoki y Hoffmann, 2011, Machado y Graca, 2011, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b, Hopfer y Heymann, 2014, Sáenz-Navajas *et al.*, 2015), lo que indica que el consumo de vino tiene un aspecto hedónico, y su calidad está altamente relacionada a sus características sensoriales, las cuales determinan la cantidad de placer (Jover *et al.*, 2004).

REFERENCIAS

Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J.C. 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta* **563**, 238-254.

Amerine, M.A., Pangborn, R.M. and Roessler, E.R. 1965. Principles of sensory evaluation of foods. Academic Press, New York.

Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R. and Gambaro, A. 2009. Alternatives to reduce the bitterness, astringency and characteristic flavour of antioxidant extracts. *Food Research International* **42**, 871-878.

Arnold, R.A., Noble, A.C. and Singleton, V.L. 1980. Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultual and Food Chemistry* **28**, 675-678.

ASTM. 2004. Standard Definitions of Terms Relating to Sensory Evaluation of Materials and Products. *Annual Book of ASTM Standards*, American Society for Testing and Materials, Philadelphia.

Aubry, V., Etievant, P., Sauvageot, F. and Issanchou, S. 1999. Sensory analysis of Burgundy Pinot noir wines: A comparison of orthonasal and retronasal profiling. *Journal of Sensory Studies* **14**, 97-117.

Bajec, M.R. and Pickering, G.J. 2008. Astringency: mechanisms and perception. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **48**, 858-875.

Bauer, R., Cowan, D.A. and Crouch, A. 2010. Acrolein in wine: importance of 3-Hydroxypropionaldehyde and derivatives in production and detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 3243-3250.

Baxter, N.J., Lilley, T.H., Haslam, E. and Williamson, M.P. 1997. Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline rich protein repeat result in complexation and precipitation. *Biochemistry* **36**, 5566-5577.

Biasoto, A.C.T., Catharino, R.R., Sanvido, G.B., Eberlin, M.N. and da Silva, M.A.A.P. 2010. Flavour characterization of red wines by descriptive analysis and ESI mass spectrometry. *Food Quality and Preference* **21**, 755-762.

Blackman, J., Rutledge, D.N., Tesic, D., Saliba, A. and Scollary, G.R. 2010. Examination of the potential for using chemical analysis as a surrogate for sensory analysis. *Analytica Chimica Acta* **660**, 2-7.

Bonnans, S. and Noble, A.C. 1993. Effect of sweetener type and of sweetener and acid levels on temporal perception of sweetness, sourness and fruitiness. *Chemical Senses* **18**, 273-283.

Boselli, E., Boulton, R.B., Thorngate, J.H. and Frega, N.G. 2004. Chemical and sensory characterization of DOC red wines from Marche (Italy) related to vintage and grape cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3843-3854.

Boulton, R. 2001. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: a critical review. *American Journal of Enology and Viticulture* **52**, 67-87.

Bradbury, J. 2004. Taste perception: cracking the code. *Plos Biology* **2**, 295-297.

Brannan, G.D., Setser, C.S. and Kemp, K.E. 2001. Interaction of astringency and taste characteristics. *Journal of Sensory Studies* **16**, 179-197.

Breslin, P.A.S., Gilmore, M.M., Beauchamp, G.K. and Green, B.G. 1993. Psychophysical evidence that oral astringency is a tactile sensation. *Chemical Senses* **18**, 405-417.

Brossaud, F., Cheynier, V. and Noble, A.C. 2001. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **7**, 33-39.

Campo, E., Do, B.V., Ferreira, V. and 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**, 104-115.

Caporale, G., Policastro, S. and Monteleone, E. 2004. Bitterness enhancement induced by cut grass odorant (*cis*-3-hexen-l-ol) in a model olive oil. *Food Quality and Preference* **15**, 219-227.

Castillo-Munoz, N., Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E. and Hermosin-Gutierrez, I. 2007. Flavonol profiles of Vitis vinifera red grapes and their single cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**, 992-1002.

Castillo-Munoz, N., Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E., Gomez, M.V., Velders, A.H. and Hermosin-Gutierrez, I. 2009. Flavonol 3-o-glycosides series of Vitis vinifera cv. Petit Verdot red wine grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 209-219.

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

Cheynier, V. and Rigaud, J. 1986. HPLC separation and characterization of flavonols in the skins of Vitis-vinifera var Cinsault. *American Journal of Enology and Viticulture* **37**, 248-252.

Cheynier, V., Moutounet, M. and Sarni-Manchado, P. 2000. Los compuestos fenólicos. In *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. Flanzy ed. AMV y Mundi-Prensa Ediciones. Madrid, España. pp 114-136.

Cheynier, V., Duenas-Paton, M., Salas, E., Maury, C., Souquet, J.-M., Sarni-Manchado, P. and Fulcrand, H. 2006. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**, 298-305.

Chira, K., Schmauch, G., Saucier, C., Fabre, S. and Teissedre, P.-L. 2009. Grape variety effect on proanthocyanidin composition and sensory perception of skin and seed tannin extracts from Bordeaux wine grapes (Cabernet Sauvignon and Merlot) for two consecutive vintages (2006 and 2007). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 545-553.

Chira, K., Jourdes, M. and Teissedre, P.-L. 2012. Cabernet sauvignon red wine astringency quality control by tannin characterization and polymerization during storage. *European Food Research and Technology* **234**, 253-261.

Chiva-Blanch, G., Urpi-Sarda, M., Rotches-Ribalta, M., Zamora-Ros, R., Llorach, R., Lamuela-Raventos, R.M., Estruch, R. and Andres-Lacueva, C. 2011. Determination of resveratrol and piceid in beer matrices by solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1218**, 698-705.

Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W. and Lin, Y. 1998. Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **38**, 421-464.

Clarke, R.J. and Bakker, J. 2004. Wine flavour chemistry. Blackwell publishing, Oxford, U.K.

Cliff, M.A., King, M.C. and Schlosser, J. 2007. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Research International* **40**, 92-100.

Condelli, N., Dinnella, C., Cerone, A., Monteleone, E. and Bertuccioli, M. 2006. Prediction of perceived astringency induced by phenolic compounds II: criteria for panel selection and preliminary application on wine samples. *Food Quality and Preference* **17**, 96-107.

Crettenand, J. 1999. Tasting cards in international wine competitions. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*. 99-106.

Dadic, M. and Belleau, G. 1973. Polyphenols and beer flavor. *American Society of Brewing Chemists* **4**, 107-114.

Delcour, J.A., Vandenderghe, M.A., Corten, P.F. and Dondeyne, P. 1984. Flavour threshold of polyphenolics in water. *American Journal Enology Viticulture* **35** 134-136.

De la presa-owens, C. and Noble, A.C. 1995. Descriptive analysis of 3 white wine varieties from Penedes. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 5-9.

DeMiglio, P., Pickering, G.J. and Reynolds, A.G. 2002. Astringent subqualities elicited by red wine: the role of ethanol and pH. *Proceedings of the International Bacchus to The Future Conference*. Cullen, C. W., Pickering, G. J. and Phillips, R. (eds). St. Catharines, Ontario. May 23-25. pp 31-52.

Demiglio, P. and Pickering, G.J. 2008. The influence of ethanol and pH on the taste and mouthfeel sensations elicited by red wine. *Journal of Food Agriculture and Environment* **6**, 143-150.

Depledt, F. 1990. Évaluation Sensorielle. Manuel méthodologique. Lavoisier, Paris, Francia.

Desportes, C., Charpentier, M., Duteurtre, B., Maujean, A. and Duchiron, F. 2001. Isolation, identification, and organoleptic characterization of low molecular weight peptides from white wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **52**, 376-380.

de-Magistris, T., Gracia, A. and Albisu, L.-M. 2014. Wine consumers' preferences in Spain: an analysis using the best worst scaling approach. *Spanish Journal of Agricultural Research* **12**, 529-541.

Drake, M.A. 2007. Invited review: sensory analysis of dairy foods. *Journal of Dairy Science* **90**, 4925-4937.

Ebeler, S.E. 2001. Analytical chemistry: unlocking the secrets of wine flavor. *Food Reviews International* **17**, 45-64.

Escudero, A., Campo, E., Farina, L., Cacho, J. and 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**, 4501-4510.

Etaio, I., Elortondo, F.J.P., Albisu, M., Salmeron, J., Ojeda, A., Gaston, E. 2007. Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa., Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz, España.

Etaio, I., Perez Elortondo, F.J., Albisu, M., Gaston, E. and Schlich, P. 2009. Sensory attribute evolution in bottled young red wines from Rioja Alavesa. *European Food Research and Technology* **228**, 695-705

Fernández, K., Kennedy, J.A. and Agosin, E. 2007. Characterization of Vitis vinifera L. cv. Carmenere grape and wine proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**, 3675-3680.

Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Cullere, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M.P. and Cacho, J. 2009. Modeling quality of premium Spanish red wines from gas chromatography olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 7490-7498.

Fischer, U., Boulton, R.B. and Noble, A.C. 1994. Physiological factors contributing to the variability of sensory assessments: relationship between salivary flow rate and temporal perception of gustatory stimuli. *Food Quality and Preference* **5**, 55-64.

Fischer, U., Strasser, M. and Gutzler, K. 2000. Impact of fermentation technology on the phenolic and volatile composition of German red wines. *International Journal of Food Science and Technology* **35**, 81-94.

Flamini, R. 2003. Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: polyphenols. *Mass Spectrometry Reviews* **22**, 218-250.

Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P.-L. and Glories, Y. 2008. Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference* **19**, 286-291.

Fowles, G.W.A. 1992. Acids in grapes and wines: a review. *Journal wine Research* **3**, 25-41.

Frank, S., Wollmann, N., Schieberle, P. and Hofmann, T. 2011. Reconstitution of the flavor signature of dornfelder red wine on the basis of the natural concentrations of its key aroma and taste compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**, 8866-8874.

Fulcrand, H., dosSantos, P.J.C., SarniManchado, P., Cheynier, V. and FavreBonvin, J. 1996. Structure of new anthocyanin derived wine pigments. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions* **1**, 735-739.

Fulcrand, H., Benabdeljalil, C., Rigaud, J., Cheynier, V. and Moutounet, M. 1998. A new class of wine pigments generated by reaction between pyruvic acid and grape anthocyanins. *Phytochemistry* **47**, 1401-1407.

Furtado, P., Figueiredo, P., Dasneves, H.C. and Pina, F. 1993. Photochemical and thermal degradation of anthocyanidins. *Journal of Photochemistry and Photobiology a Chemistry* **75**, 113-118.

Ganzevles, P.G.J. and Kroeze, J.H.A. 1987. The sour taste of acids the hydrogen ion and the undissociated acid as sour agents. *Chemical Senses* **12**, 563-576.

Gawel, R. and Godden, P.W. 2008. Evaluation of the consistency of wine quality assessments from expert wine tasters. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**, 1-8.

Gawel, R., Oberholster, A. and Francis, I.L. 2000. A 'Mouthfeel Wheel': terminology for communicating the mouthfeel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6**,203-207.

Gawel, R., Iland, P.G. and Francis, I.L. 2001. Characterizing the astringency of red wine: a case study. *Food Quality and Preference* **12**, 83-94.

Gawel, R., Francis, L. and Waters, E.J. 2007a. Statistical correlations between the inmouth textural characteristics and the chemical composition of Shiraz wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**, 2683-2687.

Gawel, R., Van Sluyter, S. and Waters, E.J. 2007b. The effects of ethanol and glycerol on the body and other sensory characteristics of Riesling wines. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**, 38-45.

Gilbertson, T.A. and Boughter, J.D. 2003. Taste transduction: appetizing times in gustation. *Neuroreport* **14**, 905-911.

Glabasnia, A. and Hofmann, T. 2006. Sensory-directed identification of taste-active ellagitannins in American (Quercus alba L.) and European oak wood (Quercus robur L.) and quantitative analysis in Bourbon whiskey and oak matured red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 3380-3390.

Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E. and Hermosin-Gutierrez, I. 2007. HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* **20**, 618-626.

Gonzalez Hernandez, M., Avizcuri Inac, J.M., Dizy, M.D., Fernández, P. 2014. Ultra performance liquid chromatography coupled to ultraviolet-vis and mass spectometry detector for screening of organic acids and polyphenols in red wine. In *High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Principles, Practices and Procedures*. Y. Zuo, ed. Nova Science Publishers. New York. pp 267-298.

Gonzalez-Manzano, S., Rivas-Gonzalo, J.C. and Santos-Buelga, C. 2004. Extraction of flavan-3-ols from grape seed and skin into wine using simulated maceration. *Analytica Chimica Acta* **513**, 283-289.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2013. Taste and mouthfeel properties of red wines proanthocyanidins and their relation to the chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 8861-8870.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2014. Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chemistry* **154**, 187-198.

Guinard, J.X. and Cliff, M. 1987. Descriptive analysis of Pinot Noir wines from carneros, napa, and sonoma. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 211-215.

Guinard, J.X., ZoumasMorse, C. and Walchak, C. 1997. Relation between parotid saliva flow and composition and the perception of gustatory and trigeminal stimuli in foods. *Physiology & Behavior* **63**, 109-118.

Gutierrez, I.H., Lorenzo, E.S.P. and Espinosa, A.V. 2005. Phenolic composition and magnitude of copigmentation in young and shortly aged red wines made from the cultivars, Cabernet Sauvignon, Cencibel, and Syrah. *Food Chemistry* **92**, 269-283.

Gutierres, A.V.L., Darias, J., Armas, R., Medina, M.R. and Diaz, M.E. 1998. Descriptive analysis of three white wine varieties cultivated in the Canary Islands. *American Journal of Enology and Viticulture* **49**, 440-444.

Hakansson, A.E., Pardon, K., Hayasaka, Y., de Sa, M. and Herderich, M. 2003. Structures and colour properties of new red wine pigments. *Tetrahedron Letters* **44**, 4887-4891.

Harbertson, J.F., Picciotto, E.A. and Adams, D.O. 2003. Measurement of polymeric pigments in grape berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching. *American Journal of Enology and Viticulture* **54**, 301-306.

Haslam, E. 1977. Symmetry and promiscuity in procyanidin biochemistry. *Phytochemistry* **16**, 1625-1640.

Hersleth, M., Mevik, B.H., Naes, T. and Guinard, J.X. 2003. Effect of contextual factors on liking for wine use of robust design methodology. *Food Quality and Preference* **14**, 615-622.

Heymann, H. and Noble, A.C. 1987. Descriptive analysis of commercial Cabernet Sauvignon wines from California. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 41-44.

Heymann, H. and Noble, A.C. 1989. Comparison of canonical variate and principal component analyses of wine descriptive analysis data. *Journal of Food Science* **54**, 1355-1358.

Hewson, L., Hollowood, T., Chandra, S. and Hort, J. 2008. Taste-aroma interactions in a citrus flavoured model beverage system: similarities and differences between acid and sugar type. *Food Quality and Preference* **19**, 323-334.

Hopfer, H. and Heymann, H. 2014. Judging wine quality: do we need experts, consumers or trained panelists?. *Food Quality and Preference* **32**, 221-233.

Huang, Y.-J., Maruyama, Y., Dvoryanchikov, G., Pereira, E., Chaudhari, N. and Roper, S.D. 2007. The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell-cell communication in mouse taste buds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 6436-6441.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008a. Orosensory directed identification of astringent mouthfeel and bitter tasting compounds in red wine. Journal of *Agricultural and Food Chemistry* **56**, 1376-1386.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008b. Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 9190-9199.

Hughson, A.L. and Boakes, R.A. 2002. The knowing nose: the role of knowledge in wine expertise. *Food Quality and Preference* **13**, 463-472.

Institute of Food Technologist 1975. Minutes of the sensory evaluation division business meeting. Chicago, EEUU.

Ishikawa, T. and Noble, A.C. 1995. Temporal perception of astringency and sweetness in red wine. *Food Quality and Preference* **6**, 27-33.

ISO 8586-1. 1993. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors, Part1: selected assessors. Geneva,Switzerland.

ISO 8586-2. 1994. General guidance for the selection, training and monitoring of assessors. Part 2: expert. Geneva, Switzerland.

ISO. NORM 9000. 2000. Quality management systems fundamentals and vocabulary. Geneva, Switzerland.

Issanchou, S., Schlich, P. and Lesschaeve, I. 1997. Sensory analysis: methodological aspects relevant to the study of cheese. *Lait* **77**, 5-12.

Jackson, R.S. 1994. Wine Science. In *Principles and Applications*. Academic Press, New York.

Jackson, R.S. 2000. Wine Science. In *Principles, Practice, Perception*. Academic press, San Diego, California. pp. 665.

Jindra, J.A. and Gallander, J.F. 1987. Effect of American and French oak barrels on the phenolic composition and sensory quality of Seyval blanc wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 133-138.

Jones, P.R., Gawel, R., Francis, I.L. and Waters, E.J. 2008. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference* **19**, 596-607.

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

Kallithraka, S., Bakker, J. and Clifford, M.N. 1997. Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in model solution. *Journal of Sensory Studies* **12**, 25-37.

Kallithraka, S., Bakker, J. and Clifford, M.N. 2001. Interaction of (+)-catechin, (-)-epicatechin, procyanidin B2 and procyanidin C1 with pooled human saliva in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**, 261-268.

Keast, R.S.J., Canty, T.M. and Breslin, P.A.S. 2004. The influence of sodium salts on binary mixtures of bitter tasting compounds. *Chemical Senses* **29**, 431-439.

Kennedy, J.A., Saucier, C. and Glories, Y. 2006. Grape and wine phenolics: history and perspective. *American Journal of Enology and Viticulture* **57**, 239-248.

Kinnamon, J.C. 1987. Organization and innervation of taste buds. In *Neurobiology of taste and smell*. FingerTE and W.L. Silwer eds. John Wiley and Sons. New York.

Kinnamon, S.C. 1996. Taste transduction: linkage between molecular mechanisms and psychophysics. *Food Quality and Preference* **7**, 153-159.

Lattey, K.A., Bramley, B.R. and 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**, 189-202.

Landon, J.L., Weller, K., Harbertson, J.F. and Ross, C.F. 2008. Chemical and sensory evaluation of astringency in Washington State red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **59**, 153-158.

Lawless, H.T. and Heymann, H. 1988. Descriptive analysis. In *Sensory evaluation of principles and practices*. KA/PP, ed. New York.

Lawless, H., Liu, Y.F. and Goldwyn, C. 1997. Evaluation of wine quality using a small-panel hedonic scaling method. *Journal of Sensory Studies* **12**, 317-332.

Lee, C.B. and Lawless, H.T. 1991. Time course of astringent sensations. *Chemical Senses* **16**, 225-238.

Lesschaeve, I., Norris, L.N. and Lee, T.H. 2002. Defining and targeting consumer preference. In *Proceedings of the Eleventh Australian Wine Australian Wine Industry Technical Conference; 7 - 11 October 2001.* R.J. Blair, P.J. Williams & P.B. Hoj, eds. pp 118-122. South Australia, Australia.

Lesschaeve, I. and Findley, C. 2005. Development of a wine style guided by consumer research. In *Proceedings of the Twelfth Australian Wine Industry Technical Conference; 24 - 29 July 2004*. R.J. Blair, P. Williams & I.S. Pretorius, eds. pp 34-37. Vitoria, Australia.

Lesschaeve, I. and Noble, A.C. 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *American Journal of Clinical Nutrition* **81**, 330S-335S.

Lesschaeve, I. 2007. Sensory evaluation of wine and commercial realities: review of current practices and perspectives. *American Journal of Enology and Viticulture* **58**, 252-258.

Lillo, M.P.Y., Latrille, E., Casaubon, G., Agosin, E., Bordeu, E. and Martin, N. 2005. Comparison between odour and aroma profiles of Chilean Pisco spirit. *Food Quality and Preference* **16**, 59-70.

Llaudy, M.C., Canals, R., Canals, J.M., Rozes, N., Arola, L. and Zamora, F. 2004. New method for evaluating astringency in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 742-746.

Lorrain, B., Chira, K. and Teissedre, P.-L. 2011. Phenolic composition of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes from Bordeaux vineyard for the 2009 vintage: comparison to 2006, 2007 and 2008 vintages. *Food Chemistry* **126**, 1991-1999.

Lyman, B.J. and Green, B.G. 1990. Oral astringency effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses* **15**, 151-164.

Ma, W., Guo, A., Zhang, Y., Wang, H., Liu, Y. and Li, H. 2014. A review on astringency and bitterness perception of tannins in wine. *Trends in Food Science & Technology* **40**, 6-19.

Maga, J.A. and Lorenz, K. 1973. Taste threshold values for phenolic acids which can influence flavor properties of certain flours, grains and oilseeds. *Cereal Science Today* **18**, 326-328.

Margalit, Y. 2004. Concepts in wine chemistry. In *The wine appreciation guild*. San Francisco, EEUU.

Martin, N. 2002. Sweet/sour balance in champagne wine and dependence on taste/odour interactions. *Food Quality and Preference* **13**, 295-305.

Mateus, N., Silva, A.M.S., Vercauteren, J. and de Freitas, V. 2001. Occurrence of anthocyanin derived pigments in red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 4836-4840.

Mattes, R.D. and DiMeglio, D. 2001. Ethanol perception and ingestion. *Physiology & Behavior* **72**, 217-229.

Mazza, G. and Brouillard, R. 1987. Recent developments in the stabilization of anthocyanins in food products. *Food Chemistry* **25**, 207-225.

McCloskey, L.P., Sylvan, M. and Arrhenius, S.P. 1996. Descriptive analysis for wine quality experts determining appellations by Chardonnay wine aroma. *Journal of Sensory Studies* **11**, 49-67.

Machado, B. and Graca Antonio. 2011. Revealing the secret preferences for top-rated dry red wines through sensometric. In *16 Internationales Oenologisches Symposium*. pp 145-149. Bozen, Italien.

McRae, J.M., Dambergs, R.G., Kassara, S., Parker, M., Jeffery, D.W., Herderich, M.J. and Smith, P.A. 2012. Phenolic compositions of 50 and 30 year sequences of Australian red wines: the impact of wine age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 10093-10102.

Meilgaard, M.M., Civille, G.V. and Carr, T. 2007. Overall difference test: does a sensory difference exist between samples?. In *Sensory evaluation techniques*. CRC Press. pp 63-104. New York.

Meyerhof, W., Born, S., Brockhoff, A. and Behrens, M. 2011. Molecular biology of mammalian bitter taste receptors. A review. *Flavour and Fragrance Journal* **26**, 260-268.

Monagas, M., Bartolome, B. and Gomez-Cordoves, C. 2005. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **45**, 85-118.

Monagas, M. and Bartolomé, B. 2009. Anthocyanins and anthocyanin derived compounds. In *Wine chemistry and biochemistry*. Moreno arribas, M.C, ed. Springer. New York, EEUU. pp 439-456.

Monteleone, E., Condelli, N., Dinnella, C. and Bertuccioli, M. 2004. Prediction of perceived astringency induced by phenolic compounds. *Food Quality and Preference* **15**, 761-769.

Nicod, H. 2000. La evaluación sensorial. Objetivos y métodos del análisis sensorial. Perpiñán, Francia

Noble, A.C. and Bursick, G.F. 1984. The contribution of glycerol to perceived viscosity and sweetness in white wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **35**, 110-112.

Noble, A.C., Strauss, C.R., Williams, P.J. and Wilson, B. 1988. Contribution of terpene glycosides to bitterness in Muscat wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **39**, 129-131.

Noble, A.C. 1994. Bitterness in wine. *Physiology & Behavior* **56**, 1251-1255.

Noguerol-Pato, R., Gonzalez-Barreiro, C., Cancho-Grande, B. and Simal-Gandara, J. 2009. Quantitative determination and characterisation of the main odourants of Mencia monovarietal red wines. *Food Chemistry* **117**, 473-484.

Oberholster, A., Francis, I.L., Iland, P.G. and Waters, E.J. 2009. Mouthfeel of white wines made with and without pomace contact and added anthocyanins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 59-69.

Okamura, S. and Watanabe, M. 1981. Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality. *Agricultural and Biological Chemistry* **45**, 2063-2070.

Ossebaard, C.A., Polet, I.A. and Smith, D.V. 1997. Amiloride effects on taste quality: comparison of single and multiple response category procedures. *Chemical Senses* 22, 267-275.

Ough, C.S. and Amerine, M.A. 1988. Methods for analysis of musts and wines. John Wiley and Sons. New York.

Parpinello, G.P., Versari, A., Chinnici, F. and Galassi, S. 2009. Relationship among sensory descriptors, consumer preference and color parameters of Italian Novello red wines. *Food Research International* **42**, 1389-1395.

Parr, W.V., White, K.G. and Heatherbell, D.A. 2004. Exploring the nature of wine expertise: what underlies wine experts' olfactory recognition memory advantage?. *Food Quality and Preference* **15**, 411-420.

Parr, W.V., Green, J.A. and White, K.G. 2006. Wine judging, context and New Zealand Sauvignon Blanc. *European Review of Applied Psychology Revue Europeenne De Psychologie Appliquee* **56**, 231-238.

Pati, S., Losito, I., Gambacorta, G., La Notte, E., Palmisano, F. and Zambonin, P.G. 2006. Simultaneous separation and identification of oligomeric procyanidins and anthocyanin derived pigments in raw red wine by HPLC-UV-ESI-MSn. *Journal of Mass Spectrometry* **41**, 861-871.

Peleg, H. and Noble, A.C. 1995. Perceptual properties of benzoic acid derivatives. *Chemical Senses* **20**, 393-400.

Peleg, H., Bodine, K.K. and Noble, A.C. 1998. The influence of acid on astringency of alum and phenolic compounds. *Chemical Senses* **23**, 371-378.

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. 1999. Bitterness and astringency of flavan-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**, 1123-1128.

Perez-Lamela, C., Garcia-Falcon, M.S., Simal-Gandara, J. and Orriols-Fernández, I. 2007. Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the colour stability of young red wines. *Food Chemistry* **101**, 601-606.

Peñín, J. 2012. Guía Peñín de los vinos de España. PI&ERRE. Madrid, España. pp 1324.

Peynaud, E. 1996. The taste of wine. Jhon Wiley and Sons. New York.

Peynaud., E. 1999. Enología practica. In *Conocimiento y elaboración de vino*. Madrid, España.

Pfeiffer, J.C., Hort, J., Hollowood, T.A. and Taylor, A.J. 2006. Taste aroma interactions in a ternary system: a model of fruitiness perception in sucrose/acid solutions. *Perception & Psychophysics* **68**, 216-227.

Piombino, P., Nicklaus, S., Le Fur, Y., Moio, L. and Le Quere, J.L. 2004. Selection of products presenting given flavor characteristics: an application to wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **55**, 27-34.

Prescott, J. 1999. Flavour as a psychological construct: implications for perceiving and measuring the sensory qualities of foods. *Food Quality and Preference* **10**, 349-356.

Preys, S., Mazerolles, G., Courcoux, P., Samson, A., Fischer, U., Hanafi, A., Bertrand, D. and Cheynier, V. 2006. Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Analytica Chimica Acta* **563**, 126-136.

Price, S.F., Breen, P.J., Valladao, M. and Watson, B.T. 1995. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot Noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 187-194.

Quijada-Morin, N., Regueiro, J., Simal-Gandara, J., Tomas, E., Rivas-Gonzalo, J.C. and Teresa Escribano-Bailon, M. 2012. Relationship between the sensory determined astringency and the flavanolic composition of red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 12355-12361.

Rainey, B.A. 1986. Importance of reference standards in training panellist. *Journal of Sensory Studies* **1**, 149-154.

Reilly, C.E. 2000. L-glutamate receptor identified as taste receptor of umami. *Journal of Neurology* **247**, 402-403.

Reineccius, G. 2005. Flavor chemistry and technology. CRC press. New York.

Remy-Tanneau, S., Le Guerneve, C., Meudec, E. and Cheynier, V. 2003. Characterization of a colorless anthocyanin flavan-3-ol dimer containing both carbon-carbon and ether interflavanoid linkages by NMR and mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 3592-3597.

Robichaud, J.L. and Noble, A.C. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **53**, 343-353.

Roessler, E.B., Baker, G.A. and Amerine, M.A. 1956. One tailed adn two tailed test in organoleptic comparison. *Journal of Food Science* **21**, 117-121.

Romero, C. and Bakker, J. 1999. Interactions between grape anthocyanins and pyruvic acid, with effect of pH and acid concentration on anthocyanin composition and color in model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 3130-3139.

Rossi, J.A. and L, S.V. 1966. Flavour effects and adsorptive properties of purified fractions of grape seed phenols. *American Journal of Enology and Viticulture* **17**, 240-246.

Rouzet, E. and Seguin G. 2005. El marketing del vino: saber vender el vino. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España.

Rubico, S.M. and McDaniel, M.R. 1992. Sensory evaluation of acids by free choice profiling. *Chemical Senses* **17**, 273-289.

Runnebaum, R.C., Boulton, R.B., Powell, R.L. and Heymann, H. 2011. Key constituents affecting wine body an exploratory study. *Journal of Sensory Studies* **26**, 62-70.

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D. and Ferreira, V. 2010. An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry* **121**, 1139-1149.

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Cullere, L., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D. and Ferreira, V. 2010a. Effects of the nonvolatile matrix on the aroma perception of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 5574-5585.

Sáenz-Navajas, M.P., Ferreira, V., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2010b. Characterization of taste active fractions in red wine combining HPLC fractionation, sensory analysis and ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta* **673**, 151-159.

Sáenz-Navajas, M.P., Tao, Y.S., Dizy, M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2010c. Relationship between nonvolatile composition and sensory properties of premium Spanish red wines and their correlation to quality perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 12407-12416.

Sáenz-Navajas, M.P., Echavarri, F., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2011. Pigment composition and color parameters of commercial Spanish red wine samples: linkage to quality perception. *European Food Research and Technology* **232**, 877-887.

Sáenz-Navajas, M.-P., Avizcuri, J.-M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2012a. Insights on the chemical basis of the astringency of Spanish red wines. *Food Chemistry* **134**, 1484-1493.

Sáenz-Navajas, M.P., Gonzalez-Hernandez, M., Campo, E., Fernández-Zurbano, P. and Ferreira, V. 2012b. 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**, 268-279.

Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Sutan, A., Ballester, J. and Valentin, D. 2013. Perception of wine quality according to extrinsic cues: the case of Burgundy wine consumers. *Food Quality and Preference* **27**, 44-53.

Sáenz-Navajas, M.-P., Avizcuri, J.-M., Ballester, J., Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D. and Valentin, D. 2015. Sensory active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *Lwt Food Science and Technology* **60**, 400-411.

Saiko, P., Szakmary, A., Jaeger, W. and Szekeres, T. 2008. Resveratrol and its analogs: defense against cancer, coronary disease and neurodegenerative maladies or just a fad?. *Mutation Research Reviews in Mutation Research* **658**, 68-94.

Saint Pierre, B. 2000. El jurado del análisis sensorial. In *Fundamentos científicos y enológicos*. Mundi Prensa. Madrid, España.

San Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J. and 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**, 7916-7924.

San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V. and 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**, 5045-5056.

Sarni-Manchado, P., Cheynier, V. and Moutounet, M. 1999. Interactions of grape seed tannins with salivary proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **47**, 42-47.

Sass-Kiss, A., Kiss, J., Havadi, B. and Adanyi, N. 2008. Multivariate statistical analysis of botrytised wines of different origin. *Food Chemistry* **110**, 742-750.

Sauvageot, F and Dacremont, C. 2001. L'evaluation sensorielle a la portee de tous. Ou les premiers pas en évaluation sensoriell. Épuise. Lavoisier S.A.S. Borgoña, Francia. pp 47.

Scharbert, S., Holzmann, N. and Hofmann, T. 2004. Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3498-3508.

Scharbert, S. and Hofmann, T. 2005. Molecular definition of black tea taste by means of quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 5377-5384.

Scinska, A., Koros, E., Habrat, B., Kukwa, A., Kostowski, W. and Bienkowski, P. 2000. Bitter and sweet components of ethanol taste in humans. *Drug and Alcohol Dependence* **60**, 199-206.

Singleton, V.L. and Esau, P. 1969. Phenolic substances in grapes and wine, and their significance. *Advances in food research Supplement* 1, 1-261.

Singleton, V.L. and Noble, A.C. 1976. Wine flavor and phenolic substances. In *Phenolic sulfur, and nitrogen compounds in food flavors*. society, ed. Washington D.C. pp 81-94.

Smith, A.K., June, H. and Noble, A.C. 1996. Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. *Food Quality and Preference* **7**, 161-166.

Smith, A.K. and Noble, A.C. 1998. Effects of increased viscosity on the sourness and astringency of aluminum sulfate and citric acid. *Food Quality and Preference* **9**, 139-144.

Smith, D.V. and Margolskee, R.F. 2001a. El sentido del gusto. *Investigación y Ciencia* **296**, 65-71.

Smith, D.V. and Margolskee, R.F. 2001b. Making sense of taste. *Scientific American* **284**, 32-39.

Sowalsky, R.A. and Noble, A.C. 1998. Comparison of the effects of concentration, pH and anion species on astringency and sourness of organic acids. *Chemical Senses* **23**, 343-349.

Stevenson, R.J. and Oaten, M.J. 2010. Sweet odours and sweet tastes are conflated in memory. *Acta Psychologica* **134**, 105-109.

Stone, H. and Sidel, J.L. 2004. Sensory Evaluation Practices. Elsevier INC. Orlando, Florida.

Szolnoki, G. and Hoffmann, D. 2011. What makes a good Bordeaux wine? A sensory characterization of Bordeaux and Bordeaux Supérieur red wines based on regression analysis. In *6 Th AWBR International Conference, 9-10 June*. Bordeaux, France.

Su, C.T. and Singleto.Vl 1969. Identification of three flavan-3-ols from grapes. *Phytochemistry* **8**, 1553-1558.

Tang, X.R., Kalviainen, N. and Tuorila, H. 2001. Sensory and hedonic characteristics of juice of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides L.) origins and hybrids. *Food Science and Technology* **34**, 102-110.

Thomas, C.J.C. and Lawless, H.T. 1995. Astringent subqualities in acids. *Chemical Senses* **20**, 593-600.

Thorngate, J.H. and Noble, A.C. 1995. Sensory evaluation of bitterness and astringency of 3r(-)-epicatechin and 3s(+)-catechin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **67**, 531-535.

Thorngate, J.H. 1997. The physiology of human sensory response to wine: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **48**, 271-279.

Tian, R.R., Li, G., Wan, S.B., Pan, Q.H., Zhan, J.C., Li, J.M., Zhang, Q.H. and Huang, W.D. 2009. Comparative study of 11 phenolic acids and five flavan-3-ols in cv. Vidal: impact of natural icewine making versus concentration technology. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 216-222.

Tiitinen, K.M., Hakala, M.A. and Kallio, H.P. 2005. Quality components of sea buckthorn (Hippophae rhamnoides) varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 1692-1699.

Timberlake, C.F. and Bridle, P. 1976. Interactions between anthocyanins, phenolic compounds, and acetaldehyde and their significance in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **27**, 97-105.

Torri, L., Noble, A.C. and Heymann, H. 2013. Exploring American and Italian consumer preferences for Californian and Italian red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **93**, 1852-1857.

Valentin, D., Chollet, S. and Abdi, H. 2003. Les mots du vins: Experts et novices diffèrent ils quand ils dècrivent des vins?. *Corpus* **2**, 183-200.

Valentova, H., Skrovankova, S., Panovska, Z. and Pokorny, J. 2002. Time intensity studies of astringent taste. *Food Chemistry* **78**, 29-37.

Verette, E., Noble, A.C. and Somers, T.C. 1988. Hydroxycinnamates of Vitis vinifera sensory assessment in relation to bitterness in white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **45**, 267-272.

Veale, R. and 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**, 134-144.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. and Waters, E.J. 2003. The mouthfeel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**, 564-573.

Vidal, S., Courcoux, P., Francis, L., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Williams, P., Waters, E. and Cheynier, V. 2004a. Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouthfeel perception. *Food Quality and Preference* **15**, 209-217.

Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V. and Waters, E. 2004b. Taste and mouthfeel properties of different types of tannin-like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica Acta* **513**, 57-65.

Vidal, S., Meudec, E., Cheynier, V., Skouroumounis, G. and Hayasaka, Y. 2004c. Mass spectrometric evidence for the existence of oligomeric anthocyanins in grape skins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 7144-7151.

Viot, C. 2012. Subjective knowledge, product attributes and consideration set: a wine application. *International Journal of Wine Business Research* **24**, 219-248.

Wang, Y., Catana, F., Yang, Y.N., Roderick, R. and van Breemen, R.B. 2002. An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 431-435.

Warmke, R., Belitz, H.D. and Grosch, W. 1996. Evaluation of taste compounds of Swiss cheese (Emmentaler). *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung* **203**, 230-235.

Wilker, K.L. and Gallander, J.F. 1988. Comparison of seyval blanc wine aged in barrels and stainless steel tanks with oak chips. *American Journal of Enology and Viticulture* **39**, 38-43.

Whiting, G.C. 1976. Organic acid metabolism of yeasts during fermentation of alcoholic beverages. Review. *Journal of the Institute of Brewing* **82**, 84-92.

Wilson, C.W.M., Obrien, C. and Macairt, J.G. 1973. Effect of metronidazole on human taste threshold to alcohol. *British Journal of Addiction* **68**, 99-110.

Wollmann, N. and Hofmann, T. 2013. Compositional and sensory characterization of red wine polymers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 2045-2061.

Wu, L.S., Bargmann, R.E. and Powers, J.J. 1977. Factor analysis applied to wine descriptors. *Journal of Food Science* **42**, 944-952.

Xie, D.Y. and Dixon, R.A. 2005. Proanthocyanidin biosynthesis still more questions than answers?. *Phytochemistry* **66**, 2127-2144.

Yamaguchi, S. 1979. The Umami Taste. In *Food Taste Chemistry*. Boudreau, J. C. ed. Washington, DC. pp 33–51.

Yegge, J.M. and Noble, A.C. 2001. The identification of sensory and non-sensory attributes of California Chardonnay wines that influence acceptance and pursache intent for differing segments of consumers. In *Proceddings of the American Society of Enology and Viticulture, 50th Anniversary Annual Meeting* (J. Rantz, ed). pp 28-31. Seatle, USA.

Yokotsuka, K. and Singleton, V.L. 1995. Interactive precipitation between phenolic fractions and peptides in wine-like model solutions turbidity, particle size, and residual content as influenced by ph, temperature and peptide concentration. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 329-338.

Zamora, F. 2003. Elaboración y crianza del vino tinto: aspectos científicos y prácticos. AMV ed. Madrid, España. pp 3-46.

Zamora, M.C., Goldner, M.C. and Galmarini, M.V. 2006. Sourness-sweetness interactions in different media: white wine, ethanol and water. *Journal of Sensory Studies* **21**, 601-611.

Zamora, M.C. and Guirao, M. 2002. Analysing the contribution of orally perceived attributes to the flavor of wine. *Food Quality and Preference* **13**, 275-283.

Zuñiga, J.R., Davis, S.H., Englehardt, R.A., Miller, I.J., Schiffman, S.S. and Phillips, C. 1993. Taste performance on the anterior human tongue varies with fungiform taste bud density. *Chemical Senses* **18**, 449-460.

CAPÍTULO 1

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ULTRA RESOLUCIÓN ACOPLADA A UN DETECTOR ULTRAVIOLETA VISIBLE Y ESPECTRÓMETRO DE MASAS PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS ORGÁNICOS Y POLIFENOLES EN VINOS TINTOS

1.1 INTRODUCCIÓN

Los ácidos orgánicos y polifenoles constituyen un amplio número de compuestos de gran interés en la salud humana y la calidad de los alimentos. Desde el punto de vista enológico, los ácidos orgánicos tales como los ácidos tartárico, málico, láctico, cítrico y succínico son importantes en las diferentes etapas de vinificación, principalmente durante la fermentación alcohólica y maloláctica, así como en los procesos de envejecimiento donde contribuyen a la estabilidad química y control microbiológico (Peynaud, 1999). Los polifenoles como los ácidos fenólicos, flavanoles, flavonoles, antocianos y estilbenos juegan un papel relevante en el color y en la percepción sensorial del sabor, sensaciones en boca, así como en la calidad global del vino (Pati *et al.*, 2006, Gomez-Alonso *et al.*, 2007, Perez-Lamela *et al.*, 2007, Hufnagel y Hofmann, 2008a, Hufnagel y Hofmann, 2008b, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011a, Frank *et al.*, 2011).

Los métodos analíticos empleados en la determinación de los ácidos orgánicos y polifenoles en uvas, zumo de frutas, vino y otras bebidas están basados en la cromatografía líquida de alta eficiencia en fase reversa (RP-HPLC) acoplada esta a sistemas de detección como el ultravioleta (UV), fluorescencia (F), diodos en filas "*diode array*" (DAD) y espectrometría de masas (MS) u otras técnicas de separación tales como la cromatografía de gases y la electroforesis capilar (Amakura *et al.*, 2000, Rodriguez-Delgado *et al.*, 2001, Jirovsky *et al.*, 2003, Zotou *et al.*, 2004, Kolouchova-Hanzlikova *et al.*, 2004, Ayaz *et al.*, 2005, Cao *et al.*, 2005, Proestos *et al.*, 2005, Nicoletti *et al.*, 2008, Mendoza *et al.*, 2011, Huang *et al.*, 2015). Los métodos RP-HPLC más habitualmente empleados utilizan eluciones isocráticas, columnas C_{18}, y las fases móviles; agua acidificada, acetonitrilo o metanol (Sato *et al.*, 1997, Wang *et al.*, 2002, Vidal *et al.*, 2004b, Alcalde-Eon *et al.*, 2006, Hernandez *et al.*, 2006, Pati *et al.*, 2006, Hufnagel y Hofmann, 2008b, Cavaliere *et al.*, 2008, Jaitz *et al.*, 2010, Pereira *et al.*, 2010, Ivanova *et al.*, 2011, Dias *et al.*, 2012, Alberts *et al.*, 2012). Determinados métodos requieren un pre-tratamiento de la muestra para eliminar de la matriz las interferencias de compuestos fenólicos condensados, proteínas, grasas y

polisacáridos (Verette *et al.*, 1995, Castellari *et al.*, 2000, Chen *et al.*, 2001, Cunha *et al.*, 2002, Chen y Zuo, 2007, Zhang *et al.*, 2011, Cui *et al.*, 2012). En la determinación de compuestos fenólicos de bajo peso molecular, la separación cromatográfica de permeación en gel (GPC) es un pre-tratamiento útil para prevenir las interferencias generadas por las proantocianidinas, mejorando así la caracterización de los compuestos fenólicos (Remy *et al.*, 2000, Vidal *et al.*, 2003, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d). No obstante, hay métodos propuestos que realizan una inyección directa de la muestra en el sistema cromatográfico (Zafrilla *et al.*, 2003, Pereira *et al.*, 2010).

Durante los últimos años, la cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC) y la cromatografía líquida de ultra resolución (UPLC) han empezado a destacar en la determinación de los compuestos fenólicos en el vino (Gruz *et al.*, 2008, Schwarz *et al.*, 2009, Arapitsas *et al.*, 2012, Flamini *et al.*, 2015). Las dos terminologías son empleadas, siendo la principal cuestión el registro de marca, aunque existen algunas controversias relacionadas con las siglas que describen estos sistemas cromatográficos. La sigla UPLC fue introducido en el 2004 por la corporación Waters, con un rango de presión de trabajo entre 6.000 a 15.000 psi (Plumb *et al.*, 2004), mientras el UHPLC, marca no registrada hace referencia a los sistemas de otros fabricantes, y trabaja en un rango de presión entre 9.000 a 20.000 psi (Dong, 2007). Hasta el momento los dos sistemas ofrecen altos rangos de eficiencia, lo cual resulta relevante en el campo de la investigación (Srivastava et al, 2010, Dong y Zhang, 2014).

La cromatografía líquida de ultra resolución es una avanzada técnica de cromatografía de líquidos (LC), en el cual se emplea una estrecha columna con partículas muy pequeñas (1.7 μm) y fases móviles que operan a muy altas presiones. Las principales ventajas del UPLC en comparación con otros métodos como el HPLC es una mayor resolución cromatográfica en cuanto a separación, mayor velocidad, menor tiempo de ejecución, reducción en el consumo de disolventes y una mayor sensibilidad en el análisis (Yu *et al.*, 2006, Srivastava et al. , 2010, Prokudina *et al.*, 2012). La posibilidad que ofrece el UPLC para el acoplamiento de una fuente de ionización electrospray (ESI) y de espectrometría de masas en tándem (MS/MS), lo

convierte en una alternativa potente con respecto al HPLC-MS/MS convencional (Gruz *et al.*, 2008).

Por otro lado, uno de los problemas que deben ser evaluados en el desarrollo de métodos analíticos son las interferencias generadas por compuestos que co-eluyen o afectan la identificación y cuantificación del ión analito generando un enriquecimiento o supresión en la señal, ya que pueden ser altamente variables, difíciles de controlar y predecir (Larger *et al.*, 2005). Por esta razón. La optimización de los parámetros del UPLC-ESI-MS/MS son esenciales en la identificación y separación de ácidos orgánicos y compuestos fenólicos.

Para abordar el estudio de la composición química de los vinos tintos, se desarrolló y validó un método para la caracterización de ácidos orgánicos, ácidos fenólicos, antocianos, flavanoles, flavonoles y estilbenos utilizando el UPLC acoplado al ESI-MS/MS y UV-Vis.

1.2 MATERIAL Y MÉTODOS

1.2.1 Reactivos

Ácido *cis*-aconítico, ácido *trans*-aconítico (98%), ácido *L*-tartárico, (+)-catequina, (-)-epicatequina, ácido siríngico, miricetina, kaempferol, éster etílico del ácido protocatéquico (97%), ácido gálico (97%), ácido *trans*-cafeico, ferulato de etilo y quercetina fueron suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, EEUU). Cloruro de malvidina, ácido *p*-cumárico, éster etílico del ácido cafeico, *trans*-resveratrol, procianidinas (A2, B1 y B2), kaempferol-3-*O*-glucósido, (-)-epigalocatequina, (+)-catequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato, (-)-epigalocatequina-3-galato, quercetina-3-rutinósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucurónido, siringetina-3-*O*-glucósido, siringetina-3-*O*-galactósido, isorhamnetina-3-*O*-glucósido y isorhamnetina fueron adquiridos en Extrasynthese (Genay, Francia). Ácido succínico fue obtenido en Merck (Darmstadt, Alemania). Ácido *L*(+)-láctico fue proporcionado por Panreac (Barcelona, España). Ácido cítrico (99.5%), ácido *L*(-)-málico y ácido vainíllico fueron suministrados por Fluka (Buchs, Suiza).

Los disolventes de calidad HPLC fueron acetonitrilo, acetona, metanol, etanol, ácido acético y ácido fórmico fueron adquiridos en Scharlab (Barcelona, España). El agua desionizada fue obtenida a partir del sistema de purificación Milli-Q (Millipore, Molsheim, Francia). El ácido trifluroacético (TFA) fue suministrado por Fluka (Buchs, Suiza). El Gel TSK Toyopearl HW-50F fue proporcionado por Tosohaas (Montgomeryville, PA, EEUU).

1.2.2 Preparación de disoluciones patrón

Ácidos orgánicos. Una disolución concentrada de 10 g L^{-1} de los ácidos cítrico, málico, láctico, tartárico y succínico en agua Milli-Q se utilizó para preparar seis patrones de calibración en un rango de concentración de 0.01 - 5 g L^{-1}.

Compuestos fenólicos. Las disoluciones concentradas de 500 mg L^{-1} en metanol de los polifenoles no pigmentados fueron preparadas agrupando los ácido fenólicos con los ácidos *cis*/*trans*-aconítico, los flavanoles y los flavonoles. A partir de cada grupo de compuestos se prepararon seis patrones de calibración diluidos en

agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v) en un rango de concentración de 0.01 - 60 mg L^{-1}. Un patrón interno con una concentración de 5 mg L^{-1} de ferulato de etilo se adicionó en todos los patrones de calibración de los polifenoles no pigmentados.

Para los antocianos se preparó una disolución concentrada de 500 mg L^{-1} de cloruro de malvidina en metanol. A partir de ella, se prepararon seis patrones en un rango de concentración de 0.054 mg L^{-1} hasta 58.3 mg L^{-1} en agua/ácido fórmico (95:5, v/v).

1.2.3 Muestras

Cinco vinos tintos españoles de la añada 2008 elaborados en diferentes denominaciones de origen (DO) fueron seleccionados para el estudio, los vinos fueron W1 (Puente de Haro, DOCa Rioja), W2 (Castillo de Maluenda, DO Catalayud), W3 (Cepa Araciel, DO Navarra), W4 (Montesierra, DO Somontano) y W5 (Moñasterio de las Viñas, DO Cariñena).

1.2.4 Preparación de las muestras

Ácidos orgánicos. Una dilución vino/agua desionizada (1:10) se decoloró con carbón activado para eliminar las interferencias introducidas por azúcares y polifenoles.

Compuestos fenólicos. Dos mililitros de vino se inyectaron directamente en la columna Vantage L (120 mm x 12 mm) suministrada por Millipore (Bedford, MA, EEUU) empaquetada con gel TSK Toyopearl HW-50F a presión atmosférica. La elución de los compuestos se realizó conectando la salida de la columna a un detector de fila de diodos Agilent G1315B (Waldronn, Alemania). La elución fue realizada con etanol/agua/ácido trifluroacético (55:45:0.05, v/v) a un flujo de 1 mL min^{-1} durante 60 min mediante una bomba peristáltica. La muestra eluída fue liofilizada y reconstituida con 2 mL de agua/ácido fórmico (95:5, v/v) y conservada a -20 °C (Remy *et al.*, 2000, Vidal *et al.*, 2003). Las muestras fueron analizadas por duplicado.

1.2.5 Análisis UPLC

1.2.5.1 Equipo

La separación cromatográfica se realizó empleando un sistema de Ultra resolución LC™ ACQUITY (Waters, Milford, MA, EEUU) con un inyector automático (Waters, Milford, MA, EEUU) acoplado a un detector ultravioleta-visible (UV-Vis) (Waters, Milford, MA, EEUU) y a un espectrómetro de masas de alta resolución microTOF II (Bruker Daltonik, Bremen, Alemania) equipado con una fuente multimodal Apollo II ESI/APCI (ionización por electrospray/ionización química a presión atmosférica). La determinación de los ácidos orgánicos y compuestos fenólicos se llevó a cabo en una columna analítica de fase reversa Acquity UPLC BEH C_{18} (1.7 µm de tamaño de partícula; 2.1 x 100 mm de diámetro interno), la cual se mantuvo a una temperatura de 40 °C. El volumen de inyección fue de 7.5 µL de muestra, previamente filtrado a través de un filtro de 0.22 µm. Las separaciones fueron realizadas con un flujo constante de 0.45 mL min^{-1}. El software de Bruker Daltonics Versión 3.4 (Waters, Milford, MA, EEUU) fue utilizado para controlar el instrumento, la adquisición y el procesamiento de datos.

1.2.5.2 Condiciones de operación

1.2.5.2.1 Ácidos orgánicos

La separación cromatográfica se realizó en el sistema UPLC-ESI-MS/MS operado en modo de ionización negativo usando la fuente de electrospray entre *m*/*z* 120 - 1500 (potencial capilar 3.5 kV, gas nebulizador 3.0 bares, temperatura de secado del gas 200 °C y flujo 9.0 L min^{-1}). La elución se llevó a cabo en modo isocrático usando como eluyente agua/ácido fórmico (99.9:0.1 v/v) durante 2 min. Tras finalizar la secuencia, la columna fue lavada con agua y posteriormente equilibrada a condiciones iniciales durante 3 min.

1.2.5.2.2 Polifenoles no pigmentados

El análisis de los compuestos fenólicos no pigmentados se llevó a cabo en el UPLC-ESI/MS-MS operado en modo de ionización negativo usando la fuente de

electrospray entre *m*/*z* 120 - 1500 (potencial capilar 3.5 kV, gas nebulizador 3.0 bares, temperatura de secado del gas 200 °C y flujo 9.0 L min^{-1}) para la identificación y cuantificación. Consecutivamente, la absorbancia a 280 nm (flavanoles), 315 nm (ácidos fenólicos y resveratrol) y 365 nm (flavonoles) fue obtenida con el UPLC acoplado a un detector UV-Vis. La cromatografía se realizó en modo gradiente empleando como eluyente agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v) como fase A y acetonitrilo/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v) como fase B. El gradiente de la fase A empleado fue: 99 - 92% en 0 - 4 min; 92 - 70% en 4 - 11 min y 70 - 0% en 11 - 12.5 min. Al final de la secuencia, la columna fue lavada y equilibrada a condiciones iniciales durante 2 min. Bajo estas condiciones se analizaron los compuestos estándares discriminándose en base del tiempo de retención, espectro de masas y patrón de fragmentación MS/MS. Aquellos compuestos de lo que no se dispuso de estándares comerciales fueron identificados por su espectro MS/MS y orden de elución descrito en la bibliografía (Gruz *et al.*, 2008, Schwarz *et al.*, 2009, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c, Srivastava et al. , 2010). La cuantificación se realizó a partir de las curvas de calibración de los patrones disponibles. Las concentraciones de ácido cutárico y ácido ferúlico fueron determinadas con la curva de calibración del ácido cafeico tal y como se describe en otras investigaciones (Guadalupe *et al.*, 2006, Hernandez *et al.*, 2006). El *cis*/*trans*-resveratrol fue cuantificado con la curva de calibración del *trans*-resveratrol (Sato *et al.*, 1997). Los ácidos *cis*/*trans* *p*-cumárico fueron cuantificados con la curva de calibración del ácido *p*-cumárico.

1.2.5.2.3 Antocianos

La identificación de los compuestos antociánicos se llevó a cabo utilizando el UPLC-ESI/MS-MS en modo de ionización positiva usando la fuente de electrospray entre *m*/*z* 50 - 3000 (potencial capilar 4.5 kV, gas nebulizador 2.0 bares, temperatura de secado del gas 190 °C y flujo 7.0 L min^{-1}). Consecutivamente, los compuestos fueron identificados y cuantificados con el UPLC acoplado a un detector UV-Vis a 520 nm usando la curva de calibración del cloruro de malvidina. La fase móvil que se empleó para conseguir la elución de estos compuestos fue agua/ácido fórmico (95:5,

v/v) como solvente A y acetonitrilo como solvente B. La elución se inició con un gradiente de fase A 95 - 85% en 0 - 3 min y 85 - 55% en 3 - 12.50 min. Al final de la secuencia, la columna fue lavada y equilibrada a condiciones iniciales durante 2 min. Los compuestos fueron identificados mediante la comparación del tiempo de retención, los espectros (UV-Vis y MS) y el patrón de fragmentación MS/MS con respecto a muestras de vino descritas en la bibliografía (Alcalde-Eon *et al.*, 2006, Pati *et al.*, 2009).

1.2.6 Determinación del efecto matriz

Las disoluciones de los polifenoles no pigmentados fueron preparadas como se describe en el apartado 1.2.2 y fraccionadas en una columna cromatográfica de gel de permeación (GPC) como se describe en el apartado 1.2.4. Consecutivamente, la fracción liofilizada fue diluida en agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v) y analizadas siguiendo las condiciones de operación del UPLC-ESI-MS/MS descritas en el apartado 1.2.5.2.2. El efecto matriz (ME) se calculó empleando la ecuación descrita por Matuszewski *et al.*, (2003):

$$\mathbf{ME\ (\%) = \mathit{B}/\mathit{A}\ x\ 100}$$

Donde **A** es la cantidad de área promedio para el analito después del fraccionamiento en la GPC con etanol/agua/ácido trifluroacético y reconstituido con 2 mL de agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v), **B** es la cantidad de área promedio para la concentración del analito en una solución de agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v). Se aplicó la substracción del 1 al cociente de B/A de modo que un resultado negativo indica la supresión y un resultado positivo el enriquecimiento de la señal del analito.

1.2.7 Validación del método

Una vez preparadas las disoluciones patrón se realizó una curva de calibración para cada uno de los ácidos orgánicos y de los compuestos fenólicos. En el caso de los polifenoles no pigmentados, el área de cada pico en los patrones disponibles fueron comparados con el área del pico del patrón interno ferulato de etilo. Los parámetros para la validación que se determinaron se describen a continuación.

Linealidad. Se determinó con las curvas de calibración de cada uno de los patrones (incluidos los compuestos fenólicos con y sin fraccionamiento en la GPC), con la finalidad de establecer la linealidad en un rango de concentración.

Precisión. Se calculó en términos de la desviación estándar relativa (% RSD) de los tiempos de retención y picos de las áreas en función de:

a) Repetibilidad intra-día. Se evaluó mediante cinco réplicas consecutivas de patrones.

b) Reproducibilidad inter-día. Se determinó con tres medidas hechas en tres días diferentes.

Límites de cuantificación y detección. La sensibilidad de los métodos se evaluó por medio del límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) para cada compuesto con y sin fraccionamiento en la GPC. Estos parámetros fueron calculados en base a la regresión lineal de la disolución patrón de cada compuesto.

$$LOD = 3.3\ \sigma/b$$

$$LOQ = 10\ \sigma/b$$

Donde **σ** es la desviación estándar del intercepto y **b** la pendiente de la regresión lineal.

Porcentaje de recuperación. El % de recuperación se utilizó para evaluar la exactitud del método, se determinó adicionando dos concentraciones conocidas de ácidos orgánicos y polifenoles a las muestras de vino con y sin fraccionamiento en la GPC. El % de recuperación promedio se calculó comparando las concentraciones medias de las muestras testadas con las teóricas.

1.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Utilizando el sistema de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) y el detector UV-Vis acoplado a la cromatografía de líquidos (UPLC) se identificaron y cuantificaron diferentes familias de compuestos químicos relevantes en los vinos tintos.

1.3.1 Optimización de los métodos mediante UPLC

1.3.1.1 Ácidos orgánicos

El método se desarrolló con el fin de obtener una mejor resolución de los ácidos orgánicos. La identificación se realizó con patrones comercialmente disponibles por comparación de sus espectros MS/MS, tiempo de retención y orden de elución bajo condiciones isocráticas (Pereira *et al.*, 2010, Cui *et al.*, 2012). Como se muestra en la Tabla 1.1, de acuerdo con las condiciones ESI, los ácidos orgánicos mostraron sensibilidad con el ión molecular desprotonado $[M - H]^-$ (Cui *et al.*, 2012). La determinación mostró un ión molecular a *m*/*z* 149 para ácido *L*-tartárico, *m*/*z* 133 para ácido *L*(-)-málico, *m*/*z* 89 para ácido *L*(+)-láctico, *m*/*z* 117 para ácido succínico y *m*/*z* 191 para ácido cítrico (Figura 1.1).

Tabla 1.1. Identificación de ácidos orgánicos obtenidos de patrones utilizando el sistema UPLC-ESI-MS/MS.

Nº de Pico	Compuesto	t_R (min)	$[M-H]^-$ (*m*/*z*)	MF
1	Ácido *L*-tartárico	0.53	149	$C_4H_5O_6$
2	Ácido *L*(-)-málico	0.64	133	$C_4H_5O_5$
3	Ácido *L*(+)-láctico	0.76	89	$C_3H_5O_3$
4	Ácido cítrico	0.78	191	$C_6H_7O_7$
5	Ácido succínico	1.27	117	$C_4H_5O_4$

t_R: tiempo de retención; MF: fórmula molecular

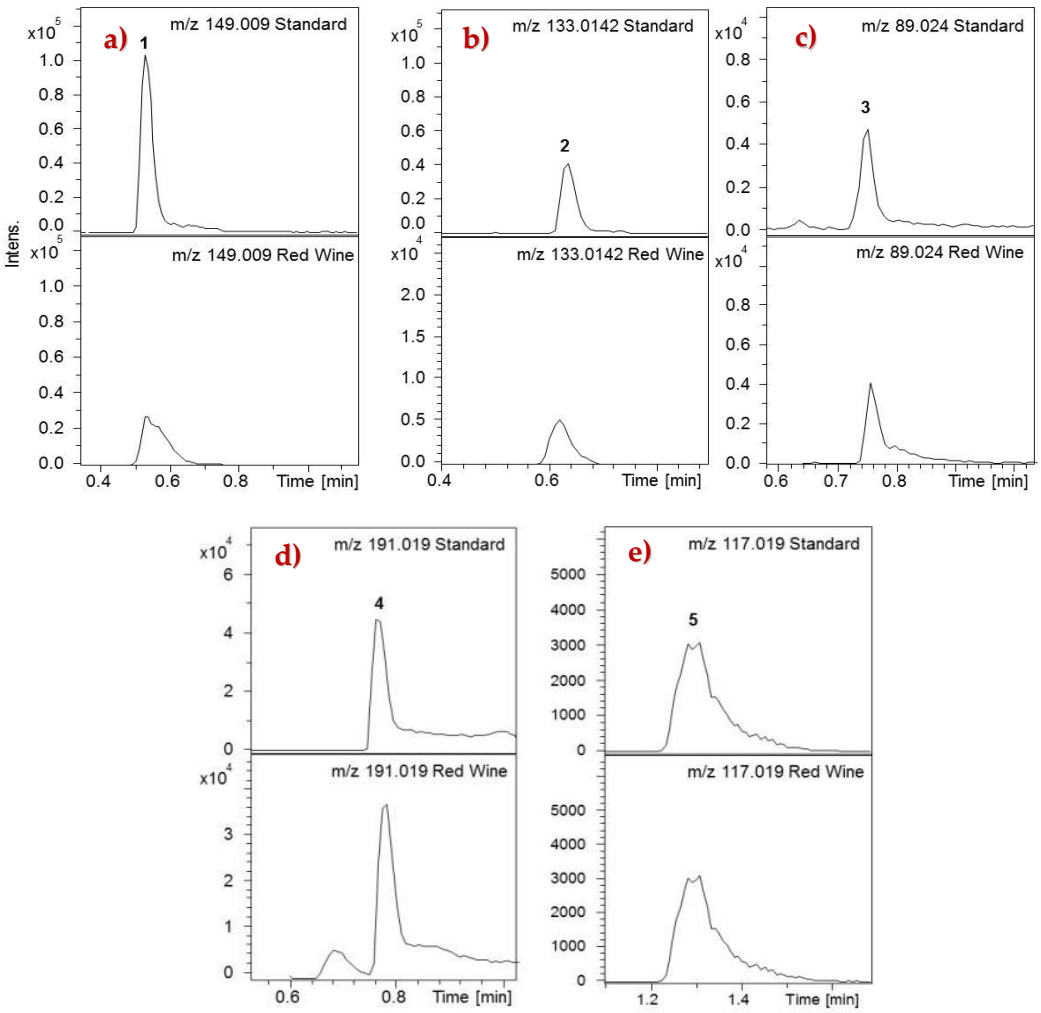


Figura 1.1. Separación cromatográfica por UPLC acoplado a ESI-MS/MS de los ácidos orgánicos en disoluciones patrones y muestras de vino tinto **a)** ácido *L*-tartárico, **b)** ácido *L*(-)-málico, **c)** ácido *L*(+)-láctico, **d)** ácido cítrico y **e)** ácido succínico.

1.3.1.2 Polifenoles no pigmentados

La separación cromatográfica de los ácidos *cis*/*trans*-aconítico, ácidos fenólicos, flavanoles y flavonoles fueron estudiados utilizando diferentes flujos, gradientes y mezclas de diferentes fases móviles, con el fin de evitar precipitaciones y el efecto abrasivo de tampón fosfato en el revestimiento de la bomba como se ha observado en investigaciones realizadas por Pereira *et al.*, (2010). De hecho, se han mantenido bajas concentraciones del ácido fórmico para asegurar una satisfactoria ionización y obtener una separación adecuada de los picos en un tiempo reducido tal y como se describe en la bibliografía (Gruz *et al.*, 2008, Tourino *et al.*, 2008, Cavaliere *et al.*, 2008). La mejor separación cromatográfica de los polifenoles no pigmentados se llevo a cabo

en 12.5 min, empleándose un gradiente de ácido fórmico en agua y acetonitrilo como fase móvil, tal y como se describe en el apartado condiciones de operación 1.2.5.2.2. Cabe resaltar que el tiempo de reducción obtenido empleando el UPLC es de 52.5 min con respecto a los análisis realizados en estudios anteriores empleando el HPLC en nuestro grupo de investigación (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d). Los compuestos fueron identificados en base al tiempo de elución, espectro de masas y absorbancia UV-Vis de los patrones. Aquellos compuestos de los que no se dispuso de patrón como fue el caso de los ácidos cutárico y ferúlico, se identificaron en las muestras de vino tinto en base a su espectro de masas. Los compuestos detectados son presentados en la Tabla 1.2 y Figura 1.2 junto con su espectro de masas y su ión de fragmentación.

En la Figura 1.2a se muestran los cromatogramas obtenidos de los ácidos fenólicos, ácidos *cis*/*trans*-aconítico y estilbenos identificados a partir de las disoluciones patrón utilizando el UPLC-ESI-MS/MS. Los ácidos *cis*/*trans*-aconítico han sido identificados con el ión molecular a *m*/*z* 173 y dos iones de fragmentación *m*/*z* 129 y *m*/*z* 85. La familia de ácidos hidroxicinámicos y sus derivados se analizaron considerando los iones moleculares $[M - H]^-$ del ácido caftárico a *m*/*z* 311 y éster etílico del ácido cafeico a *m*/*z* 207, ambos con un fragmento de ión a *m*/*z* 179 que corresponde al ión del ácido cafeico, en el caso del éster etílico se observó una pérdida de un grupo etil (-28.05 Da) (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c).

Tabla 1.2. Tiempo de retención, ión molecular $[M-H]^-$, ión de fragmentación y fórmula molecular de los ácidos *cis*/*trans*-aconítico, ácidos hidroxibenzoicos y hidroxicinámicos, estilbenos, flavanoles y flavonoles obtenidos de los patrones y muestras de vino empleando el UPLC acoplado al ESI-MS/MS y UV-Vis.

Nº de pico	Compuesto	t_R (min)	$[M-H]^-$ (*m*/*z*)	Fragmentos (*m*/*z*)	MF
	Ácidos orgánicos				
1	Ácido *cis*-aconítico	1.31	173	129, 85	$C_6H_6O_6$
2	Ácido *trans*-aconítico	1.55	173	129, 85	$C_6H_6O_6$
	Ácidos hidroxibenzoicos y derivados				
3	Ácido gálico	1.73	169	125	$C_7H_6O_5$
4	Ácido protocatéquico	2.42	153	109	$C_7H_5O_4$
8	Ácido vainíllico	4.31	167	152	$C_8H_7O_4$
10	Ácido siríngico	5.11	197	182, 167	$C_9H_{10}O_5$
13	Éster etílico de ácido protocatéquico	8.83	181	153, 109	$C_9H_9O_4$
	Ácidos hidroxicinámicos y derivados				
5	Ácido *cis*-caftárico[a]	2.52	311	179	$C_{13}H_{12}O_9$
6	Ácido *trans*-caftárico[a]	2.67	311	179	$C_{13}H_{12}O_9$
7	Ácido cutárico[b]	3.58	295	163, 149	$C_{13}H_{11}O_8$
8'	Ácido cafeico	4.40	179	135, 161	$C_9H_7O_4$
9	Ácido ferúlico[b]	4.52	193	134	$C_{10}H_9O_4$
11	Ácido *cis p*-cumárico[c]	6.23	163	119	$C_9H_7O_3$
12	Ácido *trans p*-cumárico[c]	7.01	163	119	$C_9H_7O_3$
15'	Éster etílico de ácido cafeico	9.07	207	179, 161, 135	$C_{11}H_{11}O_4$
	Estilbenos				
14	*Cis*-resveratrol[d]	9.21	227		$C_{14}H_{11}O_3$
15	*Trans*-resveratrol[d]	10.70	227		$C_{14}H_{11}O_3$
	Flavanoles				
16	Procianidina B1	3.25	577	289	$C_{30}H_{23}O_{12}$
16'	(-)-Epigalocatequina	3.30	305		$C_{15}H_{13}O_7$
17	(+)-Catequina	3.81	289	203, 245	$C_{15}H_{13}O_6$
18	Procianidina B2	4.77	577	451,289	$C_{30}H_{25}O_{12}$
19	(-)-Epicatequina	5.50	289	203, 245	$C_{15}H_{13}O_6$
20	(-)-Epigalocatequina-3-galato	5.59	457		$C_{22}H_{18}O_{11}$
21	(+)-Catequina-3-galato	7.59	441		$C_{22}H_{18}O_{10}$
22	(-)-Epicatequina-3-galato	7.69	441		$C_{22}H_{18}O_{10}$
23	Procianidina A2	7.95	575	289	$C_{30}H_{23}O_{12}$

Tabla 1.2. Continúa

Nº de pico	Compuesto	t_R (min)	[M-H]$^-$ (m/z)	Fragmentos (m/z)	M F
	Flavonoles				
24	Quercetina-3-*O*-rutinósido	7.56	609	300	$C_{27}H_{29}O_{16}$
24'	Quercetina-3-*O*-galactósido	7.57	463	300	$C_{21}H_{20}O_{12}$
25	Quercetina-3-*O*-glucurónido	7.66	477	301	$C_{21}H_{17}O_{13}$
26	Quercetina-3-*O*-glucopiranósido	7.72	463	301	$C_{21}H_{19}O_{12}$
27	Kaempferol-3-*O*-glucósido	8.35	447	287	$C_{21}H_{19}O_{11}$
28	Siringetina-3-*O*-glucósido	8.48	507	347	$C_{23}H_{23}O_{13}$
29	Isorhamnetina-3-*O*-glucósido	8.53	477	315	$C_{22}H_{21}O_{12}$
29'	Siringetina-3-*O*-galactósido	8.56	507	347	$C_{23}H_{24}O_{13}$
30	Miricetina	8.65	317		$C_{15}H_9O_8$
31	Quercetina	10.10	301		$C_{15}H_9O_7$
32	Kaempferol	11.54	285		$C_{15}H_9O_6$
33	Isorhamnetina	11.83	315		$C_{16}H_{11}O_7$

Los picos 8-8', 15-15', 16-16', 24-24' y 29-29' co-eluyeron en la detección UV-Vis; t_R: Tiempo de retención; MF: Fórmula molecular; [a] Se identificó a partir del patrón del ácido caftárico; [b] Se identificó en muestras de vino tinto, [c] Se identificó a partir del patrón del ácido *p*-cumárico; [d] Se identifico a partir del patrón del *trans*-resveratrol.

Los ácidos *cis*/*trans* *p*-cumárico fueron detectados por la presencia de un fragmento de ión a *m*/*z* 113, estos compuestos se han identificado con el patrón del ácido *p*-cumárico y en base al orden de elución descrito por Spacil *et al.*, (2008). Los ácidos hidroxibenzoicos; gálico, protocatéquico y el éster etílico de ácido protocatéquico presentaron los iones moleculares a *m*/*z* 169, 153 y 181, respectivamente, estos compuestos generaron fragmentos del ión a *m*/*z* 125 y 109 correspondientes a la pérdida del CO_2 de un grupo carboxilo, en el caso del éster etílico se observó un fragmento del ión a *m*/*z* 153 procedente de la pérdida de un grupo etilo (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c). Los estilbenos *cis*/*trans*-resveratrol se identificaron a partir de la disolución patrón del *trans*-resveratrol con un ión molecular a *m*/*z* 227 siguiendo lo indicado en algunos estudios (Sato *et al.*, 1997, Hernández *et al.*, 2006 , Jaitz *et al.*, 2010).

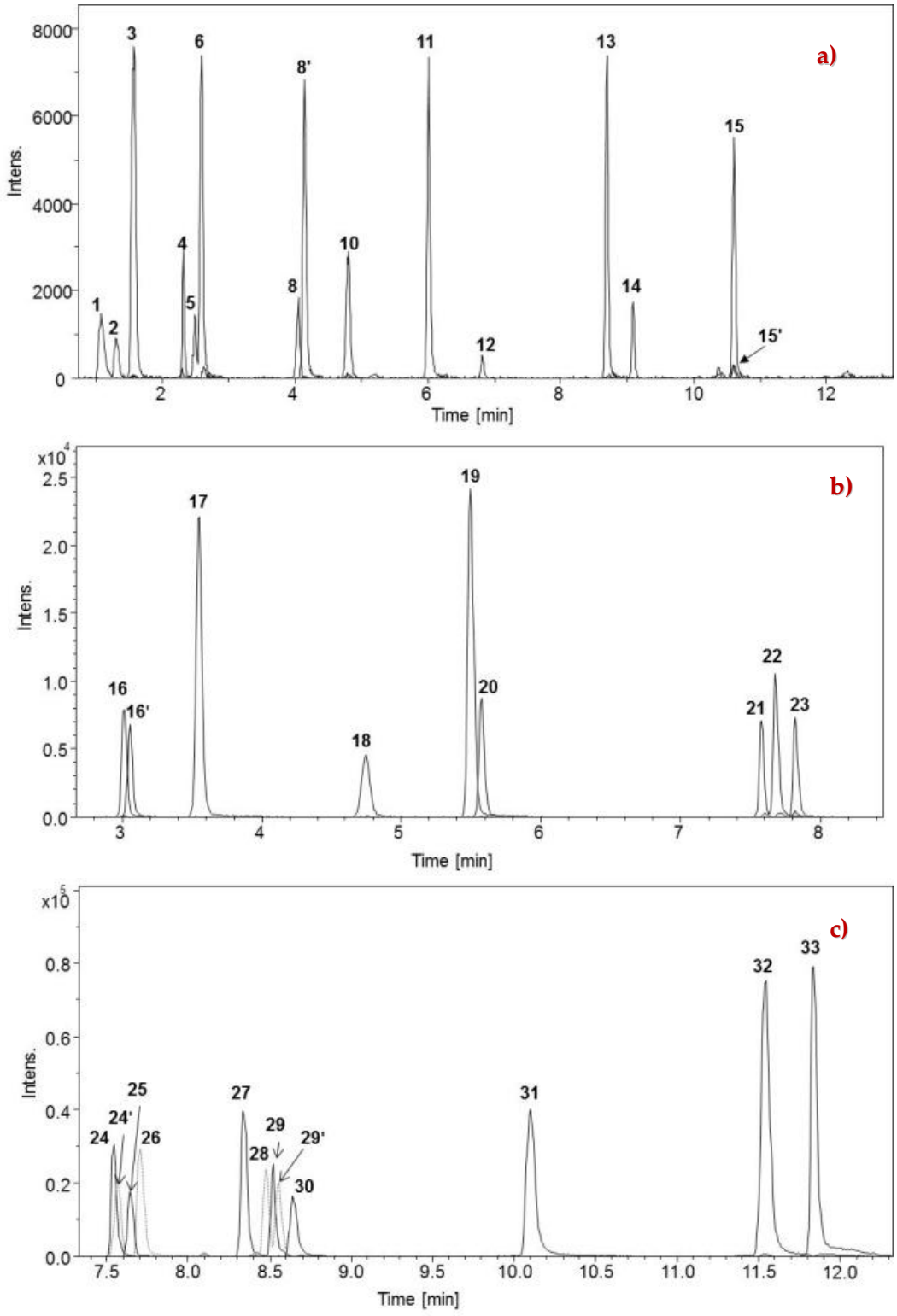


Figura 1.2. Separación cromatográfica UPLC-ESI-MS/MS de las disoluciones patrón **a)** ácidos *cis*/*trans*-aconítico, ácidos fenólicos y *cis*/*trans*-resveratrol, **b)** flavanoles y **c)** flavonoles. Los compuestos identificados se muestran en la **Tabla 1.2**

La Figura 1.3 muestra los espectros resultantes del ión ESI(-)-MS-MS para los ácidos hidroxicinámicos; cutárico y ferúlico identificados en muestras de vino tinto. El ión molecular del ácido cutárico provocó dos fragmentos a *m/z* 163 y 149 que correspondieron al ácido *p*-cumárico y al ácido tartárico, respectivamente (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c, Ivanova *et al.*, 2011). El ácido ferúlico generó un fragmento de ión a *m/z* 134 que correspondió a la pérdida de CO_2 del grupo carboxílico (Gruz *et al.*, 2008).

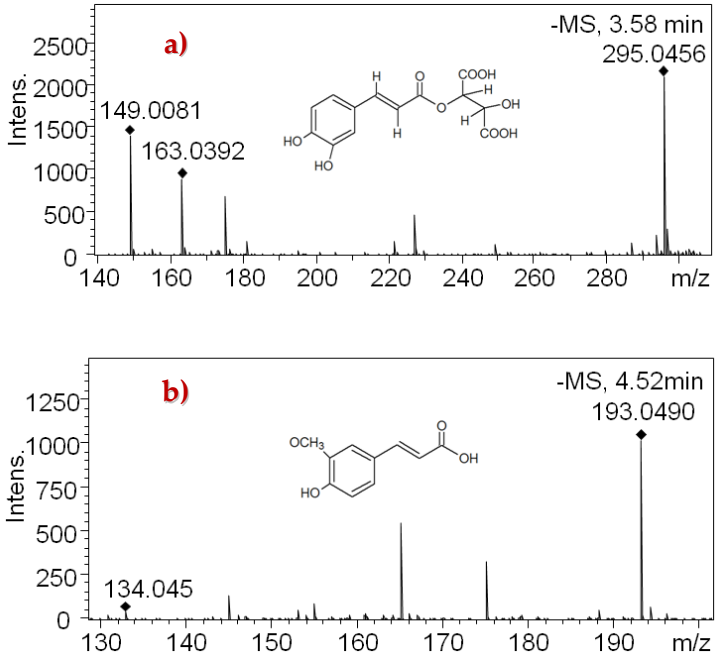


Figura 1.3. Espectro ESI(-)-MS-MS del ión producto de **a)** ácido cutárico a *m/z* 295 y **b)** ácido ferúlico a *m/z* 193 en muestras de vino tinto.

El patrón comercial del ácido caftárico que se muestra en la Figura 1.4, presentó un ión molecular en modo negativo $[M\text{-}2H]^-$ a *m/z* 309 y un ión de fragmentación a *m/z* 177. En una muestra de vino analizada con y sin el patrón comercial del ácido caftárico se confirmó el ión molecular $[M\text{-}H]^-$ con un *m/z* 311 y un ión de fragmentación a *m/z* 179 que correspondió al ácido cafeico. Las comparaciones especifican una pérdida consecutiva de una masa molecular *m/z* 132 que corresponde a $[M\text{-}H\text{-}H_2O]^-$, $[M\text{-}H\text{-}C_2H_2O]^-$, $[M\text{-}H\text{-}CO]^-$ y a un patrón de fragmentación típico después de la disociación inducida por la colisión caracterizada por la pérdida de un grupo ácido carboxílico $[M\text{-}H\text{-}COO]^-$ (Niessen, 2006). La presencia del ión de

fragmentación a *m/z* 149 que correspondió al ácido tartárico en el mismo tiempo de retención para la disolución patrón y en la muestra de vino sugirió una identificación consistente.

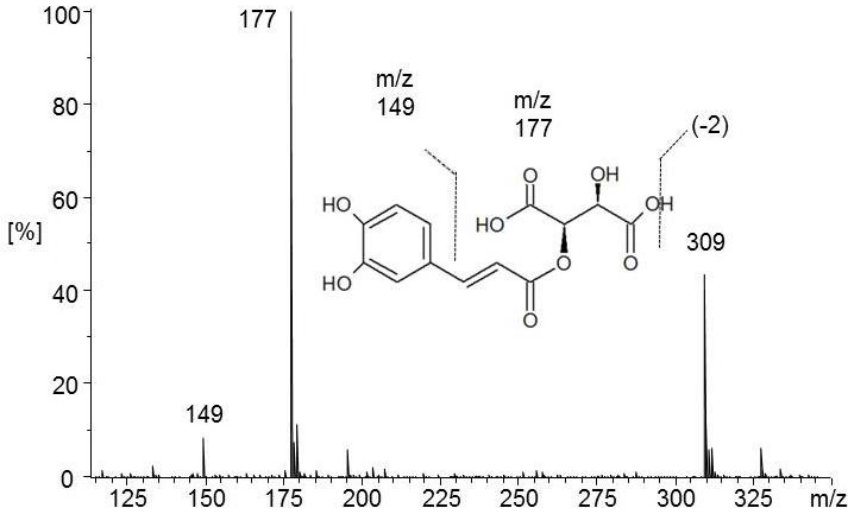


Figura 1.4. Espectro ESI(-)-MS-MS del ión producto del patrón comercial del ácido caftárico (*m/z* 311).

En la familia de los ácidos hidroxibenzoicos, el ácido siríngico identificado con el ión molecular a *m/z* 197 generó dos fragmentos de ion; el *m/z* 135 que corresponden a la pérdida de un grupo CO_2, y un anión radical a *m/z* 182 producido por la pérdida de un grupo CH_3 (Sun *et al.*, 2007).

Con esta metodología fue posible separar las estructuras isoméricas de los analitos del ácido *cis*/*trans*-caftárico, ácido *cis*/*trans p*-cumárico y *cis*/*trans*-resveratrol en un sólo análisis cromatográfico. Estas estructuras isoméricas han sido identificadas utilizando similares condiciones de fragmentación a las descritas en otros estudios (Sato *et al.*, 1997, Hernandez *et al.*, 2006, Spacil *et al.*, 2008, Jaitz *et al.*, 2010).

En el caso de los flavanoles (Figura 1.2b), el ión molecular $[M - H]^-$ a *m/z* 289 de los monómeros (+)-catequina y (-)-epicatequina fueron detectados en tiempos de retención de 3.81 y 5.74 min, respectivamente. Los iones de fragmentación identificados para estos dos monómeros están de acuerdo con la bibliografía (Ivanova *et al.*, 2011). Los dímeros de flavanoles procianidina B1 y B2 se han identificado a *m/z* 577 y la procianidina A1 a *m/z* 575, ambos con iones de

fragmentación a *m*/*z* 289. En cuanto a la (-)-epigalocatequina, la (-)-epigalocatequina-3-galato, la (+)-catequina-3-galato y la (-)-epicatequina-3-galato a *m*/*z* 305, 457, 441 y 441, respectivamente, no se observaron fragmentos de ión. Sin embargo, Sun *et al.*, (2007) identificaron iones de fragmentación para estos compuestos, para la (-)-epicatequina-3-galato y la (+)-catequina-3-galato ambos con un *m*/*z* 441 encontraron dos iones de fragmentación, uno a *m*/*z* 289 que corresponde a la división de un enlace éster y la pérdida de una molécula de ácido gálico, y otro a *m*/*z* 169 que corresponde a la división de un enlace éster y la pérdida de una unidad de (-)-epicatequina. Sun y colaboradores describieron que la (-)-epigalocatequina-3-galato a *m*/*z* 457 produce dos iones de fragmentación por división de un enlace éster; uno a *m*/*z* 169 que corresponde al ácido gálico y otro a *m*/*z* 305 que corresponde a unidades de (-)-galocatequina o (-)-epigalocatequina.

Con respecto a los flavonoles (Figura 1.2c y Tabla 1.2); los glucósidos del kaempferol, isoharmnetina y siringetina fueron identificados por la pérdida de una masa molecular *m*/*z* 162 correspondiente a una molécula de glucosa (Castillo-Munoz *et al.*, 2007). La quercetina 3-*O*-glucurónido se identificó con un ión de fragmentación a *m*/*z* 301 y una pérdida de 176 unidades correspondiente al ácido glucurónido (Ivanova *et al.*, 2011). Los flavonoles monoméricos detectados con un ión molecular a *m*/*z* 317, 301, 285 y 315 fueron identificados como miricetina, quercetina, kaempferol e isorhamnetina, respectivamente. Cuando se compararon los cromatogramas obtenidos en modo ión negativo con su detección UV-Vis (Figure 1.5), sólo 27 compuestos fueron identificados utilizando el UV-Vis de un total de 33 compuestos identificados con el ESI-MS/MS en muestras de vino y patrones. Estos resultados indican que la identificación por medio del UV-Vis proporciona información insuficiente para discriminar entre metabolitos que co-eluyen a la vez como el ácido vainíllico y el ácido cafeico; el éster etílico de ácido cafeico y el *trans*-resveratrol; la procianidina B1 y la (-)-epigalocatequina; la quercetina-3-*O*-rutinósido y la quercetina-3-*O*-galactósido; la quercetina-3-*O*-glucurónido y la quercetina-3-*O*-glucopiranósido; así como la isorhamnetina-3-*O*-glucósido y la quercetina-3-*O*-galactósido. Por esta razón, la cuantificación de ácidos fenólicos, estilbenos,

flavonoles y flavanoles en vino tinto usando solamente la detección UV-Vis no es suficientemente selectiva como lo es la espectrometría de masas, resultados similares han sido publicados por Gruz *et al.*, (2008).

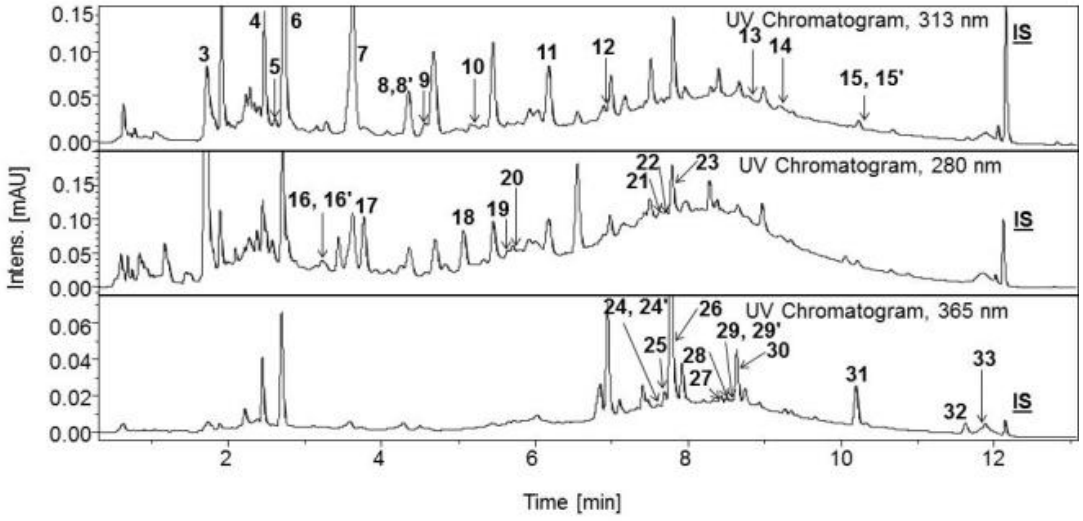


Figura 1.5. Separación cromatográfica UV-Vis de polifenoles no pigmentados a 313, 280 y 365 nm.

1.3.1.2.1 Efecto matriz

Durante la cuantificación de los ácidos *cis*/*trans*-aconítico y de los polifenoles no pigmentados en vinos tintos por UPLC-ESI-MS/MS se detectó un efecto matriz que generó una supresión en la señal de las áreas de los picos. Básicamente, las áreas de los picos obtenidos correspondían a valores más típicos en vinos blancos que de vinos tintos. Por ello, las mismas muestras de vino tinto fueron analizadas por UPLC empleando el detector UV-Vis, este análisis permitió verificar que las áreas de los picos de las muestras correspondían a valores normales encontrados en vinos tintos. Estos resultados mostraron claramente la presencia de un efecto matriz en los análisis realizados con el espectrómetro de masas. Con el fin de determinar la causa del efecto matriz, las disoluciones patrón fueron fraccionadas en la GPC de forma similar a las muestras de vino utilizando etanol/agua/ácido trifluroacético (55:45:0.05, v/v), llevados a sequedad y disueltos en 2 mL de agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v) para un posterior análisis en el UPLC-ESI-MS/MS como se describió en el apartado 1.2.6. Esto permitió determinar que la adición de TFA disminuía la señal del analito en el

espectrómetro de masas. En la Tabla 1.3, se puede observar el porcentaje de supresión ocasionado por el TFA en las áreas de los picos. En las disoluciones patrón; los flavanoles presentaron el mayor porcentaje de supresión en la ionización entre 66.24 - 98.62%, siendo la procianidina A2 y la (-)-epigalocatequina, los valores mínimo y máximo, respectivamente. En los ácidos fenólicos, la señal de supresión se encontró en un rango entre 2.79 - 81.54%, siendo los ácidos siríngico y cafeico, los valores mínimo y máximo, respectivamente. En los flavonoles, la supresión se encontró en un rango de 9.03 - 92.86%, siendo el kaempferol-3-*O*-glucósido y la quercetina, los valores mínimo y máximo, respectivamente. Los compuestos que no estuvieron influenciados por el TFA fueron la isorhamnetina-3-*O*-glucósido, la quercetina-3-*O*-glucurónido y la quercetina-3-*O*-glucopiranósido. Estos resultados indicaron que la matriz del TFA juega un papel importante en la ionización de un determinado número de compuestos polifenólicos.

Obviamente, esta limitación es justificada sólo cuando se utiliza TFA como eluyente durante un fraccionamiento (GPC) antes del análisis cuantitativo de los polifenoles no pigmentados en el UPLC-ESI-MS/MS. Varios autores han empleado la GPC para separar fenoles monoméricos, diméricos, flavanoles y ácidos orgánicos del material oligomérico y polimérico como las proantocianidinas, con el fin de evitar interferencias durante la identificación en el HPLC-MS o UPLC-MS/MS, pero sus cuantificaciones han sido realizadas con el DAD donde el TFA no presentó modificación de la señal en las diferentes longitudes de onda, 280 nm para flavanoles, 313 nm para ácidos fenólicos, 365 nm para flavanoles y 520 nm para antocianos (Guadalupe *et al.*, 2006, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011a).

Tabla 1.3. Porcentaje del efecto matriz calculado en compuestos patrón a partir del fraccionamiento con GPC empleando dos eluyentes; TFA y ácido fórmico.

Compuesto	LOD (mg L^{-1})		LOQ (mg L^{-1})		Recuperación (%)		Efecto matriz (%)
	Ácido fórmico	TFA	Ácido fórmico	TFA	Ácido fórmico	TFA	
Ácido *cis*-aconítico	0.048	0.164	0.144	0.498	101	100	- 57.11 ± 0.17
Ácido *trans*-aconítico	0.301	0.318	0.913	0.963	99	99	- 28.74 ± 0.22
Ácido gálico	0.121	0.156	0.366	0.473	99	97	- 23.79 ± 0.15
Ácido protocatéquico	0.041	0.086	0.123	0.261	98	96	- 3.07 ± 0.30
Ácido vainíllico	0.108	0.199	0.326	0.603	98	99	- 17.66 ± 0.33
Ácido siríngico	0.076	0.317	0.232	0.960	98	98	- 2.79 ± 0.35
Éster etílico de ácido protocatéquico	0.016	0.026	0.048	0.079	99	100	- 15.08 ± 0.30
Ácido cafeico	0.018	0.175	0.055	0.531	97	97	- 81.54 ± 0.33
Ácido *p*-cumárico	0.028	0.071	0.086	0.214	98	100	- 33.99 ± 0.03
Éster etílico de ácido cafeico	0.08	0.519	0.252	1.574	101	101	- 35.18 ± 0.15
(-)-Epigalocatequina	0.004	0.429	0.011	1.299	101	98	- 98.62 ± 0.01
(+)-Catequina	0.004	0.584	0.011	1.770	100	98	- 93.93 ± 0.09
Procianidina B2	0.116	0.668	0.351	2.025	100	98	- 97.40 ± 0.07
(-)-Epicatequina	0.008	0.418	0.024	1.268	101	100	- 93.27 ± 0.03
Procianidina A2	0.004	0.433	0.012	1.311	98	98	- 66.24 ± 0.11
Quercetina-3-*O*-rutinósido	0.028	0.032	0.084	0.098	99	98	- 39.23 ± 0.67
Kaempferol-3-*O*-glucósido	0.005	0.029	0.014	0.089	99	100	- 9.03 ± 0.86
Siringetina-3-*O*-glucósido	0.004	0.043	0.013	0.129	98	97	- 27.50 ± 0.50
Miricetina	0.032	0.049	0.098	0.148	102	98	- 68.32 ± 0.83
Quercetina	0.019	0.239	0.056	0.727	99	99	- 92.86 ± 0.14
Kaempferol	0.008	0.259	0.026	0.786	100	97	- 66.79 ± 0.96
Isorhamnetina	0.012	0.259	0.036	0.787	99	98	- 90.57 ± 0.04

Valor medio ± desviación estándar (n = 3).

1.3.1.3 Pigmentos antociánicos

Uno de los parámetros más importantes en el análisis de los pigmentos antociánicos mediante cromatografía líquida es la fase móvil. Así, para obtener picos estrechos y simétricos se emplea como fase polar ácido fórmico entre 5 - 10 %. Esta cantidad de ácido fórmico asegura un pH ácido durante todo el análisis con la finalidad de que el equilibrio de los antocianos esté desplazado hacia el catión flavilio (especie roja) y, de esta forma, obtener el máximo rendimiento de la especie que absorbe a 520 nm (Clifford, 2000, Cavaliere *et al.*, 2008, Pati *et al.*, 2009, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d, Dias *et al.*, 2012).

Los antocianos fueron identificados con una ionización en modo positivo bajo las condiciones de operación del UPLC-ESI-MS/MS, empleando una fase polar de agua/ácido fórmico (95:5, v/v). Como describieron Baldi *et al.*, (1995), cuando la técnica de ionización utiliza altas concentraciones de ácido fórmico a bajas temperaturas, se puede conseguir la fragmentación, permitiendo así la identificación de las señales en el ión molecular $[M + H]^+$ y la fragmentación relacionada con la aglicona. Sin embargo, para prevenir el daño constante del equipo por el efecto abrasivo de las altas concentraciones de ácido fórmico, estos compuestos se cuantificaron usando el UPLC acoplado a UV-Vis. Todos los pigmentos antociánicos identificados usando la detección UV-Vis y el espectro ESI-MS/MS en vino tinto son presentados en la Tabla 1.4. La elución de los antocianos empleando fase reversa se produce en función del número de grupos hidroxilos, su grado de metoxilación, el número de glucósidos y su patrón de acilación (Pati *et al.*, 2009). Los patrones de fragmentación de los antocianos acetilados y no acetilados observados para los 3-*O*-glucósido, 3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido y 3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido fueron el resultado de la pérdida de una masa molecular de 162, 204 y 308 que corresponden a la glucosa, acetil glucósido y cumaril glucósido, respectivamente. En cuanto a los isómeros *cis*/*trans* de la malvidina 3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido detectados en vinos tintos, estos resultados concuerdan con investigaciones realizadas por Alcalde-Eon *et al.*, (2006). Los veintiséis antocianos identificados a través de la exploración del espectro ESI-MS/MS corresponden a cinco antocianos no acetilados, diez antocianos acetilados, ocho piranoantocianos y tres productos de la condensación directa antociano-flavanol. La detección UV-Vis proporcionó veintitrés antocianos debido a la co-elución de algunos compuestos. El cromatograma UPLC-UV-Vis obtenido para los pigmentos antociánicos de un vino tinto (Figura 1.6) presenta una estructura similar a las descritas por otros autores (Alcalde-Eon *et al.*, 2006, Pati *et al.*, 2009).

La combinación de los dos métodos UPLC-UV-Vis y UPLC-ESI-MS/MS es una alternativa rápida y efectiva para la caracterización de pigmentos antociánicos en un tiempo reducido en comparación con el tiempo de ejecución de los métodos HPLC

(Revilla y Ryan, 2000, Morais *et al*., 2002, Wang *et al*., 2003, Sáenz-Navajas *et al*., 2011a).

Tabla 1.4. Identificación y tiempo de retención (t_R) de los picos, espectro de masas $[M-H]^+$, fragmentos, formula molecular (MF) y tiempo de retención de pigmentos antociánicos analizados en vino tinto mediante el UPLC acoplado a UV-Vis y ESI-MS/MS.

Nº de pico	Compuestos	t_R (min)	$[M+H]^+$ (*m/z*)	Fragmentos (*m/z*)	MF
1	Delfinidina-3-*O*-glucósido-acetaldehido	1.10	489	392	-
2	Delfinidina-3-*O*-glucósido	1.86	465	303	$C_{21}H_{21}O_{12}$
2'	Malvidina-3-*O*-glucósido y (epi)catequina	1.88	781	467	-
3	Cianidina-3-*O*-glucósido	2.30	449	287	$C_{21}H_{21}O_{11}$
4	Petunidina-3-*O*-glucósido	2.57	479	317	$C_{22}H_{23}O_{12}$
5	Peonidina-3-*O*-glucósido	3.07	463	301	$C_{22}H_{23}O_{11}$
6	Malvidina-3-*O*-glucósido	3.29	493	331	$C_{23}H_{25}O_{12}$
7	Peonidina-3-*O*-glucósido piruvato	3.39	531	369	$C_{25}H_{23}O_{13}$
8	Malvidina-3-*O*-glucósido piruvato	3.59	561	399	$C_{26}H_{25}O_{14}$
9	Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	3.79	507	303	$C_{23}H_{23}O_{12}$
10	Malvidina-3-*O*-glucósido-acetaldehido	3.89	517	355	$C_{25}H_{25}O_{12}$
11	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido piruvato	4.01	603	399	-
12	Cianidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	4.48	491	287	-
13	Petunidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	4.70	521	317	-
13'	Malvidina-3-*O*-glucósido-8-etil-(epi)catequina	4.70	809	357	-
14	Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	5.03	611	303	$C_{30}H_{27}O_{14}$
15	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	5.43	535	331	$C_{25}H_{25}O_{12}$
16	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido piruvato	5.56	707	399	-
17	Petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	6.34	625	317	$C_{31}H_{29}O_{14}$
18	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-isómero *cis*	6.92	639	331	$C_{32}H_{31}O_{14}$
19	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-etil-(epi)catequina	7.41	955		-
20	Peonidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	7.57	609	301	$C_{31}H_{29}O_{13}$
21	Malvidina-3-O-glucósido-4-vinilcatecol	7.72	625	463	-
21'	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-isómero *trans*	7.78	639	331	$C_{32}H_{31}O_{14}$
22	Malvidina-3-*O*-glucósido-4-vinilfenol	8.91	609	447	-
23	Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol	10.1	651	447	-

Los picos 2-2', 13-13', 21-21' co-eluyen en las condiciones empleadas; - Formula química no disponible.

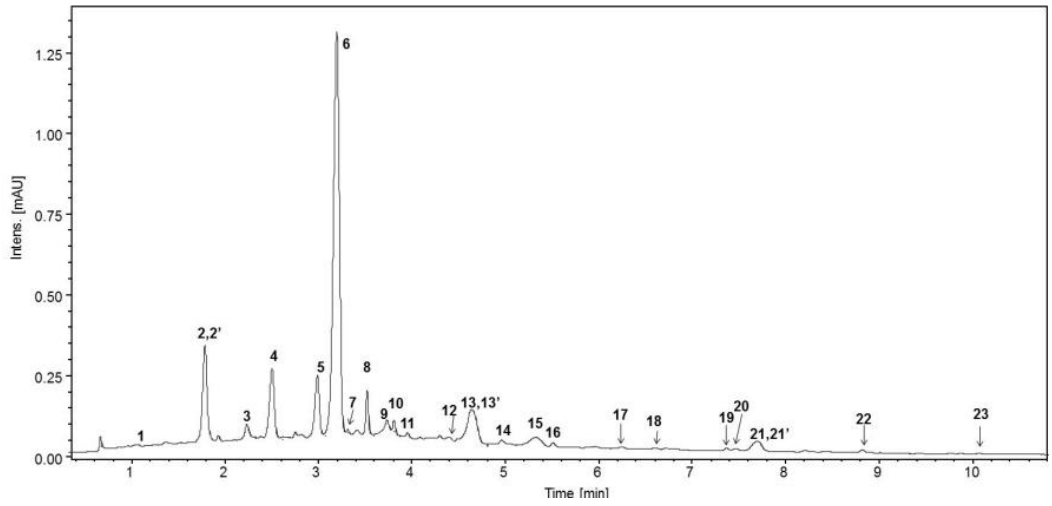


Figura 1.6. Cromatograma de pigmentos antociánicos detectados a 520 nm en vino tinto obtenido mediante UPLC-UV-Vis.

1.3.2 Procedimiento de validación

Con el fin de validar la metodología desarrollada se evaluaron varios parámetros tales como la linealidad, precisión, exactitud, límites de detección y cuantificación. Los parámetros de validación obtenidos se muestran en la Tabla 1.5. Los límites de detección (LODs) calculados en base a las curvas de regresión lineal obtenidas mediante UPLC-ESI-MS/MS mostraron que los ácidos orgánicos estuvieron en un rango entre 0.027 - 0.301 mg L^{-1}; siendo los ácidos láctico y *trans*-aconítico, los valores más bajo y alto, respectivamente. En cuanto a los polifenoles no pigmentados los LODs estuvieron entre 0.003 – 0.153 mg L^{-1}; siendo la procianidina B1 el valor más bajo y siringetina-3-*O*-galactósido el valor más alto encontrado. En cuanto a los LODs de los patrones, los resultados concuerdan con los encontrados en la bibliografía (Schwarz *et al.*, 2009, Pereira *et al.*, 2010, Jaitz *et al.*, 2010). Los antocianos analizados en el UPLC acoplado a UV-Vis se encontraron en un rango entre 0.006 – 0.723 mg L^{-1}. Los coeficientes de correlación (R^2) obtenidos para los compuestos analizados fueron considerados buenos; superiores a 0.990 para ácidos orgánicos y 0.995 para los compuestos polifenólicos analizados mediante UPLC empleando ESI-MS/MS como el UV-Vis, lo cual confirmó la linealidad del método. El porcentaje de recuperación se encontró en un rango entre 97 - 103 % para ácidos orgánicos y polifenoles en ambos casos UPLC-ESI-MS/MS y UPLC-UV-Vis. La precisión se expresó en términos de desviación estándar relativa (RSD %) para los tiempos de retención (t_R) y las áreas de

los picos obtenidos en la prueba de repetibilidad y reproducibilidad (Tabla 1.6). El RSD para la prueba de repetibilidad del área de un pico y el tiempo de retención fueron inferiores a 0.03 y 1.47 empleando UPLC-ESI-MS/MS y UPLC-UV-Vis, respectivamente. El RSD para la reproducibilidad del método fue inferior a 1.33 tanto con ESI-MS/MS como con UV-Vis. Finalmente, se puede afirmar que el método UPLC-ESI-MS/MS es bastante selectivo y sensible en la determinación de ácidos orgánicos y polifenoles en vinos tintos y otras bebidas, tal y como se ha descrito en la bibliografía (Schwarz *et al.*, 2009). Además, es relevante destacar que la combinación de los dos métodos UPLC-ESI-MS/MS y UPLC-UV-Vis han sido una alternativa rápida y eficaz para el análisis de pigmentos antociánicos en un menor tiempo.

Tabla 1.5. Parámetros cromatográficos de ácidos orgánicos y compuestos fenólicos utilizando UPLC-MS/MS y UPLC-UV-Vis.

Compuesto	Rango lineal	Pendiente	Intercepto en el eje Y	R^2	LOD	LOQ	Recuperación (%)
g L^{-1}							
Ácidos orgánicos							
Ácido *L*-tartárico	0.316 - 4.256	41184	80605	0.990	0.104	0.316	97[a]
Ácido *L*(-)-málico	0.191 - 4.004	15687	26628	0.991	0.063	0.191	98[a]
Ácido L(+)-láctico	0.084 - 4.000	3163.3	14397	0.998	0.027	0.084	99[a]
Ácido cítrico	0.038 - 1.551	20922	3270.3	0.998	0.012	0.038	99[a]
Ácido succínico	0.048 - 1.627	50703	15428	0.998	0.016	0.048	99[a]
mg L^{-1}							
Ácido *cis*-aconítico	0.144 - 6.327	0.2210	- 0.0082	0.999	0.048	0.144	101[a]
		0.3472	- 0.0128	0.999	0.164	0.498	100[c]
Ácido *trans*-aconítico	0.913 - 19.000	0.1430	- 0.0351	0.996	0.301	0.913	99[a]
		0.1840	- 0.0452	0.997	0.318	0.963	99[c]
Ácidos fenólicos y derivados							
Ácido gálico	0.366 - 57.630	11.033	2.1698	0.999	0.121	0.366	99[a]
		0.0048	0.0046	0.999	0.723	2.191	98[b]
		13.658	2.6860	0.996	0.156	0.473	97[c]
Ácido protocatéquico	0.123 - 16.440	11.393	0.0884	0.998	0.041	0.123	98[a]
		0.0044	- 0.0001	0.999	0.050	0.152	101[b]
		11.743	0.0911	0.992	0.086	0.261	96[c]

Tabla 1.5. Continúa.

Compuesto	Rango lineal	Pendiente	Intercepto en el eje Y	R^2	LOD	LOQ	Recuperación (%)
Ácido vainíllico	0.326 - 2.906	0.1127	0.0154	0.998	0.108	0.326	98[a]
		0.1326	0.0181	0.995	0.199	0.603	99[c]
Ácido siríngico	0.232 - 10.355	0.2631	- 0.0046	0.999	0.076	0.232	98[a]
		0.0027	- 0.00006	0.999	0.100	0.304	101[b]
		0.2704	-0.0047	0.998	0.317	0.960	98[c]
Éster etílico de ácido protocatéquico	0.048 - 0.308	93.546	0.1690	0.997	0.016	0.048	99[a]
		107.65	0.1944	0.994	0.026	0.079	100[c]
Ácido cafeico	0.055 - 20.140	22.194	0.4046	0.999	0.018	0.055	97[a]
		40.291	0.7345	0.993	0.175	0.531	97[c]
Ácido *p*-cumárico	0.109 - 3.048	15.524	0.0539	0.999	0.028	0.086	98[a]
		0.0106	- 0.0003	0.997	0.018	0.055	101[b]
		20.801	0.0722	0.999	0.071	0.214	100[c]
Éster etílico de ácido cafeico	0.252 - 29.910	66.739	10.393	0.998	0.080	0.252	101[a]
		90.218	14.059	0.993	0.519	1.574	101[c]
Estilbenos							
Resveratrol	0.078 - 0.397	12.443	- 0.1199	0.997	0.026	0.078	98[a]
Flavanoles							
Procianidina B1	0.269 - 39.980	0.9839	0.0453	0.999	0.003	0.008	100[a]
(-)-Epigalocatequina	0.044 - 19.590	12.273	- 0.0542	0.999	0.004	0.011	101[a]
		24.377	- 0.1077	0.997	0.429	1.299	98[c]
(+)-Catequina	0.985 - 59.070	19.455	1.2513	0.999	0.004	0.011	100[a]
		0.0086	- 0.0002	0.999	0.046	0.140	101[b]
		37.729	2.4266	0.999	0.584	1.770	98[c]
Procianidina B2	0.351 - 49.850	0.9444	0.0645	0.998	0.116	0.351	100[a]
		0.0081	- 0.0004	0.999	0.046	0.140	100[b]
		1.864	0.1273	0.996	0.668	2.025	98[c]
(-)-Epicatequina	0.529 - 30.740	21.362	0.5812	0.997	0.008	0.024	101[a]
		0.0087	- 0.00006	0.999	0.041	0.125	100[b]
		41.286	1.1233	0.996	0.418	1.268	100[c]
(-)-Epigalocatequina-3-galato	0.133 - 9.970	0.9300	0.0467	0.997	0.133	0.404	99[a]
(+)-Catequina-3-galato	0.100 - 7.000	13.416	0.0858	0.993	0.007	0.024	98[a]
(-)-Epicatequina-3-galato	0.044 - 10.385	23.485	0.0501	0.996	0.044	0.133	98[a]

Tabla 1.5. Continúa.

Compuesto	Rango lineal	Pendiente	Intercepto en el eje Y	R^2	LOD	LOQ	Recuperación (%)
Procianidina A2	0.012 - 19.480	0.7261	- 0.0045	0.996	0.004	0.012	98[a]
		1.207	- 0.0075	0.994	0.433	1.311	98[c]
Flavonoles							
Quercetina-3-*O*-rutinósido	0.536 - 2.144	15.832	- 0.1079	0.999	0.028	0.084	99[a]
		0.0165	0.0003	0.998	0.179	0.542	97[b]
		22.043	- 0.1502	0.998	0.032	0.098	98[c]
Quercetina-3-*O*-galactósido	0.034 - 9.995	10.888	1.116	0.997	0.011	0.034	98[a]
Quercetina-3-*O*-glucurónido	0.957 - 38.300	0.5589	0.6462	0.995	0.026	0.080	103[a]
Quercetina-3-*O*-glucopiranósido	0.500 - 2.495	14.777	0.0461	0.999	0.034	0.104	103[a]
Kaempferol-3-*O*-glucósido	0.010 - 9.690	29.971	- 0.0166	0.997	0.005	0.014	99[a]
		32.677	- 0.0181	0.997	0.029	0.089	100[c]
Siringetina-3-*O*-glucósido	0.013 - 0.978	51.181	- 0.3129	0.998	0.004	0.013	98[a]
		0.5741	- 0.0032	0.997	0.006	0.018	97[b]
		65.256	- 0.3989	0.994	0.043	0.129	97[c]
Isorhamnetina-3-*O*-glucósido	0.042 - 0.980	19.641	- 0.0232	0.999	0.014	0.042	99[a]
		0.0165	- 0.0003	0.998	0.043	0.130	101[b]
Siringetina-3-*O*-galactósido	0.153 - 9.545	10.300	13.026	0.992	0.153	9.545	98[a]
Miricetina	0.098 - 9.585	15.138	- 0.1682	0.999	0.032	0.098	102[a]
		0.0260	- 0.009	0.994	0.240	0.733	100[b]
		25.480	- 0.2831	0.993	0.049	0.148	98[c]
Quercetina	0.056 - 2.075	22.354	- 0.1345	0.998	0.019	0.056	99[a]
		0.0306	- 0.0137	0.999	0.091	0.279	100[b]
		43.112	- 0.2594	0.999	0.239	0.727	99[c]
Kaempferol	0.026 - 10.245	10.718	- 0.0430	0.999	0.008	0.026	100[a]
Isorhamnetina	0.036 - 10.550	0.6785	- 0.0333	0.999	0.012	0.036	99[a]
		1.2930	- 0.0634	0.999	0.259	0.787	98[c]
Antocianos							
Cloruro de malvidina	0.054 - 58.3	0.0270	- 0.0037	0.999	0.018	0.054	99[b]

[a] UPLC-ESI-MS/MS; [b] UPLC-UV-Vis; [c] disoluciones patrón de polifenoles no pigmentados fraccionados en la GPC utilizando TFA analizados en el UPLC-ESI-MS/MS.

Tabla 1.6. Repetibilidad y reproducibilidad de los métodos en términos de variación (% RSD) de los tiempos de retención (t_R) y áreas de los picos.

Compuesto	Precisión intra-día (n=5, medio) % RSD				Precisión inter-día (n=15, medio) % RSD			
	t_R[a]	t_R[b]	Área[a]	Área[b]	t_R[a]	t_R[b]	Área[a]	Área[b]
Ácido *L*-tartárico	0.02	[d]	0.01	[d]	0.03	[d]	0.01	[d]
Ácido L(-)-málico	0.02	[d]	0.01	[d]	0.04	[d]	0.02	[d]
Ácido L(+)-láctico	0.03	[d]	0.05	[d]	0.02	[d]	0.03	[d]
Ácido cítrico	0.02	[d]	0.001	[d]	0.04	[d]	0.002	[d]
Ácido succínico	0.02	[d]	0.003	[d]	0.03	[d]	0.007	[d]
Ácido *cis*-aconítico	0.02	[d]	0.12	[d]	0.03	[d]	0.13	[d]
Ácido *trans*-aconítico	0.02	[d]	0.19	[d]	0.03	[d]	0.20	[d]
Ácido gálico	0.01	0.01	0.62	0.01	0.01	0.02	1.33	0.01
Ácido protocatéquico	0.02	0.01	0.06	0.01	0.02	0.02	0.10	0.01
Ácido vainíllico	0.02	*	0.01	*	0.04	*	0.01	*
Ácido siríngico	0.02	0.02	0.02	0.01	0.04	0.05	0.05	0.01
Ácido cafeico	0.03	*	0.34	*	0.05	*	0.39	*
Ácido *cis p*-cumárico	0.02	0.01	0.03	0.01	0.04	0.04	0.04	0.01
Ácido *trans p*-cumárico	0.02	0.01	0.01	0.01	0.03	0.03	0.01	0.01
Éster etílico de ácido protocatéquico	0.01	[c]	0.07	[c]	0.02	[c]	0.08	[c]
Éster etílico de ácido cafeico	0.02	*	1.47	*	0.03	*	1.02	*
Cis-resveratrol	0.01	*	0.04	*	0.02	*	0.05	*
Trans-resveratrol	0.01	*	0.05	*	0.02	*	0.07	*
Procianidina B1	0.002	*	0.11	*	0.04	*	0.13	*
(-)-Epigalocatequina	0.003	*	0.01	*	0.04	*	0.02	*
(+)-Catequina	0.004	0.003	0.22	0.01	0.05	0.04	0.34	0.01
Procianidina B2	0.004	0.003	0.10	0.01	0.06	0.06	0.13	0.01
(-)-Epicatequina	0.004	0.005	0.15	0.01	0.04	0.04	0.26	0.01
Procianidina A2	0.006	0.004	0.03	0.01	0.02	0.03	0.04	0.01
Quercetina-3-*O*-rutinósido	0.004	0.006	0.16	0.01	0.01	0.01	0.13	0.01
Quercetina-3-*O*-glucurónido	0.004	*	0.35	*	0.02	*	0.91	*
Quercetina-3-*O*-glucopiranósido	0.005	*	0.06	*	0.03	*	0.07	*
Kaempferol-3-*O*-glucósido	0.004	*	0.008	*	0.002	*	0.01	*
Siringetina-3-*O*-galactósido	0.007	0.004	0.07	0.01	0.05	0.04	0.14	0.01
Isorhamnetina-3-*O*-glucósido	0.008	0.005	0.04	0.01	0.03	0.04	0.07	0.01
Miricetina	0.008	0.003	0.06	0.01	0.03	0.02	0.13	0.01
Quercetina	0.01	0.005	0.09	0.02	0.03	0.01	0.17	0.01
Kaempferol	0.006	[c]	0.01	[c]	0.02	[c]	0.03	[c]
Isorhamnetina	0.02	[c]	0.009	[c]	0.02	[c]	0.02	[c]
Cloruro de malvidina	[d]	0.004	[d]	0.01	[d]	0.02	[d]	0.01

[a] UPLC-MS/MS; [b] UPLC-UV-Vis; [c] Bajos coeficientes de correlación; [d] Método no utilizado; t_R: tiempo de retención; * Metabolitos que co-eluyen.

1.3.3 Aplicación del método en muestras de vino

En este estudio, cinco vinos tintos fueron analizados por UPLC acoplado al ESI-MS/MS y UV-Vis. Los resultados de los compuestos fenólicos y ácidos orgánicos en los vinos analizados se muestran en la Tabla 1.7. Los ácidos orgánicos mayoritarios como los ácidos tartárico, succínico, *L*(+)-láctico, *L*(-)-málico y cítrico se encontraron en un rango entre 0.02 a 3.28 g L^{-1} y los minoritarios como los ácidos *cis*/*trans*-aconítico variaron entre 1.67 a 6.65 mg L^{-1}. En el grupo de los compuestos fenólicos no pigmentados; los ácidos fenólicos y sus derivados variaron entre 0.14 y 58.77 mg L^{-1}, los flavanoles entre 6.13 y 46.98 mg L^{-1} y los flavonoles entre 0.11 y 9.17 mg L^{-1}. Los pigmentos antociánicos variaron entre 0.13 y 67.32 mg L^{-1}, siendo la malvidina-3-*O*-glucósido el pigmento mayoritario en las muestras de vino. Estos resultados fueron concordantes con concentraciones encontradas en otros vinos tintos, mostrando que los datos obtenidos en el análisis de estas muestras empleando el UPLC son aceptables y coherentes con los hallados en la bibliografía (Castellari *et al.*, 2002, Hernandez *et al.*, 2006, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d, Pereira *et al.*, 2010).

Tabla 1.7. Concentración de ácidos orgánicos en g L^{-1} y polifenoles en mg L^{-1} en cinco muestras de vinos tintos (W1 a W5) empleando los métodos optimizados del UPLC acoplado a ESI-MS/MS y UV-Vis.

Compuesto	W1	W2	W3	W4	W5
	g L^{-1}				
Ácidos orgánicos					
L-ácido tartárico	1.07 ± 0.02	1.08 ± 0.01	1.05 ± 0.00	1.13 ± 0.00	1.02 ± 0.02
L(-)-ácido málico	0.37 ± 0.00	0.14 ± 0.00	0.26 ± 0.00	0.27 ± 0.00	0.19 ± 0.00
L(+)-ácido láctico	2.13 ± 0.02	2.56 ± 0.01	3.28 ± 0.01	1.26 ± 0.01	2.12 ± 0.02
Ácido cítrico	0.03 ± 0.01	n.d	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.02
Ácido succínico	0.25 ± 0.04	0.18 ± 0.08	0.24 ± 0.02	0.29 ± 0.01	0.23 ± 0.05
	mg L^{-1}				
Ácido *cis*-aconítico*	1.67 ± 0.02	1.54 ± 0.04	1.27 ± 0.04	1.32 ± 0.04	1.55 ± 0.05
Ácido *trans*-aconítico*	3.81 ± 0.23	6.65 ± 0.03	2.62 ± 0.03	3.54 ± 0.18	3.02 ± 0.23
*Ácidos fenólicos y derivados**	mg L^{-1}				
Ácido gálico	26.32 ± 0.60	22.99 ± 1.72	15.65 ± 0.82	21.76 ± 0.78	19.88 ± 0.89
Ácido protocatéquico	2.21 ± 0.05	2.06 ± 0.23	0.90 ± 0.13	0.45 ± 0.05	1.43 ± 0.19
Ácido cutárico	92.06 ± 0.45	29.23 ± 0.18	29.28 ± 0.97	32.38 ± 0.44	36.19 ± 1.09
Ácido vainíllico	1.79 ± 0.11	2.69 ± 0.25	1.01 ± 0.06	1.18 ± 0.10	1.68 ± 0.16
Ácido ferúlico	4.03 ± 0.04	3.18 ± 0.03	3.44 ± 0.08	2.75 ± 0.02	5.13 ± 0.06
Ácido siríngico	2.76 ± 0.08	3.63 ± 0.13	2.50 ± 0.15	3.26 ± 0.48	2.74 ± 0.25
Ácido *cis*-caftárico[a]	1.85 ± 0.01	1.43 ± 0.02	1.60 ± 0.01	1.19 ± 0.03	2.23 ± 0.45
Ácido *trans*-caftárico[a]	58.77 ± 0.57	35.84 ± 0.49	44.44 ± 1.01	38.16 ± 0.63	56.76 ± 0.71
Ácido cafeico	11.27 ± 0.14	5.65 ± 0.07	9.45 ± 0.03	7.47 ± 0.17	15.99 ± 0.16
Ácido *cis*- *p*-cumárico	1.42 ± 0.04	0.59 ± 0.01	0.80 ± 0.01	0.95 ± 0.08	1.43 ± 0.15
Ácido *trans p*-cumárico	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01	n.d	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.01
Éster etílico de ácido protocatéquico	0.35 ± 0.02	0.28 ± 0.02	0.14 ± 0.01	n.d	0.23 ± 0.02
Éster etílico de ácido cafeico	n.d	n.d	5.68 ± 0.59	2.51 ± 0.20	25.67 ± 2.01

Tabla 1.7. Continúa.

Compuesto	W1	W2	W3	W4	W5
Estilbenos	**mg L^{-1}**				
Cis-resveratrol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Trans-resveratrol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Flavanoles*	**mg L^{-1}**				
Procianidina B1[b]	12.44 ± 0.00	19.22 ± 0.00	12.37 ± 0.00	16.89 ± 0.02	27.82 ± 0.02
(-)-Epigalocatequina	14.25 ± 0.02	6.95 ± 0.21	6.13 ± 0.23	8.24 ± 0.23	10.33 ± 0.57
(+)-Catequina	34.61 ± 0.06	41.85 ± 0.20	39.20 ± 0.02	46.81 ± 0.27	46.98 ± 0.32
Procianidina B2	19.17 ± 0.06	26.58 ± 0.03	32.65 ± 0.01	36.67 ± 0.01	41.61 ± 0.01
(-)-Epicatequina	11.22 ± 0.04	19.17 ± 0.12	23.24 ± 0.02	27.23 ± 0.15	13.89 ± 0.05
Procianidina A2	n.d	n.d	n.d	1.93 ± 0.00	2.49 ± 0.01
Flavonoles*	**mg L^{-1}**				
Quercetina-3-*O*-rutinósido	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Quercetina-3-*O*-glucurónido	0.11 ± 0.00	2.77 ± 0.23	6.63 ± 0.59	9.17 ± 0.01	7.18 ± 0.48
Quercetina-3-*O*-glucopiranósido	0.99 ± 0.09	n.d	n.d	0.12 ± 0.01	0.10 ± 0.01
Kaempferol-3-*O*-glucósido	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Siringetina-3-*O*-glucósido	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
Isorhamnetina-3-*O*-glucósido	n.d	n.d	n.d	0.16 ± 0.00	0.09 ± 0.01
Miricetina	1.44 ± 0.01	1.96 ± 0.05	1.05 ± 0.01	1.58 ± 0.02	2.44 ± 0.01
Quercetina	2.22 ± 0.00	0.73 ± 0.01	0.73 ± 0.01	13.65 ± 0.08	3.19 ± 0.01
Kaempferol	n.d	n.d	n.d	0.46 ± 0.01	n.d
Isorhamnetina	0.78 ± 0.01	n.d	n.d	n.d	0.78 ± 0.02
Antocianos	**mg L^{-1}**				
Delfinidina-3-*O*-glucósido-acetaldehído	0.31 ± 0.00	0.37 ± 0.00	0.23 ± 0.00	0.39 ± 0.00	0.41 ± 0.00
Delfinidina-3-*O*-glucósido Malvidina-3-*O*-glucósido y (epi)catequina	17.79 ± 0.02	15.42 ± 0.01	6.71 ± 0.00	5.27 ± 0.00	11.09 ± 0.02

Tabla 1.7. Continúa.

Compuesto	W1	W2	W3	W4	W5
Cianidina-3-*O*-glucósido	2.13 ± 0.00	1.93 ± 0.00	1.37 ± 0.00	1.03 ± 0.00	1.57 ± 0.00
Petunidina-3-*O*-glucósido	9.16 ± 0.02	14.13 ± 0.01	5.53 ± 0.01	3.79 ± 0.01	10.23 ± 0.02
Peonidina-3-*O*-glucósido	11.73 ± 0.01	13.74 ± 0.01	8.48 ± 0.00	14.49 ± 0.00	15.42 ± 0.02
Malvidina-3-*O*-glucósido	57.39 ± 0.04	67.32 ± 0.08	37.18 ± 0.02	23.97 ± 0.01	54.09 ± 0.05
Peonidina-3-*O*-glucósido piruvato	0.33 ± 0.00	0.35 ± 0.00	0.31 ± 0.00	0.40 ± 0.00	0.39 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-glucósido piruvato	2.80 ± 0.00	2.31 ± 0.00	2.53 ± 0.00	2.19 ± 0.00	1.69 ± 0.00
Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	0.83 ± 0.00	1.16 ± 0.00	0.49 ± 0.00	0.66 ± 0.00	0.89 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-glucósido-acetaldehido	0.17 ± 0.01	0.35 ± 0.00	0.37 ± 0.01	0.37 ± 0.00	0.52 0.01
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido piruvato	0.18 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.29 ± 0.00	0.25 ± 0.00	n.d
Cianidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	0.35 ± 0.00	0.37 ± 0.00	0.19 ± 0.00	n.d	0.55 ± 0.00
Petunidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido Malvidina-3-*O*-glucósido-8-etil-(epi)catequina	3.34 ± 0.00	2.87 ± 0.00	1.72 ± 0.00	1.81 ± 0.00	3.21 ± 0.00
Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-p-cumaril)-glucósido	0.58 ± 0.00	0.89 ± 0.00	0.37 ± 0.00	0.57 ± 0.00	0.66 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	0.38 ± 0.00	0.89 ± 0.00	0.79 ± 0.00	0.57 ± 0.00	0.42 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido piruvato	0.64 ± 0.00	0.44 ± 0.00	0.34 ± 0.00	0.44 ± 0.00	0.49 ± 0.00
Petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	0.40 ± 0.00	0.80 ± 0.00	0.39 ± 0.00	0.42 ± 0.00	0.64 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-isómero *cis*	0.16 ± 0.00	n.d	n.d	0.19 ± 0.00	0.19 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-etil-(epi)catequina	0.18 ± 0.00	n.d	0.24 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0.16 ± 0.00
Peonidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	0.36 ± 0.00	0.54 ± 0.00	0.17 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.41 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-glucósido-4-vinilcatecol Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-isómero *trans*	0.95 ± 0.00	3.05 ± 0.00	1.21 ± 0.00	1.32 ± 0.00	2.94 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-glucósido-4-vinilfenol	0.45 ± 0.00	0.61 ± 0.00	0.25 ± 0.00	0.35 ± 0.00	0.53 ± 0.00
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d

[a] Se cuantificó a partir de la recta de calibrado del ácido cafeico; [b] Se cuantificó a partir de la recta de calibrado de la catequina; * Los pigmentos polifenólicos no pigmentados fueron cuantificados usando las curvas de calibrado de los patrones fraccionados en la GPC utilizando TFA.

1.4 CONCLUSIONES

El sistema UPLC ha permitido obtener un método rápido, sencillo y reproducible capaz de analizar compuestos fenólicos y ácidos orgánicos en vinos tintos reduciendo el tiempo y el consumo de disolventes con respecto al sistema HPLC habitualmente empleado.

Se ha puesto de manifiesto un importante efecto matriz del ácido trifluroacético empleado en el tratamiento de las muestras. Este efecto se manifiesta con una importante reducción de la señal cuando se emplea la espectrometría de masas como detector.

El procedimiento analítico propuesto en este capítulo ha demostrado ser un método de análisis sencillo y eficiente que proporciona información sobre los diferentes compuestos de interés en la caracterización de la composición fenólica de vinos tintos.

REFERENCIAS

Alberts, P., Stander, M.A. and de Villiers, A. 2012. Advanced ultra high pressure liquid chromatography tandem mass spectrometric methods for the screening of red wine anthocyanins and derived pigments. *Journal of Chromatography A* **1235**, 92-102.

Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J.C. 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta* **563**, 238-254.

Amakura, Y., Okada, M., Tsuji, S. and Tonogai, Y. 2000. Determination of phenolic acids in fruit juices by isocratic column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **891**, 183-188.

Arapitsas, P., Perenzoni, D., Nicolini, G. and Mattivi, F. 2012. Study of Sangiovese wines pigment profile by UHPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 10461-10471.

Ayaz, F.A., Hayirlioglu-Ayaz, S., Gruz, J., Novak, O. and Strnad, M. 2005. Separation, characterization, and quantitation of phenolic acids in a little known blueberry (Vaccinium arctostaphylos L.) fruit by HPLC-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 8116-8122.

Baldi, A., Romani, A., Mulinacci, N., Vincieri, F.F. and Casetta, B. 1995. HPLC/MS application to anthocyanins of Vitisvinifera l. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**, 2104-2109.

Cao, W., Suo, Z.R., Song, J.R. and Zheng, J.B. 2005. Analyses of seven kinds of phenolic acids in wine by HPLC with electrochemical detection. *Chemical Journal of Chinese Universities-Chinese* **26**, 1424-1427.

Castellari, M., Versari, A., Spinabelli, U., Galassi, S. and Amati, A. 2000. An improved HPLC method for the analysis of organic acids, carbohydrates, and alcohols in grape musts and wines. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **23**, 2047-2056.

Castellari, M., Sartini, E., Fabiani, A., Arfelli, G. and Amati, A. 2002. Analysis of wine phenolics by high-performance liquid chromatography using a monolithic type column. *Journal of Chromatography A* **973**, 221-227.

Castillo-Munoz, N., Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E. and Hermosin-Gutierrez, I. 2007. Flavonol profiles of Vitis vinifera red grapes and their single cultivar wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**, 992-1002.

Cavaliere, C., Foglia, P., Gubbiotti, R., Sacchetti, P., Samperi, R. and Lagana, A. 2008. Rapid-resolution liquid chromatography/mass spectrometry for determination and quantitation of polyphenols in grape berries. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **22**, 3089-3099.

Chen, H., Zuo, Y.G. and Deng, Y.W. 2001. Separation and determination of flavonoids and other phenolic compounds in cranberry juice by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **913**, 387-395.

Chen, H. and Zuo, Y. 2007. Identification of flavonol glycosides in American cranberry fruit. *Food Chemistry* **101**, 1357-1364.

Clifford, M.N. 2000. Anthocyanins nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**, 1063-1072.

Cui, Y., Li, Q., Liu, Z., Geng, L., Zhao, X., Chen, X. and Bi, K. 2012. Simultaneous determination of 20 components in red wine by LC-MS: application to variations of red wine components in decanting. *Journal of Separation Science* **35**, 2884-2891.

Cunha, S.C., Fernandes, S.O., Faria, M.A. and Ferreira, I.M.P.L.V.O and Ferreira, M.A. 2002. Quantification of organic acids in grape must and port wines. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos* **3**, 212-216.

Dell'Agli, M., Busciala, A. and Bosisio, E. 2004. Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovascular Research* **63**, 593-602.

Dias, A.L.S., Rozet, E., Chataigne, G., Oliveira, A.C., Rabelo, C.A.S., Hubert, P., Rogez, H. and Quetin-Leclercq, J. 2012. A rapid validated UHPLC-PDA method for anthocyanins quantification from Euterpe oleracea fruits. *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **907**, 108-116.

Dong, M.W. 2007. Ultrahigh-pressure LC in pharmaceutical analysis: performance and practical issues. *LC GC North America* **25**, 89-98.

Dong, M.W. and Zhang, K. 2014. Ultra high pressure liquid chromatography (UHPLC) in method development. *Trac-Trends in Analytical Chemistry* **63**, 21-30.

Flamini, R., De Rosso, M. and Bavaresco, L. 2015. Study of grape polyphenols by liquid chromatography high resolution mass spectrometry (UHPLC/QTOF) and suspect screening analysis. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. **Article ID 350259**, http://dx.doi.org/10.1155/2015/350259.

Frank, S., Wollmann, N., Schieberle, P. and Hofmann, T. 2011. Reconstitution of the flavor signature of dornfelder red wine on the basis of the natural concentrations of its key aroma and taste compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **59**, 8866-8874.

Garcia-Marino, M., Rivas-Gonzalo, J.C., Ibanez, E. and Garcia-Moreno, C. 2006. Recovery of catechins and proanthocyanidins from winery by products using subcritical water extraction. *Analytica Chimica Acta* **563**, 44-50.

Gomez-Alonso, S., Garcia-Romero, E. and Hermosin-Gutierrez, I. 2007. HPLC analysis of diverse grape and wine phenolics using direct injection and multidetection by DAD and fluorescence. *Journal of Food Composition and Analysis* **20**, 618-626.

Gruz, J., Novak, O. and Strnad, M. 2008. Rapid analysis of phenolic acids in beverages by UPLC-MS/MS. *Food Chemistry* **111**, 789-794.

Guadalupe, Z., Soldevilla, A., Sáenz-Navajas, M.P. and Ayestaran, B. 2006. Analysis of polymeric phenolics in red wines using different techniques combined with gel permeation chromatography fractionation. *Journal of Chromatography A* **1112**, 112-120.

Hernandez, T., Estrella, I., Carlavilla, D., Martin-Alvarez, P.J. and Moreno-Arribas, M.V. 2006. Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Analytica Chimica Acta* **563**, 116-125.

Huang, Y., Lu, W.-w., Chen, B., Wu, M. and Li, S.-g. 2015. Determination of 13 phenolic compounds in rice wine by high performance liquid chromatography. *Food Analytical Methods* **8**, 825-832.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008a. Orosensory directed identification of astringent mouthfeel and bitter tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 1376-1386.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008b. Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 9190-9199.

Ivanova, V., Dornyei, A., Mark, L., Vojnoski, B., Stafilov, T., Stefova, M. and Kilar, F. 2011. Polyphenolic content of Vranec wines produced by different vinification conditions. *Food Chemistry* **124**, 316-325.

Jaitz, L., Siegl, K., Eder, R., Rak, G., Abranko, L., Koellensperger, G. and Hann, S. 2010. LC-MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage. *Food Chemistry* **122**, 366-372.

Jirovsky, D., Horakova, D., Kotoucek, M., Valentova, K. and Ulrichova, J. 2003. Analysis of phenolic acids in plant materials using HPLC with amperometric detection at a platinum tubular electrode. *Journal of Separation Science* **26**, 739-742.

Kolouchova-Hanzlikova, I., Melzoch, K., Filip, V. and Smidrkal, J. 2004. Rapid method for resveratrol determination by HPLC with electrochemical and UV detections in wines. *Food Chemistry* **87**, 151-158.

Larger, P.J., Breda, M., Fraier, D., Hughes, H. and James, C.A. 2005. Ion suppression effects in liquid chromatography tandem mass spectrometry due to a formulation agent, a case study in drug discovery bioanalysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **39**, 206-216.

Matuszewski, B.K., Constanzer, M.L. and Chavez-Eng, C.M. 2003. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Analytical Chemistry* **75**, 713-718.

Mendoza, L., Matsuhiro, B., Aguirre, M.J., Isaacs, M., Sotes, G., Cotoras, M. and Melo, R. 2011. Characterization of phenolic acids profile from chilean red wines by high-performance liquid chromatography. *Journal of the Chilean Chemical Society* **56**, 688-691.

Morais, H., Ramos, C., Forgacs, E., Cserhati, T. and Oliviera, J. 2002. Influence of storage conditions on the stability of monomeric anthocyanins studied by reversed phase high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences* **770**, 297-301.

Morton, L.W., Caccetta, R.A., Puddey, I.B. and Croft, K.D. 2000. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds: relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* **27**, 152-159.

Nicoletti, I., Bello, C., De Rossi, A. and Corradini, D. 2008. Identification and quantification of phenolic compounds in grapes by HPLC-PDA-ESI-MS on a semimicro separation scale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 8801-8808.

Niessen, W.M.A. 2006. LC-MS Analysis of Plants Phenols. In *Liquid Chromatography Mass Spectometry.* CRC Press and Taylor. Boca Raton, Floridad. pp 423-425.

Pati, S., Losito, I., Gambacorta, G., La Notte, E., Palmisano, F. and Zambonin, P.G. 2006. Simultaneous separation and identification of oligomeric procyanidins and anthocyanin derived pigments in raw red wine by HPLC-UV-ESI-MSn. *Journal of Mass Spectrometry* **41**, 861-871.

Pati, S., Liberatore, M.T., Gambacorta, G., Antonacci, D. and La Notte, E. 2009. Rapid screening for anthocyanins and anthocyanin dimers in crude grape extracts by high performance liquid chromatography coupled with diode array detection and tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1216**, 3864-3868.

Pereira, V., Camara, J.S., Cacho, J. and Marques, J.C. 2010. HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. *Journal of Separation Science* **33**, 1204-1215.

Perez-Lamela, C., Garcia-Falcon, M.S., Simal-Gandara, J. and Orriols-Fernández, I. 2007. Influence of grape variety, vine system and enological treatments on the colour stability of young red wines. *Food Chemistry* **101**, 601-606.

Peynaud., E. 1999. Enología practica. *Conocimiento y elaboración de vino*. Madrid-España. Plumb, R., Castro-Perez, J., Granger, J., Beattie, I., Joncour, K. and Wright, A. 2004. Ultra performance liquid chromatography coupled to quadrupole orthogonal time of flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **18**, 2331-2337.

Proestos, C., Bakogiannis, A., Psarianos, C., Koutinas, A.A., Kanellaki, M. and Komaitis, M. 2005. High performance liquid chromatography analysis of phenolic substances in Greek wines. *Food Control* **16**, 319-323.

Prokudina, E.A., Havlicek, L., Al-Maharik, N., Lapcik, O., Strnad, M. and Gruz, J. 2012. Rapid UPLC-ESI-MS/MS method for the analysis of isoflavonoids and other phenylpropanoids. *Journal of Food Composition and Analysis* **26,** 36-42.

Remy, S., Fulcrand, H., Labarbe, B., Cheynier, V. and Moutounet, M. 2000. First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin tannin reactions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**, 745-751.

Revilla, E. and Ryan, J.M. 2000. Analysis of several phenolic compounds with potential antioxidant properties in grape extracts and wines by high performance liquid chromatography photodiode array detection without sample preparation. *Journal of Chromatography A* **881**, 461-469.

Rodriguez-Delgado, M.A., Malovana, S., Perez, J.P., Borges, T. and Montelongo, F.J.G. 2001. Separation of phenolic compounds by high performance liquid chromatography with absorbance and fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A* **912**, 249-257.

Sáenz-Navajas, M.P., Ferreira, V., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2010a. Characterization of taste active fractions in red wine combining HPLC fractionation, sensory analysis and ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta* **673**, 151-159.

Sáenz-Navajas, M.P., Tao, Y.S., Dizy, M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2010b. Relationship between nonvolatile composition and sensory properties of

premium Spanish red wines and their correlation to quality perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 12407-12416.

Sáenz-Navajas, M.P., Echavarri, F., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2011. Pigment composition and color parameters of commercial Spanish red wine samples: linkage to quality perception. *European Food Research and Technology* **232**, 877-887.

Sato, M., Suzuki, Y., Okuda, T. and Yokotsuka, K. 1997. Contents of resveratrol, piceid, and their isomers in commercially available wines made from grapes cultivated in Japan. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **61**, 1800-1805.

Schwarz, M., Rodriguez, M.C., Guillen, D.A. and Barroso, C.G. 2009. Development and validation of UPLC for the determination of phenolic compounds and furanic derivatives in Brandy de Jerez. *Journal of Separation Science* **32**, 1782-1790.

Srivastava, B., Sharma, B.K., Uttam Singh Baghel, Yashwant and Neha sethi. 2010. Ultra performance liquid chromatography (UPLC): a chromatography technique. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance* **Vol 2**, 19-25.

Spacil, Z., Novakova, L. and Solich, P. 2008. Analysis of phenolic compounds by high performance liquid chromatography and ultra performance liquid chromatography. *Talanta* **76**, 189-199.

Sun, J., Liang, F., Bin, Y., Li, P. and Duan, C. 2007. Screening non colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. *Molecules* **12**, 679-693.

Tourino, S., Fuguet, E., Jauregui, O., Saura-Calixto, F., Cascante, M. and Torres, J.L. 2008. High-resolution liquid chromatography/electrospray ionization time of flight mass spectrometry combined with liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry to identify polyphenols from grape antioxidant dietary fiber. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **22**, 3489-3500.

Verette, E., Qian, F. and Mangani, F. 1995. Online dialysis with high performance liquid chromatography for the automated preparation and analysis of sugars and organic acids in foods and beverages. *Journal of Chromatography A* **705**, 195-203.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. and Waters, E.J. 2003. The mouthfeel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**, 564-573.

Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V. and Waters, E. 2004. Taste and mouthfeel properties of different types of tannin like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica Acta* **513**, 57-65.

Wang, C., Zuo, Y., Vinson, J.A. and Deng, Y. 2012. Absorption and excretion of cranberry derived phenolics in humans. *Food Chemistry* **132**, 1420-1428.

Wang, H.B., Shrikhande, A. and Race, E. 2003. Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap LC-MS. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **225**, 69

Wang, Y., Catana, F., Yang, Y.N., Roderick, R. and van Breemen, R.B. 2002. An LC-MS method for analyzing total resveratrol in grape juice, cranberry juice, and in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 4321-435.

Yu, K., Little, D., Plumb, R. and Smith, B. 2006. High throughput quantification for a drug mixture in rat plasma a comparison of Ultra Performance(™) liquid chromatography/tandem mass spectrometry with high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* **20**, 544-552.

Zafrilla, P., Morillas, J., Mulero, J., Cayuela, J.M., Martinez-Cacha, A., Pardo, F. and Nicolas, J.M.L. 2003. Changes during storage in conventional and ecological wine: Phenolic content and antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 4694-4700.

Zhang, A., Fang, Y.L., Meng, J.F., Wang, H., Chen, S.X. and Zhang, Z.W. 2011. Analysis of low molecular weight organic acids in several complex liquid biological systems via HPLC with switching detection wavelength. *Journal of Food Composition and Analysis* **24**, 449-455.

Zotou, A., Loukou, Z. and Karava, O. 2004. Method development for the determination of seven organic acids in wines by reversed-phase high performance liquid chromatography. *Chromatographia* **60**, 39-44.

CAPÍTULO 2

CARACTERÍSTICAS AROMÁTICAS DE VINOS TINTOS ESPAÑOLES PERTENECIENTES A DISTINTAS CATEGORÍAS DE PRECIO Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD

2.1 INTRODUCCIÓN

En el campo de la ciencia de los alimentos, el concepto de calidad ha despertado especial interés en las últimas décadas. Sin embargo, la calidad de un producto es un parámetro complejo de definir. El nivel de calidad percibida ha sido descrita como "el juicio sobre la excelencia general o superioridad de un producto" (Zeithaml, 1988). La Organización Internacional de Normalización define la calidad como el "grado en el que las características inherentes de un producto son capaces de satisfacer necesidades" (ISO NORM 9000, 2000).

Tradicionalmente, la evaluación de la calidad del vino se ha llevado a cabo por enólogos u otros expertos. Habitualmente, el catador experto es la persona que actúa como juez de las características sensoriales del producto en cuestión basándose en su experiencia y en una serie de datos analíticos como la composición química y las propiedades físicas de los vinos. La evaluación sensorial llevada a cabo por un panel entrenado puede proporcionar información sobre las diferentes sensaciones que se experimentan al ingerir un vino, convirtiéndose en una herramienta útil tanto para los enólogos como para los departamentos de marketing, producción, viticultura, control de calidad e investigación y desarrollo (I+D).

El análisis sensorial de los alimentos es una disciplina científica usada para medir, analizar e interpretar las sensaciones que producen diversos estímulos, siendo las técnicas de análisis sensorial empleadas como un complemento en el control de calidad y como una herramienta fiable en la caracterización de productos (Varela y Gambaro, 2006, Goldner y Zamora, 2007, Campo *et al.*, 2008, Jones *et al.*, 2008, Ferreira *et al.*, 2009).

En comparación con otras bebidas, el vino es un producto que evoca una amplia gama de aromas y atributos en boca como resultado de diferentes variables relacionadas con las variedades de uvas, con los métodos de vinificación, prácticas vitícolas, orígenes geográficos y añada. Varios estudios muestran que el flavor es un factor dominante en la elección de un vino y en la percepción de calidad (Keown y Casey, 1995, Thompson y Vourvachi, 1995). Sin embargo, las propiedades sensoriales

intrínsecas del flavor del vino son sólo un componente en la definición de calidad (Bisson *et al.*, 2002), ya que factores extrínsecos tales como la botella y diseño de la etiqueta son variables que marcan preferencias en la selección de los vinos (Charters y Pettigrew, 2007). Varios estudios muestran que el flavor es un factor dominante en la elección de un vino y en la percepción de calidad (Keown y Casey, 1995, Thompson y Vourvachi, 1995), durante la compra de un vino, el flavor es la incertidumbre que interesa a la mayoría de consumidores (Mitchell y Greatorex, 1988Spawton, 1991).

En un estudio realizado por Ferreira *et al.*, (2009), la correlación entre la composición aromática y la calidad percibida en un conjunto de vinos tintos españoles demuestra que la calidad de éstos está ligada a la ausencia de odorantes relacionados con notas negativas o defectuosas, y a la presencia de un número relativamente amplio de odorantes frutales.

También existe un creciente reconocimiento de interacciones entre odorantes, interacciones perceptuales entre los distintos sentidos o bien las existentes entre odorantes y diferentes elementos de la fracción no volátil del vino, los cuales impactan en la volatilidad de los aromas o en la liberación de compuestos del flavor ejerciendo un efecto importante en la intensidad del flavor percibido, así como en la calidad percibida del vino (Aznar *et al.*, 2003, Polaskova *et al.*, 2008, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010b). Estas investigaciones refuerzan la idea de que la percepción del flavor es dinámica y es el resultado de un patrón complejo de interacciones físicas y químicas. Esto conduce a considerar la importancia del análisis sensorial como una herramienta útil para el conocimiento y comprensión de la calidad sensorial del vino.

Este capítulo pretende definir el espacio sensorial aromático de vinos tintos españoles pertenecientes a distintas categorías de precio y determinar la relación existente entre los descriptores sensoriales y la calidad evaluada por expertos.

2.2 MATERIAL Y MÉTODOS

2.2.1 Referencias aromáticas

Las referencias estándar empleadas fueron elaboradas a partir de dos tipos de fuentes: (a) odorantes comerciales de *International Flavour and Fragrances* (Dijon, Francia), Sentosphère (Paris, Francia), *Le Nez du Vin*, *Le Nez du Vin - Les Défauts* y *Le Nez du Café* (Jean Lenoir, Provence, Francia), Firmenich (Ginebra, Suiza), *Le Loto des Odeurs* (Paris, Francia), Sigma - Aldrich (St.Louis, Mo, EEUU), Scharlab (Barcelona, España), y (b) productos frescos como frutas, zumos, especias, vegetales, entre otros; todos ellos preparados al comienzo de cada sesión, siguiendo el proceso desarrollado por otros trabajos citados en la bibliografía (Campo *et al.*, 2008, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b). En el Anexo I se muestran los descriptores aromáticos junto con la referencia tal y como se preparó justo antes de cada sesión.

2.2.2 Vinos

Tres grupos de vinos tintos españoles disponibles en el mercado se seleccionaron en base a datos de ventas, de manera que se obtuvo una muestra aleatoria y representativa de los vinos tintos españoles presentes en el mercado en el año 2009. El primer grupo de vinos considerados de gama alta está formado por 24 muestras con un precio de venta entre 15 - 25 €, el segundo grupo de gama media incluye 34 vinos con un precio que oscila entre 6 - 14 € y el tercer grupo de gama baja incluye 36 vinos entre 1 - 5 €. La información de la zona de origen, añada y categoría de precio de los vinos se proporciona en la Tabla 2.1.

2.2.3 Análisis sensorial descriptivo por un panel entrenado

2.2.3.1 Panel

Un total de 37 voluntarios conformado por estudiantes y personal de la Universidad de La Rioja (22 mujeres y 15 hombres, de edades comprendidas entre 22 - 45 años) fueron reclutados en base a sus intereses y disponibilidad para participar en 25 sesiones de una hora por semana.

Tabla 2.1. Denominación de origen, marca y añada de los vinos del estudio pertenecientes a las tres categorías: gama alta, gama media y gama baja.

Origen	Gama Alta	Gama Media	Gama Baja
DO Alicante	-	Puerto Salinas (2003)	-
DO Bierzo	Bembibre Dominio de Tares (2004)	Dominio de Tares, Cepas Viejas (2005)	Vinos Guerra (2008)
DO Campo de Borja	-	Coto de Hayas (2007)	Viña Tito (2007) Coto de Hayas (2008)
DO Catalayud	Albada (2005)	Cruz de Piedra (2006)	Castillo de Maluenda (2008) Garnacha de Fuego (2008)
DO Cariñena	Care (2005)	Bancales (2004) Garnacha Hacienda Molleda (2006)	Monasterio de las Viñas (2008) Don Mendo (2008)
DO Cataluña	-	-	Conde de Caralt (2008)
DO Condado de Huelva	-	-	Lantero (2008)
DO Dominio Valdepusa	-	Summa Varietalis (2003)	-
DO Jumilla	Casa Castillo Pie Franco (2000)	-	San Isidro Monastrell (2008)
DO Mallorca	Ribas de Cabrera (2000)	AN/2 (2005)	-
DO La Mancha	-	-	Lardero (2008)
DO Montsant	Venus La Universal (2003)	-	-
DO Navarra	-	Santa Cruz de Artazu (2005)	Viña Irache (2007) Cepa Araciel (2008)
DO Penedés	Jean Leon (2001)	Gran Caus (2000) Atrium (2002) Gran Coronas Torres (2004)	Vall de Juy (2008)

Tabla 2.1. Continúa.

Origen	Gama Alta	Gama Media	Gama Baja
DOCa Priorat	Les Ones (2002)	Martinet Bru (2004) Solanes (2004) Badacel (2005)	Mas de L`alba (2008)
DO Ribera de Duero	Carmelo Rodero (2000) Chafandin (2002) Pago de Capellanes (2003) Dominio de Atauta (2004) Avan Cepas Centenarias (2005)	Arzuaga (2005) Viña Sastre (2005) Pago de los Capellanes (2007)	Montequiero (2008) Ribereño (2008) Valpincia (2008)
DO Ribera Sacra	-	-	Rectoral de Amandi (2008)
DOCa Rioja	La Montesa (2001) Fincas de Ganuza (2002) Luberri Cepas Viejas (2003) Muga (2003) Allende (2004) Roda (2004) San Vicente (2004)	Luberri Monje (2003) Remelluri (2003) Sierra Cantabria (2004) Ilurce Vendimia Seleccionada (2005) La Montesa (2005)	Bodegas de Ábalos (2008) Cerro Hidalgo (2008) Ilurce (2008) Puente de Haro (2008) Solar Viejo (2008)
DO Somontano	Enate (2005)	Enate (2002)	Montesierra (2007) Viñas del Vero (2008)

Tabla 2.1. Continúa.

Origen	Gama Alta	Gama Media	Gama Baja
DO Toro	Estancia Piedra Paredinas (2000) San Román (2002)	Piedra Estancia (2002)	Cermeño (2008) Bajoz (2008)
DO Valdeorras	-	Erebo (2007)	-
DO Valdepeñas	-	-	Calle Real (2008) Viña Albali (2008)
DO Valencia	-	-	Castillo de Liria (2008)
DO Yecla	-	Castaño Cepas Viejas (2004)	-
Vino de la Tierra Cangas	-	-	Monasterio de Corias (2008)
Vino de la Tierra Castilla	Vallegarcía (2002)	Dehesa de Carrizal (2002)	Primus. Señorio de Toledo (2008)
Vinos de la Tierra Castilla y Leon	-	Cumal (2005) Martue (2006) Rivola Abadia Retuerta (2006)	Realeza (2007)
Vinos de la Tierra del Cinca	-	-	Veranza (2008)
Vinos de la Tierra del Guadiana	-	-	Zaos (2007)
Vinos de la Tierra Ribera del Jiloca	-	Muret (2004)	-
Vinos de la Tierra Ribera de Queiles	-	Guelbenzu EVO (2004)	-
Vinos de la Tierra Terrazo	-	Mestizaje (2006)	-

2.2.3.2 Entrenamiento

Los panelistas participaron en ocho sesiones de entrenamiento (1 hora por sesión) durante dos meses, trabajando en subgrupos de 5 a 7 personas dirigidos por el mismo líder y siguiendo las mismas directrices para evitar diferencias en el entrenamiento entre los distintos subgrupos. El periodo de entrenamiento comprendió dos fases: una fase de entrenamiento general y otra específica. Durante la fase de entrenamiento general (cuatro sesiones), se les proporcionó una lista con 110 descriptores aromáticos obtenidos a partir de la compilación de otras listas empleadas en la descripción de vinos (Campo *et al.*, 2008, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b). En cada sesión de entrenamiento general, los panelistas olieron entre 10 y 12 referencias aromáticas estándar con el fin de familiarizarse con los aromas de la lista de descriptores que se recogen en el Anexo II. Posteriormente, los panelistas evaluaron dos vinos con diferentes características y describieron las propiedades aromáticas que eran capaces de detectar, siempre eligiendo un máximo de cinco descriptores de la lista. Los vinos seleccionados para la fase de entrenamiento general se caracterizaron por presentar propiedades sensoriales fácilmente reconocibles. En esta fase se utilizaron vinos blancos, tintos y rosados de diferentes denominaciones de origen y variedades. El formato de instrucciones y de trabajo utilizado durante esta fase se muestra en el Anexo III.

El entrenamiento específico se articuló en tres fases con cuatro sesiones cada una, en las cuales los panelistas se familiarizaron con las muestras de estudio, es decir con vinos tintos pertenecientes a los segmentos de precio gama alta, media y baja. Durante estas fases, al igual que en la fase de entrenamiento general, se les presentaron a los panelistas entre 10 y 12 referencias aromáticas por sesión. El formato de instrucciones y de trabajo utilizado durante esta fase se muestra en el Anexo IV. Todas las sesiones finalizaron con una discusión comparando los descriptores aromáticos dados por los panelistas para describir cada vino.

2.2.3.3 Evaluación de los vinos

Los panelistas entrenados describieron un total de 94 vinos. Los 24 vinos de gama alta fueron evaluados por duplicado en cinco sesiones. Los 34 vinos de gama

media fueron evaluados en cuatro sesiones, en cada sesión una muestra fue replicada. Los 36 vinos de gama baja fueron evaluados en otras cuatro sesiones, en las que una muestra fue replicada. El número de vinos presentados por sesión fueron de entre nueve y diez, cada sesión tuvo una duración de 45 min.

Para la evaluación de cada vino se sirvieron diez mililitros en copas negras normalizadas (ISO NORM, 1977) codificadas con un número de tres cifras, cubiertas por una placa Petri y presentadas de acuerdo a un orden aleatorio. Los panelistas tenían que oler la muestra ortonasalmente y describir el aroma seleccionando un máximo de cinco atributos incluidos en la lista de 110 descriptores aromáticos de acuerdo con el método frecuencia de citación (Campo *et al.*, 2008, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b). El formato de ficha utilizado durante la evaluación se muestra en el Anexo V.

Todos los vinos se sirvieron a temperatura ambiente (20 - 22 °C) y fueron evaluados en cabinas individuales. Los panelistas no fueron informados sobre la naturaleza de las muestras a evaluar.

2.2.4 Evaluación de calidad por un panel de expertos

Un panel de 22 expertos (8 mujeres y 14 hombres entre 25 y 60 años) con una amplia experiencia en el análisis sensorial de vinos, pero con diferentes perfiles profesionales: siete investigadores del aroma (AR), siete enólogos (WM) y ocho sumilleres (S) participaron en tres sesiones de aproximadamente 60 min. En cada sesión evaluaron una categoría de vinos; gama alta, gama media y gama baja. Antes de iniciar cada sesión, los jueces fueron informados del rango de precios de la categoría de muestras a evaluar y no se les desveló más información.

La tarea propuesta fue clasificar los vinos en base a la calidad percibida (color, aroma y sensaciones en boca), para ello quince mililitros de muestra fueron servidos en copas normalizadas transparentes (ISO NORM, 1977) codificadas con un número de tres cifras y cubiertas con una placa de Petri. Las muestras se presentaron en un orden distinto y aleatorio para cada sujeto. Los expertos tenían que oler y probar cada muestra en el orden propuesto con el fin de minimizar cualquier sesgo introducido por el orden de presentación. A continuación, se les permitió oler y

probar el vino tantas veces como desearan y en cualquier orden. Para desarrollar esta clasificación, los expertos tenían que agrupar los vinos en cinco categorías, las cuales se designaron como excepcional (asociado a una puntuación de 5), bueno o muy bueno (puntuación de 4), correcto (puntuación de 3), pobre o decepcionante (puntuación de 2) y defectuoso o rechazable (puntuación de 1) siguiendo las pautas indicadas por Ferreira *et al.*, (2009) y Sáenz-Navajas *et al.*, (2011b). Una vez que los participantes habían terminado con la agrupación de los vinos por categorías, se les solicitó que indicaran los criterios usados en la evaluación de la calidad del vino. El protocolo entregado a los panelistas se muestra en el Anexo VI.

En los casos en los que las botellas tuvieran defectos sensoriales, se abría una nueva botella, si el problema sólo afectaba a la primera botella, ésta se descartó y la evaluación sensorial se realizó con la segunda. Si por el contrario, el defecto persistía, la muestra se incluía en el experimento por considerarla una característica propia del vino vendido en el mercado.

Todos los vinos fueron servidos a temperatura ambiente (20 - 22 °C) y evaluados en cabinas individuales.

2.2.5 Análisis estadístico

2.2.5.1 Análisis del comportamiento del panel entrenado

Con el fin de evaluar el comportamiento del panel entrenado en cuanto a la descripción aromática, se calculó un índice de reproducibilidad individual (*Ri*) para cada uno de los panelistas empleando las muestras repetidas que evaluaron en las tres categorías de vinos; gama alta, gama media y gama baja, tal y como proponen Campo *et al.*, (2008):

$$Ri = \Sigma[2 \times descom\ (desrep_1 + desrep_2)]/n$$

Donde ***descom*** es el número de términos comunes dados por el panelista en las dos réplicas de un mismo vino, ***desrep***$_1$ y ***desrep***$_2$ son el número de términos dados por el panelista en la primera y segunda repetición, respectivamente y *n* es el número de vinos. Las respuestas de los sujetos que presentaron un *Ri* < 0.20 no fueron

consideradas en el tratamiento de los datos. Los análisis se llevaron a cabo con el programa Excel para Windows.

2.2.5.2 Análisis del comportamiento del panel de expertos

El índice de calidad para cada vino perteneciente a la categoría gama alta, gama media y gama baja se calculó como la media de las puntuaciones individuales proporcionadas por cada experto (Ferreira *et al.*, 2009).

Con el fin de determinar las diferencias en la evaluación de calidad entre los grupos de profesionales, se realizó un análisis de varianza ANOVA a dos factores considerando la profesión del experto (AR, WM y S) y los vinos como factores fijos. Además, se calculó un análisis de componentes principales (PCA) para cada categoría de vinos (jueces en columnas y vinos en filas) para evaluar el consenso en el concepto de calidad.

Los análisis se llevaron a cabo con el programa SPSS versión 19.0 (SPSS Inc., Illinois, EEUU) y programa SPAD versión 5.5 (CISIA CESRESTA, Montreal, Francia).

2.2.5.3 Cálculo de la frecuencia de citación (FC) de los descriptores aromáticos y creación de términos combinados

2.2.5.3.1 Cálculo de la FC de los descriptores aromáticos

Para realizar el cálculo de la distribución de los descriptores aromáticos individuales se construyó una tabla de contingencia con todas las muestras colocadas en filas incluidas las réplicas y los descriptores aromáticos en columnas para cada categoría de vinos. Con este conjunto de datos se determinaron la frecuencia de citación máxima ($FC_{máx}$), el número total de citaciones recibidas para cada término y la frecuencia de citación promedio (FC_{prom}) por vino.

A partir de los datos FC calculados, se estimaron las distribuciones esperadas más probables para cada descriptor con el fin de establecer si la elección de términos fue realizada por causas puramente aleatorias. Una vez calculadas estas distribuciones, se compararon con las distribuciones observadas mediante la prueba chi-cuadrado (χ^2). A continuación, se estudió caso a caso separando las distribuciones según el valor de significatividad, diferenciando los siguientes casos:

a) Descriptores con una distribución observada significativamente superior a la esperada aleatoriamente, corresponde a descriptores aromáticos con un $P < 0.05$ y un número total de citaciones > FC_{prom}.

b) Descriptores con una distribución observada no significativamente distinta a la esperada, pero con una $FC_{máx}$ superior a la probabilística, son muestras que han recibido un número total de citaciones cercanas a la FC_{prom}.

c) Descriptores con una distribución observada que no difiere significativamente de la esperada, también denominados no significativos (NS).

d) Descriptores con una distribución significativamente inferior a la esperada.

Los descriptores aromáticos considerados en posteriores tratamientos de datos se analizaron en función de la siguiente clasificación:

a) Termino superior, considerados como términos primarios,

b) Termino NS, útiles para la construcción de términos combinados, y

c) Termino inferior, considerados como ruido.

2.2.5.3.2 Creación de términos combinados

Los términos combinados no son estrictamente necesarios, ya que los términos primarios favorecen una descripción detallada de los vinos por sí solos. Sin embargo, contribuyen a una representación más simplificada de las propiedades aromáticas de los vinos. La selección de términos combinados se hace en función de dos criterios:

a) Familias aromáticas naturales (tal y como se han definido en la ficha de cata en el Anexo II).

b) Análisis clúster de variables, el cual permite ver asociaciones entre términos.

Este análisis implicó el cálculo de las distribuciones esperadas y la comparación con las distribuciones observadas para cada término combinado creado en cada

categoría de precio. Sólo fueron retenidos aquellos términos combinados que mantenían o mejoraban la significatividad de los términos primarios.

Los análisis se llevaron a cabo con el programa Excel para Windows y con el programa SPAD versión 5.5 (CISIA CESRESTA, Montreal, Francia)

2.2.5.4 Análisis multivariante

Análisis de correspondencias (CA). Se creó una tabla de contingencia con los vinos en filas y los descriptores aromáticos en columnas, cada celda representa la FC_{prom} para cada descriptor o término combinado en un vino. El número de factores que explican el CA se seleccionaron teniendo en cuenta los factores con un valor propio mayor que el valor propio medio (Ley de Káiser). La puntuación promedio de calidad de los expertos para cada muestra de vino perteneciente a cada categoría de precio se proyectó como una variable ilustrativa en el plano del CA.

Análisis clúster jerárquico (HCA). Se aplicó el criterio de Ward a las coordenadas factoriales del CA. Los clústers identificados a partir del diagrama de árbol se consolidaron en función a sus centros móviles. Los términos que mejor caracterizaron cada clúster se identificaron mediante el cálculo del parámetro valor χ^2 (Morineau, 1984). El valor χ^2 correspondió a un criterio estadístico similar a la estandarización de variables (media cero y varianza uno), siendo la significación a partir de un valor $\chi^2 \geq 1.96$ correspondiente a un límite de error del 5%. La jerarquización de los términos de acuerdo a este criterio proporcionaron una rápida caracterización de cada clúster (Morineau, 1995).

Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR). Por medio del algoritmo PLS1 se calcularon diferentes modelos predictivos para obtener una explicación de las puntuaciones de calidad dadas por el panel de experto a partir de los descriptores de aroma ortonasal en cada categoría de precio. En primer lugar, se construyó una matriz con los valores medios de la FC de descriptores de aroma ortonasal (variables X) y las puntuaciones medias de calidad (variable Y) en columnas y los vinos en filas. Posteriormente, la matriz de datos fue centrada y escalada con el fin de obtener datos normalizados para cada categoría de precios. En la estrategia seguida para construir

los modelos se consideró un primer modelo inicial con todas las variables X, con lo que se comprobó la existencia de valores atípicos. Las muestras con una clara desviación del modelo fueron eliminadas y descartadas del proceso de calibración. El número de variables *X* en el modelo se redujo después siguiendo un proceso iterativo, buscando el modelo más sencillo con la mejor capacidad de predicción (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d). Para identificar y mantener sólo las variables significativas se utilizó la prueba de incertidumbre de Martens'. Los parámetros de calidad estudiados para evaluar la bondad de la predicción de los modelos fueron la pendiente (m) establecida a partir de la variable Y calculada y predicha, la raíz del error cuadrático medio de la predicción (RMSEP), así como el porcentaje de varianza explicada por el modelo (% EV).

Los análisis fueron realizados con el paquete estadístico SPAD versión 5.5 (CISIA-CESRESTA, Montreal, Francia) y el programa Unscrambler 9.7 (CAMO, Trondheim, Noruega).

2.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 Comportamiento del panel entrenado

El cálculo del índice de repetitividad (*Ri*) asociado a cada panelista permite conocer cómo cada juez se comporta con respecto al resto de panelistas, de acuerdo a este criterio de los 37 panelistas se seleccionaron 32 jueces (12 hombres y 20 mujeres con edad media de 30 años) para la evaluación de los vinos de gama alta, 28 participantes (9 hombres y 19 mujeres con edad media de 30 años) para los vinos de gama media y 34 panelistas (14 hombres y 20 mujeres con edad media de 29 años) para los vinos de gama baja.

2.3.2 Comportamiento del panel de expertos

Un ANOVA a dos factores con el tipo de experto (AR, WM y S) y los vinos como factores fijos presentó diferencias significativas entre las puntuaciones de calidad dadas por los tres grupos de expertos ($F = 5.368$; $P = 0.005$). La valoración de calidad de uno de los expertos (S) fue eliminada porque se identificó como discordante. Un nuevo ANOVA a dos factores fue calculado con las puntuaciones de los 21 expertos restantes, revelando diferencias no significativas ($F = 1.893$; $P = 0.151$), lo que sugiere que los participantes comparten el mismo concepto de calidad. Un PCA para cada categoría de vinos (jueces en columnas y vinos en filas) mostró que las proyecciones de los jueces sobre el plano están agrupadas juntas para cada una de las tres categorías de precio, lo que permitió confirmar que existe un consenso entre los expertos en el concepto de calidad.

Con el fin de evaluar las diferencias de calidad entre las muestras de vino en cada categoría de precio, un ANOVA a un factor confirmó diferencias significativas en el efecto vino para la categoría gama alta ($F = 5.89$; $P < 0.001$), gama media ($F = 4.90$; $P < 0.001$) y gama baja ($F = 8.94$; $P < 0.001$). Los resultados de la evaluación sensorial de la calidad se muestran en la Figura 2.1.

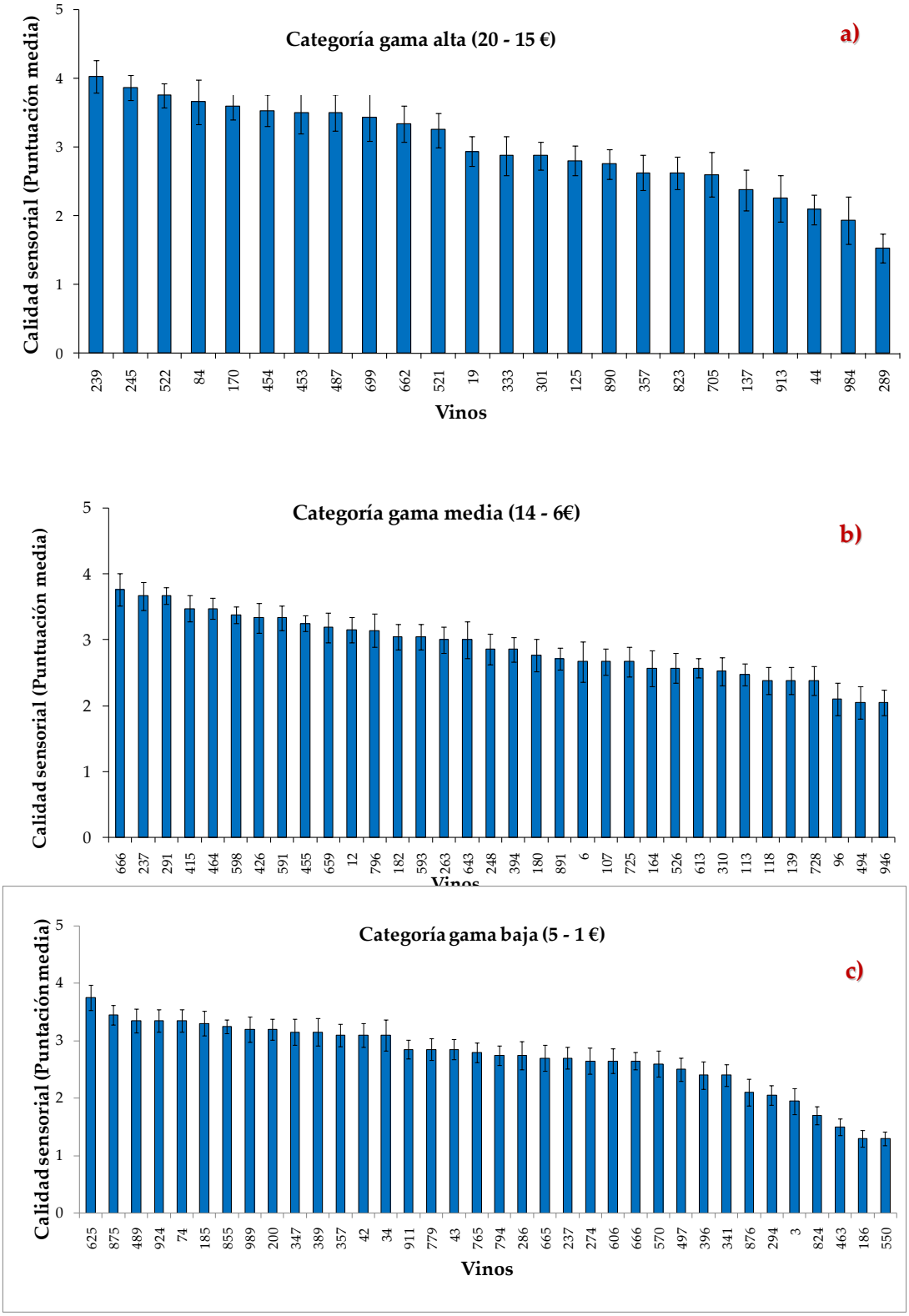


Figura 2.1. Puntuación media de calidad de los vinos pertenecientes a las categorías de precio **a)** gama alta, **b)** gama media y **c)** gama baja evaluada por el panel de expertos.

La puntuación media de calidad para los 24 vinos gama alta estuvieron en un rango entre 1.53 - 4.0, los errores estándar variaron entre 0.17 - 0.35. Los 34 vinos de gama media presentaron una puntuación media entre 2.0 - 3.8 y errores estándar entre 0.12 - 2.0. Los vinos de gama baja se encontraron en un rango entre 1.30 - 3.75 con errores estándar entre 0.12 - 0.27. Como se puede observar, la calidad en los vinos de gama alta y gama baja tuvieron un rango más amplio de puntuación en relación a los vinos de gama media.

2.3.3 Selección de términos significativos

Los descriptores del aroma ortonasal de 94 vinos tintos diferentes clasificados en tres categorías de precio se midieron mediante el uso del método FC, en el cual a un grupo de panelistas entrenados se les pidió elegir los descriptores que mejor se ajustaban a cada una de las muestras a partir de una lista de 110 términos aromáticos previamente desarrollada (Campo *et al.*, 2008).

Según las decisiones consensuales de los jueces, estos términos individuales se incluyeron en siete familias de categorías ("frutal", "floral", "vegetal", "especias", "animal", "sotobosque", "tostado/madera" y "otros"). En promedio, cada juez seleccionó 3.6, 4.1 y 4.2 términos de la lista para la descripción de los vinos de las categorías de vinos gama alta, gama media y gama baja, respectivamente.

Con estos datos, y usando estadística combinatoria básica se estimaron las distribuciones de frecuencias esperadas para cada término en cada categoría de vinos asumiendo la selección de términos completamente al azar. Estas distribuciones de frecuencias esperadas se compararon con las observadas en cada experimento, y con el cálculo de la distribución χ^2 fue posible determinar los términos que habían sido usados con frecuencias superiores a los esperados por azar. Con este criterio se determinaron 29, 22 y 38 términos relevantes en la definición del espacio sensorial aromático de las categorías gama alta, gama media y gama baja, respectivamente. En los Anexo VII, Anexo VIII, Anexo IX se recogen los mejores descriptores de los vinos para cada categoría. Debido a que la representación grafica de estos términos no fue fácil, algunos de los términos fueron combinados con otros términos pertenecientes a

la misma familia, con el fin de obtener un número reducido de términos más generales alcanzando mayores FCs y rangos. En la Tabla 2.2 se detallan 11 términos combinados, de los cuales siete; "bayas", "fruta pasa", "tostado", "madera", "especias", "alcohol" y "animal" fueron comunes en las tres categorías de precio, aunque la definición exacta de los términos combinados difirió en algunos casos. Por ejemplo, en el término "fruta pasa" no se incluyó el término "dátil" en las categorías gama media y baja. En el término "baya" se incluyó específicamente "frambuesa" y "fresa" sólo en la categoría gama baja, además para esta categoría el término "especias" fue el más complejo. El término "floral" fue significativo sólo en las categorías gama alta y gama media, mientras que el término "vegetal" lo fue sólo en gama alta y gama baja, los términos "sotobosque" y "evolucionado/oxidado" fueron usados para describir únicamente los vinos de gama alta y gama baja, respectivamente.

Tabla 2.2. Términos combinados (Cx) formados por X atributos individuales (significación entre paréntesis) con su significación de acuerdo a la distribución χ^2, el rango de frecuencia de citación (FC) (máx-min, expresado como %) y el promedio de la FC (expresado como %).

	Gama alta	Gama media	Gama baja
	Baya (C3)	**Baya (C3)**	**Baya (C5)**
	Fruta roja ($P < 0.001$)	Fruta roja ($P < 0.001$)	Fruta roja ($P < 0.001$)
	-	-	Frambuesa ($P < 0.001$)
	-	-	Fresa ($P < 0.001$)
	Fruto negro ($P < 0.001$)	Fruto negro ($P < 0.001$)	Fruto negro ($P < 0.001$)
	Mora ($P < 0.001$)	Mora ($P < 0.001$)	Mora ($P < 0.001$)
Significación	0.034	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	20.3	35.7	38.0
Promedio (%FC)	17.6	22.8	38.2
	Fruta pasa (C4)	**Fruta pasa (C3)**	**Fruta pasa (C3)**
	Fruta pasa ($P < 0.001$)	Fruta pasa ($P < 0.0001$)	Fruta pasa ($P < 0.001$)
	Dátil ($P = 0.048$)	-	-
	Ciruela ($P \leq 0.001$)	Ciruela ($P < 0.001$)	Ciruela ($P < 0.001$)
	Higo seco ($P < 0.001$)	Higo seco ($P = 0.063$)	Higo seco ($P < 0.001$)
Significación	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	37.5	39.3	41.0
Promedio (%FC)	23.8	28.8	26.1

Tabla 2.2. Continúa.

	Gama alta	Gama media	Gama baja
	Tostado (C5)	**Tostado (C5)**	**Tostado (C4)**
	Tostado ($P = 0.846$)	Tostado ($P < 0.001$)	-
	Caramelo ($P < 0.001$)	Caramelo ($P < 0.001$)	Caramelo ($P < 0.001$)
	Café ($P < 0.001$)	Café ($P < 0.001$)	Café ($P < 0.001$)
	Pan tostado ($P < 0.001$)	Pan tostado ($P < 0.001$)	Pan tostado ($P < 0.001$)
	Ahumado ($P < 0.001$)	Ahumado ($P < 0.001$)	Ahumado ($P < 0.001$)
Significación	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	26.6	46.4	41.0
Promedio (%FC)	33.1	40.2	28.3
	Madera (C2)	**Madera (C2)**	**Madera (C2)**
	Madera ($P < 0.001$)	Madera ($P < 0.001$)	Madera ($P < 0.001$)
	Madera nueva ($P < 0.001$)	Madera nueva ($P < 0.001$)	Madera nueva ($P < 0.001$)
Significación	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	23.4	39.3	31.0
Promedio (%FC)	22.7	27.7	14.6
	Especias (C4)	**Especias (C5)**	**Especias (C7)**
	Especias ($P < 0.001$)	Especias ($P < 0.001$)	Especias ($P < 0.001$)
	Vainilla ($P < 0.001$)	Vainilla ($P < 0.001$)	Vainilla ($P < 0.001$)
	Regaliz ($P < 0.001$)	Regaliz ($P < 0.001$)	Regaliz ($P < 0.001$)
	Mentol/Fresco ($P < 0.001$)	Mentol/Fresco ($P < 0.001$)	Mentol/Fresco ($P < 0.001$)
	-	Pimienta ($P < 0.001$)	Pimienta ($P < 0.001$)
	-	-	Clavo ($P = 0.172$)
	-	-	Nuez moscada ($P < 0.001$)
Significación	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	25.0	35.7	50.0
Promedio (%FC)	27.7	39.8	41.1
	Alcohol (C1)	**Alcohol (C1)**	**Alcohol (C1)**
Significación	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	17.2	39.3	26.0
Promedio (%FC)	16.7	19.9	11.8
	Animal (C2)	**Animal (C1)**	**Animal (C3)**
	Animal ($P = 0.203$)	-	Animal ($P = 0.804$)
	Cuero ($P < 0.001$)	Cuero ($P < 0.001$)	Cuero ($P < 0.001$)
	-	-	Pipí de Gato ($P < 0.001$)
Significación	< 0.001	< 0.001	< 0.001
Máx-Mín (%FC)	43.6	32.1	34.0
Promedio (%FC)	14.3	13.3	14.1

Tabla 2.2. Continúa.

	Gama alta	Gama media	Gama baja
	Vegetal (C4)	-	**Vegetal (C4)**
	Verduras ($P < 0.001$)	-	Verduras ($P = 0.0023$)
	Pimiento ($P = 0.025$)	-	Oliva ($P = 0.143$)
	Espárrago ($P = 0.006$)	-	Patata cocida ($P = 0.10$)
	Alubia verde ($P = 0.067$)	-	Alubia verde ($P = 0.003$)
Significación	< 0.001	-	0.0258
Máx-Mín (%FC)	25.0	-	38.0
Promedio (%FC)	15.0	-	17.1
	Floral (C1)	**Floral (C1)**	-
Significación	< 0.001	< 0.001	-
Máx-Mín (%FC)	12.5	25.0	-
Promedio (%FC)	8.72	12.2	-
	Sotobosque (C3)	-	**Evolucionado/oxidado (C6)**
	Humus/Tierra ($P < 0.001$)	-	Manzana ($P = 0.0255$)
	Moho ($P = 0.396$)	-	Membrillo ($P = 0.0181$)
	Champiñón ($P = 0.112$)	-	Miel ($P < 0.001$)
	-	-	Almendra amarga ($P = 0.0266$)
	-	-	Frutas cocidas/confitadas ($P < 0.001$)
	-	-	Vinagre ($P = 0.053$)
	-	-	Coliflor ($P < 0.001$)
Significación	< 0.0001	-	< 0.0001
Max-Min (%FC)	31.3	-	68.0
Promedio (%FC)	11	-	20.4

- Términos no empleados.

2.3.4 Espacio sensorial definido por la descripción del aroma ortonasal

Una mirada más cercana a los datos de la Tabla 2.2, da algunas pistas acerca de las diferencias entre categorías. Cabe destacar que la categoría gama alta parece ser la más homogénea y menos explícita en el aroma, porque presenta menores rangos de FC (máx-mín) para todos los términos, excepto para "animal", además presenta las menores FC medias en prácticamente todos los casos. Por otra parte, la categoría gama baja parece ser la más heterogénea y explícita, tal y como lo sugiere el mayor número de términos individuales significativos (35) empleados para su definición, así como el amplio rango FC (máx-mín) en cinco de sus descriptores combinados. Esto

podría ser particularmente explicado por el hecho de que la categoría gama baja fue bastante heterogénea en términos de regiones de producción de vino (24 denominaciones de origen) seguida por la categoría gama media (21) y la categoría gama alta (13), lo que podría conducir a un rango amplio de perfiles de aroma como ha sido publicado por otros autores (Parr, 2009, Green *et al.*, 2011). Finalmente, diez, ocho y nueve términos combinados significativos se tuvieron en cuenta para el CA en las categorías gama alta, gama media y gama baja, respectivamente.

El CA se empleó con el fin de identificar los términos aromáticos que más contribuyen a explicar los factores para cada uno de las categorías de vinos. El HCA se utilizó con vistas a descubrir agrupamientos naturales entre las muestras para cada uno de los grupos del estudio. Por último, un PLS permitió identificar las variables que mejor describen a cada categoría de precio en función a la calidad percibida por los expertos.

2.3.4.1 Vinos de la categoría gama alta

Como resultado de la aplicación del CA a los diez términos aromáticos combinados que mejor describen los vinos de gama alta, se observó que los tres primeros factores del CA explicaron el 75% de la varianza total. El primer factor explicó el 42.22% de la varianza y estuvo principalmente definido por el término "animal" que contribuyo en un 48% a la formación de este factor, el segundo factor explicó el 21.19% de la varianza, estuvo principalmente definido por los términos "vegetal" (30%) y "animal" (24%), mientras que el tercer factor, que representó el 12% de la varianza, estuvo fundamentalmente definido por el término "sotobosque" (50%). El HCA mostró que esta categoría contiene cinco clústers estables, dos de ellos representados por una sola muestra (Figura 2.2 y Tabla 2.3). Tal y como se puede observar, las diferencias más importantes son debidas a los términos "animal", "vegetal" y "sotobosque", las más altas FC en "vegetal" y "sotobosque" fueron para la muestra 823 (clúster 4) mientras las más altas FC en "animal" fue para la muestra 984 (clúster 5), siendo claramente las muestras más diferentes en esta categoría. Ambas muestras presentaron bajas FC en algunos términos de carácter positivo, tales como

"baya" o "especias", además de bajas puntuaciones en "calidad". Los análisis olfatométricos y químicos de estas muestras revelan que la muestra 984 presenta altos niveles de 4-etilfenol (1214 μg L^{-1}) y la muestra 823 contiene 18 μg L^{-1} de metanotiol (San-Juan *et al.*, 2011), razón por la cual estas muestras aparecen tan desviadas del resto, pudiéndose considerar como prototipos de perfiles de aromas defectuosos. Sin embargo, es importante anotar que estos dos vinos no son las muestras con las más bajas puntuaciones de "calidad" (Figura 2.1a). Este hecho nos indica que no es necesario tener un perfil de aroma desviado para tener bajas puntuaciones en calidad por los expertos.

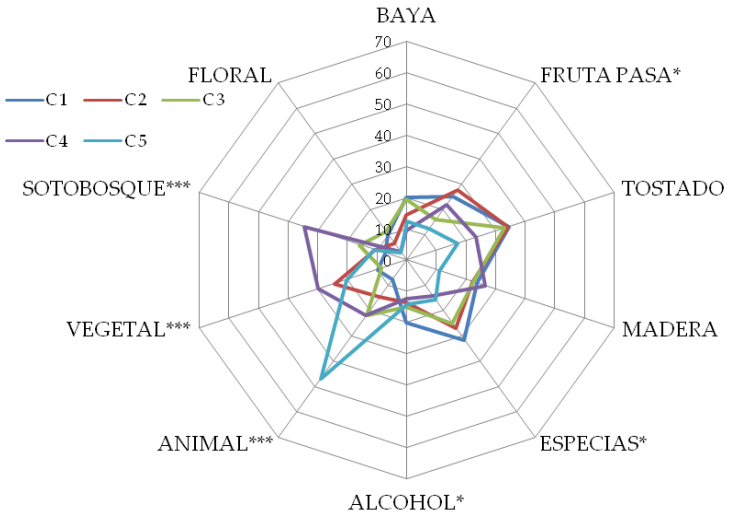


Figura 2.2. Descripción sensorial expresada como la frecuencia de citación promedio (%) de los atributos que caracterizan las muestras que pertenecen a cada clúster (C1 - C5) en la categoría de **vinos de gama alta** con sus significaciones (*P*): *$P < 0.1$; **$P < 0.01$; ***$P < 0.001$. ( ) C1, ( ) C2, ( ) C3, ( ) C4, ( ) C5.

Las diferencias entre los clústeres 1, 2 y 3 son de menor magnitud, pero aún así son cuantitativamente suficientes para indicar tres perfiles sensoriales diferentes, tal y como lo sugieren las distintas posiciones de las muestras en el plano CA (Figura 2.3). Las diferencias impactan en los términos "animal" ($P < 0.001$), "vegetal" ($P < 0.001$) y "sotobosque" ($P < 0.0001$), así como "fruta pasa" ($P = 0.083$). El clúster 1 fue el más homogéneo y estuvo caracterizado por las más bajas FC en "animal", "vegetal" y "sotobosque", y por altas FC en "fruta pasa". El clúster 2 poseía los máximas FC en "vegetal" y "fruta pasa", así como FC intermedias en "animal" y "sotobosque". El clúster 3 fue el menos homogéneo y presentó las máximas FC en

"animal" y "sotobosque" y mínimas FC en "fruta pasa" y "vegetal", así como la puntuación más baja de calidad.

Tabla 2.3. Frecuencia de citación promedio expresada en % (error estándar calculado como $s/(n)^{1/2}$; s, desviación estándar; n, número de panelistas) de los términos combinados significativos que describen cada clúster de **vinos de gama alta** y sus significaciones (*P*).

Clúster	***1***	***2***	***3***	***4***	***5***	
Vinos	**333†, 239, 487, 084, 699, 125, 137, 890, 245, 662, 521**	**522, 454, 453, 44, 913, 705†, 301**	**170, 019, 289, 357†**	**823**	**984**	***P****
Baya	20.0 ± 1.3^{a}	14.4 ± 0.3^{ab}	19.7 ± 0.9^{a}	9.4 ± 0.8^{b}	12.5 ± 0.8^{b}	0.097
Fruta pasa	25.3 ± 0.9^{a}	27.8 ± 2.2^{a}	15.6 ± 1.6^{bc}	21.9 ± 1.6^{ab}	12.5 ± 1.6^{c}	0.083
Tostado	34.4 ± 1.3	34.4 ± 0.9	33.1 ± 2.5	23.4 ± 1.2	17.2 ± 1.2	0.101
Madera	23.4 ± 0.9	22.2 ± 0.9	22.1 ± 1.9	26.6 ± 1.2	10.9 ± 1.2	0.294
Especias	31.6 ± 0.9^{a}	26.9 ± 1.3^{a}	21.3 ± 1.9^{ab}	14.1 ± 1.6^{b}	15.6 ± 1.6^{b}	0.091
Alcohol	20.0 ± 0.6^{a}	13.8 ± 0.9^{ab}	12.2 ± 1.3^{b}	12.5 ± 0.4^{b}	14.1 ± 0.4^{ab}	0.081
Animal	7.8 ± 0.6^{d}	14.4 ± 0.9^{c}	17.2 ± 1.9^{bc}	21.9 ± 0.8^{b}	46.9 ± 0.8^{a}	**<0.001**
Vegetal	9.7 ± 0.6^{c}	24.4 ± 0.6^{ab}	10.0 ± 1.3^{c}	29.7 ± 1.2^{a}	20.3 ± 1.2^{b}	**<0.001**
Sotobosque	7.2 ± 0.6^{b}	10.6 ± 0.6^{b}	10.0 ± 1.3^{b}	34.4 ± 1.2^{a}	10.9 ± 1.2^{b}	**<0.001**
Floral	10.0 ± 0.6	6.6 ± 0.6	12.5 ± 1.3	3.1 ± 0.8	3.1 ± 0.8	0.121
Calidad	3.3 ± 0.1	3.0 ± 0.1	2.6 ± 0.2	2.6 ± 0.2	1.9 ± 0.2	0.186

† Vinos más representativos de cada clúster por estar más cerca del centroide. * Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clúster ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las diferentes letras representan diferencias significativas en la frecuencia de citación para cada término entre los clúster.

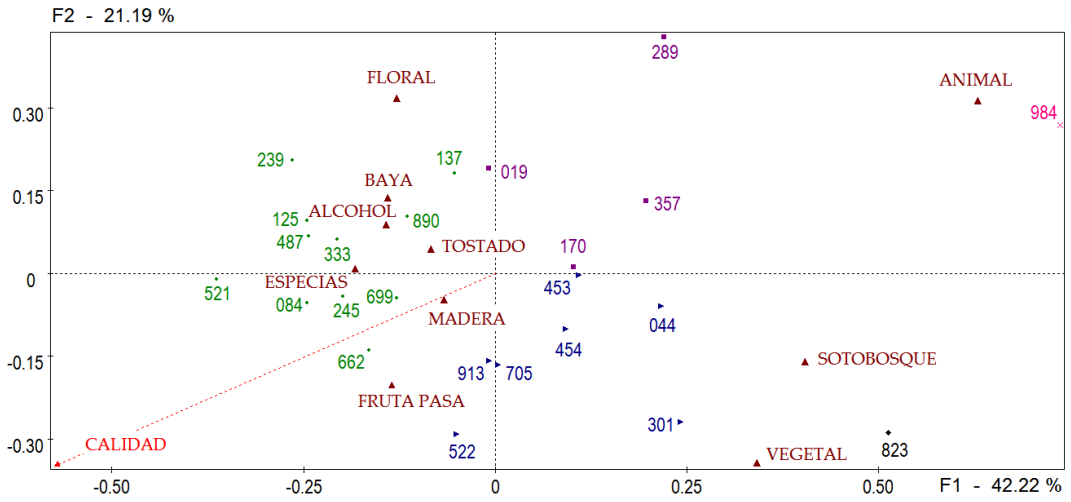


Figura 2.3. Proyección de los descriptores aromáticos y muestras en el plano factorial del CA (dimensiones 1 y 2) para los **vinos gama alta**. Clúster 1 (●), 2 (▶), 3 (■), 4 (♦) y 5 (X) obtenidos del HCA. La flecha (variable ilustrativa) representa la calidad evaluada con una prueba de categorización llevada a cabo por el panel de expertos.

A pesar de que no existen diferencias significativas para la calidad, la ausencia de significación es atribuida a la gran variabilidad de las puntuaciones de calidad de las muestras pertenecientes a esta categoría de precio.

2.3.4.2 Vinos de la categoría gama media

El CA dio lugar a tres factores significativos que explican el 70% de la varianza total. El primer factor que explicó el 29.41% de la varianza está caracterizado fundamentalmente por el término "animal", mientras el segundo factor que explicó el 23.52% de la varianza está principalmente constituido por el término individual "alcohol" (58%). El tercer factor está definido por los términos "floral" (35%), "tostado" (26%) y "fruta pasa" (25%). El HCA mostró que este grupo puede ser clasificado en cinco grupos (Figura 2.4 y Tabla 2.4).

Tal y como sugieren las distintas posiciones de las muestras en el plano bidimensional del CA (Figura 2.5). Para esta gama de vinos, las diferencias entre los clúster son muy claras, ya que todos los términos excepto "especias" tienen una puntuación significativamente diferente entre los clústers. Los clústers 2, 4 y 5 presentaron las mayores diferencias. Los clúster 2 y 5 tuvieron en común bajas FC en "baya", "madera" y "tostado"; se observó la más alta FC para una única nota sensorial "fruta pasa" en el clúster 2 y "animal" en el clúster 5. Las más altas FC del término "fruta pasa" en los vinos del clúster 2 se pueden justificar por la presencia de altos niveles de metional, mientras en el caso del clúster 5, cuatro de las muestras con mayor FC en la nota "animal" poseen altos niveles de 4-etilfenol y 4-etiguaiacol. Adicionalmente, el clúster 2 estuvo caracterizado por altas FC en "alcohol" y muy bajas FC en "floral", mientras el clúster 5 presentó muy bajas FC en "fruta pasa". Ambos clúster fueron significativamente puntuados como bajos en "calidad". Por otro lado, el clúster 4 está caracterizado por las más altas FC en "baya", "tostado", "madera" y "floral", así como las más bajas FC en "animal" y "alcohol". El clúster 3 es relativamente similar al clúster 4, aunque sus FC son ligeramente más altas en "animal" y más bajas en "floral", estos dos últimos clústers presentaron muy altas puntuaciones en "calidad". Finalmente, el clúster 1 tiene FC intermedia para las notas

"baya", "madera" y "animal", así como la más alta FC para "alcohol" y la más bajas para "tostado" y "fruta pasa" .

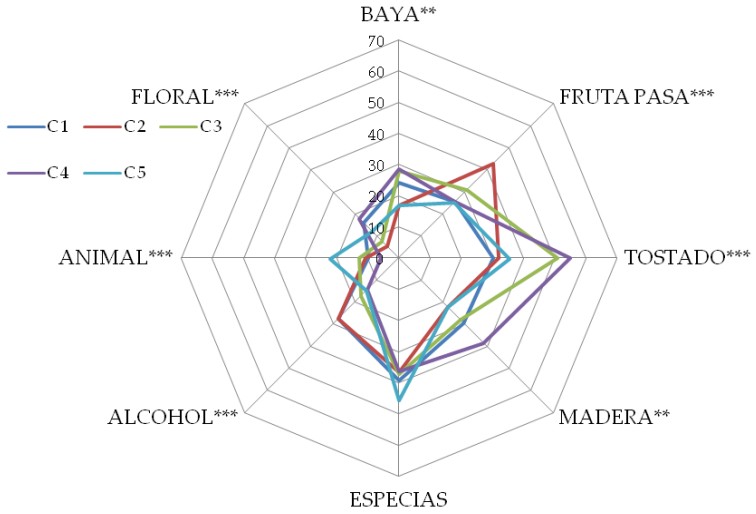


Figura 2.4. Descripción sensorial expresada como la frecuencia de citación promedio (%) de los atributos que caracterizan las muestras que pertenecen a cada clúster (C1 - C5) en la categoría de **vinos de gama media** con sus significaciones (*P*): **P* < 0.1; ***P* < 0.01; ****P* < 0.001. ( ) C1, ( ) C2, ( ) C3, ( ) C4, ( ) C5.

Tabla 2.4. Frecuencia de citación promedio expresada en % (error estándar calculado como $s/(n)^{1/2}$; s, desviación estándar; n, número de panelistas) de los términos combinados significativos que describen cada clúster de **vinos gama media** y sus significaciones (*P*).

Clúster	***1***	***2***	***3***	***4***	***5***	
Vinos	**012†, 139, 891, 593, 415, 394, 426, 006**	**182†, 248, 118, 946**	**591†, 291, 180, 598, 237, 263, 725**	**796†, 107, 464, 455, 659**	**526†, 164, 728, 310, 613, 666, 113, 096, 643**	***P****
Baya	24.1 ± 1.4^{ab}	17.0 ± 1.2^{b}	28.1 ± 1.5^{a}	28.6 ± 1.4^{a}	17.1 ± 1.2^{b}	**0.013**
Fruta pasa	25.4 ± 1.2^{b}	42.9 ± 1.0^{a}	31.1 ± 1.5^{b}	25.7 ± 1.7^{b}	25.4 ± 1.4^{b}	**0.005**
Tostado	30.4 ± 1.5^{b}	32.1 ± 1.5^{b}	51.0 ± 1.0^{a}	55.0 ± 1.8^{a}	35.7 ± 2.1^{b}	**<0.001**
Madera	29.5 ± 1.3^{ab}	22.3 ± 0.8^{b}	28.1 ± 1.7^{ab}	38.6 ± 1.7^{a}	22.2 ± 1.4^{b}	**0.008**
Especias	39.3 ± 1.3	36.6 ± 1.5	37.2 ± 1.2	36.4 ± 1.7	45.6 ± 2.0	0.207
Alcohol	27.7 ± 1.4^{a}	27.7 ± 0.6^{a}	17.3 ± 1.6^{b}	14.3 ± 1.3^{b}	14.7 ± 1.1^{b}	**0.001**
Animal	9.8 ± 0.9^{bc}	10.7 ± 1.0^{bc}	12.8 ± 0.5^{b}	5.7 ± 0.6^{c}	22.2 ± 0.9^{a}	**<0.001**
Floral	16.1 ± 1.1^{a}	5.4 ± 0.7^{c}	7.7 ± 0.8^{bc}	17.9 ± 0.8^{a}	12.3 ± 1.0^{ab}	**0.001**
Calidad	3.0 ± 0.1^{ab}	2.6 ± 0.1^{b}	3.2 ± 0.1^{a}	3.1 ± 0.1^{ab}	2.7 ± 0.1^{ab}	**0.043**

† Vinos más representativos de cada clúster por estar más cerca del centroide. * Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clúster ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las diferentes letras representan diferencias significativas en la frecuencia de citación para cada término entre los clúster.

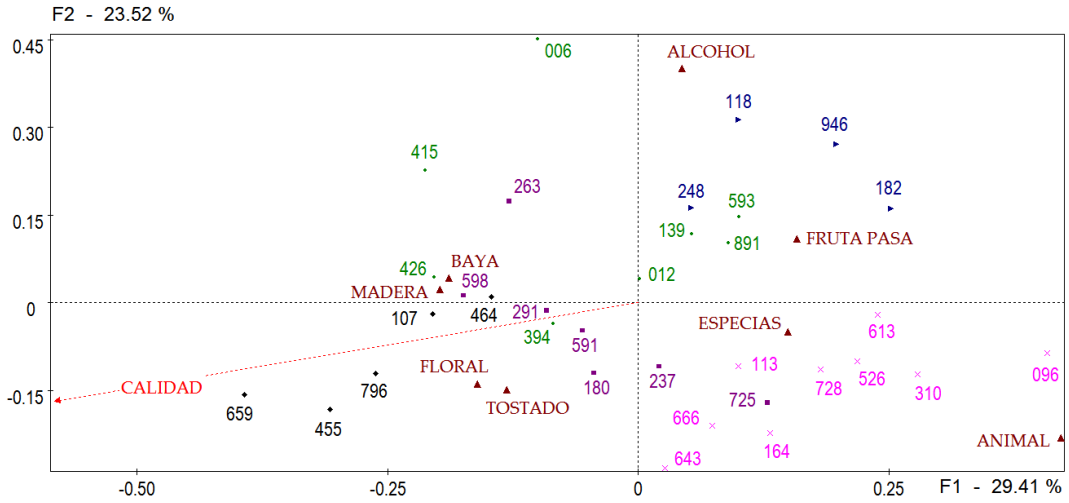


Figura 2.5. Proyección de los descriptores aromáticos y muestras en el plano factorial del CA (dimensiones 1 y 2) para los **vinos gama media**. Clúster 1 (●), 2 (▶), 3 (■), 4 (♦) y 5 (X) obtenidos del HCA. La flecha (variable ilustrativa) representa la calidad evaluada con una prueba de categorización llevada a cabo por el panel de expertos.

2.3.4.3 Vinos de la categoría gama baja

Esta categoría difiere fundamentalmente por la presencia del término "evolucionado/oxidado" en algunas muestras, ya que este término no ha sido empleado en las otras dos categorías de precio anteriores. Este término está formado por la combinación de los términos "manzana", "membrillo", "miel", "almendra amarga", "frutas cocidas/confitadas", "vinagre" y "coliflor", todos ellos relacionados con procesos de oxidación o evolución frecuentemente ligados a la formación de aldehídos como el acetaldehído que proporciona la nota manzana cocida (Azzara y Campbell, 1992), fenilacetaldehído responsable de las notas a miel (Ferreira *et al.*, 2002), matices de madera vieja en vinos tintos envejecidos (Aznar *et al.*, 2003), coliflor (Breme *et al.*, 2009) y metional relacionado con uvas pasas (San-Juan *et al.*, 2011).

En esta categoría de vinos, el CA muestra que los dos primeros factores son significativos y explican el 58.94% de la varianza total. El primer factor que explicó el 43.64% de la varianza está principalmente definido por los términos "evolucionado/oxidado", mientras que el segundo factor que explicó el 15.30% de la varianza está caracterizado fundamentalmente por el término "animal" (50%). El HCA calculado con todos los factores ha definido cuatro clústers estables (Figura 2.6

y Tabla 2.5), las diferencias entre los clústers son muy marcadas, ya que las frecuencias de prácticamente todos los atributos difieren significativamente entre ellos. Tal y como sugieren las distintas posiciones de las muestras en el plano bidimensional de los dos primeros factores del CA (Figura 2.7).

El clúster 1 agrupa las dos muestras más diferentes, ya que poseen las FC más altas en "fruta pasa", "alcohol" y "evolucionado/oxidado", y las más bajas FC en "baya", "madera" y "especias", además las más bajas puntuaciones en "calidad". Estas dos muestras se pueden considerar como una característica clara de un defecto de oxidación. Además su composición química muestran una mayor cantidad de acetaldehído (60 y 105 mg L^{-1}), así como de otros aldehídos tales como E-2 nonenal, fenilacetaldehído, isovaleraldehído y metional (San Juan *et al.*, 2012).

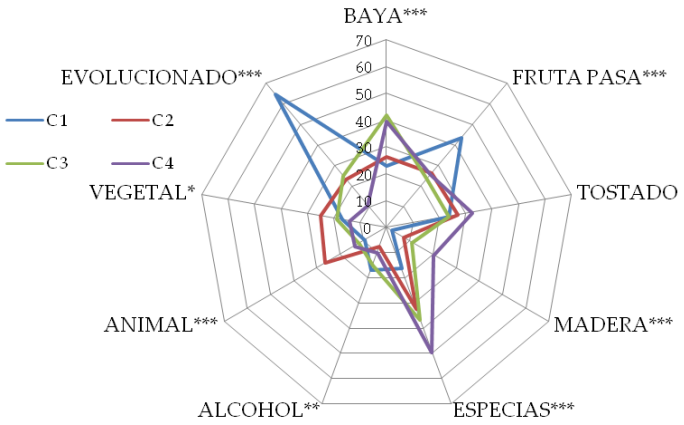


Figura 2.6. Descripción sensorial expresada como la frecuencia de citación promedio (%) de los atributos que caracterizan las muestras que pertenecen a cada clúster (C1 - C4) en la categoría de **vinos de gama baja** con sus significaciones (*P*): $*P < 0.1$; $**P < 0.01$; $***P < 0.001$. ( ) C1, ( ) C2, ( ) C3, ( ) C4.

El clúster 2 está formado por muestras con bajas puntuaciones en "calidad", las más altas FC en "animal" y "vegetal" y baja FC en "baya"; la composición química para este clúster no muestra la existencia de un patrón consistente, aunque dos muestras tienen alrededor de 6 ng L^{-1} de isobutil-2-metoxipirazina y una tercera presenta una cantidad relativamente elevada de 4-etilfenol, 4-etilguaiacol y de isovaleraldehído los cuales podrían estar relacionados con los perfiles de aroma observados. Por otro lado, los clúster 3 y 4 están formados por muestras con altas

puntuaciones en "calidad", altas FC en "bayas" y bajas FC en "fruta pasa", "animal", "vegetal" y matices "evolucionado/oxidado".

Tabla 2.5. Frecuencia de citación promedio expresada en % (error estándar calculado como $s/(n)^{1/2}$; s, desviación estándar; n, numero de panelistas) de los términos combinados significativos que describen cada clúster de **vinos gama baja** y su significaciones (*P*).

Clúster	***1***	***2***	***3***	***4***	
Vinos	**003†, 186**	**497†, 779, 550, 876**	**274†, 074, 855, 606, 665, 570, 911, 185, 200, 341, 042, 389, 357**	**666†, 057, 043, 463, 989, 489, 050, 396, 237, 294, 794, 034, 347, 765, 286, 824, 625**	***P****
Baya	22.8 ± 1.2^{b}	26.5 ± 1.5^{b}	36.5 ± 1.2^{a}	39.7 ± 1.5^{a}	**0.010**
Fruta pasa	43.4 ± 0.9^{a}	26.5 ± 1.1^{b}	23.8 ± 1.7^{b}	25.9 ± 1.4^{b}	**0.044**
Tostado	23.5 ± 0.7	27.2 ± 2.6	23.6 ± 1.2	32.7 ± 1.7	0.078
Madera	2.2 ± 0.2^{c}	7.4 ± 0.7^{bc}	11.1 ± 0.8^{b}	20.4 ± 1.2^{a}	**<0.001**
Especias	16.2 ± 0.4^{c}	32.4 ± 1.5^{b}	36.5 ± 1.5^{b}	49.6 ± 1.4^{a}	**<0.001**
Alcohol	16.9 ± 1.6^{a}	7.4 ± 0.7^{ab}	14.8 ± 1.1^{ab}	9.9 ± 0.8^{b}	**0.031**
Animal	9.6 ± 2.0^{b}	26.5 ± 1.0^{a}	11.7 ± 0.9^{b}	13.7 ± 1.0^{b}	**0.001**
Vegetal	16.9 ± 0.5	25.0 ± 2.6	18.9 ± 1.2	13.9 ± 1.0	0.059
Evolucionado/oxidado	64.7 ± 0.7^{a}	23.5 ± 2.1^{b}	25.3 ± 1.3^{b}	10.7 ± 0.9^{c}	**<0.001**
Calidad	1.6 ± 0.1^{b}	2.2 ± 0.1^{b}	2.9 ± 0.1^{a}	2.8 ± 0.1^{a}	**0.005**

† Vinos más representativos de cada clúster por estar más cerca del centroide. * Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clúster ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las diferentes letras representan diferencias significativas en la frecuencia de citación para cada término entre los clúster.

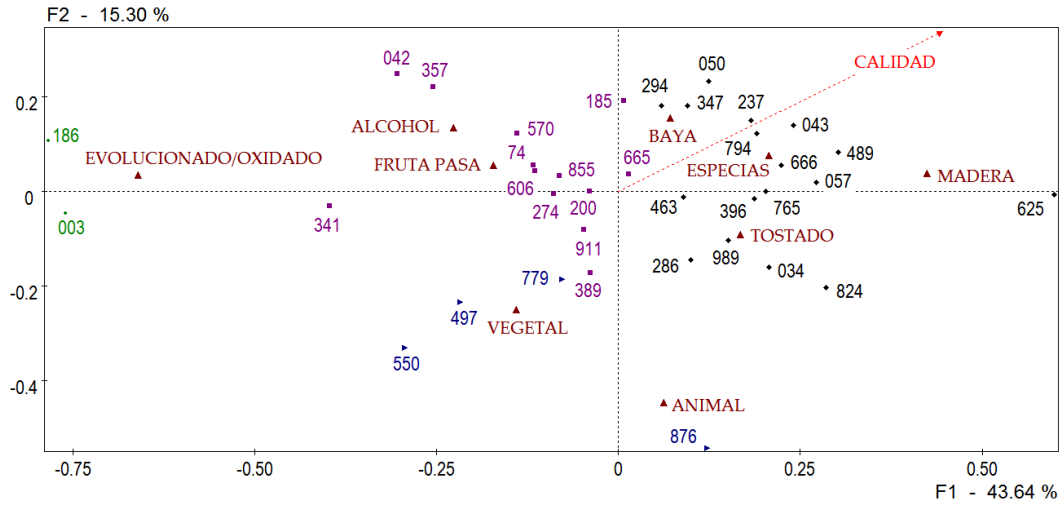


Figura 2.7. Proyección de los descriptores aromáticos y muestras en el espacio factorial del CA (dimensiones 1 y 2) para los **vinos gama baja**. Clúster 1 (●), 2 (►), 3 (■) y 4 (♦) obtenidos del HCA. La flecha (variable ilustrativa) representa la calidad evaluada con una prueba de categorización llevada a cabo por el panel de expertos.

2.3.4.4 Comparación entre categorías de precio

Los perfiles de aroma de 58 muestras con puntuaciones de "calidad" superiores a 2.7 se compararon para evaluar la influencia del precio en cada una de las categorías para los siete términos de aroma comunes. El mapa de los resultados (Figura 2.8) reveló como se esperaba, que los vinos más baratos (vinos gama baja) tienen un perfil de aroma caracterizado por altas FC de "baya" y bajas para las notas "alcohol", "tostado" y "madera". Los vinos de gama baja presentaron altas FC para la nota "especias" frente a los vinos de gama alta. Cabe destacar que las FC en "fruta pasa" y "animal" no difieren entre las distintas categorías de precio.

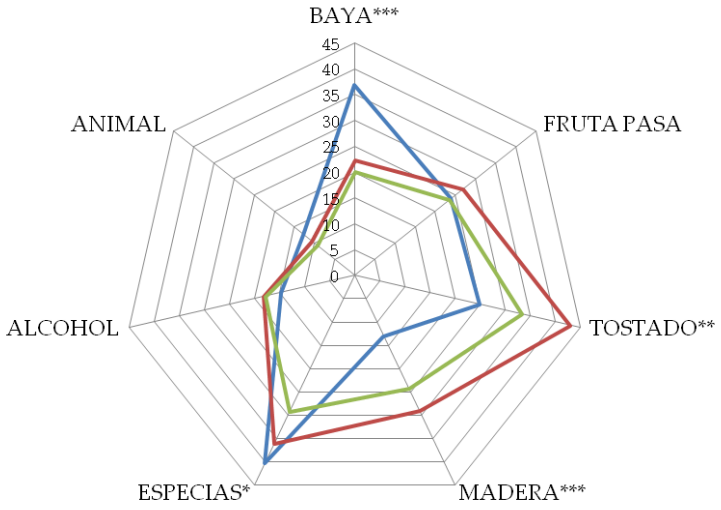


Figura 2.8. Descripción sensorial expresada como la frecuencia de citación promedio (%) de los atributos que caracterizan las muestras con puntuaciones de calidad mayores a 2.7 para gama alta (verde,), gama media (rojo,) y gama baja (azul,) con sus significaciones (*P*): **P* < 0.1; ***P* < 0.01; ****P* < 0.001.

Una segunda observación relevante es la similitud existente entre el perfil de aroma promedio de los vinos gama media y gama alta, ya que los primeros presentan altas FC para las notas "tostado", "madera" y "especias" frente a los de gama alta.

La más alta FC para la nota "baya" en los vinos de gama baja puede ser fácilmente interpretada por su mayor contenido en β-damascenona, ésteres etílicos de ácidos grasos, acetatos de alcoholes fusel y baja concentración en etanol. En cuanto a la alta FC para la nota "especias" que presenta esta categoría de vinos no tiene una fácil interpretación química. Igualmente, las más altas FC de las notas "tostado",

"madera" y "especias" observadas en los vinos de gama media no pueden ser explicadas en términos de alto contenido de compuestos extraíbles de la madera porque los vinos de gama alta tienen un mayor nivel de estos compuestos (San Juan *et al.*, 2012). Este efecto es congruente con la observación práctica de que la nota "madera" tiende a decrecer durante el envejecimiento en botella, este hecho debe ser atribuido a la existencia de diferentes interacciones perceptivas y fisicoquímicas vinculadas a un largo proceso de envejecimiento. Se ha observado que la nota "madera" está fuertemente vinculada no sólo a la presencia de compuestos extraíbles de la madera sino también a la presencia de β-damascenona y ácidos ramificados (isobutírico, 2 y 3-metilbutírico) que son compuestos más concentrados en la categoría de gama media (San Juan *et al.*, 2012). Cabe destacar que las FC promedio para los atributos sensoriales que describen los vinos de gama alta son en todos los casos más bajos que en las otras dos categorías (Figura 2.8) en contraste con el hecho de que las puntuaciones de "calidad" de los vinos de gama alta son comparativamente mayores. Este hecho puede sugerir que la puntuación de "calidad" de expertos está más relacionada al aroma alcanzado por la mezcla de diferentes atributos sensoriales que por la presencia de una nota de aroma predominante en un vino.

2.3.5 Correlación entre los descriptores de aroma ortonasal y la calidad

La relación entre los atributos aromáticos descritos en las muestras de vino y la percepción de calidad evaluada por expertos en vino se estableció mediante un análisis de correlación simple (Tabla 2.6).

Los resultados muestran que en la categoría de vinos de gama alta existe una correlación positiva significativa entre los términos "especias", "fruta pasa", "madera" y, en menor medida "alcohol" con la percepción de calidad, mientras el término "animal" estuvo negativamente correlacionado.

Tabla 2.6. Correlación (coeficiente de Pearson, *r*; y significación, *P*) entre los atributos evaluados por el panel entrenado y la percepción de calidad de los expertos en las tres categorías de precio.

	Gama alta		*Gama media*		*Gama baja*	
	r	***P***	***r***	***P***	***r***	***P***
Baya	0.239	0.260	**0.308**	**0.081***	**0.379**	**0.022****
Fruta pasa	**0.581**	**0.003*****	-0.273	0.124	-0.265	0.118
Tostado	0.165	0.440	**0.476**	**0.005*****	0.199	0.244
Madera	**0.525**	**0.008*****	**0.619**	**0.0001******	**0.358**	**0.032****
Especias	**0.691**	**0.0002******	0.050	0.782	0.243	0.153
Alcohol	**0.374**	**0.072***	-0.088	0.627	0.070	0.686
Animal	**-0.584**	**0.003*****	**-0.344**	**0.0498****	**-0.302**	**0.077***
Vegetal	-0.139	0.561	-	-	-0.229	0.179
Sotobosque	-0.169	0.430	-	-	-	-
Floral	-0.085	0.692	0.030	0.009	-	-
Evolucionado/oxidado	-	-	-	-	**-0.456**	**0.005*****

P < 0.1; **P* < 0.01; ***P* < 0.001, ****P* < 0.0001; Los valores *P* significativos (*P* <0.05) están marcados en negrita. - Términos no incluidos.

De la misma manera, en la categoría gama media, la "calidad" estuvo negativamente correlacionada con el término "animal", mientras que las notas "madera", "tostado" y "baya" fueron correlacionadas positivamente con la calidad. En las muestras de gama baja, el descriptor "animal" estuvo negativamente correlacionado con la "calidad", una tendencia similar se observó con el término "evolucionado/oxidado". Por el contrario, los términos "madera", "tostado" y "baya" estuvieron positivamente correlacionados con la "calidad".

Resulta interesante el hecho que la "calidad" parece estar más relacionada con los términos de la categoría de vinos gama alta y gama media que con los de gama baja, ya que en estos últimos presentan coeficientes de correlación mucho menores.

En el caso de los vinos de gama baja, las correlaciones están recargadas artificialmente por las seis muestran en los dos clústers (1 y 2), las cuales son de menor calidad (Tabla 2.5) y de hecho, si estas seis muestras son eliminadas, las correlaciones con la calidad desaparecen completamente. Estas observaciones cambian completamente para esta categoría cuando el estudio de calidad se realiza separando las muestras con respecto a su contenido en "madera", definiendo dos clases: "con madera" y "sin madera". En el subgrupo formado por 24 muestras con

bajas frecuencias para "madera" (FC < 6), el término "calidad" estuvo correlacionado significativamente con los atributos "baya" (r = 0.50, P = 0.005), "evolucionado/oxidado" (r = -0.49, P = 0.006) y "fruta pasa" (r = 0.50, P = 0.005). Resultados similares se observaron cuando el grupo de muestras incluidas en el clúster 4 (rico en "madera") se excluye del cálculo. En este subgrupo de 19 muestras, la "calidad" estuvo significativamente correlacionada con "baya" (r = 0.63, P = 0.004), "evolucionado/oxidado" (r = -0.64, P = 0.003), "vegetal" (r = -0.41, P = 0.08) y "fruta pasa" (r = -0.39, P = 0.09). Si se analiza el grupo de 12 muestras "con madera" (arbitrariamente seleccionadas con FC igual o superior a 6), se observó que la "calidad" está significativamente correlacionada a los términos "madera" (r = 0.53, P = 0.07) y "animal" (r = -0.67, P = 0.01). Estos resultados sugieren que la calidad evaluada por los expertos está fuertemente influenciada por la presencia "madera". Sin embargo, parece que los expertos manejan dos prototipos de calidad completamente diferentes para esta categoría como se puede observar en la Figura 2.9. En ausencia de "madera", los descriptores "baya" y "fruta pasa" son notas determinantes para la "calidad", pero pierden su importancia a favor del aroma a "madera" y "animal" tan pronto como la "madera" pasa a ser un aroma detectable.

Las diferencias observadas en relación a los descriptores del aroma ortonasal con la calidad en las tres categorías de vinos estudiadas merecen un comentario adicional. Por un lado, algunos términos tales como "baya", "tostado", "madera" y "animal" mantienen una relación con la "calidad" relativamente similar en las tres categorías y, en general, cuanto mayor es el rango del atributo en la categoría (Tabla 2.2) más alto es el coeficiente de correlación. Esta regla no se cumple en los vinos de gama alta para el término "fruta pasa", ya que una alta correlación es observada con un pequeño rango. Por otro lado, los atributos "especias" y "alcohol" están solamente correlacionados con la "calidad" en la categoría de vinos de gama alta, a pesar de que en esta categoría alcanzan los rangos más bajos (Tabla 2.2). El patrón observado en el término "fruta pasa" es aún más llamativo, mientras que los rangos y los promedios son similares en las tres categorías, este atributo sólo está significativa y positivamente correlacionado con la "calidad" en la categoría de vinos gama alta,

mientras que en las otras dos categorías su tendencia es una correlación negativa (Tabla 2.6). Este hecho parece estar apoyado por la existencia de diferentes prototipos de calidad; el carácter "fruta pasa" que está relacionado en parte con la oxidación sería más tolerado por los expertos en los vinos de gama alta mientras pasa a ser una característica negativa en las otras dos categorías.

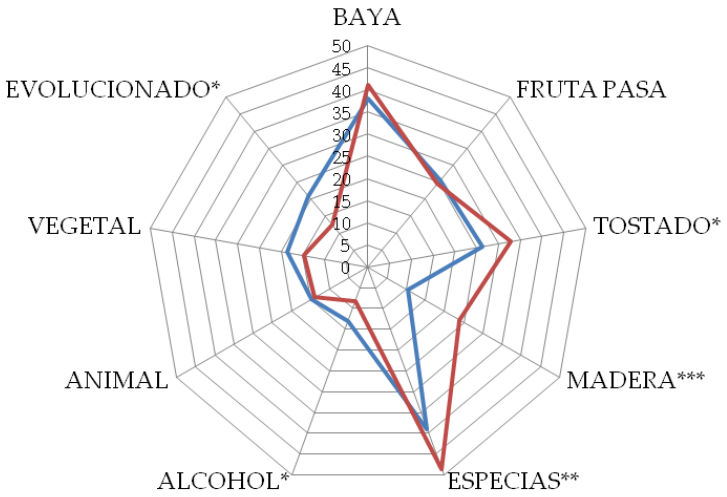


Figura 2.9. Descripción sensorial expresada como la frecuencia de citación promedio (%) de los atributos que caracterizan los vinos "con madera" (azul,) y "sin madera" (rojo,) de la categoría de vinos gama baja con sus significaciones (*P*): $*P < 0.1$; $**P < 0.01$; $***P < 0.001$.

2.3.6 Predicción de la calidad a partir del aroma ortonasal

2.3.6.1 Vinos de gama alta

Los modelos de regresión PLSR1 se han utilizado para la predicción de la puntuación general de la calidad a partir de los datos sensoriales del aroma ortonasal obtenidos por un panel entrenado. En el grupo de vinos gama alta, el mejor modelo es capaz de explicar el 67% de la varianza total (63% por validación cruzada) y un error medio cuadrático (RMSE) de 0.36. Cuatro variables sensoriales son estadísticamente significativas para la predicción de la calidad de acuerdo al criterio de Marten's; "especias", "madera", "fruta pasa" y "animal". El modelo para predecir la calidad es el siguiente:

Calidad = 1.302 + 0.059 * Fruta pasa + 0.084 * Especias + 0.096 * Madera - 0.050 * Animal

Es destacable mencionar que el modelo subestima fuertemente la calidad de la muestra 239, ya que esta muestra tiene la mayor puntuación de calidad para esta categoría. Dejando de lado la dificultad que presenta el intentar modelar una muestra extrema por validación cruzada, el hecho es que esta muestra presentó las mayores puntuaciones para la astringencia, intensidad global y persistencia evaluados en boca, términos altamente correlacionados a la percepción de calidad (Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b) y la puntuación más baja de L_{10}* (muestra más oscura), parámetro negativamente correlacionado con la percepción de calidad (Sáenz-Navajas *et al.*, 2011a).

2.3.6.2 Vinos de gama media

El PLSR1 calculado sobre los atributos sensoriales de los vinos de gama media proporcionó un modelo capaz de explicar el 65% de la varianza total (64.6% por validación cruzada) con un error de predicción promedio muy bajo, siendo el RMSE = 0.24 (0.26 por validación cruzada). El modelo incluyó cuatro variables significativas de la siguiente forma:

Calidad = 1.8655 + 0.0355 * Tostado + 0.056 * Baya + 0.066 * Madera - 0.048 * Animal

El modelo sobreestima fuertemente la calidad de las muestras 107, 946 y 659 y subestima la muestra 666. Estas limitaciones pueden ser atribuidas posiblemente a un mayor peso del color y de las propiedades en boca que del aroma en la evaluación de la calidad de estas muestras. De hecho, los vinos 107, 946 y 659 presentan las más bajas puntuaciones para la acidez, intensidad global y persistencia (Sáenz-Navajas *et al.*, 2011b). Sin embargo, la muestra 107 es la muestra menos oscura (mayor L_{10}*), mientras la muestra 666 resultó ser el vino más persistente en boca y más oscuro (bajos L_{10}*) (Sáenz-Navajas *et al.*, 2011a).

2.3.6.3 Vinos de gama baja

La predicción de calidad a partir de los atributos de aroma en la categoría de vinos de gama baja requiere como se ha explicado anteriormente, la división de la categoría en dos subgrupos teniendo en cuenta la presencia o no de la nota "madera".

En el subconjunto de las 24 muestras con bajas frecuencias para madera (FC < 6), se desarrolló un modelo significativo capaz de explicar el 74% de la varianza total (66% por validación cruzada) como se puede observar en la siguiente ecuación:

Calidad = 1.96 + 0.0 78 * Baya + 0.063 * Alcohol - 0.057 * Evolucionado/oxidado

En el subconjunto de 19 muestras incluidas en el clúster 1, 2 y 3 (Tabla 2.5) un modelo similar explicó el 82% de la varianza total (64% de la validación cruzada) a través de la siguiente ecuación:

Calidad = 2.42 + 0.072 * Baya + 0.068 * Alcohol - 0.057 * Evolucionado/oxidado - 0.063 * Vegetal

Para predecir la calidad en las muestras con madera se pudo construir un modelo satisfactorio, pero no pudo ser debidamente validado por el bajo número de muestras. Este modelo explica el 60% de la varianza total y es expresado por la siguiente ecuación:

Calidad = 2.80 + 0.105 * Madera - 0.160 * Animal

Los modelos confirman las observaciones anteriores y también son consistentes con los modelos desarrollados para la calidad y la composición química del aroma (Ferreira *et al.*, 2009, San Juan *et al.*, 2012).

2.4 CONCLUSIONES

El presente experimento a gran escala confirma que la percepción del aroma ortonasal tiene una fuerte influencia en la calidad del vino evaluada por expertos.

La comparación entre las categorías y la necesidad de dividir la categoría de vinos de gama baja en muestras con madera y sin madera muestra que dentro de un grupo homogéneo, la calidad se puede explicar por la puntuación sensorial cuantitativa, pero tales relaciones cuantitativas no se pueden generalizar entre las tres categorías de vinos. Esto sugiere la existencia de diferentes prototipos de calidad, cada uno caracterizado por un perfil sensorial aromático determinado.

Es importante anotar que los vinos de gama alta tienen en promedio, menores frecuencias de citación sensoriales pero mayores puntuaciones de calidad, sugiriendo que la armonía es esencial.

El par sensorial “madera/animal”, se confirma como el más importante para la calidad siempre que el vino haya tenido contacto con la madera.

Se ha encontrado descriptores que desempeñan diferentes papeles dependiendo de la categoría de vino. La "fruta pasa" aparece como un contribuyente importante de los vinos de gama alta y vinos tintos españoles envejecidos, mientras que la presencia de este atributo hace que la calidad de los vinos más jóvenes (gama baja) disminuya. La importancia de la "baya" disminuye con el envejecimiento, siendo fundamental en vinos jóvenes sin madera. En éstos, la oxidación y las notas vegetales juegan un papel negativo muy importante.

REFERENCIAS

Aznar, M., Lopez, R., Cacho, J. and 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**, 2700-2707.

Azzara, C.D. and Campbell, L.B. 1992. Off-flavors of dairy products. In *off flavors in food and beverages*. G Charalambous Ed. Amsterdam. pp 329-374.

Bisson, L.F., Waterhouse, A.L., Ebeler, S.E., Walker, M.A. and Lapsley, J.T. 2002. The present and future of the international wine industry. *Nature* **418**, 696-699.

Breme, K., Langle, S., Fernández, X., Meierhenrich, U.J., Brevard, H. and Joulain, D. 2009. Character impact odorants from Brassicaceae by aroma extract dilution analysis (AEDA): brassica cretica and Brassica insularis. *Flavour and Fragrance Journal* **24**, 88-93.

Campo, E., Do, B.V., Ferreira, V. and 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**, 104-115.

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

Goldner, M. and Zamora, M. 2007. Sensory characterization of Vitis vinifera cv. Malbec wines from seven viticulture regions of Argentina. *Journal of Sensory Studies* **22**, 520-532.

Ferreira, A.C.S., de Pinho, P.G., Rodrigues, P. and Hogg, T. 2002. Kinetics of oxidative degradation of white wines and how they are affected by selected technological parameters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**, 5919-5924.

Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Cullere, L., Fernández-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M.P. and Cacho, J. 2009. Modeling quality of premium Spanish red wines from gas chromatography olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 7490-7498.

Green, J.A., Parr, W.V., Breitmeyer, J., Valentin, D. and Sherlock, R. 2011. Sensory and chemical characterisation of Sauvignon blanc wine: influence of source of origin. *Food Research International* **44**, 2788-2797.

ISO NORM. 1977. Sensory analysis: apparatus wine tasting glass. Geneva, Switzerland.

ISO NORM 9000. 2000. Quality management systems fundamentals and vocabulary. Geneve, Switzerland.

Jones, P.R., Gawel, R., Francis, I.L. and Waters, E.J. 2008. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference* **19**, 596-607.

Keown, C. and Casey, M. 1995. Purchasing behaviour in the Northern Ireland wine market. *British Food Journal*, **Vol 97** pp. 17-20.

Le Fur, Y., Mercurio, V., Moio, L., Blanquet, J. and Meunier, J.M. 2003. A new approach to examine the relationships between sensory and gas chromatography olfactometry data using generalized procrustes analysis

applied to six French Chardonnay wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 443-452.

Mitchell, V.W. and Greatorex, M. 1988. Consumer risk perception in the UK wine market. European Journal of Marketing **22**, 5-15.

Morineau, A. 1984. Note sur la caractérisation statistique d'une classe par les valeurs test. In *Bulletin Technique Centre Statistique Informatique Appliquées*. Saint-Mandé, France. pp 20-27.

Morineau, A., Summa, M., Tong, H. 1995. Marquage Sémantique des Classes et des Axes. In *28 èmes journées de l'ASU*. Paris, France. pp 468-472.

Noble, A.C. and Shannon, M. 1987. Profiling Zinfandel wines by sensory and chemical analyses. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 1-5.

Parr, W. 2009. Geographical indication and the concept of wine typicality. *ChemoSense* **11**, 16-17.

Piombino, P., Nicklaus, S., Le Fur, Y., Moio, L. and Le Quere, J.L. 2004. Selection of products presenting given flavor characteristics: an application to wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **55**, 27-34.

Polaskova, P., Herszage, J. and Ebeler, S.E. 2008. Wine flavor: chemistry in a glass. *Chemical Society Reviews* **37**, 2478-2489.

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D. and Ferreira, V. 2010a An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry* **121**, 1139-1149.

Sáenz-Navajas, M.P., Tao, Y.S., Dizy, M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2010b. Relationship between nonvolatile composition and sensory properties of premium spanish red wines and their correlation to quality perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 12407-12416.

Sáenz-Navajas, M.P., Echavarri, F., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2011a. Pigment composition and color parameters of commercial Spanish red wine samples: linkage to quality perception. *European Food Research and Technology* **232**, 877-887.

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

San-Juan, F., Ferreira, V., Cacho, J. and 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**, 7916-7924.

San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V. and 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**, 5045-5056.

Spawton, T. 1991. The wine-marketing environment. European Journal of Marketing **25**, 12-18.

Thompson, K.E. and Vourvachi, A. 1995. Social and attitudinal influences on the intention to drink wine. *International Wine Marketing Journal* **7**, 35-44.

Varela, P. and Gambaro, A. 2006. Sensory descriptive analysis of Uruguayan Tannat wine: correlation to quality assessment. *Journal of Sensory Studies* **21**, 203-217.

Zeithaml, V.A. 1988. Consumer perceptions of price, quality, and value a means end model and synthesis of evidence. *Journal of Marketing* **52**, 2-22.

CAPÍTULO 3

PROPIEDADES OROSENSORIALES DE VINOS TINTOS ESPAÑOLES COMERCIALES Y SU CORRELACIÓN CON LA CALIDAD PERCIBIDA

3.1 INTRODUCCIÓN

El vino es una bebida compleja que contribuye a aromas, sabores y sensaciones orales únicas que evoluciona tanto desde el punto de vista fisicoquímico como sensorial (Etaio *et al.*, 2008, Jones *et al.*, 2008). Con respecto a las características sensoriales percibidas en boca al degustar un vino son consideradas importantes los sabores ácido, amargo y dulce, las sensaciones táctiles en especial la astringencia (Lee y Lawless, 1991, Thorngate, 1997, Etaio, 2007), así como la impresión final más concretamente la persistencia y la intensidad global del vino (Sancho *et al.*, 1999, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010b). De hecho, tratar de encontrar el equilibrio entre las propiedades sensoriales que se producen en boca es una de las principales metas del enólogo, ya que la armonía alcanzada entre el sabor y sensaciones es una característica que distingue a un gran vino.

Durante el consumo de vino, las propiedades organolépticas juegan un papel fundamental en la creación del concepto de calidad. Dependiendo de los objetivos propuestos, la evaluación de la calidad de los vinos suele ser realizada por expertos o consumidores (Varela y Gambaro, 2006, Lattey *et al.*, 2010, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011).

Básicamente, un catador experto actúa como juez de las características sensoriales de un producto y sus decisiones proceden de su experiencia, mientras los datos obtenidos de panelistas entrenados se basan en la descripción del perfil aromático y las percepciones en boca de los vinos mediante una evaluación sensorial objetiva (Gawel *et al.*, 2001, Campo *et al.*, 2008).

Son numerosas las investigaciones que han correlacionado las evaluaciones de calidad realizadas por expertos con la descripción sensorial llevada a cabo por un panel entrenado (Lattey *et al.*, 2010, Sáenz-Navajas *et al.*, 2011, Machado y Graca, 2011, Sáenz-Navajas *et al.*, 2012c, Hopfer y Heymann, 2014). Estos estudios aportan información acerca de la influencia positiva y significativa que ejercen los atributos en boca (astringencia y acidez), así como los atributos aromáticos (frutas rojas, frutas pasas y madera) en las puntuaciones de calidad de los expertos. Algunos de estos trabajos han indicado que los defectos sensoriales percibidos en boca surgen de

desequilibrios generados por la acidez, la astringencia y el amargor, convirtiéndose en un punto crítico de la percepción de calidad en el vino.

Es relevante destacar que en los vinos tintos, la intensidad global y la persistencia se muestran correlacionadas con la astringencia, atributos altamente correlacionadas con los compuestos no volátiles de los vinos (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010a). En cuanto a la matriz del vino, hay que resaltar que su complejidad puede afectar la percepción generando interacciones sensoriales tales como "sabor - sabor", "sabor - aroma", "sabor - astringencia" y "aroma - astringencia" (Zamora *et al.*, 2006, Hewson *et al.*, 2008, Pfeiffer *et al.*, 2006). La interacción de dos o más sabores puede aumentar o disminuir la intensidad de uno de ellos, como es el caso del sabor dulce que le confiere un sabor más agradable al amargo, además de estos factores la sensibilidad de cada individuo es diferente y genéticamente determinada. Por ejemplo, algunos individuos pueden percibir con mayor intensidad los sabores, debido a que tienen un número mayor de papilas gustativas que otros (Gonzalez *et al.*, 2002, Mennella *et al.*, 2005).

Estudios realizados con vinos tintos desaromatizados a los que se les adicionaron el mismo aroma, concluyeron que la percepción del aroma no es el principal responsable de la generación de las sensaciones en boca. Sin embargo, la percepción del aroma puede modificar el amargor y la astringencia percibidas (Sáenz-Navajas *et al.*, 2012b).

En este contexto, los objetivos del presente capítulo fueron estudiar los atributos en boca evaluados por un panel entrenado para definir el espacio orosensorial de vinos comerciales perteneciente a tres categorías de precio y determinar cuáles de estos atributos presentan una correlación con la calidad percibida por catadores expertos.

3.2 MATERIAL Y MÉTODOS

3.2.1 Reactivos

El ácido tartárico y el sulfato de aluminio y potasio dodecahidrato (98%) fueron suministrados por Panreac (Barcelona, España). El sulfato de quinina fue adquirido en Alfa Aesar (Karsruhe, Alemania). La pectina de manzana fue obtenida de Acofarma (Barcelona, España).

3.2.2 Vinos

Se analizaron 94 vinos tintos pertenecientes a tres categorías de precio (gama alta, gama media y gama baja) descritos en la Tabla 2.1 del capítulo 2.

3.2.3 Análisis sensorial descriptivo

El análisis sensorial descriptivo de los atributos evaluados en boca se llevó a cabo por el panel entrenado descrito en el apartado 2.2.3.1 del capítulo 2. Las condiciones iniciales utilizadas para el entrenamiento durante la fase general y específica fueron descritas en el apartado 2.2.3.2 del capítulo 2.

3.2.3.1 Entrenamiento

Durante el entrenamiento se proporcionó al panel disoluciones con diferentes concentraciones de azúcar de mesa (0 - 12 g L^{-1}) para el dulzor, ácido tartárico (0 - 1.5 g L^{-1}) para la acidez, sulfato de quinina (0 - 10 mg L^{-1}) para el amargor, y sulfato de aluminio y potasio (0 - 5 g L^{-1}) para la astringencia; la finalidad del proceso desarrollado en las sesiones de entrenamiento era ayudarles a reconocer y a discriminar entre las diferentes sensaciones orales (Sáenz-Navajas et al., 2010b).

Los panelistas asistieron a dos fases de entrenamiento. Durante la fase de entrenamiento general, los panelistas debían ordenar y puntuar de menor a mayor concentración dos series de disoluciones, las cuales contenían concentraciones crecientes de los distintos atributos (dulzor, acidez, amargor y astringencia), familiarizándose así con el uso de las escalas de intensidad. Posteriormente, debían identificar el sabor o sensación predominante de dos vinos diferentes con propiedades fácilmente reconocibles. En esta fase se utilizaron vinos blancos, tintos y

rosados de diferentes denominaciones de origen y variedades de uva. El formato utilizado durante esta fase se muestra en el Anexo III.

El entrenamiento específico se realizó para cada categoría de vinos. Así que antes de la evaluación de los vinos de gama alta se realizó un entrenamiento específico con vinos pertenecientes a esta categoría pero diferentes a los vinos seleccionados para el estudio. Lo mismo se realizó para las otras dos categorías de precio. En esta fase, los panelistas se familiarizaron con el espacio sensorial en boca de muestras relacionadas con las del estudio. Al igual que en la fase de entrenamiento general, se presentaron dos series de disoluciones con concentraciones crecientes de compuestos dulces, ácidos, amargos y astringentes sobre una escala de diez puntos (0 = "ausencia", 1 = "muy bajo" y 9 = "muy alto"), en todos los casos se empleo agua destilada como referencia de "ausencia". Paralelamente, los panelistas se familiarizaron con el uso de una escala de nueve puntos para la intensidad global (1 = "muy débil" hasta 9 = "muy fuerte") y la persistencia (1 = "muy corta" hasta 9 = "muy larga"). Posteriormente, evaluaron tres vinos utilizando las escalas estructuradas anteriormente descritas. Todas las sesiones finalizaron con una discusión del responsable del panel comparando las puntuaciones dadas por los panelistas en la descripción de cada vino. El formato de evaluación utilizado durante esta fase se muestra en el Anexo IV.

3.2.3.2 Evaluación de los vinos

Las condiciones utilizadas para la evaluación de los vinos se describen en el apartado 2.2.3.3 del capítulo 2. En este caso, los panelistas debían puntuar el dulzor, la acidez, el amargor, la astringencia, la intensidad global y la persistencia usando las escalas estructuradas descritas anteriormente. El formato utilizado durante la evaluación se muestra en el Anexo V. Entre muestra y muestra, los panelistas debían hacer uso del protocolo de enjuague descrito por Colonna *et al.*, (2004) con el fin de minimizar la fatiga (Anexo X). Este protocolo de enjuague se realizó tras la evaluación de cada vino, una vez expectorado, los panelistas se enjuagaron la boca con agua y una disolución de pectina (1 g L^{-1}).

Todos los vinos se sirvieron a temperatura ambiente (20 - 22 °C) y fueron evaluados en cabinas individuales. Los panelistas no fueron informados previamente de la naturaleza de las muestras a evaluar.

3.2.4 Evaluación de calidad por un panel de expertos

La metodología seguida para la evaluación de la calidad de los vinos por el panel de expertos fue descrita en el apartado 2.2.4 del capítulo 2.

3.2.5 Análisis estadístico

3.2.5.1 Análisis del comportamiento del panel entrenado

Se calculó un análisis de varianza (ANOVA) a tres factores con los atributos evaluados en boca, donde el vino (W), el juez (J) y la réplica (R) se consideraron como los factores fijos y vino - juez (W * J), vino - réplica (W * R) y juez - réplica (J * R) se consideraron interacciones. De esta manera se evaluó la consistencia del panel.

3.2.5.2 Análisis del comportamiento del panel expertos

La metodología seguida para el análisis del comportamiento del panel de expertos fue descrita en el apartado 2.2.5.2 del capítulo 2.

3.2.5.3 Análisis multivariante

Caracterización de los vinos. Se calculó un ANOVA a un factor con medidas repetidas (media entre las dos repeticiones de un mismo vino) de los atributos evaluados en boca.

Análisis de componentes principales (PCA). Los atributos que mostraron una evaluación consistente por el panel entrenado y presentaron diferencias significativas entre los vinos pertenecientes en cada una de las categorías de precio (gama alta, gama media y gama baja) fueron considerados en el PCA. A continuación, se realizó una tabla de contingencia con los vinos en filas y la puntuación media de los atributos en boca en columnas. El número de factores que explicaron el PCA se seleccionaron teniendo en cuenta los factores con un valor propio mayor que el valor propio medio (Ley de Káiser). La puntuación media de calidad que los expertos

dieron a las muestras de vino perteneciente a cada categoría (gama alta, gama media y gama baja) se proyectó como una variable activa en el plano factorial del PCA.

Análisis cluster jerárquico (HCA). Se aplicó el criterio de Ward a las coordenadas factoriales del PCA siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.2.5.4 del capítulo 2.

Regresión lineal múltiple (MLR). Se realizó con el fin de evaluar la contribución de los atributos en boca, así como su capacidad predictiva en la calidad percibida por los expertos. Para ello, las coordenadas factoriales correspondientes a la proyección de los vinos en el PCA, se consideraron como variables independientes y la calidad como variable dependiente. El método empleado "por pasos sucesivos" permitió añadir las variables de una en una al modelo, de tal forma que una variable es añadida por el modelo cuando es significativa al nivel de $P \leq 0.05$.

Todos los análisis se llevaron a cabo con el programa SPSS versión 19.0 (SPSS Inc., Illinois, EEUU) y el programa SPAD versión 5.5 (CISIA CESRESTA, Montreal, Francia) y el programa Unscrambler 9.7 (CAMO, Throdheim, Noruega).

3.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1 Comportamiento del panel entrenado

La Tabla 3.1 muestra los resultados de los ANOVAs a tres factores calculados para cada atributo en boca. La consistencia del panel sensorial se calculó con los jueces que evaluaron los vinos de gama alta y de gama media (28 participantes) y los que evaluaron los vinos de gama baja (37 participantes). El efecto juez (J) fue significativo en todos los atributos, este hecho es habitual en análisis sensorial y explica las diferencias fisiológicas existentes entre los individuos (Sáenz-Navajas *et al.*, 2011). Ningún efecto réplica (R) fue significativo, indicando una evaluación consistente de los atributos y reflejando la reproducibilidad del panel.

Tabla 3.1. ANOVAs a tres factores calculados para los atributos evaluados en boca mediante una escala estructurada para las tres categorías de precio. Efectos significativos marcados en negrita ($P < 0.05$); grados de libertad (gl), estadístico F y valores de *P*.

Vinos de gama alta y de gama media												
Atributo	**Juez (J) (gl=27)**		**Vino (W) (gl=23)**		**Réplicas (R) (gl=1)**		**W*J (gl=621)**		**J*R (gl=27)**		**W*R (gl=23)**	
	F	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***
Dulzor	**74.27**	**<0.001**	1.52	0.059	1.60	0.207	1.140	0.071	1.08	0.359	1.08	0.359
Acidez	**34.93**	**<0.001**	**3.44**	**<0.001**	0.01	0.919	1.121	0.100	1.34	0.131	1.22	0.217
Amargor	**43.21**	**<0.001**	**1.66**	**0.027**	1.38	0.241	**1.181**	**0.025**	1.44	0.051	**2.53**	**<0.001**
Astringencia	**28.45**	**<0.001**	**13.27**	**<0.001**	0.81	0.368	0.988	0.303	1.22	0.233	1.25	0.211
Intensidad global	**13.44**	**<0.001**	**8.14**	**<0.001**	0.16	0.689	**1.166**	**0.032**	1.43	0.076	1.39	0.089
Persistencia	**22.87**	**<0.001**	**6.49**	**<0.001**	0.53	0.467	1.114	0.112	1.30	0.145	1.37	0.116
Vinos de gama baja												
Atributo	**Juez (J) (gl=36)**		**Vino (W) (gl=3)**		**Réplicas (R) (gl=1)**		**W*J (gl=108)**		**J*R (gl=36)**		**W*R (gl=3)**	
	F	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***	**F**	***P***
Dulzor	**17.16**	**<0.001**	**2.93**	**0.037**	2.33	0.130	**1.57**	**0.010**	0.63	0.942	0.82	0.487
Acidez	**7.38**	**<0.001**	0.74	0.530	3.16	0.780	1.23	0.138	0.89	0.644	1.55	0.207
Amargor	**6.31**	**<0.001**	**4.48**	**0.005**	0.19	0.665	1.28	0.100	0.82	0.747	**3.04**	**0.032**
Astringencia	**6.68**	**<0.001**	**24.35**	**<0.001**	1.99	0.161	1.33	0.071	0.65	0.924	1.15	0.334
Intensidad global	**3.72**	**<0.001**	**5.05**	**0.003**	2.07	0.154	1.30	0.085	0.47	0.994	0.44	0.724
Persistencia	**3.49**	**<0.001**	**8.23**	**<0.001**	0.25	0.616	1.37	0.051	0.74	0.846	0.68	0.568

Se observaron diferencias significativas en la interacción (W * R) para el sabor amargo en las tres categorías de precio, además los vinos de gama alta y de gama media presentaron diferencias significativas en la interacción (W * J). En el PCA realizado para este atributo (jueces en columnas y vinos en filas) se explicó el 26% de

la varianza total en las dos primeras componentes principales, las proyecciones de los jueces sobre el plano factorial se mostraron muy dispersos (Figura 3.1), indicando por lo tanto diferencias en la interpretación del término amargor y la necesidad de un mayor entrenamiento para este atributo. Se ha descrito que altos niveles de astringencia en los vinos pueden parcialmente enmascarar la percepción de amargor (Broudreau *et al.*, 1979, Mcburney, 1990). Es importante destacar que el 25% de la población no son capaces de detectar el amargor (Kim y Drayna, 2005).

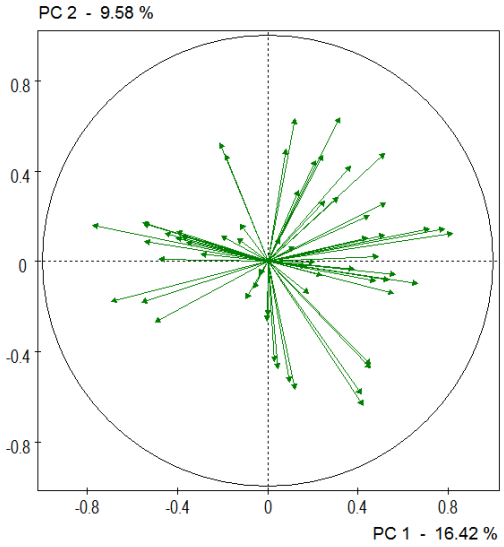


Figura 3.1. Proyección de los jueces en el círculo de correlación para el atributo amargor en los vinos pertenecientes a la categoría de precios gama alta y gama media.

Por otro lado, se exploraron las interacciones (W * J) con diferencias significativas para la intensidad global en el caso de los jueces que evaluaron los vinos de gama alta y de gama media. El PCA realizado para este atributo (jueces en columnas y vinos en filas) explicó el 14.87% de la varianza total en la primera componente principal (Figura 3.2). Se observó que las proyecciones de los jueces se mostraron agrupadas en el plano factorial, lo que sugirió que la interacción (W * J) parece estar relacionado a desacuerdos en la utilización de la escala intensidad.

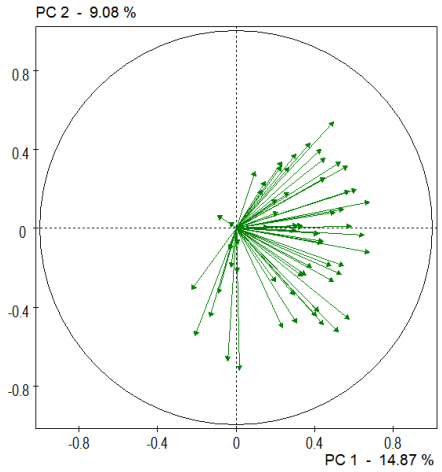


Figura 3.2. Proyección de los jueces en el círculo de correlación para el atributo intensidad global en los vinos pertenecientes a la categoría de precios gama alta y gama media.

Igualmente, se exploraron las interacciones (W * J) con diferencias significativas para el dulzor en los vinos de gama baja. El PCA realizado para este atributo (jueces en columnas y vinos en filas) explicó el 50.56% de la varianza total en el primera componente (Figura 3.3), se observó que las proyecciones de los jueces se mostraron dispersas. Las diferencias en la interpretación del término dulzor pueden ser debidos a múltiples factores fisiológicos, interacciones químicas, psicológicas y cognitivas (Keast y Breslin, 2003, Etaio, 2007).

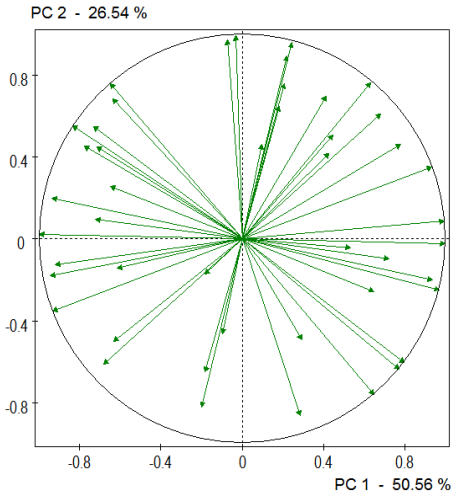


Figura 3.3. Proyección de los jueces en el círculo de correlación para el atributo dulzor en los vinos pertenecientes a la categoría de precios gama baja.

En base a los resultados descritos anteriormente el atributo amargor para los vinos de gama alta y gama media, y el atributo dulzor para los vinos de gama baja no fueron considerados en análisis de datos posteriores.

3.3.2 Comportamiento del panel de expertos

El comportamiento del panel de expertos para las tres categorías de precio se muestra en el apartado 2.3.2 del capítulo 2.

3.3.3 Espacio sensorial de los atributos en boca y su relación con la calidad

Los datos recogidos en la Tabla 3.1, dan algunas pistas de los atributos evaluados en boca utilizados para describir cada categoría de precio. Inicialmente la categoría de gama alta y gama media fueron descritas por los atributos acidez, astringencia, intensidad global y persistencia, mientras la categoría de gama baja fue descrita por el amargor, astringencia, intensidad global y persistencia.

3.3.3.1 Vinos de la categoría gama alta

De acuerdo con el ANOVA a un factor con medidas repetidas (los jueces considerados como repeticiones), el efecto vino mostró diferencias significativas ($P < 0.001$) para todos los atributos en boca sugiriendo que la acidez, astringencia, intensidad global y persistencia son útiles para la caracterización de los vinos pertenecientes a la categoría de gama alta. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas para el atributo dulzor ($P = 0.071$), esto indica que los panelistas entrenados no fueron capaces de establecer diferencias entre las muestras de vino estudiadas. El hecho de que los panelistas entrenados no fueran capaces de establecer diferencias para el atributo dulzor entre los vinos de gama alta puede estar condicionado por el contenido en azúcares reductores y en etanol, los principales contribuyentes del sabor dulce en los vinos (Ough y Amerine, 1988, Thorngate, 1997). De hecho, todas las muestras fueron vinos secos con contenido de azúcares reductores (media = 2.70 g L^{-1}) por debajo del umbral sensorial para la glucosa 3.24 g L^{-1}, el principal azúcar reductor (Hufnagel y Hofmann, 2008b). Estos resultados

demuestran que el dulzor no es un atributo que ejerza influencia en la caracterización sensorial de los vinos de gama alta.

Los cuatro atributos evaluados en boca que presentaron diferencias significativas junto con la calidad percibida empleada como variable activa, permitieron la construcción del PCA que se muestra en la Figura 3.4a.

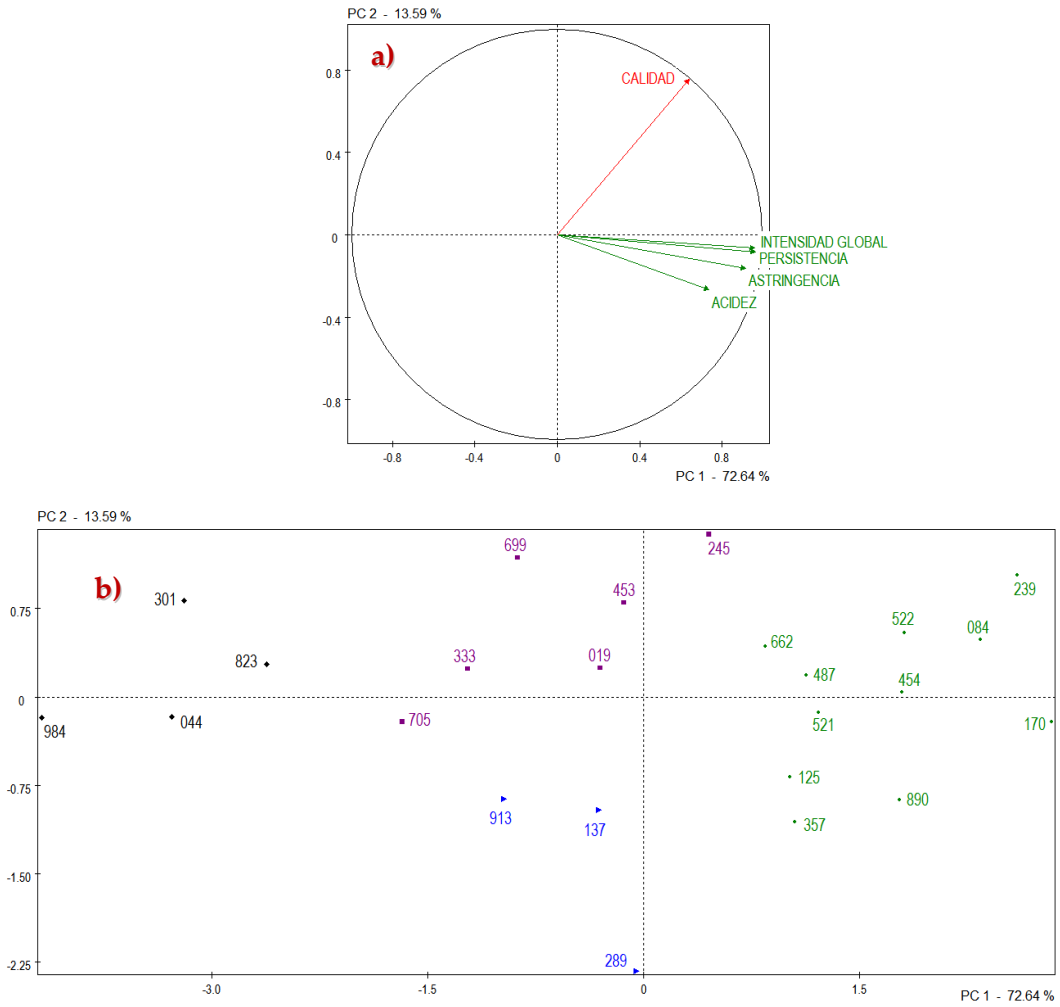


Figura 3.4. a) Proyección de las variables en el plano factorial obtenido del PCA y **b)** Proyección de los vinos en la componente 1 y 2 del PCA. Clúster 1 (●), 2 (▶),3 (■), 4 (♦) obtenidos del HCA en la **categoría de vinos *de gama alta***.

Las dos primeras componentes principales acumularon el 86.23% de la varianza total. La primera componente explicó el 72.64% de la varianza, y se encontró positivamente correlacionada con la persistencia (96%), la intensidad global (96%), la astringencia (91%), la acidez (73%) y la calidad (64%) con un $P < 0.001$ para cada variable. La segunda componente explicó el 13.59% de la varianza, y estuvo positivamente correlacionada con la calidad (75%) con un $P < 0.001$.

La matriz de correlación (Tabla 3.2) mostró que la intensidad global y la persistencia estuvieron altamente correlacionadas entre sí (93%). A su vez, estos dos atributos se mostraron altamente correlacionados con la astringencia (91 y 89%, respectivamente), y la acidez (60 y 66%, respectivamente). Por otro lado, el sabor ácido también presentó correlaciones significativas con la astringencia (55%).

Tabla 3.2. Coeficientes de correlación de Pearson calculados entre los atributos en boca evaluados en la ***categoría de vinos gama alta*** por el panel entrenado.

	Acidez	**Astringencia**	**Intensidad global**	**Persistencia**
Acidez	1			
Astringencia	**0.55***	1		
Intensidad global	**0.60****	**0.91*****	1	
Persistencia	**0.66****	**0.89*****	**0.93******	1

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Las correlaciones significativas aparecen resaltadas en negrita.

Un hecho que podría explicar la relación de la astringencia con la intensidad global y la persistencia, es la intensidad y la duración de una respuesta astringente (Jackson, 1994). La relación entre la astringencia y la acidez podría ser debido a que vinos fuertemente ácidos pueden inducir astringencia, dando una sensación áspera en los dientes. La persistencia se efectúa en base a sensaciones ácidas, amargas o astringentes, de ahí que existan una correlación entre ellas. En los vinos tintos son los sabores y los taninos los que determinan la persistencia (Peynaud, 1996). Por otro lado, Guinard *et al.*, (1986) demostraron que la intensidad percibida de la astringencia incrementa cuando los vinos tintos son ingeridos durante intervalos de 20 segundos, mientras que no se observan cambios cuando el vino es expectorado en intervalos de 40 segundos. Colonna *et al.*, (2004) describieron que el aumento de la astringencia con la ingestión repetida, permanece inalterada cuando se permite descansar la mucosa bucal, generalmente utilizando sistemas de enjuague durante 5 - 10 segundos con disoluciones de pectina y agua.

Noble (1995) indicó que la astringencia y el amargor son bastante persistentes, este hecho está influenciado por diversos factores como la intensidad percibida durante el tiempo de evaluación, estructura y concentración de compuestos, y la

variación individual de los flujos de saliva. Noble (1998) puntualizó que el sabor amargo y la sensación astringente de los vinos están relacionados con los compuestos fenólicos, también concluyó que la intensidad relativa del amargor y la astringencia varia con el tamaño y conformación molecular de estos compuestos. Estos resultados son concordantes con Varela y Gambaro (2006), los cuales observaron correlaciones entre la astringencia y la persistencia en Vinos Tannat uruguayos.

El HCA creado a partir del espacio del PCA generó cuatro grupos de vinos, como se muestra en la Tabla 3.3 y Figura 3.4b. Para cada clúster, el vino más cercano al centro de gravedad se identificó como la muestra más representativa. Estas muestras fueron 454 (clúster 1), 137 (clúster 2), 019 (clúster 3) y 044 (clúster 4).

Tabla 3.3. Puntuación media de los atributos evaluados en boca y la calidad percibida que describen cada clúster de los ***vinos de gama alta***.

Clúster	**1**	**2**	**3**	**4**	
Vinos	**170, 487, 454†, 522, 357, 521, 125, 662, 890, 084, 239**	**137†, 913, 289**	**705, 333, 699, 019†, 245, 453**	**301, 823, 984, 044†**	***P****
Acidez	4.18 ± 0.23^{a}	4.04 ± 0.21^{a}	3.86 ± 0.22^{a}	3.58 ± 0.21^{b}	**< 0.001**
Astringencia	5.82 ± 0.25^{a}	5.18 ± 0.24^{b}	4.83 ± 0.25^{b}	4.23 ± 0.25^{c}	**< 0.001**
Intensidad global	5.91 ± 0.16^{a}	5.56 ± 0.15^{b}	5.36 ± 0.15^{b}	4.81 ± 0.16^{c}	**< 0.001**
Persistencia	5.61 ± 0.19^{a}	5.28 ± 0.17^{b}	5.22 ± 0.17^{b}	4.53 ± 0.18^{c}	**< 0.001**
Calidad	3.35 ± 0.24^{a}	2.05 ± 0.28^{b}	3.21 ± 0.28^{a}	2.39 ± 0.25^{b}	**< 0.001**

† Vinos más representativos de cada cluster. * Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clústers ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las letras diferentes (a, b y c) expresan diferencias significativas en las puntuaciones para cada variable entre los clústers. Error estándar calculado como $s/(n)^2$; s, desviación estándar y n, número de panelistas.

Estos resultados sugieren una contribución importante de los atributos en boca en la calidad de los vinos. De hecho, los vinos del clúster 1 que presentan una puntuación alta de calidad, fueron evaluados con las mayores puntuaciones en los atributos acidez, astringencia, intensidad global y persistencia, por el contrario los vinos del clúster 4 que fueron evaluados con bajas puntuaciones de la calidad recogen vinos con las puntuaciones significativas más bajas para estos atributos. Los clústers 2 y 3 presentaron una puntuación intermedia en los atributos astringencia,

intensidad global y persistencia con respecto a los vinos del clúster 1 y del 4. Sin embargo, la evaluación de la calidad no sigue estos parámetros. Este hecho podría ser debido a que otras propiedades sensoriales (color y aroma) están influyendo en la evaluación de calidad. La descripción sensorial de aroma ortonasal descrita en el apartado 2.3.4.1 del capítulo 2 reveló que los vinos de los clústers 1 y 3 tuvieron altas FC en los términos "especias" y "alcohol", y bajas FC en el término "animal", todo lo contrario a los clústers 2 y 4. Estos resultados sugieren que las altas y bajas puntuaciones de calidad de los expertos en los vinos de gama alta van a estar influenciadas por el perfil aromático.

3.3.3.2 Vinos de categoría gama media

En el ANOVA a un factor calculado con medidas repetidas para cada uno de los atributos evaluados en boca; dulzor, acidez, astringencia, intensidad global y persistencia, el efecto vino mostró diferencias significativas para todos estos atributos ($P < 0.001$), indicando que son útiles para la caracterización de los vinos pertenecientes a esta categoría. Posteriormente, se calculó un PCA con los atributos significativos considerando de nuevo la calidad como variable activa (Figura 3.5a).

Las dos primeras componentes del PCA acumularon el 72.53% de la varianza total. La primera componente explicó el 50.55% de la varianza, resultando positiva y significativamente correlacionada con la intensidad global (94%), la persistencia (88%), la astringencia (78%) y en menor medida con la acidez (58%), además de la calidad (65%) con un $P < 0.001$ para cada variable. La segunda componente explicó el 21.98 % de la varianza, estuvo correlacionada negativa y significativamente con el dulzor (-71%), la acidez (-63%) y la calidad (-50%) con un $P < 0.001$ para cada variable.

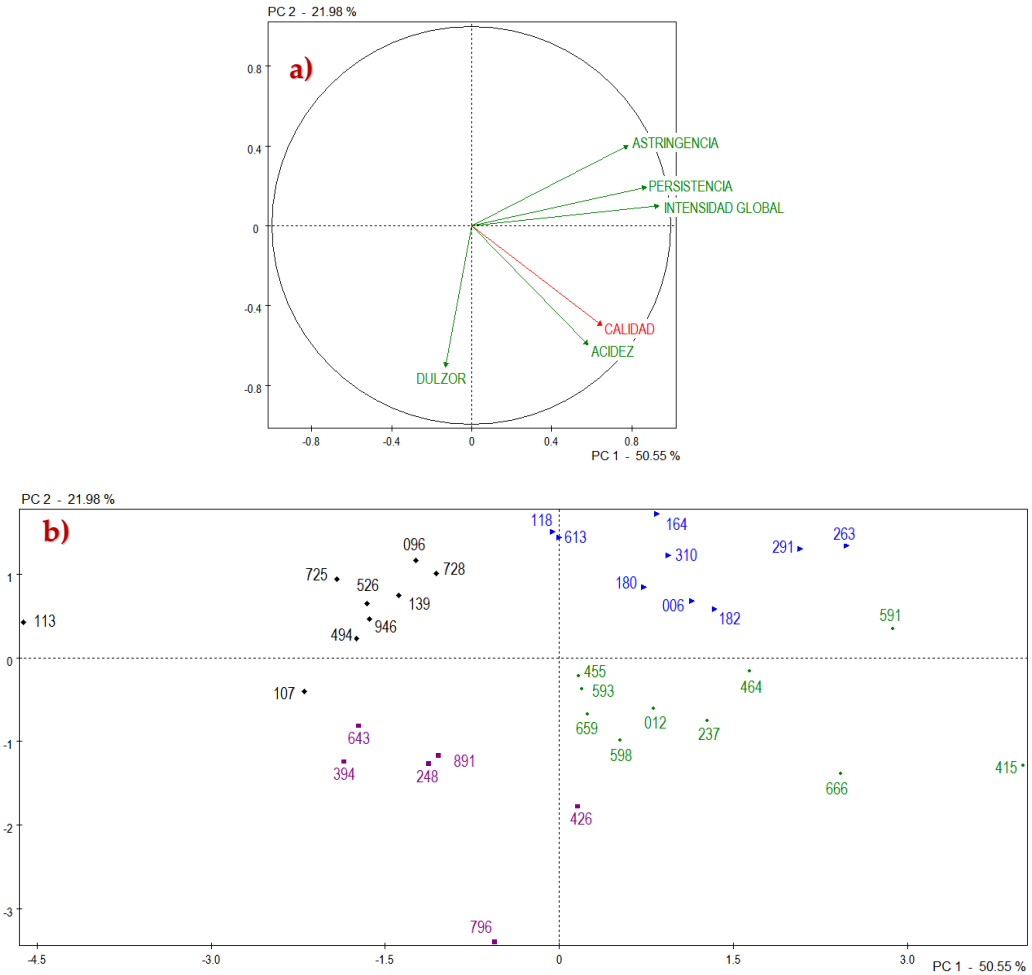


Figura 3.5. a) Proyección de las variables en el plano factorial obtenido del PCA y **b)** Proyección de los vinos en la componente 1 y 2 del PCA. Clúster 1 (●), 2 (▶),3 (■), 4 (♦) obtenidos del HCA en la **categoría de vinos *de gama media*.**

La matriz de correlación (Tabla 3.4) mostró que la intensidad global y la persistencia estuvieron correlacionadas entre sí en un 83%. Ambos atributos presentaron una correlación positiva con la astringencia en un 66 y 77%, respectivamente, y en menor medida con la acidez en un 47 y 32%, respectivamente.

Tabla 3.4. Coeficientes de correlación de Pearson calculados entre los atributos en boca evaluados en la ***categoría de vinos de gama media*** por el panel entrenado.

	Dulzor	Acidez	Astringencia	Intensidad global	Persistencia
Dulzor	1				
Acidez	0.10	1			
Astringencia	-0.20	0.13	1		
Intensidad global	-0.09	**0.47****	**0.77*****	1	
Persistencia	-0.16	**0.32***	**0.66*****	**0.83*****	1

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Las correlaciones significativas aparecen resaltadas en negrita.

Es interesante anotar que el dulzor no resultó correlacionado con ninguno de los atributos evaluados en boca y que a diferencia de los vinos de gama alta, la astringencia y la acidez no mostraron una correlación entre ellas. De hecho, las correlaciones *"intensidad global - persistencia"; "acidez - intensidad global"; "acidez - persistencia"; "astringencia - intensidad global"* y *"astringencia - persistencia"* fueron mayores en los vinos de gama alta que en los vinos de gama media.

El HCA creado a partir del espacio PCA generó cuatro grupos de vinos tal y como se muestra en la Tabla 3.5 y la Figura 3.5b. Para cada clúster, el vino más cercano al centro de gravedad se identificó como la muestra más representativa. Estas muestras son 237 (clúster 1), 310 (clúster 2), 248 (clúster 3) y 526 (clúster 4).

Tabla 3.5. Puntuación media de los atributos evaluados en boca y la calidad percibida que describen cada clúster de ***los vinos de gama media***.

Clúster	**1**	**2**	**3**	**4**	
Vinos	**415, 666, 591, 237†, 464, 012, 598, 659, 593, 455**	**118, 613, 164, 310†, 180, 006, 182, 291, 263**	**796, 426, 248†, 891, 643, 394**	**113, 107, 494, 946, 526†, 139, 725, 096, 728**	***P****
Dulzor	2.48 ± 0.33^{b}	2.30 ± 0.36^{b}	2.85 ± 0.34^{a}	2.43 ± 0.30^{b}	**<0.001**
Acidez	4.39 ± 0.32^{a}	3.94 ± 0.53^{bc}	4.17 ± 0.33^{ab}	3.67 ± 0.30^{c}	**<0.001**
Astringencia	4.95 ± 0.40^{a}	5.30 ± 0.38^{a}	4.17 ± 0.35^{b}	4.19 ± 0.40^{b}	**<0.001**
Intensidad global	5.68 ± 0.22^{a}	5.65 ± 0.22^{a}	5.25 ± 0.24^{b}	5.16 ± 0.20^{b}	**0.001**
Persistencia	5.46 ± 0.26^{a}	5.63 ± 0.27^{a}	5.01 ± 0.28^{b}	4.98 ± 0.30^{b}	**0.001**
Calidad	3.38 ± 0.21^{a}	2.80 ± 0.22^{b}	2.98 ± 0.19^{b}	2.37 ± 0.20^{c}	**<0.001**

† Vinos más representativos de cada clúster. * Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clústers ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las letras diferentes (a, b y c) expresan diferencias significativas en la puntuación para cada variable entre los clústers. Error estándar calculado como $s/(n)^2$; s, desviación estándar y n, número de panelistas.

Los clústers 1 y 2 agruparon los vinos con altas puntuaciones en los atributos en boca; astringencia, intensidad global y persistencia todo lo contrario a los clústers 3 y 4 que agrupan vinos con bajas puntuaciones para estos atributos. Con respecto al atributo acidez, el clúster 1 agrupó vinos con las más altas puntuaciones, mientras el clúster 4 agrupó vinos con las más bajas puntuaciones. Los clústers 2 y 3 estuvieron formados por muestras con puntuaciones intermedias en acidez. En relación al dulzor, el clúster 3 agrupó muestras con las puntuaciones más altas, mientras los clusters 1, 2 y 4 estuvieron formados por vinos con puntuaciones significativamente

menores para este atributo. Finalmente, la calidad evaluada por los expertos se estableció en tres grupos bien diferenciados, en el clúster 1 se encuentran los vinos con las más altas puntuaciones de calidad, mientras que los vinos del clúster 4 presentan las más bajas puntuaciones. Los clústers 2 y 3 agruparon vinos con puntuaciones intermedias de calidad, significativamente diferente a los valores de calidad de las muestras pertenecientes a los clústers 1 y 4.

3.3.3.3 Vinos de categoría de gama baja

De acuerdo con el ANOVA a un factor considerando los jueces como repeticiones, el efecto vino mostró diferencias significativas para el amargor, la astringencia, la intensidad global y la persistencia con un $P < 0.001$ para cada atributo mientras que no se encontraron diferencias significativas para el atributo acidez ($P = 0.114$). Este resultado demuestra que la acidez no es un atributo que ejerza influencia para la caracterización sensorial de estos vinos.

Posteriormente, se calculó un PCA con los cuatro atributos en boca útiles para la caracterización sensorial y la calidad como variable activa. En la Figura 3.6 se muestra el plano bidimensional con la proyección de las variables (Figura 3.6a) y de los vinos (Figura 3.6b).

Las dos primeras componentes del PCA acumularon el 83.19% de la varianza total. La primera componente explicó el 60.82% de la varianza, estuvo positivamente correlacionada con la persistencia (94%), la astringencia (89%), la intensidad global (85%), el amargor (65%) y en menor medida con la calidad (48%) todas con un $P < 0.05$. La segunda componente explicó el 22.37% de la varianza, estuvo negativamente correlacionada con el amargor (- 65%) y positivamente correlacionada con la calidad (76%), estas variables fueron significativas con un $P < 0.05$.

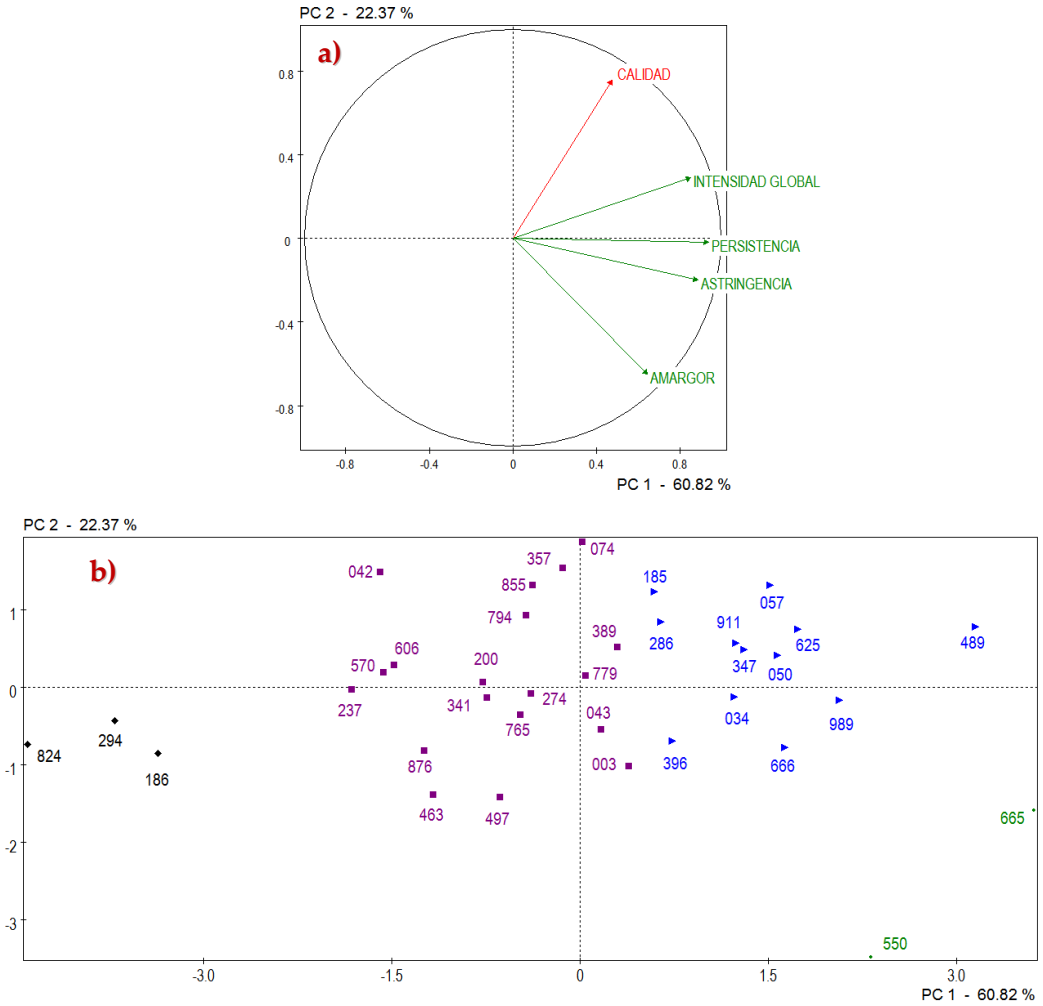


Figura 3.6. a) Proyección de las variables en el plano factorial obtenido del PCA y **b)** Proyección de los vinos en la componente 1 y 2 del PCA. Clúster 1 (●), 2 (▶),3 (■), 4 (♦) obtenidos del HCA en la **categoría de vinos *de gama baja*.**

La matriz de correlación (Tabla 3.6) mostró que la intensidad global y la persistencia estuvieron correlacionadas entre sí en un 84%. Se observó una positiva correlación de estos atributos con la astringencia en un 62 y 77%, respectivamente. En el caso del amargor, se encontró una correlación positiva con la persistencia (55%) y la astringencia (65%). Es interesante anotar que las correlaciones "*intensidad global - persistencia*"; "*acidez - intensidad global*"; "*acidez - persistencia*"; "*astringencia - intensidad global*" y "*astringencia - persistencia*" fueron más altas en los vinos de gama alta con respecto a los vinos de gama media y gama baja. Es importante destacar que la correlación "*intensidad global - persistencia*" es similar en los vinos de gama media y gama baja.

Tabla 3.6. Coeficientes de correlación de Pearson calculados entre los atributos en boca evaluados en la ***categoría de vinos de gama baja*** por el panel entrenado.

	Amargor	Astringencia	Intensidad global	Persistencia
Amargor	1			
Astringencia	**0.65*** **	1		
Intensidad global	0.28	**0.62*** **	1	
Persistencia	**0.55** **	**0.77*** **	**0.84*** **	1

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. Las correlaciones significativas aparecen resaltadas en negrita.

El HCA creado a partir del espacio PCA generó cuatro grupos de vinos, como se muestra en la Tabla 3.7 y Figura 3.6b. Para cada clúster, el vino más cercano al centro de gravedad se identificó como la muestra más representativa. Estas muestras son 050 (clúster 2), 200 (clúster 3) y 294 (clúster 4).

Tabla 3.7. Puntuación promedio de los atributos evaluados en boca y la calidad percibida que describen cada clúster de ***los vinos de gama baja.***

Clúster	***1***	***2***	***3***	***4***	***P****
Vinos	**665, 550**	**489, 989, 666, 034, 050†, 625, 347, 057, 396, 286, 185, 911,**	**003, 074, 357, 855, 042, 389, 779, 794, 043, 274, 765, 200†, 341, 497, 463, 876, 237, 570, 606**	**294†, 186, 824**	
Amargo	5.45 ± 0.27^{a}	4.7 ± 0.28^{b}	4.52 ± 0.30^{b}	4.14 ± 0.26^{c}	**<0.0001**
Astringente	6.04 ± 0.26^{a}	5.06 ± 0.30^{b}	4.31 ± 0.30^{c}	3.33 ± 0.27^{d}	**<0.0001**
Intensidad global	5.42 ± 0.25^{a}	5.43 ± 0.20^{a}	5.19 ± 0.21^{b}	4.76 ± 0.20^{c}	**<0.0001**
Persistencia	6.14 ± 0.24^{a}	5.73 ± 0.22^{b}	5.25 ± 0.22^{c}	4.73 ± 0.21^{d}	**<0.0001**
Calidad	2.00 ± 0.17^{b}	3.11 ± 0.21^{a}	2.71 ± 0.20^{a}	1.68 ± 0.16^{b}	**<0.0001**

† Vinos más representativos de cada clúster. * Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clústers ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las letras diferentes (a, b y c) expresan diferencias significativas en las puntuaciones para cada variable entre los clústers. Error estándar calculado como $s/(n)^2$; s, desviación estándar y n, número de panelistas.

El clúster 1 agrupó dos vinos con las más altas puntuaciones en astringencia, persistencia y amargor; todo lo contrario al clúster 4 formado por muestras con las más bajas puntuaciones en estos atributos. Los clústers 2 y 3 agruparon muestras con puntuaciones intermedias de estos atributos, las cuales mostraron cambios con respecto a los clústers 1 y 4. En relación a la intensidad global, las muestras de los clústers 1 y 2 fueron las de mayor puntuación en este atributo, el clúster 4 agrupó

muestras con bajas puntuaciones mientras el clúster 3 agrupó vinos con puntuaciones intermedias, las cuales mostraron cambios con respecto a los clústers 1, 2 y 4. Finalmente, la calidad evaluada por los expertos se estableció en dos grupos diferenciados en altas y bajas puntuaciones, los clústers 2 y 3 tuvieron en común las altas puntuaciones mientras los clústers 1 y 4 mostraron las bajas puntuaciones.

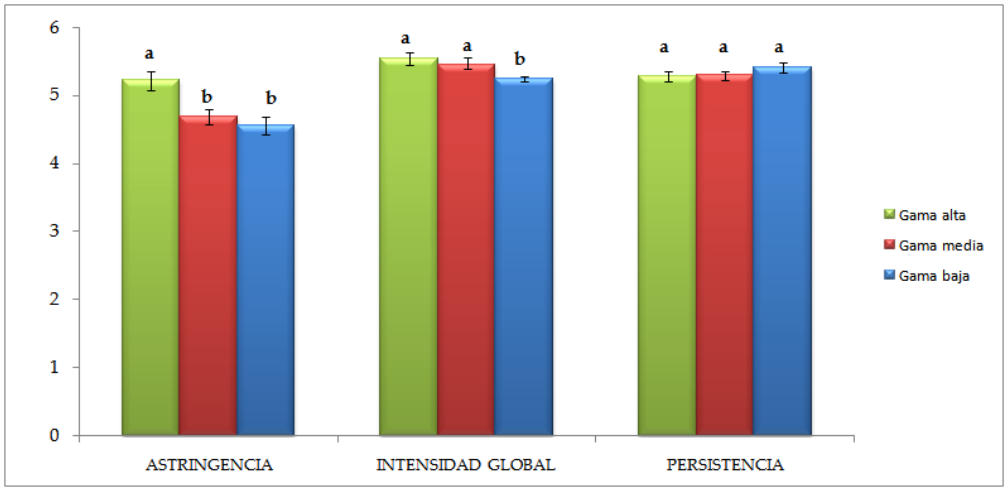
Los datos de los clúster 2, 3 y 4 (Tabla 3.7) muestran que un incremento en los atributos en boca conlleva a un incremento en la calidad de los vinos. Sin embargo, esto no parece cumplirse en el clúster 1, donde los vinos descritos con las mayores puntuaciones en los atributos en boca recibieron bajas puntuaciones de calidad. Este hecho podría ser debido a que bien o por encima de un determinado valor, los atributos en boca pueden generar una disminución de la calidad.

En esta gama de vinos, algunas características sensoriales podrían justificar la baja puntuación de calidad. En relación con esta hipótesis y teniendo en cuenta la descripción sensorial de aroma ortonasal descrita en el apartado 2.3.4.3 del capítulo 2, esta información revela que los vinos del clúster 1 tuvieron altas FC en los términos "vegetal", todo lo contrario a los clústers 2, 3 y 4 lo que sugiere que las bajas puntuaciones de calidad de los expertos para los dos vinos que conforman el cluster 1 podrían estar influenciadas por la presencia de esta nota aromática. Estudios realizados por Sáenz-Navajas et al., (2011b) han mostrado que la calidad esta opuesta a la presencia de notas vegetales.

3.3.4 Comparación entre categorías de precios

El perfil en boca de las 94 muestras se evaluó para los tres términos comunes boca; astringencia, intensidad global y persistencia con la finalidad de determinar su influencia en las tres categorías de precio.

El diagrama de barras (Figura 3.7) muestra que los vinos de gama baja (vinos jóvenes) son los menos intensos globalmente. En esta categoría de vinos, las puntuaciones dadas para este atributo fueron significativamente diferentes a las encontradas en los vinos de gama alta y de gama media, los cuales se caracterizaron por tener puntuaciones similares en ambos casos.



Las letras diferentes (a y b) expresan diferencias significativas ($P < 0.05$). Error estándar calculado como $s/(n)^2$; s, desviación estándar y n, número de panelistas.

Figura 3.7. Descripción sensorial de los atributos en boca que caracterizan los vinos de gama alta, gama media y gama baja.

Por otro lado, la astringencia fue significativamente mayor en los de vinos de gama alta. Esta categoría se diferenció de las puntuaciones obtenidas en los vinos de gama media y de gama baja, las cuales mostraron puntuaciones relativamente similares en este atributo. En cuanto a las puntuaciones de persistencia no variaron significativamente entre las tres categorías de precio.

No obstante y a pesar de las diferencias significativas descritas en los tres grupos de vinos, los valores de las puntuaciones dadas están en un intervalo muy pequeño (Figura 3.7). Por ello, se realizó un PCA considerando todas las variables como activas (Figura 3.8), las dos primeras componentes del PCA acumularon el 86.17% de la varianza total. En el plano formado por estas componentes se observa que las muestras pertenecientes a las tres categorías no están agrupadas en función a su precio, lo que sugiere que la categoría de precio no es una limitante para encontrar vinos más o menos estructurados en boca.

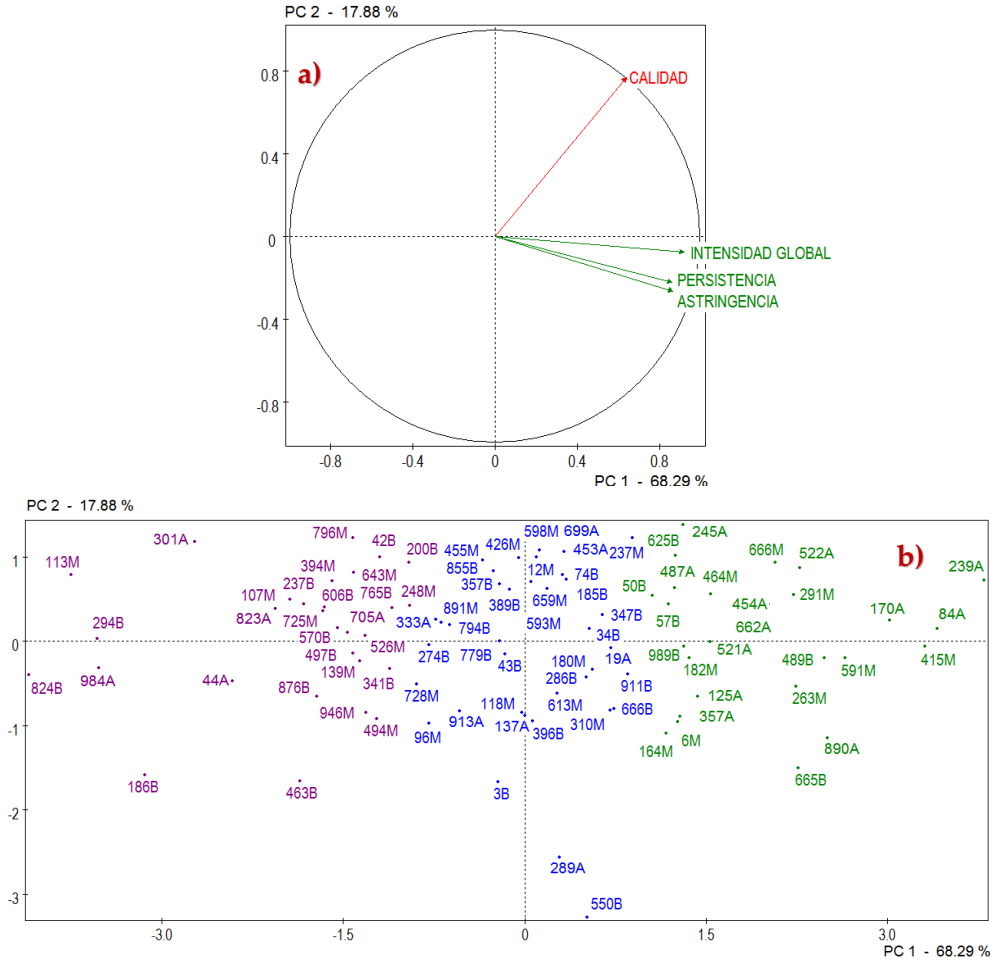


Figura 3.8. a) Proyección de las variables en el plano factorial obtenido del PCA correspondiente a las tres categorías de vinos. **b)** Proyección de los vinos en la componente 1 y 2 del PCA. Clúster 1 (●), 2 (▶), 3 (■) obtenidos del HCA. Los vinos de la categoría gama alta, gama media y gama baja están representados con la letra A, M y B, respectivamente.

La primera componente explicó el 68.29% de la varianza y estuvo positivamente correlacionada con la intensidad global (94%), la persistencia (86%), la astringencia (86%), y en menor medida con la calidad (64%), todas las variables fueron significativas con un $P < 0.05$. La segunda componente explicó el 17.88% de la varianza y estuvo positivamente correlacionada con la calidad (77%) con un $P < 0.05$. En los resultados, la calidad está más correlacionada con la segunda componente que con la primera, lo que nos indica que si bien son importantes los atributos en boca, otras características como el aroma y/o el color marcan la percepción global de la calidad de los vinos.

La matriz de correlación (Tabla 3.8) muestra que la intensidad global y la persistencia estuvieron correlacionadas entre sí en un 73%. Ambos atributos se mostraron correlacionados con la astringencia en un 75 y 67%, respectivamente. En el caso de la calidad se encontró una correlación con la intensidad global (50%), la persistencia (38%) y la astringencia (36%).

Tabla 3.8. Coeficientes de correlación de Pearson calculados entre las puntuaciones de los atributos en boca evaluados por un panel entrenado y calidad percibida por un panel de experto para los 94 vinos pertenecientes a tres categorías de precio.

	Astringencia	Intensidad global	Persistencia	Calidad
Astringencia	1.00			
Intensidad global	**0.75*** **	1.00		
Persistencia	**0.67*** **	**0.73*** **	1.00	
Calidad	**0.36***	**0.50*** **	**0.38***	1.00

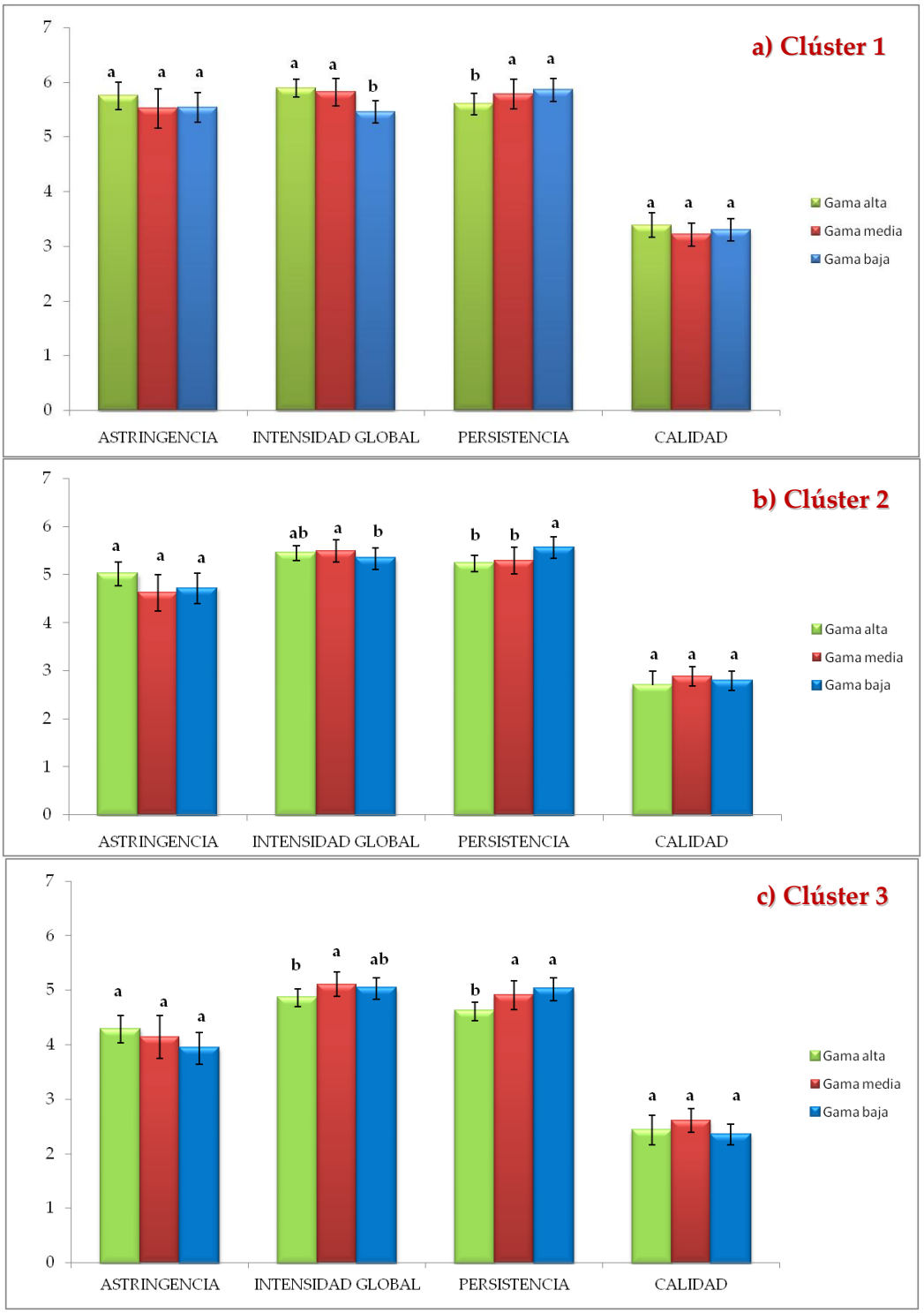
* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$. Las correlaciones significativas aparecen resaltadas en negrita.

El HCA creado a partir del espacio PCA generó tres grupos de vinos, como se muestra en la Tabla 3.9 y Figura 3.8b. Para cada clúster, el vino más cercano al centro de gravedad se identificó como la muestra más representativa. Estas muestras son 043B (clúster 1), 662A (clúster 2) y 823A (clúster 3).

Tabla 3.9. Puntuación promedio de los atributos evaluados en boca y la calidad percibida que describen cada clúster de los 94 vinos pertenecientes a las tres categorías de precio y sus significaciones (*P*).

Clúster	***1***	***2***	***3***	***P***
Astringencia	5.62 ± 0.29^{a}	4.74 ± 0.32^{b}	4.07 ± 0.32^{c}	**< 0.0001**
Intensidad global	5.77 ± 0.20^{a}	5.42 ± 0.21^{b}	5.03 ± 0.20^{c}	**< 0.0001**
Persistencia	5.72 ± 0.22^{a}	5.41 ± 0.24^{b}	4.90 ± 0.23^{c}	**< 0.0001**
Calidad	3.31 ± 0.22^{a}	2.81 ± 0.21^{b}	2.46 ± 0.21^{c}	**< 0.0001**

Valor *P* en negrita indica la existencia de diferencias significativas entre clústers ($P < 0.05$) (Prueba Student Newmans Keuls). Las letras diferentes (a, b y c) expresan diferencias significativas en la puntuación para cada variable entre los clústers. Error estándar calculado como $s/(n)^2$; s, desviación estándar y n, número de panelistas.



Las letras diferentes (a y b) expresan diferencias significativas ($P < 0.05$). Error estándar calculado como $s/(n)^2$; s, desviación estándar y n, número de panelistas.

Figura 3.9. Descripción sensorial de los atributos en boca que caracterizan los vinos de gama alta, gama media y gama baja descritos en **a)** clúster 1, **b)** clúster 2 y **c)** clúster 3.

El clúster 1 (Figura 3.9a), formado por un total de 27 vinos (12, 9 y 6 muestras pertenecientes a las categorías de vino gama alta, gama media y gama baja, respectivamente), agrupó muestras con altas puntuaciones en astringencia, intensidad global, persistencia y calidad. El clúster 3 (Figura 3.9c), formado por un total de 29 vinos (5, 11 y 13 muestras pertenecientes a las categorías de vino gama alta, gama media y gama baja, respectivamente) agrupó muestras con bajas puntuaciones en astringencia, intensidad global, persistencia y calidad. Finalmente, el clúster 2 (Figura 3.9c), formado por un total de 38 vinos (7, 14 y 17 muestras pertenecientes a las categorías de vino gama alta, gama media y gama baja, respectivamente), agrupó muestras con puntuaciones intermedias en astringencia, intensidad global, persistencia y calidad, las cuales mostraron cambios significativos con respecto a los clústers 1 y 3.

3.3.5 Correlación entre los atributos en boca y la calidad

La relación entre los atributos en boca puntuados por el panel entrenado y la evaluación de calidad realizada por un grupo de expertos a los mismos vinos se estableció mediante un análisis de correlación (Tabla 3.10). Los resultados muestran que en el grupo de vinos de gama alta, los atributos intensidad global, persistencia, astringencia y en menor medida la acidez están positiva y significativamente correlacionadas con la percepción de calidad. En los vinos de gama media, la calidad estuvo correlacionada en mayor proporción con la acidez y en menor medida con la intensidad global y la persistencia. En los vinos de gama baja, la calidad presentó una mayor correlación con la intensidad global y la persistencia, y en menor medida con la astringencia. Estudios realizados por Varela y Gambaro, (2006) en vinos Tannat uruguayos describieron que la astringencia influye positivamente en las puntuaciones de calidad, estando la astringencia relacionada con la persistencia y la evolución del vino.

Tabla 3.10. Correlación de Pearson (*r*) y significación (*P*) entre los atributos evaluados en boca por el panel entrenado y la percepción de calidad de los expertos en las tres categorías de precio.

Atributo	Calidad					
	Gama alta		Gama media		Gama baja	
	r	*P*	*r*	*P*	*r*	*P*
Dulzor	-	-	0.09	0.610	-	-
Acidez	**0.35**	**0.090**	**0.56**	**0.001**	-	-
Amargor	-	-	-	-	-0.03	0.870
Astringencia	**0.43**	**0.030**	0.28	0.100	**0.300**	**0.070**
Intensidad global	**0.54**	**0.010**	**0.44**	**0.010**	**0.470**	**0.004**
Persistencia	**0.53**	**0.010**	**0.43**	**0.010**	**0.340**	**0.040**

- Atributo en boca no incluido en el tratamiento de datos.

Los resultados muestran una relación de la calidad con la intensidad global y persistencia en las tres categorías de precio. Sin embargo, solamente la astringencia fue relevante en la calidad para los vinos de gama alta y en menor grado para los de gama baja. La acidez estuvo correlacionada con la valoración de la calidad de los vinos de gama alta y gama media.

3.3.6 Predicción de la calidad a partir de los atributos en boca

Con el objetivo de explorar la importancia de los atributos en boca en la percepción de calidad evaluada por un panel de expertos, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple. Para ello, las proyecciones factoriales de los vinos obtenidas de los atributos evaluados en boca que fueron consistentes por el panel entrenado y que presentaron diferencias significativas entre los vinos pertenecientes a cada categoría de precio fueron consideradas como variables independientes, así mismo la calidad evaluada por los expertos para cada categoría de precio fue utilizada como variable dependiente en la construcción del PCA. En la Tabla 3.11 se muestran las correlaciones entre los atributos en boca y las componentes del PCA en cada categoría de precio.

Tabla 3.11. Correlaciones entre los atributos en boca y las componentes del PCA en las tres categorías de precio.

Atributo	Gama alta		Gama media		Gama baja	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
Dulzor	-	-	-0.21	**-0.81**	-	-
Amargor	-	-	-	-	**0.71**	**0.66**
Acidez	**0.75**	-	**0.49**	**-0.63**	-	-
Astringencia	**0.94**	-	**0.84**	0.24	**0.90**	0.15
Intensidad global	**0.96**	-	**0.96**	-0.10	**0.82**	**-0.52**
Persistencia	**0.97**	-	**0.90**	0.04	**0.94**	-0.19

Las correlaciones significativas aparecen en negrita ($P < 0.05$), - Atributo en boca no incluido en el PCA.

3.3.6.1 Vinos de la categoría gama alta

De los cuatro atributos en boca retenidos en la construcción del PCA, la primera componente explicó el 82.43% de la varianza total y dio lugar a un modelo significativo (F = 7.526; P = 0.012) capaz de explicar el 24.3% de la variación de calidad. La regresión fue la siguiente:

Calidad = 2.989 + 0.178 * PC1

La exclusión de cinco muestras atípicas (125, 137, 289, 357 y 913) se debe a que los vinos 137, 913 y 289 que conforman el clúster 2 descrito en la Tabla 3.3, han sido valorados con las más bajas puntuaciones de calidad. De hecho, en la descripción de aroma ortonasal descrita en el apartado 2.3.4.1 del capítulo 2, estos vinos fueron descritos por altas FC en notas "animal". Con respecto a los vinos 357 y 125 pertenecientes al clúster 1 descrito en la Tabla 3.3, el vino 357 fue la muestra con menor valoración en calidad y menor FC en las notas aromáticas "baya", "fruta pasa", "especiado", "sotobosque", "tostado" y "alcohol", todo lo contrario al vino 125 descrito por las mayores FC de los términos aromáticos "especiado" y "floral". La eliminación de estas muestras permitió establecer una regresión lineal multivariante con un modelo significativo (F = 23.50; P = 0.0002) capaz de explicar el 56.4% de la variación de calidad. La regresión para los 19 vinos restantes de gama alta fue:

Calidad = 3.166 + 0.238 * PC1

3.3.6.2 Vinos de la categoría gama media

De los cinco atributos en boca retenidos en la construcción del PCA. La primera componente explicó el 54.28% de la varianza total mientras la segunda componente explicó el 22.67% de la varianza total. Estas dos componentes dieron lugar a un modelo significativo (F = 8.29; P = 0.0013) capaz de explicar el 34.84% de la variación de la calidad a partir de los cinco atributos en boca. La ecuación del modelo fue:

Calidad = 2.889 + 0.1354 * PC1 - 0.1507 * PC2

Es importante destacar que la matriz de correlación expuesta en la Tabla 3.10 mostró que la astringencia no está correlacionada con la calidad de los expertos. Sin embargo se observó que la astringencia contribuye a la construcción de la primera componente utilizada en la predicción de la calidad. Este hecho podría ser debido a una correlación significativa entre las puntuaciones de la astringencia y la calidad de las muestras que más contribuyen a la formación de la primera componente.

3.3.6.3 Vinos de la categoría gama baja

De los cuatro atributos en boca retenidos en la construcción del PCA, la primera componente explicó el 72.00% de la varianza total mientras la segunda componente explicó el 19.19% de la varianza total. Estas dos componentes dieron lugar a una regresión lineal múltiple con un modelo significativo (F = 5.41; P = 0.0093) capaz de explicar el 25% de la variación de la calidad. La regresión para los vinos de gama baja fue la siguiente:

Calidad = 2.71667 + 0.1182 * PC1 - 0.252 * PC2

En resumen, el bajo porcentaje de explicación de la calidad a partir de los atributos en boca, sugiere que la calidad no solamente depende del sabor sino también de otros aspectos sensoriales como son el caso las interacciones "sabor - sabor" y "sabor - aroma". Así como de la composición volátil y no volátil (San Juan *et al*, 2012, Gonzalo-Diago *et al*., 2014).

3.4 CONCLUSIONES

La comparación de los atributos en boca para las tres categorías de precio muestra que los vinos de gama alta son más astringentes, los vinos de gama baja son menos intensos globalmente, mientras que los vinos de gama media fueron similares en acidez a los vinos gama alta y en astringencia a los vinos de gama baja.

Las puntuaciones dadas para los atributos en boca en las tres gamas de precio se observaron diferencias significativas entre los tres grupos, así los vinos de gama alta fueron evaluados con los mayores valores de astringencia e intensidad global, mientras que los vinos de gama baja fueron evaluados con los menores valores. Los vinos de gama media fueron evaluados con similar astringencia que los de gama alta mientras que fueron similares a los de gama baja en intensidad global.

En los tres grupos de vinos, la calidad estuvo correlacionada con la persistencia y la intensidad global en boca. En los vinos de gama alta, la calidad se mostró además correlacionada con la acidez y la astringencia, mientras que en los vinos de gama media la calidad estuvo correlacionada con la acidez, pero no con la astringencia. En los vinos de gama baja, la calidad no estuvo correlacionada ni con la acidez, ni con la astringencia ni con el amargor.

Del estudio conjunto de todos los vinos se concluye que independiente del grupo de vinos (alta, media o baja gama) los vinos evaluados con mayor calidad por los expertos fueron los que mostraron mayores valores en astringencia, intensidad global y persistencia, mientras que los vinos con los valores más bajos en estos atributos fueron considerados de menor calidad.

REFERENCIAS

Broudreau, J.C., Oravec, J., Hoang, N.K. and White, T.D. 1979. Food taste chemistry. *ACS symposium series* **115**. American Chemical Society, Whashington, D.C.

Campo, E., Do, B.V., Ferreira, V. and 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**, 104-115.

Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M. and Teissedre, P. L. 2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet-Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry* **126**, 1971-1977.

Colonna, A.E., Adams, D.O. and 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**, 26-31.

Etaio, I., Elortondo, F.J.P., Albisu, M., Salmeron, J., Ojeda, A., Gaston, E. 2007. Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz, España.

Etaio, I., Elortondo, F.J.P., Albisu, M., Gaston, E., Ojeda, M. and Schlich, P. 2008. Development of a quantitative sensory method for the description of young red wines from Rioja Alavesa. *Journal of Sensory Studies* **23**, 631-655.

Gawel, R., Iland, P.G. and Francis, I.L. 2001. Characterizing the astringency of red wine: a case study. *Food Quality and Preference* **12**, 83-94.

Gonzalez Carnero, J., de la Montana Miguelez, J. and Miguez Bernardez, M. 2002. Perception of sweet and salty flavors in different population groups. *Nutricion hospitalaria* **17**, 256-258.

Guinard, J.X., Pangborn, R.M. and Lewis, M.J. 1986. The time course of astringency in wine upon repeated ingestion. *American Journal of Enology and Viticulture* **37**, 184-189.

Hewson, L., Hollowood, T., Chandra, S. and Hort, J. 2008. Taste aroma interactions in a citrus flavoured model beverage system: similarities and differences between acid and sugar type. *Food Quality and Preference* **19**, 323-334.

Hopfer, H. and Heymann, H. 2014. Judging wine quality: do we need experts, consumers or trained panelists?. *Food Quality and Preference* **32**, 221-233.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008. Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 9190-9199.

Jackson, R.S. 1994. Wine Science: In *Principles and Applications*. Academic Press, New York.

Jaffre, J., Valentin, D., Dacremont, C. and Peyron, D. 2009. Burgundy red wines: representation of potential for aging. *Food Quality and Preference* **20**, 505-513.

Jones, P.R., Gawel, R., Francis, I.L. and Waters, E.J. 2008. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference* **19**, 596-607.

Keast, S.J.R. and Breslin, P.A.S. 2003. An overview of binary taste taste interactions. *Food Quality and Preference* **14**, 111-124.

Kim, U.K. and Drayna, D. 2005. Genetics of individual differences in bitter taste perception: lessons from the PTC gene. *Clinical Genetics* **67**, 534-534.

Langlois, J., Ballester, J., Campo, E., Dacremont, C. and 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**, 15-22.

Lattey, K.A., Bramley, B.R. and 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**, 189-202.

Lee, C.B. and Lawless, H.T. 1991. Time course of astringent sensations. *Chemical Senses* **16**, 225-238.

Machado, B. and Antonio Graca, Hirson G and Heyman H. 2011. Revealing the secret preferences for top rated dry red wines through sensometric. *16. Internationales Oenologisches Symposium*. Bozen, Italien. pp 145-149.

McBurney, D.H. 1990. Handbook of perception: In *Phychological dimensions and perceptual analyses of taste*. Carterette and M.P.Friedman, ed., Academic Press, New York.

Mennella, J.A., Pepino, Y. and Reed, D.R. 2005. Genetic and environmental determinants of bitter perception and sweet preferences. *Pediatrics* **115**, E216-E222.

Noble, A.C., Williams, A.A. and Langron, S.P. 1984. Descriptive analysis and quality ratings of 1976 wines from 4 Bordeaux communes. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **35**, 88-98.

Noble, A.C. 1995. Application of time-intensity procedures for the evaluation of taste and mouthfeel. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 128-133.

Noble, A.C. 1998. why do wines taste bitter and feel astringent?: In *Chemistry of wine flavor*. A. L Waterhouse and S. E. Ebeler eds. American Chemical Society. Washington, DC.

Ough, C.S. and Amerine, M.A. 1988. Methods for analysis of musts and wines. John Wiley and Sons. New York.

Peynaud, E. 1996. The taste of wine. Jhon Wiley and Sons. New York.

Pfeiffer, J.C., Hort, J., Hollowood, T.A. and Taylor, A.J. 2006. Taste aroma interactions in a ternary system: a model of fruitiness perception in sucrose/acid solutions. *Perception & Psychophysics* **68**, 216-227.

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D. and Ferreira, V. 2010. An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry* **121**, 1139-1149.

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

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Miguel Avizcuri, J., Valentin, D., Fernández-Zurbano, P. and Ferreira, V. 2012a. 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.

Sáenz-Navajas, M.P., Gonzalez-Hernandez, M., Campo, E., Fernández-Zurbano, P. and Ferreira, V. 2012b. 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**, 268-279.

Thorngate, J.H. 1997. The physiology of human sensory response to wine: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **48**, 271-279.

Varela, P. and Gambaro, A. 2006. Sensory descriptive analysis of Uruguayan Tannat wine: correlation to quality assessment. *Journal of Sensory Studies* **21**, 203-217.

Zamora, M.C., Goldner, M.C. and Galmarini, M.V. 2006. Sourness sweetness interactions in different media: white wine, ethanol and water. *Journal of Sensory Studies* **21**, 601-611.

CAPÍTULO 4

ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN NO VOLÁTIL EN VINOS TINTOS PERTENECIENTES A TRES CATEGORÍAS DE PRECIO Y SU RELACIÓN CON LOS ATRIBUTOS SENSORIALES EVALUADOS EN BOCA

4.1 INTRODUCCIÓN

La composición no volátil del vino juega un papel importante en el color, así como en la percepción del sabor y las sensaciones táctiles, los cuales están relacionados con la calidad del vino (Jackson, 2000). Por ello, comprender cuantitativamente el impacto sensorial de los ácidos fenólicos, ácidos orgánicos, flavanoles, flavonoles, aminoácidos, aldosas, cetosas y alditoles mediante umbrales sensoriales DoT (*Dose-Over-Taste*) en la percepción del sabor y la astringencia han sido el principal objetivo de numerosos estudios (Dadic y Belleau, 1973, Okamura y Watanabe, 1981, Warmke et al., 1996, Scharbert et al., 2004, Scharbert y Hofmann, 2005, Glabasnia y Hofmann, 2006, Hufnagel y Hofmann, 2008b). De hecho, la determinación de los umbrales sensoriales de compuestos no volátiles ha permitido abordar su implicación en el sabor, en las sensaciones táctiles y por lo tanto en la calidad (Arnold *et al.*, 1980, Peleg *et al.*, 1999, Vidal *et al.*, 2004a, Preys *et al.*, 2006, Landon *et al.*, 2008, Blackman *et al.*, 2010, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010a, Chira *et al.*, 2011, Sáenz-Navajas *et al.*, 2012a, Sáenz-Navajas *et al.*, 2012b, Gonzalo-Diago *et al.*, 2013, Gonzalo-Diago *et al.*, 2014). En relación con los antocianos, existe un menor conocimiento acerca de su contribucción en la percepción en boca, ya que no se dispone de los umbrales sensoriales para estos compuestos. Los antocianos han sido descritos como los responsables del color de las uvas y los vinos tintos (Glories, 1984). No obstante, Cheynier *et al.*, (1997) concluyeron que cuando existe una mayor concentración de antocianos con respecto a los taninos, esto da lugar a vinos descritos sensorialmente con mayor equilibrio y más suaves al paladar. Vidal *et al.*, (2004b) describieron que los antocianos contribuyen a un incremento de la percepción en boca otorgando un mayor cuerpo a los vinos.

Hasta el momento, las investigaciones realizadas con el objetivo de identificar la contribución real de los compuestos no volátiles a las propiedades sensoriales en el vino, no han permitido todavía resolver estas cuestiones por completo.

En relación a los atributos en boca, la percepción del amargor, es sin duda el más complicado de interpretar. Este sabor se basa en las respuestas individuales a la

feniltiocarnamida (PTC) y al 6-n-propiltiouracilo (PROP). Aunque, el PTC y PROP no aparecen naturalmente en los alimentos, provocan un estímulo amargo. En general, un 25% de los humanos no son capacez de detectar el sabor amargo (Kim *et al.*, 2004, Tepper *et al.*, 2009), hecho que dificulta el avance del reconocimiento de compuestos sensorialmente implicados en este atributo (Keast y Breslin, 2003, Gonzalo-Diago *et al.*, 2014).

En relación al sabor dulce en los vinos, esta percepción se ha relacionado principalmente con la concentración de los dos azúcares reductores mayoritarios, la fructosa y la glucosa (Ough y Amerine, 1988). Sin embargo, ambos azúcares parecen no ser responsables del dulzor en los vinos tintos secos. Varias investigaciones han descrito que el dulzor en vinos secos esta potenciado por la presencia del etanol y glicerol (Wilson *et al.*, 1973, Thorngate, 1997, Scinska *et al.*, 2000, Mattes y DiMeglio, 2001).

En el caso de la acidez, los ácidos orgánicos han sido descritos como los principales responsables de la percepción, así como de la modificación del sabor ácido (Ebeler, 2001).

En cuanto a la astringencia, es una sensación oral compleja descrita por diferentes subcualidades tales como la astringencia sedosa, secante y rugosa (Gawel *et al.*, 2000, Hufnagel y Hofmann, 2008b). La correlación entre los compuestos químicos con la astringencia y sus subcualidades, podría convertirse en una herramienta para la elaboración de diferentes tipos de vinos tintos (Gonzalo-Diago *et al.*, 2013).

Es ampliamente conocido que los parámetros enológicos convencionales tales como los azúcares reductores, acidez total y volátil, contenido de polifenoles totales, intensidad colorante, ácidos málico y láctico, así como el contenido en alcohol son metodologías habitualmente empleadas para el control de calidad de los vinos en las bodegas. Igualmente, las características sensoriales están relacionadas con la calidad. De hecho, en vinos de la variedad Tannat se ha asociado la astringencia con la calidad (Varela y Gambaro, 2006). Otros estudios indican que al igual que la

astringencia, la acidez es un parámetro importante en la calidad (Langlois *et al.*, 2010, Lattey *et al.*, 2010).

El objetivo principal de este capítulo ha sido estudiar la influencia de la composición no volátil en la percepción en boca de vinos tintos.

4.2 MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.1 Reactivos

Ácido *cis*-aconítico, ácido *trans*-aconítico (98%), (+)-catequina, (-)-epicatequina, ácido siríngico, miricetina, kaempferol, éster etílico del ácido protocatéquico (97%), ácido gálico (97%), ácido *trans*-cafeico, quercetina, albúmina de suero bovino (Fracción V) y ovoalbumina (V-grade) fueron suministrados por Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, EEUU). Cloruro de malvidina, ácido *p*-cumárico, *trans*-resveratrol, procianidinas (B1 y B2), kaempferol-3-*O*-glucósido, (-)-epigalocatequina, (+)-catequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato, (-)-epigalocatequina-3-galato, quercetina-3-*O*-rutinósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucurónido, siringetina-3-*O*-glucósido, siringetina-3-*O*-galactósido, isorhamnetina-3-*O*-glucósido e isorhamnetina fueron adquiridos en Extrasynthese (Genay, Francia). Ácido succínico fue obtenido en Merck (Darmstadt, Alemania). Ácido tartárico y metabisulfito de potasio fueron proporcionados por Panreac (Barcelona, España). Ácido vainíllico fue suministrado por Fluka (Buchs, Suiza). Ácido tánico, cloruro de sodio e hidróxido de sodio fueron obtenidos en Scharlab (Barcelona, España).

Los disolventes acetonitrilo, acetona, metanol, etanol, ácido acético y ácido fórmico de calidad HPLC fueron adquiridos en Scharlab (Barcelona, España). El agua desionizada fue obtenida a partir del sistema de purificación Milli-Q Millipore (Molsheim, Francia). Ácido trifluroacético (TFA) fue suministrado por Fluka (Buchs, Suiza). El Gel TSK Toyopearl HW-50F fue proporcionado por Tosohaas (Montgomeryville, PA, EEUU).

4.2.2 Muestras de vinos

Se analizaron noventa y cuatro vinos tintos españoles pertenecientes a tres categorías de precio "gama alta" (15 - 25 €), "gama media" (6 - 14 €) y "gama baja" (1 - 5 €). La información de los vinos, añada, zona de origen y marca se recogen en la Tabla 2.1 del capítulo 2.

4.2.3 Evaluación sensorial

4.2.3.1 Análisis sensorial descriptivo por un panel entrenado

La metodología empleada en el análisis sensorial descriptivo de los vinos por el panel entrenado se encuentra descrita en los apartados 2.2.3 y 3.2.3 de los capítulos 2 y 3, respectivamente.

4.2.3.2 Evaluación de calidad por un panel de expertos

La metodología seguida para la evaluación de calidad de los vinos por el panel de expertos esta descrita en el apartado 2.2.4 del capítulo 2.

4.2.4 Análisis químicos

4.2.4.1 Análisis de los parámetros enológicos convencionales

Los parámetros enológicos convencionales: pH, contenido en alcohol, azúcares reductores, acidez volátil y total se midieron empleando espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (IRFT) en el equipo WineScanTM FT 120 FOSS® (Barcelona, España) previamente calibrado de acuerdo a los métodos oficiales de la organización internacional de la viña y el vino en *Recueil des methods internationals d'analyse des vins et des mouts* (OIV, 2005).

4.2.4.2 Parámetros de color

4.2.4.2.1 Intensidad colorante

La intensidad colorante (IC) se determinó a partir de la suma de las absorbancias de las longitudes de onda (λ) a 420, 520 y 620 nm medidas en una cubeta de 2 mm de paso óptico (Glories, 1984).

4.2.4.2.2 Tonalidad

La tonalidad (T) se estimó a partir del cociente entre las longitudes de onda 420 y 520 nm (Glories, 1984).

4.2.4.2.3 Determinación de las coordenadas de color CIELAB

El espectro del vino se obtuvo en un rango visible que abarcaba desde 380 nm hasta 780 nm, en una cubeta de cuarzo de 2 mm de paso óptico. A partir de los espectros se obtuvieron las coordenadas de color CIELAB del vino a través de los valores triestímulo X, Y, Z, procesadas por medio de un software propio del Laboratorio de Color de la Universidad de La Rioja - España, en el cual se utiliza el iluminante D65 y el observador estándar CIE 1964 10° de acuerdo al método oficial de la OIV (*Commission Internationale de l'Eclairage*, 2004 Resolución oeno 1/2006). Las coordenadas a_{10}^* y b_{10}^* indican la cromaticidad; la coordenada a_{10}^* oscila desde valores negativos "verdes" a valores positivos "rojos" y la coordenada b_{10}^* oscila desde valores negativos "azules" a valores positivos "amarillos". La coordenada L_{10}^* indica la claridad y varía desde opaco a transparente con un valor entre 0 y 100, respectivamente.

4.2.4.3 Análisis de la composición polifenólica de los vinos

4.2.4.3.1 Determinación de polifenoles totales

El índice de polifenoles totales (IPT) se estimó midiendo la absorbancia de los vinos a 280 nm en una cubeta de cuarzo de 10 mm de paso óptico, previa dilución 1:100 con agua destilada, factor de multiplicación de los resultados (Ribéreau-Gayon, 1970).

4.2.4.3.2 Determinación del contenido de pigmentos poliméricos

El análisis de pigmentos poliméricos se realizó de acuerdo al método descrito por Harbertson *et al.*, (2003). Para ello, se prepararon dos disoluciones distintas; la disolución 1, contiene 200 mM de ácido acético y 170 mM de cloruro de sodio (NaCl) ajustado a pH 4.9 con hidróxido de sodio (NaOH) y la disolución 2 preparada de la misma forma que la disolución 1, pero adicionando 1 g L^{-1} de albúmina de suero bovino (BSA). A continuación se realizaron tres medidas: Primero, de la disolución conformada por 1 mL de la disolución 1 y 0.5 mL de vino; se tomó 1 mL de mezcla y se midió la absorbancia a 520 nm en una cubeta de 10 mm de paso óptico (Medida A).

Segundo, se añadieron 0.08 mL de 0.36 M de metabisulfito de potasio a la cubeta en la que se realizó la medida A; después de esperar 10 minutos se midió la absorbancia a 520 nm (Medida B). Tercero, a una disolución formada por 1 mL de disolución 2 y 0.5 mL de vino, tras 15 minutos de agitación suave se centrifugó a 4000 rpm; de ahí se tomó 1 mL de sobrenadante que se colocó en una cubeta de 10 mm de paso óptico y se le añadieron 0.08 mL de 0.36 M de metabisulfito de potasio, después de 10 min en reposo se midió la absorbancia a 520 nm (Medida C). El contenido de pigmentos monoméricos (MP), pigmentos poliméricos de bajo peso molecular (SPP) y pigmentos poliméricos de alto peso molecular (LPP), se calcularon para cada vino aplicando las siguientes expresiones:

$$MP = (A - B)$$

$$SPP = C$$

$$LPP = (B - C)$$

4.2.4.3.3 Determinación del índice de etanol (PAs unidas a polisácaridos)

El índice de etanol estima el porcentaje de taninos unidos a polisacáridos mediante la metodología descrita por Glories, (1984). Para ello, se preparó una dilución vino/etanol (1:9), se homogeneizó y dejó reposar durante 24 horas. Pasado este tiempo, se centrifugó para eliminar el precipitado y se tomó el sobrenadante. La absorbancia (A2) de la disolución sobrenadante/agua destilada (1:10) fue medida a 280 nm en una cubeta de 10 mm de paso óptico. Paralelamente, se determinó la absorbancia original del vino a 280 nm (A1) mediante una dilución vino/agua (1:100). El índice de etanol fue calculado para cada vino aplicando la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de etanol} = 100 \times (A1 - A2) / A1$$

4.2.4.3.4 Análisis de las proantocianidinas precipitables con proteína (PPAs)

El análisis de las proantocianidinas precipitables se llevó a cabo usando ovoalbúmina como agente precipitante y disoluciones de ácido tánico de acuerdo al método descrito por Llaudy *et al.*, (2004).

4.2.4.4 Fraccionamiento de compuestos fenólicos del vino

4.2.4.4.1 Preparación de las muestras

Dos mililitros de vino se inyectaron directamente en la columna Vantage L (120 mm x 12 mm) suministrada por Millipore (Bedford, MA, EEUU) empaquetada con gel TSK Toyopearl HW-50F a presión atmosférica. La primera elución (fracción 1) fue realizada con etanol/agua/ácido trifluroacético (55:45:0.05, v/v) a un flujo de 1 mL min^{-1} durante 60 minutos utilizando una bomba peristáltica. La segunda elución (fracción 2) fue realizada con acetona/agua (60:40, v/v) a un flujo de 1 mL min^{-1} durante 60 minutos. Las dos fracciones fueron congeladas y liofilizadas. La fracción 1, que contiene los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, fue reconstituida con 2 mL de ácido fórmico/agua (5:95, v/v). La fracción 2, que contiene los compuestos fenólicos de alto peso molecular, fue reconstituida con 2 mL de metanol para el análisis de proantocianidinas totales. Las fracciones reconstituidas fueron conservadas a -20 °C (Remy *et al.*, 2000, Vidal *et al.*, 2003). Todos los vinos fueron fraccionados por duplicado y filtrados con filtros de 0.45 μm antes del fraccionamiento.

4.2.4.4.2 Análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular

El análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular de la fracción 1 obtenida de los vinos de la categoría de gama alta y de gama media fueron analizados mediante HPLC-DAD-MS, tal y como describe Sáenz-Navajas *et al.*, (2010d). Los vinos de la categoría de gama baja fueron analizados mediante el UPLC acoplado al UV-Vis y ESI-MS como se detalla en el apartado 1.2.5 del capítulo 1, las disoluciones patrón fueron preparados como se describe en el apartado 1.2.2 del capítulo 1, luego fraccionados en una columna de gel de permeación cromatografica (GPC) como se describe en el apartado 1.2.4 del capítulo 1 y consecutivamente reconstituidos en agua/ácido fórmico (99.9:0.1, v/v), las curvas de regresión lineal empleadas para la cuantificación de las muestras de gama baja se presentan en la Tabla 1.5 del capítulo 1. Un análisis previo, mostró que las concentraciones de los

compuestos obtenidos mediante el análisis en el UPLC y HPLC de las muestras de gama baja presentaron resultados similares.

4.2.4.4.3 Determinación de las proantocianidinas totales

El análisis de las proantocianidinas totales se llevó a cabo mediante el método de la vainillina de acuerdo al método descrito por Sun *et al.*, (1998). La fracción 2 se disolvió en 7.5 mL de metanol (muestra). El volumen de la reacción se fijó en 6 mL; se mezclaron en un vial 1 mL de la muestra con 2.5 mL de vainillina en metanol al 1% (w/v) y 2.5 mL de ácido sulfúrico/metanol (10:90, v/v). La reacción tuvo lugar a 30 ˚C durante 15 minutos, tiempo necesario para alcanzar el valor máximo de absorbancia a 500 nm. Paralelamente, se realizó un blanco para cada muestra, con el fin de eliminar la absorbancia de pigmentos residuales presentes en la fracción 2. El blanco fue preparado de la misma forma que la muestra, pero adicionando metanol en lugar de vainillina. La cuantificación de las proantocianidinas fue realizada por medio de una recta de calibrado preparada con diferentes concentraciones de catequina. Las muestras se analizaron por duplicado.

4.2.5 Análisis estadísticos

4.2.5.1 Análisis univariante.

Se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) a un factor a los compuestos químicos de las muestras pertenecientes a las tres categorías de precio con el fin de identificar las diferencias. El test Student Newmans Keuls para un umbral de error del 5 % ($P < 0.05$) se usó para comprobar las diferencias significativas.

Los compuestos con posible actividad sensorial se seleccionaron en base a:

a) La relación de concentración máximo/mínimo mayor a 2 unidades (Escudero *et al.*, 2007, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d).

b) El grado del impacto sensorial se evaluó mediante el parámetro DoT (*Dose-over-Taste*). Este se calculó para cada compuesto como el cociente de su concentración y su umbral de percepción sensorial (Scharbert y Hofmann, 2005). Cuando la concentración mínima (mín) > umbral

sensorial se consideró el máx/mín, pero si la concentración mín < umbral sensorial se consideró el máx/umbral sensorial.

c) Compuestos correlacionados significativamente. Para ello, se calcularon correlaciones de Pearson entre las variables químicas y sensoriales.

4.2.5.2 Análisis multivariante.

Análisis de componentes principales (PCA). Los compuestos/parámetros químicos que mostraron diferencias significativas entre los vinos de las tres categorías de precio fueron considerados en el PCA, de modo que se realizó una tabla de contingencia con los vinos en filas y la concentración media de los compuestos/parámetros en columnas.

Análisis clúster jerárquico (HCA). El HCA se aplicó a las coordenadas factoriales del PCA siguiendo el criterio de Ward. Los clústers identificados a partir del dendograma, se consolidaron en función a sus centros móviles. Los compuestos/parámetros que mejor caracterizaron cada clúster se identificaron mediante el cálculo del parámetro valor test χ^2 (Morineau, 1984). El valor test correspondió a un criterio estadístico similar a la estandarización de variables (media = 0 y varianza = 1), la significación a partir de un valor test ≥ 1.96, correspondió a un límite de error del 5%. La jerarquización de los compuestos/parámetros que se seleccionaron de acuerdo a este criterio proporcionaron una rápida caracterización de cada clúster (Morineau, 1995).

Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR). Con la finalidad de evaluar la relación entre la composición no volátil, atributos sensoriales (aromáticos y en boca) con la astringencia se utilizó la regresión por mínimos cuadrados parciales mediante el algoritmo PLS1. En primer lugar, se construyó una matriz con los vinos en filas y las variables en columnas, como variable X se consideraron los valores medios de los compuestos no volátiles, la frecuencia de citación (FC) de los descriptores de aroma ortonasal y las puntuaciones medias de los atributos en boca y como variable Y las puntuaciones medias de la astringencia. Posteriormente, la matriz de datos para cada variable a explicar fue centrada y escalada con el fin de

obtener datos normalizados. La estrategia seguida para construir los modelos fue un primer modelo inicial con todas las variables X, después de esto, se comprobó la existencia de valores atípicos, las muestras con una clara desviación del modelo fueron eliminadas y descartadas del proceso de calibración. El número de variables *X* en el modelo se redujo siguiendo un proceso interactivo, buscando el modelo más sencillo con la mejor capacidad predictiva (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010d). Por consiguiente, la prueba de incertidumbre de Martens' se utilizó para identificar y mantener sólo las variables significativas. Los parámetros estudiados para evaluar la bondad de la predicción de los modelos fueron la pendiente (m) calculada con la variable Y calculada y predicha, la raíz del error cuadrático medio de la predicción (RMSEP), así como el porcentaje de varianza explicada por el modelo (%EV).

Los análisis se llevaron a cabo con el programa Excel para Windows, el paquete estadístico SPAD versión 5.5 (CISIA-CESRESTA, Montreal, Francia), el programa SPSS versión 19.0 (SPSS Inc., Illinois, EEUU) y el programa Unscrambler 9.7 (CAMO, Throdheim, Noruega).

4.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1 Diferencias entre la composición química de las tres categorías de precio

La composición química de los 94 vinos tintos españoles pertenecientes a tres categorías de precio diferentes ha proporcionado datos cuantitativos de 78 parámetros. En la Tabla 4.1 se recogen los rangos de concentración y valores medios de los parámetros enológicos convencionales y de color, pigmentos poliméricos y las distintas familias de compuestos fenólicos; ácidos y derivados, flavanoles, flavonoles y pigmentos antociánicos. Los valores medios de los parámetros y compuestos encontrados en los vinos tintos del estudio fueron concordantes con los resultados encontrados en otros estudios (Castellari *et al.*, 2002, Ibern-Gomez *et al.*, 2002, Rodriguez-Delgado *et al.*, 2002, Hernandez *et al.*, 2006, Pereira *et al.*, 2010, Caceres-Mella *et al.*, 2014)

De los 78 parámetros determinados, 48 casos mostraron diferencias entre las tres categorías de precio, este hecho refleja que los vinos del estudio son químicamente diferentes como consecuencia de diferencias en los procesos de elaboración, prácticas vitícolas, variedad, añada, zona de origen y lugar de procedencia de las uvas (Sims y Bates, 1994, Reynolds *et al.*, 1994, Price *et al.*, 1995, Goldberg *et al.*, 1998, Yokotsuka *et al.*, 1999, Brossaud *et al.*, 1999, Cliff *et al.*, 2007).

Tabla 4.1. Rangos y valores medios de la composición enológica convencional y compuestos fenólicos de vinos tintos españoles pertenecientes a tres categorías de precios.

Parámetros	Rangos de concentración			Medias y diferencias significativas		
	Gama alta	Gama media	Gama baja	Gama alta	Gama media	Gama baja
Enológicos convencionales						
pH	3.37 - 3.95	3.26 - 3.82	3.34 - 3.89	3.59	3.53	3.60
Acidez total (g L^{-1})[d]	4.69 - 6.96	4.59 - 6.84	4.33 - 6.29	**5.67**[a]	**5.62**[a]	**5.20**[b]
Acidez volátil (g L^{-1})[e]	0.39 - 0.71	0.31 - 0.88	0.15 - 0.51	**0.54**[a]	**0.54**[a]	**0.32**[b]
Ácido málico (g L^{-1})	< 0.10 - 0.60	< 0.10 - 1.70	< 0.01 - 1.89	0.19	0.34	0.47
Ácido láctico (g L^{-1})	0.9 - 2.43	0.33 - 2.70	0.04 - 2.66	**1.65**[a]	**1.00**[c]	**1.27**[b]

Tabla 4.1. Continúa.

Parámetros	Rangos de concentración			Medias y diferencias significativas		
	Gama alta	Gama media	Gama baja	Gama alta	Gama media	Gama baja
Azúcares reductores (g L^{-1})	1.36 - 3.96	0.76 - 4.54	0.59 - 7.37	**2.71**^{a}	**2.06**^{b}	**2.02**^{b}
% alcohol (v/v)	12.97 - 15.92	12.94 - 16.17	11.70 - 14.50	**14.77**^{a}	**14.27**^{b}	**13.11**^{c}
IPT[1]	48.27 - 93.12	43.75 -75.58	29.98 - 67.63	**65.24**^{a}	**59.38**^{b}	**50.24**^{c}
Parámetros de color						
a_{10}*	27.02 - 51.69	27.17 - 51.26	20.45 - 53.96	40.9	43.01	40.17
b_{10}*	11.03 - 35.87	7.56 - 30.42	4.18 - 20.11	**20.06**^{a}	**16.97**^{b}	**10.17**^{c}
L_{10}*	27.70 - 66.60	37.4 - 69.85	43.9 - 78.9	**49.83**^{b}	**52.38**^{b}	**59.71**^{a}
IC[1]	7.94 - 19.90	6.32 - 17.23	4.06 - 13.27	**12.14**^{a}	**10.45**^{b}	**8.40**^{c}
T	0.71 - 1.22	0.50 - 1.00	0.60 - 0.92	**0.87**^{a}	**0.87**^{a}	**0.74**^{b}
Pigmentos poliméricos						
MP[1]	0.20 - 0.53	0.10 - 0.75	0.21 - 0.66	**0.37**^{b}	**0.46a**^{a}	**0.42**^{a}
LPP[1]	0.43 - 0.97	0.22 - 1.00	0.05 - 0.57	**0.66**^{a}	**0.52**^{b}	**0.32**^{c}
SPP[1]	0.42 - 0.89	0.38 - 0.95	0.02 - 0.48	**0.65**^{a}	**0.61**^{b}	**0.20**^{c}
Ácidos y derivados (mg L^{-1})						
Ácido *cis*-aconítico	2.34 - 4.70[f]	1.40 - 4.73[f]	1.05 - 4.34	**3.52**^{a}	**3.11**^{b}	1.54
Ácido *trans*-aconítico	3.41 - 6.67	2.75 - 5.35	1.52 - 18.52	4.90	4.10	4.23
Ácido gálico	19.81 - 74.27	28.36 - 68.01	5.15 - 33.08	**42.06**^{a}	**46.01**^{a}	**17.03**^{b}
Ácido protocatéquico	3.30 - 10.21	2.98 - 14.08	0.35 - 2.21	**6.02**^{b}	**7.93**^{a}	**0.99**^{c}
Ácido vainíllico	2.40 - 21.10	6.10 - 18.50	0.60 - 2.70	**7.80**^{b}	**13.90**^{a}	**1.41**^{c}
Ácido siríngico	7.10 - 17.9	10.40 - 49.70	1.31 - 4.12	**11.60**^{b}	**22.50**^{a}	**2.40**^{c}
Ácido *trans*- caftárico[f]	2.56 - 51.24	9.80 - 60.80	15.04 - 96.51	**15.75**^{c}	**25.97**^{b}	**42.03**^{a}
Ácido cutárico[f]	1.99 - 20.40	5.90 - 23.10	15.04 - 103.83	**10.84**^{a}	**14.83**^{a}	**38.73**^{b}
Ácido cafeico	2.89 - 21.66	5.04 - 13.10	2.69 - 23.51	7.35	8.91	9.30
Ácido ferúlico	1.48 - 2.90	2.75 - 7.23	1.20 - 5.37[g]	**1.89**^{b}	**4.34**^{a}	3.05
Ácido *p*-cumárico	3.32 - 23.00	1.72 - 3.57	0.28 - 2.13	**7.58**^{a}	**2.37**^{b}	**1.08**^{c}
Éster etílico del ácido protocatéquico	0.08 - 5.25	6.19 - 32.31	<0.52 - 0.97	**2.01**^{b}	**14.13**^{a}	**0.52**^{b}
Flavanoles (mg L^{-1})						
Procianidina B1	6.01 - 17.09	7.64 - 15.24	1.08 - 27.81	13.66	11.18	10.12
(-)-Epigalocatequina	4.40 - 7.13	6.18 - 11.39	<1.24 - 15.56	**5.58**^{b}	**7.84**^{a}	**5.09**^{b}
(+)-Catequina	49.86 - 126.20	12.90 - 23.40	2.76 - 66.17	**78.77**^{a}	**18.75**^{c}	**28.16**^{b}
Procianidina B2	11.54 - 19.01	9.19 - 16.37	2.02- 63.80	**14.81**^{b}	**12.42**^{b}	**20.55**^{a}
(-)-Epicatequina	7.06 - 14.39	12.99 - 39.25	2.55 - 39.43	**8.57**^{c}	**18.25**^{a}	**13.38**^{b}
(+)-Catequina-3-galato	9.74 - 18.90	11.28 -16.97	<0.40	**15.11**^{a}	**13.61**^{b}	**0.40**^{c}
(-)-Epicatequina-3-galato	8.02 - 14.09	6.18 - 11.39	<0.27 - 0.40	**8.57**^{a}	**7.84**^{a}	**0.38**^{b}

Tabla 4.1. Continúa.

Parámetros	Rangos de concentración			Promedios y diferencias significativas		
	Gama alta	Gama media	Gama baja	Gama alta	Gama media	Gama baja
PAs precipitables con proteína (g L^{-1})	0.54 - 1.90	0.64 - 1.44	< 0.11 - 0.97	**1.06**^{a}	**1.02**^{a}	**0.47** ^{b}
PAs poliméricas (mg L^{-1})	29 - 380	40.52 - 550.88	76.93 - 367	**125.63**^{a}	**105.51**^{b}	**68.38**^{c}
PAs unidas a polisacáridos (%)	4.32 - 48.64	1.35 - 31.04	8.54 - 13.52	13.24	11.53	10.1
Flavonoles (mg L^{-1})						
Miricetina-3-*O*-glucósido	0.60 - 0.85	0.29 - 6.35	1.39 - 6.80^{h}	**0.74**^{b}	**2.51**^{a}	3.18
Quercetina-3-*O*-galactósido	1.00 - 4.75	0.86 - 6.52	< 0.12- 4.62	**2.29**^{b}	**3.33**^{a}	**0.64**^{c}
Quercetina-3-*O*-glucurónido	0.56 - 15.2	1.09 - 17.91	< 0.11 - 9.18	**1.80**^{c}	**9.42**^{a}	**3.81**^{b}
Quercetina-3-*O*-glucósido	0.61 - 3.35	0.07 - 13.38	< 0.12 - 1.31	**2.69**^{a}	**2.42**^{a}	**0.39**^{b}
Kaempferol-3-*O*-glucósido	0.56 - 4.98	6.18 - 15.20	< 0.89	**1.74**^{b}	**7.96**^{a}	**2.97**^{b}
Isoharmnetina-3-*O*-glucósido	0.18 - 1.42	0.10 - 6.96	< 0.13 - 0.81	0.23	0.80	0.27
Miricetina	7.03 - 13.7	6.95 - 13.38	< 0.20 - 9.25	**8.83**^{a}	**8.01**^{a}	**2.05**^{b}
Quercetina	2.17 - 7.32	0.08 - 16.30	< 0.73 - 19.93	**3.42**^{b}	**7.44**^{a}	**3.44**^{b}
Kaempferol	5.16 - 6.45	< 0.09 - 40.59	< 0.16 - 0.47	5.30	4.33	0.25
Antocianos no acilados (mg L^{-1})						
Delfinidina-3-*O*-glucósido	0.91 - 2.87	1.25 - 15.39	0.69 - 29.78	**1.42**^{c}	**4.33**^{b}	**9.39**^{a}
Cianidina-3-*O*-glucósido	0.88 - 1.05	0.97 - 3.81	< 0.21 - 3.27	**0.96**^{c}	**2.17**^{a}	**1.49**^{b}
Petunidina-3-*O*-glucósido	0.70 - 2.55	0.94 - 13.24	0.85 - 26.12	**1.37**^{c}	**3.71**^{b}	**8.28**^{a}
Peonidina-3-*O*-glucósido	0.70 - 2.73	0.88 - 8.36	5.38- 26.36	**1.14**^{c}	**2.84**^{b}	**11.59**^{a}
Malvidina-3-*O*-glucósido	1.25 - 6.89	1.66 - 44.07	4.79 -83.1	**3.77**^{c}	**12.7**^{b}	**43.63**^{a}
Antocianos acilados (mg L^{-1})						
Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	0.70 - 0.70	0.95 - 1.75	0.21 - 2.01	**0.70**^{b}	**1.15**^{a}	**0.66**^{b}
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	0.89 - 1.05	0.83 - 6.33	< 0.21 - 2.10	**0.97**^{b}	**1.71**^{a}	**0.82**^{b}
Petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	0.70 - 1.10	0.83 - 1.67	< 0.16 - 3.51	**0.87**^{b}	**1.06**^{a}	**0.62**^{b}
Peonidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	0.70 - 1.08	0.85 -1.38	< 0.15 - 0.69	**0.85b**	**1.01a**	**0.33c**
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-isómero *trans*	0.70 - 1.06	0.89 - 4.01	< 0.24 - 5.27	**0.83b**	**1.79a**	**1.94a**
Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	-	-	0.23 - 1.96	**-**	**-**	**0.73**
Cianidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	-	-	< 0.16 - 0.55	**-**	**-**	**0.28**

Tabla 4.1. Continúa.

Parámetros	Rangos de concentración			Promedios y diferencias significativas		
	Gama alta	Gama media	Gama baja	Gama alta	Gama media	Gama baja
Petunidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	-	-	0.30 - 6.12	-	-	2.14
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-isómero *cis*	-	-	< 0.14 - 0.32	-	-	0.18
Piranoantocianos (mg L^{-1})						
Malvidina-3-*O*-glucósido piruvato	1.06 - 2.34	1.38 - 4.42	< 0.91 - 3.77	**1.5**^{b}	**2.19**^{a}	**2.12**^{a}
Malvidina-3-*O*-glucósido acetaldehído	0.70 -1.05	0.83 - 1.61	0.17 - 0.76	**0.82**^{b}	**1.01**^{a}	**0.37**^{c}
Malvidina-3-acetilglucósido-4-vinilfenol	0.70 - 1.98	0.87 - 1.96	< 0.14 - 0.18	**1.10**^{a}	**1.10**^{a}	**0.16**^{b}
Delfinina-3-*O*-glucósido acetaldehído	-	-	0.14 - 0.71	-	-	0.31
Peonidina-3-*O*-glucósido piruvato	-	-	< 0.21 - 0.67	-	-	0.40
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido piruvato	-	-	< 0.15 - 0.38	-	-	0.24
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-p-cumaril)-glucósido piruvato	-	-	< 0.18 - 0.86	-	-	0.44
Malvidina-3-*O*-glucósido-4-vinilfenol	-	-	< 0.17 - 0.87	-	-	0.39
Petunidina-3-*O*-glucósido piruvato	0.70 - 0.97	0.83 - 1.14	-	0.88	0.88	-
Malvidina-3-glucósido-4-vinil(epi)catequina	0.86 - 1.76	0.91 - 1.52	-	1.07	1.12	-
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-4-vinilcatecol	0.83 - 1.86	1.13 - 2.80	-	**1.17**^{b}	**1.64**^{a}	-
Dímeros de condensación (mg L^{-1})						
Malvidina3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-etil-(epi)catequina	-	-	< 0.14 - 0.56	-	-	0.21
Peonidina-3-*O*-glucósido y (epi)catequina	0.70 - 0.86	1.15 - 3.00	-	**0.71**^{b}	**2.06**^{a}	-
Malvidina-3-*O*-glucósido y (epi)catequina	0.87 - 1.26	1.12 - 3.45	-	**1.07**^{b}	**2.32**^{a}	-
Malvidina-3-*O*-glucósido-8-etil-(epi)catequina	0.70 - 1.51	0.83 - 2.88	-	**0.89**^{b}	**1.29**^{a}	-
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido-4-vinilfenol	0.90 - 2.52	1.24 - 3.41	-	**1.54**^{b}	**1.83**^{a}	-

El ANOVA realizado entre las categorías de precio con diferencias significativas (95%) a partir de las concentraciones promedios para cada compuesto fueron expresadas con las letras (a, b y c). [d] expresado en g L^{-1} de ácido tartárico. [e] expresado en g L^{-1} de ácido acético. [f] ácido aconítico identificado junto a un pico desconocido. [g] expresado en g L^{-1} de ácido cafeico. [h] expresado en g L^{-1} de miricetina. [i] Expresado en unidades de absorbancia. - Dato no disponible.

4.3.1.1 Análisis de componentes principales

Un PCA fue aplicado a los 48 compuestos/parámetros que presentan diferencias significativas entre los vinos de gama alta, media y baja. La Figura 4.1 muestra la distribución de los vinos en el plano factorial en las dos primeras componentes que acumulan el 48.89% de la varianza total. En este PCA se observó que las muestras pertenecientes a la categoría de gama baja estan separadas de las otras dos categorías, indicando que la concentración de los compuestos en los vinos de gama baja es bastante diferente de las otras dos categorías; mientras las muestras de gama alta y media podrían estar compartiendo algunas características. Un comportamiento similar, se observó en un estudio realizado con la composición volátil de las tres categorías de precio (San Juan *et al.*, 2012). Esta separación parece deberse al hecho de que los vinos de gama alta y gama media han sido envejecidos en barrica mientras que los vinos de gama baja son en su mayoría vinos jóvenes sin barrica.

4.3.1.2 Análisis clúster jerárquico

En base a los resultados, se realizó un HCA a partir PCA obtenido de los compuestos químicos no volátiles analizados con las nueve primeras componentes, las cuales acumulan el 77.22% de la varianza total de acuerdo a la ley de Káiser. En la Figura 4.1 se muestra la distribución de los tres grupos de vinos obtenidos a partir del HCA. Este corte se realizó con el objetivo de retener la mayor información posible y simplificar los resultados obtenidos para cada categoría de precio. Para cada grupo, el vino más cercano al centro de gravedad se identificó como el ejemplo más típico de la agrupación. Estas muestras son 699 (clúster 1), 237 (clúster 2) y 794 (clúster 3) correspondientes a las categorías de vinos de gama alta, media y baja, respectivamente. Es importante destacar, que no sólo es una diferencia composicional de los vinos de gama baja con respecto a los vinos de gama alta y gama media, sino que también estos últimos pueden ser diferenciados entre sí. La siguiente discusión se centrará en analizar las diferencias y los parámetros químicos que mejor caracterizan los vinos pertenecientes a las tres categorías de precio (Tabla 4.2).

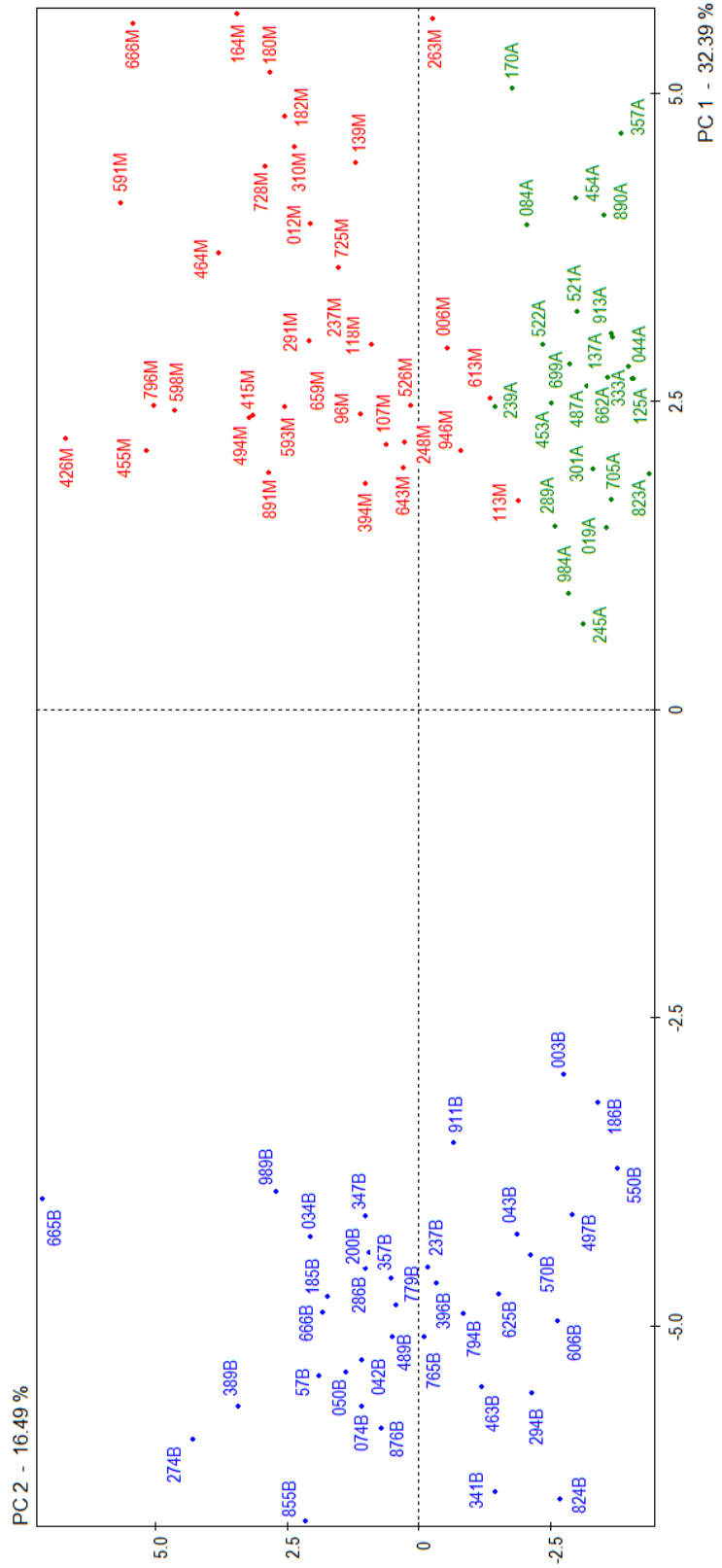


Figura 4.1. Proyección de las 94 muestras pertenecientes a las tres categorías de precio sobre las dos primeras componentes del PCA. Los vinos de la categoría gama alta, gama media y gama baja están representados con la letra A, M y B, respectivamente. Cluster 1 (●), 2 (●), 3 (●) obtenidos del HCA.

Tabla 4.2. Parámetros químicos que caracterizan cada uno de los clúster generados a partir del HCA. Valor test significativo ($P < 0.05$).

Clúster 1		Clúster 2		Clúster 3	
Gama alta		**Gama media**		**Gama baja**	
Variables características	**Valor test**	**Variables características**	**Valor test**	**Variables características**	**Valor test**
(+)-Catequina	8.16	Éster etílico de ácido protocatéquico	8.00	Peonidina-3-*O*-glucósido	8.00
Ácido *p*-cumárico	7.02	Ácido siríngico	7.68	Malvidina-3-*O*-glucósido	7.26
LPP	5.21	Ácido vainíllico	7.63	Ácido cutárico	6.78
Contenido en alcohol	4.66	Malvidina-3-*O*-glucósido acetaldehído	6.68	Petunidina-3-*O*-glucósido	5.39
b_{10}*	4.43	Ácido protocatéquico	6.52	Delfinidina-3-*O*-glucósido	5.29
IC	4.39	Delfinidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril) glucósido	6.40	Ácido *trans*-caftárico	4.92
SPP	4.28	Peonidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido	6.32	L_{10}*	4.50
Miricetina	4.24	Quercetina-3-*O*-glucurónido	6.16	Procianidina B2	3.62
Ácido láctico	3.95	Kaempferol-3-*O*-glucósido	5.71	Malvidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido *trans*	2.45
IPT	3.85	Quercetina-3-*O*-galactósido	5.64	Kaempferol-3-*O*-glucósido	-2.06
PPAs	3.70	Cianidina-3-*O*-glucósido	5.47	(+)-Catequina	-2.23
(-)-Epicatequina-3-galato	3.26	Ácido gálico	5.31	Quercetina-3-*O*-glucurónido	-2.38
Acidez volátil	3.21	SPP	4.51	Quercetina	-2.51
(+)-Catequina-3-galato	3.20	Acidez volátil	4.40	Malvidin-3-*O*-(6-acetil)-glucósido	-2.92
Azúcares reductores	2.79	Quercetina	4.37	Acidez total	-3.77
Ácido gálico	2.63	Malvidina-3-O-(6-acetil)-glucósido	4.24	Petunidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido	-3.86
T	2.41	(-)-Epicatequina	4.21	Delfinidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido	-4.13
Peonidina-3-*O*-(6'-*p*-cumaril)-glucósido	2.25	PPAs	3.90	Quercetina-3-*O*-glucósido	-4.13
Acidez total	2.07	PAs poliméricas	3.82	Ácido *p*-cumárico	-4.63
Malvidin-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol	2.02	Miricetina	3.75	IPT	-4.70

Tabla 4.2. Continúa.

Clúster 1		Clúster 2		Clúster 3	
Gama alta		Gama media		Gama baja	
Variables características	**Valor test**	**Variables características**	**Valor test**	**Variables características**	**Valor test**
Quercetina	-2.07	Petunidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido	3.62	IC	-4.91
(-)-Epigalocatequina	-2.30	(-)-Epigalocatequina	3.52	T	-5.19
MP	-2.41	T	3.07	Éster etílico de ácido protocatéquico	-5.31
Delfinidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido	-2.44	(-)-Epicatequina-3-galato	2.65	b_{10}*	-6.07
L_{10}*	-3.04	Malvidin-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol	2.59	LPP	-6.26
Éster etílico de ácido protocatéquico	-3.09	Contenido en alcohol	2.33	Malvidin-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol	-6.38
(-)-Epicatequina	-3.46	MP	2.23	Contenido en alcohol	-6.49
Ácido *trans*-caftárico	-3.79	b_{10}*	2.11	Quercetina-3-*O*-galactósido	-6.65
Ácido cutárico	-3.88	Malvidina-3-*O*-glucósido piruvato	2.07	PPAs	-7.22
Malvidina-3-*O*-glucósido piruvato	-3.88	Procianidina B2	-2.92	Acidez volátil	-7.22
PAs poliméricas	-4.06	Malvidina-3-*O*-glucósido	-3.11	Ácido siríngico	-7.37
Petunidina-3-*O*-glucósido	-4.09	Ácido cutárico	-3.34	(+)-Catequina-3-galato	-7.39
Delfinidina-3-*O*-glucósido	-4.18	Ácido láctico	-3.61	(-)-Epicatequina-3-galato	-7.40
Quercetina-3-*O*-glucurónido	-4.18	Peonidina-3-*O*-glucósido	-3.82	Ácido gálico	-7.61
Malvidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido *trans*	-4.20	(+)-Catequina	-5.15	Ácido vainíllico	-7.75
Malvidina-3-*O*-glucósido	-4.67			Miricetina	-7.97
Peonidina-3-*O*-glucósido	-4.70			Malvidina-3-*O*-glucósido acetaldehído	-8.18
Cianidina-3-*O*-glucósido	-4.79			Ácido protocatéquico	-8.23
Kaempferol-3-*O*-glucósido	-4.90			SPP	-8.30
				Peonidina-3-O-(6-*p*-cumaril)-glucósido	-8.48

El clúster 1 (color verde, Figura 4.1) comprende los vinos de gama alta y se caracterizan por tener alta acidez total y alto contenido en ácido láctico, azúcares reductores, IPT, IC y LPP. Además, estos vinos presentaron bajo contenido en PAs poliméricas y en compuestos de bajo peso molecular como el ácido *trans*-caftárico, (-)-epicatequina, (-)-epigalocatequina y antocianos libres.

El clúster 2 (color rojo, Figura 4.1) esta conformado por los vinos de gama media, se caracterizan por tener alto contenido en las PAs poliméricas y en los compuestos fenólicos ácido protocatéquico, ácido siríngico, ácido vainíllico, éster etílico del ácido protocatéquico, (-)-epicatequina, (-)-epigalocatequina, kaempferol-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-galactósido, quercetina-3-*O*-glucurónido y pigmentos antocianos esterificados por un ácido tales como el acético y cumárico. Además de bajo contenido en ácido láctico, procianidina B2 y (+)-catéquina.

El clúster 3 (color azul, Figura 4.1) abarca los vinos de gama baja, se caracteriza por alto contenido en los compuestos fenólicos ácido cutárico, ácido *trans*-caftárico, procianidina B2 y los pigmentos antocianos libres tales como la delfinidina-3-*O*-glucósido, malvidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido *trans*, malvidina-3-*O*-glucósido, peonidina-3-*O*-glucósido y petunidina-3-*O*-glucósido. Además de baja acidez volátil y total, y bajo contenido en IPT, LPP, SPP, T, PPAs, contenido en alcohol y en compuestos fenólicos como el ácido gálico, ácido *p*-cumárico, ácido protocatéquico, ácido siríngico, ácido vainíllico, contenido en alcohol, (+)-catequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato, quercetina-3-*O*-glucósido, quercetina-3-*O*-galactósido y pigmentos antocianos tales como la malvidin-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido, malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol, malvidina-3-*O*-glucósido acetaldehído y peonidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido.

Los clústers 1 y 2 correspondientes a los vinos de gama alta y media, respectivamente, tuvieron en común una alta acidez volátil y altos contenidos de T, SPP, contenido en alcohol, PPAs, ácido gálico, miricetina, malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol y peonidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido, además de altos valores en b_{10}*. Además, estos clúster mostraron bajos contenidos en ácido cutárico y

antocianos glucosilados tales como la malvidina-3-*O*-glucósido y peonidina-3-*O*-glucósido.

Los clústers 1 y 3 correspondientes a los vinos de gama alta y baja, respectivamente, tuvieron en común bajos contenidos en éster etílico del ácido protocatéquico, kaempferol-3-*O*-glucósido, quercetina, quercetina-3-*O*-glucurónido y delfinidina-3-*O*-(6-*p*-cumaril)-glucósido.

Los clústers 2 y 3 correspondientes a los vinos de gama media y baja, respectivamente, solamente tuvieron en común bajos contenidos de (+)-catequina.

Algunas de estas observaciones previas pueden ser fácilmente explicadas, mientras otras son más desafiantes. En el estudio, los vinos de gama alta y media presentaron mayor acidez total y volátil que los vinos de gama baja. Estos resultados están en concordancia con los resultados obtenidos por Aiken y Noble (1984) y Wilker y Gallander (1988) donde describieron que tanto la acidez total como la volátil son ascendentes durante la conservación en barrica y se estabiliza una vez puesto en botella. Pomar García *et al.*, (2006) indicaron que una mayor acidez total puede ser atribuido a la concentración de compuestos ácidos, resultado de fenómenos de evaporación a través de la barrica y/o por incremento del ácido acético.

Los altos contenidos de ácido gálico en los vinos de gama alta y media fueron esperados puesto que los vinos de gama de baja fueron vinos jóvenes sin crianza en barrica. De hecho, en los vinos con crianza en barrica de roble, se observa un incremento en el ácido gálico según el tiempo de contacto y tipo de madera, ya que la madera de roble está formada por taninos hidrolizables, los cuales se hidrolizan a ácido gálico y elágico a causa de su inestabilidad debida al pH del vino (Jindra y Gallander, 1987, Wilker y Gallander, 1988).

Las bajas concentraciones de los antocianos monoglucósidos; delfinidina, petunidina, peonidina y malvidina en los vinos de gama alta y media es el resultado de su disminución durante la maduración y el envejecimiento, debido a la formación de nuevos pigmentos antocianos (Rivas-gonzalo *et al.*, 1995, Remy *et al.*, 2000, Salas *et al.*, 2004, Pissarra *et al.*, 2004).

La mayor concentración de malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol en los vinos de gama alta y gama media, se debe a que este tipo de piranoantocianos se produce después de varios años de estiba en botella (Rivas *et al.*, 2006).

Los mayores valores de LPP en los vinos de gama alta y los bajos valores en los vinos de gama baja es un hecho asociado a un correcto envejecimiento (Wirth *et al.*, 2010, Hopfer *et al.*, 2013).

La altas concentraciones de PPAs en los vinos de gama alta y las más bajas en los vinos de gama baja concuerdan con estudios realizados por Gambuti *et al.*, (2013).

Como era de esperar, los altos valores de T y de la coordenada de color b_{10}*, corresponde a los vinos de gama alta, específicamente a las añadas más viejas. Estos resultados están de acuerdo con la evolución de los pigmentos antocianos hacia la formación de moléculas más complejas, que junto a los piranoantocianos son los principales responsables del color en los vinos envejecidos, presentando especialmente tonalidades rojas y anaranjadas (Silva *et al.*, 2003, Mcrae *et al.*, 2012, Ye *et al.*, 2014).

4.3.2 Correlación entre los compuestos químicos y los atributos sensoriales evaluados en boca

Para estudiar la relación entre la composición química y los atributos en boca evaluados por el panel entrenado en los vinos pertenecientes a tres categorías de precio diferentes, se empleó la relación máx/mín, el grado de impacto sensorial mediante el parámetro DoT (*Dose-over-Taste*) y correlaciones de Pearson.

4.3.2.1 Dulzor

En la percepción del dulzor, este atributo solamente fue útil para caracterizar diferencias entre las muestras de la categoría gama media, puesto que el grupo de los vinos de gama alta no se observaron diferencias significativas, y en el grupo de vinos de gama baja el panel mostró desacuerdos en la evaluación de este atributo tal y como se describe en el apartado 3.3.3 del capítulo 3.

El dulzor percibido de los vinos de gama media no presentaron correlaciones significativas con los azúcares reductores (r = -0.22, P = 0.166). Este efecto concuerda con trabajos recientes llevados a cabo con otros grupos de vinos tintos secos (Blackman *et al.*, 2010, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c).

Otros autores han descrito que el contenido en alcohol potencia el dulzor (Wilson *et al.*, 1973, Scinska *et al.*, 2000, Mattes y Dimeglio, 2001), en este caso una correlación entre el contenido en alcohol y el dulzor percibido no mostró una correlación significativa (r = 0.03, P = 0.980) para los vinos de gama media.

Estos resultados sugieren que los azúcares reductores y el contenido en alcohol no estuvieron implicados en la percepción sensorial del dulzor de los vinos de esta categoría.

4.3.2.2 *Acidez*

La acidez sensorial mostró diferencias significativas entre las muestras pertenecientes a las categorías de vinos gama alta y gama media. En los vinos de gama baja no se observaron diferencias tal y como se describe en el apartado 3.3.3 del capítulo 3.

En los resultados de las categorías de vinos de gama alta y gama media como se muestra en la Tabla 4.3, se observó que la acidez volátil, los ácido málico y láctico alcanzaron concentraciones superiores al umbral sensorial en al menos una de las muestras ($DoT_{máx} > 1$), más no mostraron una correlación con la acidez evaluada por el panel entrenado.

La acidez total expresada en ácido tartárico alcanzó concentraciones superiores al umbral sensorial 0.04 g L^{-1} para el ácido tartárico (Hufnagel y Hofmann, 2008b) en todas las muestras pertenecientes a las dos categorías de precio. En las dos categorías de precio se encontraron correlaciones positivas de la acidez total con la acidez evaluada en boca lo que está de acuerdo con otras investigaciones (Blackman *et al.*, 2010, Sáenz-Navajas *et al.*, 2010c).

Otros parámetros, como el contenido en alcohol se encontró correlacionado positivamente con la acidez percibida en los vinos de gama alta y gama media. Tal y como describe Aronzarena, (1998), debe existir un equilibrio entre la acidez y el contenido alcohólico de los vinos, ya que un vino de alta graduación con una acidez deficiente se convierte en un vino pesado, plano y poco vivo, mientras un vino con poca acidez puede resultar acídulo y agresivo, si no se ve compensado por un grado alcohólico suficiente que mitigue dicha sensación.

En los vinos de gama alta, la acidez evaluada por el panel entrenado presentó correlaciones positivas con los ácidos *cis*/*trans*-aconítico, gálico y vainíllico. Es importante destacar que los ácidos *cis*/*trans*-aconítico no alcanzaron concentraciones por encima del umbral sensorial, pero al igual que los otros compuestos mostraron una relación máx/mín entre 8 y 2 unidades, lo cual indica que tienen capacidad suficiente para inducir modificaciones sensoriales.

La acidez evaluada se ha encontrado correlacionada con compuestos de bajo peso molecular que han sido descritos por su implicación en la astringencia percibida, como los ácidos *cis*-aconítico y vainíllico (Gonzalo-Diago, 2014).

Tabla 4.3. Compuestos correlacionados con la acidez sensorial de los vinos pertenecientes a las categorías de precio gama alta y gama media, relación (máx/mín), umbral sensorial (expresado en mg L^{-1}) y correlación de Pearson (*r*).

	Gama alta			Gama media			
Parámetros	Máx/Mín[a]	DoT[b]	***r***	Máx/Mín[a]	DoT[b]	***r***	**Umbral**
pH	1.17		-0.15	1.17		0.06	ǂ
Contenido en alcohol	1.22		**0.58****	1.24		**0.34****	ǂ
Acidez total	1.48		**0.44****	1.49		**0.44****	ǂ
Acidez volátil	1.82	**1.82**	-0.24	**2.83**	**7.39**	-0.03	0.119[1]
Ácido málico	**9.50**	**1.21**	0.18	**17.0**	**3.44**	0.20	0.494[2]
Ácido láctico	**2.70**	**17.48**	-0.05	**8.18**	**19.42**	0.19	0.139[3]
Ácido *cis*-aconítico	**2.01**	0.05	**0.37***	**3.38**	0.05	-0.19	87[1]
Ácido *trans*-aconítico	**2.00**	0.08	**0.45****	1.95	0.06	-0.01	87[1]
Otros							
Ácido gálico	**3.74**		**0.55****	**2.39**		-0.14	ǂ
Ácido vainíllico	**8.79**		**0.42****	**3.03**		0.15	ǂ

* $P < 0.10$, ** $P < 0.05$. [a] si mín > umbral sensorial, se calcula el potencial de discriminación PD = máx/mín, PD > 2 subrayado. [b] DoTmáx se calcula como el coeficiente de la concentración y el umbral sensorial, DoTmáx > 1 marcados en **fucsia**. ǂ Umbral sensorial no disponible. máx/mín > 2 marcados en **verde**. [1](Hufnagel y Hofmann, 2008b).[2] (Scharbert y Hofmann, 2005). [3](Warmke *et al.*, 1996).

4.3.2.3 Amargor

El panel fue consistente en la evaluación del amargor en los vinos de gama baja tal y como se describe en el apartado 3.3.3 del capítulo 3, mientras que los panelistas presentaron desacuerdos en la interpretación del amargor en los vinos gama alta y media.

En la Tabla 4.4, se describen dieciséis compuestos correlacionados con el amargor de los cuales ocho (un éster etílico del ácido protocátequico, dos flavanoles, 4 flavonoles y dos proantocianidinas dímeras) han sido descritos como compuestos amargos (Dadic y Belleau, 1973, Hufnagel y Hofmann, 2008b).

En el grupo de los ácidos y derivados, solamente el ácido *trans*-caftárico se mostró significativamente correlacionado con el sabor amargor. En cuanto a los flavanoles, (+)-catequina, (-)-epicatequina y las proantocianidinas dímeras B1 y B2 presentaron una correlación positiva con el amargor pero ninguno de ellos mostró concentraciones por encima del umbral de percepción. En relación a los flavonoles, la miricetina fue el único compuesto correlacionado positivamente con el amargor que además alcanzó concentraciones por encima al umbral sensorial en al menos una muestra ($DoT_{máx} > 1$). En relación a las PAs poliméricas, las PPAs y las PAs unidas a polisacáridos mostraron correlación significativa con el amargor, solamente las dos primeras presentaron una relación máx/mín > 2, lo que nos indica que son compuestos que pueden inducir diferencias sensoriales significativas entre los vinos del estudio. Otros parámetros como los IPT, LPP y MP se mostraron positivamente correlacionados con el amargor.

La implicación de estos compuestos en el amargor está apoyada por distintas investigaciones. Estudios realizados por Maga y Lorenz, (1973) describen el ácido caftárico como un compuesto asociado al amargor. De igual manera, Laaksonen *et al.*, (2010) indicaron que derivados de los ácidos hidroxicinámicos identificados en arándanos fueron señalados como amargos. En infusiones de té negro se observó que la ausencia de flavanoles y flavonoles glicosilados disminuía el amargor percibido (Scharbert y Hofmann, 2005). Por otro lado, Preys *et al.*, (2006) sugirieron que la miricetina y la quercetina son compuesto amargos en vinos tintos franceses y

alemanes. En relación con las concentraciones detectadas por debajo del umbral de percepción, Hufnagel y Hofmann, (2008b) anotaron que el amargor del vino puede estar inducido por concentraciones por debajo del umbral sensorial de flavanoles y ésteres etílicos de ácidos fenólicos. Estudios realizados por Gonzalo-Diago *et al.*, (2014) confirman que compuestos como la procianidina B1 y la catequina están implicados en el amargor de una fracción vínica.

Compuestos correlacionados con el amargor como el ácido *trans*-caftárico, la quercetina-3-*O*-glucurónido y las PAs poliméricas también han sido descritos como compuestos implicados en la astringencia (Hufnagel y Hofmann, 2008b).

Tabla 4.4. Compuestos implicados en el amargor sensorial de los vinos pertenecientes a la categoría de vinos de gama baja, relación (máx/mín), umbral sensorial (expresado en mg L^{-1}) y correlación de Pearson (*r*).

Compuestos	Máx/Mín[a]	DOT[b]	*r*	Umbral
Ácidos y derivados				
Ácido *trans*- caftárico[a]	**6.41**		**-0.28***	ǂ
Éster etílico de ácido protocatéquico	**7.78**	0.002	0.07	182[1]
Flavanoles				
Procianidina B1	**25.75**	0.05	**0.36****	231[1]
(+)-Catequina	**24.01**	0.08	**0.39****	290[1]
Procianidina B2	**31.58**	0.07	**0.32***	280[1]
(-)-Epicatequina	**15.46**	0.04	**0.36****	290[1]
Flavonoles				
Quercetina-3-*O*-glucurónido	**81.29**	9.18	**0.28***	ǂ
Miricetina	**46.43**	**2.98**	**0.31***	3.1[2]
Quercetina	**27.42**	**1.99**	0.13	10[2]
Kaempferol	**2.93**	0.02	-0.32	20[2]
Otros				
PAs poliméricas	**4.77**	16.68	**0.49*****	ǂ
PPAs	**8.81**		**0.48*****	ǂ
PAs unidas a polisacáridos	1.58		**0.45*****	ǂ
IPT	**2.31**		**0.36****	ǂ
LPP	**11.4**		**0.42****	ǂ
MP	**3.14**		**0.30***	ǂ

* $P < 0.10$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$. [a] si mín > umbral sensorial se calcula el potencial de discriminación PD = máx/mín, PD > 2 **subrayado**. [b] DoTmáx se calcula como el coeficiente de la concentración y el umbral sensorial, DoTmáx > 1 marcados en **fucsia**. ǂ Umbral sensorial no disponible. máx/mín > 2 marcados en **verde**. [1](Hufnagel y Hofmann, 2008b). [2] (Dadic y Belleau, 1973).

4.3.2.4 Astringencia

La astringencia fue útil para caracterizar diferencias entre los vinos pertenecientes a cada una de las categorías de precio, tal y como se describió en los apartados 3.3.1 y 3.3.3 del capítulo 3.

En la Tabla 4.5 se recogen los datos relación de concentración máx/mín, el grado de impacto sensorial mediante el parámetro DoT (*Dose-over-Taste*) y correlaciones de Pearson significativas de los compuestos y parámetros con implicación en la astringencia evaluada en las tres categorías de precio.

Con el fin de determinar la implicación de otros atributos sensoriales en la astringencia percibida en el conjunto de vinos tintos estudiados, se correlacionaron los términos aromáticos combinados y atributos en boca descritos en capítulo 2 y capítulo 3, respectivamente, con la astringencia evaluada en cada categoría de precio. Los atributos que mostraron correlaciones significativas (Tabla 4.6) fueron posteriormente utilizadas para la construcción de modelos matemáticos predictivos de la astringencia.

4.3.2.4.1 Vinos de gama alta

Con el objetivo de estudiar en qué medida la composición química no volátil analizada y los atributos sensoriales están implicados en la astringencia percibida en el conjunto de 24 vinos tintos de gama alta, se consideraron las variables químicas y sensoriales activas capaces de inducir diferencias sensoriales entre los vinos estudiados.

En la familia de los ácidos y derivados, los ácidos *cis*/*trans*-aconítico alcanzaron concentraciones superiores al umbral sensorial en todas las muestras (Tabla 4.5). Hufnagel y Hofmann, (2008b) han descrito ambos compuestos como astringentes además de ácidos, de hecho el umbral sensorial para la astringencia (0.1 mg L^{-1}) es muy bajo con respecto al de la acidez (87 mg L^{-1}), lo que sugiere que estos dos ácidos podrían tener una implicación importante en la astringencia.

Tabla 4.5. Compuestos implicados en la astringencia de los vinos pertenecientes a las tres categorías de precio, relación (máx/mín) y umbral sensorial (expresado en mg L^{-1}) y correlación de Pearson (*r*).

Compuesto	Gama alta			Gama media			Gama baja			Umbral
	Máx/Mín	DoT	*r*	Máx/Mín	DoT	*r*	Máx/Mín	DoT	*r*	
Ácidos y derivados										
Ácido *cis*-aconítico	2.01	47.0		3.38	47.3		4.13	43.4		0.1[1]
Ácido *trans*-aconítico	2.00	66.7	**0.45****	1.95	53.5		12.18	185.2		0.1[1]
Ácido gálico	3.74	1.50		2.39	1.36		6.24	0.66	**0.35****	45[2]
Ácido protocatéquico	3.09	0.32		4.72	0.44		0.15	0.07		32[1]
Ácido vainíllico	8.79	0.40		3.03	0.34		4.50	0.05		53[1]
Ácido siríngico	2.52	0.34		4.78	0.95		3.14	0.08		52[1]
Ácido *trans*-caftárico	20.01	10.24	**0.34***	6.20	12.16	**0.30***	6.41	19.30		5[1]
Ácido cutárico	10.25	2.04	**0.48****	3.91	2.31	**0.39****	6.90	10.83		25[3]
Ácido cafeico	7.45	2.17		2.60	1.31		8.74	2.31		13[1]
Ácido ferúlico	1.95	0.22		2.63	0.55		4.48	0.41		13[1]
Ácido *p*-cumárico	6.92	1.00		2.08	0.15		7.60	0.09		23[1]
Éster etílico de ácido protocatéquico	65.25	0.58		5.21	3.59		4.37	0.04		9[1]
Flavanoles										
Procianidina B1	2.84	0.12		1.99	0.10		25.75	0.20	**0.54*****	139[1]
(-)-Epigalocatequina	1.62	0.04		1.84	0.07		12.55	0.10	**0.35***	169[4]
(+)-Catequina	2.53	1.06		1.81	0.19		24.01	0.55	**0.51***	119[1]
Procianidina B2	1.64	0.17	**0.60*****	1.78	0.14		31.58	0.58	**0.40****	110[1]
(-)-Epicatequina	2.04	0.05		3.02	0.14		15.46	0.15	**0.39****	270[1]
(+)-Catequina-3-galato	1.94	0.17		1.50	0.15		-	0.003		110[4]
(-)-Epicatequina-3-galato	1.75	0.15		1.84	0.13		1.41	0.004		87[4]
PAs poliméricas	13.10	17.27	**0.50****	13.59	25.04		4.77	16.68	**0.75*****	22[1]
PPAs			**0.54****			**0.57*****			**0.74*****	
PAs polisacáridas complejas									**0.35****	
Flavonoles										
Miricetina-3-glucósido	1.41	0.85		21.89	6.35		4.90	6.80		1.0[1]
Quercetina-3-O-galactósido	4.75	23.75		7.58	32.6		135.30	20.30		0.2[1]
Quercetina-3-O-glucurónido	27.14	15.20	**0.49***	16.43	17.91		114.75	9.18		1.0[1]
Quercetina-3-O-glucósido	5.49	33.5		191.14	133.8		10.91	13.1		0.1[4]
Kaempferol-3-O-glucósido	8.89	16.60		2.45	50.6		1.00	0.3		0.3[4]
Isoharmnetina-3-O-glucósido	7.88	1.29		69.60	6.32		8.10	0.73		1.1[4]

Tabla 4.5. Continúa.

Compuesto	Gama alta			Gama media			Gama baja			Umbral
	MáxMín	DoT	*r*	MáxMín	DoT	*r*	MáxMín	DoT	*r*	
Miricetina	1.94	4.41		1.92	4.31		132.14	2.98	0.43**	10^5
Quercetina	3.37	0.73	0.44**	203.75	1.63	0.31*	27.30	1.99		10^5
Kaempferol	1.25	0.32	0.45**	451	2.02		2.93	0.02		20^5
Antocianos										
Cianidina-3-*O*-glucósido	1.19		0.53**	3.92			15.57		0.35**	
Petunidina-3-*O*-glucósido	3.64		0.38*	14.08			30.73		0.31*	
Peonidina-3-*O*-glucósido	3.90			9.50			35.71		0.32*	
Delfinidina-3-*O*-glucósido							43.16		0.35**	
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido			0.53**							
Malvidina-3-*O*-glucósido piruvato			0.37*							
Petunidina-3-*O*-glucósido piruvato			0.46**							
Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	1.00			1.84			9.57		0.29*	
Petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	1.57			2.01			21.93		0.36**	
Peonidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido	1.54			1.62			4.60		0.29*	
Delfinidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	-			-			8.52		0.37**	
Cianidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido	-			-			3.43		0.31*	
Delfinidina-3-*O*-glucósido-acetaldehido	-			-			5.07		0.32*	
Malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol	2.82			2.25		0.39**	1.28			
Otros parámetros										
Azúcares reductores (g L^{-1})			0.55**							
Contenido en alcohol (%v/v)			0.72****			0.61***				
IPT (abs)						0.60****			0.60****	
MP (abs)									0.45**	
LPP (abs)									0.62****	

**** P < 0.001, *** P < 0.005, ** P < 0.05, * P< 0.10. [a] si mín > umbral sensorial se calcula el PD = máx/mín, PD > 2 subrayado. [b] DoTmáx se calcula como el coeficiente de la concentración y el umbral sensorial, DoTmáx > 1 marcados en **fucsia**. + Umbral sensorial no disponible. máx/mín > 2 marcados en **verde**. [1](Hufnagel y Hofmann, 2008b).[2](Glabasnia y Hofmann, 2006). [3](Okamura y Watanabe, 1981). [4](Scharbert *et al.*, 2004). [5](Dadic y Belleau, 1973).

Tabla 4.6. Valores medios, máximos y mínimos de los atributos sensoriales de los vinos pertenecientes a tres categorías de precio y correlación de Pearson (*r*) con la astringencia percibida.

	Variables	Mín	Media	Máx	*r*
Gama alta	Vegetal[a]	1.50	4.81	9.50	-0.68***
	Madera[a]	3.50	7.25	11.00	0.43**
	Acidez	3.41	3.98	4.58	0.55***
	Intensidad global	4.62	5.56	6.31	0.91***
	Persistencia	4.42	5.29	5.72	0.89***
Gama media	Alcohol[a]	1.00	5.50	12.00	0.35**
	Intensidad global	4.50	5.46	6.31	0.77***
	Persistencia	4.39	5.30	6.00	0.66***
Gama baja	Especias[a]	5.00	13.97	22.00	0.39**
	Amargor	4.00	4.60	5.54	0.65***
	Intensidad global	4.70	5.25	5.73	0.62***
	Persistencia	4.38	5.41	6.19	0.77***

*** $P < 0.001$, ** $P < 0.05$, [a] Expresado en % de frecuencia de citación (FC).

Respecto a los ácidos gálico, *trans*-caftárico, cutárico, cafeico y *p*-cumárico; estos presentaron concentraciones por encima del umbral sensorial en al menos una muestra ($DoT_{máx} > 1$) revelando que estos compuestos podrían tener un impacto sensorial en la astringencia de los vinos. Estudios realizados por Hufnagel y Hofmann, (2008a) describieron que vinos con concentraciones superiores al umbral sensorial de los ácidos gálico, *trans*-caftárico, cafeico y *p*-cumárico poseen propiedades astringentes constringentes. En cuanto a los ácidos protocatéquico, vainíllico, siríngico, ferúlico, y el éster etílico del ácido protocatéquico; estos no alcanzaron en ningún caso el umbral sensorial en los vinos estudiados. De los compuestos de esta familia, solamente los ácidos *trans*-aconítico y *trans*-caftárico mostraron correlaciones significativas con la astringencia percibida y una relación entre la concentración máx/mín > 2, lo cual indica que tienen capacidad suficiente para inducir modificaciones sensoriales efectivas en el conjunto de muestras estudiadas.

Entre los flavanoles analizados, solamente la (+)-catequina mostró concentraciones por encima del umbral sensorial en al menos una muestra ($DoT_{máx} > 1$).

En el caso de las proantocianidinas, son las PAs poliméricas las que parecen tener una importante implicación sensorial, todas las muestras presentaron concentraciones por encima del umbral sensorial y una relación máx/mín = 13.10, así como una correlación significativa ($P < 0.05$). Entre las PAs de menor tamaño molecular analizadas solamente la procianidina B2 mostró una correlación significativa con la astringencia ($r = 0.60$, $P < 0.05$).

En lo que respecta a los flavonoles, la quercetina-3-*O*-galactósido, la quercetina-3-*O*-glucósido y el kaempferol-3-O-glucósido alcanzaron concentraciones mayores al umbral sensorial en todas las muestras. En cuanto a la isoharmnetina-3-*O*-glucósido y la miricetina, estos mostraron concentraciones por encima al umbral sensorial en al menos un vino ($DoT_{máx} > 1$). Entre los compuestos de esta familia, la quercetina, el kaempferol y la quercetina-3-*O*-glucósido presentaron correlaciones positivas con la astringencia evaluada. La quercetina y la quercetina-3-*O*-glucósido alcanzaron una relación máx/mín > 2 mientras el kaempferol presentó una relación máx/mín = 1.25.

Adicionalmente, otros compuestos con posible implicación sensorial en la astringencia son los antocianos ya que parecen aumentar la solubilidad de las taninos o PAs en el vino (Singleton y Trousdale, 1992). Por otro lado, Oberholster *et al.*, (2009) describieron que la presencia de antocianos durante la fermentación incrementa la astringencia, de hecho muestran que la adición de antocianos contribuye al incremento de una sensación de sequedad percibida en boca durante el consumo de vino.

En este conjunto de vinos, la cianidina-3-*O*-glucósido, la petunidina-3-*O*-glucósido, la malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido y la petunidina-3-*O*-glucósido piruvato presentaron una correlación positiva ($P < 0.05$) con la astringencia evaluada, mientras la cianidina-3-*O*-glucósido y la malvidina-3-*O*-glucósido piruvato mostraron una tendencia ($P < 0.10$). La relación de concentración máx/mín > 2, lo presentaron la petunidina-3-*O*-glucósido y la malvidina-3-*O*-glucósido piruvato. No se ha podido calcular el DoT de estos compuestos ya que se desconocen sus umbrales sensoriales.

En general, estos datos relevan que los compuestos fenólicos sensorialmente activos correlacionados con la astringencia en este conjunto de vinos fueron los ácidos *trans*-aconítico, *trans*-caftárico y cutárico, la quercetina-3-*O*-glucurónido, las PAs poliméricas, las PPAs, la petunidina-3-*O*-glucósido y la malvidina-3-*O*-glucósido piruvato. Además de estos compuestos, variables tales como los azúcares reductores y el contenido en alcohol mostraron una correlación positiva ($P < 0.05$) con la astringencia evaluada.

La regresión mediante PLS aplicada al estudio de la predicción de la astringencia a partir de la composición química con actividad sensorial siguiendo el criterio de Martens, reveló un modelo significativo con una varianza total explicada por la primera componente principal del 74% (72% validación cruzada) y un error cuadrático medio (RMSE) de 0.34. El modelo matemático calculado es:

ASTRINGENCIA = - 0.472 + 0.142 Ácido *trans*-aconítico + 0.025 Ácido cutárico + 0.195 Azúcares reductores + 0013 PAs poliméricas + 0.395 PPAs + 0.036 Quercetina-3-*O*-glucurónido + 0.241 Contenido en alcohol

En el modelo construido a partir de la composición química se incluyeron seis variables con una contribución positiva a la astringencia, siendo las PPAs la variable que presentó un mayor peso en el modelo seguido por el contenido en alcohol.

La correlación positiva entre los azúcares reductores y la astringencia podría ser una consecuencia indirecta. Bauer y Petronius (2000) describieron que durante la fermentación alcohólica cuando los niveles de nitrógeno son consumidos y la concentración de etanol es elevada, la mayor parte de las cepas de levaduras tiene dificultad para fermentar los azúcares restantes; en especial la fructosa, esto podría generar que vinos con un mayor contenido en alcohol posean mayor contenido en azúcares reductores, y podría explicar la correlación existente entre el contenido de azúcares reductores y la astringencia percibida.

En cuanto a la correlación positiva entre el contenido en alcohol y la astringencia percibida, se ha descrito que un aumento del contenido en alcohol tiende a intensificar la astringencia (Solwasky y Noble, 1998, Jones *et al.*, 2008, Obreque-Slier

et al., 2010). En fracciones de vino evaluadas sensorialmente se encontraron una correlación positiva entre el ácido cutárico y la astringencia (Gonzalo-Diago *et al.*, 2014).

Identificados los compuestos químicos implicados en la astringencia del conjunto de vinos de gama alta, se construyó un modelo predictivo mediante PLS con validación cruzada a partir de los atributos sensoriales evaluados por el panel entrenado (Tabla 4.6). Cinco variables sensoriales entre los que destacan tres atributos en boca; "acidez", "intensidad global" y "persistencia", así como dos términos aromáticos combinados; "vegetal" y "madera" fueron empleados como variables predictivas.

En la regresión, la primera componente explicó el 64% de la varianza total (57% de la varianza cruzada) con un RMSE de 0.41. El modelo matemático calculado fue el siguiente:

$$\text{ASTRINGENCIA} = 1.548 + 0.867\ \text{Acidez} - 0.119\ \text{Vegetal} + 0.110\ \text{Madera}$$

En el modelo construido a partir de los atributos sensoriales se incluyeron tres variables significativas, los atributos "acidez" y "madera" con una contribución positiva en el modelo mientras que el atributo "vegetal" presentó una contribución negativa . La "acidez" fue la variable que presentó un mayor peso en el modelo.

Es importante destacar que el término combinado "vegetal" estuvo conformado por los términos individuales "verduras", "pimiento", "esparrago" y "alubia verde" mientras el término "madera" estuvo formado por "madera" y "madera nueva" tal y como se describe en la Tabla 2.2 del capítulo 2.

Por último, se construyó un modelo predictivo mediante PLS a partir de los compuestos químicos y atributos sensoriales. Como primera aproximación, diez variables químicas y cinco atributos sensoriales fueron introducidos como variables predictivas. Tal y como puede observarse en la Figura 4.2 la primera componente explicó el 82% de la varianza total (80% de la varianza cruzada) con un RMSE de 0.28. El modelo obtenido fue:

ASTRINGENCIA = - 0.598 + 0.045 Madera + 0.009 PAs poliméricas - 0.049 Vegetal + 0.299 PPAs + 0.107 Ácido *trans*-aconítico + 0.356 Acidez + 0.019 Ácido cutárico + 0.147 Azúcares reductores + 0.182 Contenido en alcohol + 0.0271 Quercetina-3-*O*-glucurónido

El modelo reveló diez variables significativas, de las cuales todas contribuyeron positivamente a la astringencia evaluada a excepción del término "vegetal" que contribuyó negativamente. El atributo en boca "acidez" fue la variable que presentó mayor peso en el modelo, seguido de las PPAs.

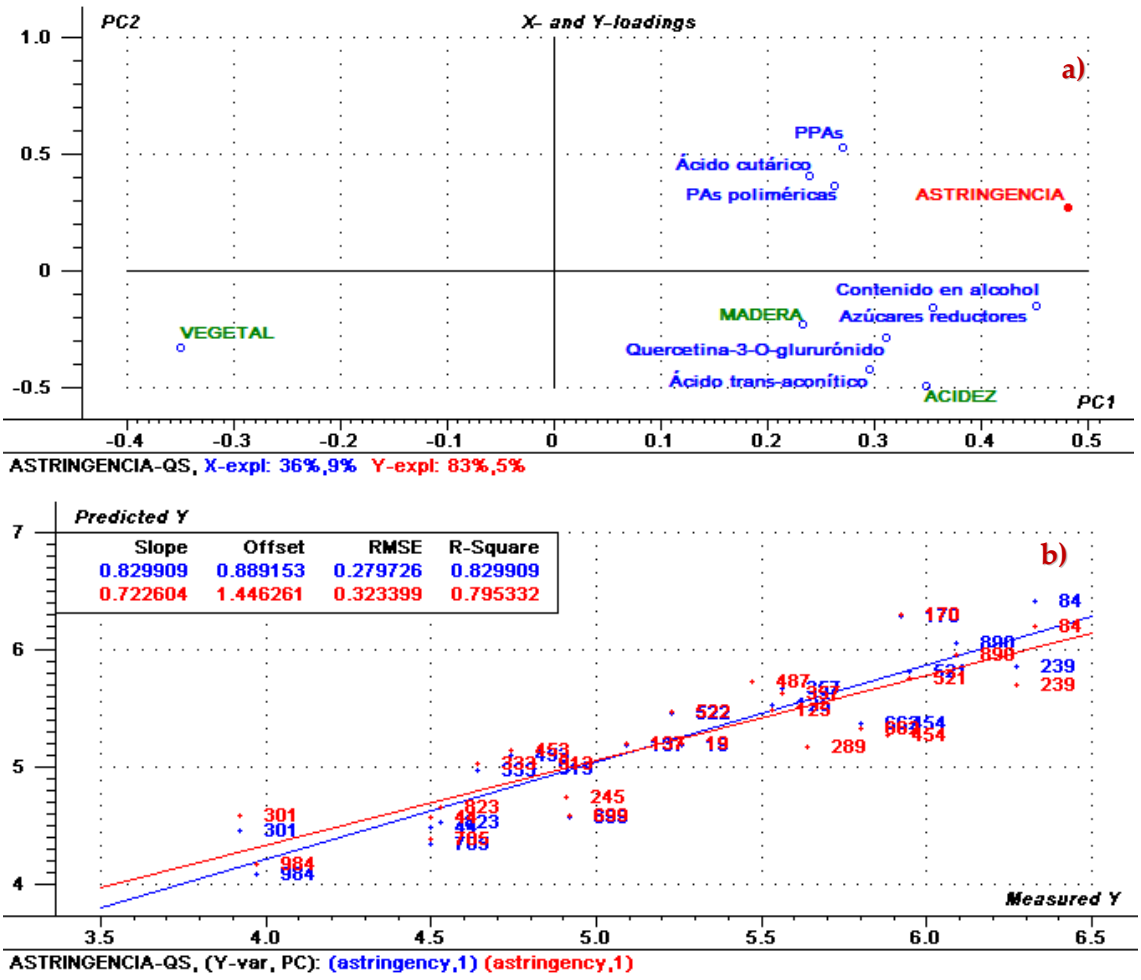


Figura 4.2. Modelo de regresión PLS de la astringencia obtenido empleando compuestos químicos y sensoriales en el conjunto de **vinos de gama alta** **a)** representación de las variables X e Y, **b)** gráfico de las puntuaciones de astringencia predicha por el modelo calculado mediante PLSR.

4.3.2.4.2 Vinos de gama media

En primera instancia, se estudió la implicación de los compuestos químicos en la astringencia descrita en los 34 vinos tintos de gama media. En cuanto a la familia de los ácidos y derivados, los ácidos *cis*/*trans*-aconítico y cutárico alcanzaron concentraciones superiores al umbral sensorial en todas las muestras. Los ácidos gálico, *trans*-caftárico, cafeico, y el éster etílico del ácido protocatéquico presentaron concentraciones sensoriales por encima del umbral sensorial en al menos una muestra ($DoT_{máx}$ > 1), este hecho revela que estos compuestos podrían tener un impacto sensorial en los vinos. Por otro lado, los ácidos protocatéquico, vainíllico, siríngico, ferúlico y *p*-cumárico no alcanzaron en ningún caso el umbral sensorial. Entre los compuestos de este grupo, los ácidos cutárico y *trans*-caftárico mostraron una correlación positiva con la astringencia percibida y presentaron una relación entre la concentración máx/mín > 2, lo cual indica que estos compuestos pueden tener capacidad para inducir modificaciones sensoriales efectivas entre el conjunto de muestras estudiadas.

En cuanto a las proantocianidinas, solamente las PPAs presentaron una correlación significativa con la astringencia.

En relación con los flavonoles, la quercetina-3-*O*-galactósido, la quercetina-3-*O*-glucurónido y el kaempferol-3-*O*-glucósido alcanzaron concentraciones por encima del umbral sensorial en todas las muestras mientras la miricetina-3-*O*-glucósido, la quercetina-3-*O*-glucósido, la isoharmnetina-3-*O*-glucósido, la quercetina y el kaempferol mostraron concentraciones por encima al umbral sensorial en al menos un vino ($DoT_{máx}$ > 1). Entre los compuestos de esta familia, solamente la quercetina presentó una correlación significativa (P < 0.10) con la astringencia evaluada y una relación máx/mín = 203.75.

Del grupo de antocianos analizados, sólo la malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol presentó una correlación positiva (P < 0.05) con la astringencia evaluada y alcanzó una relación máx/mín = 2.80.

En esta gama de vinos, los compuestos sensorialmente activos correlacionados con la astringencia que presentan una relación en base al cociente máx/mín > 2 se

encontraron los ácidos *trans*-caftárico y cutárico, la quercetina, las PPAs y la malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol.

Otros parámetros como el contenido en alcohol y la relación *trans*/*cis*-aconítico mostraron una correlación positiva con la astringencia.

La regresión mediante PLS aplicada al estudio de la predicción de la astringencia a partir de la composición química siguiendo el criterio de Martens, reveló un modelo significativo con una varianza total explicada por la primera componente principal del 68% (56% validación cruzada) y un error cuadrático medio (RMSE) de 0.37. El modelo matemático calculado es:

ASTRINGENCIA = - 3.675 + 0.322 Contenido en alcohol + 0.449 PPAs +
0.167 Relación *trans*/*cis*-aconítico - 0.016 Ácido *trans*-caftárico
+ 0.258 malvidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido-4-vinilfenol
+ 0.173 Ácido cutárico

En el modelo construido a partir de la composición química se incluyeron seis variables de las cuales todas contribuyen positivamente a la astringencia percibida a excepción del ácido *trans*-caftárico que contribuye negativamente. Las PPAs fue la variable que presentó un mayor peso en el modelo seguido por el contenido en alcohol.

En un estudio realizado por Hufnagel y Hofmann, (2008a) han descrito el ácido *trans*-caftárico con astringencia "constringente" en vino tinto. Sáenz-Navajas *et al.*, (2014) observaron que en vinos tintos de diferentes periodos de envejecimiento en botella y barrica existía una tendencia exponencial entre las PPAs y la astringencia percibida, este estudio también observó una tendencia lineal positiva entre la astringencia y el contenido de polifenoles totales.

Las correlaciones observadas entre la astringencia con el ácido cutárico y la quercetina en los vinos estudiados son concordantes con estudios realizados por Gonzalo-Diago *et al.*, (2014).

Identificados los compuestos químicos implicados en la astringencia en los vinos de gama media, se construyó un modelo predictivo PLS con validación cruzada

a partir de los atributos sensoriales (Tabla 4.6). Tres variables sensoriales; "alcohol", "intensidad global" y "persistencia" fueron empleadas como variables predictivas. En la regresión, la segunda componente explicó el 58% de la varianza total (50% de la varianza cruzada) con un RMSE de 0.43. El modelo matemático calculado fue el siguiente:

ASTRINGENCIA = - 2.3830 + 0.735 Persistencia + 0.045 Alcohol
+ 0.533 Intensidad global

De acuerdo con el modelo construido a partir de los atributos sensoriales, los tres atributos retenidos tienen una contribución positiva con la astringencia. Siendo la "persistencia", la variable que presento un mayor peso en el modelo seguida de la "intensidad global".

Por último, se construyó un modelo predictivo mediante PLS a partir de siete compuestos químicos y tres atributos sensoriales fueron retenidas como variables predictivas. Tal y como puede observarse en la Figura 4.3, la segunda componente explicó el 74% de la varianza total (64% de la varianza cruzada) con un RMSE de 0.33. El modelo obtenido fue:

ASTRINGENCIA = -5.768 + 0196 Contenido en alcohol + 0.410 PPAs
+ 0.056 Relación *trans*/*cis*-aconítico + 0.035 Alcohol
- 0.039 Ácido *trans*-caftárico + 0.149 Ácido cutárico
+ 0.399 Intensidad global

El modelo reveló siete variables significativas, de las cuales todas las variables contribuyen positivamente a la astringencia percibida a excepción del ácido *trans*-caftárico que contribuye negativamente. Las PPAs fue la variable que más peso presentó en el modelo, seguido del atributo en boca "intensidad global".

4.3.2.4.3 Vinos de gama baja

En primera instancia, se estudió la implicación de los compuestos químicos en la astringencia. En cuanto a la familia de los ácidos y derivados, los ácidos *cis* y *trans*-aconítico y cutárico alcanzaron concentraciones superiores al umbral sensorial en todas las muestras. Los ácidos *trans*-caftárico y cafeico presentaron concentraciones

por encima del umbral sensorial en al menos una muestra ($DoT_{máx}$ > 1). Los ácidos gálico, protocatéquico, vainíllico, siríngico, ferúlico, *p*-cumárico, y el éster etílico del ácido protocatéquico no alcanzaron en ningún caso el umbral sensorial. Entre los compuestos de este grupo, solamente el ácido gálico mostró una correlación positiva ($P < 0.05$) con la astringencia percibida y presentó una relación máx/mín > 2.

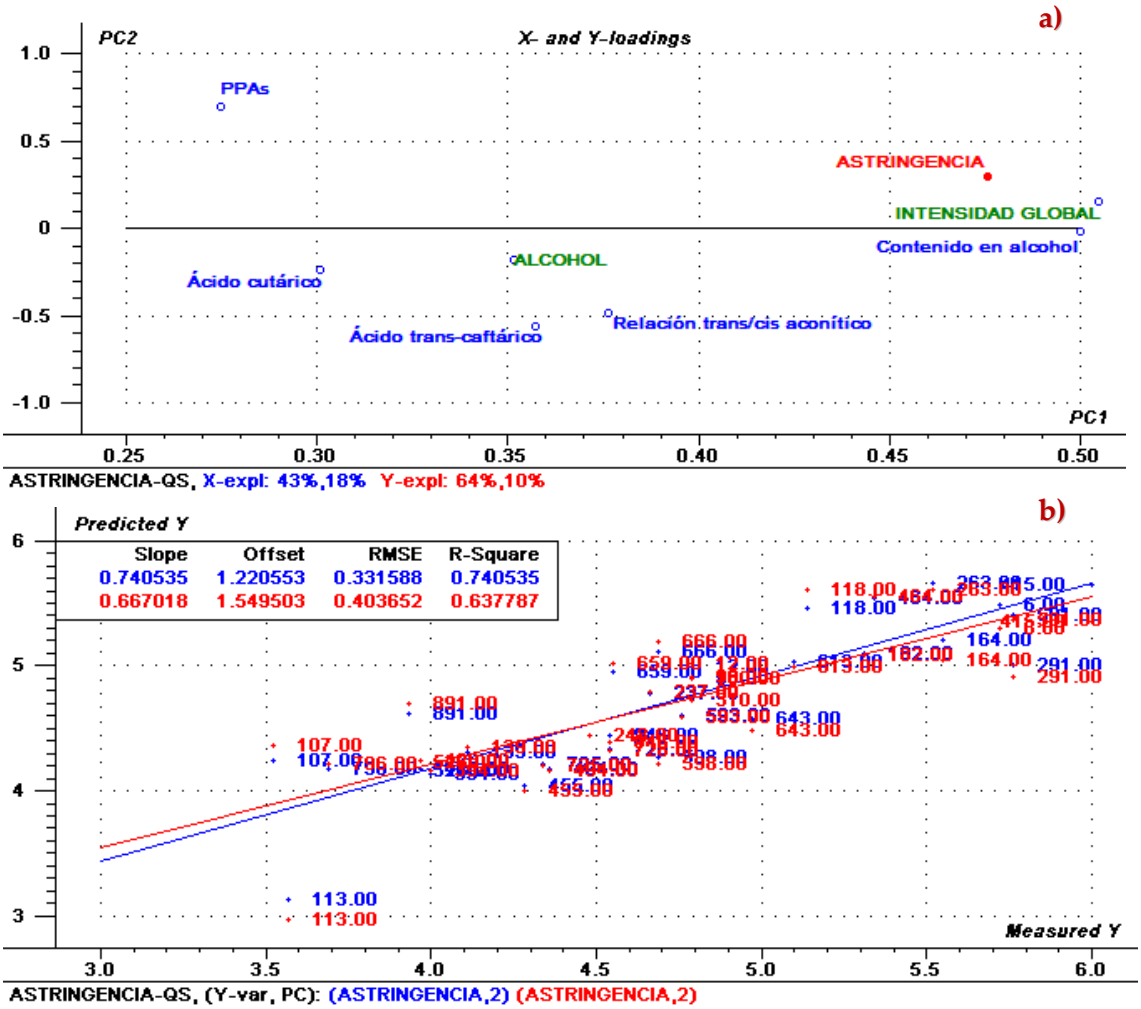


Figura 4.3. Modelo de regresión PLS de la astringencia obtenidos de los compuestos químicos y sensoriales en el conjunto de **vinos de gama media a)** representación de las variables X e Y, **b)** gráfico de las puntuaciones de astringencia predicha por el modelo calculado mediante PLSR.

Del grupo de los flavanoles, la (-)-epicatequina, la (-)-epigalocatequina y la (+)-catequina presentaron una correlación positiva con la astringencia y alcanzaron una relación de concentración máx/mín > 2, pero sus concentraciones estuvieron por debajo del umbral sensorial.

En el caso de las proantocianidinas, las PAs poliméricas presentaron una concentración por encima al umbral sensorial en todas las muestras. Respecto a la procianidina B1 y B2, estos compuestos presentaron una correlación positiva con la astringencia y alcanzaron una relación entre la concentración máx/mín > 2, pero sus concentraciones estuvieron por debajo del umbral sensorial.

En relación a los flavonoles, solamente la miricetina alcanzó concentraciones por encima al umbral sensorial en todas las muestras y se distinguió por ser el único compuesto con una correlación positiva ($P < 0.05$) con la astringencia, además de alcanzar una relación máx/mín = 132.14.

Entre los pigmentos antocianícos que mostraron una correlación positiva con la astringencia percibida y presentaron una relación máx/mín > 2 están la delfinidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-glucósido, cianidina-3-*O*-glucósido, petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido, delfinidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido, delfinidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido, delfinidina-3-*O*-glucósido-acetaldehído, peonidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido y cianidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido.

En esta gama de vinos, los compuestos sensorialmente activos correlacionados con la astringencia que presentan una relación máx/mín > 2 fueron la miricetina, las PAs poliméricas, las PPAs, la delfinidina-3-*O*-glucósido, la petunidina-3-*O*-glucósido, la cianidina-3-*O*-glucósido, la petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido, la delfinidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido, la delfinidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido, la delfinidina-3-*O*-glucósido-acetaldehído, la peonidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido y la cianidina-3-*O*-(6-*O*-acetil)-glucósido.

Otros parámetros que mostraron una correlación positiva con la astringencia percibida fueron el contenido en alcohol, el IPT, los pigmentos monoméricos (MP) y los pigmentos poliméricos de alto peso molecular (LPP). Es importante destacar que compuestos como el ácido gálico, la procianidina B1, la (-)-epigalocatequina, la procianidina B2 y la (+)-catequina presentaron una correlación positiva con la astringencia percibida y alcanzaron una relación máx/mín > 2, pero en ningún caso las concentraciones estuvieron por encima del umbral sensorial. Estos resultados son concordantes, con los estudios realizados en vinos por Sáenz-Navajas *et al.*, (2014),

donde observaron que la (+)-catequina y las procianidinas B1 y B2, compuestos con concentraciones por debajo del umbral sensorial estuvieron correlacionadas con la astringencia.

La regresión mediante PLS aplicada al estudio de la predicción de la astringencia a partir de la composición química siguiendo el criterio de Martens, reveló un modelo significativo con una varianza total explicada del 70% (68% validación cruzada) y un error cuadrático medio (RMSE) de 0.41. El modelo matemático calculado es:

ASTRINGENCIA = 1.316 + 0.0037 Ácido gálico + 0.013 Procianidina B1
+ 0.0004 Catequina - 0.0038 Procianidina B2
- 0.010 Epicatequina + 2.518 LPP + 0.144 PPAs
+ 0.005 PAs poliméricas

En el modelo construido a partir de la composición química se incluyeron ocho variables, las cuales todas contribuyen positivamente a la sensación de astringencia evaluada en los vinos a excepción de la procianidina B2 y (-)-epicatequina que contribuyen negativamente. Los LPP presentaron el mayor peso en el modelo seguidos de las PPAs.

Varios estudios indican que los pigmentos antociánicos han sido positivamente correlacionados con la astringencia percibida en vinos tintos (Brossaud *et al.*, 2001, Boselli *et al.*, 2004, Gawel *et al.*, 2007a, Landon *et al.*, 2008, Oberholster *et al.*, 2009). No obstante, no han sido descritos como astringentes en soluciones sintéticas (Vidal *et al.*, 2004b).

En fracciones de vinos, la (+)-catequina y las procianidinas B1 y B2 se mostraron correlacionadas positivamente con la astringencia secante (Gonzalo-Diago *et al.*, 2014). La correlación positiva entre la procianidina B1 y la astringencia se observó en estudios de vinos tintos pertenecientes a diferentes periodos de envejecimiento en botella y barrica (Sáenz-Navajas *et al.*, 2014).

Identificados los compuestos químicos implicados en la sensación en boca en el conjunto de vinos de gama baja, se construyó un modelo predictivo mediante un PLS

con validación cruzada completa a partir de los atributos sensoriales. Tres atributos en boca; "amargor", "intensidad global", "persistencia" y un término aromático combinado "especias" fueron retenidas como variables predictivas. En la regresión, la segunda componente explicó el 64% de la varianza total (62% de la varianza cruzada) con un RMSE de 0.44. El modelo matemático calculado fue el siguiente:

ASTRINGENCIA = - 6.371 + 0.583 Amargor + 0.619 Persistencia
+ 0.029 Especias + 0.857 Intensidad global

En este modelo de predicción, se observó una contribución positiva de los cuatro atributos sensoriales. La "intensidad global" fue la variable que presentó un mayor peso en el modelo seguido de la "persistencia". Es importante destacar que el término combinado "especias" estuvo formado por siete términos individuales tales como "especias", "regaliz", "vainilla", "mentol/fresco", "pimienta", "clavo" y "nuez moscada" como se describe en la Tabla 2.2 del capítulo 2.

Por último, se construyó un modelo predictivo mediante un PLS a partir de siete compuestos químicos y tres atributos sensoriales. Tal y como puede observarse en la Figura 4.4, la segunda componente explicó el 77% de la varianza total (71% de la varianza cruzada) con un RMSE de 0.35. El modelo obtenido fue:

ASTRINGENCIA = - 4.818 + 0.002 Ácido gálico + 0.529 Amargor
+ 0.0035 Procianidina B1 + 0.01 Especias - 0.0004 Catequina
- 0.0023 Procianidina B2 - 0.009 Epicatequina + 1.125 LPP
+ 0.094 PAs unidas a polisacáridos + 0.0027 PAs poliméricas
+ 0.482 Persistencia

El modelo reveló once variables significativas, de las cuales todas las variables contribuyen positivamente a la astringencia percibida a excepción de la (+)-catequina, la (-)-epicatequina y la procianidina B2 que contribuyeron negativamente. Los LPP presentaron mayor peso en el modelo seguido del "amargor".

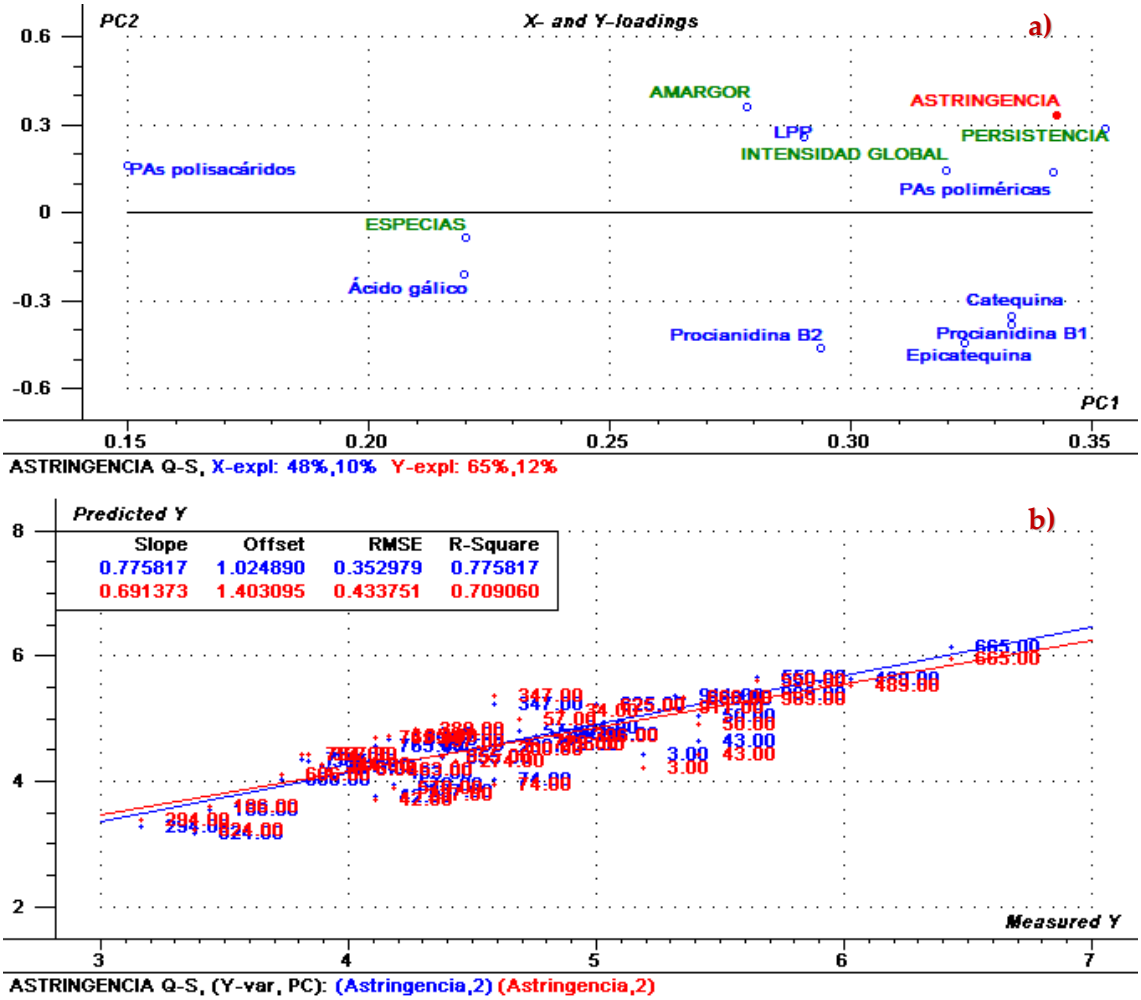


Figura 4.4. Modelo de regresión PLS de la astringencia obtenido de compuestos químicos y sensoriales en el conjunto de **vinos de gama baja a)** representación de las variables X e Y, **b)** gráfico de las puntuaciones de astringencia predicha por el modelo calculado mediante PLSR.

4.3.2.4.4 Comparación entre categorías de precio

Las variables químicas y sensoriales retenidas en los modelos matemáticos obtenidos para la predicción de la astringencia en los vinos pertenecientes a tres categorías de precio muestran diferencias, pero también destacables similitudes.

Como se deduce en los modelos y puede verse en la Tabla 4.7, los parámetros relacionados con las proantocianidinas; PPAs, PAs poliméricas y LPP están presentes en los tres modelos de predicción de la astringencia a partir de compuestos químicos y atributos sensoriales para cada una de las categorías de precio.

En todos los casos, el peso de las PAs en los modelos es alto lo que permite concluir que estos compuestos tienen un peso importante en la astringencia.

Desde el punto de vista de la composición no volátil distinta de las PAs, los modelos de los vinos de gama alta y gama media son más parecidos entre si, ya que en ambos son retenidos el ácido aconítico y el contenido en alcohol. Las diferencias más importantes entre ambos modelos apuntan a los atributos aromáticos, azúcares reductores y un flavanol retenidos en el modelo de gama alta. En el caso de los vinos de gama baja, los compuestos retenidos son claramente diferentes de los otros modelos.

Es importante resaltar, que los modelos matemáticos que incluyen los atributos sensoriales mejoran los criterios de calidad de los modelos construidos únicamente con los compuestos químicos o con los atributos sensoriales.

Tabla 4.7 Variables sensoriales y químicas que contribuyen a la predicción de la astringencia percibida en las tres categorías de precio.

	Gama Alta	Gama Media	Gama Baja
Compuestos químicos	Ácido *trans*-aconítico	Relación *trans*/*cis*-aconítico	Ácido galico
	Ácido cutárico	**Ácido cutárico**	Procianidina B1
	Azúcares reductores	Ácido *trans*-caftárico	(+)-Catequina
	PAs poliméricas		**PAs poliméricas**
	PPAs	**PPAs**	**PAs unidas a polisacáridos**
	Quercetina-3-*O*-glucurónido		Procianidina B2
	Contenido en alcohol	**Contenido en alcohol**	(-)-Epicatequina
			LPP
Atributos sensoriales	Vegetal	Alcohol	Especias
	Madera	Intensidad global	Persistencia
	Acidez		Amargor

Las variables en negrita y coloreadas han sido identificadas como comunes entre las categorías de precio.

4.4 CONCLUSIONES

La composición química no volátil permite diferenciar significativamente los vinos tintos de las tres categorías de precio estudiadas. Cuarenta y ocho variables químicas diferencian significativamente los tres grupos de vinos.

La acidez percibida tanto en los vinos de gama alta como en los vinos de gama media se encontraron correlacionados con la acidez total y el contenido en alcohol.

Los parámetros correlacionados positivamente y con capacidad de inducir modificaciones sensoriales en el sabor amargo son las procianidina B1 y B2, la (+)-catequina, la (-)-epicatequina, la quercetina-3-*O*-glucósido, las PAs poliméricas, las PPAs, el IPT, los LPP y MP. Entre los parámetros correlacionados negativamente solamente destaca el ácido *trans*-caftárico.

En los tres casos estudiados la capacidad predictiva de la astringencia a partir de los compuestos químicos es mayor que la obtenida a partir de los datos sensoriales. Sin embargo, la capacidad predictiva a partir de los datos sensoriales y químicos juntos mejora los modelos de predicción realizados independientemente.

REFERENCIAS

Aiken, J.W. and Noble, A.C. 1984. Composition and sensory properties of Cabernet Sauvignon wine aged in French versus American oak barrels. *Vitis* **23**, 27-36.

Alcalde-Eon, C., Escribano-Bailon, M.T., Santos-Buelga, C. and Rivas-Gonzalo, J.C. 2006. Changes in the detailed pigment composition of red wine during maturity and ageing. A comprehensive study. *Analytica Chimica Acta* **563**, 238-254.

Arnold, R.A., Noble, A.C. and Singleton, V.L. 1980. Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **28**, 675-678.

Arozarena, 1998. Análisis de regresión entre las variables sensoriales y las variables analíticas. In *El análisis sensorial como instrumento de la calidad de vinos tintos de Navarra y Aragon*. Tesis doctoral. Universidad Publica de Navarra. Pamplona, España. pp 287.

Bauer, F.F. and Petronius, I.S. 2000. Yeast stress response and fermentation efficiency: how to survive the making of wine. A review. *South African Journal of Enology and Viticulture* **21**, 27-51.

Blackman, J., Rutledge, D.N., Tesic, D., Saliba, A. and Scollary, G.R. 2010. Examination of the potential for using chemical analysis as a surrogate for sensory analysis. *Analytica Chimica Acta* **660**, 2-7.

Boselli, E., Boulton, R.B., Thorngate, J.H. and Frega, N.G. 2004. Chemical and sensory characterization of DOC red wines from Marche (Italy) related to vintage and grape cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3843-3854.

Boselli, E., Giomo, A., Minardi, M. and Frega, N.G. 2008. Characterization of phenolics in Lacrima di Morro d'Alba wine and role on its sensory attributes. *European Food Research and Technology* **227**, 709-720.

Brossaud, F., Cheynier, V., Asselin, C. and Moutounet, M. 1999. Flavonoid compositional differences of grapes among site test plantings of Cabernet Franc. *American Journal of Enology and Viticulture* **50**, 277-284.

Brossaud, F., Cheynier, V. and Noble, A.C. 2001. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **7**, 33-39.

Caceres-Mella, A., Pena-Neira, A., Aviles-Galvez, P., Medel-Maraboli, M., del Barrio-Galan, R., Lopez-Solis, R. and Miquel Canals, J. 2014. Phenolic composition and mouthfeel characteristics resulting from blending Chilean red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **94**, 666-676.

Castellari, M., Sartini, E., Fabiani, A., Arfelli, G. and Amati, A. 2002. Analysis of wine phenolics by high performance liquid chromatography using a monolithic type column. *Journal of Chromatography A* **973**, 221-227.

Casassa, F. and Catania, C. 2006. Piranoantocianos, nuevos pigmentos en los vinos tintos. *Revista enología* **3**, 1-23.

Cheynier, V., Fulcrand, H., Brossaud, F., Asselin, C. and Moutounet, M. 1997. Phenolic composition as related to red wine flavour. *Abstracts of Papers of the American Chemical Society* **213**, 129-AGFD.

Cliff, M.A., King, M.C. and Schlosser, J. 2007. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Research International* **40**, 92-100.

Chira, K., Pacella, N., Jourdes, M. and Teissedre, P. L. 2011. Chemical and sensory evaluation of Bordeaux wines (Cabernet Sauvignon and Merlot) and correlation with wine age. *Food Chemistry* **126**, 1971-1977.

Dadic, M. and Belleau, G. 1973. Polyphenols and beer flavor. *American Society of Brewing Chemists* **4**, 107-114.

Ebeler, S.E. 2001. Analytical chemistry: unlocking the secrets of wine flavor. *Food Reviews International* **17**, 45-64.

Escudero, A., Campo, E., Farina, L., Cacho, J. and 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**, 4501-4510.

FranciaAricha, E.M., Guerra, M.T., RivasGonzalo, J.C. and SantosBuelga, C. 1997. New anthocyanin pigments formed after condensation with flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 2262-2266.

Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P. L. and Glories, Y. 2008. Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference* **19**, 286-291.

Gambuti, A., Rinaldi, A., Ugliano, M. and Moio, L. 2013. Evolution of phenolic compounds and astringency during aging of red wine: effect of oxygen exposure before and after bottling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 1618-1627.

Gawel, R., Francis, L. and Waters, E.J. 2007. Statistical correlations between the in-mouth textural characteristics and the chemical composition of Shiraz wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **55**, 2683-2687.

Gawel, R., Iland, P.G. and Francis, I.L. 2001. Characterizing the astringency of red wine: a case study. *Food Quality and Preference* **12**, 83-94.

Gawel, R., Oberholster, A. and Francis, I.L. 2000. A 'mouthfeel wheel': Terminology for communicating the mouthfeel characteristics of red wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **6** 203-207.

Glabasnia, A. and Hofmann, T. 2006. Sensory directed identification of taste active ellagitannins in American (Quercus alba L.) and European oak wood (Quercus robur L.) and quantitative analysis in bourbon whiskey and oak matured red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 3380-3390.

Glories, Y. 1984. La couleur des vins rouges. 1ère partie. Measure, origineet interpretation. *Connaissance Vigne Vin* **18**, 253-271.

Goldberg, D.M., Karumanchiri, A., Tsang, E. and Soleas, G.J. 1998. Catechin and epicatechin concentrations of red wines: regional and cultivar related differences. *American Journal of Enology and Viticulture* **49**, 23-34.

Gonzalo-Diago, A. 2014. Influencia de los compuestos fenólicos de bajo y alto peso molecular en la percepción gustativa de los vinos. In *Estudio químico-sensorial de la composición no volátil de los vinos. Influencia de técnicas de aclareo en el perfil*

fenólico y organoléptico de los vinos. Tesis doctoral. Universidad de La Rioja, Servicio de Publicaciones. La Rioja, España.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2013. Taste and mouthfeel properties of red wines proanthocyanidins and their relation to the chemical composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 8861-8870.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2014. Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chemistry* **154**, 187-198.

Harbertson, J.F., Picciotto, E.A. and Adams, D.O. 2003. Measurement of polymeric pigments in grape berry extracts and wines using a protein precipitation assay combined with bisulfite bleaching. *American Journal of Enology and Viticulture* **54**, 301-306.

Hernandez, T., Estrella, I., Carlavilla, D., Martin-Alvarez, P.J. and Moreno-Arribas, M.V. 2006. Phenolic compounds in red wine subjected to industrial malolactic fermentation and ageing on lees. *Analytica Chimica Acta* **563**, 116-125.

Holt, H.E., Francis, I.L., Field, J., Herderich, M.J. and Iland, P.G. 2008. Relationships between wine phenolic composition and wine sensory properties for Cabernet Sauvignon (Vitis vinifera L). *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**, 162-176.

Hopfer, H., Buffon, P.A., Ebeler, S.E. and Heymann, H. 2013. The combined effects of storage temperature and packaging on the sensory, chemical, and physical properties of a Cabernet Sauvignon wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 3320-3334.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008a. Orosensory directed identification of astringent mouthfeel and bitter tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 1376-1386.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008b. Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 9190-9199.

Ibern-Gomez, M., Andres-Lacueva, C., Lamuela-Raventos, R.M. and Waterhouse, A.L. 2002. Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **53**, 218-221.

Jackson, R.S. 2000. Wine science: principles, practice, perception. Academic press. San Diego, California.

Jindra, J.A. and Gallander, J.F. 1987. Effect of american and French oak barrels on the phenolic composition and sensory quality of Seyval blanc wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 133-138.

Jones, P.R., Gawel, R., Francis, I.L. and Waters, E.J. 2008. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference* **19**, 596-607.

Keast, S. J. R. and Breslin, P. A. S. 2003. An overview of binary taste taste interactions. *Food Quality and Preference* **14**, 111-124.

Kim, U.K., Breslin, P.A.S., Reed, D. and Drayna, D. 2004. Genetics of human taste perception. *Journal of Dental Research* **83**, 448-453.

L'Eclairage, C.i.d. 2004. Colorimetry. Central Bureau od the Commission Internationale de L'Eclairage. Viena.

Laaksonen, O., Sandell, M. and Kallio, H. 2010. Chemical factors contributing to orosensory profiles of bilberry (Vaccinium myrtillus) fractions. *European Food Research and Technology* **231**, 271-285.

Landon, J.L., Weller, K., Harbertson, J.F. and Ross, C.F. 2008. Chemical and sensory evaluation of astringency in Washington State red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* **59**, 153-158.

Langlois, J., Ballester, J., Campo, E., Dacremont, C. and 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**, 15-22.

Lattey, K.A., Bramley, B.R. and 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**, 189-202.

Llaudy, M.C., Canals, R., Canals, J.M., Rozes, N., Arola, L. and Zamora, F. 2004. New method for evaluating astringency in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 742-746.

Maga, J.A. and Lorenz, K. 1973. Taste threshold values for phenolic acids which can influence flavor properties of certain flours, grains and oilseeds. *Cereal Science Today* **18**, 326-328.

Mattes, R.D. and DiMeglio, D. 2001. Ethanol perception and ingestion. *Physiology & Behavior* **72**, 217-229.

McRae, J.M., Dambergs, R.G., Kassara, S., Parker, M., Jeffery, D.W., Herderich, M.J. and Smith, P.A. 2012. Phenolic compositions of 50 and 30 year sequences of Australian red wines: the impact of wine age. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**, 10093-10102.

Morineau, A. 1984. Note sur la caractérisation statistique d'une classe par les valeurs test. *Bulletin Technique Centre Statistique Informatique Appliquées*. Saint-Mandé, France. pp 20-27.

Morineau, A., Summa, M., Tong, H. 1995. Marquage sémantique des classes et des axes. *28 èmes journées de l'ASU*. Paris. pp 468-472.

Oberholster, A., Francis, I.L., Iland, P.G. and Waters, E.J. 2009. Mouthfeel of white wines made with and without pomace contact and added anthocyanins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 59-69.

Obreque-Slier, E., Pena-Neira, A. and Lopez-Solis, R. 2010. Enhancement of both salivary protein enological tannin interactions and astringency perception by ethanol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 3729-3735.

OIV. 2005. Recueil des methods internationals d'analyse des vins et des mouts. Viena.

OIV. 2006. Resolución oeno 1/2006. "Determinación de las características cromáticas segun CIELAB". Paris, Francia.

Okamura, S. and Watanabe, M. 1981. Determination of phenolic cinnamates in white wine and their effect on wine quality. *Agricultural and Biological Chemistry* **45**, 2063-2070.

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. 1999. Bitterness and astringency of flavan-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**, 1123-1128.

Ough, C.S. and Amerine, M.A. 1988. Methods for analysis of musts and wines. John Wiley and Sons ed. New York.

Pereira, V., Camara, J.S., Cacho, J. and Marques, J.C. 2010. HPLC-DAD methodology for the quantification of organic acids, furans and polyphenols by direct injection of wine samples. *Journal of Separation Science* **33**, 1204-1215.

Pissarra, J., Lourenco, S., Gonzalez-Paramas, A.M., Mateus, N., Santos-Buelga, C. and De Freitas, V. 2004. Formation of new anthocyanin alkyl/aryl flavanol pigments in model solutions. *Analytica Chimica Acta* **513**, 215-221.

Pomar García, M., Diaz Rodríguez, F., González Mendoza, L.A., García Fernández, M.J. and Díaz Díaz, M.E. 2006. Crianza de vinos tintos en barrica de roble: evolución de parámetros tradicionales y su impacto sensorial. *Tecnología del vino: tratamientos y equipos para viticultura y enología* **29**, 67 - 70.

Preys, S., Mazerolles, G., Courcoux, P., Samson, A., Fischer, U., Hanafi, A., Bertrand, D. and Cheynier, V. 2006. Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Analytica Chimica Acta* **563**, 126-136.

Price, S.F., Breen, P.J., Valladao, M. and Watson, B.T. 1995. Cluster sun exposure and quercetin in Pinot Noir grapes and wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **46**, 187-194.

Remy, S., Fulcrand, H., Labarbe, B., Cheynier, V. and Moutounet, M. 2000. First confirmation in red wine of products resulting from direct anthocyanin tannin reactions. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **80**, 745-751.

Reynolds, A.G., Price, S.F., Wardle, D.A. and Watson, B.T. 1994. Fruit environment and crop level effects on Pinot Noir vine, fruit composition and wine sensory: vine performance and fruit composition in British Columbia. *American Journal of Enology and Viticulture* **45**, 452-459.

Ribéreau-Gayon, J. 1970. Les dosage des composes phenoliques totauxdans les vins rouges. *Analytica Chimica Acta* **52**, 627-631.

Ribéreau-Gayo, P. 1974. The chemistry of red wine. *Advances and Chemistry* **137**, 50-87.

Rivas, E.G.P., Alcalde-Eon, C., Santos-Buelga, C., Rivas-Gonzalo, J.C. and Escribano-Bailon, M.T. 2006. Behaviour and characterisation of the colour during red wine making and maturation. *Analytica Chimica Acta* **563**, 215-222.

Rivas gonzalo, J.C., Bravoharo, S. and Santosbuelga, C. 1995. Detection of compounds formed through the reaction of malvidin 3-monoglucoside and catechin in the presence of acetaldehyde. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**, 1444-1449.

Robichaud, J.L. and Noble, A.C. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolics in wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **53**, 343-353.

Rodriguez-Delgado, M.A., Gonzalez-Hernandez, G., Conde-Gonzalez, J.E. and Perez-Trujillo, J.P. 2002. Principal component analysis of the polyphenol content in young red wines. *Food Chemistry* **78**, 523-532.

Sáenz-Navajas, M.P., Echavarri, F., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2011a. Pigment composition and color parameters of commercial Spanish red wine samples: linkage to quality perception. *European Food Research and Technology* **232**, 877-887.

Sáenz-Navajas, M.P., Ferreira, V., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2010a. Characterization of taste active fractions in red wine combining HPLC fractionation, sensory analysis and ultra performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry detection. *Analytica Chimica Acta* **673**, 151-159.

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

Sáenz-Navajas, M.P., Tao, Y.S., Dizy, M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2010b. Relationship between nonvolatile composition and sensory properties of premium Spanish red wines and their correlation to quality perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 12407-12416.

Sáenz-Navajas, M.-P., Avizcuri, J.M., Fernández-Zurbano, P., Ferreira, V. and Valentin, D. 2014. Quality mapping: an exploratory approach for evaluating the chemicals driving in-mouth quality in red wines. Nova Science Publishers, France.

Salas, E., Atanasova, V., Poncet-Legrand, C., Meudec, E., Mazauric, J.P. and Cheynier, V. 2004. Demonstration of the occurrence of flavanol anthocyanin adducts in wine and in model solutions. *Analytica Chimica Acta* **513**, 325-332.

San Juan, F., Cacho, J., Ferreira, V. and 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**, 5045-5056.

Scharbert, S. and Hofmann, T. 2005. Molecular definition of black tea taste by means of quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 5377-5384.

Scharbert, S., Holzmann, N. and Hofmann, T. 2004. Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3498-3508.

Scinska, A., Koros, E., Habrat, B., Kukwa, A., Kostowski, W. and Bienkowski, P. 2000. Bitter and sweet components of ethanol taste in humans. *Drug and Alcohol Dependence* **60**, 199-206.

Smith, A.K., June, H. and Noble, A.C. 1996. Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. *Food Quality and Preference* **7**, 161-166.

Smith, A.K. and Noble, A.C. 1998. Effects of increased viscosity on the sourness and astringency of aluminum sulfate and citric acid. *Food Quality and Preference* **9**, 139-144.

Silva, A., Lambri, M. and De Faveri, M.D. 2003. Evaluation of the performances of synthetic and cork stoppers up to 24 months post bottling. *European Food Research and Technology* **216**, 529-534.

Sims, C.A. and Bates, R.P. 1994. Effects of skin fermentation time on the phenols, anthocyanins, ellagic acid sediment, and sensory characteristics of a red Vitis rotundifolia wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **45**, 56-62.

Sowalsky, R.A. and Noble, A.C. 1998. Comparison of the effects of concentration, pH and anion species on astringency and sourness of organic acids. *Chemical Senses* **23**, 343-349.

Somers, T. and Verette, E. 1988. Phenolic composition of natural wine types. In *Modern methods of plants analysis. Wine analysis*. Springerver, ed. Berlin, Alemania. pp 219-257.

Sun, B.S., Ricardo-da-Silva, J.M. and Spranger, I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 4267-4274.

Tepper, B.J., White, E.A., Koelliker, Y., Lanzara, C., d'Adamo, P. and Gasparini, P. 2009. Genetic variation in taste sensitivity to 6-n-Propylthiouracil and its relationship to taste perception and food selection. *International Symposium on Olfaction and Taste* **1170**, 126-139.

Thorngate, J.H. 1997. The physiology of human sensory response to wine: a review. *American Journal of Enology and Viticulture* **48**, 271-279.

Varela, P. and Gambaro, A. 2006. Sensory descriptive analysis of Uruguayan Tannat wine: correlation to quality assessment. *Journal of Sensory Studies* **21**, 203-217.

Vidal, S., Courcoux, P., Francis, L., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Williams, P., Waters, E. and Cheynier, V. 2004a. Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components on mouthfeel perception. *Food Quality and Preference* **15**, 209-217.

Vidal, S., Francis, L., Guyot, S., Marnet, N., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. and Waters, E.J. 2003. The mouthfeel properties of grape and apple proanthocyanidins in a wine like medium. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **83**, 564-573.

Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V. and Waters, E. 2004b. Taste and mouthfeel properties of different types of tannin like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica Acta* **513**, 57-65.

Warmke, R., Belitz, H.D. and Grosch, W. 1996. Evaluation of taste compounds of Swiss cheese (Emmentaler). *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* **203**, 230-235.

Wilker, K.L. and Gallander, J.F. 1988. Comparison of Seyval blanc wine aged in barrels and stainless steel tanks with oak chips. *American Journal of Enology and Viticulture* **39**, 38-43.

Wilson, C.W.M., Obrien, C. and Macairt, J.G. 1973. Effect of metronidazole on human taste threshold to alcohol. *British Journal of Addiction* **68**, 99-110.

Wirth, J., Morel-Salmi, C., Souquet, J.M., Dieval, J.B., Aagaard, O., Vidal, S., Fulcrand, H. and Cheynier, V. 2010. The impact of oxygen exposure before and after bottling on the polyphenolic composition of red wines. *Food Chemistry* **123**, 107-116.

Ye, M., Yue, T. and Yuan, Y. 2014. Evolution of polyphenols and organic acids during the fermentation of apple cider. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **94**, 2951-2957.

Yokotsuka, K., Nagao, A., Nakazawa, K. and Sato, M. 1999. Changes in anthocyanins in berry skins of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes grown in two soils modified with limestone or oyster shell versus a native soil over two years. *American Journal of Enology and Viticulture* **50**, 1-12.

Zamora, F. 2003. Elaboración y crianza del vino tinto. Aspectos científicos y prácticos. AMV ed. Madrid - España.

CAPÍTULO 5

ATRIBUTOS SENSORIALES Y COMPUESTOS QUÍMICOS CON CAPACIDAD PREDICTIVA EN EL AMARGOR DE VINOS TINTOS

5.1 INTRODUCCIÓN

El amargor es detectado por las papilas gustativas, cada papila del gusto contiene aproximadamente 50 - 100 células receptoras del gusto (TRC) inervadas por múltiples fibras que transmiten señales nerviosas al cerebro (Montmayeur y Matsunami, 2002). Sin embargo, la dificultad de detectar el sabor amargo por cuestiones genéticas afectan aproximadamente el 25% de la población (Kim y Drayna, 2005).

La percepción del amargor es lenta, pero creciente y puede llegar a mantenerse incluso durante algunos minutos en caso de tratarse de un vino excesivamente amargo (Etaio, 2007). En el vino, el sabor amargor se ha vinculado a los compuestos fenólicos de bajo peso molecular entre los que destacan las agliconas de los flavonoles como la miricetina, la quercetina y el kaempferol (Dadic y Belleau, 1973, Preys *et al.*, 2006), los flavanoles monoméricos (Peleg *et al.*, 1999, Brossaud *et al.*, 2001, Vidal *et al.*, 2004b, Cliff *et al.*, 2007) y los ésteres etílicos derivados de los ácidos fenólicos (Hufnagel y Hofmann, 2008a). Peleg *et al.*, (1999) demostraron que la (-)-epicatequina es más amarga que el esteroisómero (+)-catequina y que ambos son más amargos que una procianidina dímera y ésta a su vez más que una procianidina trímera. Estudios realizados en vinos blancos elaborados con y sin contacto de los hollejos y pepitas pero con la adición de antocianos mostraron que la valoración del amargor percibido estaba correlacionada con los compuestos fenólicos, primordialmente con las proantocianidinas y los fenoles poliméricos (Oberholster *et al.*, 2009). Investigaciones realizadas en infusiones de té observaron que la ausencia de flavanoles y flavonoles glicosilados disminuía el amargor percibido (Scharbert y Hofmann, 2005).

El amargor global percibido al probar un producto depende de sustancias que pueden enmascarar su percepción como los azúcares (González, 2002, Keast *et al.*, 2004) y el glicerol (Lesschaeve y Noble, 2005), generando un efecto supresor denominado interacción amargo - dulce. Otros autores, han demostrado que el etanol acentúa el amargor percibido a niveles típicos del vino tanto en soluciones sintéticas (Fontoin *et al.*, 2008, Jones *et al.*, 2008) como en muestras de vinos (Nurgel y Pickering,

2006, Demiglio y Pickering, 2008, Soares *et al.*, 2013). Otros estudios recogen información sobre las interacciones que algunos atributos aromáticos ejercen en la percepción del sabor amargo, así Caporale *et al.*, (2004) describieron que el *cis*-3-hexenol, compuesto con aroma a hierba recién cortada y sin sabor genera un incremento en el amargor. Sáenz-Navajas *et al.*, (2014) anotaron que los cambios que el amargor experimenta durante el almacenamiento de los vinos en botella esta correlacionada con los atributos aromáticos "herbal" y "especiado". Gonzalo-Diago *et al.*, (2014) evidenciaron correlaciones entre el sabor amargor con la persistencia y astringencia secante en fracciones de vino.

A pesar de las diversas investigaciones enfocadas en el sabor amargo de los vinos, ha sido dificultoso obtener modelos predictivos para este sabor (Boselli *et al.*, 2004, Preys *et al.*, 2006). Hasta el momento, solamente Gonzalo-Diago *et al.*, (2014) encontraron un modelo predictivo por medio de una regresión de mínimos cuadrados parciales (PLSR) que incluye como variables significativas el ácido cutárico, el éster etílico del ácido protocatéquico, la (+)-catequina, la quercetina-3-*O*-rutinósido, la procianidina B1, la procianidina B2 y pigmentos antociánicos como la petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-cumaril)-glucósido, la malvidina-3-*O*-glucósido piruvato y la petunidina-3-*O*-(6-*O*-*p*-acetil)-glucósido que coeluye con la malvidina-3-*O*-glucósido-8-etil-(epi)catequina. En el modelo desarrollado por Gonzalo-Diago y colaboradores explican el amargor de una fracción vínica amarga, pero no el amargor de los vinos. Este estudio fue realizado con seis vinos, quizás un número pequeño de muestras como para obtener correlaciones consistentes.

El presente documento tiene como objetivo profundizar en el conocimiento del amargor de los vinos y determinar la contribución que la composición química y las características sensoriales generan en dicho sabor.

5.2 MATERIAL Y MÉTODOS

5.2.1 Vinos

Se analizaron treinta y seis vinos tintos pertenecientes a la categoría gama baja con precios entre 1 - 5 € descritos en la Tabla 2.1 del capítulo 2.

5.2.2 Análisis sensorial descriptivo por un panel entrenado

El análisis sensorial descriptivo de los atributos aromáticos y en boca fue llevado a cabo por un panel entrenado como se describe en el apartado 2.2.3 del capítulo 2 y 3.2.3 del capítulo 3.

5.2.3 Análisis químicos

La composición química no volátil de este conjunto de vinos fue analizada con los métodos empleados en el apartado 4.2.4 del capítulo 4.

5.2.4 Análisis estadísticos

Regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR). Con la finalidad de evaluar la relación entre la composición no volátil y los atributos sensoriales (aromáticos y en boca) con el sabor amargor se utilizó la regresión por mínimos cuadrados parciales mediante el algoritmo PLS1. En primer lugar, se construyó una matriz con los vinos en filas y las variables en columnas, como variable X se consideraron los valores medios de los compuestos no volátiles, la frecuencia de citación (FC) de los descriptores de aroma ortonasal y las puntuaciones medias de los atributos en boca que mostraron una correlación con el amargor con un $P < 0.10$, como variable Y se consideraron las puntuaciones medias de amargor. Posteriormente, la matriz de datos para cada variable a explicar fue centrada y escalada con el fin de obtener datos normalizados. La estrategia seguida para construir los modelos fue realizar un primer modelo inicial con todas las variables X con las que se comprobó la existencia de valores atípicos; las muestras con una clara desviación del modelo fueron eliminadas y descartadas del proceso de calibración. Con el fin de reducir el número de variables *X* se aplicó un proceso interactivo, buscando el modelo más sencillo con la mejor capacidad predictiva (Sáenz-Navajas *et*

al., 2010d). En el modelo se utilizó la prueba de incertidumbre de Martens' para identificar y mantener sólo las variables significativas. Los parámetros estudiados para evaluar la bondad de la predicción de los modelos fueron la pendiente (m) estimada con la variable Y calculada y predicha, la raíz del error cuadrático medio de la predicción (RMSEP), así como el porcentaje de varianza explicada por el modelo (%EV).

A las regresiones PLS se les aplicó un criterio adicional de significación (criterio de Martens), de manera que se consideraron significativas las variables para las cuales los limites de incertidumbre resultantes de los coeficientes de regresión (desviación estándar 2 por debajo de las condiciones ideales) no pasan la línea de cero (Martens y Martens, 2000). El estudio de la modelización del amargor a partir de atributos sensoriales y de la composición química tiene como principal objetivo revelar las diferentes variables que podrían estar influyendo en la percepción de este atributo.

Los análisis fueron realizados con el programa Unscrambler 9.7 (CAMO, Trondheim, Noruega) y el programa SPSS versión 19.0 (SPSS Inc., Illinois, EEUU).

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.3.1 Comportamiento del panel entrenado

El comportamiento del panel entrenado en la evaluación de los atributos aromáticos de los vinos pertenecientes a la categoría gama baja se muestra en el apartado 2.3.1 del capítulo 2, se seleccionaron treinta y cuatro panelistas (14 hombres y 20 mujeres con edad media de 29 años), los cuales presentaron un índice de reproducibilidad (*Ri)* > 0.20.

El comportamiento del panel entrenado en la evaluación en boca de los vinos pertenecientes a la categoría gama baja se muestra en el apartado 3.3.1 del capítulo 3. El ANOVA a tres factores mostró que el panel entrenado fue consistente para evaluar el amargor.

5.3.2 Espacio sensorial y químico de los vinos

Atributos aromáticos. De acuerdo con los resultados obtenidos en el apartado 2.3.3 del capítulo 2, las decisiones consensuales del panel entrenado y la estadística combinatoria básica permitieron obtener ocho términos combinados "baya", "fruta pasa", "tostado", "madera", "especias", "alcohol", "vegetal" y "evolucionado/oxidado" con una distribución χ^2 significativa $P < 0.001$ en todos los casos.

Atributos en boca. De acuerdo con los resultados obtenidos en el apartado 3.3.3.3 del capítulo 3, el ANOVA a un factor con medidas repetidas (los panelistas considerados como repetición) muestra que el efecto vino fue significativo para todos los atributos evaluados por el panel entrenado con un $P < 0.001$, excepto para la acidez ($P = 0.114$).

Caracterización química. La descripción de los parámetros enológicos convencionales y la composición no volátil de los treinta y seis vinos tintos pertenecientes a la categoría gama baja se muestra en la Tabla 4.1 de apartado 4.3.1 del capítulo 4.

5.3.3 Relación entre las propiedades sensoriales y el amargor

El amargor evaluado en los 36 vinos tintos por el panel entrenado esta positivamente correlacionado con la "acidez", "astringencia", "persistencia", "fruta pasa", "animal" y "vegetal" con un $P < 0.05$, tal y como se muestra en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Valores medios, máximos y mínimos de los atributos sensoriales de las 36 muestras de vino y correlación de Pearson (*r*) con el amargor.

Variables	Mín	Media	Máx	*r*
Acidez	4.35	4.83	5.22	0.48**
Astringencia	3.16	4.57	6.43	0.65**
Persistencia	4.38	5.41	6.19	0.55**
Fruta pasa[a]	8.82	26.14	50.00	0.34**
Animal[a]	1.47	14.13	35.29	0.35**
Vegetal[a]	8.82	17.11	47.05	0.39**

** $P < 0.05$, [a]Expresado en % de frecuencia de citación (FC).

En cuanto a las interacciones que otras características sensoriales pueden ejercer sobre el amargor, existen diversas investigaciones que sugieren interacciones sensoriales importantes. Uno de estos trabajos indica que el aumento de la percepción de aroma afrutado conduce a una disminución del amargor y astringencia en los vinos (Sáenz-Navajas *et al.*, 2010b). De hecho, en la degustación de los vinos con y sin acceso a información aromática realizada por Sáenz-Navaja *et al.*, (2012b), los resultados sugieren que el aroma está ejerciendo un papel significativo sobre el aroma amargo. Gonzalo-Diago *et al.*, (2014) encontraron correlaciones entre el amargor con la persistencia y astringencia secante en fracciones de vino. Sáenz-Navajas *et al.*, (2014) anotaron que los cambios que el amargor experimenta durante el almacenamiento de los vinos en botella esta correlacionada con los atributos aromáticos “herbal” y “especiado".

5.3.4 Relación entre las características químicas y el amargor

Los compuestos involucrados en la percepción del amargor se han descrito en el apartado 4.3.2.3 del capítulo 4. Con el fin de facilitar la lectura de los resultados, la Tabla 5.2 recoge la información de los compuestos/parámetros a priori implicados sensorialmente en el amargor. Estos son el ácido *trans*-caftárico, procianidina B1 y B2, (+)-catequina, (-)-epicatequina, quercetina-3-*O*-glucurónido, miricetina, PAs

poliméricas, PPAs, PAs unidas a polisacáridos, índice de polifenoles totales (IPT), pigmentos poliméricos de alto peso molecular (LPP) y pigmentos monoméricos (MP).

Es importante destacar que es bajo el número de los compuestos químicos para los que existe descrito en la bibliografía el valor umbral para el sabor amargo (Delcour *et al.*, 1984, Rossi y Singleton, 1966, Maga y Lorenz, 1973, Dadic y Belleau, 1973, Scharbert *et al.*, 2004, Glabasnia y Hofmann, 2006, Hufnagel y Hofmann, 2008b). En esta investigación, se observó que de los compuestos que se conoce su umbral sensorial, la concentración encontrada en las muestras analizadas en los vinos de estudio son inferiores a dicho umbral sensorial. Si estos compuestos tienen capacidad predictiva, quizás una revisión o una nueva determinación de umbrales sensoriales sería de gran importancia para la determinación de compuestos implicados en el amargor de los vinos tintos.

Tabla 5.2. Compuestos implicados en el amargor sensorial de los 36 vinos tintos, relación (máx/mín), umbral sensorial (expresado en mg L^{-1}) y correlación de Pearson (*r*).

Compuestos	Máx/Mín[a]	DOT[b]	*r*	Umbral
Ácidos y derivados				
Ácido *trans*-caftárico[a]	**6.41**		**-0.28***	ǂ
Flavanoles				
Procianidina B1	**25.75**	0.05	**0.36****	231[1]
(+)-Catequina	**24.01**	0.08	**0.39****	290[1]
Procianidina B2	**31.58**	0.07	**0.32***	280[1]
(-)-Epicatequina	**15.46**	0.04	**0.36****	290[1]
Flavonoles				
Quercetina-3-*O*-glucurónido	**81.29**	9.18	**0.28***	ǂ
Miricetina	**46.43**	**2.98**	**0.31***	3.1[2]
Otros				
PAs poliméricas	**4.77**	16.68	**0.49*****	ǂ
PPAs	**8.81**		**0.48*****	ǂ
PAs unidas a polisacáridos	1.58		**0.45*****	ǂ
IPT	**2.31**		**0.36****	ǂ
LPP	**11.4**		**0.42****	ǂ
MP	**3.14**		**0.30***	ǂ

* $P < 0.10$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$. [a] si mín > umbral sensorial se calcula el poder de discriminación PD = máx/mín, PD > 2 **subrayado**. [b] DoTmáx se calcula como el coeficiente de la concentración y el umbral sensorial, DoTmáx > 1 marcados en **fucsia**. ǂ Umbral sensorial no disponible. máx/mín > 2 marcados en **verde**. [1](Hufnagel y Hofmann, 2008b). [2] (Dadic y Belleau, 1973).

5.3.5 Predicción del amargor a partir de la composición no volátil y atributos sensoriales mediante PLSR

La regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR) ha sido aplicada en la predicción de las propiedades sensoriales percibidas en vinos a partir de variables químicas en el vino (Boselli *et al.*, 2004, Koussissi *et al.*, 2008). Por esta razón y con el fin de construir un modelo predictivo para el amargor (variable Y) a partir de la composición no volátil y otros atributos sensoriales (variables X) se aplicó la PLSR mediante una validación completa cruzada.

Como primera aproximación y con el fin de seleccionar variables con actividad sensorial en el sabor amargo se tuvieron en cuenta los criterios descritos en el apartado 4.3.2 del capítulo 4. Tal y como puede observarse en la Tabla 5.2, los compuestos sensoactivos con mayor potencial discriminante en base al cociente máx/mín fueron la quercetina-3-*O*-glucurónido (máx/mín = 81.29), la miricetina (máx/mín = 46.43), la procianidina B1 (máx/mín = 25.75), la (+)-catequina (máx/mín = 24.01), la (-)-epicatequina (máx/mín = 15.46), el ácido *trans*-caftárico (máx/mín =6.41) y el ácido gálico (máx/mín = 6.24). Un segundo grupo estaría formado por las variables con una relación máx/mín entre 5 y 2 unidades en las que se encuentran las PAs poliméricas (máx/mín = 4.77). Además de estos compuestos, los IPT, los LPP, las PPAs, los MP, las PAs unidas a polisacáridos y los atributos sensoriales "fruta pasa", "animal", "vegetal", "acidez", "astringencia" y "persistencia" se mostraron correlacionados significativamente con el amargor. Es importante destacar que los términos combinados "fruta pasa", "animal" y "vegetal" están conformados por los términos individuales "ciruela", "higo seco", "cuero", "pipi de gato", "verdura", "oliva", "patata cocida" y "alubia verde" tal y como se describen en la Tabla 2.2 del capítulo 2.

5.3.5.1 Capacidad predictiva de los atributos sensoriales en el amargor

Con el objetivo de encontrar los atributos sensoriales que puedan tener capacidad predictiva en el amargor, se construyó un modelo predictivo mediante una regresión de mínimos cuadrados (PLS) con validación cruzada completa (Figura 5.1).

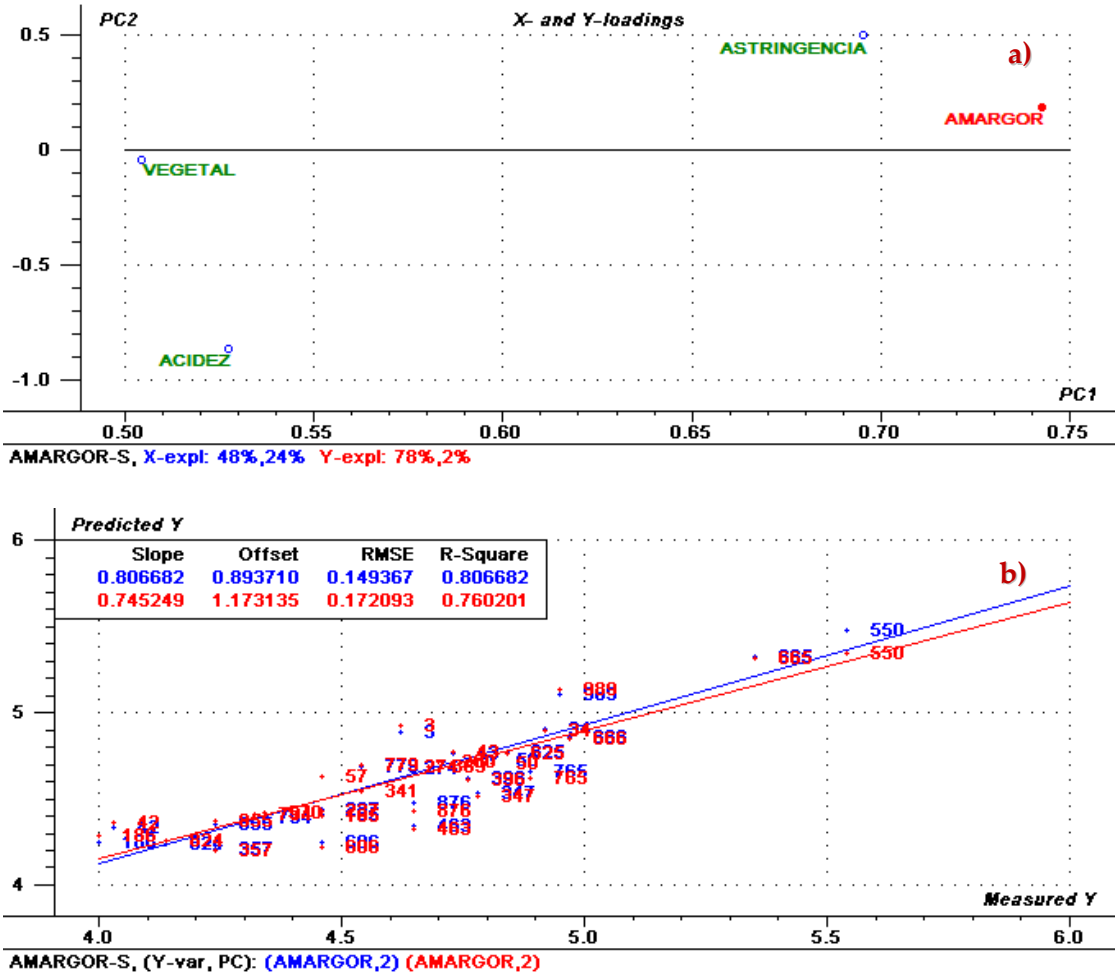


Figura 5.1. Modelo de regresión PLS del amargor frente a los descriptores sensoriales evaluados en los vinos por un panel entrenado **a)** representación de las variables X e Y, **b)** gráfico de las puntuaciones de amargor predichas por el modelo calculado mediante PLSR.

Como primera aproximación seis variables sensoriales "acidez", "astringencia", "persistencia", "fruta pasa", "animal" y "vegetal" fueron utilizadas como variables predictivas. Inicialmente, se identificaron seis muestras atípicas, las cuales fueron eliminadas del modelo (74, 286, 294, 489, 497 y 911).

Las dos primeras componentes principales explicaron el 80% de la varianza total (76% de la varianza cruzada) con un error cuadrático medio (RMSE) de 0.15. El primer modelo obtenido es:

AMARGOR = 5.019 + 0.369 Vegetal + 0.162 Acidez + 0.678 Astringencia

(Modelo 1)

El modelo construido a partir de los atributos sensoriales, reveló tres variables significativas "vegetal", "acidez" y "astringencia". Todas ellas con una contribución positiva con el amargor. Siendo la "astringencia" la variable que presentó un mayor peso en el modelo, seguida por el atributo aromático "vegetal".

5.3.5.2 Capacidad predictiva de los compuestos no volátiles en el amargor

Con el objetivo de identificar los compuestos no volátiles con capacidad predictiva en el amargor se construyó un modelo predictivo mediante una regresión de mínimos cuadrados (PLS) con validación cruzada completa. Como primera aproximación, doce variables químicas fueron introducidas como predictivas; la quercetina-3-*O*-glucurónido, miricetina, procianidina B1, (+)-catequina, (-)-epicatequina, ácido *trans*-caftárico, ácido gálico, PAs poliméricas, IPT, LPP, PPAs, MP y PAs unidas a polisacáridos. Inicialmente, se identificaron cinco muestras atípicas, las cuales fueron eliminadas del modelo (42, 341, 497, 550 y 625).

Tal y como puede observarse en la Figura 5.2, las dos primeras componentes principales explicaron el 69% de la varianza total (61% de la varianza cruzada) con un error cuadrático medio (RMSE) de 0.16. El segundo modelo obtenido es:

AMARGOR = 14.082 + 0.278 Procianidina B1 - 0.446 Ácido *trans*-caftárico + 0.177 Quercetina-3-O-glucósido + 0.380 Miricetina + 0.261 MP
(Modelo 2)

El segundo modelo reveló cinco variables significativas; procianidina B1, miricetina, quercetina-3-*O*-glucósido, MP y ácido *trans*-caftárico. Este modelo sugiere que el amargor esta positivamente relacionado con la presencia de flavanoles y flavonoles como la procianidina B1, la miricetina y la quercetina-3-*O*-glucurónido, además de los pigmentos monoméricos y negativamente relacionado con el ácido *trans*-caftárico. Este último, fue el compuesto que presentó mayor peso en el modelo, seguido por la miricetina.

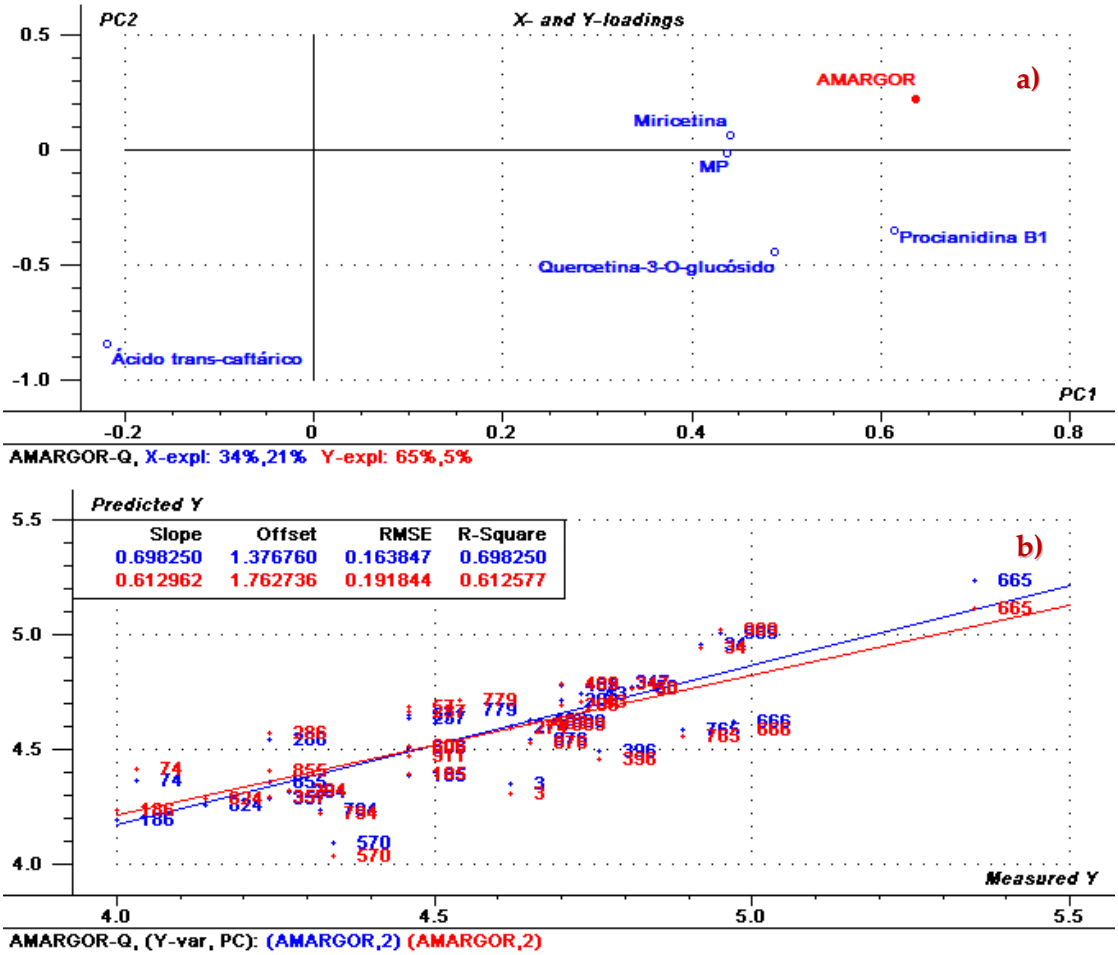


Figura 5.2. Modelo de regresión PLS del amargor frente a los compuestos no volátiles analizados en los vinos **a)** representación de las variables X e Y, **b)** gráfico de las puntuaciones de amargor predicha por el modelo calculado mediante PLSR.

5.3.5.3 Capacidad predictiva de los atributos sensoriales y compuestos no volátiles en el amargor

Con el objetivo de evaluar la capacidad predictiva de los compuestos no volátiles y atributos sensoriales, se construyó un modelo predictivo mediante una regresión de mínimos cuadrados (PLS) con validación cruzada completa. Como primera aproximación, seis atributos sensoriales y doce variables químicas fueron introducidos como variables predictivas. Inicialmente, se identificaron seis muestras atípicas que fueron eliminadas (294, 341, 497, 550, 625 y 765).

Tal y como puede observarse en la Figura 5.3, las dos primeras componentes principales explicaron el 76 % de la varianza total (68% de la varianza cruzada) con un error cuadrático medio (RMSE) de 0.15. El tercer modelo obtenido es:

AMARGOR = 5.957 + 0.189 Procianidina B1 - 0.206 Ácido *trans*-caftárico + 0.083 Quercetina-3-O-glucósido + 0.277 Miricetina + 0.150 MP + 0.299 Acidez + 0.288 Astringencia
(Modelo 3)

Este modelo reveló siete variables significativas; "astringencia", "acidez", procianidina B1, quercetina-3-*O*-glucósido, miricetina, MP y ácido *trans*-caftárico. Todas las variables contribuyeron positivamente al sabor amargor a excepción del ácido trans-*caftárico* que contribuyó negativamente. Siendo, los dos atributos en boca "acidez" y "astringencia" las variables que presentaron un mayor peso en el modelo, seguidas de la miricetina.

Es importante resaltar, que la capacidad predictiva de los atributos sensoriales en el sabor amargo (modelo 1) es mayor que la obtenida a partir de la composición no volátil (modelo 2). De hecho, la capacidad predictiva del sabor amargor a partir de atributos sensoriales y la composición no volátiles (modelo 3) mejoró las varianzas explicadas en el modelos 2. Básicamente, en el modelo 3 se retienen las variables químicas que describen el modelo 2 y los atributos en boca "acidez" y "astringencia" que describen el modelo 1.

En estudios realizados por Hufnagel y Hofmann, (2008a) indicaron que las fracciones de vinos que contienen flavanoles monómeros y dímeros no son descritas como amargas. Este hecho podría explicar la baja contribución de la procianidina B1 en los modelos 2 y 3. Preys *et al.*, (2006) describieron la miricetina como un compuesto amargo en vinos tintos franceses y alemanes, hecho que concuerda con los resultados obtenidas en el modelo 2, en el cual describen a la miricetina como uno de los compuestos que más contribuyen al amargor en los vinos de estudio. En los modelos obtenidos se observó una correlación negativa entre el ácido *trans*-caftárico y el sabor amargor. Hecho que concuerda con los resultados encontrados por Laaksonen *et al.*, (2010), quienes anotaron que en arándanos, los derivados de los ácidos hidroxicinámicos son compuestos amargos.

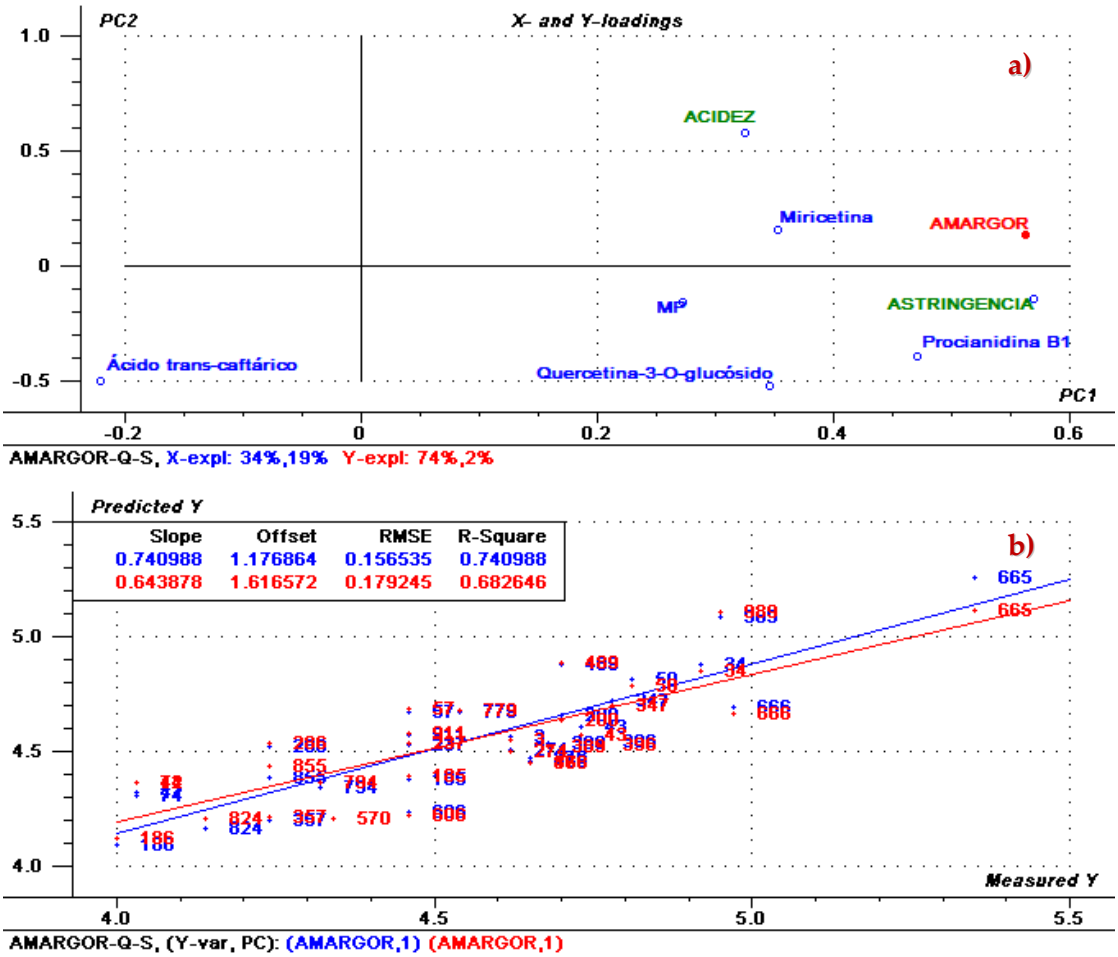


Figura 5.3. Modelo de regresión PLS del amargor frente a los descriptores sensoriales evaluados por un panel entrenado y compuestos no volátiles **a)** representación de las variables X e Y, **b)** gráfico de las puntuaciones de amargor predicha por el modelo calculado mediante PLSR.

En el modelo 3, en el cual se tienen en cuenta la composición no volátil y atributos sensoriales; el término "vegetal" no es retenido. Sin embargo, en el modelo 1 obtenido a partir de los descriptores sensoriales, este atributo tiene un peso importante. Esto junto con la existencia de vinos cuyo amargor no puede ser explicado por modelos hace que nuevas investigaciones sean necesarias para comprender la implicación de los compuestos y de los atributos sensoriales en el sabor amargor.

5.4 CONCLUSIONES

Los atributos sensoriales como el término aromático "vegetal", "acidez" y "astringencia" juegan un papel importante en la percepción del sabor amargo de los

vinos.

La composición no volátil muestra que el amargor esta positivamente relacionado con la procianidina B1, la miricetina y la quercetina-3-*O*-glucurónido, además de los pigmentos monoméricos, mientras que el ácido *trans*-caftárico esta negativamente relacionado con este sabor.

El mejor modelo predictivo del sabor amargo fue el basado en los atributos sensoriales. De hecho, la inclusión de los atributos en boca "acidez" y "astringencia" mejora la capacidad predictiva del modelo matemático obtenido a partir de la composición no volátil mejora la capacidad predictiva.

REFERENCIAS

Aznar, M., Lopez, R., Cacho, J. and 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**, 2700-2707.

Boselli, E., Boulton, R.B., Thorngate, J.H. and Frega, N.G. 2004. Chemical and sensory characterization of DOC red wines from Marche (Italy) related to vintage and grape cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3843-3854.

Brossaud, F., Cheynier, V. and Noble, A.C. 2001. Bitterness and astringency of grape and wine polyphenols. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **7**, 33-39.

Campo, E., Do, B.V., Ferreira, V. and 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**, 104-115.

Caporale, G., Policastro, S. and Monteleone, E. 2004. Bitterness enhancement induced by cut grass odorant (cis-3-hexen-l-ol) in a model olive oil. *Food Quality and Preference* **15**, 219-227.

Cliff, M.A., King, M.C. and Schlosser, J. 2007. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Research International* **40**, 92-100.

Dadic, M. and Belleau, G. 1973. Polyphenols and beer flavor. *American Society of Brewing Chemists* **4**, 107-114.

Delcour, J.A., Vandenderghe, M.A., Corten, P.F. and Dondeyne, P. 1984. Flavour threshold of polyphenolics in water. *American Journal Enology Viticulture* **35**, 134-136.

Demiglio, P. and Pickering, G.J. 2008. The influence of ethanol and pH on the taste and mouthfeel sensations elicited by red wine. *Journal of Food Agriculture & Environment* **6**, 143-150.

Escudero, A., Campo, E., Farina, L., Cacho, J. and 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**, 4501-4510.

Etaio, I., Elortondo, F.J.P., Albisu, M., Salmeron, J., Ojeda, A., Gaston, E. 2007. Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa. Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco. Vitoria-Gasteiz, España.

Fontoin, H., Saucier, C., Teissedre, P.-L. and Glories, Y. 2008. Effect of pH, ethanol and acidity on astringency and bitterness of grape seed tannin oligomers in model wine solution. *Food Quality and Preference* **19**, 286-291.

Glabasnia, A. and Hofmann, T. 2006. Sensory directed identification of taste active ellagitannins in American (Quercus alba L.) and European oak wood (Quercus robur L.) and quantitative analysis in bourbon whiskey and oak matured red wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**, 3380-3390.

Gonzalo-Diago, A., Dizy, M. and Fernández-Zurbano, P. 2014. Contribution of low molecular weight phenols to bitter taste and mouthfeel properties in red wines. *Food Chemistry* **154**, 187-198.

González, S. 2002. Los compuestos fenólicos y las características sensoriales de los vinos. In *Encuentro internacional de ciencias sensoriales y de la percepción*. Barcelona, España. pp 18.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008a. Orosensory directed identification of astringent mouthfeel and bitter tasting compounds in red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 1376-1386.

Hufnagel, J.C. and Hofmann, T. 2008b. Quantitative reconstruction of the nonvolatile sensometabolome of a red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 9190-9199.

Jones, P.R., Gawel, R., Francis, I.L. and Waters, E.J. 2008. The influence of interactions between major white wine components on the aroma, flavour and texture of model white wine. *Food Quality and Preference* **19**, 596-607.

Keast, R.S.J., Canty, T.M. and Breslin, P.A.S. 2004. The influence of sodium salts on binary mixtures of bitter tasting compounds. *Chemical Senses* **29**, 431-439.

Kim, U.K. and Drayna, D. 2005. Genetics of individual differences in bitter taste perception: lessons from the PTC gene. *Clinical Genetics* **67**, 534-534.

Koussissi, E., Paterson, A. and Paraskevopoulos, Y. 2008. Factors influencing sensory quality in red wines of the variety Aghiorghitiko (Vitis vinifera L.) from Nemea. *European Food Research and Technology* **226**, 745-753.

Laaksonen, O., Sandell, M. and Kallio, H. 2010. Chemical factors contributing to orosensory profiles of bilberry (Vaccinium myrtillus) fractions. *European Food Research and Technology* **231**, 271-285.

Le Fur, Y., Mercurio, V., Moio, L., Blanquet, J. and Meunier, J.M. 2003. A new approach to examine the relationships between sensory and gas chromatography olfactometry data using generalized procrustes analysis applied to six French Chardonnay wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 443-452.

Lesschaeve, I. and Noble, A.C. 2005. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. *American Journal of Clinical Nutrition* **81**, 330S-335S.

Maga, J.A. and Lorenz, K. 1973. Taste threshold values for phenolic acids which can influence flavor properties of certain flours, grains and oilseeds. *Cereal Science Today* **18**, 326-328

Martens, H. and Martens, M. 2000. Modified Jack-knife estimation of parameter uncertainty in bilinear modelling by partial least squares regression (PLSR). *Food Quality and Preference* **11**, 5-16.

Montmayeur, J.P. and Matsunami, H. 2002. Receptors for bitter and sweet taste. *Current Opinion in Neurobiology* **12**, 366-371.

Noble, A.C. and Shannon, M. 1987. Profiling zinfandel wines by sensory and chemical-analyses. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 1-5.

Noble, A.C. 1990. Bitterness and astringency in wine. In *Bitterness in Foods and Beverages* **25.** Elservier, Amsterdam. pp 145-148.

Nurgel, C. and Pickering, G. 2006. Modeling of sweet, bitter and irritant sensations and their interactions elicited by model ice wines. *Journal of Sensory Studies* **21**, 505-519.

Oberholster, A., Francis, I.L., Iland, P.G. and Waters, E.J. 2009. Mouthfeel of white wines made with and without pomace contact and added anthocyanins. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **15**, 59-69.

Peleg, H., Gacon, K., Schlich, P. and Noble, A.C. 1999. Bitterness and astringency of flavan-ol monomers, dimers and trimers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**, 1123-1128.

Piombino, P., Nicklaus, S., Le Fur, Y., Moio, L. and Le Quere, J.L. 2004. Selection of products presenting given flavor characteristics: an application to wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **55**, 27-34.

Preys, S., Mazerolles, G., Courcoux, P., Samson, A., Fischer, U., Hanafi, A., Bertrand, D. and Cheynier, V. 2006. Relationship between polyphenolic composition and some sensory properties in red wines using multiway analyses. *Analytica Chimica Acta* **563**, 126-136.

Rossi, J.A. and L, S.V. 1966. Flavour effects and adsorptive properties of purified fractions of grape seed phenols. *American Journal of Enology and Viticulture* **17**, 240-246.

Sáenz-Navajas, M.-P., Avizcuri, J.-M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2014. Sensory changes during bottle storage of Spanish red wines under different initial oxygen doses. *Food Research International* **66**, 235-246.

Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Miguel Avizcuri, J., Valentin, D., Fernández-Zurbano, P. and Ferreira, V. 2012. Contribution of nonvolatile and aroma fractions to in-mouth sensory properties of red wines: wine reconstitution strategies and sensory sorting task. *Analytica Chimica Acta* **732**, 64-72.

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Fernández-Zurbano, P., Valentin, D. and Ferreira, V. 2010a. An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry* **121**, 1139-1149.

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

Sáenz-Navajas, M.P., Tao, Y.S., Dizy, M., Ferreira, V. and Fernández-Zurbano, P. 2010b. Relationship between nonvolatile composition and sensory properties of premium Spanish red wines and their correlation to quality perception. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 12407-12416.

Scharbert, S. and Hofmann, T. 2005. Molecular definition of black tea taste by means of quantitative studies, taste reconstitution, and omission experiments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**, 5377-5384.

Scharbert, S., Holzmann, N. and Hofmann, T. 2004. Identification of the astringent taste compounds in black tea infusions by combining instrumental analysis and human bioresponse. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**, 3498-3508.

Soares, S., Kohl, S., Thalmann, S., Mateus, N., Meyerhof, W. and De Freitas, V. 2013. Different phenolic compounds activate distinct human bitter taste receptors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **61**, 1525-1533.

Sun, B.S., Ricardo-da-Silva, J.M. and Spranger, I. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**, 4267-4274.

Vidal, S., Francis, L., Noble, A., Kwiatkowski, M., Cheynier, V. and Waters, E. 2004. Taste and mouthfeel properties of different types of tannin like polyphenolic compounds and anthocyanins in wine. *Analytica Chimica Acta* **513**, 57-65.

CAPÍTULO 6

ATRIBUTOS SENSORIALES DE VINOS TINTOS CRIANZA RIOJANOS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD PERCIBIDA POR EXPERTOS, CONSUMIDORES Y PUNTUACIONES DE GUÍAS DE VINO

6.1 INTRODUCCIÓN

El vino es un producto complejo que puede y debe ser analizado a diferentes niveles. Desde una perspectiva económica un producto es definido como una suma de atributos o caracteres, tanto los de carácter tangible como los de naturaleza intangible, que otorgan valor al cliente a través de los problemas o necesidades que satisface (Santesmases, 2012, Viot, 2012).

El producto vino consta de dos tipos de características o atributos, según su naturaleza intrínseca o extrínseca, tal como refleja la Figura 6.1 (Rouzet y Seguin, 2005). Los caracteres intrínsecos del vino hacen referencia al contenido de la botella o del depósito: un producto resultado de la fermentación del mosto de uvas de variedades específicas, vinificado, envejecido, con una composición, grado de alcohol y de azúcares determinados, y un flavor definido, resumiendo todo un conjunto de características técnicas y organolépticas. Al degustar el vino, cada individuo posee una percepción única del color, de los aromas o del sabor del producto, por lo que la degustación permite al cliente final decidir si le gusta o no cada vino que es consumido.

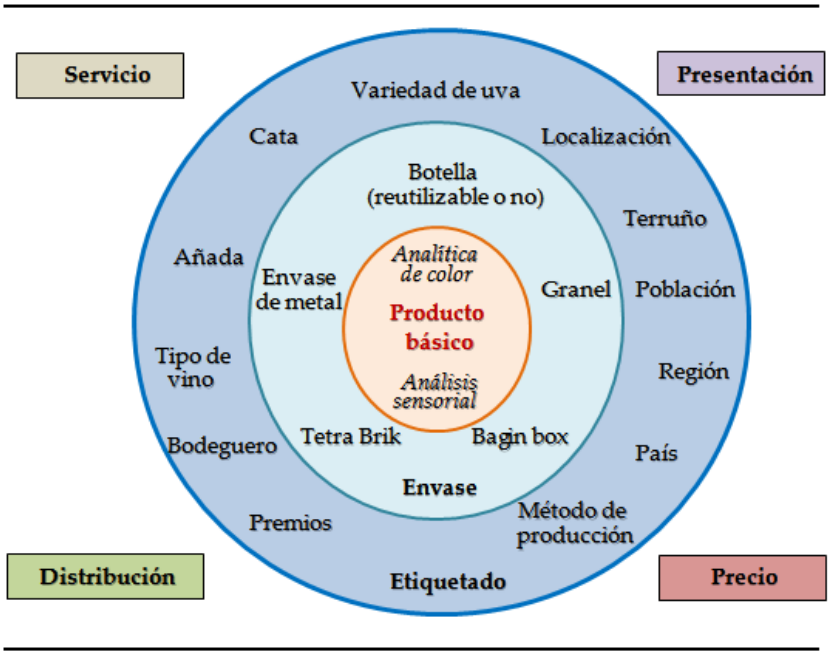


Figura 6.1. Atributos de calidad en el producto vino.
Extraído de Rouzet y Seguin, (2005).

Los atributos extrínsecos hacen referencia al conjunto de atributos añadidos para conseguir almacenar, transportar, distribuir y comercializar el producto (Viot, 2012); esto supone incorporar el envase y etiquetado del producto, los diferentes elementos utilizados para el cierre y precinto del envase, su precio, los servicios asociados al producto y todos los elementos de comunicación comercial que configuran un *marketing mix* coherente que incluye un producto, un precio, un circuito de distribución y una comunicación.

Entre los diversos trabajos que tratan de relacionar los atributos intrínsecos y extrínsecos del vino se puede citar el estudio de Lecocq y Visser, (2006) sobre vinos de Borgoña y de Burdeos en el que se concluye que los atributos que más influyen en las valoraciones de los jueces son los vinculados con el precio del producto así como envase y etiquetado (atributos extrínsecos), seguidos de atributos sensoriales vinculados a aromas y a la astringencia (atributos intrínsecos). Asimismo, Perrouty *et al*., (2006) han demostrado como los atributos externos son los más relevantes en la formación de los juicios sobre las Denominaciones de Origen por parte de los consumidores.

Tras definir el significado del producto (vino) se ha de analizar el nivel de calidad asociado al mismo. El concepto de calidad procede del ámbito de las empresas industriales, dónde se asociaba a un planteamiento centrado en el control de calidad, es decir, en el hecho de si los productos fabricados cumplían unas especificaciones predefinidas. En una segunda etapa se ha desarrollado un planteamiento de la calidad enfocada hacia los recursos humanos de las empresas, lo cual supone potenciar un departamento de calidad exógeno a los operarios que desarrollan la actividad productiva dentro de la compañía. Actualmente, se preconiza un concepto de calidad total, lo cual significa que la calidad no se ha de ver desde el punto de vista de la empresa que produce el producto sino que la empresa ha de ajustar el producto para cumplir las expectativas y exigencias de sus clientes, a fin de lograr consumidores satisfechos y leales, en definitiva, para asegurar la sostenibilidad a largo plazo de la compañía. Por todo ello, el concepto de calidad (tal como refleja la Figura 6.2) es complejo y equívoco, pues engloba planeamientos

diversos y, sobre todo, contrapuestos entre sí (Steenkamp, 1990, Charters y Pettigrew, 2007, Veale y Quester, 2009).

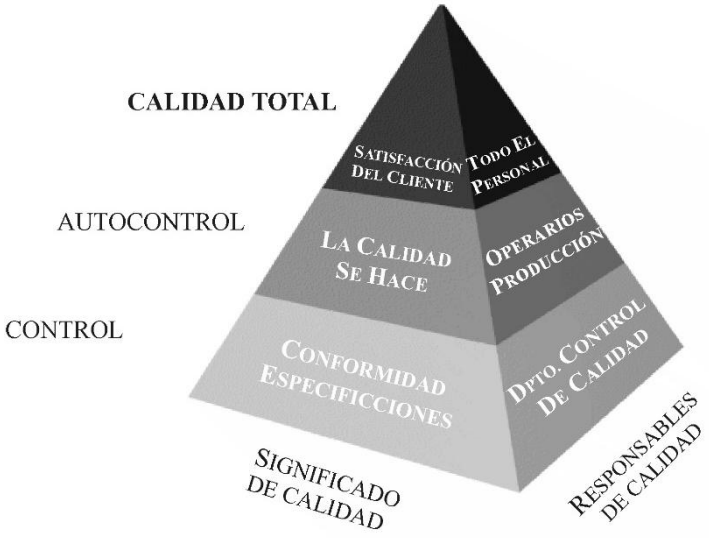


Figura 6.2. Concepto calidad. Extraído de Steenkamp (1990).

Desde la perspectiva de calidad total, es necesario diferenciar dos puntos de vista que coexisten en los mercados: la visión de los técnicos que elaboran el producto y la visión de los consumidores que lo adquieren y lo utilizan, en otras palabras, calidad objetiva o funcional y calidad percibida (Figura 6.3). En el caso específico del vino la calidad objetiva se genera a partir de los atributos intrínsecos de la uva y de los generados durante el proceso de elaboración; por tanto, relacionados con su composición (Balestrini y Gamble, 2006).

La calidad percibida hace referencia a la valoración que realizan los consumidores del conjunto de atributos del producto, tanto intrínsecos como extrínsecos. En este sentido, los clientes para emitir un juicio de valor acerca de la bondad del vino, no sólo consideran los atributos intrínsecos que conforman la calidad objetiva sino también otros aspectos extrínsecos como el peso del envase, la facilidad de apertura y cierre, el grado de accesibilidad o su precio (Espejel *et al.*, 2011).

Tal como se representa en la Figura 6.3 los conceptos de calidad objetiva y de calidad percibida están relacionados y, más importante, tienen aspectos comunes

recogidos en la zona de intersección existente entre ambos conceptos. Asimismo, los expertos y técnicos utilizan criterios de evaluación específicos, lo que les situaría en la zona de calidad objetiva que no es común a la calidad percibida. Por último, los consumidores, derivado principalmente de la falta de formación y de información respecto al vino, utilizan otros criterios para determinar la calidad percibida; dichos criterios son en una parte significativa aspectos extrínsecos y diferentes de los utilizados por los enólogos, tal como refleja la zona de calidad percibida no común con la calidad objetiva de la Figura 6.3. En el presente capítulo se analizará hasta qué punto un panel entrenado para detectar la calidad objetiva de un conjunto de vinos puede actuar como predictor de las valoraciones que realicen otros colectivos, concretamente paneles de expertos, paneles de consumidores y guías de vinos.

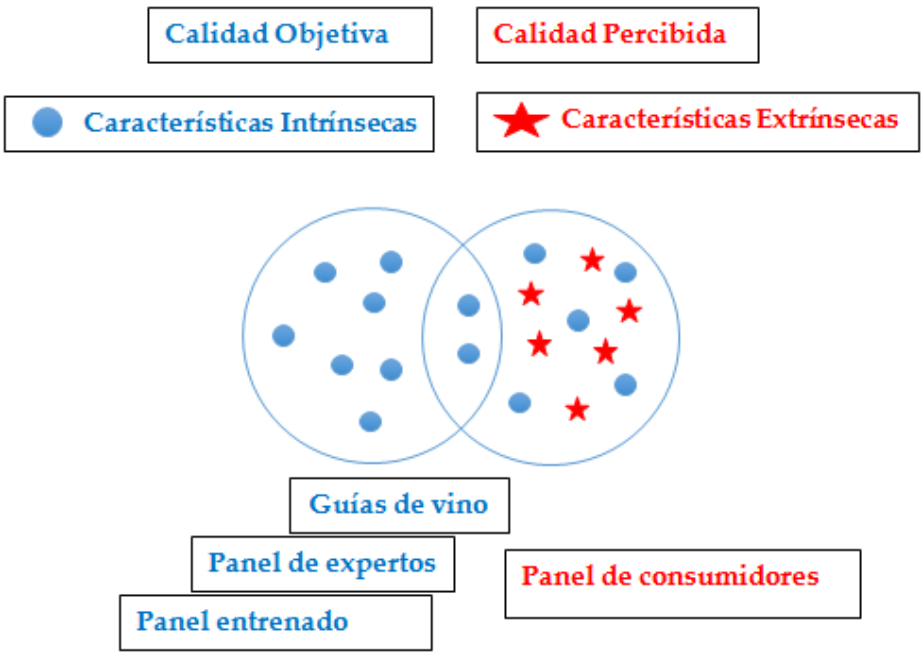


Figura 6.3. Relación entre calidad objetiva y calidad percibida.

Estudios realizados por Lawless *et al.*, (1997) y Hopfer y Heymann (2014), consideran que la calidad percibida por los consumidores está vinculada al impacto hedónico. De hecho, diversas investigaciones demuestran que el país de origen del vino, el peso de la botella, la información y diseño de la etiqueta, así como la presencia o ausencia de premios juegan un papel importante en el concepto de

calidad de diferentes consumidores (Veale y Quester, 2009, Mueller *et al.*, 2010, Chrea *et al.*, 2011, Piqueras-Fiszman y Spence, 2012, Saenz-Navajas *et al.*, 2013).

La asimetría existente entre calidad objetiva y calidad subjetiva tiene su origen en el grado de información que conoce y que utilizan los enólogos y los consumidores. Las diferencias de información y de formación son un aspecto estructural inherente al funcionamiento del mercado del vino. Así, una característica económica relevante del mercado vinícola es que se trata de un "mercado de limones" en la terminología de Akerlof, (1970) ya que es un medio donde resulta difícil detectar y evaluar las diferencias de calidad entre los diferentes caldos debido a la enorme cantidad de productos ofertados, por ser un producto experiencia que hay que comprar previamente para probar y además requerir un esfuerzo de formación e información para realizar una compra adecuada (Kirmani y Rao, 2000).

Dentro del contexto de calidad percibida, la asimetría de información relativa a la calidad de los productos existentes entre empresas vendedoras y consumidores finales, hace que éstos últimos busquen señales o indicios de calidad que les ayuden a elegir correctamente un vino de calidad. Así, se define la señal como "cualquier acción que el vendedor pueda realizar para suministrar información creíble al comprador sobre la calidad no observable del producto" (Ruiz *et al.*, 2009).

Las señales de calidad más importantes analizadas en el entorno específico del mercado vitivinícola han sido las siguientes: a) la reputación de la marca (Calvo y Levy, 2013); b) la imagen de la región de procedencia (Henchion y McIntyre, 2000, Skuras y Vakrou, 2002, Orth, *et al.*, 2005, Balestrini y Gamble, 2006, Perrouty *et al.*, 2006); c) el envase y etiquetado del producto (Mueller, *et al.*, 2010, Mueller y Szoloki, 2010, Celhay y Passebois, 2011); d) el precio del vino (Angulo *et al.*, 2000, Horowitz y Lockshin, 2002, Oczkowski y Doucouliagos, 2014); e) la influencia de los prescriptores y líderes de opinión sobre la decisión de compra de los consumidores (Barbe y Durrieu, 2005); f) los premios y/o medallas otorgados a los vinos en concursos (Orth y Krska, 2002). Todos los estudios citados han detectado que estas señales actúan como elementos significativos en la formación de la calidad percibida

y son en mayor y menor intensidad los indicios de calidad más relevantes en la elección del vino a comprar por parte de los consumidores.

El grado de implicación de los consumidores y su conocimiento del mercado han sido las variables que se erigen como más relevantes a la hora de valorar la calidad percibida por parte de los consumidores. Charters y Pettigrew, (2006) relacionan la calidad percibida del vino (que se expresa a través de los indicios anteriormente citados) con el grado de implicación de los consumidores; así obtienen dos conclusiones: (a) los consumidores con un alto grado de implicación tienden a valorar más los atributos intrínsecos del producto; los consumidores con un reducido nivel de implicación utilizan elementos sensoriales, como el sabor o la suavidad, como los atributos clave de calidad percibida. Gergaud y Livat, (2007) han encontrado evidencias de que el precio es un elemento esencial en la elección de vino por parte de los consumidores con un elevado nivel de implicación, pero no lo es tanto entre las personas con bajo grado de implicación. Tanto Balestrini y Gamble, (2006) como Charters y Pettigrew, (2007) han detectado que cuanto menor es el grado de información/conocimiento del mercado que tienen los consumidores, éstos son más proclives a seguir los consejos de expertos y de las guías de vino.

En lo relativo a la metodología a aplicar para la medición de la calidad percibida de los vinos, el análisis de la literatura existente permite realizar las siguientes consideraciones:

a) La conveniencia de utilizar información procedente de los descriptores sensoriales aportados por un panel sensorial entrenado, siendo éste el mecanismo más utilizado para medir la calidad percibida de los vinos (Stone y Sidel, 2004, Ferreira *et al.*, 2009, Saenz-Navajas *et al.*, 2015).

b) La necesidad de adaptar el tipo de información en función de las características de los jueces y en función de los objetivos de investigación. Así, las pruebas descriptivas que pretenden determinar las propiedades organolépticas de los vinos así como la intensidad de los diferentes atributos son adecuadas para jueces adecuadamente entrenados y formados; las pruebas hedónicas son muy adecuadas para conocer el grado de satisfacción y de preferencia de los consumidores hacia un

conjunto de vinos analizados (Stone y Sidel, 2004, Parpinello *et al*., 2009, Torri *et al*., 2013, De-Magistris *et al*., 2014); también pueden ser utilizadas pruebas de categorización a partir del olor y atributos en boca (Ferreira *et al*., 2009). Por último las escalas de puntuación y las fichas de degustación con las que se puntúan con alta precisión los rasgos organolépticos relacionados con el aroma, el sabor y el color del vino (Resolución OIV/concours 332A/2009) se utilizan principalmente en el caso de los juicios de expertos en las guías de vino (Parr *et al*., 2006, Lattey *et al*., 2010, Machado y Graca, 2011, Szolnoki y Hoffmann, 2011, Sáenz-Navajas *et al*., 2012). Finalmente, indicar que los estudios que tratan de predecir las valoraciones de expertos por parte de expertos y consumidores a partir de los datos sensoriales han dado hasta la fecha resultados parcialmente satisfactorios (Delgado *et al*., 2013, Hopfer y Heymann, 2014).

Para tratar de relacionar las valoraciones de los datos sensoriales de los vinos por parte de paneles entrenados, los métodos causales y predictivos más utilizados hasta la fecha han sido métodos lineales, principalmente regresión lineal múltiple y modelos de regresión estimados por mínimos cuadrados parciales (PLS). En el presente capítulo se utilizarán modelos log-lineales o modelos Logit así llamados porque la relación entre las variables causales o predictoras y la variable dependiente sigue una curva en forma de S denominada curva logística, que se caracteriza por ser asintótica con el eje de abscisas. A diferencia de los métodos lineales en esta familia de métodos, la variable dependiente es siempre categórica por lo que al estimar el modelo se cuantifica la probabilidad de que ocurra un determinado suceso, es decir, que la variable dependiente adopte un determinado valor; si la variable dependiente es dicotómica se aplican modelos Logit binomiales mientras que cuando no ocurre este hecho se aplican modelos Logit multinomiales.

Por tanto, los modelos logit permiten predecir la probabilidad de que ocurra un determinado suceso o evento así como identificar las variables predictoras útiles para hacer tal previsión (Verma, 2013, Pérez, 2013). Una ventaja propia de este tipo de modelos estadísticos es el hecho de que son especialmente idóneos para reflejar el proceso de formación de juicios y opiniones por parte de las personas así como para

detectar las decisiones adoptadas a partir de dichos juicios por parte de los individuos (McFadden, 1974, Manski, 1977, Ben-Akiva y Lerman, 1985, Suárez, 1999, Long y Freese, 2006). La aplicación de estos modelos al estudio de los alimentos a partir de datos sensoriales es escasa, dado que estos modelos son mucho más utilizados en el área de la medicina y en el de la gestión de empresas. Tenemos conocimiento de investigaciones que se han centrado principalmente en la formación de preferencias a partir de datos sensoriales en diversos alimentos (Vaisey-Genser *et al*., 1994, Tepper *et al*., 1997, Sangketkit *et al*., 2000, Meullenet *et al*., 2002, Meullenet *et al*., 2008), habiéndose detectado únicamente un estudio sobre la influencia de la etiqueta, la marca y la zona de origen de los vinos sobre la formación de preferencias de compra entre los consumidores finales (De Magistris *et al*., 2014).

El presente estudio recabó información de las guías de vino y se emplearon paneles, formado por jueces entrenados, expertos del vino y consumidores que realizaron pruebas sensoriales de tipo descriptivo, de puntación de la calidad y de categorización de los vinos. Los distintos tipos de datos obtenidos de los paneles y las guías de vinos aportan información de carácter ordinal y categórica (cualidad), de ahí que se considerara de interés emplear el método de regresión logística binomial con el fin de predecir aquellos atributos del vino que marcan o están relacionados con los juicios de valor realizados por los expertos, los consumidores y los críticos de las guías de vino.

El objetivo principal de este capítulo ha sido conocer los atributos sensoriales, que hacen que un vino tinto crianza con calidad objetiva elevada sea percibido como un vino de alta calidad por parte de tres colectivos: las guías de vino, los expertos del sector y los consumidores finales. Para ello se han trabajado con un panel entrenado que ha determinado las características organolépticas de los vinos objeto de estudio, lo cual está vinculado con los atributos intrínsecos del producto y con la calidad objetiva del vino. Además, se ha recopilado información de un panel de jueces formado por expertos del sector vinícola y de un panel de consumidores, lo cual nos ha proporcionado la calidad percibida de los vinos analizados. Por último, la valoración de las guías se ha recopilado a partir de sus escalas de puntuación.

6.2 MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1 Vinos

Los 29 vinos de la DOCa Rioja utilizados en el presente estudio fueron seleccionados en función de tres criterios: (a) Pertenecer a la categoría tintos crianza, que implica un envejecimiento mínimo de dos años entre barrica y botella, a fin de captar vinos con un nivel de calidad relativamente alto. (b) Entre la amplia oferta de vinos existente, se utilizó como filtro el criterio del precio de venta dado que esta variable está correlacionada con el nivel de calidad del producto (Ocskowski y Doucouliagos, 2014); en este sentido, se ha tenido en cuenta que durante 2012, el precio medio de un vino tinto crianza en el mercado nacional en los establecimientos detallistas *off line* (supermercados, hipermercados, vinotecas y similares) era de 3.03 euros (IVA incluido) por botella de 75 cl para el conjunto de las DO españolas, montante que ascendía a 3.65 euros para la DOCa. Rioja (Nielsen, 2013); por ello, se eligió un rango de precios comprendido entre 3 y 20 euros a fin de captar vinos con un nivel de calidad intrínseco superior a la media. (c) Dados los objetivos del estudio, adicionalmente se ha exigido que los vinos seleccionados estuvieran valorados al menos en dos de las ocho guías de vino consultadas. La lista detallada de los vinos, sus añadas, variedades, tiempo en barrica y precio se muestran en la Tabla 6.1.

6.2.2 Guías de vino

Para el desarrollo de la presente investigación se han seleccionado 8 guías de vinos ampliamente conocidas y difundidas en el sector vinícola; a fin de tener una visión más completa de los juicios emitidos por los autores de estas publicaciones se eligieron seis guías editadas en España Guía Todovino (Casado *et al.*, 2011), Guía Peñín de los vinos de España (Grupo Peñín. 2012), Vinos Gourmets (Lopez-Canís y Proensa-Aguado, 2012), Proensa (Proensa-Aguado, 2012), Vivir el Vino La Guía (Serrano *et al.*, 2012) y Anuario de Los Vinos (Ediciones El País. 2012) y dos editadas en los Estados Unidos de América y con un alto grado de difusión en los principales mercados vinícolas mundiales *Wine Enthusiast* (2011) y *Wine Advocate* (2011).

Tabla 6.1. Marca, variedad, añada, tiempo en barrica y precio de los veintinueve vinos tintos de DOCa Rioja.

Marca	Variedad (%)				Añada	Tiempo en barrica (meses)	Precio €
	Tempranillo	Garnacha	Graciano	Mazuelo			
Altún	100	-	-	-	2008	14	8.50
Ángeles de Amaren**	85	-	15	-	2007	16	17.9
Antaño**	85	5	5	5	2008	18	7.60
Arnegui	100	-	-	-	2008	12	5.80
C.V de Campo Viejo	80	10	10	-	2007	12	8.00
Campo Alto	100	-	-	-	2008	12	13.00
Campo Viejo	85	10	-	5	2007	12	4.70
Cosme Palacio	100	-	-	-	2008	13	8.00
CVNE	80	10	-	10	2008	12	5.85
El Coto	100	-	-	-	2008	14	5.00
Fincas de Landaluce*	100	-	-	-	2008	12	8.00
Glorioso*	100	-	-	-	2008	12	6.25
Ibéricos**	100	-	-	-	2009	12	6.90
Ilurce Vendimia Seleccionada	40	60	-	-	2005	12	9.00
Izadi	100	-	-	-	2007	14	6.82
Lanzaga	nd	nd	nd	nd	2008	14	5.25
Luis Cañas**	95	5	-	-	2008	12	3.20
Marqués de Cáceres	85	10	5	-	2008	12	16.00
Marqués de Carrión	80	-	15	5	2008	12	15.00
Marqués de Victoria	100	-	-	-	2008	16	5.25
Ramón Bilbao	100	-	-	-	2008	14	3.30
Ramón Bilbao Edición Limitada	100	-	-	-	2008	21	7.00
Sierra Cantabria	100	-	-	-	2007	14	8.20
Solagüen	100	-	-	-	2008	12	6.55
Viña Bujanda	100	-	-	-	2008	12	5.50
Viña Diezmo*	100	-	-	-	2008	12	4.75
Viña Pomal	100	-	-	-	2008	12	8.00
Viñas de Gain	100	-	-	-	2008	12	15.0
Zuazo Gastón*	100	-	-	-	2008	12	7.90

nd, datos no disponibles; ** Vinos duplicados en el análisis descriptivo realizado por el panel entrenado; *Vinos duplicados en el análisis descriptivo realizado por los expertos.

Asimismo, todas las guías elegidas realizan juicios sobre la calidad de los vinos expresados en escalas numéricas, que varían de una a otra publicación. En la Tabla 6.2 se muestran el rango de puntuaciones empleadas por las guías de vinos así como la puntuación media determinada para cada vino. Las publicaciones utilizadas corresponden al momento de diseño del trabajo de campo, es decir, a la primera mitad de 2012.

Los vinos tintos seleccionados y objeto de estudio fueron parte de una base de datos conformada por 2094 vinos tintos con crianza, creada a partir de la información disponible en las guías del año 2012, los vinos pertenecientes a diferentes añadas fueron elaborados en 202 bodegas de la DOCa Rioja. Cabe destacar, que la calificación aportada por la Guía Anuario de Los Vinos fue dos racimos situados entre los 70 y 79 puntos y tres racimos equivalentes a una puntuación entre 80 y 89 puntos. En este caso, la valoración máxima de cada rango de puntos fue considerada para el cálculo de la puntuación media, siendo el rango de escala empleado 60 - 100 puntos. En relación a la Guía Gourmet, la información de las puntuaciones vienen dadas en dos escalas una de 5 - 10 puntos y la otra de 80 - 100 puntos. Dado que esta guía aportaba la puntuación exacta en la escala de 5 - 10 se realizó una equivalencia lineal para llevarlo a la escala de 80 - 100 similar a la que utilizan las otras guías. La puntuación media de las muestras se calculó con las puntuaciones de las guías que proporcionaron una valoración para un mismo vino.

6.2.3 Diseño experimental

El estudio trata de conocer aquellas variables capaces de predecir la calidad percibida por diferentes grupos de colectivos con distinta implicación en el mundo del vino como son los expertos, los consumidores y los críticos de vino. Para ello se emplea un panel entrenado con el fin de conocer aquellas características que hacen que un vino tinto crianza sea percibido de calidad.

Tabla 6.2. Rango, calificación y puntuación media aportados por las ocho guías de vinos en el estudio de los vinos tintos crianza de DOCa Rioja.

Vino	A	B	C	*D*	E	F	G	H	Media
	85-100	80-100	50-100	50-100	80-100	50-100	0-100	60-100	
211	91	92	-	-	-	-	-	-	91.50
511	91	-	-	-	86	92	80	-	87.25
910	-	92	-	-	-	91	90	-	91.00
541	-	-	-	-	-	84	-	79	81.50
582	-	-	-	-	85	90	-	79	84.67
696	87	-	-	-	-	90	-	79	85.33
714	89	-	-	-	-	-	-	79	84.00
850	88	-	-	-	85	87	86	-	86.50
27	-	-	-	-	-	87	-	89	88.00
66	-	-	-	-	-	85	-	89	87.00
258	-	-	-	-	-	87	-	89	88.00
368	-	-	-	-	-	88	80	-	84.00
731	89	-	90	-	83	91	86	79	86.33
752	-	-	-	-	-	88	-	89	88.50
773	-	-	-	-	-	89	-	89	89.00
774	-	-	-	-	82	87	-	89	86.00
804	-	-	-	-	-	89	-	89	89.00
975	89	-	-	-	-	88	85	89	87.75
985	85	-	-	-	-	88	-	-	86.50
637	94	-	-	-	-	90	86	89	89.75
853	91	-	-	-	85	92	87	89	88.80
110	-	-	-	-	-	84	-	79	81.50
169	90	-	-	-	88	89	-	89	89.00
195	-	-	-	87	-	88	-	-	87.50
342	-	-	-	-	88	88	-	-	88.00
416	-	90	-	-	-	87	-	79	85.33
531	-	-	-	-	-	88	82	89	86.33
936	-	-	-	-	-	90	-	79	84.50
788	-	-	-	-	-	89	-	89	89.00

- dato no disponible. [1] el valor de la equivalencia lineal de la puntuación en la escala 80-100 escala y [2] valor más alto del intervalo

En la Figura 6.4 se muestran los distintos colectivos que facilitaron la información recabada de los vinos tintos crianza de DOCa Rioja en estudio. Así, el panel de los 34 jueces entrenados aportó las características aromáticas y gustativas de los vinos empleando para ello el análisis descriptivo utilizando, por un lado, el método de frecuencia de citación para la descripción de los aromas y por otro una escala estructurada para determinar la intensidad de los atributos gustativos. Éstos descriptores servirán para relacionarlos con las evaluaciones realizadas por los otros grupos de panelistas. Así, los 27 expertos o profesionales del vino valoraron la calidad otorgando una puntuación global a cada vino, la cual obtuvieron a partir de las puntuaciones parciales de la evaluación visual, olfativa y gustativa de la ficha de la OIV. Los 85 consumidores realizaron una prueba de categorización en la que clasificaron los vinos entre cuatro categorías de muy baja a muy alta calidad y por último se emplearon las puntuaciones recabadas a partir de 8 Guías de vinos realizando la media a partir de las clasificaciones de aquellas guías que evaluaron un mismo vino. Por otro lado, el hecho de tener puntuaciones en más de dos guías sirvió como uno de los criterios de selección de los vinos de estudio.

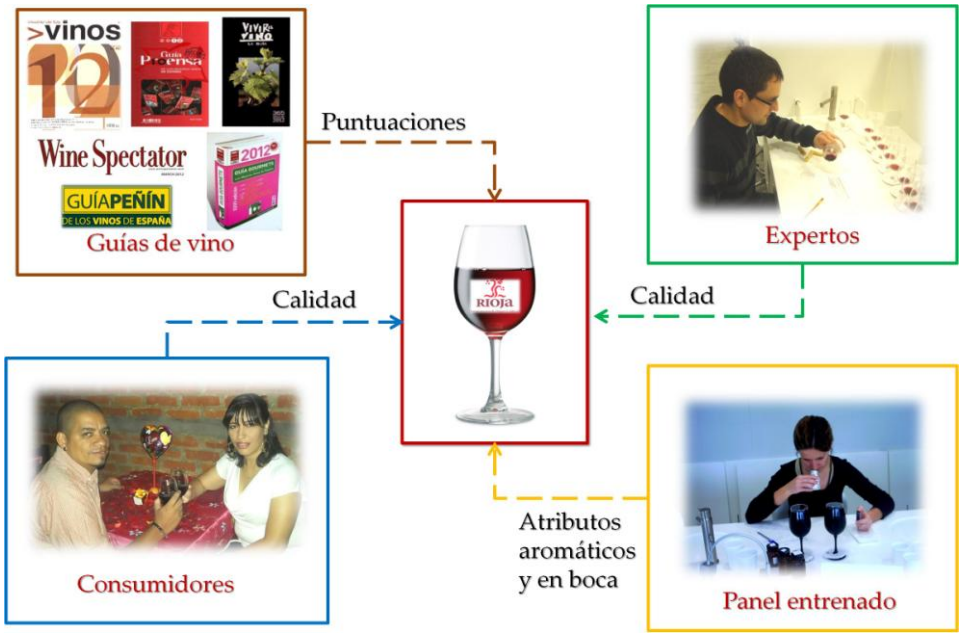


Figura 6.4. Representación esquematizada de las guías de vino, panel entrenado, expertos y consumidores influyentes en la valoración de los vinos tintos crianza de DOCa Rioja.

Para facilitar la compresión del diseño experimental y del análisis de datos se representa en la Figura 6.5 un diagrama de flujo de los ensayos realizados y de la aplicación del modelo de regresión binomial empleado para la predicción de la calidad de los distintos grupos de colectivos vinculados con el mercado del vino.

En la parte izquierda de la figura, se muestra el ensayo del análisis sensorial descriptivo de nariz y boca realizada por el panel entrenado que servirán de variable explicativa y a la derecha de la figura se recogen las variables causales obtenidas de puntuaciones de las guías, las valoraciones de los expertos y los consumidores.

Previo a la aplicación del modelo predictivo se validó el comportamiento de los paneles teniendo en cuenta el tipo de evaluación sensorial realizado por los distintos colectivos. En el caso del panel entrenado se emplearon las frecuencias de citación de los atributos aromáticos para comprobar la reproducibilidad individual de los panelistas y verificar la repetividad del panel y con las puntuaciones de las intensidades en boca se verificó la consistencia del panel para los atributos en boca y se identificaron aquellos para los cuales mostraron un comportamiento consistentes.

Para posteriores análisis se seleccionaron los términos aromáticos citados por un 15% del panel y aquellos atributos en boca que mostraron diferencias. Dada la naturaleza cualitativa de los atributos aromáticos y la cuantitativa de los atributos en boca, se aplican dos métodos factoriales distintos; el CA para los atributos aromáticos y el PCA para los atributos en boca para obtener la variables dependientes del modelo logit de regresión binomial.

En la parte derecha de la figura se muestra la puntuación de las guías y la valoración de la calidad realizada por expertos y consumidores. Para el panel de expertos se evaluó la consistencia con las cuatro muestras replicadas y si encontraban diferencias significativas entre los vinos de estudio. En el caso de la categorización de calidad realizada por los consumidores se verificó que discriminan entre las categorías y los vinos. A partir de los datos cuantitativos de las guías, de los expertos y de los consumidores se calculó para cada uno de los colectivos la puntuación promedio y la valoración dicotómica por encima y por debajo de la media.

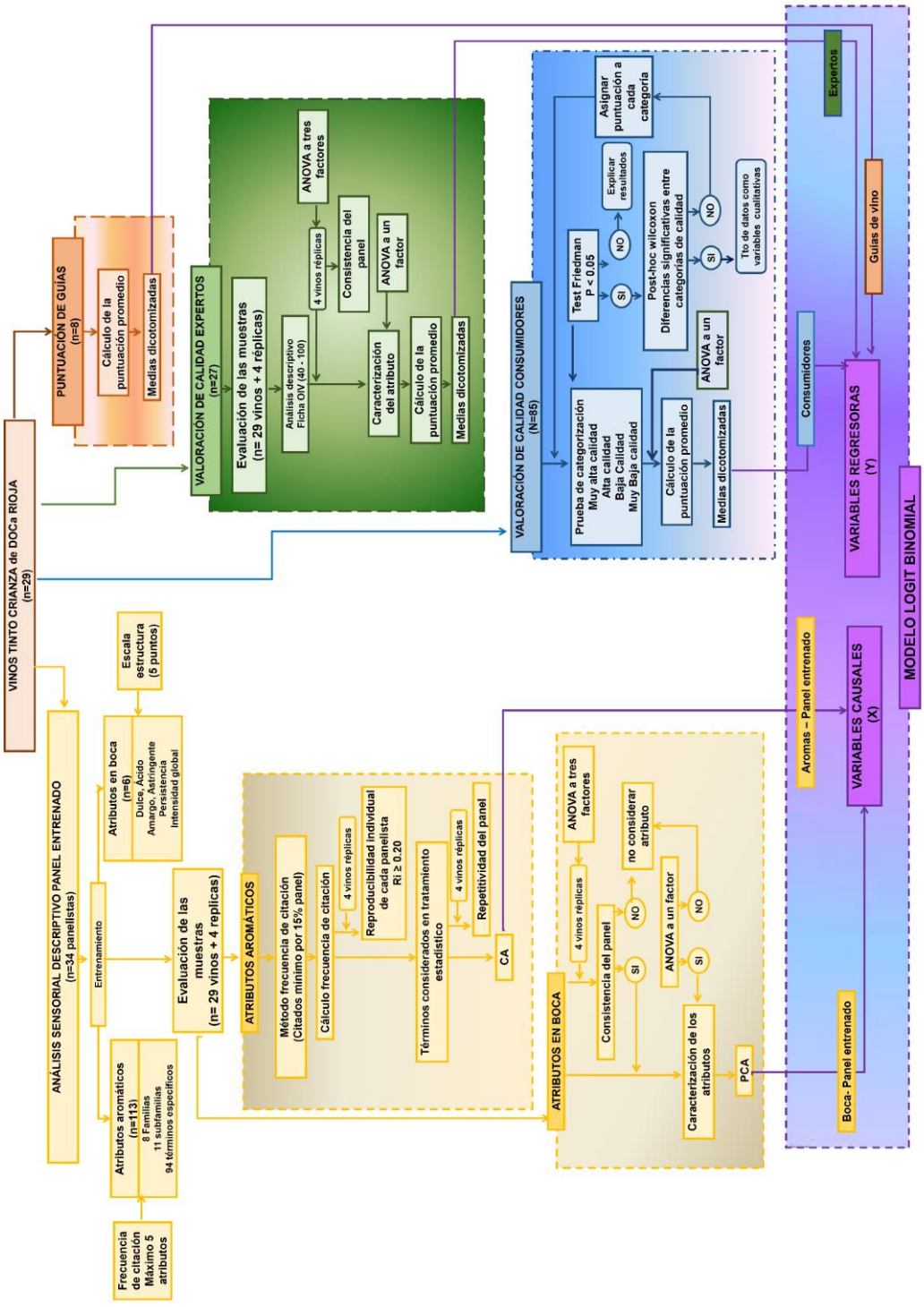


Figura 6.5. Diagrama de tratamientos de datos aplicados a vinos tintos crianza de DOCa Rioja.

El análisis sensorial descriptivo realizado por el panel entrenado se consideró como variables causales o explicativas del modelo logit binomial mientras que las puntuaciones dicotomizadas de las guías, la valoración de la calidad por los expertos y la categorización de los consumidores se tomaron como variables regresoras o dependiente.

6.2.4 Análisis sensorial descriptivo, de calidad y categorización

Sala de análisis sensorial. El experimental se realizó en la sala de análisis sensorial situada en el Centro Científico Tecnológico de La Universidad de La Rioja, la cual reúne todas las condiciones mínimas de luz, ambiente, ventilación, temperatura y ergonomía exigidas por la Norma UNE (ISO 8589, 2010).

La sala dispone de una zona de preparación y una zona de evaluación con capacidad para unas 20 personas. En la zona de preparación se sirvieron las referencias sensoriales utilizadas en para el entrenamiento del panel entrenado, así como las muestras de vino.

La zona de evaluación se utilizó para las debatir los diferentes puntos de vista dados sobre las referencias y las descripciones sensoriales de las muestras, así como actividades realizadas durante el entrenamiento del panel entrenado. Además se empleó para la presentación de los vinos tintos crianza de DOCa Rioja una vez evaluados por los diferentes participantes.

Las evaluaciones de las muestras se llevaron a cabo en cabinas individuales bajo condiciones controladas de temperatura (21 ± 2 °C).

Presentación de las muestras de vino.

Las botellas de vino empleadas en el estudio se ubicaron en el bodeguero el día previo a ser evaluadas. Antes de cada sesión, dos botellas de cada vino fueron sometidas a degustación por los responsables del panel con la finalidad de verificar la ausencia de defectos en el vino y proceder a la homogenización de la muestra antes de su distribución.

Quince mililitros de muestra de vino fueron servidos 30 minutos antes de cada sesión en copas estandarizadas (ISO NORM, 1977) y cubiertas por una placa Petri.

Las muestras se presentaron codificadas con un número de tres cifras y de acuerdo a un orden aleatorio. En cuanto al tipo de copa estandarizada empleado, los panelistas entrenados realizaron la evaluación en copas negras de tipo tulipa mientras los expertos y consumidores lo hicieron en copas transparentes.

Entre muestra y muestra, los panelistas entrenados debían hacer uso del protocolo de enjuague descrito por Colonna *et al.*, (2004), con el fin de minimizar la fatiga (Anexo X), mientras que los expertos y consumidores fueron provistos con palitos de pan y agua e instruidos para expectorar y enjuagarse la boca entre vino y vino (Ross *et al.*, 2007).

6.2.4.1 Análisis descriptivo por un panel entrenado

6.2.4.1.1 Panelistas entrenados

Un total de 34 voluntarios conformado por estudiantes de enología y personal de la Universidad de La Rioja (17 mujeres y 17 hombre con edades comprendidas entre 19 - 56 años, siendo la edad media 28.5 y la desviación estándar 7.69) fueron reclutados en base a sus intereses y disponibilidad para participar durante tres meses en sesiones de una hora por semana.

6.2.4.1.2 Entrenamiento

Durante el entrenamiento se presentaron a los panelistas diferentes referencias del aroma del sabor y astringencia, elaboradas a partir de odorantes comerciales y productos frescos como frutas, zumos, especias entre otros siguiendo la metodología descrita en los apartados 2.2.1 y 3.2.1 de los capítulo 2 y 3 respectivamente.

Durante esta fase, a los panelistas se les proporcionó una lista con 113 descriptores aromáticos (Anexo XI) obtenidos a partir de la compilación de otras lista empleadas en la descripción de vinos (Campo *et al.*, 2008, Saenz-Navajas *et al.*, 2010, Saenz-Navajas *et al.*, 2011, Avizcuri, 2014). En el Anexo XII, se muestran los descriptores junto con la referencia tal y como se preparó antes de cada sesión. Para el sabor y la astringencia, se instruyeron a los panelistas para evaluar las muestras utilizando una escala estructurada de seis puntos (0 = "ausencia", 1 = "muy bajo" y 5 = "muy alto") y una escala estructurada de cinco puntos para la intensidad global (1 =

"muy débil" hasta 5 = "muy fuerte") y la persistencia (1 = "muy corta" hasta 5 = "muy larga). El formato utilizado en el entrenamiento se muestra en el Anexo XIII.

6.2.4.1.3 Procedimiento experimental

Los panelistas entrenados realizaron la descripción del aroma ortonasal de los 29 vinos. Con el fin de evaluar la consistencia del panel, 4 muestras fueron duplicadas (Tabla 6.1) y presentadas a razón de una réplica en cada sesión (Parpinello *et al.*, 2009). Los panelistas llevaron a cabo el análisis de las 33 muestras (vinos + réplicas) durante cuatro sesiones de 45 minutos de duración cada una, en cada sesión se evaluaron entre 8 y 9 vinos.

Para la descripción de los aromas, se seleccionó un máximo de 5 atributos de la lista de descriptores según el método de frecuencia de citación, y sólo aquellos términos citados por 5 o más jueces (15% del panel) son utilizados en los análisis posteriores tal y como se describe en el apartado 2.2.3.3 del capítulo 2. Una vez finalizada la evaluación del aroma, los panelistas emplearon las escalas estructuradas para anotar las puntuaciones de los atributos dulzor, acidez, amargor, astringencia, intensidad global y persistencia evaluados en boca. El modelo de ficha utilizado durante la evaluación, se muestra en el Anexo XIV.

6.2.4.1.4 Validación del comportamiento del panel

La información, de los atributos aromáticos y de las intensidades de los atributos en boca, recogida en las ficha de cata para los 4 vinos duplicados, se empleó para comprobar la fiabilidad y comportamiento de los catadores.

Para conocer si el comportamiento individual al evaluar los aromas de los vinos, se calculó el índice de reproducibilidad individual (*Ri*) para cada uno de los panelistas a partir de las cuatro muestras de vino replicadas siguiendo la metodología descrita por Campo *et al.*, (2008). Este índice de reproducibilidad media (*Ri*) representa la proporción de descriptores comunes utilizados para describir el mismo vino a partir de dos repeticiones calculando así para cada panelista un *Ri* que varía de 0, ningún descriptor común en dos repeticiones, a 1 donde los descriptores son idénticos en las dos repeticiones. El *Ri* mínimo requerido para elegir la respuesta

de un juez fue establecido en 0.20 que corresponde al menos a un término en común en las dos replicas. La información detallada del cálculo del *Ri* se recoge en el apartado 2.2.5.1 del capítulo 2. El cálculo del *Ri* asociado a cada panelista permitió conocer cómo se comportó cada juez con respecto al resto de panelistas. En este estudio, los valores de *Ri* estuvieron entre 0.21 a 0.81, lo que indica que estos valores varían entre el 21 al 81% de términos aromáticos comunes entre las réplicas evaluadas por los panelistas. El valor medio del *Ri* para el panel fue de 0.44, indicando una reproducibilidad satisfactoria para los 34 panelistas.

Con el fin de comprobar el comportamiento del panel entrenado para la evaluación de los intensidad de los atributos evaluados en boca se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) a tres factores a los datos de las puntuaciones de dulzor, acidez, amargor, astringencia, intensidad global y persistencia, dadas por los 34 panelista para los 4 vinos replicados. Se consideraron como factores fijos los panelistas (J), los vinos (W) y las réplicas (R), y como interacciones vino - réplica (W * R), vino - juez (W * J) y juez - réplica (J * R) según la metodología descrita en el apartado 3.2.5.1 del capítulo 3.

En la Tabla 6.3 se recogen los resultados de la aplicación del ANOVAs a tres factores para las puntuaciones de cada atributo en boca. Se pone de manifiesto que el efecto juez (J) fue significativo para todos los atributos, este hecho es habitual en el análisis sensorial y se puede explicar por las diferencias fisiológicas entre individuos (Sáenz-Navajas *et al*., 2011). Sin embargo, ningún efecto réplica (R) fue significativo indicando que el criterio de cada panelista fue coherente con una evaluación consistente de los atributos y reflejando la reproducibilidad del panel. La interacción vino-réplica (W * R) mostró diferencias significativas para la intensidad global ($F = 3.110$, $P = 0.030$), pero ninguno de los efectos réplicas fue significativo, indicando una evaluación consistente de este atributo y reflejando la reproducibilidad del panel. La interacción vino-juez (W * J) fue significativa para el atributo dulzor ($F = 1.483$, $P = 0.026$) indicando diferencias en la percepción del dulzor que pueden ser debidas a múltiples factores fisiológicos, interacciones químicas, psicológicas y cognitivas

(Keast y Breslin, 2003, Etaio, 2007). En base a éstos resultados el atributo dulzor no se consideró en los análisis de datos posteriores.

Tabla 6.3. ANOVAs a tres factores calculados para los atributos evaluados en boca por el panel entrenado para los 4 vinos tintos replicados de DOCa Rioja. Efectos significativos marcados en negrita ($P < 0.05$); grados de libertad (gl), estadístico F y valores de *P*.

Atributos	Juez (J) (gl=33)		Vino (W) (gl=3)		Replicas (R) (gl=1)		W*J (gl=99)		J*R (gl=33)		W*R (gl=3)	
	F	*P*	F	*P*	F	*P*	F	*P*	F	*P*	F	*P*
Dulzor	7.876	<0.001	0.993	0.399	1.665	0.206	**1.483**	**0.026**	0.872	0.665	1.947	0.127
Acidez	3.379	0.006	0.386	0.076	1.708	0.200	1.066	0.375	0.683	0.893	0.725	0.539
Amargor	6.083	<0.001	2.910	0.038	0.255	0.617	1.078	0.355	0.937	0.571	2.382	0.740
Astringencia	3.095	0.010	2.864	0.041	0.442	0.511	1.139	0.259	0.599	0.952	1.245	0.298
Intensidad Global	2.763	0.020	2.793	0.044	0.468	0.499	0.926	0.649	0.857	0.686	**3.110**	**0.030**
Persistencia	4.237	0.001	3.424	0.020	0.030	0.863	1.006	0.489	0.950	0.552	2.318	0.080

6.2.4.2 Análisis de la calidad por un panel de expertos

6.2.4.2.1 Panelistas expertos

El panel estuvo formado por 27 expertos del vino (7 mujeres y 20 hombres entre 25 - 64 años, siendo la edad media 42.2 y la desviación estándar 7.51) con un amplio conocimiento en técnicas de degustación de vinos, entre los que participaron 17 enólogos, 5 sumilleres, 3 mayoristas de vinos y 2 técnicos de laboratorio en bodega. Los expertos fueron reclutados en la Asociación de Enólogos de Rioja (AER) y en la Asociación Cultural Sumilleres de Rioja mediante el envío de correos electrónicos a los afiliados.

6.2.4.2.2 Procedimiento experimental

Los expertos realizaron una descripción de los caracteres organolépticos; vista, olfato, gusto y armonía - juicio global de los 29 vinos. Para evaluar la consistencia del panel, cuatro muestras fueron replicadas (Tabla 6.1) durante dos sesiones. En cada sesión, se presentaron dos muestras replicadas a cada uno de los panelistas (Parpinello *et al.*, 2009).

Los expertos llevaron a cabo el análisis descriptivo de 33 muestras (29 vinos + 4 réplicas) durante dos sesiones de 90 minutos de duración cada una. En cada sesión se

evaluaron de 16 a 17 vinos, distribuidos en tres series de 5 ó 6 muestras cada una y se realizaron pausas de 15 minutos entre las series.

La evaluación se realizó con la ficha de cata de vinos tranquilos utilizada tanto por la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV) (Resolución OIV/concours 332A/2009); como por el Consejo Regular de la DOCa Rioja (Anexo XV). Con el fin de asegurar una comprensión idéntica de los términos empleados por todos los participantes, los expertos fueron provistos de una lista de diez caracteres organolépticos con sus descripciones y las puntuaciones empleadas para la evaluación (Anexo XVI).

La apreciación con ésta ficha de cata consistió en el examen visual, olfativo y gustativo de los vinos. En cuanto a la vista, los participantes discriminaron mediante la acción de la luz las diferencias sensoriales en "limpidez" y "color". En relación al olfato, evaluaron por vía nasal directa las sensaciones percibidas de los compuestos volátiles utilizando los descriptores "intensidad", "franqueza" y "calidad". En lo que respecta al gusto, el conjunto de las sensaciones percibidas en la boca fueron descritas mediante la "intensidad", "franqueza", "calidad" y "persistencia". Por último, realizaron una apreciación general de cada vino.

Una vez finalizada la cata de cada vino, los expertos sumaron para cada muestra las puntuaciones otorgadas clasificando así las muestras en función de su calidad global en cinco niveles, excelente (100 puntos), muy bueno (86 puntos), bueno (72 puntos), regular (56 puntos) e insuficiente (40 puntos). El índice de calidad de cada vino se calculó como la media de las puntuaciones de calidad global individuales obtenidas para cada muestra.

6.2.4.2.3Validación del comportamiento del panel de expertos

Con el fin de evaluar la consistencia del panel, sus diferencias y similitudes en el concepto de calidad, se empleó la puntuación de calidad global obtenida de la suma de los caracteres organolépticos. Se aplicó el ANOVA a tres factores a los datos de las cuatro muestras de vino replicadas y evaluadas por los 27 expertos. En el ANOVA se consideraron vino (W) y repetición (R) como factores fijos, los expertos (J)

factor aleatorio, así como sus correspondientes interacciones vino-expertos (W * J), vino-repetición (W * R) y experto-repetición (J * R).

Los resultados de aplicar el ANOVA a tres factores a los datos de calidad percibida por los expertos señalan que existen diferencias entre los jueces, este hecho es consecuencia de las diferencias interindividuales entre los participantes. El efecto réplica se mostró no significativo, entre las réplicas, indicando una evaluación consistente (Tabla 6.4).

Tabla 6.4. ANOVA a tres factores de la calidad percibida por los expertos para los vinos tintos de DOCa Rioja. Grados de libertad (gl), estadístico F y valores de *P*.

Factores	gl	F	*P*
Experto (J)	26	2.822	0.006
Vino (W)	3	17.076	<0.001
Replicas (R)	1	0.039	0.844
W*J	78	1.298	0.126
J*R	26	1.130	0.331
W*R	3	1.431	0.240

6.2.4.3 Prueba de categorización por un panel de consumidores

6.2.4.3.1 Panel de consumidores

El panel de consumidores estuvo formado por 85 consumidores (37 mujeres y 48 hombre entre 18 y 68 años, siendo la edad media 44.5 y la desviación estándar 12.16). Estas personas fueron reclutadas para participar en el estudio de vinos tintos crianza a través de diferentes medios de comunicación como internet, radio y cartelería. Los carteles fueron distribuidos por los edificios de la Universidad de La Rioja, así como en bares y restaurantes ubicados en Calahorra y Logroño. Los dos requisitos que debían cumplir cada participante para formar parte del panel fueron la de ser consumidor habitual de vino con una frecuencia de consumo de al menos una vez a la semana; y no tener o haber tenido ninguna relación con la elaboración y cata de vinos.

6.2.4.3.2 Procedimiento experimental

Los consumidores realizaron una prueba de categorización en base a la calidad percibida teniendo en cuenta el color, aroma, sabor y las sensaciones en boca de los

29 vinos en dos sesiones de 90 minutos de duración cada una. Cada consumidor evaluó entre 14 y 15 vinos por sesión. La evaluación se realizó en tres series de 4 ó 5 vinos, con pausas de 15 minutos entre series.

La finalidad de la prueba de categorización consistió en agrupar los vinos en cuatro categorías correspondientes a "muy baja calidad", "baja calidad", "alta calidad" y "muy alta calidad" (Sáenz-Navajas et al., 2013). El protocolo utilizado se muestra en el Anexo XVII.

6.2.4.3.3 Comportamiento del panel de consumidores

Los datos obtenidos de la prueba de categorización fueron codificados en una tabla de contingencia donde las filas fueron *i* vinos y las *p* columnas representaron las categorías de calidad “muy alta”, “alta”, “baja” y “muy baja”. Inicialmente, se aplicó la prueba de Friedman que confirmó que la frecuencia observada difirió significativamente de la frecuencia esperada (χ^2 = 97.034; P < 0.000), indicando que existía una tendencia estadísticamente significativa en la categorización de los vinos por parte de los consumidores. Posteriormente, se realizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon post-hoc acompañada de la corrección de Bonferroni, mostrando que entre las categorías "baja y alta calidad" no existían diferencias estadísticamente significativas, generándose por parte de los consumidores una tendencia al uso de una categoría intermedia o "calidad media", la cual no estaba especificada en la prueba.

Basados en investigaciones previas, a cada categoría de calidad se le asignó una calificación ascendente siendo "muy baja" (1 punto), "baja" (2 puntos), "alta" (3 puntos) y "muy alta" (4 puntos) (Sáenz-Navajas *et al.*, 2013). El índice de calidad para cada vino se cálculo como la media de las puntuaciones individuales proporcionadas por cada consumidor.

6.2.5 Análisis estadístico

6.2.5.1 Predicción de la calidad percibida mediante la regresión logística binomial

Los modelos logit pretenden identificar qué factores influyen en la probabilidad de que ocurra un determinado fenómeno cuando la variable dependiente tiene una naturaleza cualitativa y es dicotómica, mientras que las variables independientes pueden ser cualitativas o cuantitativas.

El objetivo general del modelo logit binomial es predecir si un determinado evento o suceso ocurrirá (o no), así como identificar las variables independientes útiles para hacer tal predicción (Verma, 2013, Pérez, 2013).

La probabilidad de ocurrencia del evento se calcula mediante una probabilidad condicional, mediante la siguiente expresión matemática:

$$P(Y=1 \mid x) = \frac{e^{\beta_o + \beta_i x}}{1 + e^{\beta_o + \beta_i x}}$$

Siendo, β_o, el termino independiente y $\beta_i x = \beta_{i1} x_1 + \beta_{i2} x_2 + ... + \beta_{in} x_n$ como la combinación lineal de las variables.

Con la finalidad de evaluar la relación entre los atributos aromáticos y en boca con la calidad percibida de consumidores, expertos y puntuaciones de guías se utilizó el modelo logit binomial. Para ello, inicialmente se estableció una valoración dicotómica de la calidad percibida por encima y debajo de la media. La codificación de la variable dependiente en el tratamiento de los datos, se consideró como "0" el valor de la muestra por debajo de la media y "1" el valor de la muestra por encima de la media.

En primer lugar, dada la naturaleza cualitativa de los atributos aromáticos y la naturaleza cuantitativa de los atributos en boca, se aplicaron dos métodos factoriales distintos; el CA para los atributos aromáticos y el PCA para los atributos en boca. Consecutivamente, se construyó una tabla de contingencia con los 29 vinos con *ij* filas y *rs* columnas. Cada fila *ij* correspondió a los vinos (i = 29) y a los panelistas

entrenados (j = 34), la columnas r y s correspondieron a las coordenadas factoriales obtenidas del CA y PCA, respectivamente. La celda (Z_{ijr}) fue la coordenada factorial de los atributos aromáticos (r) para un panelista (j) en un vino (i). De la misma manera, la celda (Z_{ijs}) fue la coordenada factorial de los atributos en boca (s) para un panelista (j) en un vino (i). En la misma tabla, se introdujo una columna correspondiente a la variable dependiente (y). Según fuese el caso de estudio, ésta representó la valoración dicotomizada de la calidad percibida bien de los expertos, los consumidores o las puntuaciones de las guías de vinos siendo la celda (Z_{iy}) la variable dicotomizada (y) para un vino (i).

En segundo lugar, se verificó la ausencia de multicolinealidad entre las variables causales. Para ello, se utilizaron diferentes criterios; coeficiente de correlación de Pearson entre las variables independiente, determinante de la matriz de correlaciones X'X, índice o número de condición propuesto por Belsley, (1991), que se obtiene a partir de la matriz X'X anteriormente citada, factor de incremento de la varianza propuesto por Kleinbaum *et al*., (1988) y por último el coeficientes de determinación de las regresiones en las cuales figura como variable endógena, sucesivamente, cada una de las variables independientes del modelo.

En tercer lugar, la estrategia seguida para construir los modelos logit con ausencia de multicolinealidad de las variables X, fue emplear el método "por pasos sucesivos", el cual elimina aquellas posibles causas analizadas que no generen efectos estadísticamente significativos, reduciendo así las variables independiente relevantes significativas con un $P < 0.05$. Por consiguiente para juzgar la bondad de ajuste del logit, así como para interpretar los parámetros fueron considerados los siguientes criterios:

a) *Criterios relativos a la bondad de ajuste del modelo*, se utilizó para cuantificar la capacidad explicativa del modelo (Amemiya, 1988, Cox and Snell, 1989, Nagelkerke, 1991, Mittlbock y Schemper, 1996, Menard, 2000, Faraway, 2006), entre ellos:

Test de la razón de verosimilitud G, midió la mejora de la bondad de ajuste del modelo en cada una de las sucesivas iteraciones que realiza el modelo para generar la solución óptima.

El coeficiente R^2 de Cox y Snell, se estimó a partir de la razón de verosimilitud del modelo básico y del modelo final, teniendo en cuenta el tamaño de la muestra. Este coeficiente tiene mayor fiabilidad como estimador de la capacidad explicativa de los modelos logit.

El coeficiente de determinación R^2 de Nagelkerke, este coeficiente sigue un planteamiento similar al de Cos y Snell.

Índice de la razón de verosimilitud Rho-cuadrado o pseudo, estimó un coeficiente similar al coeficiente de determinación R^2 de la regresión lineal. Es especialmente recomendable cuando el modelo incluye variables independientes cuantitativas continuas, como ocurre en el presente estudio.

b) *Criterios relativos a la naturaleza predictiva del modelo logit,* este criterio permitió destacar la capacidad para extrapolar los resultados obtenidos a partir de una serie de observaciones al conjunto del fenómeno analizado. En este sentido el número de predicciones acertadas es un indicador estadísticamente robusto (Horowitz and Louviere, 1993). La prueba χ^2 de Hosmer y Lemeshow (1980), es especialmente recomendada cuando las variables dependientes son continuas o métricas de razón, como es el caso de la presente estudio. Este criterio se utiliza buscando dos objetivos:

Primer objetivo, determinar si el modelo describe correctamente las valoraciones en la población de la que los datos fueron extraídos.

Segundo objetivo, determinar si un modelo estimado a partir de una población (guías de vino/expertos/consumidores/panelistas entrenados) describe correctamente las valoraciones efectuadas por otra muestra diferente.

c) *Criterios relativos a los coeficientes o parámetros de las variables causales presentes en el modelo*, se utilizó para medir la relación causal entre el

índice de utilidad estimado y las variables independientes (Schonfeld, 1983, Amemiya, 1988, Williams, 2006). En concreto se suelen utilizan:

Valor β del estadístico asociado a cada variable causal, midió la relación causal entre el índice de utilidad estimado y las variables independientes.

El test de la t de Student, proporcionó el grado de significación individual de cada uno de los parámetros.

Todos los análisis se llevaron a cabo con el programa SPSS (versión 19.0, SPSS Inc., Illinois, EEUU) y con el programa SPAD versión 5.5 (CISIA CESRESTA, Montreal, Francia).

6.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1 Fases del análisis de la información recabada sobre los vinos analizados

A fin de poder dar respuesta al principal objetivo de la investigación descrita en el presente capítulo, la primera fase del análisis de los datos descrito en la Figura 6.5 ha sido la recogida y, en su caso, ulterior transformación de la información utilizada para medir la calidad de los vinos analizados, para lo cual se ha de diferenciar entre: (i) la medición por parte del panel entrenado mediante atributos intrínsecos de calidad objetiva; y (ii) la evaluación de los atributos de calidad percibida por parte de los diferentes colectivos (Figura 6.4): guías de vino, expertos y consumidores. Asimismo, la información completa recabada a cada panel no se ha ceñido exclusivamente a la información arriba señalada, con independencia de los jueces de que se trate; la Tabla 6.5 refleja el conjunto de datos recabados.

Como refleja la Tabla 6.5, la información recabada tiene un origen heterogéneo. De un lado, se han obtenido valoraciones de atributos sensoriales tanto del panel entrenado como de los expertos; sin embargo, mientras el panel entrenado ha opinado acerca de los atributos en nariz y en boca, los expertos han seguido la conocida ficha de la OIV, por lo que además han valorado la parte visual a través de la limpidez y el color. De otro lado, se ha obtenido una valoración global del vino tanto de los expertos como de los consumidores y las guías de vino; no obstante, la metodología aplicada para definir la calidad percibida ha diferido sustancialmente para cada colectivo analizado; en el caso de los expertos, la valoración global de calidad percibida se ha obtenido como suma de las puntuaciones otorgadas a los caracteres organolépticos, dentro de un intervalo comprendido entre 40 y 100 puntos; para los consumidores, se ha realizado una prueba de categorización en una escala de 1 - 4 puntos; finalmente, en el caso de las guías de vino a fin de garantizar la objetividad de la medida, se han utilizado exclusivamente las puntuaciones de las guías a los vinos analizados.

La heterogeneidad de partida de la información recabada ha hecho necesario desarrollar un diseño polietápico de análisis de los resultados a fin de poder predecir

los juicios sobre calidad percibida por parte de los diferentes colectivo; el planteamiento seguido será descrito a continuación (Tabla 6.6).

Tabla 6.5. Medición de los atributos sensoriales y la calidad por parte del panel entrenado, las guías de vino, los expertos y los consumidores.

Jueces	Atributos sensoriales			Valoración global del vino	Vinos analizados	
	Vista	Aromas	Boca		Réplicas	Muestras
Entrenados n = 34	-	Ficha: atributos aromáticos	Ficha: Atributos en boca	-	4	N° de muestras: 29 Tipo: Tinto Crianza Lugar: DOCa Rioja
	-	Método: Frecuencia de citación	Método: Escala estructurada			
	-	Medición: 5 términos máximo	Medición: a) sabor y astringencia de 0 a 5 puntos b) intensidad y persistencia de 1 a 5 puntos			
	-	N° de atributos: 113	N° de atributos: 6			
Expertos n = 27	Ficha OIV: Limpidez Color	Ficha OIV: Intensidad Franqueza Calidad	Ficha OIV: Intensidad Franqueza Calidad Persistencia	Puntuación global Ficha OIV	4	
	Medición: en función a las notas de a) limpidez de 1 a 5. b) color de 2 a 10.	Medición: en función a las notas de a) intensidad de 2 a 8. b) franqueza de 2 a 6. c) calidad de 8 a 16.	Medición: en función a las notas de a) intensidad de 2 a 8. b) franqueza de 2 a 6. c) calidad de 10 a 22. d) Persistencia de 4 a 8.	Sumatoria de los caracteres organolépticos entre 40 y 100 puntos.		
Consumidores n = 85	X	X	X	Prueba de Categorización	-	
Guías de vino n = 8	-	-	-	Puntuación media de las guías	-	

- Parámetro no evaluado. X Parámetro evaluado.

1) Las variables predictoras proceden exclusivamente del panel entrenado y están formadas por las opiniones y valoraciones dadas exclusivamente a

los atributos en nariz y en boca, que han sido medidos de forma cualitativa y cuantitativa respectivamente. Además de su diferente naturaleza estadística, el número de variables era muy elevado en torno al centenar y podría existir información redundante, lo cual daría lugar a problemas derivados de la multicolinealidad entre las variables predictoras.

Por ello, se ha procedido a aplicar dos métodos factoriales con objeto de reducir el número de variables y, más importante, a fin de transformar las informaciones captadas del panel entrenado en factores equivalentes de naturaleza cuantitativa. La naturaleza de los datos de partida ha condicionado la metodología aplicada: en el caso de los atributos en nariz se ha aplicado la metodología del análisis de correspondencias (CA) por tratarse de datos cualitativos mientras que en el caso de los atributos en boca se ha utilizado el análisis de componentes principales (PCA) por ser datos de carácter cuantitativo. Además, la correlación existente entre los diferentes factores es cero, lo cual significa que la información contenida en cada factor no tiene ninguna redundancia con la existente en las restantes dimensiones procedentes del mismo método factorial; por ello, reduce la posibilidad de existencia de multicolinealidad entre las variables predictoras pero a cambio la información recogida en los factores será menor que la información original recogida en las respuestas de los jueces entrenados al realizar su cata.

2) Las variables dependientes han sido homogeneizadas a través de un proceso de dicotomización utilizando el criterio de la media aritmética. Por ello, la variable dependiente de los tres modelos de predicción tiene naturaleza cualitativa y dicotómica; este hecho tiene dos consecuencias: los modelos de predicción miden la probabilidad de ocurrencia de un suceso y el suceso analizado es si el vino valorado obtiene una valoración superior (inferior) a la media de las valoraciones otorgadas por los jueces de cada categoría analizada.

Tabla 6.6. Transformación de la información original para aplicar los modelos logit de predicción de la calidad percibida.

Variables predictoras (panel entrenado)		Variables predichas	
Atributos sensoriales	**Metodología**	**Jueces**	**Calidad percibida**
Atributos en nariz	Análisis de correspondencias (CA)	Guías de vino	Dicotomización de la puntuación media de cada vino en las 8 guías de vino.
Atributos en boca	Análisis de componentes principales (PCA)	Expertos	Dicotomización de la valoración global otorgada a cada vino tras su cata.
Descartar la existencia de multicolinealidad entre los factores que recogen los atributos en nariz y en boca.		Consumidores	Dicotomización de la categorización dada a cada vino durante la cata.

En el resto del capítulo se procederá a describir la forma en que se ha realizado la categorización de las variables dependientes; a continuación, se describirán los resultados de la aplicación de los métodos factoriales CA y PCA a los atributos en nariz y en boca así como el estudio de la posible multicolinealidad. Finalmente, se procederá a explicar los resultados de los tres modelos logit utilizados para predecir los juicios de las guías de vino, de los expertos y de los consumidores exclusivamente a partir de la información recabada al panel entrenado.

6.3.2. Medición de la calidad percibida (variables predichas)

6.3.2.1. Puntuaciones de calidad por las guías de vino

Los 29 vinos de la DOCa Rioja incluidos en el estudio han sido seleccionados, entre otros criterios, teniendo en cuenta que hubiesen sido escogidos y valorados por varias de las guías de vino incluidas en el estudio (Tabla 6.2). A partir de estos datos se ha estimado una puntuación media otorgada por el conjunto de guías a cada vino siguiendo los siguientes pasos:

a) En caso de ser valorados dentro de un intervalo, se ha adoptado el criterio de asignarles la puntuación superior del intervalo.

b) La puntuación media se ha realizado como media aritmética simple sin ponderar de las valoraciones recibidas de aquellas guías que han dado esta información para cada vino.

Tal como refleja la última columna de la Tabla 6.7, las puntuaciones medias de calidad para los 29 vinos que aportaron las 8 guías de vinos oscilaron desde 81.95 hasta 91.50 puntos, siendo la puntuación media 86.95 puntos y su desviación típica muy baja en relación a la media aritmética, en concreto 2.44 puntos.

Tabla 6.7. Puntuación media (PM) y dicotomización (D) de los vinos a partir de los valores dados por las Guías, Expertos y Consumidores (1 = por debajo de la media, 2 = por encima de la media)*.

Código	Puntuación media y dicotomización posterior de los vinos					
	Guías		Expertos		Consumidores	
	PM	D	PM	D	PM	D
696	85.33	1	68.81	2	2.36	2
511	87.25	2	75.11	2	2.45	2
541	81.50	1	79.48	1	2.35	1
416	85.33	1	70.59	1	2.13	1
342	88.00	2	75.56	1	2.47	1
110	81.50	1	67.96	2	2.45	2
195	87.50	2	76.81	2	2.69	2
850	86.50	1	73.78	2	2.41	2
936	84.50	1	71.59	1	2.11	1
368	84.00	1	73.54	2	2.01	2
714	84.00	1	66.00	2	2.20	2
258	88.00	2	67.59	1	2.46	1
752	88.50	2	70.26	2	2.53	2
788	89.00	2	72.44	1	2.46	1
985	86.50	1	80.00	2	2.05	2
211	91.50	2	71.39	2	2.27	2
975	87.75	2	73.15	2	2.62	2
637	89.75	2	73.48	1	2.54	1
582	84.67	1	67.44	2	2.47	2
27	88.00	2	65.48	1	2.27	1
169	89.00	2	75.07	1	2.62	1
853	88.80	2	69.19	2	2.56	2
731	86.33	1	70.37	2	1.94	2
773	89.00	2	69.26	1	2.44	1
804	89.00	2	73.26	2	2.28	2
66	87.00	2	74.33	1	2.28	1
531	86.33	1	64.63	1	2.32	1
910	91.00	2	65.81	1	2.20	1
774	86.00	1	64.26	1	2.35	1
Medias	86.95		71.26		2.35	

(*) Dado que en todos los casos la dispersión media de cada variable era inferior al 30% de la media aritmética, se ha procedido a dicotomizar los valores respecto a dicha media en lugar de aplicar el criterio alternativo de la mediana.

Con la finalidad de emplear los datos de las guías como una variable dependiente en la construcción de un modelo logit, el segundo paso consistió en realizar una dicotomización de las puntuaciones medias, estableciendo dos grupos de muestras, por encima y debajo de la media de 86.95 puntos. Así, ha resultado que el 44.4% de las muestras (n = 13 vinos), estuvieron por debajo de la puntuación media, mientras el 54.2% de los vinos (n = 16) estuvieron por encima de la media (Tabla 6.8).

Tabla 6.8. Dicotomización de las muestras de vino a partir de las puntuaciones de las guías, los expertos y los consumidores.

	Guías	Expertos	Consumidores
Rango de puntuaciones	80.0 – 91.5	64.3 – 80.0	1.9 -2.7
Valor medio	86.95 ± 2.7	71.26 ± 4.2	2.36 ± 0.19
% por encima de la media	54.20	51.01	51.72
Número de vinos por encima de la media	16	15	15
% por debajo de la media	44.40	48.90	48.30
Número de vinos por debajo de la media	13	14	14

6.3.2.2 Valoración de la calidad percibida por un panel de expertos

Aplicando el método de la OIV, los expertos que formaban parte del panel han valorado los 29 vinos analizados dentro de un amplio rango, que varía entre 64.26 y 80.00, puntos. La puntuación media de calidad otorgada por el conjunto de expertos a la totalidad de los vinos ha sido de 71.26 puntos y su desviación típica fue 4.21 puntos. Al ser la dispersión media relativamente baja en relación a la media aritmética, se procedió a dicotomizar las puntuaciones de calidad percibida de los expertos para ser utilizada como variable dependiente en un posterior modelo logit (predictivo) utilizando la media aritmética como frontera. Así, ha resultado que el 48.9% de los vinos analizados (n = 14), fueron clasificados por debajo de la media, mientras el 51.01% restante (n = 15 vinos) se situaron por encima de la media aritmética (Tabla 6.8).

Con el fin de evaluar si existían diferencias entre los 29 vinos del estudio teniendo en cuenta la valoración de calidad de los expertos se aplicó a las puntuaciones de los vinos con medidas repetidas el ANOVA a un factor encontrando diferencias significativas ($F = 6.334$; $P < 0.001$). Por tanto, los expertos han detectado

diferencias significativas de calidad entre los 29 vinos catados y valorados, lo cual puede ser considerado como una valoración discriminante de la calidad percibida para los expertos.

6.3.2.3 Evaluación de la calidad percibida por un panel de consumidores

Los consumidores realizaron una valoración dentro de una escala de 1 a 4 puntos de los 29 vinos analizados. Las puntuaciones medias de los vinos variaron entre 1.94 y 2.69 puntos, siendo la valoración media del conjunto de vinos de 2.36 puntos y su desviación típica 0.187 puntos. Dada la baja dispersión relativa de los datos, se procedió a dicotomizar cada vino en función de que su valoración media estuviese por encima o por debajo de la mencionada media aritmética. De esta forma resultó que el 48.27% de los vinos analizados (es decir, 14 vinos) se agrupasen por debajo de la media, mientras que el restante 51.72% (15 vinos) se incluyó en el grupo de vinos con valoración superior a la media aritmética (Tabla 6.8). Esta variable será posteriormente utilizada como variable a predecir en el correspondiente modelo logit aplicado para detectar los atributos sensoriales más relevantes de este colectivo.

A fin de evaluar si existían diferencias entre los distintos vinos teniendo en cuenta la valoración de calidad de los consumidores se aplicó a las puntuaciones de los vinos con medidas repetidas el ANOVA a un factor encontrando diferencias significativas ($F = 3.525$; $P < 0.000$). Por consiguiente, los consumidores han detectado diferencias significativas de calidad entre los 29 vinos evaluados, lo cual puede ser considerado como una valoración discriminante de la calidad percibida para los consumidores que conforman el panel.

Por último, la Tabla 6.7 resume la puntuación media otorgada por los paneles de consumidores y de expertos así como por las guías de vinos a cada uno de los 29 vinos analizados. Adicionalmente, se ha incluido el grupo en el que se ha clasificado cada vino con los criterios de dicotomización anteriormente expuestos. A partir de esta información se puede afirmar que los consumidores y los expertos incluyen exactamente los mismos vinos dentro de los grupos con calidad inferior o superior a la media, lo cual refleja que su orden jerárquico es coincidente. Sin embargo, aunque

aparentemente las guías de vino incluyen sólo un vino más dentro del grupo de vinos considerados de calidad relativamente alta ("superiores a la media") éstas realizan una ordenación jerárquica sustancialmente diferente que los paneles de expertos y de consumidores. Primero, sólo 12 de los 29 vinos coinciden en su valoración respecto a dichos paneles. Segundo, los restantes 17 vinos varían en su consideración: 9 vinos que consumidores y expertos consideran de calidad relativamente alta son incluidos en el grupo de vinos puntuados con valores inferiores a la media por parte de las guías de vinos; además, los 8 vinos restantes que consumidores y expertos evalúan por debajo de la media son considerados por las guías como vinos de calidad (relativamente) alta.

6.3.3 Análisis sensorial por un panel entrenado (variables predictoras)

La siguiente etapa del análisis de resultados recogido en la Figura 6.5 consiste en la extracción de los factores o dimensiones latentes que utiliza el panel entrenado para valorar y evaluar los 29 vinos analizados. Con objeto de obtener las variables predictoras que serán utilizadas ulteriormente en los modelos logit se ha procedido como sigue: (i) aplicar el método factorial de correspondencias (CA) a los atributos en nariz dado que la información de partida tenía naturaleza cualitativa; (ii) aplicar la técnica factorial de componentes principales (PCA) a los atributos en boca por ser los datos originales de naturaleza cuantitativa; (iii) verificar que los atributos sensoriales analizados conjuntamente carecen de multicolinealidad entre sí, requisito de gran relevancia para aplicar adecuadamente los modelos logit binomiales. Los subepígrafes siguientes describirán cada una de las fases citadas.

6.3.3.1 Análisis sensorial del aroma de los vinos

Una vez evaluada la reproducibilidad de los resultados relativos a los atributos sensoriales en nariz del panel entrenado, se procedió a analizar la descripción aromática de los 29 vinos, la cual fue realizada exclusivamente por vía ortonasal. Se procedió a generar una tabla de contingencia con ij filas y k columnas, siendo i los 29 vinos, j los 34 panelistas y k = 113 descriptores aromáticos; para tener un número mínimo suficiente de casos en cada casilla, se procedió a eliminar los términos

escasamente citados por el panel, aplicando el criterio de que para retener un descriptor éste hubiese sido citado al menos por el 15% de los miembros del panel entrenado, es decir, al menos cinco participantes (Anexo XVIII). Tras el proceso de depuración de la información descrito, la nueva tabla de contingencia ha estado formada por *ij* filas y *k* columnas, siendo *i* los 29 vinos, *j* los 34 panelistas y *k* = 88 descriptores aromáticos citados con la frecuencia mínima de cinco casos. Cada celda (Z_{ik}) recogió la frecuencia de citación dada para los *k* descriptores aromáticos en los *i* vinos.

Se aplicó un CA a la tabla de contingencia depurada, aplicando la ley de Kaiser para la obtención de los factores; así, se obtuvieron 41 factores que resumen los descriptores sensoriales en boca, los cuáles explican el 62.09% de la varianza total. A fin de transmitir con mayor claridad los resultados relevantes, se ha optado por incluir en el Anexo XIX exclusivamente las coordenadas factoriales de los atributos aromáticos y referirlas exclusivamente a aquellos factores que hayan resultado significativos en alguno de los modelos predictivos que se expondrán en el siguiente epígrafe. Por tanto, en la Tabla 6.9 se ha conformado exclusivamente con la interpretación sensorial de los factores 1, 7, 11 y 17 (variables predictoras de las valoraciones de calidad realizadas por el panel de expertos) y de los factores 2, 5 y 40, que han resultado predictores relevantes de los juicios realizados por el panel de consumidores.

El plano factorial resultante del CA indicó que la proyección de las muestras repetidas fueron descritas de forma similar; dada la similitud de las cargas factoriales en las muestras de vino replicadas en el estudio, se seleccionó aleatoriamente uno de los vinos replicados para posteriores tratamientos de datos.

La proyección de los *i* vinos, *j* panelistas entrenados y *k* descriptores en los dos primeros factores del plano bidimensional del CA pueden observarse en la Figura 6.6. Estos dos primeros factores acumularon el 4.77% de la varianza total, consecuencia de la fuerte atomización existente entre las dimensiones latentes resultantes del CA. El primer factor explicó el 2.53% de la varianza, opone los términos de "frutas negras", "frutos rojos", "madera", "animal", "especias", "azufre" y

"alcohol" a los términos de "ciruela", "café torrefacto", "manzana cocida" y "frutas cocidas/confitadas".

El segundo factor explicó el 2.24% de la varianza total, opone las notas de la familia "vegetal" (pimiento, alubia verde, esparrago, patata cocida), "animal" (pelo mojado y transpiración) y "sotobosque" (moho) a los términos aromáticos de las familias "frutas negras", "madera" y "vainilla".

Tabla 6.9. Términos aromáticos de los factores con contribución relativa positiva y negativa a la formación de cada factor del CA y construcción de modelos logit.

	Contribución relativa	
Factor	**signo positivo**	**signo negativo**
1	FRUTA PASA SECA (ciruela) TOSTADO (café torrefacto) Manzana cocida Frutas cocidas/confitadas FRUTAS NEGRAS (arándano)	FRUTAS NEGRAS FRUTOS ROJOS MADERA ANIMAL OTROS (alcohol, azufre) ESPECIAS
2	VEGETAL (alubia verde, esparrago, coliflor, oliva, patata cocida) ANIMAL (pelo mojado, transpiración)	FRUTAS NEGRAS MADERA VEGETAL (pimiento)
5	VEGETAL (oliva, patata cocida)	Manzana cocida VEGETAL (coliflor) FLORAL (rosa) FRUTAS EXÓTICAS (plátano/caramelo ingles) FRUTAL
7	FRUTAS BLANCAS SOTOBOSQUE (moho) ANIMAL ESPECIAS (mentol, anís/hinojo)	VEGETAL (pimiento y hierba)
11	FRUTAS BLANCAS (pera y manzana)	FRUTOS ROJOS (frambuesa) VEGETAL (heno/hojas secas) Sidra TOSTADO
17	FRUTAS BLANCAS FRUTAS AMARILLAS (albaricoque/melocotón) VEGETAL (alcachofa) ESPECIAS (tomillo) OTROS (pegamento ½)	ANIMAL (cuero) OTROS (lácteo)
40	FRUTOS ROJOS (fresa) VEGETAL (tabaco fresco) FRUTA PASA SECA (higos secos) SOTOBOSQUE (humus/tierra) OTROS (chocolate)	FRUTAS EXÓTICAS ANIMAL (fumé/avecrem) SOTOBOSQUE (moho) ESPECIAS

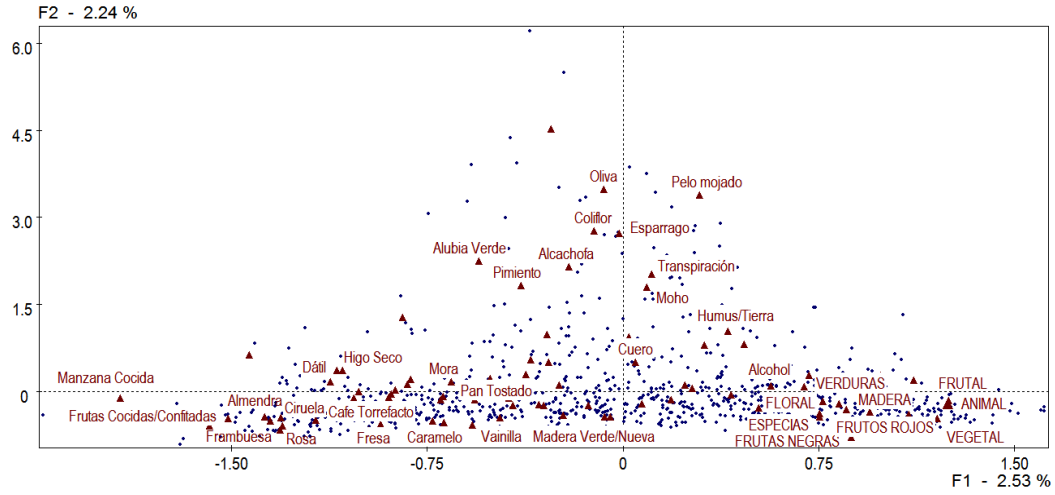


Figura 6.6. Proyección de los vinos, *j* panelistas entrenados y *k* descriptores en los dos primeros factores del plano bidimensional del CA.

6.3.3.2 Análisis sensorial de los atributos en boca

Tal como refleja la parte C del Anexo XIV, los consumidores debían valorar en una escala de 5 puntos la intensidad de seis atributos en boca para los 29 vinos: dulzura, acidez, amargor, astringencia, intensidad global y persistencia.

Con el fin de evaluar si existían diferencias significativas entre los vinos del estudio para los atributos evaluados en boca se calculó un ANOVA de un factor con medidas repetidas para los seis atributos en boca ya citados. El efecto vino fue significativo para el amargor (F = 2.297; P < 0.000), la astringencia (F = 3.465; P < 0.000), la intensidad global (F = 1.723; P = 0.012) y la persistencia (F = 2.921; P < 0.000), no siendo así para la acidez (F=0.927, P = 0.575). Este hecho indica que la acidez no es atributo útil para establecer diferencias entre las muestras estudiadas y por lo tanto no será considerado en análisis posteriores, tanto PCA como modelo logit.

Tras aplicar el PCA, los resultados relativos al atributo dulzor (jueces en columnas y vinos en filas), que había dado resultados correctos al analizar su validación mediante la técnica ANOVA, no han sido satisfactorios. Al proyectar los jueces sobre el plano factorial se mostraron excesivamente dispersos (Figura 6.7). Las diferencias en la interpretación del dulzor pueden ser debidos a múltiples factores fisiológicos, interacciones químicas, psicológicas y cognitivas (Keast y Breslin, 2003,

Etaio, 2007). En base a los resultados descritos anteriormente el atributo dulzor no se consideró en los análisis de datos posteriores.

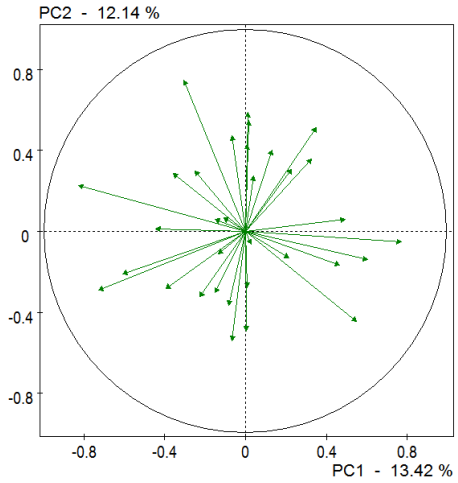


Figura 6.7. Proyección de los jueces en el plano factorial para el atributo dulzor.

A partir de los resultados previos se volvió a aplicar la metodología PCA, con el criterio de la ley de Kaiser para la generación de las dimensiones latentes, a pero solamente a los cuatro atributos en boca significativos: astringencia, amargor, intensidad global y persistencia. La matriz de datos está formada por *ij* filas y *t* columnas, siendo *i* los 29 vinos, *j* los 34 panelistas y *t* = 4 los cuatro atributos en boca ya citados. Así, se han obtenido dos factores que acumularon el 54.50% de la varianza total. En la Tabla 6.10 se exponen los atributos en boca correlacionados negativa y positivamente para cada componente, pudiendo consultarse las cargas factoriales en el Anexo XX. De hecho, en el plano bidimensional formado por la proyección de las dos primeras componentes (Figura 6.8), la primera componente explicó el 29.48 % de la varianza, y se encontró positivamente correlacionada con la persistencia (70%) y la intensidad global (69%). La segunda componente explicó el 25.03% de la varianza, y estuvo positivamente correlacionada con el amargor (81%) y en menor medida con la astringencia (43%).

Tabla 6.10. Atributos en boca correlacionados negativa y positiva a la formación de cada componente del PCA.

PC	Correlación	
	Positiva	**Negativa**
1	Persistencia	-
	Intensidad global	-
2	Amargor	-
	Astringencia	-

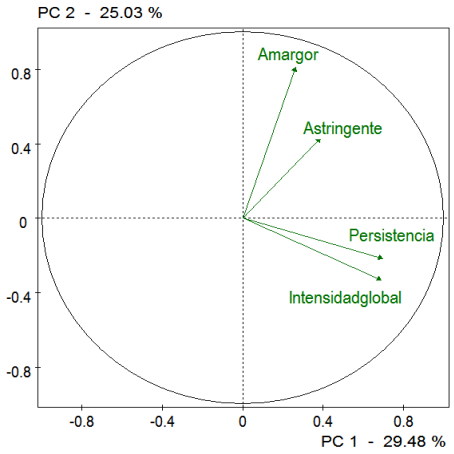


Figura 6.8. Proyección de los atributos en boca en el plano factorial obtenido del PCA

6.3.3.3 Multicolinealidad

El último estadio de análisis a realizar previamente al estudio de los modelos de predicción es la posible existencia de problemas de especificación del modelo debido a la existencia de multicolinealidad entre las variables independientes, las cuáles serán los 41 factores que reflejan los atributos en nariz y los 2 factores que recogen los atributos en boca, todas ellas referidas al panel entrenado.

La multicolinealidad se produce cuando una variable independiente (X) es combinación lineal, en su totalidad o en una parte elevada, de otras variables independientes. Las causas más frecuentes de la multicolinealidad son (Novales, 1993): (a) la existencia de relación causal entre algunas variables independientes del modelo; (b) el reducido tamaño de la muestra; (c) la escasa variabilidad de las observaciones relativas a las variables independientes. Asimismo, los efectos más relevantes son los siguientes: (1) es difícil estimar separadamente los efectos individuales de cada variable independiente sobre la variable a explicar o a predecir;

(2) se tiende a sobreestimar la bondad de ajuste o capacidad explicativa del modelo; (3) las estimaciones de los coeficientes de las variables independientes tienden a presentar signos distintos de los que deberían dar y asimismo alcanzan magnitudes poco razonables; (4) pequeñas variaciones en los datos provocan grandes modificaciones en las estimaciones de los coeficientes. En definitiva, es necesario verificar la no existencia de multicolinealidad a fin de que los resultados de los modelos logit sean robustos y no estén afectados por problemas de tamaño y/o de composición de la muestra.

El análisis de la posible existencia de multicolinealidad se ha realizado conjuntamente para todos los atributos sensoriales procedentes del panel entrenado, es decir, para los 41 factores que recogen atributos en nariz y para las 2 dimensiones que reflejan dimensiones en boca de los vinos analizados. Siguiendo las recomendaciones de Neter *et al.*, (1990), se han verificado de forma sucesiva los siguientes aspectos:

1) Los coeficientes de correlación de Pearson entre las 43 variables antes citadas oscilaron entre -0.093 y +0.110, lo cual es un signo de la ausencia de asociación entre las variables independientes consideradas de forma bivariada.

2) Se examinó el determinante de la matriz de correlaciones X'X mediante un proceso iterativo, incluyendo una variable adicional en cada fase. Los resultados obtenidos fueron siempre sustancialmente distintos de 0, siendo los valores obtenidos iguales o superiores a 0.693.

3) A continuación se estimó el índice o número de condición obtenido a partir de la matriz X'X ya mencionada, siendo el valor más alto obtenido para todas las variables independientes 1.440, un valor muy alejado del valor mínimo 20 propuesto por Belsley, (1991) para que pueda afirmarse que existen problemas de multicolinealidad parcial.

4) Seguidamente se estimaron los factores de incremento de la varianza (FIV), también llamados factores de inflación de la varianza; los

resultados obtenidos oscilaron entre 1.011 y 1.082, valores muy alejados del valor mínimo de 5 propuesto por Kleinbaum et al., (1988).

5) Por último, se realizó la regresión de cada una de las variables independientes sobre el resto, es decir, modelos causales en los que cada variable independiente se plantea como función lineal de las restantes variables independientes. Una vez hechas las 43 regresiones lineales, se ha visto que los coeficientes de determinación de cada regresión son extremadamente bajos, estando comprendidos entre un mínimo de 0.001 y un máximo de 0.033.

A la luz de los resultados descritos se puede descartar la ausencia de multicolinealidad entre las variables independientes, lo cual avala la realización de los modelos logit y, además, nos indica que el reducido número de componentes del panel entrenado no afecta significativamente a la estimación de los parámetros por dichos modelos.

6.3.4 Predicción de la calidad de distintos grupos de colectivos vinculados con el mercado del vino mediante la aplicación de modelos logit

En esta última fase de resultados se describirán los resultados de los modelo logit estimados, los cuáles intentan predecir los atributos sensoriales derivados del panel entrenado que influyen en las puntuaciones de las guías de vinos, así como en la calidad percibida de expertos y consumidores.

En los tres modelos logit desarrollados, las variables independientes consideradas fueron las mismas: los valores otorgados por cada individuo a cada vino para los 43 factores resultantes del CA y del PCA, obtenidas de la descripción aromática y en boca de los vinos por un panel entrenado. En cuanto a la variable dependiente a predecir es el valor dicotomizado de la calidad percibida del vino según las puntuaciones de las guías de vino, según las valoraciones de los expertos y según las opiniones de los consumidores, respectivamente. Finalmente, señalar que se ha utilizado el método recomendado de etapas sucesivas (*step-by-step*) a fin de mejorar la parsimonia del modelo resultante, es decir, que sólo se incluyan aquellas

variables predictoras con una influencia significativa sobre la valoración de los vinos por parte de las guías de vinos, del panel de expertos y del panel de consumidores; se han utilizado los niveles estándar de inclusión ($P < 0.05$) y de exclusión ($P > 0.10$) de las variables en el modelo final. Este procedimiento tiene la ventaja de que ayuda al análisis de datos en la medida en que focaliza la atención sobre un menor número de variables que, además, son las que dan lugar a que la variable dependiente asuma uno de los dos estados (Novales, 1993), es decir, realicen una valoración de calidad percibida relativamente alta o baja. Asimismo, se han estimado los parámetros mediante el procedimiento de máxima verosimilitud.

La exposición de los resultados de los modelos logit se realizará en tres fases: descripción del modelo predictivo testado, exposición de los resultados estadísticos obtenidos y, por último, interpretación sensorial de los resultados con la subsiguiente discusión de los mismos.

6.3.4.1 Predicción de las puntuaciones de las guías de vino

A partir de las puntuaciones medias otorgadas por las ocho guías de vino analizadas a los 29 vinos (Tabla 6.2), se obtuvo un valor medio de 86.95 puntos. Dichas valoraciones son una medida de calidad percibida exógena a la bodega productora que puede influir significativamente sobre las decisiones de compra de los consumidores (Barbe y Durrieu, 2005).

Al dicotomizar las puntuaciones en base a dicha media, los dos sucesos o valores que puede adoptar la variable dependiente es que en conjunto las guías de vino otorgarán una puntuación relativamente alta a cada vino (si su valoración es superior a 86.95 puntos) o relativamente baja (si es inferior a la media). Por tanto, se analiza en qué medida las puntuaciones otorgadas por un panel entrenado permite predecir las puntuaciones medias de las guías a cada vino (Figura 6.9).

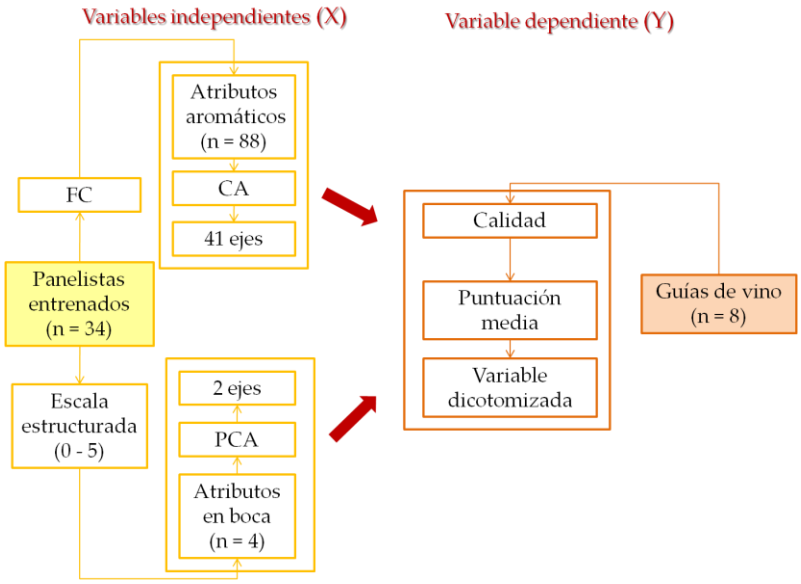


Figura 6.9. Esquema del modelo logit aplicado a la predicción de las puntuaciones aportadas por ocho guías de vino medidas por la influencia de atributos sensoriales descritos por un panel entrenado.

Los resultados estadísticos han sido resumidos en la Tabla 6.11. Una peculiaridad de los modelos logit binomiales, y de otros métodos de esta familia como los modelos multinomiales, es el hecho de que tienen tanto indicadores de bondad de ajuste, que reflejan la capacidad explicativa del modelo testado, como estimadores de la capacidad predictiva. Entre los primeros están el coeficiente R^2, la razón de verosimilitud, el coeficiente R^2 de Cox y Snell y el coeficiente R^2 de Nagelkerke; todos ellos oscilan entre 0 y 1, es decir, entre el 0 y el 100%; aunque es habitual que no presenten resultados idénticos, en el presente modelo su valor es siempre inferior al 6% por lo que se puede afirmar que su capacidad explicativa es muy baja, reflejando que la valoración alta o baja de las guías no está formada como una combinación ponderada de los atributos en nariz y en boca dada por los miembros del panel entrenado, algo lógico por otra parte. En cuanto a los indicadores de capacidad predictiva se ha de analizar en primer lugar la prueba o test de Hosmer y Lemeshow, (1989), especialmente significativa cuando todas las variables predictoras son de naturaleza cuantitativa: se cumple la hipótesis nula según la cual el modelo ajusta bien los datos y obtiene estimadores robustos de los parámetros. El segundo indicador muestra el resultado global de las tablas de contingencia que

comparan: (a) el tipo de vino en que realmente ha sido clasificado a partir de la dicotomización de las puntuaciones promedio obtenidas por parte de las guías de vinos; y (b) el tipo de vino predicho a partir de la estimaciones de los parámetros para las variables predictoras que hayan resultado significativas en el modelo logit. En nuestro caso, existe una coincidencia entre la realidad analizada y la predicción hecha en el 55.2% de las observaciones. Por tanto, existe una paradoja: el modelo tiene una bondad de ajuste relativamente baja y simultáneamente una capacidad predictiva relativamente alta ya que acierta en la mayoría de las ocasiones, aunque se trate de una magnitud mejorable.

Tabla 6.11. Resultados del modelo de regresión logística para la puntuación media dicotomizada proporcionado por las guías de vino.

Variables independientes	Coeficiente β	Nivel de significación (*P*)	Exp (β)	Estadístico de Wald
Componente 2	0.136	0.035	1.146	4.460
Constante	0.209	0.001	1.232	10.559

Capacidad explicativa	**Pseudo-R^2:**	**Razón de verosimilitud:**	**R^2 de Cox y Snell:**	**R^2 de Nagelkerke:**
	0.45%	0.73%	5	6
Capacidad predictiva	**55.2% global de casos correctamente pronosticados**			
	Prueba de Hosmer y Lemeshow:			
	χ^2: 5.897		**gl**: 8	***P***: 0.659

gl: grados de libertad

El modelo resultante ha sido expuesto en la parte superior de la Tabla 6.11. El coeficiente β mostró una positiva y significativa relación únicamente con el segundo componente del PCA, que está correlacionado con el amargor y la astringencia (cargas factoriales respectivas de 0.81 y 0.43). Por tanto, se ha obtenido que sólo una variable que refleja parte la valoración en boca realizada por el panel entrenado es capaz de predecir más de la mitad de las ocasiones si tendrá una valoración relativamente alta (o no) por parte de las guías de vino analizadas.

La formulación matemática del modelo final refleja que los modelos logit predicen la probabilidad de que las guías de vino analizadas otorguen en promedio

una puntuación por encima de la media en los vinos objeto de estudio viene dada por la siguiente expresión matemática:

$$Probabilidad\ (Y = 2) = \left[\frac{e^{0.136\,PC2 + 0.209}}{1 + e^{0.136\,PC2 + 0.209}} \right]$$

Y = 1 significa que las guías de vino otorgan al vino una puntuación de los vinos inferior a la media.
Y = 2 significa que la guía de vino puntúan a un determinado vino por encima de la media aritmética.

Por tanto, el signo positivo del parámetro y la ecuación anterior muestran como a mayores niveles de astringencia pero sobre todo de amargor el vino tiene mayor probabilidad de ser incluido entre los vinos con puntuación superior a 86.95 puntos. Para una correcta interpretación de la expresión matemática, se ha de tener en cuenta que el modelo logit realiza sus estimaciones comparando exclusivamente los 29 vinos analizados; por ello, el carácter predictivo del componente PC2 está asociado a mayores dosis de los citados atributos en boca en comparación con los que niveles de amargor y astringencia del resto de vinos objeto de estudio (Tabla 6.12). Además, los valores de las cargas factoriales obtenidas en el PCA nos indican que el amargor es casi el doble de importante que la astringencia en lo que se refiere a maximizar la posibilidad de que las guías de vino tiendan a darle valores más elevados.

Tabla 6.12. Interpretación sensorial del modelo logit para predecir las puntuaciones de las guías de vino.

Variable predictora	Vinos valorados	
	Por debajo de la media	Por encima de la media
Componente 2 (+)	-	Amargor Astringencia

Los resultados obtenidos contrastan con el estudio de Machado y Graca, (2011) para vinos tintos con puntuaciones superiores a 90 puntos otorgados por la guía de Robert Parker; al aplicar la metodología de sistemas de ecuaciones estructurales mediante mínimos cuadrados parciales (PLS) a la descripción y valoración sensorial realizada por un panel entrenado en tanto que predictor de las valoraciones

realizadas por el crítico de vinos citado obtuvieron resultados divergentes; en concreto, en su estudio las variables predictoras incluían tanto notas aromáticas ("frutas negras", "frutas rojas", "aromas florales", "especias", "madera" y "chocolate") como atributos en boca ("persistencia", "acidez" y "dulzor"). Lógicamente, los resultados comparativos con otros estudios pueden variar dado que la percepción global de la calidad del vino está influenciada no sólo por factores intrínsecos sino también extrínsecos como la propia experiencia de degustación-, que influyen directamente tanto sobre las expectativas de los jueces y, por tanto, en sus valoraciones de la calidad percibida de los vinos (Charters y Pettigrew, 2007).

6.3.4.2 Predicción de la calidad percibida por el panel de expertos

El segundo modelo predictivo realizado ha consistido en aplicar la metodología logit binomial (también denominada regresión logística) para predecir las valoraciones de calidad percibida realizadas por el panel de expertos a partir de las mismas variables independientes utilizadas en el modelo anterior, es decir, los atributos en boca y en nariz del panel entrenado (Figura 6.10). En este caso, la dicotomización de las puntuaciones medias de calidad percibida realizadas por los expertos se realizó para la "frontera" de 71.06 puntos, obtenidos como suma de los rasgos organolépticos valorados en la ficha de la OIV, que incluye valoraciones tanto de los aspectos aromáticos y gustativos como de los de naturaleza visual, no tenidos en cuenta en el panel entrenado.

Los indicadores de la bondad de ajuste (Tabla 6.13) varían entre el 2.97% del coeficiente Pseudo-R hasta el 18.84% del coeficiente o razón de verosimilitud (-2LL en la literatura anglosajona); por tanto, la capacidad explicativa es más alta que en el modelo predictivo de las puntuaciones otorgadas por las guías de vino. Aunque los valores no son elevados, esta información nos indica que las variables tenidas en cuenta para valorar los vinos y su importancia relativa son más parecidos, o menos diferentes si se prefiere, entre el panel de expertos y el panel entrenado que entre éste último y los autores de las guías de vinos.

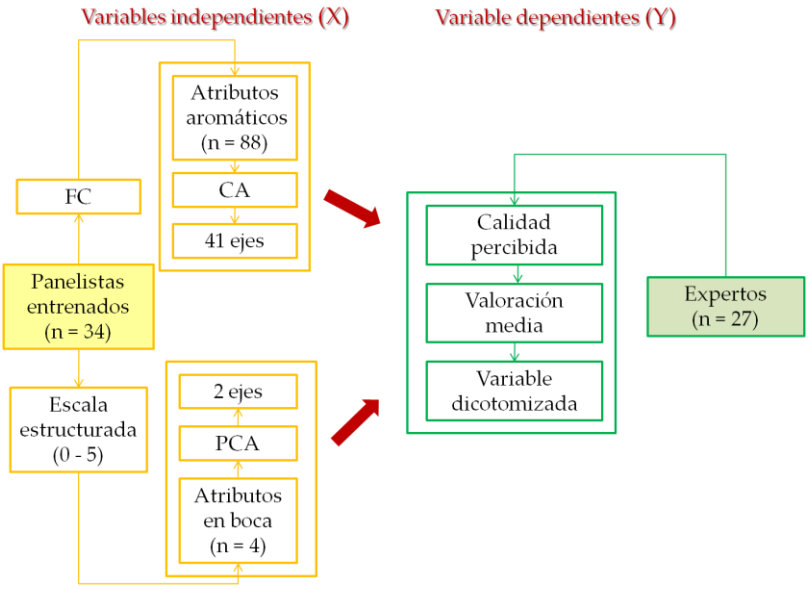


Figura 6.7. Modelo logit de predicción de calidad percibida por un grupo de expertos a partir de los atributos en nariz y en boca descritos por un panel entrenado.

En cuanto a los indicadores de capacidad predictiva recogidos en la parte inferior de la Tabla 6.13, éstos son sustancialmente mejores que los indicadores de capacidad explicativa del modelo. En concreto, se acepta la hipótesis nula en el test de Hosmer y Lemeshow (*P*: 0.384 > 0.05) y el porcentaje de casos correctamente predichos asciende al 57,3%, levemente superior al obtenido en el modelo predictivo aplicado a las puntuaciones de las guías de vinos.

Tabla 6.13. Resultados del modelo de regresión logística para la calidad percibida de los expertos.

Variables independientes	Coeficiente β	Nivel de significación (*P*)	Exp (β)	Estadístico de Wald
Factor 1	-0.266	0.001	0.767	10.766
Factor 7	0.213	0.023	1.238	5.182
Factor 11	0.195	0.040	1.215	4.229
Factor 17	-0.307	0.002	0.736	9.141
Constante	0.050	0.443	1.051	0.588

Capacidad explicativa	**Pseudo-R^2:** 2.97%	**Razón de verosimilitud:** 18.84%	**R^2 de Cox y Snell:** 30	**R^2 de Nagelkerke:** 40
Capacidad predictiva	**57.3% global de casos correctamente pronosticados**			
	Prueba de Hosmer y Lemeshow:			
	χ^2: 8.522	**gl** : 8		***P*** : 0.384

gl: grados de libertad.

En cuanto a las variables predictoras estadísticamente significativas, han resultado ser cuatro, todas ellas factores obtenidos del CA realizado sobre los atributos aromáticos: los factores 1, 7, 11 y 17. Los coeficientes β deben ser interpretados como una medida de la importancia relativa otorgada a cada atributo sensorial por los panelistas por lo que cuanto mayor sean en términos absolutos mayor es la importancia de los atributos sensoriales involucrados como variable predictora (Alvelos y Cabral, 2007).

La expresión matemática del modelo es:

$$P(Y=2)=\left(\frac{e^{-0.266Factor1+0.213Factor7+0.195Factor11-0.307Factor17+0,050}}{1+e^{-0.266Factor1+0.213Factor7+0.195Factor11-0.307Factor17+0,050}}\right)$$

Y = 1 El panel de expertos otorgan al vino una valoración de los vinos inferior a la media aritmética.
Y = 2 El panel de expertos valora un determinado vino por encima de la media.

El principal hecho destacable es que las variables predictoras son únicamente atributos en nariz del vino procedentes del análisis CA previo. Al ser la relación entre las variables predictoras y la variable dependiente no lineal (curva logística), la interpretación es más compleja que en los modelos lineales. No obstante, los coeficientes β en términos absolutos muestran las dimensiones que son más relevantes para predecir las valoraciones del panel de expertos. En este caso, se trata de los factores 17 y 1, citados en orden decreciente de importancia; el signo negativo implica que existe una relación inversa entre las magnitudes del factor y la valoración predicha para el panel de los expertos por lo que cuanto más asocie el panel entrenado ciertos aromas con los vinos, menos probable es que los expertos realicen una valoración elevada de los mismos; la afirmación contraria también es correcta: a menor valor del factor mayor perspectiva de obtener una alta puntuación por parte del panel de expertos.

Para aclarar la interpretación sensorial de los resultados, se ha realizado la Tabla 6.14, que resume los resultados obtenidos. Para la confección de dicha tabla se han seguido los siguientes criterios: (a) disposición vertical de los factores en orden decreciente de importancia; (b) de forma similar, los diferentes atributos aromáticos

que sobresalen en la composición de cada factor se han dispuesto verticalmente de mayor a menor intensidad en la asociación, de acuerdo con sus cargas factoriales; (c) la asociación entre los atributos en nariz y la calidad percibida de los vinos por parte del panel de expertos se ha realizado teniendo en cuenta tanto el signo tanto de la carga factorial obtenida en el CA como el coeficiente β del modelo logit; (d) el atributo citado por el panel entrenado figura en tono más oscuro mientras que en tono más claro figura la familia de aromas a la que pertenece; dado que se podían dar respuestas de diferente nivel, unas más concretas (si se identificaba por ejemplo el aroma "alcachofa")u otras de carácter más general (si sólo se llegaba a identificar la familia "vegetal"), cuando la respuesta ha sido la propia familia, ésta es la información en trazo más oscuro que figura en la tabla.

Tabla 6.14. Interpretación sensorial del modelo logit para predecir las valoraciones del panel de expertos.

Variable predictora	Por debajo de la media	Por encima de la media
Factor 17 (-)	ANIMAL (cuero) OTROS (lácteo)	FRUTAS BLANCAS OTROS (pegamento ½) ESPECIAS (tomillo) VEGETAL (alcachofa) FRUTAS AMARILLAS (albaricoque/melocotón)
Factor 1 (-)	Frutas Cocidas/Confitadas FRUTA PASA SECA (ciruela) TOSTADO (café torrefacto) Manzana cocida	ANIMAL OTROS (azufre) MADERA FRUTOS ROJOS FRUTAS NEGRAS (arándanos) OTROS (alcohol)
Factor 7 (+)	VEGETAL (pimiento) VEGETAL (hierba) ANIMAL	ESPECIAS (anís/hinojo, mentol) SOTOBOSQUE (moho) FRUTAS BLANCAS
Factor 11 (+)	FRUTOS ROJOS (frambuesa) VEGETAL (heno/hojas secas) TOSTADO Sidra	FRUTAS BLANCAS (pera) FRUTAS BLANCAS (manzana)

¿Qué atributos en nariz de los vinos identificados por el panel entrenado son indicadores de una valoración de calidad percibida relativamente alta por parte del panel de expertos?.A la vista tanto de la Tabla 6.14 como de la importancia relativa de cada atributo a la luz del CA y del modelo logit binomial, destacan en orden decreciente de importancia sobre todo las "frutas blancas" siendo la pera quien tiene

una ponderación más importante las "especias" (concretamente el anís/hinojo y el mentol) y las "frutas negras" (en concreto arándanos).

De forma similar, los atributos aromáticos que cuanto más los cita el panel entrenado que permiten predecir una mayor probabilidad de que obtengan una valoración de calidad percibida relativamente baja por parte del panel de expertos son aromas "frutales", "sidra", " madera", "tostado", aromas a"heno/hoja seca" y a frambuesa.

Hasta el momento, las investigaciones basadas en predecir o explicar la calidad evaluada por expertos a partir de datos sensoriales han utilizado PLS, regresiones lineales múltiples y correlaciones de Pearson; sólo conocemos el estudio de Alvelos y Cabral, (2007) que aplica los modelos logit binomiales para determinar la estabilidad de un panel de expertos. En este sentido, Gawel y Gooden, (2008) concluyen que un panel de expertos genera valoraciones estables si no está formado por un número reducido de personas (inferior a cuatro miembros) y, además, es más consistente evaluando vinos tintos que vinos blancos. Al cumplirse ambos requisitos en el presente estudio, ello puede confirmar la solidez de las valoraciones de los expertos.

Por otro lado, Lattey *et al.*, (2010) describieron que vinos tintos con altas puntuaciones de calidad muestran notas destacables a "especias", mientras las muestras con bajas puntuaciones presentan notas a "cuero" y "reducido". Szolnoki y Hoffmann, (2011) encontraron que la calidad percibida por los enólogos esta positivamente correlacionado con "madera" y negativamente con "animal" y "champiñón". Machado y Graca, (2011) sugirieron que los expertos tienden a dar una mayor puntuación a vinos descritos con notas destacables a "amargo", "alcohol", "madera" y "cuero" y "tierra". En el capítulo 2 de esta memoria se observó que la calidad de los expertos en vinos españoles pertenecientes a diferentes gamas de precio estuvo positivamente correlacionada con los términos aromáticos "madera", "especias" y negativamente correlacionada con "animal" y "oxidado. Hopfer y Heymann, (2014) demostraron que la presencia de atributos frutales tales como "frutos rojos", frutos negros", "madera" y la ausencia de notas a "vegetal", "tierra" y "sulfuroso" son empleados para predecir la calidad de expertos.

6.3.4.3 Predicción de la calidad percibida por el panel de consumidores

El tercer y último modelo predictivo ha utilizado la información sobre los atributos en aroma y en nariz del panel entrenado para predecir las valoraciones de calidad percibida realizadas por el panel de consumidores (Figura 6.11). La dicotomización también se ha realizado en función de las medias aritméticas de todas las puntuaciones dadas por todos los miembros del panel de consumidores al conjunto de 29 vinos degustados; dicha media ha sido de 2.36 puntos.

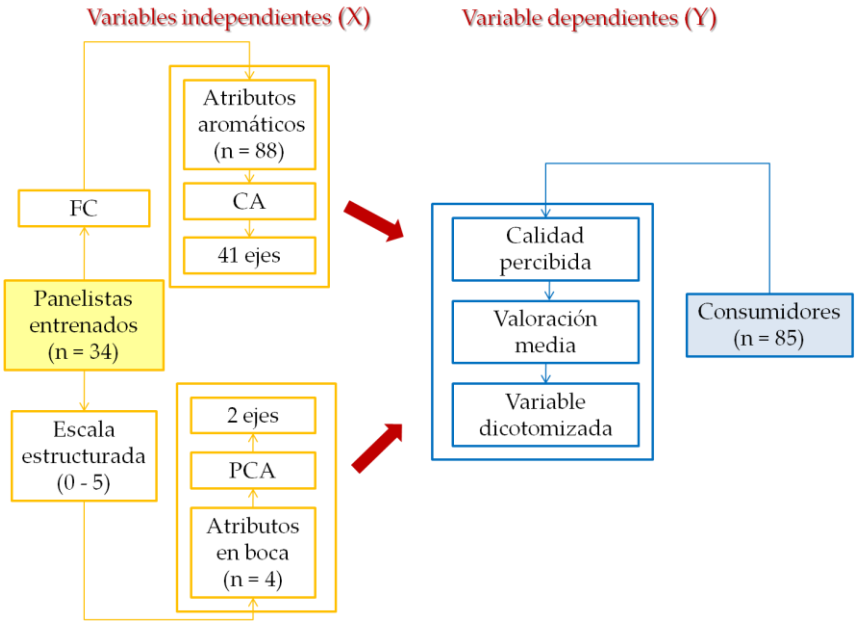


Figura 6.11. Modelo logit para predecir la calidad percibida de los consumidores medida por la influencia de atributos sensoriales descritos por un panel entrenado.

Los resultados de la regresión logística han sido resumidos en la Tabla 6.15 De nuevo, los indicadores de bondad de ajuste alcanzan niveles relativamente bajos que oscilan entre el 19.9% del coeficiente de Cox y Snell hasta el 15.57% de la razón de verosimilitud, aunque el coeficiente Pseudo-R^2 tiene un valor mucho menor (3.77%). En cuanto a la capacidad predictiva del modelo, se cumple la hipótesis nula del test de Hosmer y Lemeshow (P: 0.409 > 0.05) y la proporción de vinos correctamente pronosticados alcanza el 55.3% de los casos.

Tabla 6.15. Resultados del modelo de regresión logística para la calidad percibida de los consumidores.

Variables independientes	Coeficiente β	Nivel de significación (*P*)	Exp (β)	Estadístico de Wald
Factor 2	-0.256	0.003	0.774	9.039
Factor 5	+0.201	0.024	1.223	5.095
Factor 40	-0.307	0.009	0.736	6.807
Constante	-0.070	0.277	0.000	1.180

Capacidad explicativa	**Pseudo-R²:** 3.77%	**Razón de verosimilitud:** 15.57%	**R² de Cox y Snell:** 19.9	**R² de Nagelkerke:** 16.5
Capacidad predictiva	**55.3% global de casos correctamente pronosticados**			
	Prueba de Hosmer y Lemeshow:			
	χ^2: 8.258	**gl** : 8		***P*** : 0.409

gl: grados de libertad.

La expresión matemática del modelo predictivo de las valoraciones realizadas por el panel de consumidores es la siguiente:

$$P(Y=2)=\left(\frac{e^{-0.256Factor2+0.201Factor5-0.307Factor40-0,070}}{1+e^{-0.256Factor2+0.201Factor5-0.307Factor40-0,070}}\right)$$

Y = 1 El panel de consumidores valora el vino degustado por debajo de la media aritmética.
Y = 2 El panel de consumidores valora un determinado vino por encima de la media.

Por último, en cuanto a las variables predictoras que han resultado ser estadísticamente significativas son todas ellas factores procedentes del CA aplicado a los atributos en nariz del panel de expertos. En concreto, y citados en orden decreciente de importancia, se trata del Factor 40, del Factor 2 y del Factor 5. La interpretación sensorial de los mismos y su relación con la predicción de las valoraciones otorgadas por el panel de consumidores se han recogido en la Tabla 6.16, la cual se ha realizado siguiendo idénticos criterios a los expuestos para la Tabla 6.14.

Tabla 6.16. Interpretación sensorial del modelo logit para predecir las valoraciones del panel de consumidores.

Variable predictora	Por debajo de la media	Por encima de la media
Factor 40 (-)	SOTOBOSQUE (moho) ANIMAL (fumé/avecrem) ESPECIAS FRUTAS EXOTICAS	FRUTOS ROJOS (fresa) OTROS (chocolate) FRUTA PASA SECA (higos secos) VEGETAL (tabaco fresco) SOTOBOSQUE (humus/tierra)
Factor 2 (-)	Pimiento FRUTAS NEGRAS MADERA	VEGETAL (Patata Cocida) VEGETAL (oliva) VEGETAL (espárrago) ANIMAL (pelo mojado) VEGETAL (coliflor) VEGETAL (alubia verde) ANIMAL (transpiración) VEGETAL (pimiento)
Factor 5 (+)	VEGETAL (coliflor) Manzana Cocida FRUTAS EXÓTICAS (plátano/caramelo) FRUTAL FRUTAS BLANCAS (pera) FLORAL (rosa)	VEGETAL (Patata Cocida) VEGETAL (oliva)

Entre los atributos aromáticos detectados por el panel entrenado que pueden ser indicadores de una valoración en términos de calidad percibida relativamente reducida por el panel de consumidores hay cinco familias predominantes: (1) Sobre todo los aromas de origen vegetal, destacando principalmente la "patata cocida" y la "oliva", pero complementado por un amplio espectro de atributos aromáticos de esta familia: "espárrago", "coliflor", "alubia verde", "tabaco fresco" y "pimiento". (2) Los aromas de origen animal, en concreto "pelo mojado" y "transpiración". (3) Los aromas de la familia de frutos rojos, en concreto el olor a fresa. (4) El chocolate y la familia de frutas pasas secas, más concretamente el aroma "higos secos". (5) La familia de atributos relativos al sotobosque, destacando especialmente el "humus/tierra". Por último, (6) otros aromas significativos son la rosa, la pera, el plátano y otros de tipo frutal.

De otro lado, entre los atributos en nariz cuya mención por parte del panel entrenado implica mayores posibilidades de ser percibido como un vino de calidad

elevada por el panel de consumidores destacan: (a) con mucha mayor ponderación que los restantes atributos aromáticos, destaca la identificación de la "manzanilla". (b) A continuación, se han detectado un conjunto de atributos en nariz que habitualmente se identifican con mayores niveles de calidad del vino, como es el caso de las "frutas negras", la "madera", el tostado (café torrefacto) o las notas de "especias", entre otras la vainilla. (c) Por último, otros atributos que tienen una cierta importancia relativa son las familias de aromas sotobosque (en concreto el "moho"), animal (fumée/avecrem) y frutas exóticas.

Un rasgo a destacar de los resultados obtenidos es la gran disociación entre los aromas (variables predictoras) asociados a vinos de elevada o reducida calidad percibida. En este modelo de predicción de las valoraciones de los consumidores los atributos sensoriales asociados a cada tipo de vinos son muy diferentes y las familias aromáticas cargan casi siempre en uno de los dos bloques (Tabla 6.16).

Los resultados obtenidos difieren con algunas notas aromáticas encontradas en estudios realizados por Lattey *et al.,* (2010) donde se indicó que los consumidores prefieren vinos con notas a "baya" y "vegetal cocida". Asimismo, también resultan muy similares a los obtenidos por Koussissi *et al.,* (2002) con vinos tintos producidos en Grecia, en los cuales predominaban los atributos aromáticos como los que más diferenciaban los vinos, en especial las siguientes: "frutas rojas", "madera", "hierba", "moho", "acre" y "especias". No obstante, el estudio de Koussissi *et al.,* (2002) difiere de los presentes resultados en que también resultaron relevantes ciertos atributos en boca: "astringencia", "dulzor", "amargor", "con sabor a levadura" y "afrutado".

6.3.4.4 Comparación de los modelos de predicción de la calidad percibida por los diferentes grupos

Para exponer de forma clara la comparación de los resultados obtenidos con los tres modelos logit aplicados, se ha optado por diferenciar aquellos aspectos relativos a la bondad de ajuste del modelo de las cuestiones relacionadas con la formulación de los modelos.

Respecto al término bondad de ajuste, en el presente apartado se utilizará en un sentido amplio, que incluye tanto los indicadores de capacidad explicativa (a los que se nos hemos referido en los epígrafes previos cuando se utilizaba el término bondad de ajuste) como los indicadores de capacidad predictiva del modelo final.

En lo relativo a los indicadores de capacidad explicativa, los modelos logit tienen múltiples estadísticos a utilizar; en el presente estudio, se ha optado por presentar todos los que se han podido estimar con el software utilizado (programa SPSS) pero la variedad de resultados obtenidos ha de ser analizada puesto que proporciona una información muy interesante acerca de los resultados obtenidos. Para entender e interpretar los resultados, se ha de tener en cuenta que los indicadores de capacidad explicativa se clasifican en dos grandes grupos (Hosmer y Lemeshow, 1989): (a) aquellos basados en patrones de las covariables, es decir, de las variables predictoras; de todos los existentes el más robusto es el método de razón de verosimilitud, que se basa en la medida de la *deviance* o devianza; (b) métodos que tratan de adaptar la lógica del estadístico R^2 de los modelos de regresión lineal a los modelos logit; entre los existentes, los más utilizados son el coeficiente Pseudo-R^2, el coeficiente de Cox y Snell y el coeficiente de Nagelkerke, siendo este último el considerado habitualmente como más robusto. Los resultados comparados de los tres modelos logit están reflejados en la Tabla 6.17.

Tabla 6.17. Comparación de los indicadores de capacidad explicativa entre los tres modelos logit.

Estadísticos		VALORACIONES A PREDECIR		
		Guías de vinos	Panel de expertos	Panel de consumidores
Patrones de las covariables	Razón de verosimilitud	0.73%	18.84%	15.57%
R^2 de la regresión lineal	Intervalo de variación entre los diversos estadísticos	Desde el 0.45% hasta el 6.0%	Desde el 2.97% hasta el 4.0%	Desde el 3.77% hasta el 16.5%
	Nagelkerke	6.0%	4.0%	16.5%

En primer lugar, el modelo de predicción de las guías de vino es el que tiene peores resultados en términos de los indicadores de capacidad explicativa, lo cual refleja el hecho de que la forma en que el panel entrenado analiza la información relativa a los vinos degustados para formar sus opiniones y juicios de valor es muy diferente a la que tienen las guías de vinos. En segundo lugar, los resultados obtenidos para los indicadores de capacidad explicativa del panel de consumidores son los mejores lo cual muestra una mayor cercanía a la forma de analizar la información entre el panel de consumidores y el panel entrenado, afirmación extensible con menor intensidad, a la vista de los datos al panel de expertos. Además, conviene tener presente la información de la Tabla 6.7. Sin ser algo buscado, ha resultado que los vinos analizados han sido clasificados en los mismos grupos como consecuencia del proceso de dicotomización ya descrito y, además, las variables predictoras son idénticas; no obstante, los resultados nos indican que el modelo detecta diferencias (pequeñas) y se adapta para predecir de forma diferente las valoraciones de los paneles de expertos y de consumidores.

El segundo bloque de indicadores de bondad de ajuste está formado por aquellos estadísticos que tienen por objeto analizar la posibilidad de generalizar los resultados para poder conocer con antelación la evolución futura de una determinada variable de interés para el investigador. En nuestro caso, al tratarse de un modelo en el que las variables predictoras son todas ellas continuas y, además, el tamaño muestral es reducido es clave que se cumpla el test de Hosmer y Lemeshow; tal como refleja la Tabla 6.18, se cumple la hipótesis nula en todos los casos con holgura, lo cual nos permite afirmar que el modelo predice razonablemente bien. Por otro lado, la proporción de casos correctamente clasificados sin ser elevada (superar el 75% de éxito al clasificar) nos presenta resultados superiores al 55% en todos los casos, y además son siempre muy parejos. En definitiva, se puede afirmar que todos los modelos tienen una capacidad predictiva significativa y estable.

A la vista de los datos expuestos sobre las capacidades explicativa y predictiva de los modelos logit expuestos, se puede afirmar que en todos los casos se trata de modelos con mayor capacidad para predecir el tipo de valoración de calidad

percibida que realizarán los diferentes colectivos analizados que para explicar las razones por las que han llevado a cabo esos juicios y puntuaciones.

Tabla 6.18. Comparación de los indicadores de capacidad predictiva entre los tres modelos logit.

Estadísticos	VALORACIONES A PREDECIR		
	Guías de vinos	Panel de expertos	Panel de consumidores
Test de Hosmer y Lemeshow	χ^2: 5.897 *P*: 0.659	χ^2: 8.522 *P*: 0.384	χ^2: 8.258 *P*: 0.409
Proporción de casos correctamente clasificados	55.2%	57.3%	55.3%

El tercer aspecto a considerar son las variables predictoras obtenidas en los modelos logit que pueden servir como indicadores de los juicios de calidad que realizarán los críticos de vino (guías), los expertos del sector y los consumidores. Los resultados comparados han sido resumidos en la Tabla 6.19, que refleja los atributos sensoriales que contribuyen a la predicción de las valoraciones realizadas por cada colectivo analizado.

El primer hecho que se debe resaltar es la dicotomía existente entre los atributos sensoriales predictivos obtenidos para las guías de vino en relación con los paneles de expertos y consumidores: atributos en boca exclusivamente para las guías de vino (relacionadas con el "amargor" y la "astringencia") frente a únicamente atributos en nariz para los paneles de expertos y para los paneles de consumidores (múltiples atributos aromáticos).

Tabla 6.19. Atributos sensoriales que contribuyen a la predicción de las puntuaciones de los guías de vino, expertos y consumidores. Capacidad predictiva y explicativa.

Atributos sensoriales		Contribución relativa					
		Guías de vino		Expertos		Consumidores	
		Signo positivo	Signo negativo	Signo positivo	Signo negativo	Signo positivo	Signo negativo
En boca		Amargor Astringencia	-	-	-	-	-
Aromáticos	*Frutas Blancas*	-	-	FRUTAS BLANCAS, pera, manzana	-	-	Pera
	Frutas Amarillas	-	-	Albaricoque/melocotón	-	-	-
	Frutos Rojos	-	-	FRUTOS ROJOS	Frambuesa	Fresa	-
	Frutas Negras	-	-	FRUTOS NEGROS	Arándano		FRUTAS NEGRAS
	Frutas Pasas/Secas	-	-	-	Ciruela	Higo seco	-
	Frutas Exóticas	-	-	-	-	-	Plátano/caramelo ingles
	Otros Frutales	-	-	-	manzana cocida, frutas cocidas/confitadas, Sidra,	-	Manzana cocida
	Floral	-	-	-	-	-	Rosa, manzanilla
	Vegetal	-	-	Alcachofa	VEGETAL, heno/hojas secas, pimiento, hierba	VEGETAL, pimiento, alubia verde, esparrago, coliflor, oliva, patata cocida	Coliflor
	Especias	-	-	Anís/hinojo, mentol	-	-	
	Animal	-	-	ANIMAL	Cuero	Animal, pelo mojado, transpiración	Fumé/avecrem
	Tostado	-	-	-	TOSTADO, café torrefacto		-
	Madera	-	-	MADERA		-	MADERA
	Sotobosque	-	-	Moho	-	Humus/tierra	Moho
	Otros Descriptores	-	-	pegamento ½, alcohol	Lácteo	Chocolate	-
Capacidad predictiva		55.2%		57.3%		55.3%	
Capacidad explicativa		5 - 6%		30 - 40%		16.5 - 19.9%	

El segundo hecho a subrayar es que existe mayor grado de semejanza por parte de los paneles de consumidores y de expertos entre los aromas que son predictores de vinos valorados como de menor calidad percibida que en lo relativo a los vinos de calidad percibida superior a la media; en otras palabras, el grado de consenso es mayor entre consumidores y expertos sobre cuando penalizar la valoración del vino que sobre cuando premiarlo. En concreto, cuando el panel entrenado detecta más aromas a frutos rojos, vegetal, sotobosque y frutas blancas, se incrementa la probabilidad de que ambos colectivos coincidan en evaluar al vino por debajo de la media, es decir, con baja calidad percibida relativa.

Para analizar los resultados obtenidos se han comparado con las investigaciones disponibles, que se han basado en otros tratamientos estadísticos (sobre todo PLS y regresiones lineales múltiples) para explicar las relaciones existentes entre los atributos sensoriales y la calidad valorado por gurús, enólogos y consumidores (Lattey *et al.*, 2010, Machado y Graca., 2011, Szolnoki y Hoffmann., 2011, Saenz-Navajas *et al.*, 2012c). Hay que resaltar que los resultados del modelo logit obtenido por los expertos concuerdan con algunas descripciones aromáticas que valoran expertos como baja calidad; "animal", "vegetal", "sotobosque" han empleado "frutos rojos" y "mantequilla" (Lattey *et al.*, 2010, Szolnoki y Hoffmann., 2011, Saenz-Navajas *et al.*, 2012c). En relación al modelo logit de los consumidores las notas aromáticas "vegetales cocidos" y "animal" difieren con estudios realizados por Machado y Graca. (2011).

Lógicamente, a la vista de los resultados obtenidos, se plantea una pregunta evidente: ¿cómo se puede explicar los resultados tan divergentes obtenidos en los tres modelos predictivos realizados? La respuesta se puede deber a un cúmulo o conjunto de razones a tener presentes:

Los vinos han sido clasificados en dos grupos como consecuencia del proceso de dicotomización; tal como se ha explicado previamente, el resultado final es que los dos grupos de vinos son idénticos para el panel de consumidores y para el panel de expertos pero son muy diferentes a la dicotomización resultante para las guías de vinos (17 vinos en grupos diferentes). Por consiguiente, este motivo podría explicar

parcialmente las diferencias en los resultados para las guías de vinos pero no sería una causa de las divergencias resultantes para los paneles de expertos y de consumidores.

En un reciente trabajo con 27 vinos de California elaborados a partir de la variedad Cabernet Sauvignon, Hopfer y Heymann (2014) han detectado diferencias en las valoraciones entre un panel entrenado, un panel de expertos y un panel de consumidores derivadas de que sólo los expertos podían emitir juicios suficientemente claros y estables derivados del análisis descriptivo de los vinos degustados. Este mismo tipo de dificultad ha sido detectada para melocotones y nectarinas por Delgado *et al.,* (2013).

El grado de conocimiento técnico y la formación de los expertos, razonamiento extensible a los críticos de vino, puede generar que éstos colectivos detecten, diferencien y discriminen más eficientemente los vinos en función de su nivel de calidad (Ballester *et al.,* 2008).

Asimismo, el mayor nivel de formación de expertos y críticos de vino puede derivar en que el concepto intangible de calidad de un vino sea más homogéneo entre las personas que forman estos colectivos (Ballester *et al.,* 2008). Así, los consumidores tendrían una idea de calidad percibida más heterogénea y divergente de una persona a otra, lo cual puede ser otro motivo adicional de las divergencias surgidas en las variables predictoras entre los tres modelos logit.

La aplicación de los modelos logit ha dado resultados bastante diferentes a la hora de predecir si un vino tiene calidad percibida como comparativamente elevada por las guías de vino, los expertos y los consumidores. Ello se debe, entre otras razones, a que "la calidad del vino no solo tiene múltiples dimensiones, que incluyen factores intrínsecos y extrínsecos, también incluye el hecho de que es un concepto variable" (Hopfer y Heymann, 2014) tanto entre las diferentes personas de cada grupo analizado cómo entre los diferentes colectivos (Ballester *et al.,* 2008).

Está ampliamente contrastado en la literatura que la tipicidad y zona de origen del producto es un aspecto que condiciona los juicios de valor acerca de la calidad de los vinos (Guidry *et al.,* 2009; Veale y Quester, 2009; Torri *et al.,* 2013; D'Alessandro y

Pecotich, 2013), hecho detectado también para otros productos agroalimentarios como el aceite de oliva (Dekhili y D'Hauteville, 2009).

Evidentemente, los resultados obtenidos han de ser analizados con una cierta prudencia. A la luz de la literatura citada, parece recomendable replicar el estudio con vinos tintos de otras zonas productivas a fin de verificar si la denominación de origen afecta a la percepción de calidad por dos motivos: ser una variable extrínseca y estar relacionada con el entorno social y geográfico, que puede condicionar los gustos y preferencias de los diferentes colectivos.

6.4 CONCLUSIONES

Las conclusiones derivadas del estudio de predicción de las puntuaciones de las guías de vino, así como las valoraciones de calidad percibida realizadas por expertos y consumidores a partir de los atributos sensoriales se pueden extraer varias conclusiones.

Primero, se ha utilizado un planteamiento metodológico novedoso que trata de conjugar variables cualitativas y cuantitativas procedentes de diferentes colectivos. Los resultados descritos permiten afirmar que la metodología ha obtenido resultados estables en el sentido de que arroja una capacidad predictiva relativamente alta en todos los casos a la vez que su capacidad explicativa es relativamente baja, lo cual puede estar parcialmente condicionado por las pérdidas de información derivadas de aplicar los métodos factoriales CA y PCA. Además, el planteamiento metodológico se ha mostrado flexible para adaptarse a las diferentes formas de evaluar el vino por cada uno de los tres colectivos mencionados.

Segundo, se ha detectado que las variables predictoras de los juicios de calidad realizadas por las guías de vinos están basadas en atributos en boca orosensoriales: "amargor" y "astringencia". Por el contrario, las variables predictoras de las valoraciones de calidad del panel de expertos y del panel de consumidores se basan en atributos en nariz de los vinos, siendo divergentes las asociaciones entre los atributos sensoriales y la calidad percibida por los consumidores y expertos.

Tercero, El concepto de calidad percibida se muestra heterogéneo para los tres grupos de interés analizados en la presente investigación tal como muestran los resultados de los modelos logit. Este hecho refleja que cada colectivo evaluado tiene su propio concepto de calidad percibida existiendo coincidencias parciales, sobre todo entre expertos y consumidores.

REFERENCIAS

Amemiya, T. 1988. Modelos de respuesta cualitativa: Un examen. *Cuadernos económicos del I.C.E* 39, 173-243.

Akerlof, G.A. 1970. The market for lemons: quality uncertainty and the market mechanism. *Quaterly Journal of Economics* **84**, 488-500.

Alvelos, H., Cabral, J.A.S. 2007. Modelling and monitoring the decision process of wine tasting panelists. *Food Quality and Preference* **18**, 51-57.

Angulo, A. M., Gil, J. M., Gracia, A and Sánchez, M. 2000. Hedonic prices for Spanish red quality wine. *British Food Journal* **102**, 481-493.

Aznar, M., Lopez, R., Cacho, J. and 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**, 2700-2707.

Balestrini, P and Gamble, P. 2006. Country of origin effects on Chinese wine consumers. *British Food Journal* **108**, 396-412.

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

Barbe, P. Y and Durrieu, F. 2005. Evaluation of the quality of the Great Bordeaux Wines: are there significant differences between critics?. *International Journal of Wine Marketing* **17**, 55-66.

Belsley, D.A. 1991. Conditioning diagnostics: collinearity and weak data in regression. John Wiley & Sons, Chichester.

Ben-Akiva, M. and Lerman, S.R. 1985. Discrete choice analysis: theory and application to travel demand. MIT Press, Massachussets, EEUU.

Calvo, C., Levy, J. P. 2013. Domestic or imported beer brands?. Analysis and assessment of brand equity in the Spanish market. *Journal of International Food & Agribusiness* **25**, 324-347.

Campo, E., Do, B.V., Ferreira, V. and 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**, 104-115.

Celhay, F.; Passebois, J. 2011. Wine labelling: is it a time to break with tradition?. A study of the moderating role of perceived risk. *International Journal of Wine Business Research* **23**, 318-337.

Charters, S and Pêttigrew, S. 2006. Product involvement and the evaluation of wine quality. *Qualitative Market Research* **9**, 225-230.

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

Casado, J L., Verdera, G. 2011. La Guía Todovino N° 3. La Guía Todovino ediciones. Madrid, España. pp 2-38.

Chrea, C., Melo, L., Evans, G., Forde, C., Delahunty, C. and Cox, D.N. 2011. An investigation using three approaches to understand the influence of extrinsic product cues on consumer behavior: an example of australian wines. *Journal of Sensory Studies* **26**, 13-24.

Colonna, A.E., Adams, D.O. and 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**, 26-31.

Cox, D.R. and Snell, E.J. 1989. Analysis of binary data. Chapman&Hall/CRC, United States of America.

D'Alessandro, S., Pecotich, A. 2013. Evaluation of wine by expert and novice consumers in the presence of variations in quality, brand and country of origin cues. *Food Quality and Preference* **28**, 287-303.

De-Magistris, T., Gracia, A. and Albisu, L.-M. 2014. Wine consumers' preferences in Spain: an analysis using the best-worst scaling approach. *Spanish Journal of Agricultural Research* **12**, 529-541.

Delgado, C., Crisosto, G.M., Heymann, H. and Crisosto, C.H. 2013. Determining the primary drivers of liking to predict consumers' acceptance of fresh nectarines and peaches. *Journal of Food Science* **78**, S605-S614.

Dekhili, S., D'Hauteville, F. 2009. Effect of the region of origin on the perceived quality of olive oil: An experimental approach using a control group. *Food Quality and Preference* **20**, 525-532.

Dodd, T.H., Laverie, D.A., Wilcox, J.F. and Duhan, D.F. 2005. Differencial effects of experience, subjective knowledge, and objective knowledge on sources of information used in consumer wine purchasing. *Journal of Hospitality and Tourism Research* **29**, 3-19.

Ediciones El País. 2012. Anuario de Los Vinos. © Ediciones El País. Madrid, España. pp 216-250.

Espejel, J., Fandós, C and Flavián, C. 2011. Antecedents of consumer commitment to a PDO Wine: an empirical analysis of Spanish Consumers. *Journal of Wine Research* **22**, 205-225.

Etaio, I., Elortondo, F.J.P., Albisu, M., Salmeron, J., Ojeda, A., Gaston, E. 2007. *Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa.*, Servicio Central de Publicaciones del Gobierno Vasco., Vitoria-Gasteiz, España.

Faraway, J.J. 2006. Extending the linear models with R: Generalized linear, mixed effects and nonparametric regression models. Chapman & Hall/ CRC, Hardcover.

Ferreira, V., San Juan, F., Escudero, A., Cullere, L., Fernandez-Zurbano, P., Sáenz-Navajas, M.P. and Cacho, J. 2009. Modeling quality of premium Spanish red wines from gas chromatography olfactometry data. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 7490-7498.

Frost, M.B. and 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**, 275-284.

Gawel, R., Godden, P.W. 2008. Evaluation of the consistency of wine quality assessments from expert wine tasters. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **14**, 1-8.

Gergaud, O and Livat, F. 2007. How do consumers use signals to assess quality?. *American Association of Wine Economists* **working paper 3**, 1-20.

Guidry, J.A., Babin, B.J.,Graziano, W.G., Schneider, W.J. 2009. Pride and prejudice in the evaluation of wine?. *International Journal of Wine Business Research* **21**, 299-311.

Grupo Peñín. 2012. Guía peñín de los vinos de España. PI&ERRE. Madrid, España. pp 755-870.

Henchion, M and McIntyre, B. 2000. Regional imagery and quality products: the Irish experience. *British Food Journal* **102**, 630-644.

Hopfer, H. and Heymann, H. 2014. Judging wine quality: do we need experts, consumers or trained panelists?. *Food Quality and Preference* **32**, 221-233.

Horowitz, J.L. and Louviere, J.J. 1993. Testing predicted choices against observations in probabilistic discrete-choice models. *Marketing Science* **12**, 270-279.

Horowitz, I. and Lockshin, L. 2002. What price quality?. An investigation into the prediction of wine quality ratings. *Journal of Wine Research* **13**, 7-22.

Hosmer, D.W. and Lemeshow, S. 1980. A goodness of fit test for the multiple logistic regression model. *Communications in Statistic* **A10**, 1043-1069.

Hosmer, D., Lemeshow, S. 1989. Applied logistic regression. John Wiley & Sons. New York.

ISO NORM. 1977. Sensory analysis: apparatus wine tasting glass. Geneva, Switzerland.

ISO. NORM 9000. 2000. Quality management systems-fundamentals and vocabulary.Geneva, Switzerland.

Johnson, T.E. and Bastian, S.E.P. 2007. A preliminary study of the relationship between Australian wine consumers' wine expertise and their wine purchasing and consumption behaviour. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **13**, 186-197.

Keast, S.J.R. and Breslin, P.A.S. 2003. An overview of binary taste taste interactions. *Food Quality and Preference* **14**, 111-124.

Kleinbaum, D.K., Kupper, L.L. and Muller, K.E. 1988. Applied Regression Analysis and Other Multivariables Methods. PWS-KENT Publishing Company.

Kirmani, A. and Rao, A.R. 2000. No pain, no gain: a critical review of the literature on signaling unobservable product quality. *Journal of Marketing* **64**, 66-79.

Koussissi, E., Paterson, A., Cristovarn, E. 2002. Sensory discrimination of dry red wines from Greece. *Journal of Wine Research* **13**, 165-179.

Lawless, H., Liu, Y.F. and Goldwyn, C. 1997. Evaluation of wine quality using a small-panel hedonic scaling method. *Journal of Sensory Studies* **12**, 317-332.

Lecocq, S. and Visser, M. 2006. What determines wine prices: objective vs Sensory characteristics. *Journal of Wine Economics* **1**, 42-56.

Le Fur, Y., Mercurio, V., Moio, L., Blanquet, J. and Meunier, J.M. 2003. A new approach to examine the relationships between sensory and gas chromatography olfactometry data using generalized procrustes analysis applied to Six French Chardonnay wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**, 443-452.

Lopez-Canís, F y Proensa-Aguado, A. 2012. Guía de vinos gourmets . Progourmet. Madrid, España. pp 638-728.

Manski, C. 1977. The structure of random utility models. *Theory and Decision* **8**, 229-254,

Menard, S. 2000. Coefficients of determination for multiple logistic regression analysis. *American Statistician* **54**, 17-24.

Mittlbock, M. and Schemper, M. 1996. Explained variation for logistic regression. *Statistics in Medicine* **15**, 1987-1997.

Mueller, S., Lockshin, L., Saltman, Y. and Blanford, J. 2010. Message on a bottle: the relative influence of wine back label information on wine choice. *Food Quality and Preference* **21**, 22-32.

Mueller, S. and Szolnoki, G. 2010. The relative influence of packaging, labelling, branding and sensory attributes on liking and purchase intent: Consumers differ in their responsiveness. *Food Quality and Preference* **21**, 774-783.

Nagelkerke, N.J.D. 1991. A note on a general definition of the coefficient of determination. *Biometrika* **78**, 691-692.

Neter, J., Wasserman, W., Kutner, M.H. 1990. *Applied Linear Statistical Models*. Irwin. 3ª edición.

Nielsen A.C. 2013. Niveles de posicionamiento en precio de las principales DD.OO. por colores y categorías. En *Informe anual del mercado de vinos con D.O.Ca. Rioja. Mercado español: canales de alimentación y hostelería*. Nielsen Company. Madrid, España. 72p.

Noble, A.C. and Shannon, M. 1987. Profiling zinfandel wines by sensory and chemical analyses. *American Journal of Enology and Viticulture* **38**, 1-5.

Novales, A. (1993): *Econometría*. Ed. McGraw-Hill. Madrid, España.

Oczkowski, E. and Doucouliagos, H. 2014. Wine prices and quality ratings: A meta regression analysis. *American Journal of Agricultural Economics* **97**, 103-121.

Orth, U.R. and Krska, P. 2002. Quality signals in wine marketing: the role of exhibition awards. *International Food and Agribusiness Management Review* **4**, 385-397.

Orth, U. R., Wolf, M. M. and Dodd, T. H. 2005. Dimensions of wine region equity and their impact on consumer preferences. *Journal of Product and Brand Management* **14**, 88-97.

Parpinello, G.P., Versari, A., Chinnici, F. and Galassi, S. 2009. Relationship among sensory descriptors, consumer preference and color parameters of Italian Novello red wines. *Food Research International* **42**, 1389-1395.

Perrouty, J.P., d'Hauteville, F and Lockshin, L. 2006. The influence of wine attributes on region of origin equity: an analysis of the moderating effect of consumer's perceived expertise. *Agribusiness* **22**, 323-341.

Piombino, P., Nicklaus, S., Le Fur, Y., Moio, L. and Le Quere, J.L. 2004. Selection of products presenting given flavor characteristics: an application to wine. *American Journal of Enology and Viticulture* **55**, 27-34.

Piqueras-Fiszman, B. and Spence, C. 2012. The weight of the bottle as a possible extrinsic cue with which to estimate the price (and quality) of the wine? Observed correlations. *Food Quality and Preference* **25**, 41-45.

Proensa-Aguado, A. 2012. Guía proensa de los mejores vinos de España. Valdevino Editorial. Madrid, España. pp 236-305.

Ross, C.F., Hinken, C. and Weller, K. 2007. Efficacy of palate cleansers for reduction of astringency carryover during repeated ingestions of red wine. *Journal of Sensory Studies* **22**, 293-312.

Rouzet, E. and Seguin G. 2005. El marketing del vino: saber vender el vino. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España.

Ruiz, A. V., Izquierdo, A. and Calderón, E. 2009. Elección del canal de distribución online vs offline: factores de influencia sobre el comprador, *Revista Europea de Dirección y Economía de la Empresa* **18**, 143-166.

Ruiz, A.V. and Riaño, C. 2012. Importancia de la marca para el vino. In: *Marketing del vino*. 1ra edición. Pirámide Ed. Madrid, España. pp 183-218.

Sáenz-Navajas, M.-P., Avizcuri, J.-M., Ballester, J., Fernandez-Zurbano, P., Ferreira, V., Peyron, D. and Valentin, D. 2015. Sensory-active compounds influencing wine experts' and consumers' perception of red wine intrinsic quality. *Lwt-Food Science and Technology* **60**, 400-411.

Sáenz-Navajas, M.-P., Campo, E., Sutan, A., Ballester, J. and Valentin, D. 2013. Perception of wine quality according to extrinsic cues: the case of Burgundy wine consumers. *Food Quality and Preference* **27**, 44-53.

Sáenz-Navajas, M.P., Campo, E., Fernandez-Zurbano, P., Valentin, D. and Ferreira, V. 2010. An assessment of the effects of wine volatiles on the perception of taste and astringency in wine. *Food Chemistry* **121**, 1139-1149.

Sáenz-Navajas, M.P., Martin-Lopez, C., Ferreira, V. and 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**, 9-19.

Santesmases, M. 2012. Marketing: conceptos y estrategias. 6ª edición. Pirámide Ed. Madrid, España.

Schonfeld, P. 1983. Limited-dependent and qualitative variables in econometrics maddala, gs. *Zeitschrift Fur Nationalokonomie-Journal of Economics* **43**, 423-424.

Serrano, R., Diez-Nepomuceno, M., Martínez, C. 2012. Vivir el Vino La Guía .Grupo Vivir el Vino publicaciones. Alcorcón, Madrid. pp 192-212.

Skuras, D. and Vakrou, A. 2002. Consumers' willingness to pay for origin labelled wine. A Greek case study. *British Food Journal* **104**, 898-912.

Stone, H. and Sidel, J.L. 2004. Sensory Evaluation Practices. Elsevier. Orlando, Florida.

Torri, L., Noble, A.C. and Heymann, H. 2013. Exploring American and Italian consumer preferences for Californian and Italian red wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **93**, 1852-1857.

Veale, R. and 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**, 134-144.

Viot, C. 2012. Subjective knowledge, product attributes and consideration set: a wine application. *International Journal of Wine Business Research* **24**, 219-248.

Williams, R. 2006. Review of Regression Models for Categorical Dependent Variables Using Stata, Second Edition, by Long and Freese. *Stata Journal* **6**, 273-278.

Wine Enthusiast. Información disponible *http://buyingguide.winemag.com/catalog* [Consulta, Diciembre, 2011].

Wine Advocate. Información disponible en *http://www.wine.com/v6/* [Consulta, Diciembre, 2011].

CONCLUSIONES GENERALES

CAPÍTULO 1. Cromatografía líquida de ultra resolución acoplada a un detector ultravioleta visible y espectrómetro de masas para el análisis de ácidos orgánicos y polifenoles en vinos tintos.

El análisis de compuestos fenólicos y ácidos orgánicos en vinos tintos mediante UPLC acoplado a ESI-MS/MS y UV-Vis permite reducir considerablemente el tiempo de análisis y por lo tanto el consumo de disolventes con respecto a los sistemas HPLC habitualmente empleados.

El procedimiento analítico propuesto ha permitido identificar sesenta y cinco compuestos fenólicos de bajo peso molecular y cinco ácidos orgánicos en vinos tintos.

CAPÍTULO 2. Características aromáticas de vinos tintos españoles pertenecientes a distintas categorías de precio y su relación con la calidad.

La caracterización aromática y la valoración de calidad de vinos tintos pertenecientes a tres categorías de precio ponen de manifiesto:

- ✓ Una fuerte influencia del aroma ortonasal en el concepto de calidad de los expertos.
- ✓ La valoración de la calidad por los expertos está más relacionada con la armonía alcanzada por la mezcla de diferentes atributos sensoriales que por la presencia de unas notas aromáticas predominantes.
- ✓ La existencia de diferentes prototipos de calidad, cada uno caracterizado por un determinado perfil aromático, si bien se confirma la influencia del par “madera/animal” en la calidad de los vinos que han tenido contacto con la madera.
- ✓ Los descriptores aromáticos desempeñan diferentes papeles dependiendo de la categoría de vino. El atributo "fruta pasa" destaca como un importante contribuyente a la calidad de los vinos de gama alta, mientras que estas notas son percibidas negativamente en los vinos de gama baja. En el caso de la nota aromática "baya", la disminución de este término durante el envejecimiento es relevante en vinos tintos jóvenes sin

madera donde los descriptores relacionados con "oxidación" y "vegetales" presentan un efecto negativo importante.

CAPÍTULO 3. Propiedades orosensoriales de vinos tintos españoles comerciales y su correlación con la calidad percibida.

Las puntuaciones dadas para los atributos en boca en las tres gamas de precio de vinos oscilaron entre valores muy parecidos en la escala de 0/1 a 9. No obstante, se observan diferencias significativas entre los tres grupos, así los vinos de gama alta fueron evaluados con los mayores valores de astringencia e intensidad global, mientras que los vinos de gama baja fueron evaluados con los menores valores. Los vinos de gama media fueron evaluados con similar astringencia que los de gama alta y con similar intensidad global que los vinos de gama baja.

En los tres grupos, la calidad estuvo correlacionada con la persistencia y la intensidad global en boca. En los vinos de mayor precio, la calidad se mostró además correlacionada con la acidez y la astringencia, mientras que en los vinos de precio medio la calidad estuvo correlacionada con la acidez, pero no con la astringencia. En los vinos de precio bajo, la calidad estuvo correlacionada con la astringencia pero no con la acidez, ni con el amargor.

Del estudio de todos los vinos se concluye que independiente del grupo de vinos (alta, media o baja gama), los vinos evaluados con mayor calidad por los expertos fueron los que mostraron mayores valores en astringencia, intensidad global y persistencia, mientras que los vinos con los valores más bajos en estos atributos fueron considerados de menor calidad.

CAPÍTULO 4. Estudio de la composición no volátil en VINOS tintos pertenecientes a tres categorías de precio y su relación con los atributos sensoriales evaluados en boca.

La composición química no volátil estudiada permite diferenciar significativamente los vinos tintos de las tres categorías de precio estudiadas.

Cuarenta y ocho variables químicas diferencian significativamente los tres grupos de vinos.

Se constata la correlación de la acidez total con la acidez percibida para las categorías de precio gama alta y gama media.

La astringencia evaluada en los tres grupos de vinos ha sido modelizado matemáticamente en base a la composición química analizada. Los tres modelos obtenidos muestran una alta implicación de las proantocianidinas (PAs), lo que permite concluir que estos compuestos tienen un peso importante en la predicción de la astringencia independientemente del tipo de vino. El resto de la composición no-volátil retenida en los modelos indica que la astringencia de los vinos de alta y media gama es más parecida entre sí y diferente de la percibida en los vinos de gama baja.

La inclusión en los modelos matemáticos de atributos sensoriales evaluados en los vinos como la "acidez", "intensidad global" y "amargor" o aromáticos como "vegetal", "madera" y "especias" mejoran la capacidad predictiva de los tres modelos generados únicamente con la información química, lo que indica la existencia de importantes interacciones sensoriales.

CAPÍTULO 5. Atributos sensoriales y compuestos químicos con capacidad predictiva en el amargor de vinos tintos.

El amargor evaluado en el grupo de vinos de gama baja ha sido modelizado matemáticamente en base a la composición química analizada. El modelo matemático obtenido muestra que los fenoles de bajo peso molecular (ácidos fenólicos, flavonoles, pigmentos monoméricos y proantocianidinas dímeras) son los compuestos fenólicos con mayor implicación en el sabor amargo.

Los atributos sensoriales "acidez", "astringencia" y "vegetal" descritos en los vinos permiten construir un modelo matemático de regresión con capacidad predictiva del amargor.

La inclusión en el modelo matemático de los compuestos químicos con actividad sensorial y de los atributos sensoriales genera un modelo de regresión que

mejora las varianzas y la capacidad predictiva de los modelos obtenidos con la composición química y los atributos sensoriales por separado.

CAPÍTULO 6. Atributos sensoriales de vinos tintos crianza Riojanos y su relación con la calidad percibida por expertos, consumidores y puntuaciones de guías de vino.

Los modelos de predicción muestran la dicotomía existente entre las variables independientes generadas a partir de la información recogida de un panel entrenado, las cuales son óptimas para predecir las valoraciones de los críticos de vino, expertos y de consumidores. Los primeros se relacionan principalmente con atributos en boca ligados sobre todo al amargor y, en menor medida, a la astringencia. En cuanto a los paneles de consumidores y de expertos las variables predictoras relevantes son los atributos aromáticos.

La metodología aplicada es novedosa y produce resultados mejores para predecir que para explicar las causas que llevan a realizar dichas valoraciones. Además, se adapta a los diferentes colectivos analizados seleccionando indicadores diferentes y adecuados para cada colectivo. Finalmente, pone de manifiesto que los críticos de vino tienen capacidad para detectar y diferenciar de forma más sofisticada los vinos en función de su nivel de calidad percibida que los restantes colectivos.

GENERAL CONCLUSIONS

CHAPTER 1. Ultra performance liquid chromatography coupled to ultraviolet-vis and mass spectrometry detector for screening of organic acids and polyphenols in red wine.

The analysis of phenolic compounds and organic acids in red wines by UPLC connected to ESI-MS/MS and UV-Vis allows to reduce considerably the time analysis and therefore the consumption of solvents in relation to the systems habitually used as HPLC.

The analytical procedure has allowed to identify sixty five phenolic compounds of low molecular weight and five organic acids in red wines.

CHAPTER 2. Aromatic characteristics of Spanish red wines from different price categories and their relationship to quality.

The aromatic characterization and the quality assessment of red wines from three categories of price reveal:

- ✓ A strong influence of the ortonasal aroma in the quality concept of the experts.
- ✓ The quality assessment by experts is more related to the harmony achieved by mixing of different attributes sensory that by the presence of to dominant aromatic notes.
- ✓ The existence of different quality prototypes, each one characterized by a aromatic profile particular, when is confirmed the influence of the "wood/animal" couple in the quality of the wines that have had contact with the wood.
- ✓ The aromatic descriptors play different roles depending on the category of wine. The attribute "dried fruit" stands out as a important contributor to the quality of high standard wines, while these notes are negatively perceived in the low standard wines. In the case of the aromatic note "berry", the decrease of this term during the aging is relevant in young red wines without wood where the descriptors related to "oxidation" and "vegetables " have a significant negative effect

CHAPTER 3. Orosensory properties of commercial Spanish red wines and its correlation with perceived quality.

The scores given for the attributes in mouth in the three categories of price of the wines ranged between values very similar in the scale of 0/1 to 9. Nevertheless, were observed significant differences between three groups, the high standard wines were evaluated by the high values of astringency and global intensity, whereas low standard wines were evaluated by lowest values. The medium standard wines were evaluated by similar astringency that those of high standard and with similar global intensity that the low standard wines.

In three groups, the quality was correlated by the persistence and the global intensity in mouth. In the wines of higher price, the quality was correlated with the acidity and the astringency, whereas in the wines of medium the quality was correlated with the acidity, but not with the astringency. In the wines of low price, the quality was correlated with the astringency but nor with the astringency and bitterness.

Of the study of all the wines, we concludes that independent from the group of wines (high, medium or low standard), the wines evaluated with high quality by the experts were those who showed high values in astringency, global intensity and persistence, whereas the wines with the lowest values in these attributes were considered of low quality.

CHAPTER 4. Study of non-volatile composition in red wines from three price categories and their relationship with the sensory attributes evaluated in mouth.

The non-volatile composition allowed differentiates significantly red wines of three studied categories of price. Forty eight chemical variables differentiate significantly three groups of wine.

It has been noted the correlation of the total acidity with the perceived acidity to the price categories high and medium standard.

The astringency evaluated in three groups of wines has been modeled mathematically on the basis of the chemical composition analyzed. Three models

obtained show a high implication of the proanthocyanidin (PAs), these allow to conclude that these compounds have an important weight in the prediction of the astringency independently of the type of wine. The rest of the non-volatile composition retained in the models indicates that the astringency of the wines of high and medium standard are more similar between them and different from the perceived one in the wines of low standard.

The inclusion in the mathematical models of attributes sensory evaluated in the wines as "acidity", "global intensity" and " bitterness " or aromatic as " vegetable" , "wood" and "spices " improve the predictive capacity of the three models generated only with chemical information, indicating the existence of important sensory interactions.

CHAPTER 5. Sensory attributes and chemical compounds with predictive capacity in the bitterness of red wines.

The bitterness evaluated in the group of wines of low standard has been modeled mathematically on the basis of the chemical composition analyzed. The mathematical model obtained shows that low molecular weight phenols (phenolic acids; flavonols; monomeric pigments and dimeric proanthocyanidins) are the phenolic compounds with major implication in the bitter taste.

The attributes sensory "acidity", "astringency" and "vegetable" described in the wines allow to construct a mathematical model of regression with predictive capacity of the bitterness.

The incorporation in the mathematical model of the chemical compounds with sensory activity and sensory attributes generates a model of regression who improves the variances and the predictive capacity of the models obtained with the chemical composition and the sensory attributes separately.

The incorporation in the mathematical model of the chemical compounds with sensory activity and sensory attributes generates a model of regression who improves the variances and the predictive capacity of the models obtained with the chemical composition and the sensory attributes separately.

CHAPTER 6. Sensory attributes of Rioja aging red wines and his relation with the quality perceived by experts, consumers and guides' scores.

The models of prediction show the existing dichotomy between the independent variables generated from the information gathered from a trained panel, which are ideal to predict the valuations of the critics of wine, experts and consumers. The first ones relate principally to attributes in mouth liked especially to the bitterness and, in minor measure, to the astringency. As for consumer and expert panels, the most relevant predictor variables are aromatic attributes.

The methodology is novel and produces better results to predict that to explain the causes that lead to perform such evaluations. In addition, it adapts to the different analyzed groups selecting indicators different and adapted for every group. Finally, it shows that wine critics have ability to detect and differentiate more sophisticated wines according to their level of perceived quality that the remaining groups.

ANEXOS

Anexo I. Aromas de referencia estándar presentados durante el entrenamiento del panel en el análisis sensorial descriptivo del capítulo 2. Descriptor, referencia (química o natural) y cantidades utilizadas.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
FRUTAL		
FRUTAS BLANCAS		
Manzana	Zumo de manzana (Carrefour)	30 mL[a]
Membrillo	Membrillo fresco	Media unidad troceada[a]
Pera	Néctar de pera (Carrefour)	30 mL[a]
FRUTAS AMARILLAS		
Albaricoque/Melocotón/ Nectarina	Zumo de melocotón (Granini)	30 mL[a]
Melón	Aceite esencial (Natura)	[b]
CÍTRICOS		
Bergamota	Caramelos de bergamota (Confiserie Stanislas)	2 unidades en 10 mL de agua[a]
Limón	Aroma natural de limón (Vahiné)	20 gotas en 30 mL de agua[a]
Naranja	Aroma natural de naranja (Vahiné)	20 gotas en 30 mL de agua[a]
Pomelo	Zumo pomelo (Granini)	30 mL[a]
FRUTOS ROJOS		
Cereza	Zumo de cereza (Granini)	30 mL[a]
Fresa	Zumo de fresa (Granini)	30 mL[a]
Frambuesa	Zumo de frambuesa (Granini)	30 mL[a]
Grosella	Nº 17 (Le Nez du Vin)	[b]
FRUTAS NEGRAS		
Arándanos	Confitura de arándanos receta (Fruta intensa Bonne Maman)	5 cucharadas de café en 10 mL de agua[a]
Casis/Grosella negra	Agua aromatizada de casis (Volvic Gourmande)	30 mL[a]
Mora	Sirope de mora (Védrenne)	5 mL en 10 mL de agua[a]
FRUTAS PASAS/SECAS		
Ciruela	Ciruelas secas	3 unidades[a]
Dátil	Dátil seco (Borges)	3 unidades[a]
Higo seco	Higos secos (Comet Brand)	2 unidades[a]
FRUTOS SECOS		
Almendra	Pasta de almendra blanca	10 g[a]
Avellana	Nº 23 (Le Nez du Vin)	[b]
Nuez	Nº 50 (Le Nez du Vin)	[b]
FRUTAS EXÓTICAS		
Coco	Leche de coco (Blue Dragón)	30 mL[a]
Lichi	Sirope de lichi en conserva (Eco+)	30 mL[a]
Mango	Zumo de mango (Carrefour)	30 mL[a]
Maracuyá	Néctar de maracuyá (Granini)	30 mL[a]
Piña	Zumo de piña (Granini)	30 mL[a]

Anexo I. Continúa.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
Plátano/Caramelo inglés	Zumo de banana (Granini)	30 mL[a]
OTRAS FRUTAS		
Frutas confitadas/cocidas	Surtido de frutas confitadas (Vahiné)	50 g[a]
Almendra amarga	Aroma de almendra amarga (Vahiné)	
Cereza en alcohol/Kirsch	Zumo de Bigarreaux (St Manet) + cerezas aplastadas + Kirsch	10 mL de zumo + 1 cereza + 2 mL Kirsch[a]
Moscatel	Moscatel (La Sultana)	20 mL[a]
Sidra	Sidra dulce (Carrefour)	30 mL[a]
FLORAL		
Acacia	Nº 25 (Le Nez du Vin)	[b]
Azahar	Azahar (Vahiné)	40 gotas en 30 mL de agua[b]
Geranio	Geranio	4 unidades cortadas en trozos[a]
Jazmín	Aceite esencial (Natura)	[b]
Lila	Disolución Firmenich	200 µg L^{-1}[b]
Madreselva	Disolución *International Flavour and Fragrances*	100 µg L^{-1}
Manzanilla	Manzanilla (Carrefour)	1 bolsita en 50 mL de agua hirviendo[b]
Miel	Miel de flores (Carrefour)	2 cucharadas de café en 20 mL[a]
Rosa	Rosa	4 unidades cortadas en trozos[a]
Tilo	Tila (Carrefour)	1 bolsita en 50 mL de agua hirviendo[b]
Violeta	Nº 29 (Le Nez du Vin)	[b]
VEGETAL		
VERDURAS		
Alcachofa	Agua de alcachofa en conserva (Carrefour)	30 mL[a]
Alubia verde	Agua de alubias verdes en conserva (Carrefour)	5 mL[a]
Apio	Hojas de apio fresco	1 hoja triturada[a]
Col	Agua de coles en conserva (Carrefour)	5 mL en 5 mL de agua[a]
Espárragos	Agua de espárragos en conserva (Carrefour)	1 mL (diluido $^1/_{10}$)[a]
Oliva	Agua de aceitunas en conserva (Carrefour)	5 mL[a]
Pimiento verde	Pimiento verde fresco	1 unidad triturada[a]
OTROS VEGETALES		
Heno/Hojas secas	Hojas secas	Un frasco de 120 mL lleno
Pino/Resina	Nº 35 (Le Nez du Vin)	100 µL[b]
Hierba	*Cis*-3-hexen-1-ol (Sigma - Aldrich)	100 µL[b]
Tabaco fresco	Tabaco fresco (Manitou)	$^1/_2$ cigarrillo[a]
ESPECIAS		
Anís/Hinojo	Anís (Agricultura Ecológica)	1 cucharada en 50 mL de agua hirviendo[a]

Anexo I. Continúa.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
Canela	Canela en polvo (Carrefour)	Fondo del matraz cubierto con el producto[a]
Clavo	Clavo (Amora)	2 unidades[a]
Curry	Curry (Carmelita)	Fondo del matraz cubierto con el producto[a]
Enebro	Granos de enebro	6 unidades trituradas[a]
Laurel	Hojas de laurel	2 unidades[a]
Mentol / Fresco	Dulces de menta (Carrefour)	4 unidades en 10 mL de agua caliente[a]
Nuez moscada	Nuez moscada (Carmelita)	1 unidad troceada en agua[a]
Pimienta	Pimienta negra en polvo (Carrefour)	Interior del frasco cubierto por el producto[a]
Regaliz	Regaliz (Haribo)	Un trozo (2 cm x 1 cm)[a]
Tomillo	Tomillo en polvo (Carrefour)	Interior del frasco cubierto por el producto[a]
Vainilla	Vainillina (Sigma - Aldrich)	30 g L^{-1}[a]
ANIMAL		
Cuero	4-etil-fenol (Sigma - Aldrich)	10 mg L^{-1}[a]
Fumé/Avecrem	Caldo de gallina blanca (Avecrem)	1 unidad en agua[a]
Almizcle	Referencia estándar (Sentosphère)	[b]
Pipí de gato	Arena con orina de gato	Un frasco de 120 mL lleno
Pelo mojado	Pelo de perro mojado	1/2 frasco[a]
Transpiración/Sudor	Nº 8 (Le Nez du Vin), *Les défauts*	[b]
TOSTADO/MADERA		
TOSTADO		
Caramelo	Caramelo liquido (Carrefour)	30 mL en 30 mL de agua[a]
Café torrefacto	Café (Carrefour)	1 cucharada[a]
Pan tostado	Pan fresco	1 rebanada de pan fresco tostado[a]
MADERA		
Madera verde/nueva	Roble de madera	1 g en 60 mL de agua caliente[a]
Humo de madera	Nº 54 (Le Nez du Vin)	[b]
SOTOBOSQUE		
Champiñón	Agua de champiñón en conserva (Carrefour)	1 mL (diluido 1/10)[b]
Humus/Tierra	Humus	10 g[a]
Moho	Pan mohoso	Una rebanada
OTROS		
Alcohol	Etanol (Sigma - Aldrich)	(diluido 1/2)[b]
Alquitrán/Asfalto	Una pieza de tela asfáltica	Un trozo (8 cm x 1 cm)[a]
Azufre	Nº 54 (Le Nez du Vin), *Les défauts*	[b]
Cartón/Polvo	Polvo	Trozos[a]
Caucho	Nº 36 (Le Nez du Café), *Passion révélation*	[b]

Anexo I. Continúa.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
Chocolate	Perlas de chocolate (Vahiné)	1 cucharada[a]
Levadura	Levadura de reposteria (Mandarín)	5 g en 30 mL de agua caliente[a]
Mantequilla	Mantequilla (Carrefour)	10 g L^{-1}[a]
Lácteo	Nata liquida (President)	10 mL[a]
Sílex/Pedernal	bis (2-metil-1,3,4-tiadiazolil)-5,5'-disulfano	[b]

[a] Frasco ámbar de 60 mL, [b] Frasco ámbar de 60 mL con un papel absorbente de (5 x 11 cm) impregnado con 10 mL de disolución odorante.

Anexo II. Lista de descriptores aromáticos utilizados por los panelistas en el análisis descriptivo de los vinos tintos pertenecientes a distintas categorías de precio.

Lista de descriptores aromáticos

- **FRUTAL**
  - **FRUTAS BLANCAS**
    - Manzana
    - Membrillo
    - Pera
  - **FRUTAS AMARILLAS**
    - Albaricoque/Melocotón/Nectarina
    - Melón
  - **CÍTRICOS**
    - Bergamota
    - Limón
    - Naranja
    - Pomelo
  - **FRUTOS ROJOS**
    - Cereza
    - Fresa
    - Frambuesa
    - Grosella
  - **FRUTAS NEGRAS**
    - Arándano
    - Casis/Grosella negra
    - Mora
  - **FRUTAS PASAS/SECAS**
    - Ciruela
    - Dátil
    - Higo seco
  - **FRUTOS SECOS**
    - Almendra
    - Avellana
    - Nuez
  - **FRUTAS EXÓTICAS**
    - Coco
    - Lichi
    - Mango
    - Maracuyá
    - Piña
    - Plátano/Caramelo inglés
  - **Frutas cocidas/confitadas**
  - **Almendra amarga**
  - **Cereza en alcohol/Kirsch**
  - **Moscatel**
  - **Sidra**
- **FLORAL**
  - Acacia
  - Azahar
  - Geranio
  - Jazmín
  - Lila
  - Madreselva
  - Manzanilla
  - Miel
  - Rosa
  - Tilo
  - Violeta
- **VEGETAL**
  - **VERDURAS**
    - Alcachofa
    - Alubia verde
    - Apio
    - Col
    - Espárrago
    - Oliva
    - Pimiento
  - **Heno/Hojas secas**
  - **Pino/Resina**
  - **Hierba**
  - **Tabaco fresco**
- **ESPECIAS**
  - Anís/Hinojo
  - Canela
  - Clavo
  - Curry
  - Enebro
  - Laurel
  - Mentol/Fresco
  - Nuez moscada
  - Pimienta
  - Regaliz
  - Tomillo
  - Vainilla
- **ANIMAL**
  - Cuero
  - Fumé/" Avecream"
  - Almizcle
  - Pipí de gato
  - Pelo mojado
  - Transpiración/Sudor
- **TOSTADO / MADERA**
  - **TOSTADO**
    - Caramelo
    - Café torrefacto
    - Pan tostado
  - **MADERA**
    - Madera verde/nueva
    - Humo de madera
- **SOTOBOSQUE**
  - Champiñón
  - Humus / Tierra
  - Moho
- **OTROS**
  - Alcohol
  - Alquitrán/Asfalto
  - Azufre
  - Cartón/Polvo
  - Caucho
  - Chocolate
  - Levadura
  - Mantequilla
  - Lácteo
  - Sílex/Pedernal

Anexo III. Formato utilizado durante la fase de entrenamiento general.

Código de Sujeto:
Fecha: **Sesión 1**

Parte A

Se os presentan 2 vinos y 12 referencias. El objetivo de esta parte es, en el caso que lo creas oportuno, asociar a cada vino una o varias referencias.
Lo primero que se os pide es oler los 2 vinos y a continuación podréis oler los vinos o las referencias libremente.

Vino	Referencias asociadas
A	
B	

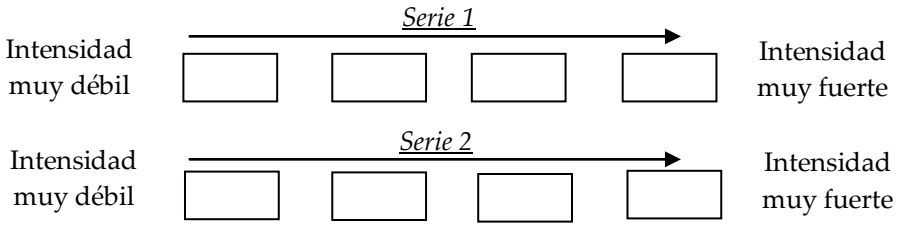
Parte B

A partir de la lista de descriptores, se os pide que primeramente intentéis encontrar a qué categoría de aroma pertenece cada referencia y a continuación intentar de encontrar a qué descriptor corresponde cada referencia.

Ref Nº	Categoría	Descriptor
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

Parte C

Se os presentan cuatro disoluciones acuosas. Os pedimos que las probéis y que las clasifiquéis según su intensidad. ¿Cuál es el sabor?



Parte D

Finalmente, os pedimos que rodeéis con un círculo el sabor/sensación predominante en los vinos que se os han presentado anteriormente.

Vino A : Dulce Ácido Amargo Astringente*
Vino B : Dulce Ácido Amargo Astringente*

* La astringencia es la sensación de sequedad producida por ciertas sustancias en la boca y en el interior de los carrillos.

Anexo IV. Formato utilizado durante la fase de entrenamiento especifico de vinos tintos pertenecientes a distintas categorías de precio.

Código de Sujeto:

Fecha: **Sesión 5**

Parte A

A partir de la lista de descriptores, se os pide que primeramente intentéis encontrar a qué categoría de aroma pertenece cada referencia y a continuación intentar encontrar a qué descriptor corresponde cada referencia.

Ref Nº	Categoría	Descriptor
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

Parte B

Se os presenta cuatro disoluciones acuosas. Os pedimos que situéis cada disolución sobre las escalas de intensidades

Serie 1

0 Ausencia | 1 Muy débil | 2 | 3 Débil | 4 | 5 Medio | 6 | 7 Fuerte | 8 | 9 Muy fuerte

Serie 2

0 Ausencia | 1 Muy débil | 2 | 3 Débil | 4 | 5 Medio | 6 | 7 Fuerte | 8 | 9 Muy fuerte

Parte C

Se os presenta **TRES VINOS**. Anota la **INTENSIDAD AROMÁTICA** para cada uno de los vinos. A continuación, marca un máximo de 5 términos sobre la lista de manera que describáis, a vuestro parecer, el aroma de los vinos.

Vino A

1 Muy débil | 2 | 3 Débil | 4 | 5 Medio | 6 | 7 Fuerte | 8 | 9 Muy fuerte

Vino B

1 Muy débil | 2 | 3 Débil | 4 | 5 Medio | 6 | 7 Fuerte | 8 | 9 Muy fuerte

Vino C

1 Muy débil | 2 | 3 Débil | 4 | 5 Medio | 6 | 7 Fuerte | 8 | 9 Muy fuerte

Girar

Anexo IV. Continúa.

Parte D

Anota la intensidad de dulzor, acidez, amargor, astringencia, persistencia e intensidad global para el vino presentado.

Vino A

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Intensidad global		☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐	☐ Corta	☐	☐ Medio	☐	☐ Larga	☐	☐ Muy larga

Vino B

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Intensidad global		☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐	☐ Corta	☐	☐ Medio	☐	☐ Larga	☐	☐ Muy larga

Vino C

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Intensidad global		☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐	☐ Corta	☐	☐ Medio	☐	☐ Larga	☐	☐ Muy larga

Anexo V. Formato de ficha utilizado en la evaluación sensorial de las muestras vinos tintos pertenecientes a distintas categorías de precio.

Código Vino _____ **Código Panelista** _____

PARTE A.

Anota la **INTENSIDAD AROMATICA**

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Muy débil		Débil		Medio		Fuerte		Muy fuerte

Lista de descriptores aromáticos

FRUTAL

FRUTAS BLANCAS
- Manzana
- Membrillo
- Pera

FRUTAS AMARILLAS
- Albaricoque/Melocotón/Nectarina
- Melón

CÍTRICOS
- Bergamota
- Limón
- Naranja
- Pomelo

FRUTOS ROJOS
- Cereza
- Fresa
- Frambuesa
- Grosella

FRUTAS NEGRAS
- Arándano
- Casis/Grosella negra
- Mora

FRUTAS PASAS/SECAS
- Ciruela
- Dátil
- Higo seco

FRUTOS SECOS
- Almendra
- Avellana
- Nuez

FRUTAS EXÓTICAS
- Coco
- Lichi
- Mango
- Maracuyá
- Piña
- Plátano/Caramelo inglés

Frutas cocidas/confitadas

Almendra amarga

Cereza en alcohol/Kirsch

Moscatel

Sidra

FLORAL
- Acacia
- Azahar
- Geranio
- Jazmín
- Lila
- Madreselva
- Manzanilla
- Miel
- Rosa
- Tilo
- Violeta

VEGETAL

VERDURAS
- Alcachofa
- Alubia verde
- Apio
- Col
- Espárrago
- Oliva
- Pimiento

Heno/Hojas secas

Pino/Resina

Hierba

Tabaco fresco

ESPECIAS
- Anís/Hinojo
- Canela
- Clavo
- Curry
- Enebro
- Laurel
- Mentol/Fresco
- Nuez moscada
- Pimienta
- Regaliz
- Tomillo
- Vainilla

ANIMAL
- Cuero
- Fumé/"Avecream"
- Almizcle
- Pipí de gato
- Pelo mojado
- Transpiración/Sudor

TOSTADO / MADERA

TOSTADO
- Caramelo
- Café torrefacto
- Pan tostado

MADERA
- Madera verde/nueva
- Humo de madera

SOTOBOSQUE
- Champiñón
- Humus / Tierra
- Moho

OTROS
- Alcohol
- Alquitrán/Asfalto
- Azufre
- Cartón /Polvo
- Caucho
- Chocolate
- Levadura
- Mantequilla
- Lácteo
- Sílex/Pedernal

Girar

PARTE C. Anota la intensidad del dulzor, acidez, amargor, astringencia, intensidad global y persistencia para cada vino

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Intensidad global		☐ Muy débil	☐	☐ Débil	☐	☐ Medio	☐	☐ Fuerte	☐	☐ Muy fuerte
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Persistencia		☐ Muy corta	☐	☐ Corta	☐	☐ Medio	☐	☐ Larga	☐	☐ Muy larga

Anexo VI. Protocolo de la prueba de categorización para la evaluación de la calidad en los vinos de gama alta, gama media, gama baja.

Delante de vosotros tenéis 24 (34) (36) vinos tintos de calidad alta (media) (baja) (precio entre 15 y 25 - 6 y 14 - 1 y 5 €/botella en tienda). Cada una de las muestras está codificada con un número de 3 cifras.
El objetivo es clasificar los vinos de acuerdo con su calidad, en una de las siguientes categorías:

- *Excepcional (5)*
- *Bueno/Muy bueno (4)*
- *Correcto/Aceptable (3)*
- *Pobre/Decepcionante (2)*
- *Deficiente/Rechazable (1)*

1. Debéis poner las muestras que vosotros consideréis en cada uno de los grupos.
2. Un grupo puede estar constituido por una sola muestra
3. Inicialmente debéis oler y probar cada una de las copas y sois libres de tardar el tiempo que estiméis oportuno hasta clasificar los vinos presentados.
4. Después de oler y probar cada muestra debéis taparla.
5. Una vez clasificadas las muestras, os pedimos que anotéis:

- Los códigos de las copas que constituyen cada uno de los grupos en la ficha
- Para cada vino anotéis de 1 a 3 términos que indiquen el criterio de calidad utilizado.

Podéis volver a oler o probar las muestras si lo deseáis, pero ya no debéis modificar los grupos establecidos.

TODA ESTA EXPERIENCIA ES INDIVIDUAL

Anexo VII. Términos individuales más relevantes para la definición del espacio sensorial de la categoría de **vinos de gama alta**. Frecuencia de citación máxima ($FC_{máx}$) para los términos entre los vinos de la categoría, y significación de acuerdo al criterio χ^2.

	Termino	$FC_{máx}$	*P* (χ^2)
1	Alcohol	10	<0.001
2	Madera	10	<0.001
3	Humo de madera	8	<0.001
4	Frutos pasas	8	<0.001
5	Cuero	12	<0.001
6	Caramelo	6	<0.001
7	Floral	6	<0.001
8	Vainilla	9	<0.001
9	Regaliz	8	<0.001
10	Madera nueva	6	<0.001
11	Especias	6	<0.001
12	Frutas rojas	6	<0.001
13	Pan tostado	6	<0.001
14	Café	8	<0.001
15	Frutas negras	5	<0.001
16	Vegetales	7	<0.001
17	Mora	5	<0.001
18	Pimienta negra	6	<0.001
19	Humus/Tierra	6	<0.001
20	Mentol/Fresco	7	<0.001
21	Frutas cocidas/confitadas	7	<0.001
22	Ciruela	5	<0.001
23	Higo seco	6	<0.001
24	Espárragos	6	0.0060
25	Pimiento	5	0.0250
26	Nueces	5	0.0326
27	Dátil	6	0.0348
28	Chocolate	5	0.0480
29	Alubias verdes	5	0.0672

Anexo VIII Términos individuales más relevantes para la definición del espacio sensorial de la categoría de **vinos de gama de media**. Frecuencia de citación máxima ($FC_{máx}$) para los términos entre los vinos de la categoría, y significación de acuerdo al criterio χ^2.

	Términos	**$FC_{máx}$**	***P* (χ^2)**
1	Alcohol	12	<0.001
2	Cuero	9	<0.001
3	Especias	9	<0.001
4	Pimiento	9	<0.001
5	Madera	9	<0.001
6	Frutas pasas	8	<0.001
7	Humo de madera	8	<0.001
8	Regaliz	8	<0.001
9	Floral	7	<0.001
10	Frutas rojas	7	<0.001
11	Madera nueva	7	<0.001
12	Café	6	<0.001
13	Vainilla	6	<0.001
14	Mentol/fresco	6	<0.001
15	Caramelo	5	<0.001
16	Frutas negras	5	<0.001
17	Pimienta negra	5	<0.001
18	Ciruela	5	<0.001
19	Frutos secos	5	<0.001
20	Vegetales	5	<0.001
21	Oliva	5	<0.001
22	Higo seco	5	0.0626

Anexo IX. Términos individuales más relevantes para la definición del espacio sensorial de la categoría de **vinos de gama de baja**. Frecuencia de citación máxima ($FC_{máx}$) para los términos entre los vinos de la categoría, y significación de acuerdo al criterio χ^2.

	Termino	$FC_{máx}$	*P* (χ^2)
1	Frutas pasas	9	<0.001
2	Frutas negras	9	<0.001
3	Frutas rojas	9	<0.001
4	Alcohol	9	<0.001
5	Humo de madera	10	<0.001
6	Cuero	9	<0.001
7	Pimienta negra	8	<0.001
8	Pan tostado	9	<0.001
9	Madera nueva	8	<0.001
10	Especias	7	<0.001
11	Caramelo	6	<0.001
12	Regaliz	8	<0.001
13	Ciruela	7	<0.001
14	Mora	6	<0.001
15	Mentol/Fresco	7	<0.001
16	Frambuesa	5	<0.001
17	Vainilla	11	<0.001
18	Pimiento	13	<0.001
19	Café	6	<0.001
20	Fresa	6	<0.001
21	Frutas cocidas/confitadas	10	<0.001
22	Floral	6	<0.001
23	Madera	5	<0.001
24	Higo seco	5	<0.001
25	Nuez moscada	5	<0.001
26	Humus/Tierra	7	0.0014
27	Vegetales	5	0.0026
28	Membrillo	5	0.0181
29	Manzana	8	0.0255
30	Almendra amarga	6	0.0266
31	Alubia verde	6	0.0298
32	Chocolate	5	0.0358
33	Nueces	5	0.0489
34	Vinagre	5	0.0538
35	Cartón/Polvo	5	0.0772

Anexo X. Protocolo de enjuague utilizado por el panel entrenado en la evaluación sensorial.

PROTOCOLO DE ENJUAGUE ENTRE MUESTRAS

1. Introducir el vino en la boca.
2. Escupir después de 10 segundos.
3. Enjuagarse la boca con agua desionizada (mantener en la boca durante 20 seg).
4. Enjuagarse la boca con pectina (mantener en la boca durante 10 seg).
5. Enjuagarse la boca con agua desionizada (mantener en la boca durante 20 seg).
6. Enjuagarse una segunda vez la boca con agua desionizada (20 seg).

COMENZAR CON EL SIGUIENTE VINO

Anexo XI. Lista de descriptores aromáticos utilizados en el análisis descriptivo de los vinos tintos con DOCa Rioja.

Lista de descriptores aromáticos

- ☐ **FRUTAL**
  - ☐ **FRUTAS BLANCAS**
    - ☐ Manzana
    - ☐ Membrillo
    - ☐ Pera
  - ☐ **FRUTAS AMARILLAS**
    - ☐ Albaricoque/Melocotón/Nectarina
    - ☐ Melón
  - ☐ **CÍTRICOS**
    - ☐ Bergamota
    - ☐ Limón
    - ☐ Naranja
    - ☐ Pomelo
  - ☐ **FRUTOS ROJOS**
    - ☐ Cereza
    - ☐ Fresa
    - ☐ Frambuesa
    - ☐ Grosella
  - ☐ **FRUTAS NEGRAS**
    - ☐ Arándano
    - ☐ Casis/Grosella negra
    - ☐ Mora
  - ☐ **FRUTAS PASAS/SECAS**
    - ☐ Ciruela
    - ☐ Dátil
    - ☐ Higo seco
  - ☐ **FRUTOS SECOS**
    - ☐ Almendra
    - ☐ Avellana
    - ☐ Nuez
  - ☐ **FRUTAS EXÓTICAS**
    - ☐ Coco
    - ☐ Lichi
    - ☐ Mango
    - ☐ Maracuyá
    - ☐ Piña
    - ☐ Plátano/Caramelo inglés
  - ☐ **Frutas cocidas/confitadas**
  - ☐ **Almendra amarga**
  - ☐ **Cereza en alcohol/Kirsch**
  - ☐ **Moscatel**
  - ☐ **Sidra**
  - ☐ **Manzana cocida**
- ☐ **FLORAL**
  - ☐ Acacia
  - ☐ Azahar
  - ☐ Geranio
  - ☐ Jazmín
  - ☐ Lila
  - ☐ Madreselva
  - ☐ Manzanilla
  - ☐ Miel
  - ☐ Rosa
  - ☐ Tilo
  - ☐ Violeta
- ☐ **VEGETAL**
  - ☐ **VERDURAS**
    - ☐ Alcachofa
    - ☐ Alubia verde
    - ☐ Apio
    - ☐ Col
    - ☐ Espárrago
    - ☐ Oliva
    - ☐ Pimiento
  - ☐ **Patata cocida**
  - ☐ **Heno/Hojas secas**
  - ☐ **Pino/Resina**
  - ☐ **Hierba**
  - ☐ **Tabaco fresco**
- ☐ **ESPECIAS**
  - ☐ Anís/Hinojo
  - ☐ Canela
  - ☐ Clavo
  - ☐ Curry
  - ☐ Enebro
  - ☐ Laurel
  - ☐ Mentol/Fresco
  - ☐ Nuez moscada
  - ☐ Pimienta
  - ☐ Regaliz
  - ☐ Tomillo
  - ☐ Vainilla
- ☐ **ANIMAL**
  - ☐ Cuero
  - ☐ Fumé/ "Avecream"
  - ☐ Almizcle
  - ☐ Pipí de gato
  - ☐ Pelo mojado
  - ☐ Transpiración/Sudor
- ☐ **TOSTADO/MADERA**
  - ☐ **TOSTADO**
    - ☐ Caramelo
    - ☐ Café torrefacto
    - ☐ Pan tostado
  - ☐ **MADERA**
    - ☐ Madera verde/nueva
    - ☐ Humo de madera
- ☐ **SOTOBOSQUE**
  - ☐ Champiñón
  - ☐ Humus/Tierra
  - ☐ Moho
- ☐ **OTROS**
  - ☐ Alcohol
  - ☐ Alquitrán/Asfalto
  - ☐ Azufre
  - ☐ Cartón/Polvo
  - ☐ Caucho
  - ☐ Chocolate
  - ☐ Levadura
  - ☐ Mantequilla
  - ☐ Lácteo
  - ☐ Sílex/Pedernal
  - ☐ Pegamento $^{1}/_{2}$
  - ☐ Vinagre

Anexo XII. Aromas de referencia estándar presentados durante el entrenamiento del panel en el análisis sensorial descriptivo del capítulo 6. Descriptor, referencia (química o natural) y cantidades utilizadas.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
FRUTAL		
FRUTAS BLANCAS		
Manzana	Manzana	Media unidad cortada en trozos[a]
Membrillo	Membrillo	Media unidad cortada en trozos[a]
Pera	Pera	Media unidad cortada en trozos[a]
FRUTAS AMARILLAS		
Albaricoque/Melocotón/ Nectarina	Zumo de melocotón (Granini)	30 mL[a]
Melón	Melón fresco	Media unidad troceada[a]
CÍTRICOS		
Bergamota	Caramelos de Bergamota (Confiserie Stanislas)	2 unidades en 10 mL de agua caliente[a]
Limón	Agua aromatizada de limón (Font Vella)	15 mL en 15 mL de agua[a]
Naranja	Jugo de naranja natural	15 mL en 15 mL de agua[a]
Pomelo	Zumo pomelo rosa (Granini)	15 mL en 15 mL de agua[a]
FRUTOS ROJOS		
Cereza	Nº 18 (Le Nez du Vin)	[b]
Fresa	Chupa Chups de fresa (Carrefour) + pure liofilizado de fresa	30 mL[a]
Frambuesa	Mermelada de fresa (Carrefour)	Una cucharada[a]
Grosella	Grosella natural	15 unidades cortadas en trozos[a]
FRUTAS NEGRAS		
Arándanos	Mermelada de arándanos (Carrefour)	1 cucharada[a]
Casis/Grosella negra	Agua aromatizada de casis (Volvic Gourmande)	30 mL[a]
Mora	Licor de mora (Loch Castle)	30 mL[a]
FRUTAS PASAS/SECAS		
Ciruela	Ciruelas secas (Borges)	3 unidades cortados en trozos[a]
Dátil	Dátiles secos (Borges)	3 unidades cortados en trozos[a]
Higo seco	Higos secos (Borges)	2 unidades cortados en trozos[a]
FRUTOS SECOS		
Almendra	Almendra tostada (Borges)	3 unidades cortadas en trozos[a]
Avellana	Avellanas tostada(Borges)	3 unidades cortadas en trozos[a]
Nuez	Nuez tostada (Borges)	3 unidades cortadas en trozos[a]
FRUTAS EXÓTICAS		
Coco	Coco rayado (Royal)	Una cucharada[a]
Lichi	Lichi natural	2 unidades cortadas en trozos[a]
Mango	Néctar de mango (Carrefour)	30 mL[a]
Maracuyá	Zumo de maracuyá (Compal)	30 mL[a]

Anexo XII. Continúa.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
Piña	Zumo de piña (Granini)	30 mL[a]
Plátano/Caramelo inglés	Acetato de isoamilo (Sigma-Aldrich)	30 mL[a]
OTRAS FRUTAS		
Frutas confitadas/cocidas	Macedonia de frutas confitadas (Vahiné)	10 g[a]
Almendra amarga	N° 21 (Le Nez du Vin)	[b]
Cereza en alcohol/Kirsch	Licor de cereza (Miura) + cereza confitada (Bebe)	10 mL de licor de cereza + 1 cereza[a]
Moscatel	Moscatel (Goya)	20 mL[a]
Sidra	Sidra (Saizar)	30 mL[a]
Manzana cocida	Manzana asada	Media unidad cortada en trozos[a]
FLORAL		
Acacia	Nº 25 (Le Nez du Vin)	[b]
Azahar	Azahar (Vahiné)	40 gotas en 30 mL de agua[b]
Geranio	Aceite esencial (Todo Aromas)	30 mL de agua[b]
Jazmín	Aceite esencial (La Casa de los Aromas)	30 mL de agua[b]
Lila	Disolución Firmenich	200 µg L^{-1}
Madreselva	Aceite esencial (Todo Aromas)	30 mL de agua[b]
Manzanilla	Manzanilla (Carrefour)	1 bolsitas 50 mL de agua caliente[b]
Miel	Miel de flores (San Francisco)	2 cucharadas en 10 mL de agua[a]
Rosa	Pétalos de rosa	4 unidades cortadas en trozos[a]
Tilo	Tila (Carrefour)	1 bolsitas en 50 mL de agua hirviendo[b]
Violeta	Nº 22 (Le Loto des Odeurs)	[b]
VEGETAL		
VERDURAS		
Alcachofa	Agua de alcachofas cocidas	30 mL[a]
Alubia verde	Agua de alubias verdes en conserva (Carrefour)	5 mL[a]
Apio	Hojas de apio en trozos (tallo + hojas)	1 unidad
Col	Agua de coliflor cocida	5mL (diluido 1/10)[a]
Espárragos	Agua de espárragos en conservas (Carretilla)	1mL (diluido 1/10)[a]
Oliva	Agua de aceitunas en conserva (Carrefour)	5 mL en 5 mL de agua[a]
Pimiento	Pimiento	1 unidad en trozos[a]
OTROS VEGETALES		
Patata cocida	Patata cocida	1/2 unidad[a]
Heno/Hojas secas	Nº 38 (Le Nez du Vin)	[b]
Pino/Resina	Acículas de pino	20 acículas de pino[a]
Hierba	Hierba cortada	5 g de hierba[a]
Tabaco fresco	Tabaco fresco (Chesterfield)	1/2 cigarrillo[a]

Anexo XII. Continúa.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
ESPECIAS		
Anís/Hinojo	Anís (Carrefour Agricultura Ecológica)	10 g en 50 mL de agua hirviendo[a]
Canela	Canela en polvo (Carrefour)	Interior del frasco cubierto por el producto[a]
Clavo	Clavo (Carrefour)	2 unidades[a]
Curry	Curry (Carmelita)	Interior del frasco cubierto por el producto[a]
Enebro	Granos de enebro	6 unidades trituradas
Laurel	Hojas de laurel (Carmelita)	2 unidades cortadas en trozos[a]
Mentol/Fresco	Caramelos de menta (Carrefour)	4 unidades en 10 mL de agua caliente[a]
Nuez moscada	Nuez moscada (Carmelita)	1 unidad triturada en trozos[a]
Pimienta	Pimienta negra en polvo (Carrefour)	Interior del frasco cubierto por el producto[a]
Regaliz	Regaliz	1 unidad (2 cm x 1 cm)[a]
Tomillo	Tomillo en polvo (Carrefour)	Interior del frasco cubierto por el producto[a]
Vainilla	Vainillina (Sigma -Aldrich)	30 g L^{-1}[a]
ANIMAL		
Cuero	Cuero de marroquinería + 4-etil-fenol (Sigma-Aldrich)	Trozos de cuero + 1 mL[a]
Fumé/Avecrem	Caldo de Gallina (Avecrem)	1 unidad en 30 mL de agua caliente[a]
Almizcle	Pelleta de Jabalí	Trozos[a]
Pipí de gato	Arena con orina de gato	Un frasco de 60 mL lleno
Pelo mojado	Pelo de perro húmedo	1/2 frasco[a]
Transpiración/Sudor	Camiseta sudada	1/2 frasco[a]
TOSTADO/MADERA		
TOSTADO		
Caramelo	Caramelo líquido (Royal)	30 mL[a]
Café torrefacto	Café torrefacto (Carrefour)	1 cucharada[a]
Pan tostado	Pan fresco	1/2 rebanada de pan fresco tostado[a]
MADERA		
Madera verde/nueva	Extracto de virutas de roble en alcohol	5 g en 60 mL de etanol-agua[a]
Humo de madera	Nº 54 (Le Nez du Vin)	[b]
SOTOBOSQUE		
Champiñón	Agua de champiñones en conserva (Carrefour)	1 mL (diluido 1/10)[a]
Humus/Tierra	Tierra húmeda	10g[a]
Moho	Nº 11 (Le Nez du Vin), *Les Défauts*	[b]
OTROS		
Alcohol	Etanol (Sigma-Aldrich)	(diluido 1/2)[a]
Alquitrán/Asfalto	Tela asfáltica y alquitrán	Un trozo (8cm x 1 cm)[a]

Anexo XII. Continúa.

Descriptor	Referencias	Cantidad o concentración
Azufre	Nº 54 (Le Nez du Vin), *Les défauts*	[b]
Cartón/Polvo	Polvo	Polvo de aspiradora[a]
Caucho	Nº 36 (Le Nez du Café), *Passion Révélation*	[b]
Chocolate	Perlas de chocolate (Vahiné)	1 cucharadita[a]
Levadura	Levadura vínica	5 g en 50 mL de agua caliente[a]
Mantequilla	Mantequilla (Carrefour)	10 g[a]
Lacteo	Nata liquida (President)	30 mL[a]
Sílex/pedernal	bis (2-metil-1,3,4-tiadiazolil)-5,5'-disulfano (Sigma-Aldrich)	[b]
Pegamento $^1/_2$	Acetato de etilo (Scharlab)	30 mL de agua[b]
Vinagre	Vinagre (El Encierro)	1 mL (diluido $^1/_{10}$)[a]

[a] Frasco ámbar de 60 mL, [b] Frasco ámbar de 60 mL con un papel adsorbente de (5 x 11 cm) impregnado con 5 gotas de disolución odorante.

Anexo XIII. Formato utilizado durante la fase de entrenamiento especifico de vinos tintos de DOCa Rioja.

Código de Sujeto:
Fecha: **Sesión 5**

Parte A

A partir de la lista de descriptores, se os pide que primeramente intentéis encontrar a qué categoría de aroma pertenece cada referencia y a continuación intentar encontrar a qué descriptor corresponde cada referencia.

Ref Nº	Categoría	Descriptor
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		

Parte B

Se os presenta cuatro disoluciones acuosas. Os pedimos que situéis cada disolución sobre las escalas de intensidades ***Serie 1***

0	1	2	3	4	5
☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ausencia	Muy débil	Débil	Medio	Fuerte	Muy fuerte

0	1	2	3	4	5
☐	☐	☐	☐	☐	☐
Ausencia	Muy débil	Débil	Medio	Fuerte	Muy fuerte

Parte C

Se os presenta **TRES VINOS**. Anota la **INTENSIDAD AROMÁTICA** para cada uno de los vinos. A continuación, marca un máximo de 5 términos sobre la lista de manera que describáis, a vuestro parecer, el aroma de los vinos.

	1	2	3	4	5
Vino A	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Vino B	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Vino C	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte

Anexo XIII. Continúa.

Parte D

Anota la intensidad de dulzor, acidez, amargor, astringencia, persistencia e intensidad global para el vino presentado.

Vino A

	0	1	2	3	4	5
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Intensidad Global		☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐ Corta	☐ Media	☐ Larga	☐ Muy larga

Vino B

	0	1	2	3	4	5
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Intensidad Global		☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐ Corta	☐ Media	☐ Larga	☐ Muy larga

Vino C

	0	1	2	3	4	5
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Intensidad Global		☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐ Corta	☐ Media	☐ Larga	☐ Muy larga

Anexo XIV. Formato de ficha utilizado en la evaluación sensorial de las muestras vinos tintos de DOCa Rioja.

Código Vino _____ **Código Panelista** _____

PARTE A.
Anota la INTENSIDAD AROMATICA

1	2	3	4	5
Muy débil	Débil	Medio	Fuerte	Muy fuerte

PARTE B. Marca un **máximo de 5 términos** de la lista para describir el aroma del vino presentado

Lista de descriptores aromáticos

- ☐ **FRUTAL**
  - ☐ **FRUTAS BLANCAS**
    - ☐ Manzana
    - ☐ Membrillo
    - ☐ Pera
  - ☐ **FRUTAS AMARILLAS**
    - ☐ Albaricoque/Melocotón/Nectarina
    - ☐ Melón
  - ☐ **CÍTRICOS**
    - ☐ Bergamota
    - ☐ Limón
    - ☐ Naranja
    - ☐ Pomelo
  - ☐ **FRUTOS ROJOS**
    - ☐ Cereza
    - ☐ Fresa
    - ☐ Frambuesa
    - ☐ Grosella
  - ☐ **FRUTAS NEGRAS**
    - ☐ Arándano
    - ☐ Casis/Grosella negra
    - ☐ Mora
  - ☐ **FRUTAS PASAS/SECAS**
    - ☐ Ciruela
    - ☐ Dátil
    - ☐ Higo seco
  - ☐ **FRUTOS SECOS**
    - ☐ Almendra
    - ☐ Avellana
    - ☐ Nuez
  - ☐ **FRUTAS EXÓTICAS**
    - ☐ Coco
    - ☐ Lichi
    - ☐ Mango
    - ☐ Maracuyá
    - ☐ Piña
    - ☐ Plátano/Caramelo inglés
  - ☐ **Frutas cocidas/confitadas**
  - ☐ **Almendra amarga**
  - ☐ **Cereza en alcohol/Kirsch**
  - ☐ **Moscatel**
  - ☐ **Sidra**
  - ☐ **Manzana cocida**
- ☐ **FLORAL**
  - ☐ Acacia
  - ☐ Azahar
  - ☐ Geranio
  - ☐ Jazmín
  - ☐ Lila
  - ☐ Madreselva
  - ☐ Manzanilla
  - ☐ Miel
  - ☐ Rosa
  - ☐ Tilo
  - ☐ Violeta
- ☐ **VEGETAL**
  - ☐ **VERDURAS**
    - ☐ Alcachofa
    - ☐ Alubia verde
    - ☐ Apio
    - ☐ Col
    - ☐ Espárrago
    - ☐ Oliva
    - ☐ Pimiento
  - ☐ **Patata cocida**
  - ☐ **Heno/Hojas secas**
  - ☐ **Pino/Resina**
  - ☐ **Hierba**
  - ☐ **Tabaco fresco**
- ☐ **ESPECIAS**
  - ☐ Anís/Hinojo
  - ☐ Canela
  - ☐ Clavo
  - ☐ Curry
  - ☐ Enebro
  - ☐ Laurel
  - ☐ Mentol/Fresco
  - ☐ Nuez moscada
  - ☐ Pimienta
  - ☐ Regaliz
  - ☐ Tomillo
  - ☐ Vainilla
- ☐ **ANIMAL**
  - ☐ Cuero
  - ☐ Fumé/ "Avecream"
  - ☐ Almizcle
  - ☐ Pipí de gato
  - ☐ Pelo mojado
  - ☐ Transpiración/Sudor
- ☐ **TOSTADO/MADERA**
  - ☐ **TOSTADO**
    - ☐ Caramelo
    - ☐ Café torrefacto
    - ☐ Pan tostado
  - ☐ **MADERA**
    - ☐ Madera verde/nueva
    - ☐ Humo de madera
- ☐ **SOTOBOSQUE**
  - ☐ Champiñón
  - ☐ Humus/Tierra
  - ☐ Moho
- ☐ **OTROS**
  - ☐ Alcohol
  - ☐ Alquitrán/Asfalto
  - ☐ Azufre
  - ☐ Cartón/Polvo
  - ☐ Caucho
  - ☐ Chocolate
  - ☐ Levadura
  - ☐ Mantequilla
  - ☐ Lácteo
  - ☐ Sílex/Pedernal
  - ☐ Pegamento ½
  - ☐ Vinagre

Girar

PARTE C. Anota la intensidad del dulzor, acidez, amargor, astringencia, intensidad global y persistencia para cada vino.

	0	1	2	3	4	5
Dulce	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Ácido	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Amargo	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Astringente	☐ Ausencia	☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Intensidad global		☐ Muy débil	☐ Débil	☐ Medio	☐ Fuerte	☐ Muy fuerte
Persistencia		☐ Muy corta	☐ Corta	☐ Media	☐ Larga	☐ Muy larga

Anexo XV. Protocolo de descripción de caracteres organolépticos utilizados en la ficha de degustación del panel de expertos.

1. VISTA / ojo: Discriminación de las diferencias sensoriales mediante la acción de la luz.
2. OLFATO / nariz: Sensaciones percibidas por el órgano olfativo cuando es estimulado por ciertas substancias volátiles
3. GUSTO / boca: Conjunto de las sensaciones percibidas durante la puesta en boca del producto.

Limpidez: *Este descriptor permite medir la intensidad del nivel de turbidez de un producto*
Aspecto: *Este descriptor evalúa la intensidad, el color principal del producto, sus matices (colores secundarios), su viscosidad sin tomar en cuenta su limpidez.*

LIMPIDEZ	NOTA
Excelente limpidez	**5**
Límpido	**4**
Duda sobre la limpidez	**3**
Turbidez moderada	**2**
Fuerte turbidez	**1**

ASPECTO	NOTA
Excelente impresión	**10**
Muy buena impresión	**8**
Buena impresión	**6**
Bastante buena impresión	**4**
Mala impresión	**2**

Intensidad positiva: *Este descriptor permite evaluar la influencia del conjunto de las percepciones olfativas y gustativas que contribuyen a enriquecer la percepción cualitativa.*

INTENSIDAD POSITIVA	NOTA
Muy fuerte intensidad cualitativa	**8**
Fuerte intensidad	**7**
Mediana intensidad	**6**
Escasa intensidad	**4**
Muy escasa intensidad	**2**

Franqueza: *Este descriptor permite juzgar la franqueza o la limpieza de un vino. Al penalizar la franqueza el degustador deberá poder identificar el o los defectos de origen vitícola, enológico o extranjeros al vino, que percibe a través del olfato y el gusto.*

- ✓ *Las notas vegetales, animales, así como la intensidad de las notas de gusto a madera se evalúan bajo la rúbrica de la calidad.*
- ✓ *Origen de los defectos: materia prima, microbiana y oxido-reducción.*

FRANQUEZA	NOTA
Ausencia total de defectos	**6**
Muy escasa intensidad de defectos	**5**
Escasa intensidad de defectos	**4**
Mediana intensidad de defectos	**3**
Fuerte intensidad de defectos	**2**

Anexo XV. Continúa.

Calidad: *Este descriptor general permite juzgar globalmente el vino a nivel del olfato y del gusto. Permite al degustador expresar concretamente sus preferencias personales y sus referencias culturales.*

- ✓ *En lo que respecta al* ***olfato****, este descriptor corresponde a la riqueza de la paleta aromática por la percepción de varios olores diferentes y cambiantes, asociados a la* ***fineza*** *de los olores.*
- ✓ *En lo que respecta al* ***gusto****, este descriptor traduce la sensación global que se tiene en boca integrando los aromas (complejidad), la estructura (ácido, taninos, alcohol) los elementos cobertura (lípidos), los azúcares residuales, el gusto amargo.*

CALIDAD OLFATO	NOTA
Excelente impresión de calidad	**16**
Muy buena impresión de calidad	**14**
Buena impresión de calidad	**12**
Bastante buena impresión de calidad	**10**
Mala impresión de calidad	**8**

CALIDAD GUSTO	NOTA
Excelente impresión de calidad	**22**
Muy buena impresión de calidad	**19**
Buena impresión de calidad	**16**
Bastante buena impresión de calidad	**13**
Mala impresión de calidad	**10**

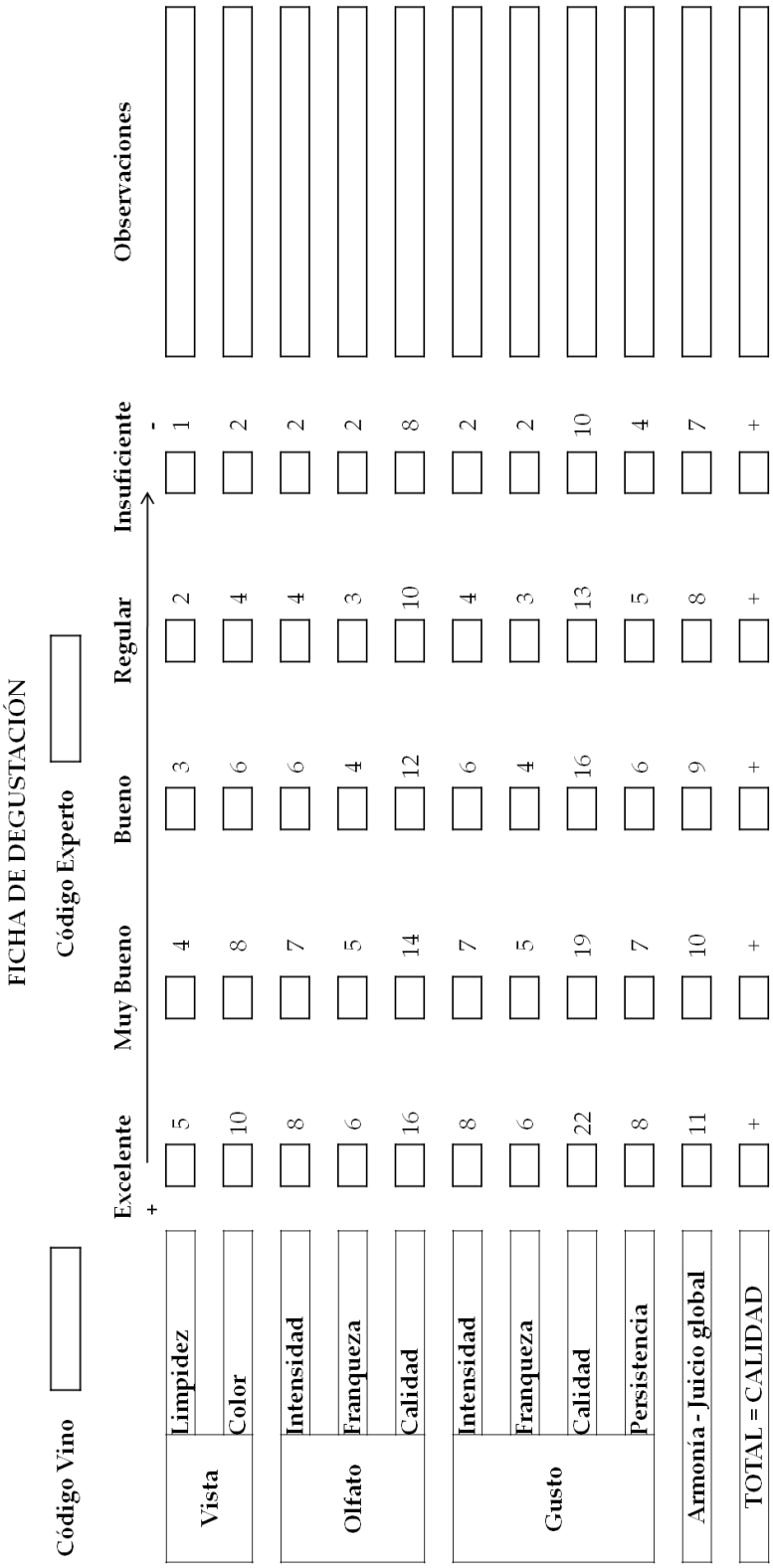
Persistencia: *Este descriptor equivale a una medida en el tiempo. Se calcula en segundos (caudalía) y comienza en el momento en el que el producto sale de la boca.*

PERSISTENCIA ARMONIOSA	NOTA
Excelente persistencia	**8**
Muy buena persistencia	**7**
Buena persistencia	**6**
Bastante buena persistencia	**5**
Mala persistencia	**4**

Impresión general o juicio global: *Este descriptor permite al degustador expresar la impresión que el vino le deja en su conjunto y abordar la noción difícil de tipicidad y la apreciación del potencial que posee el vino para evolucionar en el tiempo.*

IMPRESIÓN GENERAL	NOTA
Excelente impresión general	**11**
Muy buena impresión general	**10**
Buena impresión general	**9**
Bastante buena impresión general	**8**
Mala impresión general	**7**

Anexo XVI. Ficha de degustación de vinos tranquilos utilizado por el panel de expertos en la evaluación de la calidad.



Anexo XVII. Protocolo de la prueba de categorización para la evaluación de calidad de los vinos tintos crianza de DOCa Rioja por un panel de consumidores.

Delante de vosotros tenéis 29 vinos tintos. Cada una de las muestras está codificada con un número de 3 cifras. El objetivo es clasificar los vinos de acuerdo con su calidad, en una de las siguientes categorías:

☐ Muy baja calidad ☐ Baja calidad ☐ Alta calidad ☐ Muy alta calidad

1. En **primer lugar** le pedimos que examine las copas de vino de **izquierda a derecha**.
2. Debéis poner las muestras que vosotros consideréis en cada uno de los grupos. Un grupo puede estar constituido por una sola muestra.
3. Inicialmente debéis examinar cada una de las copas y sois libres de tardar el tiempo que estiméis oportuno hasta clasificar los vinos presentados.
4. Después de examinar cada muestra debéis taparla.
5. Una vez clasificadas las muestras, os pedimos que anotéis:
   - ✓ Los códigos de las copas que constituyen cada uno de los grupos en la ficha
   - ✓ Para cada vino anotéis los términos que indiquen el criterio de calidad utilizado
6. Antes de pasar al siguiente vino le pedimos que coma un poco de pan y después se enjuague la boca con agua.

Podéis volver a examinar las muestras si lo deseáis, pero ya no debéis modificar los grupos establecidos.

Consumidor No:	***Edad:***	***Fecha:***
Categorías	**Código de los vinos**	**Criterio**
Muy baja calidad		
Baja calidad		
Alta calidad		
Muy alta calidad		

TODA ESTA EXPERIENCIA ES INDIVIDUAL
GRACIAS

Anexo XVIII. Frecuencia de citación de los descriptores aromáticos (frecuencia total y número de panelistas entrenados) en el análisis sensorial de vinos tintos crianza de DOCa Rioja.

Descriptor aromático	Frecuencia de citación (FC)	Número de panelistas
Alcohol	277	30
Madera verde nueva	193	29
Cuero	145	28
Humo de madera	110	27
FRUTAS NEGRAS	222	26
FRUTOS ROJOS	165	25
MADERA	221	25
Caramelo	89	23
Regaliz	80	23
Pimienta	68	22
Vainilla	115	22
Café torrefacto	98	21
ESPECIAS	117	21
VERDURAS	71	21
FRUTAS PASAS SECAS	82	20
Pan Tostado	70	20
Cereza	43	19
Lácteo	67	19
Ciruela	83	18
Fresa	42	17
Mora	70	17
ANIMAL	65	16
Champiñón	25	16
Frambuesa	47	15
QUEMADO	24	15
FLORAL	53	14
Frutas cocidas/confitadas	48	14
Humus/Tierra	36	14
Nuez Moscada	31	14
Anís/Hinojo	18	13
Cereza en alcohol/Kirsch	26	13
Chocolate	22	13
FRUTOS SECOS	38	13
VEGETAL	69	13
Casis/Grosella negra	31	12
Clavo	29	12
FRUTAL	27	12
Mentol/Fresco	55	12

Anexo XVIII. Continúa.

Descriptor aromático	Frecuencia de citación (FC)	Número de panelistas
Moho	20	12
Oliva	21	12
Arándano	46	11
Azufre	66	11
Dátil	26	11
Esparrago	24	11
Pimiento	26	11
SOTOBOSQUE	29	11
Patata cocida	17	10
Tomillo	17	10
Transpiración	25	10
Alubia verde	24	9
Caucho	17	9
Grosella	25	9
Hierba	15	9
Higo seco	38	9
Miel	21	9
Pegamento ½	15	9
QUEMADO/MADERA	37	9
Rosa	15	9
Canela	24	8
FRUTAS EXÓTICAS	17	8
Mantequilla	13	8
Manzana cocida	17	8
Plátano/Caramelo ingles	13	8
Vinagre	12	8
Alcachofa	14	7
Almendra amarga	8	7
Cartón/Polvo	21	7
CÍTRICOS	9	7
Manzanilla	12	7
Violeta	18	7
Almendra	23	6
Avellana	9	6
Sidra	7	6
Coco	11	6
Coliflor	20	6
Laurel	16	6
Levadura	16	6
Pino/Resina	7	6

Anexo XVIII. Continúa.

Descriptor aromático	Frecuencia de citación (FC)	Número de panelistas
Albaricoque/melocotón	7	5
FRUTAS BLANCAS	12	5
Fumé/"Avecream"	20	5
Geranio	8	5
Heno/Hojas secas	7	5
Manzana	8	5
Nuez	10	5
Pelo mojado	13	5
Pera	10	5
Tabaco fresco	10	5

Anexo XIX. Coordenadas factoriales de los atributos aromáticos que más contribuyen a la formación de los factores en el análisis de correspondencias.

Atributos aromáticos	Factores						
	1	**2**	**5**	**7**	**11**	**17**	**40**
Albaricoque/melocotón	-0.97	-0.77	-0.80	0.88	0.10	2.54	-1.49
Alcachofa	-0.21	2.14	-0.85	0.55	0.15	1.89	1.16
Alcohol	0.57	0.10	-0.05	0.23	0.23	0.16	-0.13
Alubia verde	-0.55	2.25	0.29	1.24	0.59	0.35	-0.12
ANIMAL	1.25	-0.25	-0.44	-1.01	-0.48	0.89	-0.13
Anís/Hinojo	-0.51	0.23	-0.60	1.57	0.73	0.89	0.65
Azufre	1.25	-0.15	-0.12	-0.30	-0.32	-0.29	0.37
Café torrefacto	-0.90	-0.11	0.78	-0.56	0.06	-0.12	-0.24
Chocolate	-0.05	-0.44	0.45	1.20	-0.31	0.56	1.61
Ciruela	-1.13	-0.34	0.36	-0.47	0.46	-0.02	-0.37
Coliflor	-0.11	2.77	-1.97	1.23	-0.72	-0.47	-0.09
Cuero	0.05	0.51	0.32	0.17	0.00	-0.71	-0.12
Espárrago	-0.01	2.73	0.44	-0.15	-0.33	0.26	-0.07
ESPECIAS	0.83	-0.22	-0.65	-0.04	-0.32	0.59	-0.61
Frambuesa	-1.30	-0.60	-0.17	0.06	-1.09	0.23	-0.16
Fresa	-0.93	-0.56	-0.45	0.37	-0.66	0.47	1.39
FRUTAS BLANCAS	1.21	-0.47	-0.22	2.43	-2.15	2.76	1.25
Frutas Cocidas/Confitadas	-1.51	-0.47	-0.63	0.07	0.37	-0.37	-0.20
FRUTAS EXÓTICAS	0.88	-0.80	0.45	1.06	-0.54	1.28	-1.52
FRUTAS NEGRAS	0.75	-0.39	0.52	0.17	-0.04	-0.46	-0.02
FRUTOS ROJOS	0.86	-0.31	0.43	0.61	0.41	-0.36	0.07
Fumé/Avecrem	-0.28	0.50	-0.57	-0.73	0.22	0.10	-1.47
Heno/Hojas secas	-1.12	0.16	0.54	-0.11	-2.00	-0.31	-1.41
Hierba	-0.29	0.97	1.30	-2.06	0.49	0.05	0.75
Higo seco	-1.07	0.36	-0.12	-0.57	-0.06	-0.70	1.19
Humus/Tierra	0.40	1.03	-0.90	-0.22	-0.68	0.19	1.10
Lácteo	-0.30	-0.24	-0.30	-0.78	-0.88	-0.94	0.26
MADERA	0.95	-0.36	0.18	0.06	-0.06	-0.09	-0.07
Manzana	-0.85	1.28	-0.58	-0.71	2.26	-1.66	0.30
Manzana cocida	-1.93	-0.12	-2.12	0.73	-0.23	0.14	0.69
Moho	0.09	1.80	-1.40	1.75	0.02	-0.56	-1.45
Oliva	-0.07	3.48	1.77	-0.29	0.98	-1.12	-0.58
Patata cocida	-0.28	4.53	2.89	-1.14	-1.38	1.25	0.21
Pegamento $^{1}/_{2}$	1.12	0.19	-0.42	-1.63	-1.17	2.41	-0.34
Pelo mojado	0.29	3.39	-1.89	1.25	-1.27	-1.10	0.04
Pera	0.18	-0.14	-3.23	-1.91	4.12	-1.34	0.00
Pimiento	-0.39	1.83	0.69	-1.62	0.48	1.11	-0.33
Plátano/Caramelo	-1.18	-0.49	-2.70	0.52	0.58	-0.98	-0.95
Rosa	-1.31	-0.67	-2.66	0.61	-0.50	-0.64	-0.35
Sidra	-0.07	-0.45	0.35	0.19	-6.01	-4.34	-0.38
Tabaco fresco	-0.35	0.55	0.91	-0.73	-1.13	0.92	2.05
Tomillo	-0.69	-0.10	0.77	0.42	-1.19	1.76	-0.60
TOSTADO	1.13	-0.51	0.39	-1.35	-2.83	-1.09	-0.18
Transpiración	0.11	2.02	-1.35	0.49	-0.63	-1.03	0.04

Las coordenadas sombreadas corresponden a los atributos aromáticos que más contribuyen a la formación del factor.

Anexo XX. Atributos en boca correlacionados con las dos primeras componentes principales.

Atributos en boca	Componente	
	1	2
Amargor	0.26	0.81
Astringencia	0.39	0.43
Persistencia	0.70	-0.22
Intensidad global	0.69	-0.33

Los atributos en boca sombreados corresponden a los atributos en boca más correlacionados con el componente.

DIVULGACIÓN CIENTÍFICA

La tesis doctoral ha dado lugar hasta la fecha a las siguientes publicaciones científicas:

Gonzalez-Hernandez, M., Avizcuri, JM., Fernández-Zurbano, P and Dizy, M. 2014. Ultra performance liquid chromatography coupled to ultraviolet-vis and mass spectrometry detector for screening of organic acids and polyphenols in red wine In: *High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): Principles, Practices and Procedures*. Chapter 10. pp 267-298.

Fernández-Zurbano, P., Sáenz-navajas, MP., Gonzalo-Diago, A., **Gonzalez-Hernandez, M**., Avizcuri, JM., Vincent, F and Dizy, M. 2013. Propiedades en boca de vinos tintos y su relación con la composición química no volátil. *Zubia* **25**, 61-83.

Sáenz-Navajas, MP., **Gonzalez-Hernandez, M**., Campo Eva; Fernández-Zurbano, P., Vincente, F. 2012. Los vinos tintos españoles de calidad, ¿a qué huelen según los expertos?. *ZUBIA* **30**, 175-197.

Sáenz-Navajas, MP., **Gonzalez-Hernandez, M**., Campo, E., Fernández-Zurbano, P and Vincent, F. 2012. The orthonasal scent network Characteristics of Spanish wines from different price categories and Their Relationship to expert quality Judgments. *Australian Journal of Grape and Wine Research* **18**, 268–279.

Sáenz-Navajas, MP, **Gonzalez-Hernandez, M**., Vicente, F and Fernández-Zurbano, P. 2010. Análisis sensorial de vinos españoles de alta gama. Correlación de los atributos sensoriales con la calidad percibida. *Enoviticultura* **07**, 2-5.