

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL
MEDIO NATURAL



ESTUDIO DEL PERFIL SENSORIAL DE VINOS ELABORADOS CON LEVADURAS
NO SACCHAROMYCES A PARTIR DE LA VARIEDAD MERLOT

TRABAJO FIN DE GRADO

GRADO EN INGENIERÍA AGROALIMENTARIA Y DEL MEDIO RURAL

Alumno: Laura Montalvá Ibáñez

Tutor: María José García Esparza

Cotutor: Manuel Zarzo Castelló

Curso Académico 2016/2017

Valencia, septiembre 2017

RESUMEN

Con el objeto de estudiar las diferencias entre siete cepas de levaduras no-Saccharomyces en la calidad final del vino, se ha realizado un ensayo experimental consistente en la realización de 21 micro vinificaciones, tres correspondientes a cada una de las siete cepas, con uva de la variedad Merlot procedente de un terreno en el término municipal de Requena. Se ha determinado la concentración de taninos, antocianos, polifenoles, acidez total y volátil, grado alcohólico así como otras propiedades físico-químicas como pH e índice de color. También se ha determinado por cromatografía de gases la concentración de 20 compuestos volátiles. Por otra parte, un panel de catadores formado por 7 expertos ha caracterizado las diferencias organolépticas entre los vinos fermentados por las 7 cepas con las que han realizado las micro vinificaciones. Se ha estudiado la presencia de datos anómalos, así como la repetibilidad y reproducibilidad de la concentración de volátiles y los parámetros físico-químicos. Posteriormente, se ha estudiado la correlación entre todos los parámetros obtenidos, por medio de la matriz de correlación y un análisis de componentes principales. Se han discutido las variables de mayor correlación, la mayoría de las cuales tienen sentido desde un punto de vista enológico, aunque no todas, debido quizás al reducido número de muestras evaluadas. Asimismo, se ha obtenido una correlación estadísticamente significativa entre algunas valoraciones organolépticas con otros parámetros medidos, a pesar del reducido número de muestras evaluadas. Sería necesario un mayor número de ensayos para profundizar en la capacidad del panel para discriminar entre los vinos obtenidos con las distintas levaduras. En conclusión, el análisis sensorial realizado a partir de una ficha de cata nos puede aportar datos coherentes referentes a las características físico-químicas del vino y su patrón de compuestos volátiles, incluso cuando el número de muestras evaluadas es relativamente reducido.

Palabras clave: vino, no-Saccharomyces, análisis sensorial.

RESUM

Amb l'objecte d'estudiar les diferències entre set ceps de rents no-Saccharomyces en la qualitat final del vi, s'ha realitzat un assaig experimental consistent en la realització de 21 micro vinificacions, tres corresponents a cada una dels set ceps, amb raïm de la varietat Merlot procedent d'un terreny en el terme municipal de Requena. S'ha determinat la concentració de tanins, antocians, polifenols, acidesa total i volàtil, grau alcohòlic així com altres propietats fisicoquímiques com pH i índex de color. També s'ha determinat per cromatografia de gasos la concentració de 20 compostos volàtils. D'altra banda, un panell de tastadors format per 7 experts ha caracteritzat les diferències organolèptiques entre els vins fermentats per les 7 ceps amb què han realitzat les micro vinificacions. S'ha estudiat la presència de dades anòmales, així com la repetibilitat i reproducibilitat de la concentració de volàtils i els paràmetres fisicoquímics. Posteriorment, s'ha estudiat la correlació entre tots els paràmetres obtinguts, per mitjà de la matriu de correlació i una anàlisi de components principals. S'han discutit les variables de major correlació, la majoria de les quals tenen sentit des d'un punt de vista enològic, encara que no totes, degut potser al reduït nombre de mostres avaluades. Així mateix, s'ha obtingut una correlació estadísticament significativa entre algunes valoracions organolèptiques amb altres paràmetres mesurats, a pesar del reduït nombre de mostres avaluades. Seria necessari un nombre més gran d'assajos per a aprofundir en la capacitat del panell per a discriminar entre la variabilitat responsable pels diferents rents. En conclusió, l'anàlisi sensorial realitzat a partir d'una fitxa de tast ens pot aportar dades coherents referents a les propietats fisicoquímiques del vi, inclús quan el nombre de mostres avaluades és relativament reduït.

Paraules clau: vi, no-Saccharomyces, anàlisi sensorial.

ABSTRACT

In order to study the differences between seven strains of non-Saccharomyces yeasts in the final quality of the wine, an experimental test was carried out, consisting of 21 micro vinifications, three corresponding to each of the seven strains, with grapes of the Merlot variety coming from a piece of land in the municipality of Requena. The concentration of tannins, anthocyanins, polyphenols, total and volatile acidity, alcoholic strength and other physical and chemical properties such as pH and color index have been determined. The concentration of 20 volatile compounds has also been determined by gas chromatography. On the other hand, a panel of tasters formed by 7 experts has characterized the organoleptic differences between the wines fermented by the 7 strains with which they have made the micro vinifications. The presence of abnormal data, as well as the repeatability and reproducibility of the volatile concentration and the physicochemical parameters have been studied. Subsequently, we have studied the correlation between all parameters obtained, by means of the correlation matrix and a principal components analysis. The pairs of variables with highest correlation have been discussed, most of which are meaningful from an oenological point of view, although not all, due perhaps to the small number of samples evaluated. Likewise, a statistically significant correlation between some organoleptic values and other measured parameters was obtained, despite the small number of samples evaluated. A greater number of trials would be necessary to deepen the panel's ability to discriminate between the wines obtained from the different yeasts. In conclusion, the sensory analysis carried out from a tasting chart can provide us with coherent data concerning the physicochemical characteristics and volatile profile of the wine, even when the number of samples evaluated is relatively small.

Keywords: wine, non-Saccharomyces, sensory analysis.

INDICE

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 5 |
| 1.1. EVOLUCIÓN DEL VINO EN ESPAÑA | 5 |
| 1.1.1. <i>Historia</i> | 5 |
| 1.1.2. <i>Principales zonas productoras en España</i> | 6 |
| 1.2. VARIEDAD DE UVA MERLOT | 7 |
| 1.2.1. <i>Generalidades</i> | 7 |
| 1.2.2. <i>Origen y zonas de cultivo</i> | 8 |
| 1.2.3. <i>Características generales</i> | 8 |
| 1.3. LEVADURAS PARA VINIFICACIÓN EN TINTO | 9 |
| 1.4. CARACTERÍSTICAS SENSORIALES DEL VINO | 9 |
| 1.4.1. <i>Estructura aromática del vino</i> | 10 |
| 1.4.2. <i>Parámetros a valorar en catas de vino</i> | 11 |
| 1.5. CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD | 11 |
| 2. OBJETIVOS | 12 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS | 12 |
| 3.1. MATERIA PRIMA | 12 |
| 3.2. SELECCIÓN DE LEVADURAS | 12 |
| 3.3. ELABORACIÓN DEL VINO | 13 |
| 3.4. ANÁLISIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES DEL VINO | 14 |
| 3.4.1. <i>Proceso de extracción</i> | 14 |
| 3.4.2. <i>Análisis cromatográfico</i> | 14 |
| 3.5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS | 15 |
| 3.5.1. <i>Determinación de pH</i> | 15 |
| 3.5.2. <i>Determinación de la acidez total</i> | 15 |
| 3.5.3. <i>Determinación de la acidez volátil</i> | 15 |
| 3.5.4. <i>Determinación del grado alcohólico</i> | 16 |
| 3.5.5. <i>Antocianos, polifenoles, taninos e índice de color</i> | 16 |
| 3.6. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LAS MUESTRAS | 17 |
| 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS | 17 |
| 3.7.1. <i>Estudio de repetibilidad y reproducibilidad</i> | 17 |
| 3.7.2. <i>Estudio de la correlación entre variables</i> | 18 |
| 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 18 |
| 4.1. REPETIBILIDAD, REPRODUCIBILIDAD Y DETECCIÓN DE DATOS ANÓMALOS | 18 |
| 4.2. ESTUDIO DE LA CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES | 26 |
| 5. CONCLUSIONES | 36 |
| 6. BIBLIOGRAFÍA | 38 |

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de vino en los últimos años se ha incrementado. Actualmente son muchos los vinos que han adquirido importancia en el mercado y esto se debe a la mejora de la calidad de la uva y al riguroso control de las distintas etapas de la elaboración. El amplio y exigente mercado que se puede encontrar hoy en día, es uno de los principales factores que ha provocado que este sector se encuentre en auge.

1.1. Evolución del vino en España

1.1.1. Historia

En la historia del vino se han hallado viñedos con 7000 años de antigüedad encontradas en la región de Cáucaso (Rusia). Posiblemente el vino sea la bebida alcohólica más antigua conocida. En el antiguo Egipto la calidad del vino ya era un aspecto importante ya que en los hallazgos de vasijas de vino se encontraban inscritos: nombre del productor, viñedo y el año de producción (Johnson, 2005).

A nivel mundial, España es una de las importantes potencias productoras vitícolas. Históricamente, la primera región productora de vino fue La Rioja, con una situación geográfica con las condiciones perfectas para el cultivo de una uva de calidad. La población en época romana se estima que fueron los primeros en plantar viñedos en la región. En la Edad Media la principal producción se realizaba en centros monásticos y se destinaba al consumo local. En los siguientes siglos XVI y XVII se produjo un aumento en la producción, se comenzaron a incorporar medidas de control en la elaboración del vino que incrementaban su calidad considerablemente. La producción se extendió a otros lugares de España.

Alrededor del siglo XIX fue en La Rioja donde se realizaron los primeros embotellados. Fue a finales de este siglo cuando se produjo la epidemia de la filoxera en Francia, quedando afectados muchos de sus cultivos. La Rioja, que no se vio afectada por esta epidemia, se convirtió en principal proveedor del mercado francés. Este avance en la comercialización provocó una gran expansión del vino en España. Además, se introdujeron novedosas técnicas en la elaboración del vino como por ejemplo el método de elaboración bordelés, como consecuencia de las nuevas relaciones con viticultores franceses. En el año 1991, Rioja fue la primera región española en conseguir la Denominación de Origen Calificada.



Figura 1. Localización de la principal región productora de España.

Fuente: <http://www.vinosparati.com/esp/wp-content/uploads/sites/5/D.O.Ca-Rioja1.jpg>

1.1.2. Principales zonas productoras en España

Plantaciones importantes de viñedos heredadas de los romanos y su posterior desarrollo por los monjes son las que han hecho que la tradición vinícola haya arraigado en España. El conjunto de clima y suelo han hecho posibles que España sea el tercer productor mundial de vino, encabezado por Italia y Francia (OIV, 2016).

Se calcula que las producciones vitivinícolas de la cosecha 2016 sitúan la producción de vino y mosto en casi 44 millones de hL, un 0,9% superior a la campaña del 2015 (MAPA 2016). España se encuentra en la cumbre como vendedor mundial de vino. La superficie dedicada al cultivo de viña en España registró en 2016 una leve subida del 0,1% respecto al año anterior, hasta situarse en las 955.717 hectáreas (OeMv 2016). La mayor comunidad autónoma productora de vino es Castilla La Mancha, con una superficie de 473.331 hectáreas en el año 2016 que supone casi la mitad de la superficie total en España. Extremadura y Castilla y León le siguen a La Mancha con unas superficies de 83.039 y 64.473 hectáreas respectivamente. Del total de superficie dedicada a la uva de transformación en España, 600.155 ha se destinan al cultivo de secano y 355.562 ha al cultivo de regadío.

Las Denominaciones de Origen Protegidas reconocen y protegen la calidad de cada uno de los diferentes vinos de España que pertenecen a una zona concreta. Certifica el origen de las materias primas, una correcta elaboración y control del vino en el proceso. En España existen 70 denominaciones de Origen reconocidas oficialmente. De las 70 se destacan 20, más importantes por su fama y por su volumen de comercialización.

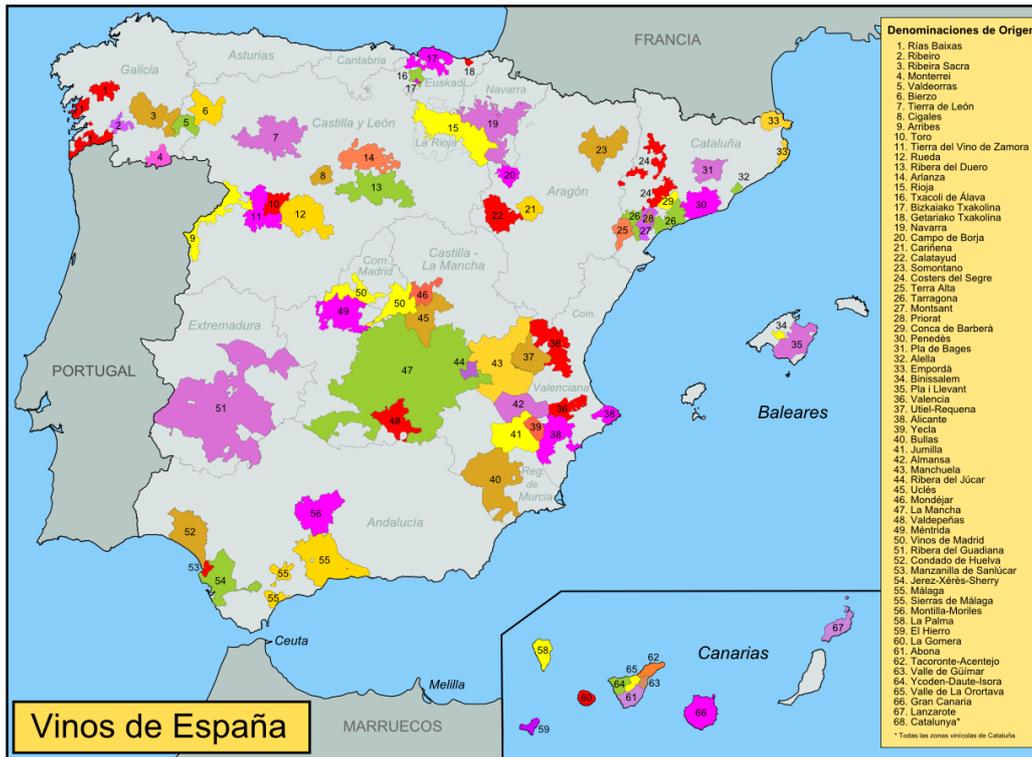


Figura 2. Situación geográfica de las principales denominaciones de origen.

Fuente: <http://www.importfoodfromspain.com/wine-regions-in-spain>

1.2. Variedad de uva Merlot

1.2.1. Generalidades

La base de la elaboración de un vino es la uva, la cual varía en sus características según la variedad y marca esa diferencia que existe entre unos vinos y otros. La piel de la uva es donde se originan gran parte de los aromas y los sabores del vino. Por eso es una característica relevante en la calidad final del vino obtenido. En España se conocen un gran número de variedades de uvas, pero no todas son originarias de la península, algunas de ellas han sido importadas.

Las distintas variedades no se reparten homogéneamente por toda la península, sino que una serie de variedades específicas son más típicas de cada zona. Por ejemplo, la Garnacha se cultiva con mayor intensidad en el noreste del país y adquiere características afrutadas; la Monastrell se localiza en el sur de Valencia y en Murcia con la cual se pueden obtener vinos con un alto contenido alcohólico. La Bobal es muy característica de la zona de Requena por su buena estructura y acidez. La uva variedad Tempranillo, uva tinta originaria de la península, es la variedad que más se extiende por todo el país. Su principal característica es su ciclo de maduración temprana.

1.2.2. Origen y zonas de cultivo

También llamada *elegante dama bordelesa*, la variedad Merlot tiene su origen en Burdeos (Francia). Actualmente es la variedad internacional que más cultiva. Es la segunda variedad tinta más demandada después del Cabernet Sauvignon, la cual otorga a los vinos buen cuerpo, gran cantidad de taninos y una acidez apreciable. El cultivo de Merlot se extiende por muchas zonas del mundo, y en España se puede encontrar en un gran número de las Denominaciones de Origen.

1.2.3. Características generales

La variedad Merlot es una uva tinta, de racimo cónico, de tamaño pequeño y de escasa densidad. El grano es pequeño y uniforme en todo el racimo. La pulpa no está pigmentada y se caracteriza por su sabor dulce. Hollejo grueso y de color azul-negro.

Esta variedad se caracteriza porque da lugar a vinos elegantes y ligeros, siendo a su vez aromáticos y carnosos. Los aromas y sabores más característicos son: ciruela, grosella negra, frutos rojos en confitura, moras, pastel de fruta, rosas y violetas. Se trata de una variedad con brotación y maduración temprana, por tanto, es una variedad de ciclo corto. Los climas muy cálidos y temperaturas excesivas en la estación de verano son nocivos. Se adapta bien a climas templados y de cierta humedad mientras que no se aclimata a zonas con bajas temperaturas nocturnas, pues provocan el mal cuaje de los racimos, perjudicando a la producción.

Centrándonos en su grado alcohólico, se encuentra comprendido dentro de los vinos moderados ya que su grado en alcohol suele estar entre 11 y 13. El vino obtenido con esta variedad tiene como principal característica que envejece a gran velocidad sin perder calidad.



Figura 3. Racimo y hoja de la variedad de uva Merlot

1.3. Levaduras para vinificación en tinto

Las levaduras en el proceso de elaboración del vino son las responsables de que se pueda producir la fermentación alcohólica y transformar el azúcar en alcohol, CO₂ y otros compuestos. Así mismo produce la formación de metabolitos secundarios como ácidos volátiles, ácidos no volátiles, ésteres, compuestos carbonílicos, fenoles o compuestos derivados del sulfuro. Las levaduras que realizan la fermentación, determinan la composición del vino y sus propiedades organolépticas. El poder fermentativo de una levadura es la máxima cantidad de azúcares que es capaz de fermentar dando lugar a un determinado grado alcohólico. Se acostumbra a expresar como el máximo grado alcohólico que puede obtener una levadura y depende tanto de la cepa como del género y especie.

Las levaduras vínicas se pueden clasificar dependiendo de su aparición a lo largo del proceso fermentativo: de primera fase (*Candida o Kloeckera*), intermedias (*S. rosei*) y de alto poder fermentativo como es el caso de *S. cerevisiae* que normalmente es la especie que prevalece cerca del final de la fermentación. Las de primera fase tienen bajo poder fermentativo y habitualmente una alta producción de acidez volátil. Las levaduras intermedias tienen una alta capacidad fermentativa y al contrario que las de primera fase, una baja producción de acidez volátil. Por último, las de elevado poder fermentativo pueden llegar a alcanzar 17-18% v/v, algunas de las cuales producen cantidades muy bajas de acidez volátil (Suárez y Morata, 2015).

La levadura más importante que realiza la fermentación alcohólica, pero no la única, es la *Saccharomyces cerevisiae*. Hay una gran variedad de levaduras que se conoce generalmente por levaduras no-*Saccharomyces*, que también intervienen en el proceso mayormente en las primeras fases. Existen más de un centenar de géneros distintos, pero las levaduras que adquieren más importancia en la elaboración de vino por sus características enológicas son *Candida*, *Hanseniaspora*, *Kloeckera*, *Kluyveromyces*, *Metschnikowia*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Saccharomycodes*, *Schizosaccharomyces*, *Torulaspota* y *Zygosaccharomyces* (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2006). En la mayoría de casos, en los mostos en fermentación las cepas más influyentes corresponden a la especie *Saccharomyces cerevisiae*, levadura de gran poder fermentativo.

1.4. Características sensoriales del vino

La valoración sensorial del vino se fundamenta en la apreciación de las propiedades del vino que son las características que tiene una bebida detectadas por medio de los sentidos: vista (color, tono, transparencia), olfato (olor y aroma), sensaciones táctiles (astringencia, burbujeo, densidad) y gusto (sabor) utilizando un panel sensorial debidamente entrenado (De la Presa-Owens, 2004).

Estas propiedades originan estímulos percibidos por los receptores sensoriales, los cuales a su vez originan una señal enviada al cerebro, que se encarga de interpretar la información, generando lo que denominamos sensación. Tomando como referencia las sensaciones

percibidas por el cerebro, éste es capaz de retener la información, analizarla y recordarla, produciendo lo que llamamos percepción (Casal, 2005).

1.4.1. Estructura aromática del vino

Tanto la persistencia como la intensidad son parámetros que determinan tanto los atributos en boca como el componente aromático de un vino (Ferreira y Cacho, 2006). Los compuestos volátiles son muy importantes en la persistencia. En los vinos tintos los compuestos que más van a influir en su calidad aromática son los compuestos volátiles, con los que se obtiene sus propiedades aromáticas. De estos compuestos se destacan sensorialmente los que se encuentran en mayor concentración y además superan el umbral olfativo, de modo que es posible reconocer su olor, mientras que los compuestos que se encuentran en menor concentración y por debajo del umbral de detección, no son apreciables. Por esto, a grandes rasgos podemos clasificar los compuestos en dos grupos: los activos, es decir, los que se encuentran en una mayor concentración y por tanto por encima del umbral olfativo y, por otro lado, los inactivos, aquellos que por estar por debajo del umbral no es posible detectarlos (Ferreira y Cacho, 2006). Las percepciones aromáticas caracterizadas sensorialmente no tienen por qué estar relacionadas con un compuesto determinado. Así pues, se han realizado estudios donde se relacionan compuestos volátiles con determinados descriptores aromáticos (limón verde, flores, pino, humo...) (Moio *et al.*, 2002).

En la siguiente tabla se destacan compuestos volátiles que se encuentran en los vinos, indicándose sus respectivos descriptores y su umbral olfativo.

*Tabla 1. Compuestos químicos: Descriptores olfativos y umbrales de olor.
Fuente: Francis (2013) y web: <http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>*

| Grupo | Compuesto | Descriptor | Umbral olor ($\mu\text{g/L}$) |
|-----------|-----------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| Aldehídos | Acetaldehído | Manzana madura | 500 |
| Cetonas | β -damascenona | Floral, rosa, afrutado, dulce | 0,002 |
| Ésteres | Butirato de etilo | Manzana | 20 |
| | Hexanoato de etilo | Frutal, anís | 14 |
| | Octanoato de etilo | Piña, pero, floral | 2 |
| | Decanoato de etilo | Frutal | 200 |
| | Acetato de metilo | Frutal | 470.000 |
| | Acetato de isobutilo | Dulce, frutal, etéreo, plátano | 1.600 |
| | Acetato de hexilo | Frutal, pera | 670 |
| | Succinato de dietilo | Frutal | 1.200.000 |
| | 2-feniletacetato | Agradable, floral | 250 |
| Ácidos | Lactato de etilo | Agrio | 155.000 |
| | Ácido hexanoico | Queso, graso, rancio | 420 |
| | Ácido octanoico | Rancio, queso, áspero, ácido | 500 |
| | Ácido isobutírico | Graso | 200.000 |
| | Ácido 2-etilhexanoico | herbáceo | no encontrado |
| Alcoholes | Ácido decanoico | Graso, desagradable | 1.000 |
| | Alcohol isoamílico | Queso | 250 - 300 |
| | 2-feniletanol | Floral, polen | 1.050 |
| | 1-butanol | Medicinal, alcohol | 150.000 |

1.4.2. Parámetros a valorar en catas de vino

Las condiciones climatológicas, las características de la variedad de la uva o el proceso de elaboración del vino condicionan su calidad. Para evaluar la calidad del vino obtenido, se debe someter a un análisis sensorial mediante la realización de una cata. Se puede considerar que la cata es un método de análisis sensorial de la calidad del vino. Las herramientas utilizadas para este análisis son los sentidos, de los cuales los más relevantes son la vista, el olfato y el gusto.

- **Fase visual:** Primer contacto con el vino, otorgará impresiones generales que serán determinantes en las siguientes fases de análisis. Se determinará la intensidad y tipo de color (rojo rubí, púrpura, granate, etc.), su nitidez (grado de transparencia del vino), fluidez, entre otros parámetros. Todo esto bajo un fondo blanco.
- **Fase olfativa:** El sentido del olfato, que se encuentra en el bulbo olfativo, percibe los compuestos volátiles que se encuentran por encima del umbral de detección. Mediante los aromas que percibimos de un vino, un panel debidamente entrenado podría ser capaz de discriminar entre variedades de uva con la que se han elaborado, la época/año en la que se ha realizado la vendimia, la crianza en bodega, la madera en la que se ha realizado la crianza o el tiempo en botella. Esta fase olfativa tiene dos vías posibles de acceso para detectar los aromas. La primera por vía orthonasal (forma común), acercando a la nariz e inspirando de modo intenso, adquiriendo las primeras conclusiones. La segunda por vía retronasal, la cual tiene lugar cuando tragamos el vino, se liberan vapores en la boca que llegan, de forma interna, hasta el bulbo olfativo.
- **Fase gustativa:** Introduciendo el vino en la boca se determinan los diferentes sabores que hay presentes en el vino, función que se encarga de realizar las papilas gustativas de la lengua. Estas papilas gustativas son receptores sensoriales que según en la zona en que se encuentren detectarán ciertos sabores. En la punta de la lengua se percibe el sabor dulce, en los laterales la acidez, en los bordes se distingue el salado y en la parte posterior de la lengua se percibe el amargo.

1.5. Correlación entre los parámetros de calidad

La calidad de los vinos se puede evaluar a nivel sensorial (con un panel de catadores), o bien por medio de determinaciones analíticas de los compuestos volátiles responsables del aroma, así como de otros compuestos como taninos, antocianos, polifenoles, acidez, etc. Entre todos estos parámetros existen lógicamente una serie de correlaciones. Por ejemplo:

- Si el panel evalúa una muestra como más floral, cabe esperar una mayor concentración de compuestos volátiles con olor floral.
- Si la acidez total es elevada, el panel sensorial lo debería detectar, y el pH debería ser bajo.
- La intensidad colorante medida por medios físicos puede ser evaluada también por medios sensoriales.

2. OBJETIVOS

En el presente trabajo se han realizado un total de 21 micro vinificaciones de uva Merlot, empleando siete levaduras distintas. De cada micro vinificación, se han analizado 20 compuestos volátiles y se han medido 8 parámetros físico-químicos. Por otra parte, un panel de 7 catadores ha evaluado sensorialmente la calidad del vino de cada levadura.

El principal objetivo de este trabajo es estudiar las correlaciones encontradas entre los parámetros sensoriales y los parámetros físico-químicos:

- 1) Determinar si la información proporcionada por el panel es coherente con los parámetros físico-químicos. En caso de discrepancia, se discutirán los posibles motivos. Puede ser que el tamaño del panel sea insuficiente, o que la cantidad de muestras evaluadas sea demasiado pequeña, o que la variabilidad del parámetro evaluado sea demasiado baja.
- 2) Estudiar las relaciones entre los parámetros físico-químicos.
- 3) Estudiar si el número de réplicas instrumentales es suficiente o es necesario realizar un mayor número de réplicas.
- 4) A partir del análisis de componentes principales, viendo la proyección de las levaduras en el gráfico de *scores*, ver si existe alguna asociación con el tipo de levadura empleado y caracterizar las principales diferencias encontradas.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materia prima

La materia prima utilizada para la elaboración del vino es la uva de variedad Merlot procedente de una parcela propiedad de la bodega Chozas Carrascal situada en el término municipal de Requena. La vendimia tuvo lugar de forma manual en octubre 2016 de tal forma que se colocaban los racimos en cajas de plástico de 12 kg. De esta forma se evita que se aplaste y se produzca el mosteo de la uva. Se llenaron un total de 6 cajas. Se trasladaron a unas cámaras de congelación situadas en el Instituto de Ingeniería de Alimentos para el Desarrollo (IAD) perteneciente a la UPV donde se congelaron hasta su posterior uso. El presente trabajo forma parte de un estudio más amplio en el cual se emplearon 15 levaduras, realizándose tres fermentaciones de cada una. No obstante, por problemas técnicos con el cromatógrafo, sólo se dispone de la composición volátil de las micro vinificaciones obtenidas con 7 levaduras, de modo que se decidió evaluar sensorialmente sólo estas muestras.

3.2. Selección de levaduras

Este trabajo forma parte de un estudio de investigación en el que colabora la bodega Chozas Carrascal de Requena, a través de un convenio de colaboración, junto con la cooperación del laboratorio ENOLAB de la Universidad de Valencia (www.uv.es/enolab). La bodega llevó a cabo la selección de 15 cepas de levadura utilizadas para la elaboración del vino

de variedad Merlot. Para cada una de las cepas, ENOLAB realizó estudios previos tales como tasa de crecimiento, cinética de fermentación o degradación de glucosa entre otros.

Finalmente, se seleccionaron 7 levaduras de la variedad Merlot, catalogadas con los siguientes códigos: 42e, 1g, 42b, 42d, 42k, 42c y 15c. Cada código pertenece a cepas diferentes de levaduras. Las levaduras 42e, 1g, 42b y 42c pertenecen a *Hanseniaspora opuntiae/uvarum*, la 42d y 42k pertenece a *Hanseniaspora uvarum* y la 15d pertenece a *Hanseniaspora guilliermondii*.

3.3. Elaboración del vino

En primer lugar, después de que se descongelaran los racimos de uva a temperatura ambiente, se realizó el desgranado manual de la uva de la variedad Merlot, separando en cada racimo los granos del raspón. Este proceso tuvo lugar en la planta piloto del IAD, en la Universitat Politècnica de València. Se colocó aproximadamente 1400 g de uva por bote de cristal, para realizar así micro vinificaciones a partir de cada levadura seleccionada. A continuación, se vació el bote para proceder a un suave estrujado manual de los granos, y posteriormente se volvió a depositar en el mismo bote, llenándose en total 21 botes para la variedad Merlot. Se colocó encima de los botes una tapa, pero sin cerrarla herméticamente para permitir la salida de CO₂ liberado. A continuación, se añadió a cada bote, con el objetivo de asegurar la estabilización microbiológica, 20 mg de Dicarbonato de dimetilo (DMDC) en forma líquida. Por último, se agregó a cada bote una determinada levadura, se sembró con una población de 2×10^6 , poniendo cada tres botes la misma levadura, de forma que se emplearon 7 levaduras distintas.

Durante los siguientes 10 días, aproximadamente, se bazuqueó diariamente de modo manual cada bote (10 veces) creando mejor contacto entre hollejos, mosto y levaduras. Además, se realizó una comprobación diaria de la densidad con un densímetro (hidrómetro), verificando que la densidad aún no había alcanzado la adecuada (990g/L), y de la temperatura con un termómetro analógico para confirmar que se estaba produciendo la fermentación adecuadamente (20-30°C).

Una vez transcurridos los 10 días, y comprobado que la densidad ya era la adecuada (en todos ellos era aproximadamente 990 g/L), se procedió a realizar el prensado del mosto mediante una prensa hidráulica de laboratorio. El prensado se realizó durante un minuto y medio, para conseguir una adecuada extracción del hollejo. Este tiempo fue el mismo para todos los botes. Todo el líquido prensado se recogió en un bote en el cual se añadió aproximadamente 50 g/hL de metabisulfito potásico en polvo, de esta forma se asegura su conservación para después poder realizar su análisis. A continuación, de este bote el vino se depositó en botes de vidrio con cierre hermético llenados totalmente para evitar contacto con el oxígeno. Cada muestra (es decir, partiendo de 1400 g de uva) se colocó en dos botellas de 250 mL, una de 125 mL y 4 tubos de 30 mL, desechándose el vino sobrante. Se realizó de esta forma para poder efectuar diferentes análisis para una muestra. Todas las muestras se

almacenaron en un laboratorio del IAD termostataado con temperatura (unos 22°C) y humedad constantes, para evitar temperaturas excesivas que pudieran alterar el vino.



Figura 4. Diagrama de flujo de la elaboración realizada del vino tinto.

3.4. Análisis de compuestos volátiles del vino

3.4.1. Proceso de extracción

La extracción de los aromas en las muestras de vino se llevó a cabo mediante la utilización del método planteado por Ortega *et al.* (2001) con las modificadas concretadas por Hernández-Orte *et al.* (2014).

- Materiales utilizados:
 - 4,05 g de sulfato de amonio
 - 2,7 mL de la muestra de vino
 - 6,3 mL de agua destilada miliQ
 - 0,25 mL diclorometano
 - 20 µL de patrón interno (2-butanol, 4-metil-2-pentanol y 2-octanol en 100 de etanol)
- Proceso de preparación de las muestras:

Las muestras se prepararon en tubos de 15 mL con tapón y mediante un agitador horizontal con baño de agua a 15 °C, en un tiempo de aproximadamente 2 h a 75 rpm. A continuación se centrifugaron durante 15 min a 45 rpm en la Centrífuga Himac CT6E VWR que tiene capacidad para 16 tubos, para conseguir la separación entre la fase acuosa del vino de la fase apolar de diclorometano en la cual quedan disueltos los compuestos volátiles. La separación de ambas fases se realizó con la ayuda de una aguja, cuyo contenido se colocó en un vial de 2 mL con microinserto.

3.4.2. Análisis cromatográfico

En la determinación de los compuestos volátiles de los vinos que se han vinificado anteriormente, se usó el Cromatógrafo de gases HP 6890 abastecido de un detector de ionización de llama y dotado de una columna capilar HP INNOWax (Crosslinked Polyethylene

Glycol) con 60 m de longitud, de diámetro interno 0,25 mm y empleando hidrógeno como gas portador. Los requisitos de trabajo fueron los siguientes:

- Temperatura del inyector y detector: 270 °C.
- La relación Split de 1:25, tamaño de muestra que se va a introducir en la columna.
- Flujo de hidrógeno de 40 mL/min.
- Flujo de aire de 450 mL/min.

Primero se pincha un patrón con concentraciones conocidas de los compuestos y un patrón interno, y posteriormente las muestras, de modo que a partir de las áreas de los picos del cromatógrafo se obtiene la composición de cada compuesto en mg/L.

3.5. Determinación de parámetros físico-químicos

3.5.1. Determinación de pH

El objetivo es la medida potencio métrica del pH del vino. Se obtiene mediante un pH metro (previamente calibrado), que se basa en la diferencia entre el potencial generado en el interior del electrodo de pH y el electrodo de referencia en contacto con la muestra que se ha analizado. Se realiza la inmersión del electrodo en la muestra de vino durante unos segundos, y a continuación cuando se finaliza la medida se lava el electrodo con agua destilada. Realizando este procedimiento para cada muestra y anotando los resultados. Se tomó una alícuota de 10 mL y se realizó una única medida de pH por cada micro vinificación.

3.5.2. Determinación de la acidez total

El objetivo es la valoración volumétrica ácido - base con NaOH 1M hasta alcanzar un pH de 7.00 ± 0.5 , medido con un pHmetro digital. Se añadieron 10 mL de muestra de vino en un vaso de precipitados, se colocó el vaso en un agitador magnético con imán y el electrodo inmerso en la muestra, añadiendo lentamente NaOH 1M hasta alcanzar un pH neutro (pH=7). La cantidad de NaOH (mL) utilizada se multiplicó por el valor 0,75 para expresar el resultado final en gramos de ácido tartárico por litros de vino. Se realizó una sola determinación para cada muestra de vino.

3.5.3. Determinación de la acidez volátil

Se vertió en un matraz 11 mL de la muestra de vino, y se utilizó el montaje requerido para realizar la destilación, mediante el paso de agua corriente como refrigerante alrededor del serpentín por donde condensa el destilado, el cual se recoge primero en una probeta aforada de 5,1 mL. Cuando ésta alcanza el volumen aforado (5.1 mL) se desecha el líquido, y se recoge el destilado a continuación en otra probeta aforada hasta alcanzar un volumen de destilado de 3.2 mL. (Protocolo OIV 1990). Este segundo destilado se valora, añadiendo previamente una o dos gotas de fenolftaleína, con NaOH 0.02N hasta obtener un color rosado en la muestra. Los mililitros empleados de NaOH 0.02N (N') nos darán la acidez volátil expresada como ácido acético según la fórmula: $\text{Ácido acético} = N' * 0.366 \text{ (g/L)}$

3.5.4. Determinación del grado alcohólico

El objetivo de este análisis es obtener el grado de alcohol de la muestra conseguido, el cual depende en parte del contenido de azúcares iniciales. Se determina mediante el uso de un ebullómetro modelo Barus. Primero se realiza una calibración con agua para establecer el nivel 0 grados alcohólicos usando una regleta que acompaña al aparato, y se realiza con una primera ebullición, observando la temperatura que consigue en esta primera ebullición del agua. A partir de esta temperatura se regula la regleta y se procede a determinar el grado de alcohol de las muestras.

En primer lugar, se introduce una cantidad fija de muestra en el ebullómetro. A continuación, se acopla un circuito refrigerante en la parte superior que emplea agua corriente. Se enciende el mechero en la parte inferior y se espera hasta que el termómetro acoplado al aparato alcance una temperatura y se mantenga constante, momento en el cual se lee la medida de grado alcohólico a la que corresponde esa temperatura.

3.5.5. Antocianos, polifenoles, taninos e índice de color

La concentración de antocianos totales se ha llevado a cabo siguiendo el método de Puissant-León (Blouin, 1992). Se parte de un extracto de mosto de 0,2 mL, en cubeta de 10 mm de camino óptico, que diluimos con 3,8 mL de una solución de HCl 1M. Dentro del margen mínimo de 3 h y máximo de 24 h, se mide la absorbancia a 280, 320, y 520 nm frente a un blanco de HCl 1M. Mediante una recta de calibrado, utilizando como patrón distintas concentraciones de malvidina-3-glucósido (entre 0-25 mg/L de malvidina-3-glucósido), obtenemos las concentraciones de antocianos totales de las distintas muestras.

Los polifenoles totales se determinan tomando los valores de absorbancia a 280 nm (Slinkard y Singleton, 1977), utilizando una recta patrón de ácido gálico (0-25 mg/L), expresándose la concentración de polifenoles totales en mg/L de ácido gálico.

La concentración de taninos totales, expresada en mg/L, es una estimación basada en deducir de los polifenoles totales, la contribución que tienen los antocianos y los ácidos fenoles, considerando que estas dos familias de compuestos, junto con los taninos, constituyen la práctica totalidad de los polifenoles del vino. Los vinos que no han pasado por madera contienen procianidinas o proantocianidinas, que constituyen los llamados taninos condensados. El método de determinación de los taninos se fundamenta en la propiedad que tienen las proantocianidinas de transformarse, parcialmente, en antocianidinas rojas por calentamiento en medio ácido (Ribéreau-Gayon y Stonestreet, 1966), (Ribéreau-Gayon et al., 1979).

El color del vino es el primer atributo que observamos al degustar un vino, resultando fundamental para su caracterización, apreciación y calidad. La Intensidad Colorante (IC), puede determinarse mediante la suma de las densidades ópticas a 420 nm (amarillo), 520 nm (rojo) y 620 nm (azul) expresadas en cubeta de 10 mm de recorrido óptico (vidrio o cuarzo) con

relación al agua destilada, tras ser centrifugada la muestra. De este modo, se indica la intensidad del color, así como la contribución del amarillo, del rojo y del azul (Glories, 1978).

3.6. Evaluación sensorial de las muestras

Se llevó a cabo una sesión de cata para realizar la evaluación sensorial de las muestras de vino, con la finalidad de obtener una serie de resultados organolépticos. Se evaluaron solo 7 muestras, mezclando las 3 micro vinificaciones de cada levadura y quedando únicamente una muestra por levadura. Para ello se reunió un panel de cata formado por 7 expertos (dos hombres y cinco mujeres) donde cada catador realizó una evaluación visual, olfativa, gustativa y de calidad global. Los siete catadores son expertos en evaluación sensorial de vino. Para ello, cada catador tuvo que puntuar del 1 al 10 cada muestra de vino con arreglo a una serie de parámetros que se describen más abajo, siendo el valor 1 “muy deficiente” o “sensación muy débil” y el 10 “excelente” o “sensación muy fuerte”.

Se recogieron los datos de cada catador por separado y se introdujeron en una hoja Excel. A continuación, se obtuvo la media de cada uno de los parámetros sensoriales para el conjunto del panel. De cada catador se dispone de su edad, y si son fumadores o no fumadores. No obstante, dado el reducido número de muestras evaluadas, esta información no se ha tenido en cuenta y solamente se consideró la media global del panel.

Tabla 2. Ficha de cata correspondiente a uno de los catadores.

| | | 42e | 1g | 42b | 42d | 42k | 42c | 15d |
|------------------------------------|--|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| EXAMEN VISUAL | MATIZ | 6 | 7 | 7 | 6 | 7 | 7 | 7 |
| | INTENSIDAD COLOR | 5 | 6 | 6 | 5 | 7 | 7 | 7 |
| EXAMEN OLFATIVO | INTENSIDAD AROMA | 6 | 7 | 6 | 7 | 7 | 6 | 6 |
| | CALIDAD DEL AROMA | 5 | 7 | 6 | 7 | 7 | 7 | 6 |
| | (CIRUELA, PASA DE UVA, FRUTAS NEGRAS (MORAS) | 4 | 6 | 5 | 7 | 6 | 6 | 7 |
| | NOTA REGALIZ | 4 | 5 | 5 | 7 | 6 | 6 | 6 |
| | NOTA VEGETAL | | | | | | | |
| | NOTA FLORAL | 3 | 4 | 4 | 5 | | | |
| | NOTA A ESPECIAS (PIMIENTA, ANIS) | | | | | | | |
| EXAMEN GUSTATIVO | INTENSIDAD DEL GUSTO | 6 | 7 | 6 | 5 | 6 | 6 | 6 |
| | CALIDAD DEL GUSTO | 6 | 7 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 |
| | ACIDEZ | 6 | 6 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 |
| | DULZOR | 4 | 3 | 3 | 6 | 4 | 4 | 2 |
| | VISCOSIDAD | 6 | 6 | 5 | 4 | 6 | 6 | 4 |
| | UNTUOSIDAD | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 |
| | ASTRINGENCIA | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | AMARGOR | 5 | 6 | 7 | 5 | 6 | 6 | 7 |
| PERSISTENCIA AROMÁTICA | 6 | 7 | 6 | 6 | | | 6 | |
| CALIDAD GLOBAL (EQUILIBRIO- | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 7 | |

3.7. Análisis estadístico de los datos

3.7.1. Estudio de repetibilidad y reproducibilidad

Los resultados que se han obtenido se analizaron estadísticamente utilizando el programa Statgraphics Centurion XVI. El objetivo es determinar posibles datos anómalos entre los resultados obtenidos y eliminarlos para que no originen una alteración en los análisis de los resultados finales. Para detectar distribuciones asimétricas se obtuvo el coeficiente de curtosis estándar y el coeficiente de asimetría estándar. Si estos parámetros estadísticos son cercanos

a cero (entre -2 y 2, esto indica una distribución aproximadamente normal). En caso contrario, la distribución se considera asimétrica. Para ello se ha realizado este análisis para cada variable y se han obtenido los coeficientes correspondientes. Por otro lado, se han representado los datos sobre un papel probabilístico normal, el cual permite detectar los posibles datos anómalos.

Para estudiar la repetibilidad y reproducibilidad de las técnicas analíticas se efectuó una descomposición de la varianza, lo cual permite determinar el porcentaje de la variabilidad obtenida en los datos debido a la levadura, y el porcentaje debido a las tres micro vinificaciones obtenidas de cada levadura. Por otro lado, en el caso de los polifenoles, antocianos, taninos e intensidad colorante, se han realizado tres réplicas de cada una de las micro vinificaciones, tomándose alícuotas diferentes de la muestra.

3.7.2. Estudio de la correlación entre variables

Se ha realizado el promedio de todas las medidas obtenidas con el panel, es decir, la media de los 7 panelistas. Tras observar las fichas de cata de cada panelista, resulta que diversos parámetros no han sido valorados por todos los panelistas. Esto se debe a que no han sido capaces de evaluar ese parámetro durante el proceso de cata. Por esta razón, el promedio se ha realizado solamente con los datos disponibles. A continuación, se han obtenido dos matrices de correlación, en una con 7 observaciones y en otra con 21 observaciones. La matriz de correlación con 7 observaciones incluye las variables sensoriales. La matriz de correlación con 21 observaciones no incluye los datos del panel. Después para cada variable, se identifican las variables de mayor correlación positiva y negativa. Se estudia si esto tiene sentido desde un punto de vista enológico. Se obtuvo el coeficiente de correlación y el nivel de significación observado de dichas relaciones (p-valor) por medio de regresión lineal simple. Se pretende fundamentalmente discutir las correlaciones entre los parámetros más importantes enológicamente.

Además, para estudiar de modo global la relación entre todas las variables, se efectuó un análisis de componentes principales utilizando el programa SIMCA-P versión 10 (umetrics.com). Los datos fueron centrados y escalados a varianza unitaria previamente a la realización del análisis.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Repetibilidad, reproducibilidad y detección de datos anómalos

Todos los parámetros físico-químicos se encuentran dentro del intervalo de -2 a 2 y son cercanos a 0, por lo tanto, tienen todos los datos una distribución aproximadamente normal. En la *Tabla 3* se indican los coeficientes de asimetría y curtosis estandarizados, a partir de los cuales puede estudiarse la normalidad de los parámetros físico-químicos.

Tabla 3. Coeficientes de asimetría estandarizado (CAE) y de curtosis estandarizado (CCE) correspondientes a los 8 parámetros físico-químicos

| Parámetro | CAE | CCE |
|----------------------|-------|-------|
| Acidez Volátil | 1,28 | 0,34 |
| Acidez Total | 0,54 | -1,25 |
| pH | -0,36 | -0,41 |
| Grado Alcohólico | 0,32 | -0,99 |
| Intensidad Colorante | 0,81 | -0,29 |
| Polifenoles | 1,37 | -0,86 |
| Antocianos | 0,41 | -0,81 |
| Taninos | -0,19 | -1,19 |

Los datos de cada uno de estos parámetros se han representado sobre un papel probabilístico normal, obteniéndose que la distribución es aproximadamente normal en todos ellos y no se detectan posibles anómalos. A modo ilustrativo, la *Figura 5* muestra el papel probabilístico normal para los datos de acidez total. Así pues, se concluye que los parámetros físico-químicos obtenidos en los análisis de laboratorio, no contienen datos anómalos y no se identifican desviaciones relevantes de la normalidad.

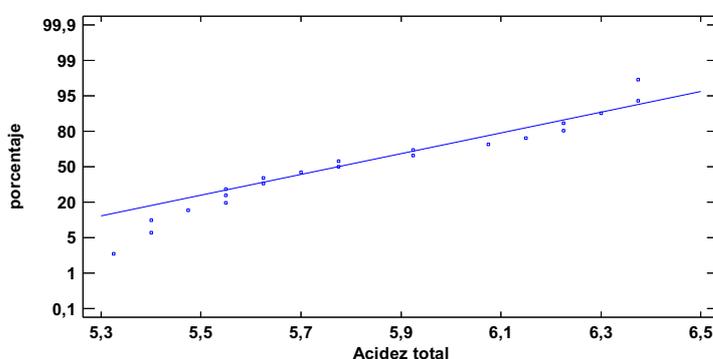


Figura 5. Papel probabilístico normal correspondiente a los datos de acidez total

En cuatro de los parámetros (intensidad colorante, polifenoles, antocianos y taninos) se han realizado tres réplicas instrumentales de cada micro vinificación. Por tanto, se dispone de tres factores que intervienen en la variabilidad observada de la medida: tipo de levadura, fermentación y réplica. Se ha aplicado la técnica de análisis de componentes de la varianza mediante Statgraphics para obtener la contribución de cada uno de estos tres factores en la variabilidad total observada de cada uno de estos cuatro parámetros.

Centrándonos en el estudio del análisis de los componentes de la varianza de los parámetros de intensidad colorante, polifenoles, antocianos y taninos, hay que indicar al programa los tres factores que afectan a la variabilidad de los datos, por orden de anidación: levadura, fermentaciones por levadura y además las réplicas tomadas por fermentación. El programa ofrece los porcentajes de variabilidad para cada uno de los factores (*Tabla 4*).

Tabla 4. Análisis de componentes de la varianza (en porcentaje) en función de tres factores

| Factor: | Int. Colorante | Taninos | Polifenoles | Antocianos |
|--------------|----------------|---------|-------------|------------|
| Levadura | 67,0% | 96% | 81,9% | 0,3% |
| Fermentación | 32,4% | 1,5% | 16,8% | 94,9% |
| Réplica | 0,6% | 2,5% | 1,3% | 4,8% |

En el caso de la intensidad colorante, el porcentaje de la variabilidad introducida por la levadura es superior que la variabilidad introducida por la fermentación o la réplica. Esto significa que hay mayor diferencia entre la intensidad de color entre diferentes levaduras. Observando el gráfico de la *Figura 6* se aprecian las levaduras con una mayor intensidad colorante, las cuales son 1g, 42d y 42k. Las levaduras 42d y 42k corresponden a la misma, *Hanseniaspora uvarum*, mientras que la 1g pertenece a *Hanseniaspora opuntiae/uvarum*.

La *Figura 6* indica el valor medio obtenido para las tres fermentaciones de cada levadura. El hecho de que el factor réplica introduzca una variación muy baja (0.6%) indica que la medida es muy exacta, de modo que una sola medida habría sido suficiente.

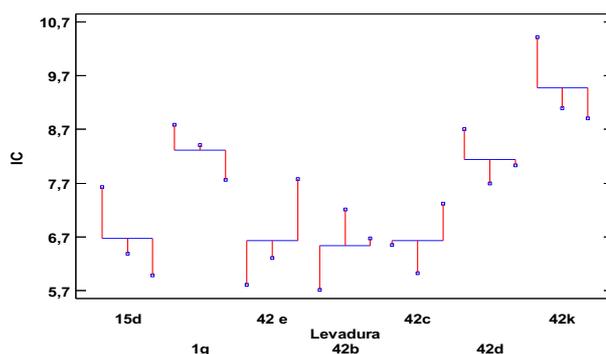


Figura 6. Valores medios de intensidad colorante en función del tipo de levadura y de la fermentación.

En la descomposición de la varianza de los taninos, el porcentaje de la variabilidad introducida por la levadura es cercano al 100%, lo que quiere decir que casi la totalidad de la variabilidad de los datos depende del tipo de levadura. La gran variabilidad de taninos entre las distintas levaduras se aprecia en la *Figura 8* donde las levaduras 15d y 42c dan lugar a un vino con mayor concentración de taninos mientras que la 1g y 42e dan lugar a una menor concentración de taninos. Las levaduras 1g y 42e pertenecen a la misma levadura, *Hanseniaspora opuntiae/uvarum*. Mientras que la 15d y 42c se obtiene una misma propiedad para diferentes levaduras, *Hanseniaspora guilliermondii* y *Hanseniaspora opuntiae/uvarum* respectivamente.

Las levaduras con mayor concentración de taninos por lo general aportarán al vino una mayor sensación de amargor y sequedad, al contrario que los de menos concentración.

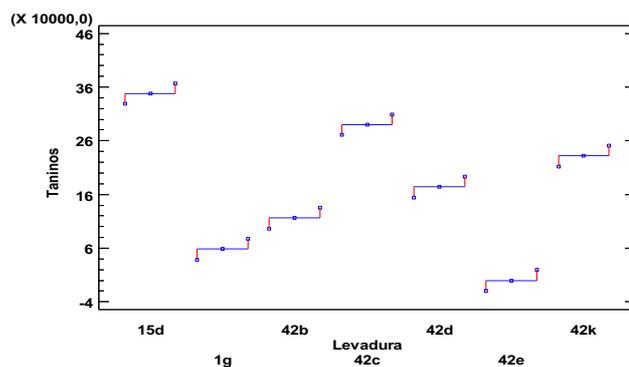


Figura 7. Valores medios de los taninos en función del tipo de levadura y de la fermentación.

En los polifenoles sucede lo mismo, la variabilidad introducida por la levadura es la más alta, destacan dos de ellas por dar lugar a una mayor concentración que el resto: 15d y 42c, misma propiedad para diferentes levaduras, *Hanseniaspora guilliermondii* y *Hanseniaspora opuntiae/uvarum* respectivamente. Además, no se observan posibles datos anómalos.

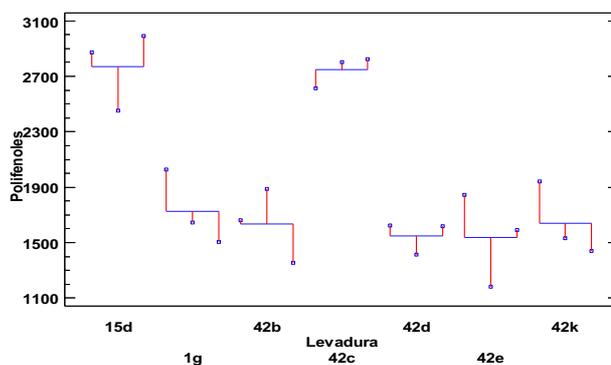


Figura 8. Valores medios de intensidad colorante en función del tipo de levadura y de la fermentación.

En el estudio de varianza del contenido de antocianos, el porcentaje de variabilidad introducido por la fermentación es muy superior al correspondiente a la levadura. Esto resulta un poco llamativo, pues en los otros tres parámetros la variabilidad introducida por la levadura era bastante superior a la variabilidad causante por la fermentación. La razón de este hecho es incierta, sería necesario realizar más repeticiones (fermentaciones) para poder caracterizar mejor la variabilidad introducida por las fermentaciones. En la *Figura 10* se observa que la variabilidad debida a las fermentaciones es bastante alta, en comparación con las diferencias existentes entre levaduras. A la vista de este resultado, podría ser aconsejable en futuros experimentos aumentar el número de fermentaciones de cada levadura.

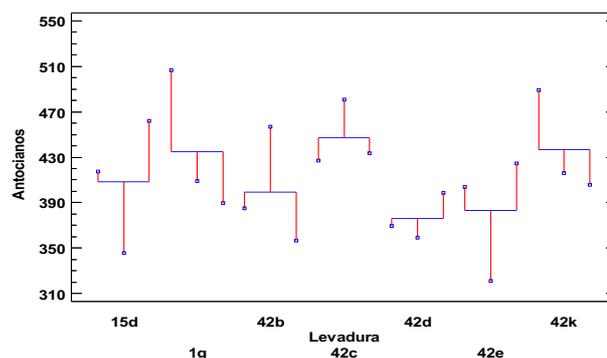


Figura 9. Valores medios de antocianos en función del tipo de levadura y de la fermentación

Por otro lado, se ha realizado un estudio estadístico de la composición de volátiles obtenida mediante cromatografía de gases. Se han calculado los coeficientes de curtosis y de asimetría estandarizados, sin eliminar ningún valor, los cuales son los siguientes:

Tabla 5. Coeficientes de asimetría estandarizado (CAE) y de curtosis estandarizado (CCE) correspondientes a los 20 compuestos volátiles

| Compuesto | CAE | CCE |
|--------------------------|-------|-------|
| Acetaldehído | -2,55 | 2,96 |
| Acetato metilo | 0,35 | -1,51 |
| Acetato isobutilo | 2,40 | 0,66 |
| Butirato etilo | 1,60 | -0,07 |
| 1 Butanol | 5,22 | 10,01 |
| Alcohol isoamilico | -0,08 | -0,97 |
| Hexanoato de etilo | 1,87 | 0,07 |
| Acetato hexilo | 1,55 | -0,67 |
| Lactato de etilo | 0,81 | -0,20 |
| Octanoato etilo | 0,70 | -1,06 |

| Compuesto | CAE | CCE |
|--------------------------|-------|-------|
| Ácido isobutirico | 2,02 | 1,08 |
| Ácido decanoico | 0,87 | 0,43 |
| Decanoato etilo | 0,59 | -0,82 |
| Succinato dietilo | -0,37 | -1,20 |
| 2 Feniletacetato | 0,37 | -1,23 |
| b Damascenona | 2,59 | 1,54 |
| Ácido hexanoico | 1,01 | 0,14 |
| 2 Feniletanol | 5,98 | 11,11 |
| Ácido 2 etilhexanoico | 0,22 | -0,69 |
| Ácido octanoico | 2,32 | 0,07 |

Se detecta que 7 de los compuestos volátiles (*acetaldehído, acetato de isobutilo, 1 butanol, ácido isobutirico, β-damascenona, 2 feniletanol y ácido octanoico*) tienen alguno de ambos coeficientes fuera del intervalo de -2 a 2, esto significa que no puede asumirse una distribución normal y que los datos pueden contener posibles datos anómalos. Empleando un papel probabilístico normal, se ha obtenido que el *acetato de isobutilo* y *β-damascenona* no contienen datos anómalos, se trata de una distribución asimétrica positiva, porque los puntos no quedan alineados sino que siguen una curvatura. Además, los tres puntos más alejados de la recta (en cada una de ellas) se corresponden con las fermentaciones de una misma levadura (42e y 42b), como se observa en la Figura 10.

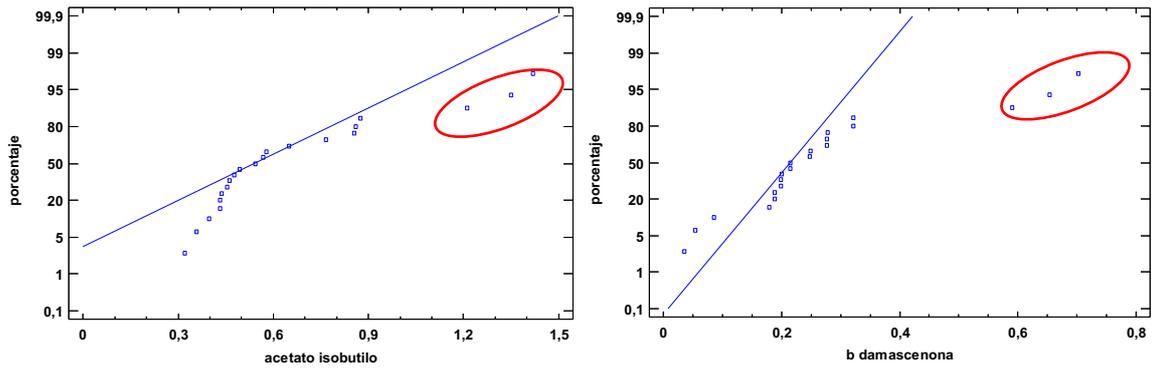


Figura 10. Papel probabilístico normal obtenido con los datos de acetato isobutilo y β -damascenona

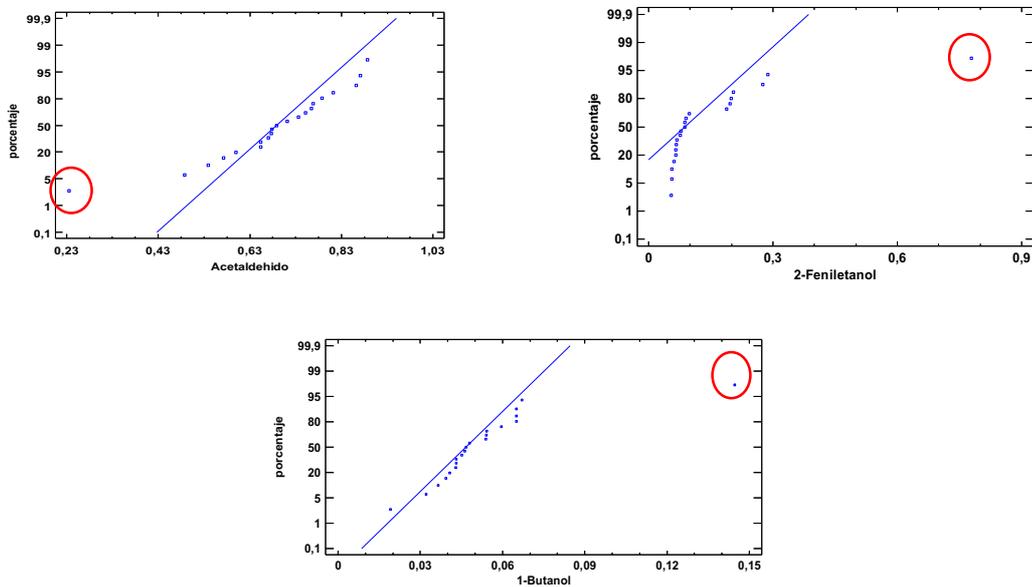


Figura 11. Papel probabilístico normal obtenido con los datos de acetaldehído, 2-Feniletanol y 1-Butanol

Utilizando el papel probabilístico normal para los compuestos acetaldehído, 2-feniletanol y 1-butanol (Figura 11), se pueden observar a simple vista datos anómalos que se separan de la recta. Estos tres datos anómalos se han eliminado para el resto del estudio.

Estos datos anómalos, que pueden ser debidos a un error en la obtención de datos en los análisis instrumentales, causan que los coeficientes de asimetría y curtosis queden fuera del intervalo de -2 a 2. En cuanto al dato posiblemente anómalo del ácido isobutírico, cuando se realiza el papel probabilístico normal (Figura 14) se obtiene que el dato más alejado de la recta pertenece a la misma levadura que los otros puntos cercanos a él. Por este motivo no se considera dato anómalo y por tanto no ha eliminado.

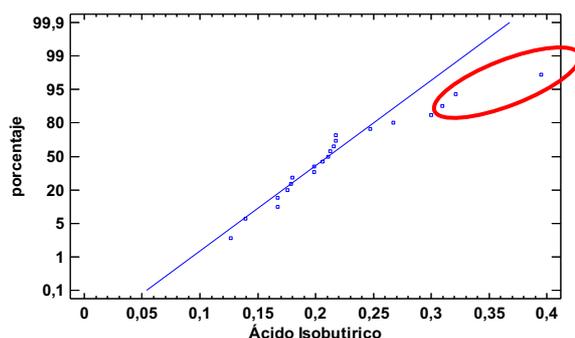


Figura 12. Papel probabilístico normal obtenido con los datos de ácido isobutírico

Los parámetros restantes tienen una distribución normal, se encuentran dentro de los límites establecidos de los coeficientes de asimetría y curtosis (entre -2 y 2) y por tanto no es necesario eliminar ningún valor ni realizar transformaciones. Se procede a la eliminación de estos tres datos anómalos, para que en un posterior uso los datos sean correctos y no den lugar a resultados sesgados. Tras eliminar los 3 datos anómalos, se han vuelto a calcular los coeficientes de asimetría y curtosis estandarizados, cuyos valores se muestran en la Tabla 5.

Tabla 6. Coeficientes de asimetría estandarizado (CAE) y de curtosis estandarizado (CCE) correspondientes a los 20 compuestos volátiles sin los tres datos anómalos

| Compuesto | CAE | CCE | Compuesto | CAE | CCE |
|--------------------|-------|-------|-----------------------|-------|-------|
| Acetaldehído | 0,51 | -1,03 | Ácido isobutírico | 2,63 | 3,42 |
| Acetato metilo | 1,43 | -0,45 | Ácido decanoico | -0,92 | -0,91 |
| Acetato isobutilo | 2,40 | 0,67 | Decanoato etilo | 0,24 | -1,55 |
| butirato etilo | 0,43 | -0,95 | Succinato dietilo | -0,53 | -0,04 |
| 1 butanol | 0,69 | -0,19 | 2 Feniletacetato | 0,737 | -0,99 |
| Alcohol isoamilico | -0,37 | -0,51 | β -damascenona | 2,59 | 1,54 |
| Hexanoato de etilo | 1,64 | -0,13 | Ácido hexanoico | 1,55 | 0,05 |
| Acetato hexilo | 2,03 | 0,23 | 2 Feniletanol | 1,89 | -0,06 |
| Lactato de etilo | -0,80 | -0,53 | Ácido 2 etilhexanoico | -1,30 | -0,85 |
| Octanoato etilo | 1,79 | 1,00 | Ácido octanoico | 2,00 | -0,01 |

Por tanto, ahora ya puede considerarse que la mayoría de estos parámetros siguen aproximadamente una distribución normal, excepto el acetato de isobutilo y β -damascenona que tienen una distribución positiva. En ambos casos resulta recomendable realizar algún tipo de transformación para normalizar los datos, aunque no es estrictamente necesario.

Respecto a 1-butanol se obtiene que la variabilidad por fermentación es del 100%, esto es debido a un error instrumental con el cromatógrafo, debido a que sólo se dispone de una sola medida, la cual se utilizó para las tres fermentaciones. De este compuesto no se puede descomponer la varianza lógicamente.

Realizando la descomposición de la varianza para estos compuestos volátiles, en la mayoría de casos se obtiene que la variabilidad introducida por la levadura es mayor que la introducida por la fermentación, lo cual es lo razonable. Por ejemplo, para el acetato de metilo, la concentración de este compuesto depende más del tipo de levadura que de las

distintas fermentaciones que pueden realizarse con un mismo tipo de levadura. A pesar de esto en la Figura 17 se observan dos levaduras (15d y 42e) con una mayor variabilidad en la fermentación, esto puede ser debido a diferentes causas externas que han afectado durante el proceso de fermentación. Podría tratarse de dos datos anómalos, pero no tenemos suficiente evidencia para asegurarlo. Para ello habría sido necesario disponer de varias réplicas analíticas de este compuesto, o bien realizar más fermentaciones.

Se obtiene que el componente acetaldehído tiene mayor variabilidad por haber realizado las diferentes fermentaciones que por el tipo de levadura, lo cual resulta llamativo. Justo después de la fermentación, los vinos suelen tener concentraciones de acetaldehído menores a 75 mg/L (Zoecklein *et al.*, 1995), aunque los valores pueden variar considerablemente y pueden estar entre 3 y 494 mg/L, según Amerine y Ough (1980) o bien entre 7 y 252 mg/L según Etiévant (1991). La producción de acetaldehído depende de factores como la composición del mosto, pH, la temperatura de fermentación o la aireación, también depende de las características genéticas de las levaduras (Millan y Ortega, 1988; Etiévant, 1991; Zambonelli, 1988; Palacios *et al.*, 1995). Esto justifica que la concentración de acetaldehído depende más de la fermentación que de la levadura, que es lo que se ha obtenido. El acetaldehído es un indicador positivo del aroma y bouquet, contribuyendo en gran parte al aroma característico del vino (Suárez e Íñigo, 1992; Palacios *et al.*, 1995). Es por esto que puede haber mayor variabilidad en los resultados por su fermentación que por tipo de levadura.

El ácido hexanoico tiene una mayor variabilidad debido a las fermentaciones que a la levadura. Se desconoce el motivo. Para poder averiguar posibles causas sería necesario realizar varias réplicas instrumentales de este compuesto, así como un mayor número de fermentaciones. A partir de los resultados disponibles no se pueden extraer conclusiones definitivas para justificar este resultado.

Tabla 7. Análisis de componentes de la varianza (en porcentaje)

| Compuesto | Levadura | Fermentac. |
|--------------------|----------|------------|
| Acetaldehído | 29,4% | 70,6% |
| Acetato metilo | 77,3% | 22,7% |
| Acetato isobutilo | 94,8% | 5,2% |
| butirato etilo | 77,2% | 22,8% |
| Alcohol isoamilico | 97,2% | 2,8% |
| Hexanoato de etilo | 59,5% | 40,5% |
| Acetato hexilo | 88,5% | 11,5% |
| Lactato de etilo | 83,4% | 16,6% |
| Octanoato etilo | 67,3% | 32,7% |
| Ácido isobutirico | 84,1% | 15,9% |

| Compuesto | Levadura | Fermentac. |
|-----------------------|----------|------------|
| Ácido decanoico | 53,3% | 46,7% |
| Decanoato etilo | 70,0% | 30,0% |
| Succinato dietilo | 98,8% | 1,2% |
| 2 Feniletacetato | 85,4% | 14,6% |
| b Damascenona | 95,9% | 4,1% |
| Ácido hexanoico | 36,7% | 63,3% |
| 2 Feniletanol | 94,6% | 5,4% |
| Ácido 2 etilhexanoico | 89,7% | 10,3% |
| Ácido octanoico | 94,9% | 5,1% |
| | | |

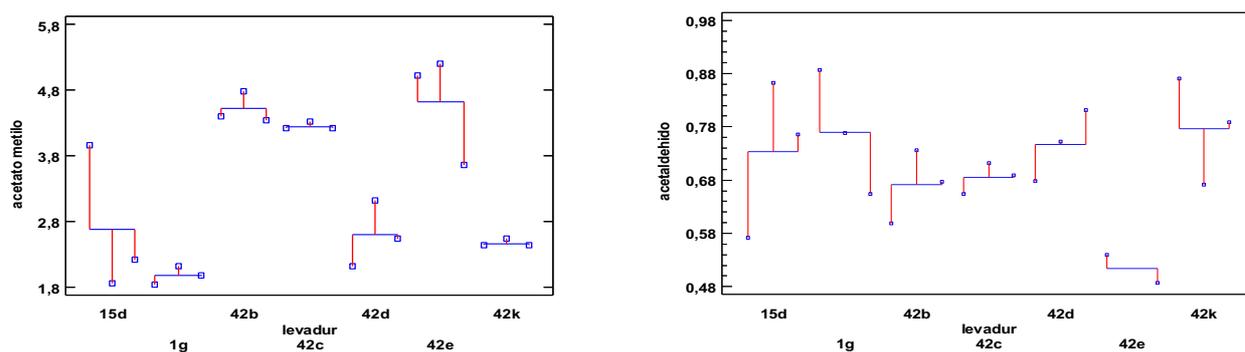


Figura 13. Valores medios de acetato de metilo y acetaldehído en función del tipo de levadura y de la fermentación.

4.2. Estudio de la correlación entre variables

Se ha realizado el promedio en los parámetros organolépticos obtenidos. Los parámetros que no han podido identificar los panelistas durante el proceso de cata aparecen en la ficha de catas en blanco. El porcentaje de huecos en blanco cada uno de los parámetros sensoriales se indica en la tabla 7. Hay un mayor porcentaje de huecos blancos en los parámetros: nota a regaliz, nota vegetal, nota floral y nota a especias. Esto puede deberse a una difícil detección de estos parámetros en las muestras evaluadas.

Tabla 8. Porcentajes de huecos blancos en la ficha de catas

| | | 42e | 1g | 42b | 42d | 42k | 42c | 15d |
|-------------------------------------|------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| EXAMEN VISUAL | MATIZ | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% |
| | INTENSIDAD COLOR | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| EXAMEN OLFATIVO | INTENSIDAD AROMA | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| | CALIDAD DEL AROMA | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 14% |
| | FRUTAS ROJAS (CIRUELA, | 0% | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% | 0% |
| | FRUTAS NEGRAS (MORAS) | 43% | 43% | 43% | 43% | 43% | 43% | 29% |
| | NOTA REGALIZ | 57% | 71% | 71% | 57% | 71% | 71% | 71% |
| | NOTA VEGETAL | 57% | 71% | 71% | 71% | 71% | 71% | 71% |
| | NOTA FLORAL | 43% | 57% | 57% | 57% | 71% | 71% | 71% |
| NOTA A ESPECIAS (PIMIENTA, ANIS) | 57% | 71% | 57% | 71% | 71% | 71% | 86% | |
| EXAMEN GUSTATIVO | INTENSIDAD DEL GUSTO | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 14% |
| | CALIDAD DEL GUSTO | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 14% |
| | ACIDEZ | 0% | 0% | 14% | 0% | 0% | 0% | 0% |
| | DULZOR | 14% | 14% | 14% | 14% | 0% | 0% | 14% |
| | VISCOSIDAD | 29% | 29% | 29% | 29% | 29% | 29% | 29% |
| | UNTUOSIDAD | 29% | 29% | 29% | 29% | 14% | 29% | 29% |
| | ASTRINGENCIA | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% | 0% |
| | AMARGOR | 0% | 0% | 14% | 14% | 14% | 14% | 14% |
| PERSISTENCIA AROMÁTICA | 0% | 14% | 14% | 0% | 29% | 29% | 29% | |
| CALIDAD GLOBAL (EQUILIBRIO-ARMONIA) | | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% | 0% |

Después de haber obtenido la matriz de correlación, y estudiar las variables más correlacionadas con cada parámetro, se han identificado las correlaciones más interesantes enológica, las cuales se discuten a continuación.

Una de las correlaciones más interesantes es la obtenida entre antocianos e intensidad de color ($r = 0,721$, $p = 0.0002$, $n = 21$), ya que los antocianos son pigmentos responsables del color, y si observamos la Figura 20 se puede confirmar que en las muestras obtenidas con mayor cantidad antocianos son las que tienen en promedio una mayor intensidad colorante. Como $p < 0.01$ se puede considerar que la correlación es estadísticamente significativa

considerando un riesgo de primera especie del 1%, es decir, que no se debe al azar del muestreo.

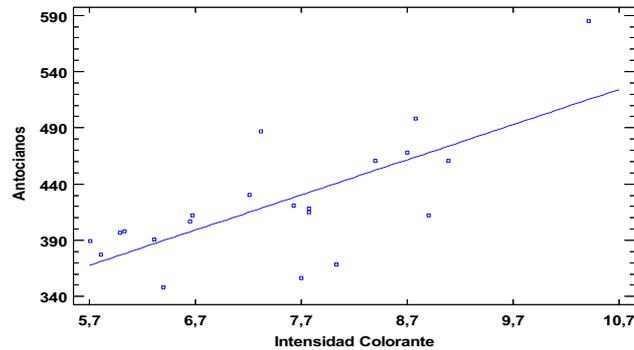


Figura 14. Gráfico de dispersión entre antocianos e intensidad colorante, con recta de regresión ajustada

Otra relación destacable es la obtenida entre acidez total y pH. El coeficiente de correlación es $r = -0,645$, $p = 0.0016$, $n=21$. Esta correlación negativa tiene sentido ya que conforme aumenta la acidez total el pH es lógicamente más bajo.

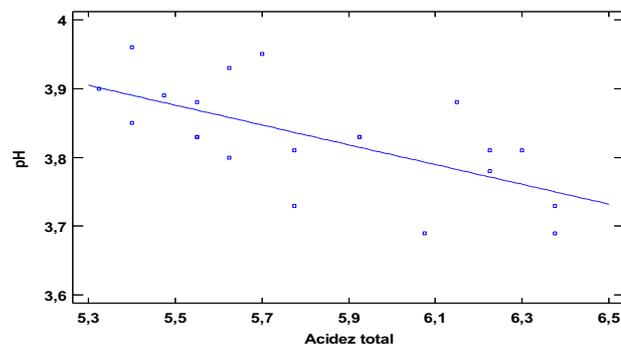


Figura 15. Gráfico de dispersión entre acidez total y pH, con recta de regresión ajustada

Para estudiar la relación que puede existir entre dos variables, se ha partido de la matriz de correlación. Las matrices de correlación contienen todos los coeficientes de correlación que pueden calcularse para un grupo de variables. Su diagonal principal siempre vale 1. Los valores cercanos a cero indican parejas de variables cuya correlación no es estadísticamente significativa. La correlación puede ser positiva o negativa, es decir, que tienen relación directa o inversa.

Se obtuvieron dos matrices de correlación con todos los datos obtenidos: físicos, químicos y organolépticos. Dado que los parámetros obtenidos del panel sólo corresponden a un valor por cada levadura, una matriz de correlación se obtuvo con los promedios de los parámetros físico-químicos y compuestos volátiles ($n=7$), promediando los valores obtenidos con las tres fermentaciones. Esta matriz de correlación con 7 observaciones incluye las variables sensoriales, correlacionándolas con las variables físico-químicas, ya que uno de los objetivos es conocer y verificar las ventajas de un panel de cata, mediante el cual se obtienen estos parámetros sensoriales. Y la otra matriz de correlación con 21 observaciones no incluye los datos del panel, por esta razón se ha realizado con los datos de las tres fermentaciones.

1) Considerando los datos del panel (n=7)

Dado que el panel sólo analiza siete vinos, al final nos queda una matriz con siete observaciones. De esta matriz, obtenemos la matriz de correlación, es decir, todos los posibles valores del coeficiente de correlación entre todas las variables. Para cada variable, se identifican aquellas de mayor valor del coeficiente de correlación y el más negativo.

Tabla 9. Coeficientes de correlación entre los parámetros sensoriales y físico-químicos

| | Aldeh. volátil | pH | Aldeh. total | Gr. alcohólico | Intensidad Colorante | Poliifenoles | Antocianos | Tanino | acetaldehído | acetato metilo | acetato isoabutilo | butirato etilo | 1 butanol | alcohol isoamílico | Hexanoato de etilo | acetato hexilo | lactato de etilo | octanoato etilo | ác. isobutírico | ác. clorogénico | decanoato etilo | succinato dietilo | 2 feniletanol | butanascorona | ác. transpinico | 2 feniletanol | ác. 2 etilhexanoico | ác. octanoico |
|-------------------|----------------|-------|--------------|----------------|----------------------|--------------|------------|--------|--------------|----------------|--------------------|----------------|-----------|--------------------|--------------------|----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|---------------------|---------------|
| MATIZ | 0,38 | 0,11 | 0,48 | 0,34 | -0,15 | 0,23 | 0,61 | -0,18 | 0,23 | 0,11 | -0,13 | 0,61 | 0,40 | 0,58 | -0,03 | 0,08 | 0,34 | 0,71 | 0,57 | -0,21 | -0,22 | -0,37 | -0,07 | 0,56 | 0,14 | -0,41 | 0,04 | 0,34 |
| intens_color | -0,42 | 0,67 | -0,51 | 0,74 | 0,24 | 0,64 | 0,45 | 0,10 | 0,59 | -0,33 | -0,69 | 0,11 | 0,06 | 0,04 | -0,45 | -0,65 | 0,10 | 0,19 | 0,30 | -0,27 | -0,13 | -0,18 | -0,09 | -0,34 | 0,01 | -0,31 | -0,43 | -0,46 |
| intens_aroma | -0,50 | -0,33 | -0,13 | 0,30 | -0,24 | 0,10 | -0,35 | -0,30 | -0,59 | 0,13 | 0,57 | -0,43 | -0,91 | -0,61 | 0,08 | 0,20 | -0,73 | -0,27 | -0,51 | 0,31 | 0,59 | 0,78 | 0,66 | -0,58 | -0,04 | 0,71 | -0,22 | -0,10 |
| calidad_aroma | -0,18 | -0,27 | -0,07 | -0,16 | -0,46 | 0,13 | -0,46 | 0,16 | -0,64 | 0,37 | 0,46 | -0,32 | -0,62 | -0,74 | 0,54 | 0,15 | -0,39 | -0,52 | -0,27 | 0,13 | 0,59 | 0,75 | 0,66 | -0,32 | 0,01 | 0,86 | 0,02 | 0,03 |
| frut_rojas | -0,07 | 0,41 | -0,15 | -0,34 | -0,32 | 0,23 | -0,49 | 0,15 | 0,13 | -0,13 | -0,13 | -0,16 | 0,06 | 0,05 | 0,09 | 0,14 | -0,16 | -0,01 | 0,02 | -0,35 | 0,09 | 0,39 | 0,07 | -0,10 | 0,41 | -0,10 | -0,29 | -0,19 |
| frut_negras | -0,57 | 0,39 | 0,87 | 0,08 | 0,37 | 0,23 | -0,16 | 0,52 | 0,24 | -0,27 | -0,51 | -0,47 | -0,20 | -0,64 | -0,14 | -0,52 | -0,03 | -0,74 | -0,40 | -0,05 | 0,10 | 0,08 | -0,06 | -0,71 | -0,19 | 0,21 | -0,21 | -0,66 |
| regaliz | -0,44 | 0,08 | 0,58 | -0,11 | 0,51 | -0,40 | -0,59 | -0,27 | 0,15 | -0,48 | -0,04 | -0,51 | -0,15 | -0,07 | -0,54 | -0,24 | -0,30 | -0,29 | -0,14 | 0,36 | -0,26 | 0,00 | -0,42 | -0,56 | -0,27 | -0,14 | -0,14 | -0,44 |
| vegetal | 0,51 | -0,61 | 0,40 | -0,90 | 0,06 | -0,63 | -0,05 | 0,50 | -0,35 | 0,32 | 0,27 | -0,10 | 0,20 | -0,19 | 0,55 | 0,49 | 0,30 | -0,55 | -0,45 | 0,05 | 0,09 | -0,33 | -0,10 | 0,43 | -0,07 | 0,27 | 0,58 | 0,34 |
| floral | -0,62 | 0,25 | -0,49 | 0,20 | 0,72 | 0,18 | 0,59 | 0,58 | 0,54 | -0,54 | -0,69 | -0,54 | -0,21 | -0,26 | -0,45 | -0,24 | -0,12 | -0,55 | -0,47 | -0,47 | 0,28 | -0,21 | -0,10 | -0,56 | 0,21 | -0,09 | -0,43 | -0,74 |
| especias | 0,42 | -0,56 | 0,29 | -0,64 | 0,51 | -0,66 | 0,44 | 0,59 | -0,04 | 0,12 | -0,06 | -0,07 | 0,34 | -0,09 | 0,25 | 0,36 | 0,49 | -0,55 | -0,39 | 0,01 | -0,06 | -0,67 | -0,35 | 0,41 | 0,20 | 0,04 | 0,57 | 0,19 |
| int_gusto | -0,46 | 0,70 | -0,52 | 0,45 | -0,25 | 0,48 | -0,61 | -0,54 | 0,27 | -0,36 | -0,14 | -0,06 | -0,14 | 0,20 | -0,45 | -0,52 | -0,41 | 0,46 | 0,44 | 0,00 | -0,18 | 0,48 | 0,01 | -0,48 | 0,14 | -0,28 | -0,58 | -0,36 |
| calidad_gusto | -0,65 | 0,70 | -0,71 | 0,58 | -0,14 | 0,55 | -0,57 | -0,44 | 0,24 | -0,37 | -0,20 | -0,18 | -0,31 | -0,06 | -0,48 | -0,63 | -0,46 | 0,24 | 0,27 | 0,06 | -0,07 | 0,52 | 0,09 | -0,70 | 0,03 | -0,12 | -0,62 | -0,51 |
| ACIDEZ | -0,69 | 0,49 | 0,70 | 0,29 | 0,61 | -0,01 | -0,24 | -0,31 | 0,58 | -0,79 | -0,43 | -0,48 | -0,12 | 0,20 | -0,90 | -0,43 | -0,39 | 0,02 | 0,07 | -0,02 | -0,25 | -0,04 | -0,44 | -0,69 | 0,03 | -0,48 | -0,56 | -0,71 |
| DULZOR | 0,02 | -0,18 | -0,11 | -0,73 | 0,05 | -0,28 | -0,35 | 0,55 | -0,17 | 0,05 | 0,03 | -0,43 | -0,06 | -0,41 | 0,35 | 0,13 | -0,02 | -0,72 | -0,56 | -0,11 | 0,25 | 0,16 | 0,02 | -0,10 | 0,09 | 0,31 | 0,15 | -0,13 |
| VISCOSIDAD | -0,34 | 0,26 | -0,14 | -0,54 | 0,37 | -0,21 | -0,24 | 0,11 | 0,50 | -0,71 | -0,32 | -0,64 | 0,01 | 0,38 | -0,49 | 0,15 | -0,42 | -0,14 | -0,23 | -0,57 | 0,10 | 0,10 | -0,31 | -0,28 | 0,67 | -0,48 | -0,53 | -0,54 |
| UNTUOSIDAD | 0,42 | -0,60 | 0,69 | -0,87 | 0,14 | -0,69 | 0,11 | 0,17 | -0,13 | -0,01 | 0,29 | -0,22 | 0,15 | 0,33 | 0,18 | 0,82 | -0,03 | -0,15 | -0,35 | -0,24 | 0,17 | -0,19 | -0,14 | 0,48 | 0,39 | -0,09 | 0,24 | 0,27 |
| ASTRINGENCIA | -0,23 | -0,07 | -0,40 | 0,11 | -0,23 | 0,32 | -0,15 | 0,51 | -0,44 | 0,41 | 0,07 | -0,17 | -0,45 | -0,98 | 0,53 | -0,28 | -0,01 | -0,72 | -0,52 | 0,18 | 0,43 | 0,41 | 0,52 | -0,40 | -0,31 | 0,81 | 0,14 | -0,11 |
| AMARGOR | -0,69 | 0,44 | -0,68 | 0,21 | 0,12 | 0,14 | -0,70 | -0,40 | 0,19 | -0,52 | -0,08 | -0,51 | -0,38 | -0,07 | -0,56 | -0,38 | -0,61 | -0,03 | -0,02 | 0,10 | -0,02 | 0,48 | -0,06 | -0,77 | 0,07 | -0,11 | -0,57 | -0,58 |
| persist_aromatica | -0,72 | 0,52 | -0,32 | 0,82 | -0,04 | 0,73 | 0,22 | -0,26 | 0,32 | -0,41 | -0,28 | -0,21 | -0,51 | 0,04 | -0,52 | -0,27 | -0,59 | 0,32 | 0,07 | -0,38 | 0,35 | 0,47 | 0,37 | -0,60 | 0,43 | -0,10 | -0,82 | -0,52 |
| calidad_global | -0,24 | 0,06 | 0,01 | 0,77 | -0,69 | 0,58 | -0,24 | -0,60 | -0,47 | 0,33 | 0,48 | 0,21 | -0,59 | -0,25 | 0,13 | -0,08 | -0,46 | 0,44 | 0,19 | 0,28 | 0,30 | 0,75 | 0,71 | -0,25 | -0,06 | 0,45 | -0,24 | 0,18 |

Tabla 10. Matriz de correlación variables organolépticas

| | MATIZ | intens_color | intens_aroma | calidad_aroma | frut_rojas | frut_negras | regaliz | vegetal | floral | especias | int_gusto | calidad_gusto | ACIDEZ | DULZOR | VISCOSIDAD | UNTUOSIDAD | ASTRINGENCIA | AMARGOR | persist_aromatica | calidad_global |
|-------------------|-------|--------------|--------------|---------------|------------|-------------|---------|---------|--------|----------|-----------|---------------|--------|--------|------------|------------|--------------|---------|-------------------|----------------|
| MATIZ | 1,00 | 0,46 | -0,56 | -0,73 | -0,34 | -0,67 | -0,70 | -0,39 | -0,06 | -0,06 | -0,13 | -0,27 | -0,25 | -0,76 | -0,36 | -0,06 | -0,60 | -0,60 | 0,28 | 0,12 |
| intens_color | 0,46 | 1,00 | -0,24 | -0,56 | -0,35 | 0,30 | -0,12 | -0,77 | 0,63 | -0,25 | 0,23 | 0,36 | 0,42 | -0,64 | -0,31 | -0,76 | -0,04 | 0,02 | 0,69 | 0,16 |
| intens_aroma | -0,56 | -0,24 | 1,00 | 0,68 | -0,10 | 0,21 | 0,38 | -0,13 | -0,03 | -0,34 | 0,20 | 0,37 | 0,16 | 0,10 | -0,12 | -0,19 | 0,48 | 0,50 | 0,29 | 0,63 |
| calidad_aroma | -0,73 | -0,56 | 0,68 | 1,00 | 0,46 | 0,32 | 0,09 | 0,40 | -0,24 | -0,14 | 0,06 | 0,14 | -0,32 | 0,69 | 0,09 | 0,10 | 0,75 | 0,27 | -0,17 | 0,30 |
| frut_rojas | -0,34 | -0,35 | -0,10 | 0,46 | 1,00 | 0,10 | -0,04 | 0,22 | -0,38 | -0,38 | 0,49 | 0,33 | -0,13 | 0,61 | 0,68 | 0,23 | 0,08 | 0,35 | -0,10 | -0,06 |
| frut_negras | -0,67 | 0,30 | 0,21 | 0,32 | 0,10 | 1,00 | 0,50 | 0,01 | 0,62 | 0,09 | 0,10 | 0,35 | 0,41 | 0,43 | 0,08 | -0,45 | 0,71 | 0,42 | 0,05 | -0,21 |
| regaliz | -0,70 | -0,12 | 0,38 | 0,09 | -0,04 | 0,50 | 1,00 | -0,06 | 0,16 | -0,04 | 0,33 | 0,46 | 0,79 | 0,21 | 0,32 | -0,14 | 0,06 | 0,77 | -0,06 | -0,14 |
| vegetal | -0,39 | -0,77 | -0,13 | 0,40 | 0,22 | 0,01 | -0,06 | 1,00 | -0,20 | 0,73 | -0,65 | -0,71 | -0,57 | 0,79 | 0,21 | 0,77 | 0,25 | -0,40 | -0,89 | -0,62 |
| floral | -0,06 | 0,63 | -0,03 | -0,24 | -0,38 | 0,62 | 0,16 | -0,20 | 1,00 | 0,31 | -0,25 | -0,01 | 0,43 | -0,07 | 0,02 | -0,29 | 0,23 | 0,01 | 0,36 | -0,32 |
| especias | -0,06 | -0,25 | -0,34 | -0,14 | -0,38 | 0,09 | -0,04 | 0,73 | 0,31 | 1,00 | -0,91 | -0,86 | -0,31 | 0,34 | -0,09 | 0,53 | 0,09 | -0,62 | -0,70 | -0,78 |
| int_gusto | -0,13 | 0,23 | 0,20 | 0,06 | 0,49 | 0,10 | 0,33 | -0,65 | -0,25 | -0,91 | 1,00 | 0,94 | 0,55 | -0,18 | 0,33 | -0,49 | -0,16 | 0,81 | 0,55 | 0,51 |
| calidad_gusto | -0,27 | 0,36 | 0,37 | 0,14 | 0,33 | 0,35 | 0,46 | -0,71 | -0,01 | -0,86 | 0,94 | 1,00 | 0,66 | -0,18 | 0,20 | -0,67 | 0,07 | 0,87 | 0,63 | 0,54 |
| ACIDEZ | -0,25 | 0,42 | 0,16 | -0,32 | -0,13 | 0,41 | 0,79 | -0,57 | 0,43 | -0,31 | 0,55 | 0,66 | 1,00 | -0,25 | 0,33 | -0,42 | -0,23 | 0,77 | 0,46 | 0,00 |
| DULZOR | -0,76 | -0,64 | 0,10 | 0,69 | 0,61 | 0,43 | 0,21 | 0,79 | -0,07 | 0,34 | -0,18 | -0,18 | -0,25 | 1,00 | 0,49 | 0,49 | 0,51 | 0,12 | -0,60 | -0,47 |
| VISCOSIDAD | -0,36 | -0,31 | -0,12 | 0,09 | 0,68 | 0,08 | 0,32 | 0,21 | 0,02 | -0,09 | 0,33 | 0,20 | 0,33 | 0,49 | 1,00 | 0,49 | -0,31 | 0,46 | -0,03 | -0,41 |
| UNTUOSIDAD | -0,06 | -0,76 | -0,19 | 0,10 | 0,23 | -0,45 | -0,14 | 0,77 | -0,29 | 0,53 | -0,49 | -0,67 | -0,42 | 0,49 | 0,49 | 1,00 | -0,32 | -0,35 | -0,60 | -0,53 |
| ASTRINGENCIA | -0,60 | -0,04 | 0,48 | 0,75 | 0,08 | 0,71 | 0,06 | 0,25 | 0,23 | 0,09 | -0,16 | 0,07 | -0,23 | 0,51 | -0,31 | -0,32 | 1,00 | 0,07 | -0,11 | 0,15 |
| AMARGOR | -0,60 | 0,02 | 0,50 | 0,27 | 0,35 | 0,42 | 0,77 | -0,40 | 0,01 | -0,62 | 0,81 | 0,87 | 0,77 | 0,12 | 0,46 | -0,35 | 0,07 | 1,00 | 0,38 | 0,29 |
| persist_aromatica | 0,28 | 0,69 | 0,29 | -0,17 | -0,10 | 0,05 | -0,06 | -0,89 | 0,36 | -0,70 | 0,55 | 0,63 | 0,46 | -0,60 | -0,03 | -0,60 | -0,11 | 0,38 | 1,00 | 0,62 |
| calidad_global | 0,12 | 0,16 | 0,63 | 0,30 | -0,06 | -0,21 | -0,14 | -0,62 | -0,32 | -0,78 | 0,51 | 0,54 | 0,00 | -0,47 | -0,41 | -0,53 | 0,15 | 0,29 | 0,62 | 1,00 |

1.1. Relaciones entre compuestos volátiles y otras variables.

A continuación, se discuten las relaciones de más interés enológico, es decir, las parejas de variables con coeficientes más altos en valor absoluto.

Se ha encontrado que la calidad del aroma obtenida sensorialmente presenta la mayor correlación positiva con 2-feniletanol ($r = 0,80$, $p = 0,03$, $n = 7$). Dado que el p-valor es inferior a 0,05 se considera que la correlación es estadísticamente significativa considerando un nivel

de significación del 5%. El umbral de detección de este compuesto es de 1,05 mg/L (medido en disolución acuosa). En los ensayos realizados, este compuesto se ha encontrado en una concentración que varía entre 0,05 mg/L y 0,78 mg/L. Dado que queda por debajo del umbral olfativo, la correlación encontrada podría deberse al azar del muestreo. Sería necesario disponer de más muestras para profundizar en este tipo de relación. Este compuesto tiene un olor floral y es un factor de calidad en vinos jóvenes, incluso en concentraciones inferiores a su umbral de detección olfativa (Rapp y Mandery, 1986).

Por otro lado, la variable “calidad aroma” tiene una correlación negativa con el compuesto alcohol isoamílico ($r = -0,737$, $p = 0,0001$, $n=7$), al contrario que el 2-feniletanol. Este compuesto químico tiene un olor desagradable a queso, influye negativamente en la calidad aromática. Su umbral de detección es de 0,25 - 0,3 mg/L (medido en disolución acuosa). En los ensayos realizados, este compuesto se ha encontrado en una concentración que varía entre 0,11 mg/L y 0,79 mg/L. A pesar de que algunas de las muestras quedan por debajo del umbral olfativo, se considera que el compuesto queda por encima del umbral de detección olfativa.

El parámetro sensorial “nota floral” presenta la correlación más negativa con el contenido de ácido octanoico ($r = -0,74$, $p = 0,059$, $n = 7$). El umbral de detección de este compuesto es de 0,5 mg/L (medido en disolución acuosa). En los ensayos realizados, este compuesto fluctúa entre 0,05 y 0,66 mg/L. Este compuesto tiene un olor a grasa rancia, a queso, con notas vegetales (web: <http://www.thegoodscentscompany.com/data/rw1009091.html#toorgano>). En definitiva, es un olor desagradable. Por tanto, la correlación puede tener sentido ya que, a mayor concentración de un compuesto con olor negativo, menor puntuación de la nota floral que es un descriptor agradable.

La acidez sensorial determinada por el panel presenta la correlación más negativa con el contenido de hexanoato de etilo ($r = -0,90$, $p = 0,005$, $n = 7$). Dado que el p-valor es tan bajo, puede garantizarse que la correlación no ha sido obtenida por el azar del muestreo. El umbral de detección de este compuesto es de 0,014 mg/L. Según otras fuentes consultadas (<http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>) el umbral es de 0,001 mg/L. En los ensayos realizados, este compuesto fluctúa entre 0,045 y 0,46 mg/L, es decir, queda siempre por encima del umbral de detección olfativa. Además, el rango de variación es elevado, pues la concentración se multiplica por 10. Este compuesto tiene un olor dulce, afrutado, a piña, con una nota de plátano verde. La interpretación sugerida es que cuanto mayor es la concentración de este compuesto, el vino tiene posiblemente un olor más dulce y por tanto una percepción menos ácida, ya que el carácter dulce y ácido suele ser opuesto.

Se ha encontrado también una correlación negativa entre el acetato de isobutilo y la nota floral. El coeficiente de correlación es $r = -0,69$, $p = 0,08$, $n=21$. Como $p > 0.05$ se considera que la correlación no es estadísticamente significativa. El umbral de detección de este compuesto es de 1,6 mg/L, aunque otras fuentes de bibliografía consultadas (<http://www.leffingwell.com/odorthre.htm>) sugieren un umbral de 0,07 mg/L. En los ensayos analíticos realizados, este compuesto varía entre 0,32 y 1,42 mg/L. En este caso quedarían todas las muestras por encima del umbral de detección olfativa. El acetato de isobutilo tiene un olor dulce, afrutado y etéreo. A mayor concentración del compuesto acetato de isobutilo, al

tratarse de un compuesto afrutado, disminuirá la nota floral, encapsulándola con sus notas afrutadas.

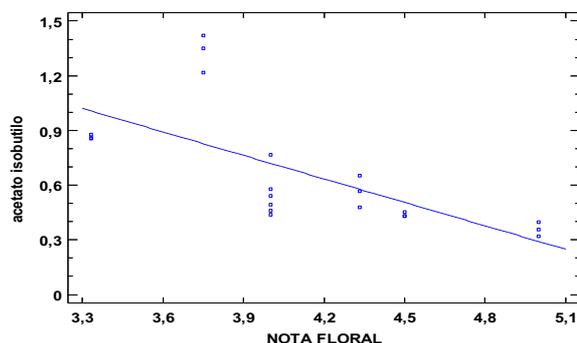


Figura 16. Gráfica del modelo ajustado de acetato de isobutilo y nota floral

- A continuación, se discuten otras relaciones:

La variable astringencia tiene correlación negativa con el compuesto alcohol isoamílico ($r = -0,97$, $p = 0,0001$, $n=7$). Compuesto con olor a fermentado, queso y desagradable. No es posible proporcionar una interpretación razonable para esta correlación observada.

La variable intensidad del aroma tiene correlación positiva con el compuesto succinato de dietilo ($r = 0,78$, $p = 0,037$, $n=7$). En este caso el componente succinato de dietilo, que tiene olor floral, es uno de los compuestos responsables del olor del vino, aunque en baja medida.

La variable “nota floral” tiene correlación negativa con el compuesto ácido octanoico ($r = -0,736$, $p = 0,0591$). El umbral de detección de este compuesto es de 0,5 mg/L. En los ensayos analíticos realizados, este compuesto varía entre 0,053 y 0,56 mg/L. En este caso quedarían la mayoría de las muestras por debajo del umbral de detección olfativa. La principal característica es que tiene olor a rancio, queso, áspero, ácido, por lo tanto, tiene mal olor como sucede con la mayoría de los ácidos. Es por esto que a mayor concentración de ácido octanoico afecta de forma negativa a las notas florales del vino en el análisis sensorial.

La variable amargor tiene correlación negativa con el compuesto β -damascenona ($r = -0,767$, $p = 0,044$). El umbral de detección de este compuesto es de 0,002 mg/L. En los ensayos realizados, este compuesto fluctúa entre 0,0351mg/L y 0,7035 mg/L, es decir, queda siempre por encima del umbral de detección olfativa. Tiene olor floral, es por esto que cuanto mayor es la concentración de este compuesto menor será la variable organoléptica de amargor.

La variable acidez tiene correlación negativa con el compuesto hexanoato de etilo ($r = -0,904$, $p = 0,0052$). El umbral de detección de este compuesto es de 0,014 mg/L. En los ensayos realizados, este compuesto fluctúa entre 0,045 mg/L y 0,464 mg/L, es decir, queda siempre por encima del umbral de detección olfativa. Este compuesto químico se caracteriza por su alta olor frutal y a anís. Al tratarse de una correlación negativa, al contener mayor concentración del compuesto hexanoato de etilo, la variable acidez será menor y predominará la baja acidez.

Algunas de estas relaciones tienen sentido, ya que son relaciones esperadas y conocidas en el análisis de vino. Mientras que otras como la correlación observada entre astringencia y alcohol isoamílico son relaciones no esperadas, de modo que harían falta más ensayos experimentales para proporcionar una interpretación razonable.

Además, por otro lado, no se han encontrado relaciones comúnmente observadas entre parámetros como polifenoles y taninos, astringencia y taninos o matiz e intensidad de color. El motivo podría ser que el número de muestras es relativamente bajo.

1.2. Relaciones entre parámetros sensoriales del panel.

Se discuten a continuación las relaciones de más interés enológico, es decir, las parejas de variables con coeficientes de correlación más altos en valor absoluto.

La variable grado alcohólico tiene correlación negativa con la variable untuosidad ($r = -0,87$, $p = 0,011$, $n=7$). El contenido alcohólico influye en la percepción sensorial del vino, y puede enmascarar compuestos volátiles del vino. Lo que caracteriza la untuosidad es la suavidad en boca, por eso cuanto mayor sea el grado alcohólico menor será la suavidad en boca. Además, la variable grado alcohólico también está correlacionada de forma negativa con la variable dulzor.

- Por otro lado, se obtienen otras relaciones:

La variable especias tiene correlación negativa con la variable intensidad del gusto ($r = -0,914$, $p = 0,0039$). Se considera que la intensidad del gusto disminuirá conforme aumente las notas de especias. Según estos resultados una baja detección de notas de especias en el vino le otorga al vino mayor intensidad del gusto, esto se puede deber a que potencia otros componentes aromáticos del vino.

La variable calidad del gusto tiene correlación positiva con la variable intensidad del gusto ($r = 0,942$, $p = 0,0015$). Son dos descriptores asociados, que van íntimamente relacionados. A mayor intensidad del gusto mayor será la calidad del gusto.

2) Sin considerar los datos del panel ($n=21$)

Se utilizan únicamente los datos de los compuestos volátiles juntos con los parámetros físicos-químicos. De forma que se parte de una matriz con 21 observaciones. De esta matriz de datos, obtenemos la matriz de correlación, es decir, todos los posibles valores del coeficiente de correlación entre todas las variables. Para cada variable, obtenemos aquellas de mayor valor del coeficiente de correlación y el más negativo.

Tabla 11. Matriz de correlación de las variables organoléptica.

| | Acidez volátil | pH | Acidez total | Gr. alcohólico | Intensidad colorante | Bolillos | Antojos | Tanino | acetaldéhid | acetato metilo | acetato isobutilo | butirato etilo | 1 butanol | alcohol isoamílico | hexanoato de etilo | acetato hexilo | lactato de etilo | octanoato etilo | ac. isobutírico | ac. decanoico | decanoato etilo | succinato dietilo | 2 fenilacetato | β damascenona | ac. hexanoico | 2 feniletanol | ac. 2 etilhexanoico | ac. octanoico |
|----------------------|----------------|-------|--------------|----------------|----------------------|----------|---------|--------|-------------|----------------|-------------------|----------------|-----------|--------------------|--------------------|----------------|------------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|-------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|---------------------|---------------|
| Acidez volátil | 1,00 | -0,29 | 0,37 | -0,29 | -0,19 | -0,38 | -0,04 | -0,11 | -0,32 | 0,47 | 0,34 | 0,59 | 0,38 | 0,24 | 0,44 | 0,26 | 0,59 | 0,29 | 0,24 | 0,15 | -0,19 | -0,40 | -0,16 | 0,84 | -0,14 | 0,00 | 0,74 | 0,71 |
| pH | -0,29 | 1,00 | -0,65 | 0,25 | 0,19 | 0,53 | 0,13 | 0,06 | 0,31 | -0,38 | -0,61 | 0,09 | 0,08 | 0,12 | -0,27 | -0,67 | -0,04 | 0,23 | 0,55 | -0,30 | -0,17 | 0,03 | -0,10 | -0,29 | 0,26 | -0,42 | -0,49 | -0,53 |
| Acidez total | 0,37 | -0,65 | 1,00 | -0,20 | -0,34 | -0,28 | 0,00 | 0,00 | -0,19 | 0,40 | 0,52 | 0,23 | -0,06 | 0,29 | 0,33 | 0,67 | 0,06 | 0,16 | -0,21 | 0,15 | -0,02 | -0,09 | 0,11 | 0,64 | -0,03 | 0,06 | 0,32 | 0,58 |
| Gr. alcohólico | -0,29 | 0,25 | -0,20 | 1,00 | -0,14 | 0,54 | 0,00 | -0,16 | 0,21 | 0,13 | -0,04 | 0,24 | -0,09 | -0,18 | 0,09 | -0,30 | -0,20 | 0,21 | 0,34 | 0,15 | 0,07 | 0,28 | 0,32 | -0,29 | -0,20 | 0,17 | -0,27 | -0,14 |
| Intensidad Colorante | -0,19 | 0,19 | -0,34 | -0,14 | 1,00 | -0,30 | 0,72 | 0,28 | 0,39 | -0,60 | -0,50 | -0,41 | 0,11 | 0,19 | -0,50 | 0,03 | -0,04 | -0,20 | -0,08 | -0,34 | -0,02 | -0,48 | -0,46 | -0,19 | 0,29 | -0,42 | -0,21 | -0,55 |
| Poli fenoles | -0,38 | 0,53 | -0,28 | 0,54 | -0,30 | 1,00 | 0,05 | 0,22 | 0,05 | 0,04 | -0,31 | 0,15 | -0,26 | -0,27 | -0,04 | -0,51 | -0,11 | 0,17 | 0,20 | -0,25 | 0,20 | 0,46 | 0,47 | -0,35 | 0,16 | 0,18 | -0,51 | -0,33 |
| Antojos | -0,04 | 0,13 | 0,00 | 0,00 | 0,72 | 0,05 | 1,00 | 0,40 | 0,26 | -0,26 | -0,33 | -0,13 | -0,07 | 0,10 | -0,20 | 0,12 | 0,07 | -0,14 | -0,10 | -0,28 | 0,07 | -0,40 | -0,14 | 0,05 | 0,26 | -0,17 | -0,11 | -0,25 |
| Tanino | -0,11 | 0,06 | 0,00 | -0,16 | 0,28 | 0,22 | 0,40 | 1,00 | 0,05 | -0,01 | -0,37 | -0,15 | -0,18 | -0,30 | 0,04 | -0,18 | 0,20 | -0,51 | -0,36 | -0,24 | 0,03 | -0,16 | 0,00 | -0,07 | 0,04 | 0,02 | -0,11 | -0,29 |
| acetaldéhid | -0,32 | 0,31 | -0,19 | 0,21 | 0,39 | 0,05 | 0,26 | 0,05 | 1,00 | -0,62 | -0,73 | -0,40 | -0,08 | 0,30 | -0,28 | -0,16 | -0,16 | -0,08 | 0,18 | -0,21 | -0,20 | -0,26 | -0,49 | -0,22 | 0,09 | -0,55 | -0,36 | -0,55 |
| acetato metilo | 0,47 | -0,38 | 0,40 | 0,13 | -0,60 | 0,04 | -0,26 | -0,01 | -0,62 | 1,00 | 0,64 | 0,65 | -0,05 | -0,40 | 0,81 | 0,12 | 0,39 | -0,03 | -0,08 | 0,57 | -0,02 | 0,09 | 0,39 | 0,50 | -0,53 | 0,59 | 0,65 | 0,74 |
| acetato isobutilo | 0,34 | -0,61 | 0,52 | -0,04 | -0,50 | -0,31 | -0,33 | -0,37 | -0,73 | 0,64 | 1,00 | 0,25 | -0,21 | -0,18 | 0,49 | 0,55 | -0,16 | 0,10 | -0,19 | 0,54 | 0,16 | 0,37 | 0,44 | 0,31 | -0,26 | 0,56 | 0,44 | 0,72 |
| butirato etilo | 0,59 | 0,09 | 0,23 | 0,24 | -0,41 | 0,15 | -0,13 | -0,15 | -0,40 | 0,65 | 0,25 | 1,00 | 0,36 | 0,17 | 0,39 | -0,17 | 0,68 | 0,54 | 0,56 | 0,32 | -0,39 | -0,29 | 0,03 | 0,69 | -0,34 | -0,03 | 0,55 | 0,61 |
| 1 butanol | 0,38 | 0,08 | -0,06 | -0,09 | 0,11 | -0,26 | -0,07 | -0,18 | -0,08 | -0,05 | -0,21 | 0,36 | 1,00 | 0,37 | -0,18 | -0,07 | 0,45 | 0,30 | 0,42 | -0,23 | -0,22 | -0,42 | -0,25 | 0,34 | 0,15 | -0,27 | 0,32 | 0,21 |
| alcohol isoamílico | 0,24 | 0,12 | 0,29 | -0,18 | 0,19 | -0,27 | 0,10 | -0,30 | 0,30 | -0,40 | -0,18 | 0,17 | 0,37 | 1,00 | -0,47 | 0,17 | 0,14 | 0,61 | 0,48 | -0,21 | -0,43 | -0,46 | -0,57 | 0,41 | 0,25 | -0,84 | -0,09 | -0,02 |
| hexanoato de etilo | 0,44 | -0,27 | 0,33 | 0,09 | -0,50 | -0,04 | -0,20 | 0,04 | -0,28 | 0,81 | 0,49 | 0,39 | -0,18 | -0,47 | 1,00 | 0,22 | 0,22 | -0,23 | -0,15 | 0,41 | 0,14 | 0,13 | 0,37 | 0,44 | -0,38 | 0,61 | 0,58 | 0,61 |
| acetato hexilo | 0,26 | -0,67 | 0,67 | -0,30 | 0,03 | -0,51 | 0,12 | -0,18 | -0,16 | 0,12 | 0,55 | -0,17 | -0,07 | 0,17 | 0,22 | 1,00 | -0,26 | 0,01 | -0,45 | -0,15 | 0,49 | 0,09 | 0,24 | 0,37 | 0,35 | 0,24 | 0,21 | 0,40 |
| lactato de etilo | 0,59 | -0,04 | 0,06 | -0,20 | -0,04 | -0,11 | 0,07 | 0,20 | -0,16 | 0,39 | -0,16 | 0,68 | 0,45 | 0,14 | 0,22 | -0,26 | 1,00 | 0,12 | 0,29 | 0,17 | -0,51 | -0,71 | -0,41 | 0,63 | -0,39 | -0,20 | 0,69 | 0,37 |
| octanoato etilo | 0,29 | 0,23 | 0,16 | 0,21 | -0,20 | 0,17 | -0,14 | -0,51 | -0,08 | -0,03 | 0,10 | 0,54 | 0,30 | 0,61 | -0,23 | 0,01 | 0,12 | 1,00 | 0,78 | -0,15 | -0,20 | -0,03 | -0,02 | 0,41 | 0,27 | -0,37 | -0,03 | 0,16 |
| ac isobutirico | 0,24 | 0,55 | -0,21 | 0,34 | -0,08 | 0,20 | -0,10 | -0,36 | 0,18 | -0,08 | -0,19 | 0,56 | 0,42 | 0,48 | -0,15 | -0,45 | 0,29 | 0,78 | 1,00 | 0,05 | -0,58 | -0,22 | 0,27 | 0,30 | -0,03 | -0,46 | 0,01 | -0,02 |
| ac decanoico | 0,15 | -0,30 | 0,15 | 0,15 | -0,34 | -0,25 | -0,28 | -0,24 | -0,21 | 0,57 | 0,54 | 0,32 | -0,23 | -0,21 | 0,41 | -0,15 | 0,17 | -0,15 | 0,05 | 1,00 | -0,52 | -0,08 | -0,16 | 0,13 | -0,89 | 0,22 | 0,51 | 0,46 |
| decanoato etilo | -0,19 | -0,17 | -0,02 | 0,07 | -0,02 | 0,20 | 0,07 | 0,03 | -0,20 | -0,02 | 0,16 | 0,39 | -0,22 | -0,43 | 0,14 | 0,49 | -0,51 | -0,20 | -0,58 | -0,52 | 1,00 | 0,62 | 0,74 | -0,31 | 0,59 | 0,60 | -0,27 | -0,06 |
| succinato dietilo | -0,40 | 0,03 | -0,09 | 0,28 | -0,48 | 0,46 | -0,40 | -0,16 | -0,26 | 0,09 | 0,37 | -0,29 | -0,42 | -0,46 | 0,13 | 0,09 | -0,71 | -0,03 | -0,22 | -0,08 | 0,62 | 1,00 | 0,78 | 0,51 | 0,26 | 0,63 | -0,44 | -0,02 |
| 2 fenilacetato | -0,16 | -0,10 | 0,11 | 0,32 | -0,46 | 0,47 | -0,14 | 0,00 | -0,49 | 0,39 | 0,44 | 0,03 | -0,25 | -0,57 | 0,37 | 0,24 | -0,41 | -0,02 | -0,27 | -0,16 | 0,74 | 0,78 | 1,00 | -0,18 | 0,28 | 0,79 | -0,16 | 0,26 |
| β damascenona | 0,84 | -0,29 | 0,64 | -0,29 | -0,19 | -0,35 | 0,05 | -0,07 | -0,22 | 0,50 | 0,31 | 0,69 | 0,34 | 0,41 | 0,44 | 0,37 | 0,63 | 0,41 | 0,30 | 0,13 | -0,31 | -0,51 | -0,18 | 1,00 | -0,10 | -0,15 | 0,70 | 0,77 |
| ac hexanoico | -0,14 | 0,26 | -0,03 | -0,20 | 0,29 | 0,16 | 0,26 | 0,04 | 0,09 | -0,53 | -0,26 | -0,34 | 0,15 | 0,25 | -0,38 | 0,35 | -0,39 | 0,27 | -0,03 | -0,89 | 0,59 | 0,26 | 0,28 | -0,10 | 1,00 | -0,12 | -0,49 | -0,32 |
| 2 feniletanol | 0,00 | -0,42 | 0,06 | 0,17 | -0,42 | 0,18 | -0,17 | 0,02 | -0,55 | 0,59 | 0,56 | -0,03 | -0,27 | -0,84 | 0,61 | 0,24 | -0,20 | -0,37 | -0,46 | 0,22 | 0,60 | 0,63 | 0,79 | -0,15 | -0,12 | 1,00 | 0,29 | 0,43 |
| ac 2 etilhexanoico | 0,74 | -0,49 | 0,32 | -0,27 | -0,21 | -0,51 | -0,11 | -0,11 | -0,36 | 0,65 | 0,44 | 0,55 | 0,32 | -0,09 | 0,58 | 0,21 | 0,69 | -0,03 | 0,01 | 0,51 | -0,27 | -0,44 | -0,16 | 0,70 | -0,49 | 0,29 | 1,00 | 0,81 |
| ac octanoico | 0,71 | -0,53 | 0,58 | -0,14 | -0,55 | -0,33 | -0,25 | -0,29 | -0,55 | 0,74 | 0,72 | 0,61 | 0,21 | -0,02 | 0,61 | 0,40 | 0,37 | 0,16 | -0,02 | 0,46 | -0,06 | -0,02 | 0,26 | 0,77 | -0,32 | 0,43 | 0,81 | 1,00 |

2.1. Relaciones entre volátiles y otras variables

A continuación, se discuten las relaciones de mayor interés enológico, es decir, las parejas de variables con coeficientes más altos en valor absoluto.

Se ha encontrado que la acidez volátil obtenida presenta la mayor correlación positiva con ácido 2-etilhexanoico y con el ácido octanoico: $r = 0,74$, $p = 0,0001$, $n = 21$; $r = 0,71$, $p = 0,0005$, $n=21$. Dado que el p-valor es inferior a 0,01 en ambos casos, se considera que la correlación es estadísticamente significativa considerando un nivel de significación del 1%. El umbral de detección del ácido 2-etilhexanoico no se ha encontrado y el del ácido octanoico es de 0,5 mg/L (medido en disolución acuosa). Respecto al primer compuesto no se puede determinar si se encuentra por encima del umbral olfativo porque éste se desconoce. Mientras que del ácido octanoico, sabiendo su umbral olfativo y las concentraciones de los ensayos realizados se determina si se encuentra por encima de este umbral. Las concentraciones de los ensayos varían entre 0,053 mg/L y 0,56 mg/L. Dado que gran parte de las muestras superan el umbral olfativo se puede decir que generalmente queda por encima del umbral olfativo. La correlación observada se debe a que ambos son ácidos que contribuyen a la acidez determinada analíticamente. Además, se ha realizado un análisis de regresión múltiple, se obtiene la siguiente tabla:

Tabla 12. Regresión múltiple para la estimación de la acidez volátil

| Multiple Regression Analysis | | | | | |
|------------------------------------|-------------------|----------|-----------|---------|--|
| Dependent variable: Acidez volátil | | | | | |
| Parameter | Standard Estimate | T Error | Statistic | P-Value | |
| CONSTANT | 0,304971 | 0,101087 | 3,01692 | 0,0074 | |
| ac 2 etilhexanoico | 0,557337 | 0,105116 | 5,30209 | 0,0000 | |
| ac hexanoico | 0,297983 | 0,165738 | 1,79791 | 0,0890 | |

| Analysis of Variance | | | | | |
|----------------------|----------------|---------|-------------|------------|---------|
| Source | Sum of Squares | Df | Mean Square | F-Ratio | P-Value |
| Model | 0,203494 | 2 | 0,101747 | 14,49 | 0,0002 |
| Residual | | 0,12642 | 18 | 0,00702335 | |
| Total (Corr.) | | | 0,329914 | 20 | |

R-squared = 61,6809 percent
 Coeficiente de determinación del modelo

Acidez volátil = 0,305 + 0,557 · ac 2 etilhexanoico + 0,298 · ac hexanoico

Los ácidos que tienen mayor relación según el análisis de regresión múltiple son el ácido 2-etilhexanoico y el ácido hexanoico.

La variable pH se obtiene que tiene correlación negativa con los compuestos volátiles: ácido 2-etilhexanoico ($r = -0,49$, $p = 0,025$, $n=21$), ácido octanoico ($r = -0,53$, $p = 0,017$, $n=21$) y acidez total ($r = -0,65$, $p = 0,0016$, $n=21$). Estos son los ácidos que más afectan al pH, entre los analizados.

Se ha encontrado una correlación muy fuerte entre varios ésteres, los cuales tienen un olor afrutado. El acetato de metilo está correlacionado positivamente con el hexanoato de etilo ($r = 0,81$, $p < 0,0001$, $n=21$), butirato de etilo ($r = 0,65$, $p = 0,0013$, $n=21$) y acetato de isobutilo ($r = 0,64$, $p = 0,0018$, $n=21$). Los ésteres son compuestos muy importantes que participan en el aroma afrutado de los vinos (Etievant, 1991). Cabe esperar que las muestras de vino con mayor concentración de ésteres afrutados deberían haber recibido una mayor puntuación por el panel para el descriptor “olor afrutado”. Sin embargo, no ha sido así.. Esto se debe a que el tamaño de muestras utilizado en el panel es demasiado pequeño para poder obtener este resultado.

Los cuatro ésteres (acetato de metilo, hexanoato de etilo, butirato de etilo y acetato de isobutilo) tienen correlación negativa con la intensidad de color ($r = -0,598$, $p = 0,0042$). Dado que el p-valor es inferior a 0,05 se considera que la correlación es estadísticamente significativa considerando un nivel de significación del 5%.

- Otras correlaciones entre volátiles y otras variables:

Se ha encontrado una fuerte correlación negativa entre la concentración de acetaldehído y de acetato de isobutilo ($r = -0,73$, $p = 0,0003$, $n=21$). Con la información disponible no es posible dar una explicación razonable para esta correlación observada.

El contenido de alcohol isoamílico tiene correlación negativa con otro compuesto, el 2-feniletanol ($r = -0,84$, $p < 0,0001$, $n=21$). El alcohol isoamílico tiene olor a queso mientras que el 2-feniletanol tiene olor floral. No es posible dar una explicación razonable a esta correlación, si bien cabe destacar que los dos alcoholes tienen correlación negativa y es que dependiendo del que se encuentre en mayor concentración, aportará un olor u otro.

Correlación positiva entre la concentración de lactato de etilo y de butirato de etilo ($r = 0,68$, $p = 0,0006$, $n=21$).

Correlación positiva entre ácido isobutírico y octanoato de etilo ($r=0,78$, $p=0,0001$, $n=21$).

Correlación positiva entre la concentración de decanoato de etilo y los compuestos: 2-fenilacetato ($r = 0,74$, $p = 0,0001$, $n=21$), succinato de dietilo ($r = 0,62$, $p = 0,0025$) y acetato de hexilo ($r = 0,49$, $p=0,0234$).

La variable acidez volátil está correlacionada con el contenido de β -damascenona ($r = 0,84$, $p < 0,0001$, $n=21$). Este compuesto juega un papel importante en la percepción de las notas frutales en el vino y la dulzura de los azúcares del vino se ve compensada por la sensación de acidez. A más azúcar, mayor necesidad de acidez.

Correlación negativa entre el ácido hexanoico y el ácido decanoico ($r=-0,89$, $p < 0,0001$, $n=21$).

Correlación positiva entre el 2-feniletanol y 2-fenilacetato ($r=0,79$, $p < 0,0001$, $n=21$). Al tratarse de dos compuestos químicos muy similares, es posible que su síntesis corresponda a una reacción bioquímica parecida, lo cual justificaría su correlación.

Correlación positiva entre el ácido 2-etilhexanoico y ácido octanoico ($r = 0,81$, $p < 0,0001$, $n=21$).

2.2. Relaciones entre parámetros físico-químicos.

Una importante correlación observada es la correspondiente a los parámetros antocianos e intensidad colorante ($r = 0,72$, $p = 0,0002$, $n=21$). Los antocianos son los pigmentos rojos de las uvas y se localizan exclusivamente en la piel de las uvas tintas (Aleixandre *et al.*, 2003). Es por esto que se encargan de aportar la intensidad colorante al vino.

- Otras correlaciones físico-químicas:

Existe correlación positiva entre el grado alcohólico y el contenido de polifenoles ($r = 0,54$, $p=0,011$, $n=21$). También entre el pH y los polifenoles ($r = 0,53$, $p=0,013$, $n=21$). Esta relación no tiene mucho sentido enológico, y no se sabe qué tipo de relación es la que puede haber entre ambas variables, a pesar de que en los análisis estadísticos surja esta correlación.

En el análisis de componentes principales realizado, se ha obtenido el gráfico de *scores* correspondientes a la primera y segunda componentes principales y el gráfico de pesos (*loadings*) correspondiente a la primera y segunda componente principal. Ambos gráficos ponen de manifiesto de una forma visual la estructura de correlación entre las variables.

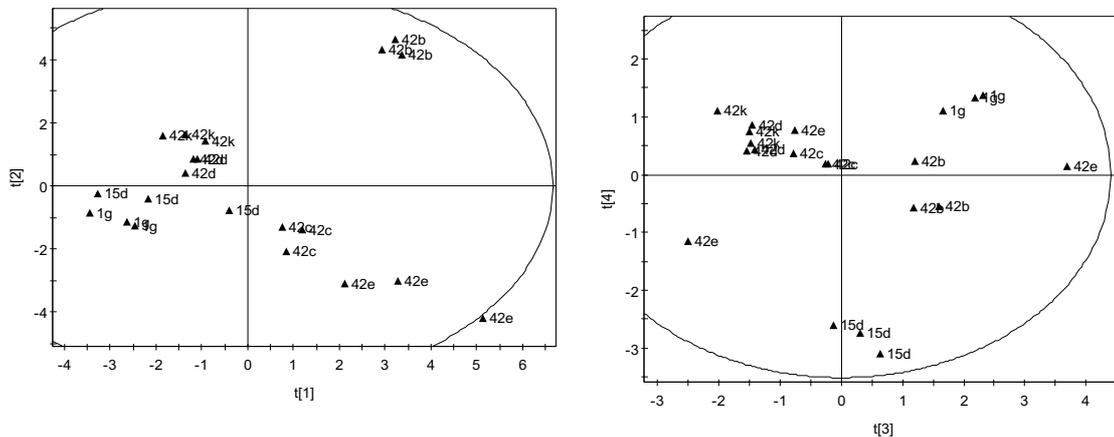


Figura 17. Gráfico de *scores* correspondientes a la primera y segunda/ tercera y cuarta componentes principales

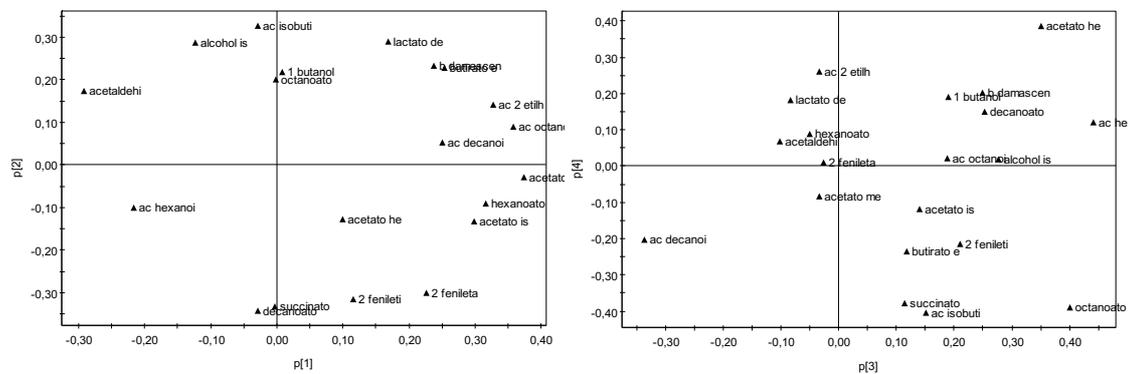


Figura 18. Gráfico de pesos (*loadings*) correspondiente a la primera y segunda/ tercera y cuarta componente principal

En la 1ª componente principal, la gráfica revela que la levadura 42e (*Hanseniaspora opuntiae/uvorum*) es la que da lugar a los vinos con mayor contenido en ésteres, supuestamente más afrutados. A pesar de que el panel no ha sido capaz de detectar este carácter supuestamente más afrutado debido a los compuestos ésteres, que son los componentes más afrutados.

Respecto a la 2ª componente principal, la gráfica indica que la levadura 42b (*Hanseniaspora opuntiae/uvorum*) tiene menor intensidad del aroma que el resto. Tiene un perfil de volátiles muy distinto al resto, lo cual hemos encontrado realizando este análisis de componentes principales.

Respecto a la 4ª componente principal, se obtiene que la levadura 15d (*Hanseniaspora guilliermondii*) da lugar a vinos con un perfil de volátiles ligeramente distinto al resto. Tras realizar algunos análisis, se ha encontrado que el vino obtenido con esta levadura ha sido descrito por el panel como significativamente menos especiado. Sin embargo, no está claro por qué el perfil diferenciado en los volátiles de este vino ha sido descrito como menos especiado. Para ello sería necesario realizar un mayor número de muestras analizadas por el panel.

En la 4ª componente en el análisis de componentes principales, se halla que la levadura 15d (*Hanseniaspora guilliermondii*) es más diferente al resto, ya que tiene mayor concentración de los compuestos succinato de dietilo, ácido isobutírico y octanoato de etilo. Y valores más bajos de acetato de hexilo.

5. CONCLUSIONES

- Es necesario realizar un mayor número de réplicas instrumentales para la determinación del contenido de antocianos, acetaldehído, 1-butanol y ácido hexanoico, para obtener una mayor variabilidad y poder obtener resultados más exactos.
- El número de réplicas instrumentales es insuficiente para determinar respuestas definitivas en determinados compuestos químicos. Excepto en los casos de antocianos, índice colorante, taninos y polifenoles donde el número de réplicas era superior al resto.
- En el estudio de repetibilidad y reproducibilidad de la intensidad colorante se obtiene que la variabilidad de las réplicas es muy baja y por lo tanto los resultados son casi exactos, con lo cual no habría sido necesario realizar réplicas.
- En el estudio de repetibilidad y reproducibilidad de los antocianos se observa una variabilidad elevada para las fermentaciones, podría ser aconsejable en futuros experimentos aumentar el número de fermentaciones de cada levadura para caracterizar mejor la variabilidad responsable de las levaduras.
- El uso del panel sensorial como metodología para la caracterización organoléptica del vino resultó ser una herramienta útil, pero el número de muestras utilizado en el análisis sensorial es demasiado bajo para poder obtener más conclusiones con claridad.
 - El parámetro organoléptico “calidad del aroma” tiene correlación positiva con el compuesto “2-feniletanol”.

- El parámetro organoléptico “especies” tiene una correlación negativa con la intensidad del gusto obtenida sensorialmente
 - Los parámetros organolépticos “calidad del gusto” e “intensidad del gusto” de la ficha de cata están íntimamente relacionados, por lo que se puede considerar la unificación de ambos parámetros.
 - Las correlaciones obtenidas de parámetros físico-químicos estudiados dan lugar a relaciones esperadas y por lo tanto coherentes (por ejemplo, antocianos frente a intensidad colorante, acidez total frente a pH).
 - El parámetro organoléptico “acidez” tiene correlación negativa con el compuesto “hexanoato de etilo”.
 - El parámetro organoléptico “nota floral” tiene correlación negativa con el compuesto “acetato de isobutilo”.
 - El grado alcohólico tiene correlación negativa con el parámetro organoléptico “untuosidad”.
 - Se ha encontrado una correlación positiva muy fuerte entre ésteres, correspondiente con las muestras afrutadas (acetato de metilo, hexanoato de etilo, butirato de etilo y acetato de isobutilo).
 - El parámetro pH tiene correlación negativa con los compuestos ácido 2-etilhexanoico, ácido octanoico y acidez total, lo cual tiene sentido.
- Con el análisis de componentes principales se determinan asociaciones entre levaduras:
 - La levadura 42e es supuestamente la más afrutada en comparación con el resto de levaduras, dado que su contenido en ésteres es superior.
 - La levadura 42b tiene menor intensidad del aroma que el resto de levaduras.
 - La levadura 15d da lugar a vinos mucho menos especiados que el resto de levaduras.
 - La levadura 15d ha dado lugar a una mayor concentración de succinato de dietilo, ácido isobutírico y octanoato de etilo, y menor concentración de acetato de hexilo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aleixandre, J.L., Álvarez, I. y Lizama, V. (2003). *Efecto de la adición de acetaldehído en la composición polifenólica de los vinos de tempranillo procedente de distintos métodos de elaboración*.
- Amerine, M.A. y Ouch, C.S. (1988). *Methods for analysis of musts and wines*. Editado por John Wiley & Sons, New York.
- Blouin, J. (1992). *Tecnicas d'analyses des moûtes et des vins*. Ed. Dujardin Salleron, pp. 199-201.
- Casal del Rey, J. (2005). *Como funcionan nuestros sentidos*. En *Análisis Sensorial y Cata de Vinos de España*. Ed. Agrícola Española. España, pp. 256-309.
- De la Presa-Owens, C. (2004). *Análisis sensorial del vino y sus aplicaciones en la industria vitivinícola*. Actas del III Foro mundial del vino, pp. 48-54.
- De la Riva, J.A. (2011). *Servicio de vinos: Elaboración, cata, conservación y normas generales de servicio*. Ideaspropias Editorial. Vigo, (101-147).
- Etiévant, P.X. (1991). *Wine*. In H. Maarse (Ed.) *Volatile compounds in food and beverages*. New York: Marcel Dekker, pp. 456-483.
- Ferreira V., Cacho J. (2006) *Intensity and persistence profiles of flavor compounds in synthetic solutions. Simple model for explaining the intensity and persistence of their after smell*. Journal of Agricultural and Food Chemistry.
- Francis, L. 2013. *Fermentation-derived aroma compounds and grape-derived monoterpenes*. The Australian Wine Research Institute.
- Glories, Y., (1978). *Recherches sur la matière colorante des vins rouges*. Thèse a L'Université de Bordeaux II.
- Guadalupe, Z., Palacios, A. and Ayestarán, B. (2007). *Maceration enzymes and mannoproteins: a possible strategy to increase colloidal stability and color extraction in red wines*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 4854-4862.
- Hernandez-Orte, P.; Franco, E.; Gonzalez Huerta, C.; Martinez Garcia, J.; Cabellos, M.; Suberbiola, J.; Orriols, I.; Cacho, J. (2014) *Criteria to discriminate between wines aged in oak barrels and macerated with oak fragments*. Food Research International.
- Johnson, H. (2005). *Historia del vino*. Barcelona: Blume, pp. 89-120.

- MAPAMA (2016). *La producción de vino y mosto de la cosecha 2016 y 2017*.
<http://www.mapama.gob.es/es/prensa/noticias/la-producción-de-vino-y-mosto-de-la-cosecha-2016—2017-se-sitúa-en-425-millones-de-hectolitros-/tcm7-444947-16>
- Millan, C. y Ortega, J.M. (1998). *Fermentation of “Pedro Ximenez” grape must by different yeast races: correlation between fermented sugars, acetaldehyde, acetic acid and ethanol yielded*. Belgian Journal of food Chemistry and Biotechnology.
- Moio L., Di Marzio L., Genovese A, Piombino P., Squillante E., Castellano L., Mercurio V. (2002). *Sensory descriptors and volatile components in enhanced olfactory impact of Fiano di Avellino wine aroma*. Vignevini, 29, 115-123.
- Montaner, O. (2004). *La cultura del vino*. Amat Editorial, pp. 56-80.
- OeMv (2016). *Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos; resultados nacionales y autonómicos*. Observatorio Español del Mercado del Vino (OeMv). Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente.
http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/espana2016web_tcm7-452544.pdf
- OIV (2016). *La producción mundial de vino en 2016 se estima en 259 millones de hl*.
<http://www.oiv.int/es/actualidad-de-la-oiv/la-produccion-mundial-de-vino-en-2016-se-estima-en-259-mill-hl>
- OIV (1990). *Recopilación de los métodos internacionales de análisis de vinos*. (OIV-MA-BS-12).
- Ortega C., López R., Cacho J., Ferreira V. (2001) *Fast analysis of important wine volatile compounds: Development and validation of a new method based on gas chromatographic–flame ionisation detection analysis of dichloromethane microextracts*, J. Chromatogr. A p. 205.
- Palacios, A.T., Vila, J., Calderón, F., Callejo, M.J., Colomo, B., Suárez, J.A. (1995). *Fracción aromática de vinos tintos con crianza biológica: II. Aldehídos, ésteres y componentes acetoínicos*. pp. 67-79.
- Plata, C., Millan, C., Mauricio, J. C., Ortega J. M. (2003). *Formation of ethyl acetate and isoamyl acetate by various species of wine yeasts*. Food Microbiology 20(2), 217-224.
- Rapp, A. y Mandery, H. (1986). *Wine aroma*. Experientia, 42, 873-884.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A. (2006). *Biochemistry of alcoholic fermentation and metabolic pathways of wine yeast*. Ed. John Wiley & Sons.
- Riberau-Gayón, P.; Stonestreet, E. (1966). *Analytica Chimica Acta*, 48, 188-196.
- Riberau-Gayón, J; Peynaud, E.; Sudraud, J.; Riberau-Gayón, P., 1979. *Ciencias y técnica del vino. Tome I: Analisis y control de los vinos*. Editorial Interamericana.

- Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977) *Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods*. American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49-55.
- Suárez, J.A. e Íñigo, B. (1992). *Microbiología enológica. Fundamentos de vinificación*. Ediciones Mundi. Madrid, (263-381)
- Suárez Lepe, J.A., Morata, A. (2015). *Levaduras para vinificación en tinto*. AMV Ediciones.
- Vidal, S., Francis, L., Williams, P., Kwiatkowski, M., Gawel, R., Cheynier, V. and Waters, E. (2004). *The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium*. Food Chemistry, 85, 519-525.
- Zambonelli, C. (1998). *Microbiología e biotecnología dei Vini*. Ed. Agricole , Bologna.
- Zamora, F. (2013). *La química del color*. Grupo de investigación en Tecnología Enológica (TECNENOL) Departamento de Bioquímica y Biotecnología Facultad de Enología de Tarragona, Universidad Rovira i Virgili (URV).
- Zamora, F. (2002). *La crianza del vino tinto con lías, una nueva tendencia*. Enólogos, 19, 24-28.