

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA DE
ALIMENTOS

**Desarrollo de Vino espumante de naranja (var. Valencia)
Estudio de su fracción aromática libre y caracterización
sensorial con consumidores.**



TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Ing. Andreina Stéfani Leal

Dirigida por:

Dra. María Isabel Gras Romero

Dr. Eduardo Santiago Dellacassa

Dra. María del Carmen Schwab

Concordia/Valencia, octubre 2015

Agradecimientos

Un trabajo de tesis no es posible sin la ayuda, la comprensión y el cariño de un sin número de personas, que desde su lugar de profesionales, amigos, familiares o simplemente compañeros de la vida, nos acompañan en la difícil pero emocionante tarea de la investigación; por eso quiero agradecer especialmente a mis directores, Eduardo y Marisa por ayudarme desde la distancia, brindándome todo lo que estaba a su alcance para lograr este objetivo. MUCHAS GRACIAS.

A Coca, mi directora y amiga, por compartir sus conocimientos, su experiencia, por aconsejarme y ayudarme siempre. MUCHAS GRACIAS.

A Cristina por la cantidad de horas, de charlas, de mates, de incertidumbres, risas y lindos momentos compartidos para lograr el “Vino espumante de naranja”. GRACIAS CRIS.

A Laurita, Gastón y Eduardo por compartir conmigo “algo” de su inmenso bagaje de conocimientos en relación al fascinante mundo de la enología y el análisis sensorial.

A mis amigos del laboratorio, Mercedes y Petete por las risas y las anécdotas y a Carina y Rodrigo por su buena voluntad y disposición para trabajar.

A la empresa ECA y especialmente a Marcelo Bodean que generosamente nos proveyó de la fruta para poder realizar las experiencias.

A la Facultad de Ciencias de la Alimentación por brindarnos la oportunidad de estudiar y perfeccionarnos cada día.

Pero, quiero dedicar este trabajo, a mi familia; especialmente a mi mamá que todos los días con su accionar me demuestra que no hay edad para seguir logrando cosas,

a mi tía Yeya que es un ejemplo de vida; a mi hermano Renzo y su esposa Victoria; y a mi sobrino Mauro y mi ahijada Luzmila que son mi felicidad.

Y por supuesto gracias a ti, Florencia, por darme el tiempo que necesitaba para hacer la tesis, por tu inmensa generosidad y tu amistad.

Resumen

El desarrollo de productos innovadores, con identidad propia que agreguen valor se ha convertido actualmente en la estrategia de muchas empresas alimentarias para lograr competitividad y permanencia en los mercados cada vez más exigentes y globalizados.

Uno de los principales cultivos de fruta a nivel mundial es el de la naranja; la región de Salto Grande y particularmente Concordia, se destacan por la producción de esta fruta cítrica y el sector es considerado clave para la economía del lugar. Lo que implica que el agregado de valor a través del desarrollo de nuevos productos a partir de esta materia prima, represente un enfoque estratégico necesitado de aportes en investigación y desarrollo.

El producto “Vino espumante de naranja” dentro de este contexto se puede pensar, no solo como una alternativa biotecnológica novedosa sino como una opción para diversificar la oferta de productos derivados de las frutas cítricas, capaz de aumentar las rentas y retenerlas en el ámbito de la economía local.

Esta idea de someter a una segunda fermentación a un vino de naranjas, se sustenta en que el sector de los vinos espumosos es uno de los que más ha crecido en los últimos años y esto se debe principalmente a cambios en los hábitos de consumo por parte de la población.

Hasta el momento no se han encontrado antecedentes científicos en la literatura respecto a la elaboración de este producto en particular; aunque se conoce la existencia de un vino espumoso de naranja comercial desarrollado por una empresa española.

Así el primer objetivo de esta tesis fue desarrollar el producto “Vino espumante de naranja” utilizando jugo de naranja natural de la variedad Valencia Late adaptando el método Champenoise, con énfasis en la etapa de la clarificación, debido a su estrecha relación con las características organolépticas que definen la calidad de este tipo de productos, como son entre otras, el color y el aroma; caracterizando además los principales parámetros enológicos del vino base y los espumantes de naranja.

El segundo objetivo fue conocer la composición de la fracción aromática libre del vino base y los espumantes, e identificar posibles modificaciones

producidas por la segunda fermentación, el tiempo de contacto con las borras y los tratamientos seleccionados para su clarificación.

Para el cumplimiento de este objetivo se utilizaron técnicas de extracción en fase sólida con posterior determinación (identificación y cuantificación) de los compuestos mediante la utilización de la cromatografía gaseosa acoplada a la espectrometría de masa (GC-MS).

Por último, se planteo evaluar la aceptabilidad del producto y caracterizarlo sensorialmente, utilizando métodos basados en la percepción de los consumidores, con el objetivo de encontrar algo más que respuestas de tipo “no sé porque me gusta” o “me gusta porque si” y de esta forma conocer el perfil que tienen los “Vinos espumantes de naranja” a través de los descriptores sensoriales a los que fueran asociados.

Esto permitiría actuar a futuro, de ser necesario, sobre los parámetros tecnológicos en busca del “producto ideal”, ya que el agrado o desagrado y la percepción que tienen los consumidores sobre un determinado producto es un condicionante para su diseño, fabricación y colocación en el mercado.

Atendiendo al diseño propuesto para la obtención de los vinos espumantes de naranja se pudo determinar que los parámetros físico-químicos evaluados presentaron valores dentro de lo establecido para este tipo de productos.

Desde el punto de vista tecnológico, el empleo de menores tiempos de contacto con las borras (6 meses), podría tener ventajas para la obtención de vinos espumantes con menor intensidad de color, ya que a mayor tiempo de contacto (9 meses) los vinos espumantes exhibieron un aumento en el Índice de Amarronado.

En relación al perfil aromático de los espumantes se vio que el mismo se complejiza cuando los espumantes permanecen un mayor tiempo en contacto con las borras de las levaduras (9 meses) y son tratados únicamente con bentonita en el licor de tirage, esto principalmente por aumento en la concentración de algunos compuestos como el lactato de etilo y el succinato de dietilo, compuestos que son considerados marcadores de crianza de los vinos espumantes, que influyen en el perfil aromático y en la textura y densidad, otorgando cuerpo y consistencia a los mismos.

Los ensayos sensoriales utilizados para la caracterización de los “Vinos espumantes de naranja” con consumidores permitieron establecer que un mayor tiempo de contacto con las borras y un agregado de azúcar en el licor de expedición aumenta la aceptabilidad por parte de los mismos, mostrando una tendencia en el gusto.

La aplicación del mapeo proyectivo permitió identificar diferencias y similitudes entre los espumantes y junto con los descriptores obtenidos como respuesta de la Pregunta Abierta, comprender a que se debieron las mismas. El ensayo Check-All-That-Apply (CATA) por su parte complementó la descripción sensorial obtenida de los productos.

A partir de esto podemos decir que es posible desarrollar un vino de tipo espumante usando una materia prima diferente, como es la Naranja de la variedad Valencia Late, adaptando el método Champanoise, obteniendo un producto final de apropiadas características sensoriales y adecuada aceptabilidad por parte del consumidor.

Abstract

New products development, with its own identity and added value, has recently become a strategy in many food industries in order to compete and maintain progressively more globalized and demanding markets.

Orange production is one of the main fruit crops worldwide. It is particularly important in Concordia (Salto Grande region), where it is considered a key resource to regional economy. This implies that the development of value added products from oranges represents a strategic approach and needs further research.

Orange sparkling wine could be both a novel biotechnological alternative and a way to diversify the supply of citrus derived products, thus increasing and maintaining their incomes in local economy.

Secondary fermentation performed to an orange wine is based on the sparkling wine rapidly growing market due to changes in consumer habits.

Even though there is a commercial Spanish sparkling wine made from oranges, no scientific studies have been found in the literature regarding the manufacture of this product.

The first objective of this thesis was to develop an “orange sparkling wine” from Valencia Late orange fresh juice. For this purpose, Champenoise method was adapted. Special emphasis was laid on clarification stage, due to its direct impact on sensory attributes such as colour and aroma. Main enological parameters of base wines and orange sparkling wines were also characterized.

The second objective was to identify the free aromatic composition of both base orange wines and sparkling orange wines, as well as to detect potential modifications derived from secondary fermentation, wine lees contact time and selected treatments for its clarification. Solid phase extraction methods were used, with subsequent compounds determination (identification and quantification) by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

Finally, product acceptability and sensory characterization were assessed by means of consumer perception methodology. The aim was to get consumers answers different than “I don’t know why I like it” or “I like it just because”, in order to determine the orange sparkling wine profile by associated sensory descriptors.

This would eventually allow modifying technological parameters in search of the “ideal product” since consumer perception and satisfaction with a product affect its design, manufacture and marketing process.

The proposed experimental design for orange sparkling wine production showed that values of both physical and chemical parameters were within the expected range for this type of product.

From a technological perspective, a shorter lees contact time (6 months) could have advantages in sparkling wines, such as lower colour intensity than that observed for greater periods (9 months) due to an increase on browning index.

However, it was observed an increase in the aroma complexity when sparkling wines were maintained to longer lees contact time (9 months) and clarified only with bentonite. This is mainly due to an increase in some compounds concentrations, such as ethyl lactate and diethyl succinate. These compounds are considered aging markers and exert influence on aroma profile, wine texture and density, therefore providing them body and consistency.

Sensory assays carried out to characterize orange sparkling wines revealed that a higher lees contact time and sugar addition to expedition liquor increased consumer acceptability, as shown by consumer trends.

Projective mapping allowed similarities and differences identification among sparkling wines. This method, in combination with sensory descriptors obtained from the Open Question, facilitated their understanding. Additionally, CATA (Check-All-That-Apply) assay complemented products sensory description.

It can be concluded that it is possible to develop a sparkling wine from a different raw material, such as Valencia Late oranges, using an adaptation of the Champenoise method, with appropriate sensory attributes and adequate consumer acceptability.

Resum

El desenvolupament de productes innovadors, amb identitat pròpia que afegixin valor s'ha convertit actualment en l'estratègia de moltes empreses alimentàries per aconseguir competitivitat i permanència en els mercats cada vegada més exigents i globalitzats.

Un dels principals cultius de fruita a nivell mundial és el de la taronja; la regió de Salto Grande i Concòrdia particularment, es destaquen per la producció d'aquesta fruita cítrica i el sector és considerat clau per a l'economia regional. El que implica que l'agregat de valor a través del desenvolupament de nous productes a partir d'aquesta matèria prima, representi un enfocament estratègic necessitat d'aportacions en investigació i desenvolupament.

El desenvolupament del "Vi espumós de taronja" dins d'aquest context es pot pensar, no soles com una alternativa biotecnològica innovadora sinó com una opció per diversificar l'oferta de productes derivats de les fruites cítriques, capaç d'augmentar les rentes i retenir-les en l'àmbit de l'economia local.

Aquesta idea al seu torn de sotmetre a una segona fermentació a un vi de taronges, es sustenta en que el sector dels vins espumosos és un dels que més ha crescut en els últims anys i això es deu principalment a canvis en els hàbits de consum per part de la població.

Fins al moment no s'han trobat antecedents científics en la literatura respecte a l'elaboració d'aquest producte en particular; encara que es coneix l'existència d'un vi espumós de taronja comercial desenvolupat per una empresa espanyola.

D'aquesta manera el primer gran objectiu d'aquesta tesi va ser desenvolupar el producte "Vi espumós de taronja" utilitzant suc de taronja natural de la varietat València Late adaptant el mètode Champenoise, amb especial èmfasi en l'etapa de la clarificació, per la seua estreta relació amb les característiques organolèptiques que defineixen la qualitat d'aquest tipus de productes, com són entre altres, el color i l'aroma; caracteritzant ademés els principals paràmetres enològics del vi base i els espumants de taronja.

El segon objectiu va ser conèixer la composició de la fracció aromàtica lliure del vi base i els espumants, e identificar possibles modificacions produïdes per la segona fermentació, el temps de contacte amb les borres i els tractaments

seleccionats per a la seua clarificació; per al compliment d'aquest objectiu es van utilitzar tècniques d'extracció en fase sòlida amb posterior determinació (identificació i quantificació) dels compostos mitjançant la utilització de la cromatografia gasosa acoplada a l'espectrometria de massa (GC-MS).

Finalment, es va plantejar evaluar l'acceptabilitat del producte i caracteritzar-ho sensorialment, utilitzant mètodes basats en la percepció dels consumidors, amb l'objectiu de trobar alguna cosa més que respostes de tipus "no sé perquè m'agrada" o "m'agrada perquè sí" i d'aquesta manera conèixer el perfil que tenen els "Vins espumants de taronja" a través dels descriptors sensorials als que foren associats.

Això permetria actuar a futur, de ser necessari, sobre els paràmetres tecnològics a la recerca del "producte ideal", ja que el grat o desgrat i la percepció que tenen els consumidors sobre un determinat producte és un condicionant per al seu disseny, fabricació i col·locació en el mercat.

Atenent al disseny proposat per a l'obtenció dels vins espumats de taronja es va poder determinar que els paràmetres físico-químics evaluats van presentar valors dins del que s'estableix per a aquest tipus de productes.

Des del punt de vista tecnològic, l'ocupació de menor temps de contacte amb les borres (6 mesos), podria tindre avantatges per a l'obtenció de vins espumosos amb menys intensitat de color, a causa de la ràpida evolució exhibida pels mateixos en un curt període de temps (augment de l'Índex de Amarronado).

No obstant això en relació al perfil aromàtic dels espumants es va vore que el mateix es torna complex quan els espumants permaneixen major temps en contacte amb les borres dels llevats (9 mesos) i són tractats únicament amb bentonita per a la seua clarificació, això principalment per augment en la concentració d'alguns compostos com el lactat d'etil i el succinat de dietil, compostos que són considerats marcadors de cria dels vins espumants, que influeixen en el perfil aromàtic i en la textura i densitat, otorgant cos i consistència als mateixos.

Els assajos sensorials utilitzats per a la caracterització dels "Vins espumants de taronja" en termes de consumidors va permetre establir que un major temps de contacte amb les borres i un agregat de sucre en el licor d'expedició augmenta l'acceptabilitat per part dels mateixos, mostrant una tendència en el gust.

L'aplicació del mapatge projectiu va permetre identificar diferències i similituds entre els espumants i juntament amb els descriptors obtinguts com a resposta de la Pregunta Oberta, comprendre a que es deuen les mateixes. L'assaig Check-All-That-Apply (CATA) per la seua banda va complementar la descripció sensorial obtinguda dels productes.

A partir d'això podem dir que és possible desenvolupar un vi de tipus espumós usant una matèria prima diferent com és la Taronja de la varietat València Late, adaptant el mètode Champenoise; obtenint un producte final de apropiades característiques sensorials i adequada acceptabilitat per part del consumidor.

Índice

CAPITULO I	1
Los vinos espumantes en el contexto internacional y nacional	1
I.1 Leyenda de los vinos espumosos	2
I.2 Métodos de obtención	3
I.3 Análisis del Sector de Vinos Espumosos	5
I.4 Análisis del sector cítrico en Argentina y en la provincia de Entre Ríos.	6
I.5 Importancia del desarrollo de productos con identidad local.	7
CAPITULO II	9
Relación entre la composición del vino y sus atributos sensoriales	9
II.1 Composición química del vino	10
II.2 El sabor del vino	11
II.3 Constituyentes del vino que aportan al aroma.	12
II.4 Interacciones químicas y sensoriales	13
II.4.1 Relación entre los componentes del vino y las propiedades sensoriales de sabor y aroma	13
II.4.2 El balance de los gustos en el Vino Blanco	14
II.4.3 El balance de olores	15
CAPITULO III	17
Vinos de frutas	17
Descripción de la materia prima	17
III.1 Obtención de vinos de frutas. El proceso de Vinificación	18
III.2 Descripción de los frutos cítricos	19
III.2.1 Descripción y estructura del Fruto:	19
III.2.2 Características de las naranjas de la var. Valencia Late	20
CAPITULO IV	21
Justificación	21
Objetivos y Plan de Trabajo	21
IV.1 Justificación	22
IV.2 Objetivos	24
IV.2.1 Objetivos generales	24
IV.2.2 Objetivos específicos	24
IV.3 Plan de trabajo	24
CAPITULO V	26
Desarrollo de Vino espumante de naranja var Valencia Late.	26
V.1 Desarrollo del Vino espumante de naranja var Valencia.	27
V.1.1 Introducción	27
V.1.2 ¿Qué es el vino espumante?	28
V.1.3 Producción de vino espumante por el Método tradicional	29

V.1.4	La matriz jugo de naranja	33
V.1.5	Influencia de los coadyuvantes de tirage y del proceso de clarificación en la obtención de un espumante de calidad.	35
V.1.6	Las levaduras para la segunda fermentación	35
V.1.7	Tratamientos de Estabilización	36
V.1.8	La clarificación	36
V.1.9	Filtración	37
V.1.10	Diseño experimental	38
V.2	Objetivos	38
V.2.1	Objetivos Generales	38
V.2.2	Objetivos específicos:	39
V.3	Materiales y Métodos	39
V.3.1	Descripción del Proceso de Elaboración	40
V.3.1.1	1ª Etapa-Obtención del Vino Base	40
V.3.1.2	2ª Etapa- Obtención del Espumante de Naranja	41
V.3.2	Análisis físico-químicos realizados a la materia prima, vino base y espumantes de naranja	43
V.3.3	Análisis de los datos	46
V.4	Resultados y discusión	47
V.4.1	Caracterización de la materia prima	47
V.4.2	Caracterización físico química del Vino Base	48
V.4.1	Evaluación Sensorial del Vino Base	53
V.4.2	Caracterización físico- química de los Espumantes	55
V.4.3	Influencia del proceso de clarificación en las características de calidad más relevantes en los Espumantes de naranja.	57
V.5	Conclusiones	64
CAPITULO VI		67
Estudio de la fracción aromática libre en los Vinos espumantes de naranja		67
VI.1	Introducción	68
VI.1.1	Extracción en fase sólida	69
VI.1.2	Cartucho ISOLUTE_ ENV+	69
VI.1.3	Compuestos responsables del Aroma en los Vinos Espumantes	71
VI.1.4	Aromas Varietales:	72
VI.1.5	Aromas Pre- fermentativos	74
VI.1.6	Aromas Fermentativos	75
VI.1.7	Aromas terciarios o post-fermentativos	77
VI.2	Objetivos	78
VI.3	Materiales y Métodos	78
VI.3.1	Vinos base y Espumantes utilizados para el análisis	78
VI.3.2	Extracción de los Componentes Volátiles	79
VI.3.3	Análisis estadístico	80
VI.4	Resultados y Discusión	80
VI.4.1	Estudio de los Compuestos Aromáticos libres en el Vino Base	85
VI.4.2	Estudio de los compuestos aromáticos libres en los espumantes. Modificaciones producidas por la segunda fermentación.	88
VI.4.1	Modificaciones producidas por el tratamiento de clarificación y el tiempo de contacto con las borras.	95

VI.4.2	Identificación de compuestos volátiles libres con impacto en el perfil aromático de los espumantes de naranja	97
VI.4.3	Análisis de componentes principales para los compuestos aromáticos libres de los vinos espumantes de naranja	102
VI.5	Conclusiones	105
CAPITULO VII		106
Caracterización sensorial de los Vinos espumantes de naranja. Ensayos con consumidores		
VII.1	Introducción	107
VII.2	Objetivos	112
VII.3	Materiales y Métodos	113
VII.3.1	<i>Primera etapa</i>	113
VII.3.1.1	Estudio con consumidores	113
VII.3.1.2	Condiciones de los ensayos	114
VII.3.1.3	Análisis de Datos	114
VII.3.2	Segunda etapa	115
VII.3.3	Análisis de Datos	116
VII.4	Resultados y Discusión	116
VII.4.1	Ensayo Napping®	116
VII.4.2	Ensayo CATA	120
VII.5	Conclusiones	124
CAPITULO VIII		126
Conclusiones generales		126
BIBLIOGRAFIA		129
ANEXOS		146
Anexo I- Boleta de Evaluación del Vino Base		147
Anexo II- Boleta de Evaluación utilizada para los Ensayos (a) Napping® y (b) CATA		148

Índice de Figuras

Figura II-1 Balance tripartito en vinos blancos (Peynaud modificado, 1996).....	15
Figura V-1 Etapas específicas para la obtención de vinos espumantes.....	32
Figura V-2 Diseño experimental propuesto para la obtención de vino espumante de naranja.....	43
Figura V-3 Cromatograma representativo de los ácidos orgánicos del vino base obtenidos por HPLC.....	51
Figura V-4 Variación en el Índice de Amorronado ($A_{\lambda 420}$) para el Vino base y los Vinos espumantes de naranja.....	52
Figura V-5 Perfil sensorial del Vino Base de la var. Valencia.....	55
Figura V-6 Gráfico de las interacciones para la respuesta (h) tono.....	59
Figura V-7 Gráfico de las interacciones para la respuesta Alcohol.....	60
Figura V-8 Gráfico de los efectos principales para las respuestas (a) Ésteres, (b) Alcoholes, (c) Terpenos, (d) Ácidos.....	63
Figura V-9 Etapas del proceso de obtención de Vino Espumantes de Naranja.....	66
Figura VI-1 Esquema del procedimiento de retención y elución de los distintos compuestos aromáticos del vino para el caso del cartucho ISOLUTE® ENV+. (Adaptado de International Sorbent Technology (2001).....	69
Figura VI-2 Estructura de la fase utilizada en el cartucho ISOLUTE® ENV+ formado por una estructura básica de poliestireno derivatizado.....	70
Figura VI-3 Principales compuestos terpénicos reportados en naranja y vinos de naranja.....	74
Figura VI-4 Perfil gascromatográfico de la fracción libre, extracción con cartucho ISOLUTE _ ENV+, del vino de naranja, obtenido en columna capilar de sílica fundida, fase estacionaria BP 20 (SGE, Australia).....	81
Figura VI-5 Perfil gascromatográfico de la fracción libre, extracción con cartucho ISOLUTE _ ENV+, de un espumante de naranja, obtenido en columna capilar de sílica fundida, fase estacionaria BP 20 (SGE, Australia).....	81
Figura VI-6 Concentración en ($\mu\text{g. L}^{-1}$) de ésteres, alcoholes y ácidos en el vino base y los espumantes estudiados.....	89
Figura VI-7 Reacción de Ehrlich de formación de los alcoholes β -feniletílico y 3-metiltio- 1-propanol a partir de los aminoácidos fenil-alanina y metionina respectivamente.....	91
Figura VI-8 Gráfico de las interacciones para las respuestas (a) succinato de dietilo y (b) malato de dietilo.....	96
Figura VI-9 Gráfico de las interacciones para las respuestas (a) Lactato de etilo y (b) γ -butirolactona.....	96
Figura VI-10 Analisis de PCA para los vinos espumantes de naranja. (a)-Proyección de las muestras en dim.1 y dim2 y cargas factoriales de los compuestos volátiles libres.....	103
Figura VII-1 Valores medios para la aceptabilidad global en las 6 muestras ensayadas.....	117

Figura VII-2 Mapa perceptual del ensayo Napping® y sus correspondientes descriptores para los Vinos espumantes de naranja.	119
Figura VII-3 Valores promedios para la aceptabilidad global en 4 muestras de espumantes tratados con bentonita y con 9 meses de contacto con sus borras....	121
Figura VII-4 Mapa perceptual bidimensional obtenido como respuesta a la pregunta (CATA)	123

Índice de Tablas

Tabla 0-1 Clasificación de los frutos cítricos.....	19
Tabla V-1 Cantidades de materia prima e insumos utilizados para la obtención del vino base y los espumantes.....	39
Tabla V-2 Factores y niveles del diseño experimental propuesto para el desarrollo del producto.....	46
Tabla V-3 Propiedades fisicoquímica del jugo de naranja var Valencia (valores medios y desviación estándar).....	48
Tabla V-4 Parámetros físico-químicos del vino base.....	49
Tabla V-5 Características cromáticas del vino base y los vinos espumantes de naranja.....	54
Tabla V-6 Composición físico-química de los Vino espumantes de naranja (valores medios y desviación estándar).....	56
Tabla V-7 Valores medios y desviación estándar del contenido de proteína en (ppm).....	61
Tabla V-8 Concentración en ($\mu\text{g/L}$) de los principales grupos aromáticos de los Vinos espumantes de Naranja.....	62
Tabla VI-1 Descriptores del aroma y umbral de percepción de los principales terpenos reportados en vinos y otras matrices.....	73
Tabla VI-2 Diseño experimental para el estudio de la fracción volátil libre de los vinos espumantes de naranja.....	78
Tabla VI-3 Listado de los compuestos aromáticos libres identificados en vino de naranja de la variedad Valencia Late.....	83
Tabla VI-4 Compuestos aromáticos en forma libre presentes en el Vino Base var. Valencia valores promedio por duplicado en ($\mu\text{g.L}^{-1}$).....	84
Tabla VI-5 Valores medios y desv. Est para las concentraciones ($\mu\text{g/L}$) de los compuestos volátiles libres identificados en Vinos espumantes de naranja.....	93
Tabla VI-6 Compuestos con significancia estadística (ANOVA multifactorial) para los 3 factores ensayados y sus interacciones.....	95
Tabla VI-7 Descripción aromática de los diferentes compuestos; umbrales de percepción y OAV para el Vino Base y OAV mín y máx para los Espumantes.....	98
Tabla VI-8 Compuestos aromáticos con OVA >1 encontrados en las muestras de Vinos espumantes de naranja.....	101
Tabla VI-9 Porcentaje de impacto de los compuestos aromáticos con OAV>1 en los Vinos espumantes de naranja.....	101
Tabla VI-10 Porcentaje de la varianza explicada como resultado de ensayo PCA para los compuestos de la fracción volátil libre de los vinos espumantes de naranja.....	102
Tabla VII-1 Diseño experimental para los ensayos Napping® y Pregunta Abierta.....	113
Tabla VII-2 Diseño experimental para el ensayo CATA.....	115

Tabla VII-3	Términos utilizados por los consumidores para describir los espumantes antes del mapeo proyectivo y su número de menciones.....	118
Tabla VII-4	Valores propios y porcentaje de la varianza del MFA para el ensayo Napping®.....	119
Tabla VII-5	Resultado del ensayo CATA y frecuencia para cada atributo y muestra evaluada	122
Tabla VII-6	Autovalores y porcentaje de varianza de los tres primeros ejes	122

CAPITULO I

Los vinos espumantes en el contexto internacional y nacional

I.1 Leyenda de los vinos espumosos

En la región de Champagne-Ardenne en Francia y con la intervención de Pierre Pernigón se inicia la historia de la tradicional bebida conocida como Champagne; los mitos y leyendas cuentan que cuando el monje benedictino, luego de haber producido -tal vez involuntariamente- el famoso método champenoise, y habiendo probado la bebida contenida en una de las botellas estacionadas en el sótano, exclamó (llamando a quienes estaban en sus cercanías): *¡Venid pronto, estoy bebiendo las estrellas!*, precisamente aludiendo a las burbujas producidas por la fermentación del vino (Unwin, 1996)

El champagne inmediatamente se puso de moda en la corte francesa; aunque quedaban varios problemas por resolver, como el de las roturas de botellas por el gas; el que se subsanó fijando la proporción de azúcar que se añade a la segunda fermentación o el gran problema que era el de quitar de las botellas los residuos sólidos que enturbian el vino, dificultad que resolvió la viuda de Clicquot perforando unas mesas y poniendo las botellas boca abajo, removiéndolas y haciendo que los posos se depositen en el tapón, sacando después el corcho y poniendo uno nuevo.

Los vinos espumosos son, un universo con leyes propias. Se elaboran actualmente en diferentes países y se definen con términos especiales por cada productor; así en España se conocen como Cava, en Italia se conocen como Spumante y en Sudáfrica como Cap Clasique; Sekt es el vino espumoso típico de Alemania y “Champagne” es una marca protegida legalmente por el Tratado de Madrid (1891) y confirmado en el Tratado de Versalles después de la Primera Guerra Mundial y se refiere únicamente a vino espumoso producido a su región homónima, siendo sus estándares definidos por una Appellation d’Origine Controlée (Martinez Lapuente, 2013; Martinez-Rodriguez, A.J & Pueyo, 2009).

En Argentina, estos vinos se conocen como espumantes o espumosos y están definidos como “el producto obtenido por segunda fermentación en envase cerrado con el agregado o no de sacarosa o mosto concentrado, el cual deben expendirse a una presión no inferior a 4 atm a 20° C” (CAA capítulo XIII Art. 1099).

I.2 Métodos de obtención

Existen una serie de métodos descritos para la obtención de vinos espumosos que se emplean aun en la actualidad en diferentes áreas geográficas, cada uno con sus peculiaridades, ventajas y desventajas.

El **método ancestral** fue probablemente, el primer método desarrollado para la elaboración de vinos espumosos. Comienza con la elaboración del vino base mediante las técnicas clásicas de elaboración de vinos tranquilos a media fermentación. En la segunda fase se transforma este vino base, que todavía contiene azúcar residual, en vino efervescente o espumoso. La fermentación secundaria o toma de espuma se produce en las botellas sin adición de azúcar (sin licor de tiraje o de expedición), y se detiene el proceso simplemente eliminando las levaduras. El sedimento es insignificante en volumen y no hay degüelle.

El **método Champenoise**, clásico o tradicional, es el método de elaboración de espumosos más tradicionalmente conocido; este método será desarrollado en el Capítulo V.

Otro de los métodos es el **Champenoise-milispark**, es un proceso con las mismas fases y condiciones que el método tradicional, pero con variaciones en las operaciones de removido y degüelle. Después de la primera vinificación y otras operaciones tradicionales, el azúcar se introduce en las botellas en sus cantidades correspondientes, pero las levaduras que ocasionan la segunda fermentación en botella van contenidas en el interior de un cartucho que, a la vez, va unido al tapón, donde permanecen durante toda la toma de espuma, ya que el cartucho contiene en su interior una serie de membranas y filtros permeables al vino e impermeables a la salida de las células y sus restos. De esta forma, el vino circula a su través sin enturbiarse. Llegada la operación del degüelle, el tapón saltará con los restos de levaduras en su interior y el vino permanecerá limpio.

El **Método transfer Alemán**; en el que vino base se elabora mediante las técnicas de vinificación en blanco tradicional y la transformación del vino tranquilo en espumoso se hace como en el método tradicional (en las botellas), pero durante un período menor de tiempo (un mínimo de dos meses); no hay operaciones de removido y degüelle, las botellas se vacían por sifonaje directo y el vino se mantiene bajo presión en grandes tanques. Se filtra, también bajo presión,

retornando a los tanques, donde se le añade el licor de expedición, luego es transferido de nuevo a las botellas con su contenido original de gas; en un proceso realizado a contrapresión, las botellas se tapan y anillan inmediatamente.

El **método de la cuba cerrada, granvás, charmat, cuvée close o método continuo**, en el que el vino se deposita en un tanque sellado, donde se mantiene a 20° C de 12 a 16 horas. Seguidamente, se pasa a otro tanque donde se le añade el azúcar y la levadura y se deja fermentar de 10 a 15 días. Después, se traslada el vino a otro tanque, donde se clarifica por refrigeración (2° C) y, finalmente, se filtra a contrapresión y se embotella. Este método se utiliza sobre todo para los vinos espumosos dulces Asti y *proseccos* italianos, en los cuales el método se prolonga más días y el vino elaborado se denomina *charmat lungo*. El charmat, implica unas técnicas de producción más rápidas y económicas que el método tradicional, lo que permite elaborar espumosos de precio inferior, que no son tan valorados como los tradicionales.

Método dioise o asti también denominado rural o *gaillacoise*, cuyo principio básico es el mismo que el ancestral, en este método está prohibido el uso de licor de expedición, ya que son vinos muy ricos en azúcar. El frío y los procesos de filtración son los dos mecanismos usados para controlar la acción de las levaduras. El contenido final de alcohol es de 9,5 % vol. y el azúcar residual de unos 50 g/L.

El **método continuo o ruso**. La elaboración de vinos base se hace siguiendo las técnicas clásicas de vinificación en blanco, rosado o tinto. La fermentación secundaria es un proceso lento y continuo. Después de la adición de azúcares y levaduras, el vino circula por una serie de tanques de fermentación, con anillas o piezas de roble sobre las que se absorben las levaduras y fermentan el azúcar del vino que circula a través de los tanques. En la salida de esta serie de depósitos de fermentación, el vino contiene sólo una pequeña cantidad de levaduras muertas, y ya es efervescente y espumoso, por lo que a la toma de espuma le sigue una fase de enfriamiento y estabilización del CO₂, el embotellado se realiza a contrapresión. (Daban, 2005; J Hidalgo, 2011; Martinez Lapuente, 2013)

I.3 Análisis del Sector de Vinos Espumosos

A nivel mundial la producción de vinos espumosos es baja comparada con la producción de otros vinos; pero por su alto valor agregado el impacto económico es muy importante.

Los consumidores esperan que la calidad sea elevada, con lo que los enólogos deben buscar no solo la mejora continua sino el desarrollo de nuevos productos, por esto, actualmente las nuevas estrategias de marketing de la industria enológica se basan en la diversificación de la producción y en la explotación de las características y particularidades de diferentes variedades de uva (Caliari, Burin, Rosier, & BordignonLuiz, 2014; Pozo-Bayón, Martínez-Rodríguez, Pueyo, & Moreno-Arribas, 2009).

Los datos del Instituto Nacional de Vitivinicultura Argentino para el segmento de estas bebidas indican que en el 2014 se despacharon al mercado interno 21523,16 Hl y se exportaron 1082,82 Hl representando el 2,49 % del total del sector, y refieren una variación porcentual para los vinos espumosos del 17,02% entre relación al año 2013 (Formulario MV-01/C y SIM, 2014).

Este crecimiento es analizado de diferentes formas por las bodegas, que indican que el mercado interno de comercialización de “vinos espumantes” se encontraba poco desarrollado debido a los hábitos de consumo de la población y describen el mercado actual de los espumantes a nivel nacional y mundial y sobre todo los “trends” relacionados a este producto:

El diario Los Andes en el artículo “Crece el consumo de espumantes en el mercado doméstico” resalta que los espumantes se convirtieron en el segmento de vinos que duplicó el consumo”. Moët Hennessy (Chandon) Argentina dice, “Ahora, nuestro principal objetivo es desestacionalizar el consumo”. El Cronista, en su artículo “Espumante, la nueva era” explica que muchos consumidores han adoptado al vino espumoso como aperitivo o compañero ideal en las comidas cotidianas, con el objetivo de encontrar el maridaje más placentero.

Aparecieron nuevas modas y costumbres de consumo, desde la óptica del Centro Argentino de Vinos y Espirituosas (Cave), la aparición de nuevos estilos se debe a que “viejos paradigmas han caído, tanto por parte de los productores como de los consumidores.

En estos últimos años, los espumantes parecen haber dejado un poco la rigidez de tener que ser secos y elaborados solo con las cepas del champagne; la elaboración de espumosos con cepas no convencionales se entiende como "un desprendimiento evolutivo de los gasificados dulces aromáticos, muy presentes en el joven consumidor. Este es un nicho muy fuerte, al que las variedades tradicionales no lograron captar masivamente. La estrategia es presentar un producto con estas características como invitación o antesala a los espumantes tradicionales"(Albim Amalie, 2011).

Otra visión destaca a la Argentina como un país rico en cepas como Torrontés, Chenin, Viognier y Moscatel, que muchos productores aprovechan para elaborar espumantes con marcada identidad local e, inclusive, con azúcar residual. "El azúcar ya no es mala palabra", este tipo de bebidas se complementa con una oferta en la cual se ha logrado bajar la edad en la que el consumidor comienza a beber vinos. Se denomina categoría de iniciación, se ubica a partir de los 20 años y tiene mucha pregnancia, sobre todo, en las mujeres (Joaquín Hidalgo, 2012).

A modo de cierre: "Todo esto muestra una apertura en el gusto, que evidencia un cambio a la hora de pensar en vinos y, principalmente, a la hora de pensar en burbujas. Antes, estos vinos se definían como ideales para las mujeres, pero las fuentes afirman que los hombres los consumen por igual, así que la tendencia ya es conducta"(Fresco, 2012).

I.4 Análisis del sector cítrico en Argentina y en la provincia de Entre Ríos.

Dentro de la estructura productiva de Argentina se identifica al sector cítrico como una de las cadenas de valor con mayor impacto y contribución a la economía nacional y regional.

Argentina es el octavo productor mundial de cítricos y primer productor mundial de limones. Destina 147.000 Há a este cultivo, con una producción total de alrededor de 2.824.147 Tn anuales y genera divisas por 650 millones de dólares. Su principal producción corresponde a limones (47%), seguido por las naranjas (29%), mandarinas (16%) y pomelos (8%). Las provincias del Noroeste Argentino (Tucumán, Salta, Jujuy y Catamarca) producen el 54,21% y las del Noreste

Argentino (Entre Ríos, Corrientes, Misiones y Buenos Aires) el 44,81 %, otros el 0,98% (Federcitrus, 2014). En la región de Salto Grande la producción citrícola es una actividad económica muy relevante el objetivo principal en la provincia de Entre Ríos es la producción de fruta para consumo fresco, el destino a industria es secundario o más bien un subproducto.

El sector industrial cuyo componente fundamental es la producción de jugos concentrados y derivados es complementario a la producción de fruta fresca y habitualmente la fruta procesada en industria no supera el 20 % del total de producción (Vera, L., Diaz Velez, R., Rivanderneira, F., Garran, S. & Garin, 2007).

La región citrícola de Entre Ríos se compone de 14 empaques dedicados a exportación, el 14,5 % del total del país, mientras que hay 368 empaques que destinan su producción al mercado interno. Éstos representan el 78,3 % del total de empaques de mercado interno argentino (Federcitrus, 2011).

I.5 Importancia del desarrollo de productos con identidad local.

Una definición de productos con identidad territorial incluiría a todos aquellos bienes, servicios, información e imágenes propias de un territorio. La identidad es una cualidad que hace que algo sea único, que sea distinto, distinguible y a menudo distinguido en el sentido más amplio de la palabra (Benedetto, 2007).

La identidad es principalmente subjetiva, es una cualidad que hace que a las personas o a los bienes se los reconozcan como particulares y desde esa perspectiva podemos también aportar algo distinto y enriquecer así al conjunto de la sociedad. Promover el desarrollo con identidad local supone entonces favorecer aquello que distingue a un lugar geográfico y le permite competir desde sus ventajas absolutas (únicas) o comparativas (mejores condiciones para entregar el producto o servicio).

Desde esta óptica la necesidad de agregar valor a través del desarrollo de productos novedosos se presentan como mecanismo de aumentar las rentas y de retenerlas en el ámbito de la economía local, donde se encuentra la producción primaria (Wilkinson, 2003).

Los vinos de frutas, en particular los de naranja son conocidos como productos regionales, elaborados de manera artesanal, pero no se han registrado a

nivel industrial nacional productos derivados de la biotransformación de jugo de naranja. En este contexto en la Facultad de Ciencias de la Alimentación se ha desarrollado y caracterizado el llamado “vino de naranja” (Ferreyra, 2006; Schwab, 2006), obtenido por biotransformación de jugo de la misma.

CAPITULO II

Relación entre la composición del vino y sus atributos sensoriales

II.1 Composición química del vino

Desde el punto de vista químico, el vino es una solución hidroalcohólica que contiene varias sustancias que forman el extracto y dan sabor, y otras tantas sustancias volátiles que constituyen el aroma (Jackson, 2008).

Contiene un 75 a 90% de agua y etanol en un rango de 9 a 14%, que puede llegar hasta un 21% (Goldner, 2008; Peynaud, 1996). La función principal de esta mezcla es la de ser el solvente del resto de los componentes (Amerine & Roessler, 1983; Goldner, 2008).

Para muchos consumidores, la graduación alcohólica constituye una expresión importante de la calidad, por lo que la comercialización en muchos casos se hace sobre la base de la graduación por hectolitro. Es innegable que en el vino ciertos caracteres están directamente relacionados con la graduación alcohólica, así los vinos con bajo contenido de alcohol son vinos pequeños, débiles, ligeros, que podrían ser agradables si fuesen armoniosos, pero es muy difícil un buen equilibrio cuando el grado alcohólico es bajo, por el contrario los vinos con un grado alcohólico elevado son “vinosos”, la vinosidad de un vino no aparece por debajo de los 11,5% vol. El alcohol proporciona nervio a un vino con una acidez suficiente. Un grado alcohólico elevado le confiere “calor”, término que recuerda bien la causticidad del alcohol (Ribéreau-Gayón, P., Glories, Y., Maujean, A., 2003)

Por otra parte, en el vino, no solamente el etanol está presente, sino que también existen otros alcoholes provenientes del mosto y como producto de varios mecanismos de fermentación. Los alcoholes superiores de origen fermentativo están presentes en los vinos en dosis globales de 150-550 mg.L⁻¹ (Ribéreau-Gayón *et al.*, 1982; 2003).

Los principales alcoholes superiores de origen fermentativo, constituyentes de los alcoholes de Fusel, son el alcohol isobutilico (2-metil-1-propanol) y los alcoholes amílicos (mezcla de 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol) en niveles bajos dan la complejidad deseada al aroma, pero en concentraciones mayores de 300 mg/L imparten una cualidad negativa (Amerine & Roessler, 1983; Goldner, 2008).

El glicerol es el tercer compuesto más abundante después del agua y el etanol, las levaduras lo utilizan como fuente de carbono y su concentración

disminuye con el tiempo (Peinado, R., Moreno, J., Medina, M., García, 2001) es el primero de los productos secundarios de la fermentación alcohólica, su tenor en los vinos es de 5 g.L⁻¹ pero puede alcanzar en función de las condiciones de fermentación (en particular del sulfatado de los mostos) valores de 15-20 g.L⁻¹ (Ribéreau-Gayón *et al.*, 2003); el 2,3-butanodiol es otro producto de la fermentación alcohólica, tiene poco olor y un gusto a la vez ligeramente azucarado y amargo, no se le atribuye un rol organoléptico muy importante en el vino.

También están presentes 2- feniletanol (25-105 mg/l), alcohol bencílico (0,05-2 mg/l), y 2,3-butandiol (165-1250 mg/l); y trazas de algunos alcoholes terpénicos como linalol, geraniol, nerol, alfa-terpineol, hotrienol. El contenido de glicerol varía de 0,2 a 2,0%, el de sorbitol de 5-394 mg/l y el de manitol entre 84 y 1510 mg/l (Amerine & Roessler, 1983; Goldner, 2008)

II.2 El sabor del vino

El aroma y el sabor de un vino dependen de su composición química: azúcares, ácidos, sales, compuestos fenolicos, sustancias volátiles aromáticas y entre otros muchos; cada uno de estos componentes tiene un sabor y aroma propio que comunica al conjunto. Pero estos gustos, estos olores interfieren los unos sobre los otros, superponiéndose o compenetrándose, por lo que el atractivo de un vino no está ligado a una única sustancia sino a la relación armoniosa de su constitución (Carrau, F., Boido, E., Gaggero, C., Medina, K., Fariña, L., Disegna, E., Dellacassa, 2011)

Las sustancias que hacen que un vino se perciba dulce son también fuente de suavidad y untuosidad: son los azúcares propiamente dichos, que provienen de la uva y quedan como remanente de la fermentación, y sustancias con uno o más grupos alcohólicos que se forman durante el mencionado proceso (Peynaud, 1996). La elevada concentración de glicerol hace suponer que el mismo interviene en la degustación de los vinos mediante esas sensaciones, posee un sabor azucarado que se agrega al del alcohol etílico en el caso de los vinos secos, pero probablemente no interviene en la suavidad de los vinos dulces (Grainger, 2009).

El gusto ácido del vino se debe a los ácidos orgánicos que se hallan en estado libre –parte mayoritaria- o como sales. Se considera que los principales ácidos responsable del gusto ácido son seis: tres provienen de la uva y tienen un gusto ácido puro –ácidos tartárico, málico y cítrico- y los otros tres –ácidos succínico, láctico y acético- se forman durante la fermentación o por la acción de bacterias y tienen un gusto más complejo (Goldner, 2008; Peynaud, 1996).

Los compuestos fenolicos son las sustancias amargas del vino; todos los polifenoles tienen gusto amargo; el amargor está acompañado de la astringencia, sensación táctil de aspereza y rugosidad (Peynaud, 1996)

Finalmente, hay otros componentes del vino que no aportan gusto: sustancias nitrogenadas, polisacáridos, pectinas, gomas, etc. La fase coloidal del vino generalmente no posee un rol en el gusto (Grainger, 2009)

II.3 Constituyentes del vino que aportan al aroma.

El perfil químico de un vino proviene, de la uva, de la microflora de fermentación (particularmente de la levadura *Sacharomyces cerevisiae*), de las fermentaciones microbianas secundarias que pueden ocurrir, del añejamiento y de las condiciones de almacenamiento (Styger, Prior, & Bauer, 2011).

De acuerdo al origen de las sustancias químicas, el aroma del vino se puede clasificar en: varietal, pre-fermentativo, fermentativo y post-fermentativo.

El aroma varietal está formado por las sustancias aportadas por la uva, influidas por la variedad, el suelo, el clima y no son fermentados por las levaduras, (Goldner, 2008), en términos del vino son usualmente agrupadas bajo el concepto del “terroir”. Sólo son unos pocos compuestos aromáticos que están directamente relacionados al flavor y aroma varietal, dentro de este grupo están los C₁₃-norisoprenoides, metoxipirazinas, tioles y terpenos (Styger et al., 2011).

El aroma pre-fermentativo lo forman compuestos originados por fenómenos bioquímicos de hidrólisis y oxidación durante la extracción y maceración (generalmente aldehídos y alcoholes C₆) (Peynaud, 1996) y el aroma fermentativo lo constituyen la mayoría de los compuestos aromáticos que se encuentran en el vino (Mamade, M.E.O., Cardello, H, Pastore, 2005). La microflora y en particular, la levadura responsable por la fermentación, contribuye al aroma del vino por medio de diferentes mecanismos: primero mediante la utilización de los

constituyentes del jugo de uva para la biotransformación de los mismos en componentes impacto del aroma o flavor, segundo en la producción de enzimas que transforman compuestos neutros de la uva en componentes activos del flavor, para finalmente una nueva síntesis de metabolitos activos del flavor: primarios (ej: etanol, glicerol, ácido acético, acetaldehído) y secundarios (ej: ésteres, alcoholes superiores, ácidos grasos) (Styger et al., 2011).

Por último, en el aroma post-fermentativo están incluidas sustancias químicas formadas durante la conservación y añejamiento a través de reacciones químicas y/o enzimáticas; esta es la etapa donde el estacionamiento en barricas de roble aporta sustancias aromáticas importantes, por ejemplo: aldehídos y derivados, fenoles, lactonas (M.J. Herderich, T.E. Siebert, M. Parker, Y. Hayasaka, C. Curtin, 2012)

Sin la producción de estas sustancias el vino podría tener poco interés organoléptico.

II.4 Interacciones químicas y sensoriales

II.4.1 Relación entre los componentes del vino y las propiedades sensoriales de sabor y aroma

Como se describió anteriormente, el vino contiene ácidos no volátiles, azúcares, sales y sustancias fenolicas, todos ellos con su propio gusto. Estos gustos se suman, resaltan o, alternativamente se oponen y neutralizan entre si. Por otro lado, también tiene sustancias volátiles, ácidos, ésteres, aldehídos, hidrocarburos, terpenos, etc. que tienen aroma de variada intensidad, que pueden tener efecto supresor, de enmascaramiento o potenciador de otros gustos o aromas (Goldner, 2008)

Esquemáticamente se podría dividir a los componentes del vino en sustancias que estimulan los receptores de la boca y le dan sabor y en sustancias que estimulan los receptores olfativos y le dan aroma. Sin embargo, estas sensaciones no se perciben por separado, están muy intrincadas.

El gusto es base del aroma, y el aroma refuerza al gusto. Este es el primer tipo de balance en el vino. La palabra balance se utiliza para indicar cantidades adecuadas de elementos, para dar armonía en el vino. Armonía se define como la

coherencia entre las partes de un todo. En este caso se refiere a que ningún gusto domina a otro. Por ejemplo: una inadecuada acidez en un vino blanco destruye la frescura y el aroma; demasiado azúcar sin sabor frutal, hace a un vino dulce pero pobre en sabor; un exceso de taninos en el vino tinto enmascara lo frutal (Peynaud, 1996).

II.4.2 El balance de los gustos en el Vino Blanco

Como contiene muy pocos taninos, el balance en el vino blanco está dado por la relación acidez/dulzor (Peynaud, 1996) dulzor \longleftrightarrow acidez

En el caso de vinos secos, solo el alcohol; y en el caso de vinos dulces y semidulces, el alcohol y el azúcar residual son los elementos dulces que contribuyen a contrarrestar la acidez: dulzor (alcohol + azúcar) \longleftrightarrow acidez

Este último balance indica que cuanto más rico es en azúcar, más alcohol necesita el vino para contrarrestar la acidez y ser armonioso. El dulzor de los azúcares necesita ser compensado por el calor del alcohol. El alcohol no tiene un efecto neutralizador sobre la acidez. Los tres factores –grado alcohólico, dulzor, acidez- están relacionados en un balance tripartito (Figura II-1). Una inadecuada acidez o un exceso de dulzor hace que el vino se perciba flojo, como un jarabe y con poco estructura. El aspecto aromático del vino también está relacionado puesto que un soporte estructural (alcohol/dulzor/acidez) armonioso se complementa con un aroma armonioso. Por ejemplo: un defecto en el balance puede ser enmascarado por un aroma fino e intenso; por otro lado, los defectos en la estructura se notan más cuando el aroma es pobre.

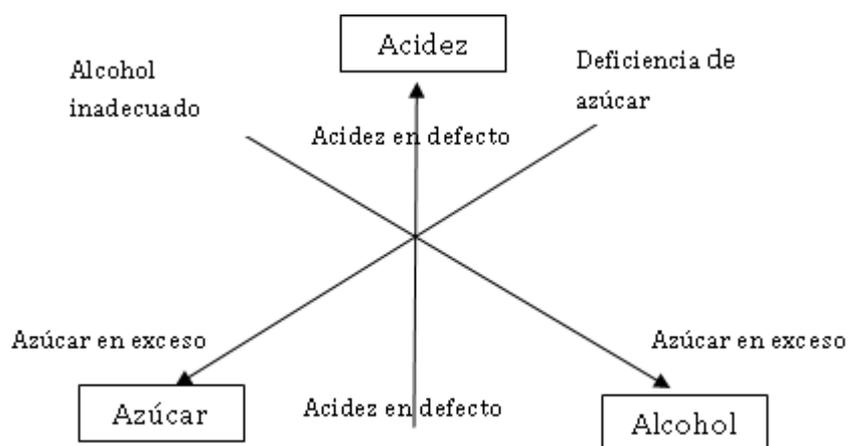


Figura II-1 Balance tripartito en vinos blancos (Peynaud modificado, 1996).

II.4.3 El balance de olores

En el aroma del vino joven o en su *bouquet*, cuando es añejado, existe siempre una nota sensorial dominante, pero la mezcla de olores balanceada resulta en una sensación aromática diferente, producto de la interacción entre los mismos.

La ley que gobierna este balance aún no ha sido completamente definida. En una mezcla de olores algunos pueden ser detectados, otros se pierden en la mezcla y no se detectan, otros se enmascaran entre sí transformándose en inidentificables o su efecto no supera el umbral de detección (Peynaud, 1996).

La mezcla de olores constituye un sistema complejo en el que cada sustancia contribuye a formar un aroma particular. Sin embargo, se puede describir algunas reglas empíricas: las intensidades de olores individuales que se combinan resultan en un aroma más intenso (efecto aditivo). También puede darse un efecto sinérgico: la mezcla de olores tiene un umbral de detección más bajo que la suma de los individuales. Otra regla se refiere a la identificación y combinación de olores: cuando olores similares en carácter pero diferentes en intensidad se mezclan, pueden detectarse por separado, de acuerdo a cual se enfoca la atención.

Hay otras sustancias odorantes que se enmascaran o neutralizan: un olor a igual o mayor concentración que otro puede borrarlo y no ser percibido si el primero es más fuerte (Peynaud, 1996).

Además, las sustancias fijas que constituyen el extracto del vino, también afectan la intensidad del aroma. El alcohol, puede tener un efecto supresor o

intensificador de aromas. De esto también deriva un tipo de balance entre los aromas frutales y los aromas derivados de la uva, del pasaje por madera y de los taninos debido a los fenoles: los taninos enmascarar los aromas frutales; y puede haber, entonces, vinos con un aroma particular de la variedad, vinos con excesivo aroma fenólico, vinos balanceados con taninos suficientes para ser guardados que a la vez retienen la frescura del aroma primario ([Peynaud, 1996](#); [Goldner, 2008](#)).

CAPITULO III

Vinos de frutas

Descripción de la materia prima

III.1 Obtención de vinos de frutas. El proceso de Vinificación

En esencia, las bebidas alcohólicas son soluciones aromatizadas de etanol, derivadas de numerosos sustratos, que pueden ser cereales, uvas u otras frutas, o carbohidratos en general (Lee, H.S. and Castell, 2001). La mayor parte del vino se elabora a partir de uvas y a menos que se especifique otra fuente, la palabra **vino** se refiere al producto que resulta de la fermentación del jugo de uva (Brown, C.M., Campbell, I. and Priest, 1989); a las bebidas procedentes de otras frutas se las denomina con la palabra vino seguida del nombre de la fruta, por ejemplo, vino de manzana, de naranja, de maracuyá, etc (López C., G. Ramírez, A. Mejía, 2002).

La CEE define los vinos de frutas de la siguiente manera:

“Vino de fruta: bebida alcohólica obtenida por la fermentación parcial o completa de jugos de frutas frescos, jugo concentrado o reconstituido; o macerado de pulpa con la adición de agua, azúcar o miel. Finalizada la fermentación se puede adicionar jugo fresco, concentrado o reconstituido”.

“Los vinos de frutas tendrán una concentración alcohólica comprendida entre 8 y 14 % (gramos / 100 mL). Pueden ser sin carbonatar o carbonatados por la inyección de CO₂ o por fermentación secundaria.” (Jarvis, 1996).

En cuanto al proceso de elaboración de estos vinos y del de naranja en particular muchos trabajos han sido reportados en los últimos años (Corazza M.L., Rodrigues D.G.& Nozaki, 2001; Fan et al., 2009; Ferreyra, 2006; Schwab, 2006; Selli, Cabaroglu, & Canbas, 2004; Stefani et al., 2014). Todos estos trabajos apuntan al desarrollo, mejoramiento y caracterización del producto a través del proceso biotecnológico, el análisis instrumental y sensorial del mismo; así como también se ha dedicado mucho interés al proceso de clarificación y su relación con la fracción aromática del vino.

En general el vino de naranja involucra las siguientes etapas para su obtención: extracción del jugo, preparación del mosto, fermentación alcohólica, trasiego, clarificación y conservación (Corazza M.L., Rodrigues D.G.& Nozaki, 2001).

III.2 Descripción de los frutos cítricos

Los frutos cítricos, entre los que se destaca la naranja, se incluyen dentro de la clasificación botánica de las Rutáceas, subfamilia Aurantioideas, en la que se incluye el género *Citrus* del que se deriva su nombre genérico y cuyas especies más importantes se especifican en la Tabla III-1 (Ladaniya, 2008)

Tabla 0-1 Clasificación de los frutos cítricos.

NARANJAS	Naranja Dulce Naranja Amarga	<i>Citrus sinensis L</i> <i>Citrus aurantium L</i>
MANDARINAS	Mandarina Clementina Satsuma Tangerina	<i>Citrus reticulata</i> <i>Citrus reticulata</i> <i>Citrus unshiu</i> <i>Citrus deliciosa</i>
POMELOS	Pomelo Toronja	<i>Citrus grandis</i> <i>Citrus paradisi</i>
LIMONES	Limón Lima Cidra	<i>Citrus limonum</i> <i>Citrus aurantifolia</i> <i>Citrus medica L.</i>
OTROS CITRICOS	Fortunela Kumcuat	ó <i>Fortunella japonica</i>

III.2.1 Descripción y estructura del Fruto:



El fruto de los cítricos recibe el nombre de hesperidio. Es una baya policarpelar, formada por tres secciones: Cáscara o corteza: a) Epicarpio, denominado también flavedo, es la epidermis externa y coloreada del fruto. Aquí se ubican pigmentos y glándulas de aceites esenciales. b) Mesocarpio, parenquimático, de constitución esponjosa, denominado también albedo por ser blanco, y que está íntimamente unido al flavedo. Endocarpio: de consistencia membranosa, constituye toda la masa de pulpa carnosa comestible. En ella encontramos distintas porciones o mericarpios llamados comúnmente “gajos”. Cada gajo corresponde a un carpelo y está rodeado por una membrana carpelar. En su interior encontramos las vesículas formadas por células de paredes finas, llenas de jugo, y las semillas(Ortiz, 2002).

III.2.2 Características de las naranjas de la var. Valencia Late

Su origen no es bien conocido, se cree que proviene de Portugal donde apareció hace mucho tiempo. Primeramente recibió el nombre de Excelsior, Rivers Late, Hart Late o Hart's Tardifs hasta que en 1987 se le dio el nombre de Valencia Late. (Ladaniya, 2008)

Son naranjas muy jugosas y dulces, con un grado más de acidez que la Navel lane late. Su tamaño es un poco menor que el de éstas, es decir, son de tamaño mediano y de forma redondeada. Su corteza es muy anaranjada y, aunque fina, a veces algo rugosa. La pulpa tiene buen y agradable color, con un alto contenido en zumo de atractivo color y sabor, en ocasiones ligeramente más ácido que otras variedades de naranja. Suele ser una naranja más orientada al jugo, ya que la piel que envuelve los gajos es muy dura, pero puede servir también para mesa. Su contenido en semillas es prácticamente nulo, pues suele presentar de dos a cuatro semillas como máximo (Ladaniya, 2008).

Las naranjas Valencia Late son una de las variedades más importantes a nivel mundial, cuya principal característica es su elevada cantidad de jugo (Ladaniya, 2008), datos reportados por Schvab, (2006) muestran rendimientos en jugo superiores al 50% a lo largo de 12 semanas de monitoreo, los valores medios de sus principales parámetros analizados en el jugo fresco natural en ese mismo período de tiempo por este autor reportan un pH de $3,40 \pm 0,18$; sólidos solubles $10,39 \pm 0,44$; acidez total (% ácido cítrico anhidro) $1,028 \pm 0,026$; azúcares reductores directos (g/100 ml jugo) $3,84 \pm 0,35$; ácido ascórbico (mg/100 ml jugo) $112,94 \pm 1,32$.

Según (Lombard, 1999) el jugo de naranjas presenta características sávido - aromáticas agradables cuando la acidez alcanza valores del 1% y el pH 3.5, comparando con esto y lo reportado por Schvab, 2006 se puede ver el gran potencial de esta variedad.

CAPITULO IV

Justificación

Objetivos y Plan de Trabajo

IV.1 Justificación

Desde hace algunos años la actividad citrícola Argentina viene asistiendo a una baja en las exportaciones; en el año 2013 las mismas fueron inferiores a las del 2012 y estas a las del 2011, esto sumado a factores climáticos adversos y a los imperantes aumentos en dólares de insumos y servicios con fuerte efecto en la mano de obra han afectado negativamente a la competitividad del sector. A su vez se le han venido presentando nuevas barreras al comercio, algunas de ellas como efecto colateral de la política internacional a nivel país; tendencia que se viene repitiendo en los últimos seis años ([Federcitrus, 2014](#)).

Este contexto, reafirma la necesidad de desarrollo de nuevos productos, ya que actualmente, no hay respuestas en el sector citrícola para la industrialización de los excedentes de la producción, que no sean la transformación de la fruta en jugo y sus subproductos o la elaboración de mermeladas o vinos a nivel artesanal.

En el año 2008 desde el Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Facultad de Ciencias de la Alimentación se genero un proyecto PICTO-UNER que estudio la factibilidad técnica y económica para la elaboración de bebidas alcohólicas por biotransformación del jugo de naranjas; el mismo planteaba la posibilidad de comenzar con el desarrollo de un producto innovador: “Vino espumante de naranja” que oficie como una alternativa tecnológica novedosa, ya que actualmente este tipo de bebidas encuadran bien dentro de las preferencias de los consumidores. Este proyecto además se presentó como una continuación a la línea de trabajo de este departamento en el que se han desarrollado dos tesis doctorales relacionadas a la obtención de “Vino de Naranja” y proyectos de investigación relacionados a la obtención de “Vinagre de jugo de Naranja”, en todos estos casos la materia prima seleccionada fue la naranja de la variedad Washington Navel, sin embargo para la obtención del Espumante de Naranja se propone investigar otra variedad, la Valencia Late, dada las características sávido-aromáticas de la misma.

Esta propuesta se basó en los resultados de estudios previos hechos para la selección de la materia prima, donde se realizaron ensayos de vinificación utilizando las dos variedades: W. Navel y Valencia Late y se caracterizaron ambos

vinos; resultando más apropiado para una segunda fermentación por sus características enológicas y sensoriales el “Vino base de la var. Valencia”.

Si bien este vino base var. Valencia presentó parámetros enológicos adecuados para una segunda fermentación ($12,80 \pm 0,57^{\circ}\text{GL}$; pH:3,44; azúcares totales (%): $1,10 \pm 0,14$; azúcares reductores(%): $0,91 \pm 0,12$), como resultado de la evaluación sensorial se vio que la turbidez exhibida por el vino influyó en el atributo “aspecto” dada su baja valoración por parte de los panelistas en la evaluación sensorial; a su vez el análisis fisicoquímico realizado no detectó la presencia de pectinas solubles, por lo que esta turbidez se atribuyó probablemente a pectinas insolubles (Stefani, A., Cayetano Arteaga, M.C., Ferreyra, María M., Schwab, M., Soldá, C., Tonello, 2009).

Esta situación de falta de clarificación natural y espontánea del vino base hizo pensar en la necesidad de mejorar esta característica de calidad antes de someterlo a una segunda fermentación, por lo que se comenzó con ensayos de clarificación al vino base de naranja, donde se probaron los siguientes agentes clarificantes: bentonita, gelatina y caseína, cada uno a tres concentraciones; la primera, la recomendada para vino blanco, otra 50% más concentrada y otra 50% más diluida, concluyendo que la bentonita y la caseína clarifican en forma similar (Tonello, J., Soldá, C., Ferreyra, 2009).

Según los trabajos de (Puig-Deu, M., Lóez-Tamames, S. Buxaderas, M.C., 1999; Vanrell, Guillem., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J.M, Zamora, 2007), la decisión sobre la metodología de clarificación es muy importantes, ya que esta puede afectar los aromas, la untuosidad y la calidad de la espuma en los vinos espumantes.

Por lo expuesto anteriormente en la presente tesis se plantea desarrollar el producto “Vino espumante de naranja” ajustando algunas variables del proceso de vinificación, no analizadas todavía, sobre la base de condiciones previamente estudiadas y fijadas para el vino de naranja, a los efectos de obtener una mayor calidad del producto, estudiar además la etapa de clarificación y su efecto sobre la calidad global del mismo haciendo énfasis en los atributos sensoriales y en la composición química volátil de los espumantes, también se buscara su caracterización atendiendo los diferentes conceptos de calidad requeridos para este tipo de productos.

IV.2 Objetivos

IV.2.1 Objetivos generales

Desarrollar el producto "Vino espumante de naranja" adaptando el método tradicional (*Champanoise*).

Definir el perfil químico y sensorial del mismo en función de los diferentes tratamientos aplicados para su obtención.

IV.2.2 Objetivos específicos

1. Estudiar las características fisicoquímicas y composición volátil del vino base y los vinos espumantes de naranja.

2. Estudiar la influencia del proceso de clarificación sobre el perfil sensorial, fisicoquímico y volátil de los espumantes.

3. Seleccionar los métodos analíticos para el estudio de la fracción aromática del vino y los espumantes de naranja (condiciones de extracción, aplicación de técnicas selectivas (GC-MS)).

4. Estudiar las posibles correlaciones entre las características físico-químicas y las características sensoriales del espumante.

IV.3 Plan de trabajo

A los efectos de alcanzar los objetivos propuestos y lograr caracterizar el nuevo producto: "espumante de naranja" se seguirá el siguiente plan de trabajo:

1. Relevamiento bibliográfico a modo de conocer el estado de avance científico en el tema de investigación, así como las tendencias a futuro en el mismo, enfatizando especialmente en publicaciones específicas.

2. Desarrollo del producto:

2.1 Selección de la materia prima a utilizar, esto es la variedad de naranja más adecuada en función de las características fisicoquímicas y sensoriales del jugo de las mismas.

2.2 Caracterización del jugo de la variedad de naranja seleccionada según parámetros físicos y químicos.

2.3 Seguimiento del proceso de primera y segunda fermentación, con especial énfasis en la etapa de clarificación espontánea y natural al final del segundo trasiego (obtención del vino joven), con aplicación de diferentes métodos de clarificación y su efecto sobre los parámetros de calidad.

2.4 Una vez obtenido el “vino joven” se efectuarán las determinaciones físico-químicas y sensoriales correspondientes.

2.5 Estudio de la influencia de las variables de proceso.

Los resultados se tratarán estadísticamente mediante un diseño experimental que permitirá evaluar las condiciones de proceso y definir las características de calidad del producto.

Las metodologías empleadas para cada una de las actividades planteadas en el plan de trabajo serán desarrolladas en los capítulos correspondientes.

CAPITULO V

Desarrollo de Vino espumante de naranja var Valencia Late.

V.1 Desarrollo del Vino espumante de naranja var Valencia.

V.1.1 Introducción

Como se ha mencionado antes, en los últimos años se ha dado un énfasis muy especial al diseño de productos en general y de alimentos muy en particular; innovar y diseñar productos con características que lo hagan atractivo al consumidor como es el caso de los "*specialities*" (productos diferenciados de alto valor unitario, elaborados con técnicas apropiadas), es la premisa para lograr competitividad, al ofrecer en el mercado un producto casi único con el máximo nivel de calidad (Tito, G., & Cattaneo, 2000). Howley, M. and Young, (1992), expresaban que es una tendencia mundial que el mercado acepte con agrado bebidas alcohólicas obtenidas a partir de materias primas novedosas.

En la actualidad en USA, Canadá y Latinoamérica existen registros de numerosas frutas empleadas para vinificar, incluyendo en muchas de ellas especies exóticas. Si bien no todos estos vinos son comerciales, muchos apuntan a proyectos de construcción social de productos típicos con agricultores familiares; este es el caso del fermentado de ciruela de Berisso o "vino de Ciruela" como lo denominan los viñateros de esa provincia de Buenos Aires (Velarde, 2012) o el caso de la Aloja, bebida de algarrobo típica de la región del NOA (Noroeste Argentino), o los vinos de mandarinas elaborados por oriundos de San Juan, La Rioja y Mendoza. En Brasil la utilización del cacao, cupuassu, gabioba, jaboticaba, ombú (Duarte et al., 2010) y actualmente del mirtilo, fruta que forma parte del grupo de las berries como la mora, la frambuesa y el arándano (Fachinelo, 2008). En España el BURNAJ un vino espumoso cuyo nombre de fantasía tiene origen en la abreviación de las palabras burbujas de naranja; se obtiene por doble fermentación de zumo 100% natural de naranjas y se elabora según el "Método Tradicional" o "Método Champenoise", ("Burnaj-Espumoso de Naranja," 2012).

En Argentina, actualmente, se encuentra disponible en el mercado el MOSSBERRIES un "burbujeante" de arándanos como lo denomina la empresa que lo desarrolló y también es obtenido mediante la adaptación del método Champenoise.

V.1.2 ¿Qué es el vino espumante?

Podemos definir a los espumantes como un tipo de vino que requiere un método especial de producción, para dar por resultado un producto de alto valor agregado, altamente estimado en todo el mundo (Martinez-Rodriguez, A.J & Pueyo, 2009). Si bien existen diferentes métodos de elaboración de este producto, la obtención de Champagne por el “méthode traditionnelle” consiste en dos etapas realizadas principalmente por las levaduras e implica la transformación de los azúcares en alcohol y CO₂, esto es, una primera fermentación alcohólica (de uva mosto a vino base) y una segunda fermentación alcohólica en botella o “prise de mousse” del vino base a Champagne (Cilindre, Liger-Belair, Villaume, Jeandet, & Marchal, 2010)

En el caso del Cava, que es el vino espumoso obtenido en una región determinada de España (98% en Cataluña) y que se obtiene mediante la aplicación de la metodología tradicional de la champaña, la calidad final del mismo está íntimamente relacionada a la calidad del vino base (Bosch-Fusté, J., Riu-Aumatell, M., Guadayol, J.M., Caixach, J., López-Tamames, E., Buxaderas, 2007); en el caso de estos vinos la elaboración del vino base es muy esmerada, y se realiza de la misma forma que cuando se quiere conseguir un vino blanco afrutado de calidad. Al contrario que en la Champaña, el vino base de los Cavas podría ser consumido como un vino tranquilo de calidad, mientras que en la Champaña es casi siempre imbebible por la escasa maduración de la uva debido al clima de la norteña región francesa (del Castillo García, 1993).

En un espumante producido con la tecnología tradicional de elaboración, el vino base debe presentar características típicas como color pálido, aroma frutal, bajo contenido en azúcar residual, moderado contenido en alcohol, acidez volátil baja, suficiente concentración de oxígeno para el crecimiento de las levaduras y haber estado sometido a estabilización tartárica (Martinez-Rodriguez, A.J & Pueyo, 2009; Pozo-Bayón et al., 2009; Torresi, Frangipane, & Anelli, 2011). La norma BOE189278:37587-93, 1991 recomienda como apropiado para la elaboración de espumantes las siguientes características en un vino base de uva: graduación alcohólica adquirida: mínima 9,5%(v/v); máxima 11,5% (v/v), acidez total mínima 5,5 g/L, acidez volátil total (en ácido acético) inferior a 0,50 g/L pH: mínimo 2,8-

máximo 3,3 y para el producto final Cava graduación alcohólica adquirida: mínima 10,8%(v/v); máxima 11,8% (v/v), acidez total mínima 5,5 g/L, pH: mínimo 2,8- máximo 3,3, extracto seco no reductor: mínimo 13-máximo 22 g.L⁻¹, anhídrido sulfuroso total <160mg.L⁻¹, cenizas entre 0,70 -2,0 g.L⁻¹ y sobrepresión >3,5 bar. Estos parámetros están relacionados tanto con la calidad higiénico-sanitaria como también con los atributos sensoriales en el vino, así se puede definir el aporte de cada uno de estos compuestos tanto a la calidad fisicoquímica como organoléptica del espumante y sus valores para la obtención de un espumante de calidad:

-La graduación alcohólica tiene por finalidad dar cuerpo, equilibrar aromas y contribuir a la estabilidad.

-El pH: no tiene una relación directa con la acidez total pero es un factor de estabilidad

-La Acidez total: Da estructura y estabilidad, contribuye notablemente al equilibrio gustativo.

-La Acidez Volátil: un valor elevado evidencia un vino mal elaborado o mal conservado es un factor muy negativo, tanto para la nariz como para la boca.

-Los Azúcares totales: es la suma de glucosa + fructosa; por encima de 1g denota algún problema en la fermentación del mosto.

-El Anhídrido sulfuroso total: estabilidad química (antioxidante) y microbiológica. Un exceso puede impedir la fermentación, producir olores y sabores extraños. Puede haber provocado un aumento del etanal. Por debajo del nivel recomendado puede comprometer la estabilidad del color (50-75 mg/L).

-El Glicerol: da suavidad al paso de boca, extracto y equilibrio. La cantidad de glicerol, tanto del vino base como del cava depende de las condiciones de fermentación (concentración de azúcares, fuente de nitrógeno y oxígeno sobre todo) contribuye también a la estabilidad aromática.

V.1.3 Producción de vino espumante por el Método tradicional

Las etapas específicas para la obtención de espumantes cuando se emplea el método *Champenoise* son las que se muestran en la [Figura V.1](#); en las que una vez obtenido el vino base, vino tranquilo o cuvèe el mismo es adicionado de una solución llamada licor de *tirage*, compuesta por levaduras seleccionadas

(responsables de la segunda fermentación), azúcar, mosto corregido o no, o mosto parcialmente fermentado en las proporciones correctas para lograr la presión de CO₂ deseada (Zoecklein, 2002), en esta etapa además son adicionadas pequeñas cantidades de bentonita (alrededor de 3g/hL) con el objetivo de facilitar la floculación y posterior remoción de los posos o sedimentos y dióxido de azufre para prevenir efectos dañinos del oxígeno y degradación biológica (Martínez-Rodríguez, A. J., & Polo, 2003; Torresi et al., 2011).

Una vez que el vino base fue embotellado el mismo debe ser almacenado en “rima” en lugares especialmente preparados (condiciones frescas con mínimas variaciones de temperatura y poca luminosidad) para que ocurra la segunda fermentación o toma de espuma, en la que el CO₂ es producido y estabilizado. (Martínez-Rodríguez, A.J & Pueyo,E., 2009). La velocidad de la segunda fermentación depende de la levadura, la temperatura y la química del vino base, sin embargo a temperaturas entre 12 y 15°C la misma ocurre entre 0,5 y 1,5 meses (Torresi et al., 2011)

Completada la segunda fermentación, comienza el proceso de crianza o añejamiento por contacto prolongado con las borras, es durante este periodo que el espumante madura desarrollando el aroma y características finales del mismo.

Este proceso que está relacionado a la autólisis de las levaduras se define como la hidrólisis de los biopolímeros intracelulares por las enzimas endógenas de la misma e implica la liberación de varios compuestos intracelulares como aminoácidos, péptidos, proteínas, polisacáridos, derivados de ácidos nucleicos y lípidos con efecto positivo sobre la calidad del vino espumoso (Alexandre, H., & Guilloux-Benatier, 2006)

Después del período de envejecimiento, que puede durar desde unos pocos meses a varios años, el procedimiento de “remuage”, remoción de los sedimentos por gravedad hacia el cuello de la botella es llevado a cabo; las botellas colocadas en pupitres, se van girando manualmente 1/8 de vuelta por un periodo de 15 días y se va aumentando gradualmente la inclinación de los pupitres hasta que las botellas queden perpendiculares al suelo (Martínez-Rodríguez, A.J & Pueyo, 2009).

Una vez que los sedimentos fueron transportados (removidos) completamente al cuello de la botella y el espumante está completamente claro, las botellas se encuentran listas para el degüelle o “dégorgement”, en esta etapa el

espumante es refrigerado entre 4-10°C con el objetivo de evitar fugas de CO₂; la etapa de degüelle propiamente dicha consiste en sumergir el pico de la botella en baño criogénico con una solución de glicol o cloruro de calcio, para congelar el sedimento atrapado en el opérculo; a continuación se coloca el cuello plano, se descorcha y la presión del interior de la botella automáticamente expulsa el opérculo y el tapón de hielo.

Después de eso la botella se completa con licor de expedición, o solución de dosificación; una mezcla compuesta por vino, azúcar, brandy, SO₂, ácido cítrico, sulfato de cobre; una formulación diferente para cada empresa. Finalmente la botella es cerrada con tapón de corcho y asegurada con tapón de alambre fijado al cuello de la misma (Martínez-Rodríguez, A.J & Pueyo, 2009)

La cantidad de azúcar agregada en el licor de expedición clasifica a los espumantes de acuerdo a su dulzura en siete tipos, Nature: menos de 3 g/L, Brut Nature: menos de 7 g/L, Extra Brut: menos de 11 g/L, Brut: menos de 15 g/L, Demi Sec: de 15 a 40 g/L, Dulce: más de 40 g/L, Extra Dulce: más de 60 g/L (“INV-Resolución N° C. 6/2013,” 2013).

El producto final es un vino especial tipificado por su efervescencia o *perlage*, por la apariencia de su espuma y por sus características sensoriales.

La efervescencia representa un punto crítico para la calidad de los espumante, actuando como *carrier* o transportador de los aromas, al arrastrar en las burbujas junto al CO₂ compuestos odorantes (Obiols, J. M., de la Presa-Owens, C., Buxaderas, S., Bori, J. L., & de la Torre-Boronat & C, 1998) por otra parte la espuma que es sin duda una de las características sensoriales más importante para los consumidores, puede ser definida de calidad cuando forma un anillo por una liberación lenta de las pequeñas burbujas de CO₂ desde la profundidad del líquido, formando una corona sobre la superficie del vino de dos o tres filas de profundidad que lo cubre por completo (Martínez-Rodríguez, A.J & Pueyo, 2009).

La calidad sensorial del producto final está asociada entonces al proceso de añejamiento; ya que es durante la crianza que se produce la autodegradación enzimática de los constituyentes celulares de las levaduras, en la cual se liberan compuestos al vino que pueden modificar significativamente su composición final (Alexandre, H., & Guilloux-Benatier, 2006; Charpentier, C., Feuillat, 1993).

Este proceso tiene lugar al final de la fase de crecimiento estacionario y está asociado a la muerte celular (Babayan, T. L., & Bezrukov, 1985; Charpentier, C., Feuillat, 1993); se estima que la misma comienza entre los dos y cuatro meses después de terminar la segunda fermentación en botella (Todd, B. E. N., Fleet, G. H., & Henschke, 2000), se desarrolla tan solo en unas horas cuando las condiciones son óptimas (Fornairon-Bonnefond, C., Camarasa, C., Moutounet, M., & Salmon, 2002), sin embargo en las condiciones del vino base- pH~3-3,5; temperatura~ 10-15°C; etanol~10% y elevada presión de CO₂)-se dilata en el tiempo durando varios meses o hasta años (Tudela, R., Gallardo Chacon, J.J., Rius, N., López-Tamames, E.,& Buxaderas, 2012).

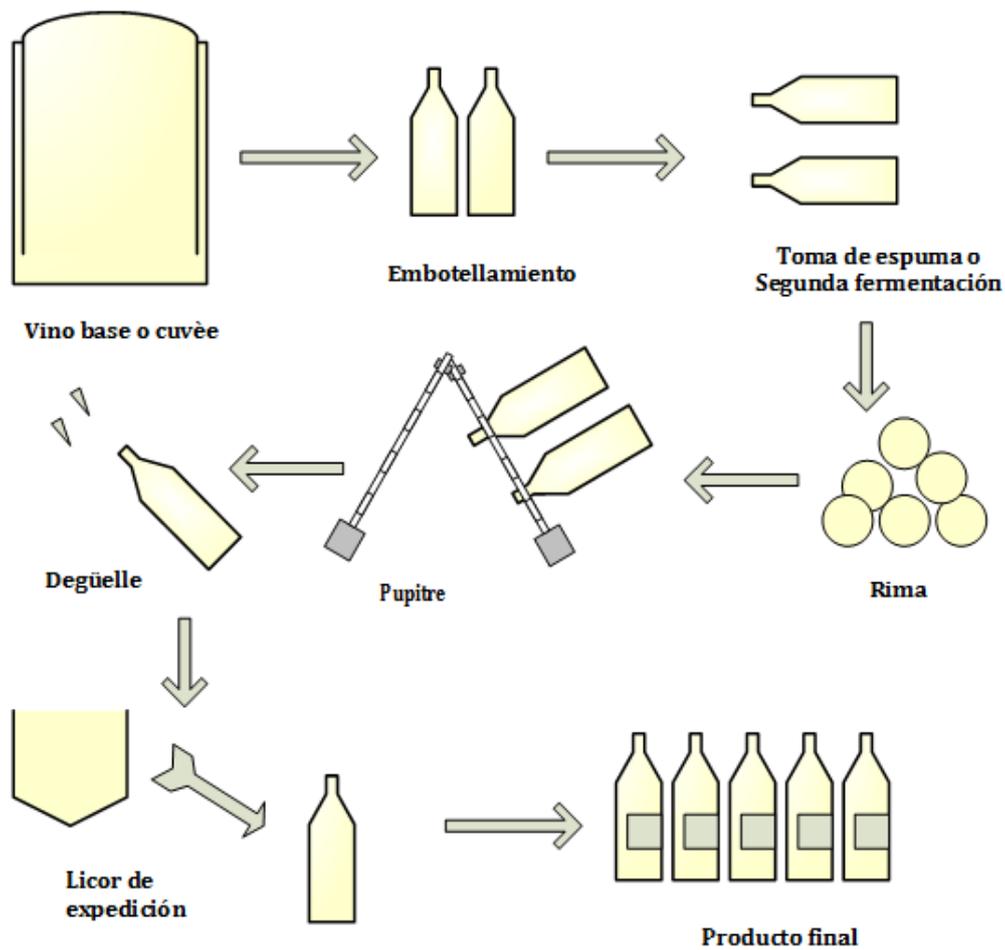


Figura V-1 Etapas específicas para la obtención de vinos espumantes.

V.1.4 La matriz jugo de naranja

El jugo de naranja es una matriz compleja compuesta principalmente por azúcares, ácidos orgánicos y compuestos fenólicos los cuales son utilizados como índices de madurez y como medida indicadora del flavor de la fruta (Kelebek, Selli, Canbas, & Cabaroglu, 2009). Estos compuestos están presentes en un jugo estándar en un rango que va desde 20-50 g/L para glucosa, 24-40 g/L fructuosa y 10-50 g/L para sacarosa (Schöttler, 2002)

Dentro de los ácidos volátiles el málico y el cítrico son los mayoritarios, se encuentran en una concentración media de 1,7 g/L y 9,4 g/L; trazas de benzoico, oxálico y succínico también han sido reportados (Karadeniz, 2004).

El ácido ascórbico es, por su acción vitamínica y antioxidante, el compuesto con acción nutricional más importante del jugo de naranja. Se considera que 200 mL de jugo de naranja en promedio aportan aproximadamente el 100% de la dosis diaria recomendada de vitamina C (60 mg) (Schwab, 2006).

El contenido de sustancias nitrogenadas en los jugos de naranja es muy pobre. El nitrógeno total generalmente aumenta con la madurez de la fruta, pero su valor siempre está dentro del rango de 0,068 a 0,120 g/100 mL (Kimball, 1991; Schwab, 2006).

El color de los jugos de naranja, es un importante atributo de calidad, esto se debe principalmente a los carotenoides; también fuente de pro-vitamina A, a través de su contenido especialmente en β -caroteno (Pupin, A.M., Dennis, M.J. and Toledo, 1998).

Dentro de los constituyentes importantes a los que se les ha prestado atención en los últimos años por su importante rol en la capacidad antioxidante en los frutos cítricos están los compuestos fenólicos (Kelebek et al., 2009; S. Gorinstein, R. Haruenkit, Y.S. Park, S.T. Jung, Z. Zachwieja, 2004). Los ácidos fenólicos y las flavononas son los principales compuestos fenólicos de los jugos de naranja. El ácido fenólico más importante del jugo de naranjas es el ácido hidroxicinámico y sus derivados: felúrico, sinápico, caffeico, y clorogénico (Kelebek et al., 2009; P. Rapisarda, G. Carollo, B. Fallico, F. Tomaselli, 1998). Las flavononas existen como glicosidos; la glicosilación tiene lugar en la posición 7 ya sea como rutinosa o neohesperidina (P. Rapisarda, G. Carollo, B. Fallico, F. Tomaselli, 1998; Z.

[Aturki, V. Braudi, 2004](#)). La hesperidina y narirutina son conocidas como los principales flavonoides del jugo de naranja, incluyendo didymin, neohesperidina y naringina ([Gattuso, G., Barreca, D., Garguilli, C., Leuzzi, C., Coristi, 2007](#)). Las flavononas de la naranja especialmente la hesperidina muestran una amplia gama de propiedades terapéuticas, antiinflamatorias, anti hipertensivas, diuréticas y analgésicas ([Merken,H.M., Beecher, 2000](#); [Z. Aturki, V. Braudi, 2004](#)). Este citroflavonoide debe su principal acción al aumento de la capacidad antioxidante de la vitamina C.

Otro de los componentes de los frutos cítricos con importancia tecnológica son las pectinas; las mismas son un elemento estructural de la pared celular primaria y de la lámina central de los tejidos merismáticos y parenquimáticos; usualmente se encuentran grandes cantidades de pectina en la cáscara de los cítricos, tanto en el albedo como en el flavedo, que contienen cada uno entre un 20 y 40% de pectina en relación a la sustancia seca; la pulpa de la fruta contiene solo entre un tercio y una cuarta parte de estas cantidades, pero aun así sigue siendo significativa ([Schöttler, 2012](#)).

Su conocimiento y comportamiento son importantes en la fabricación de jugos cítricos ya que están relacionadas a la estabilidad de los mismos, la pectina estabiliza la turbidez (mezcla de partículas en suspensión que contienen lípidos, proteínas, pectinas, celulosa y hemicelulosa) proveniente en su mayor parte de la ruptura de las células de la naranja durante la extracción ([Klavons, J.A., Bennett, R.D. and Vannier, 1994](#)) ayudando a mantener la pulpa en suspensión; esto a su vez está relacionado con la viscosidad de modo que su desestabilización conlleva a la pérdida de viscosidad ([Schvab, 2006](#)).

El desarrollo de la tecnología enzimática ha permitido a los productores de jugos naturales implementar la extracción y clarificación mediante la utilización de enzimas; la despectinización de los zumos mediante el uso de enzimas pectinolíticas ha sido presentada como una alternativa efectiva para evitar o reducir la turbidez ([Landbo, Kaack & Meyer, 2004](#)).

Las enzimas pectinolíticas mayormente utilizadas en la industria de zumos de frutas y en la producción de vinos provienen mayoritariamente de hongos filamentosos, principalmente *Aspergillus niger spp.* ([Castagnini, 2014](#)), las ventajas que ofrece el uso de este microorganismo son su rápido crecimiento, la producción

extracelular de las enzimas pectinolíticas, y otras enzimas que forman un complejo multienzimático efectivo para las operaciones requeridas y finalmente que el *A.niger* es aceptado por la FDA como un microorganismo GRAS (Generalmente Regarded as Safe) (FDA, 2007)

V.1.5 Influencia de los coadyuvantes de tirage y del proceso de clarificación en la obtención de un espumante de calidad.

Al igual que la materia prima, los parámetros físico-químicos, las prácticas vitivinícolas y las levaduras empleadas, afectan la calidad sensorial del vino resultante; también influye el proceso de elaboración y concretamente la etapa de clarificación.

La clarificación es una etapa muy relevante en la elaboración de vinos, ya que tiene impacto en la calidad del producto, tanto en el aroma como en el color y la estabilidad física (Olivero, R. E., Aguas & Cury, 2011), esta operación por lo tanto está muy relacionada a dos factores responsables de la elección del producto por parte de los consumidores (Bosch-Fusté, J., Riu-Aumatell, M., Guadanyol, J.M., Caixach, J., López-Tamames, E., Buxaderas, 2007).

A continuación se describe el rol de cada uno de estos factores para la obtención de un espumante de calidad.

V.1.6 Las levaduras para la segunda fermentación

Las levaduras que llevan a cabo la segunda fermentación deben satisfacer una serie de características adicionales compradas con las que realizan la primera fermentación, ya que la misma ocurre en condiciones muy particulares para la levadura: Capacidad para fermentar a baja temperatura (12-18°C), resistencia al etanol ya que el vino base presenta alto contenido (alrededor de 10%v/v), baja actividad fermentativa o baja velocidad de fermentación para mejorar la calidad del vino; un ratio lento de fermentación ayuda a obtener una mejor espuma y bouquet, alto potencial de floculación, con el objetivo de facilitar su eliminación desde la botella (Bidan, P., Feuillat, M., & Moulin, 1986; Martínez-Rodríguez, A. J.,

Carrascosa, A. V., & Polo, 2001; Torresi et al., 2011), bajo estas condiciones solo *S. cerevisiae* puede crecer y fermentar.

V.1.7 Tratamientos de Estabilización

Según (Delfini, C., Formica, 2001) la estabilización es el conjunto de prácticas enológicas que contribuyen a preservar las cualidades del vino a lo largo del tiempo, evitando enturbiamientos por acción de microorganismos, temperaturas y oxidaciones, para evitar efectos no deseados, apoyándose tanto en procedimientos químicos como físicos.

V.1.8 La clarificación

La limpidez es una de las cualidades exigidas por el consumidor; representa el primer contacto con el vino y una de las satisfacciones de la vista. También constituye la garantía del respeto de las cualidades gustativas no perturbadas por partículas en suspensión o precipitados (Riberáu-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., 2003); el tratamiento de clarificación del vino pasa a ser por tanto de suma importancia en el proceso de elaboración, (Balik, 2003; Hsu, 1987) y se realiza para reducir o eliminar la concentración de uno o más compuestos indeseables, y con ello evitar problemas como la quiebra proteica, turbidez o colores no deseados (Vanrell G., Canals R., Canals J.M., 2004).

Una vez completa la fermentación alcohólica, el vino se convierte tanto en una solución como en una suspensión coloidal. La densidad de partículas, que encierra el vino, las fuerzas eléctricas de repulsión y los fenómenos de difusión conducen a una muy lenta o insuficiente clarificación espontánea (Marchal, R., Lallemand, A., Jeandet, P., & Establet, 2003); además la sedimentación natural, centrifugación y clarificación con filtros de aluvionado no protegen a los vinos contra la neblina coloidal; por esta razón es común utilizar agentes clarificantes tanto orgánicos como inorgánicos para limpiar y estabilizar vinos blancos. (Marchal, R., Lallemand, A., Jeandet, P., & Establet, 2003).

En el caso de los vinos espumosos obtenidos por el método champenoise, después de la segunda fermentación durante el período de añejamiento los mismos permanecen en contacto con las lías de las levaduras, las mismas liberan proteínas

y otros compuestos que tienen un efecto positivo en la formación de espuma (Rodríguez, Carrascosa, Martín- Alvarez, Moreno-Arribas, & Polo, 2002; Todd, Fleet, & Henschke, 2000), de hecho, de las diferentes sustancias activas de la espuma, las proteínas debido a sus propiedades superficiales poseen un rol muy importante ya que actúan, justamente, como tensoactivas mejorando la estabilidad de la misma (Vanrell et al., 2007); sin embargo con el objetivo de facilitar el proceso de removido tanto los fabricantes de champagne como de cava adicionan bentonita al vino (Torresi et al., 2011).

La decisión sobre la dosis de bentonita que se debe emplear es muy importante, Martínez-Rodríguez, A. J., & Polo,(2003) indican que las cantidades de bentonita utilizadas están alrededor de los 3g/Hl; según los trabajos de (Guillou, C.,Aleixandre, J.L., Garcia, M.J., Lizama, 1998), la bentonita en dosis de 50 g/Hl puede eliminar el 7% de acetatos de alcoholes superiores, el 10% de linalol, el 18% de 2-fenil-etanol y porcentajes aún mayores de esterres de ácidos grasos y etanol, todas estas sustancias aromáticas.

Por este, entre otros aspectos, es que muchos enólogos tienen la inquietud por entender cuáles son los factores que afectan no solo la formación de espuma en el vino (Vanrell G.,Canals R.,Canals J.M., 2004) sino también las pérdidas de estructura, untuosidad y aromas asociadas a la operación de clarificación.

Hasta el momento la química del proceso de afinado es poco entendida y por lo tanto no es sorpresa que este proceso sea considerado un arte más que una ciencia (Martinez-Rodriguez, A.J & Pueyo, 2009)

V.1.9 Filtración

Según (Amerine, M.A. y Ough, 1976) la filtración es un proceso complementario a la clarificación o único proceso de clarificación que consiste en hacer pasar el vino, aplicando presión a través de filtros de tierra o placas con el propósito de eliminar coloides en suspensión para obtener claridad y brillantez en el vino.

El empleo de hidrogeles de sílice molida como sistema total de clarificación de los sólidos de las bebidas alcohólicas fermentadas para obtener bebidas estabilizadas a prueba de opacidad causada por el frio, es ampliamente conocido, y

ha sido descrito por (Clark, 1980), este artículo refiere el empleo de hidrogeles de sílice fabricados según determinadas especificaciones para sustituir completamente al Kieselguhr y/o al Perlite; sin embargo actualmente la utilización de una mezcla de fibra de celulosa e hidrogel de sílice ha sido motivo de patente por parte de Unilever N.V (Unilever N.V., 1994), esta invención ofrece mejoras en el uso de filtros con pre-recubrimiento para el tratamiento de bebidas alcohólicas.

V.1.10 Diseño experimental

En las etapas iniciales de una investigación, muchas veces existe una lista grande de factores que pueden afectar el proceso. Debido a que es difícil estudiar muchos factores en detalle simultáneamente, los diseños de investigación pueden emplearse para determinar rápidamente cuales factores tienen el mayor impacto sobre un proceso. (Statgraphics Centurion, 2006)

En la elaboración de vinos espumosos la estabilización post-fermentativa (clarificación del vino base) es una etapa crítica; en general se busca que sea poco intensa, ya que no conviene eliminar totalmente las macromoléculas para evitar posteriores problemas de espuma, además una clarificación muy intensa tampoco es necesaria, ya que durante el tiraje el vino adquiere nuevamente turbidez debido a la segunda fermentación y al licor de tiraje (Bosch-Fusté, J., Riu-Aumatell, M., Guadayol, J.M., Caixach, J., López-Tamames, E., Buxaderas, 2007).

Para determinar la influencia del filtrado, la bentonita y del tiempo de contacto de los vinos espumantes de naranja con sus borras se aplicó un diseño de cribado (2^k).

V.2 Objetivos

V.2.1 Objetivos Generales

-Desarrollar el vino espumante de naranja utilizando diferentes condiciones de proceso.

-Caracterizar el vino base y los vinos espumantes de naranja obtenidos en las condiciones de trabajo seleccionadas.

V.2.2 Objetivos específicos:

-Analizar el diseño de clarificación propuesto para la obtención de los vinos espumantes de naranja y su influencia en el perfil físico-químico y sensorial de los mismos.

-Estudiar las características físico-químicas del vino base y de los vinos espumantes de naranja.

V.3 Materiales y Métodos

Los materiales y materias primas utilizados para la elaboración del espumante de naranja son los que se describen a continuación (Tabla V.1):

Tabla V-1 Cantidades de materia prima e insumos utilizados para la obtención del vino base y los espumantes.

1. Vino Base:
-195 kg de fruta (100 L de jugo de Naranja var Valencia Late)
- 15 kg de azúcar comercial
- 2 ml ROHAPECT (200 ppm)
- 150 ppm de Metabisulfito de Sodio
1.1 Preparación del inoculo:
- 200 mL de jugo
- 10 g de levadura comercial ALG 804)
- 2 g de KH_2PO_4
- 7,2 g de urea
-0,12 g de $ClNa$
-0,06 g de $SO_4Mg.7H_2O$
-1,2 g de extracto de levadura
- 0,12 g de $Fe.Cl_3.6H_2O$
2. Espumante:
- 70 L de vino base
- 1,680 Kg de azúcar
- 150 mL de lechada (0,2 g/L de bentonita)
- 150 mL de lechada (0,5 g/L de bentonita)
- Codayuvante de filtración (Fibroxccl-AEB)
- 7 g levadura ALG 804

V.3.1 Descripción del Proceso de Elaboración

V.3.1.1 1ª Etapa-Obtención del Vino Base

El proceso de vinificación (Figura V-9) comenzó con la preselección de la naranja en la planta industrial ECA S.A; inicialmente se tomó una muestra representativa de los lotes para determinar su aptitud para la vinificación. Los parámetros físico-químicos inicialmente analizados en la fruta fueron; rendimiento en jugo, pH, acidez, °Bx y ratio.

Una vez finalizada esta etapa se procedió a transportarla en cajones a la Planta Piloto de la Facultad de Ciencias de la Alimentación, inmediatamente se paso al lavado de la fruta y extracción del jugo en extractora FMC modelo FS BR 1, el cual se recogió en tanque de acero inoxidable, se aplicó una enzima comercial pectinolítica (ROHAPECT) en una concentración 20 ppm a una temperatura de 26,5°C, luego de 24hrs se separó el sobrenadante, se calculó el azúcar necesario para alcanzar 20°Bx y se ajustó la concentración de la misma con sacarosa; la que se agregó en varias etapas: al preparar el mosto, a las 24 horas y luego del primer trasiego, para asegurar así un contenido de azúcar más constante a lo largo de todo el proceso de fermentación. Se sulfitó con 150 ppm de KHSO₃, para evitar el desarrollo de levaduras *non Saccharomyces*.

El jugo se distribuyó en damajuanas de vidrio oscuro de 25 litros, donde se inocularon con pre cultivo de cepas de *Saccharomyces cerevisiae* preparado 24 horas antes en jugo de naranja enriquecido. Se taparon las damajuanas con torundas de algodón, y se mantuvieron durante 24 horas a 15 ± 1°C. Se agregó nuevamente sacarosa y se colocaron los tapones hidráulicos, dando comienzo a la etapa de fermentación tumultuosa, manteniendo la temperatura de la cámara a 15 ± 1°C durante todo el proceso.

Transcurridos 10 días desde el comienzo de la fermentación se realizó el primer trasiego, por decantación natural. Se realizó un nuevo agregado de azúcar y nuevamente se sellaron las damajuanas con los tapones hidráulicos. El proceso fermentativo continuó manteniendo la cámara a temperatura controlada 15 ± 1 °C. El segundo trasiego se realizó a los 45 días por un proceso de decantación natural, el vino que se obtuvo se lo llamo "vino base".

V.3.1.2 2ª Etapa- Obtención del Espumante de Naranja

La segunda fermentación adaptando el método Champenoise, (Figura V-1) comenzó con la separación del vino base en dos lotes, uno que fue filtrado y luego adicionado del licor de tirage y otro no filtrado al que solamente se le agregó el licor de tirage con las concentraciones de bentonitas correspondientes.

La preparación del licor de tiraje se realizó de la siguiente manera: con vino base, adicionado de un cultivo de levaduras del género *Saccharomyces* (ALG 804 DSM Food Specialties Oenology) con una población no inferior a 4×10^6 células viables /mL, más una cantidad necesaria de azúcar calculada para previamente para obtener una presión de CO₂ entorno las 6 atm a 15 °C, ya que se conoce que la cantidad necesaria de la misma para producir 1 atm a 10°C es de 4,0-4,3 g/L, este licor también fue adicionado de nutrientes y coadyuvantes de clarificación. Se ensayaron dos concentraciones de bentonita: 0,2g/L y 0,5 g/L, las que permanecieron en contacto con sus borras por un periodo de 6 y 9 meses, se llenaron las botellas resistentes a la presión, con agitación para favorecer la presencia de oxígeno en la mezcla, dejando aproximadamente 2,5 cm de espacio de cabeza; se taparon con opérculos y tapa corona.

Las botellas se dispusieron en rima para la toma de espuma, en cámara a una temperatura de 15 °C \pm 1 °C, al resguardo de la luz. Es fundamental que la fermentación se realice a estas temperaturas porque conduce a una mejor toma de espuma, es decir, una mejor integración del anhídrido carbónico (su solubilidad disminuye al aumentar la temperatura) en el líquido en el que se desprende, y, por lo tanto, una mejora del «perlaje» por finura de la burbuja y por superior persistencia del fenómeno, ya que de formarse burbujas más gruesas en la copa, como es más inestable la unión del CO₂ con el vino serán efímeras, por otra parte los aromas están muy influenciados por la temperatura a la que se realiza la fermentación.

Para asegurar el contacto de las levaduras con la masa del líquido durante esta etapa de fermentación, se aplicó movimiento de “clavas” a las botellas, que consiste en una agitación manual vigorosa, hacía atrás y adelante, tomando la botella del cuello, y girando su posición una media vuelta cada día. Una vez finalizada la segunda fermentación, comenzó la crianza del espumante. Las

levaduras inactivadas por el gas acumulado y el agotamiento del azúcar, se depositaron en el fondo, produciéndose la lisis celular, liberando al medio compuestos del citoplasma que contribuyeron al desarrollo del bouquet característico de los espumantes.

Al cabo de 6 y 9 meses (tiempos mínimos propuestos de envejecimiento para la obtención de un espumante de calidad) las botellas se dispusieron en pupitres de madera para efectuar la remoción de las borras hacia el cuello de las mismas.

La apertura a inclinación de las botellas se fue incrementando periódicamente, y diariamente se les aplicó un movimiento giratorio de 1/8 de vuelta en sentido horario hasta completar dos vueltas y luego en sentido anti horario $\frac{1}{4}$ de vuelta cada día hasta completar dos giros. El pupitre se desplazó paulatinamente de manera que las botellas finalmente quedan en punta (de cabeza).

Cuando el líquido se observó límpido se enfriaron las botellas y se procedió al degüelle de las mismas, al destapar, la diferencia de presión expulsa el tapón formado arrastrando las borras acumuladas; esta etapa se realizó en instalaciones de una bodega comercial. Las botellas, previamente enfriadas en heladera, se sumergieron en un baño de solución incongelable (etilenglicol al 45%- ALCOHOL AGUA) a una temperatura de $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un tiempo aproximado de 2 minutos. Al quitar la tapa corona, se expulsaron los opérculos con las borras, inmediatamente se completó el volumen de algunas de las botellas con el denominado licor de expedición, preparado en este caso con una botella de espumante previamente limpio y adicionado en una parte del mismo con azúcar. La cantidad de azúcar utilizada fue para lograr una concentración de 25 g/L en botella, y así obtener espumantes en la categoría demisech y también nature en las botellas que el licor de expedición no poseía azúcar.

Por último se procedió al cierre definitivo de las botellas con tapón de corcho y mordazas de metal. En la (Figura V-2) se muestra el esquema de vinificación seguido.

Debido a que la segunda fermentación se realiza en botellas individuales, para los ensayos físico-químicos fueron muestreadas dos botellas por tratamiento.

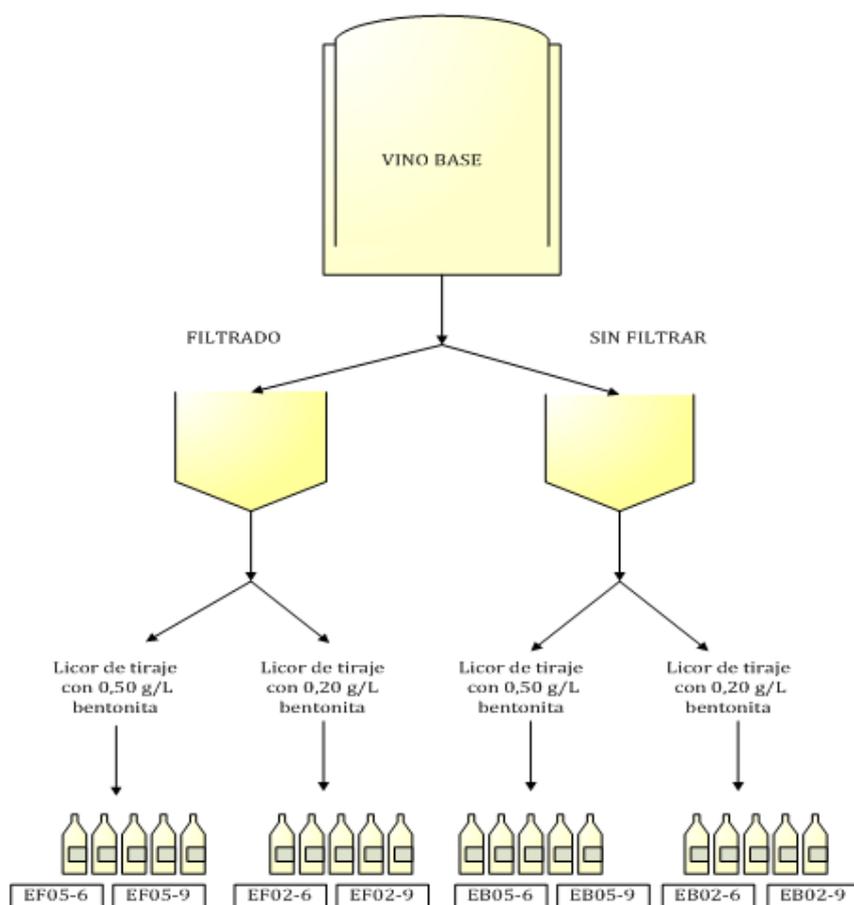


Figura V-2 Diseño experimental propuesto para la obtención de vino espumante de naranja

V.3.2 Análisis físico-químicos realizados a la materia prima, vino base y espumantes de naranja

- pH:** potenciométricamente (pHmetro BOECO BT- 500).
- Acidez Titulable:** Se determinó por titulación potenciométrica con solución valorada de NaOH, expresando los resultados como porcentaje de ácido cítrico (AOAC, 1984)
- **Sólidos solubles totales:** Se usó un refractómetro tipo Abbe ATAGO modelo DTM y los resultados se expresaron en °Brix (se corrigió por temperatura y acidez usando tabla de Ting and Rouseff, 1986)
- **Rendimiento en Jugo:** Expresado como % referido al peso de la fruta.
- **Azúcares reductores directos y totales:** Método de Lane-Eynon. Consiste en determinar la cantidad de equivalentes de azúcar reductor necesarios para reducir

un número determinado de equivalentes de Cu a OCu contenidos en un volumen de una disolución alcalina en presencia de un indicador interno. Para valorar la sacarosa es necesaria su hidrólisis ácida (inversión) previa a la valoración. Los resultados se expresan como azúcares reductores (directos o totales) en g/100 mL de jugo utilizando glucosa como patrón (Ting, S.V. and Rouseff, 1986).

- **Ácido Ascórbico (vitamina C):** Consiste en determinar la acción reductora del ácido ascórbico sobre un colorante azul (2,6-diclorofenolindofenol). El jugo se diluye previamente con solución de H_3PO_4 para inactivar la enzima oxidasa ascórbica. Los resultados se expresan como vitamina C en mg/100 mL de jugo (AOAC 43.064,1984).

- **Nitrógeno Amínico:** Método del número de Formol. Basado en la neutralización del jugo cítrico por la adición de formaldehído neutralizado por lo cual se libera un protón por cada molécula de aminoácido. La cantidad de aminoácido presente en la muestra se cuantifica por titulación de los protones liberados. Expresando el resultado en mg de Nitrógeno Amínico por 100 mL de jugo (Ting and Rouseff, 1986).

- **Flavonoides:** Método espectrofotométrico de Davis. Se basa en la reacción de los flavonoides con dietilenglicol en solución alcalina para dar la correspondiente chalcona de color amarillo y posterior lectura de la $A_{\lambda 420}$. Se expresa como Hesperidina (sustancia patrón) en mg/100 mL jugo (Ting and Rouseff, 1986).

- **Aceites esenciales:** Método de Scott-Veldhuis. Se fundamenta en la titulación del destilado alcohólico acidificado de la muestra de jugo con una solución de KBr-KBrO₃ para formar Br₂, el cual reacciona con el doble enlace del *limonenolimoneno*. Se expresa en μL /100 mL jugo (Kimball, 1991).

- **Carotenoides totales:** Método colorimétrico descrito por (Casas, A., Mallent, D. & Montoro, 1976). Se extraen los carotenoides del jugo con una mezcla de alcohol isopropílico y n-hexano y se determina la $A_{\lambda 450}$ (el máximo de absorción del β -caroteno) en el extracto alcohólico, con espectrofotómetro. Los resultados se expresaron en mg de β -caroteno por 100 mL de jugo.

- **Ácidos orgánicos.** Cítrico, málico y quínico determinada por HPLC (cromatógrafo Hewlett Packard series 1100, con fase reversa y detector UV. Fase móvil KH_2PO_4 2%, pH: 2,4. Velocidad de flujo: 0,5 mL/min. Temperatura: 25°C. Volumen de inyección: 20 μL . $\lambda = 214nm$. Columna Hipersil (fase estacionaria): HewlettPackard,

Hypersil BDS C 18 3 μm , 100 \times 4.0 mm. (25 cm \times 4, 5 cm). Guarda columna: Hewlett Packard, ODS-Hypersil C 18, 5 μm , 20 \times 2.1 m. Las muestras fueron diluidas pesando 1,5 g y llevando a 30 g con H₂O calidad HPLC. Se centrifugó a 4000 rpm durante 15 min. y se filtró con filtro de 0,45 μm . de acetato de celulosa.

-Graduación alcohólica: por aerometría (según técnica MA-E.AS312-01-ALVOL, O.I.V., 2009).

-SO₂ libre y SO₂ total: según (Aleixandre Benavent, J.L. y Garcia Esparza, 1996). Método iodimétrico. Expresados en mg/L.

-Proteínas totales: aplicando método colorimétrico de Bradford, (Ref) determina proteínas junto con péptidos de peso molecular mayor a 3,0 KDa (Moreno Arribas et al., 2002) se basa en la unión específica del reactivo coloreado Comassie Blue Brillante a las cadenas de tirosina formando un complejo que absorbe a 595 nm. Se construyó curva de calibración usando seroalbúmina bovina como estandar

-Densidad: Por picnometría, según Compendium of Internacional Methods of wine and must Analisis (OIV, 2009) en g/mL

-Glicerol: método enzimático (Boehringer Mannheim/Biopharm). expresado en g/L.

- Índice de amarronado: Medida de $A_{\lambda 420}$ en espectrofotómetro (Shimadzu UV 1603), paso de luz 10 mm.

- Color: Se realizó el análisis de color sobre muestras centrifugadas 5 min. a 4000 rpm, mediante la medida de las absorbancias a 420, 450, 520, 570 y 630 nm en espectrofotómetro (Shimadzu UV 1603), paso de luz 10 mm tal como lo propuesto por la (OIV, 2009).

Para obtención los parámetros del CIELab (L^* , a^* , b^*) el análisis se realizó con el programa MSCV (Grupo de color. Universidad de La Rioja -Universidad de Zaragoza. Ayala, *et al.*, 2001). Se determinaron además los parámetros psicofísicos h^*b^* y C^* mediante fórmula (Meléndez, M.E., Sanchez, M.S, Iñiguez, M., Sarabia & M.C., 2001).

• Matiz $h^*b^* = (\tan^{-1} b^*/a^*)$

• Cromo o intensidad de color $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ y

• Diferencia total de color $\Delta E^* = (\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2})^{1/2}$

- Entrenamiento del panel sensorial

Los ensayos sensoriales para el re-entrenamiento del panel se llevaron a cabo, según las normas IRAM 20002 (1995) e ISO 6658 (1985) (Anzaldúa Morales, 1994) ya que las personas convocadas para la evaluación sensorial, habían sido entrenadas con anterioridad en la evaluación de este producto, pero debido al lapso de tiempo transcurrido desde la última evaluación se vio la necesidad de reentrenarlos.

En el reentrenamiento de los panelistas, se repitieron las pruebas de Gustos Básicos así como también la prueba de identificación y ordenamiento de color y aspecto de acuerdo a el procedimiento usado por Schwab, (2006)

Para la obtención del perfil sensorial del vino base se aplicó un ensayo descriptivo cuantitativo (QDA). Los descriptores utilizados fueron los mismos que ya habían sido seleccionado por Schwab, (2006) para la caracterización de vino de naranja Anexo I (Planilla de evaluación)

V.3.3 Análisis de los datos

La evaluación del tratamiento de clarificación y del tiempo de contacto con las borras se realizó mediante un diseño experimental completamente aleatorizado. En la Tabla V-2 se muestra el diseño factorial (2^3), con 3 factores: bentonita, filtración y tiempo en dos niveles cada uno: 0,20 g.L⁻¹ y 0,50 g.L⁻¹ bentonita; con y sin filtración y con 6 y 9 meses de contacto con las borras, con dos repeticiones por tratamiento.

Los resultados fueron procesados con el programa STAGRAPHICS Centurión

Tabla V-2 Factores y niveles del diseño experimental propuesto para el desarrollo del producto.

Muestra	Tratamiento de clarificación	Tiempo de contacto con las lías
EB02-6	0,20 g/L bentonita	6 meses
EF02-6	filtrado + 0,20 g/L bentonita	6 meses
EB05-6	0,50 g/L bentonita	6 meses
EF05-6	filtrado + 0,50 g/L bentonita	6 meses
EB02-9	0,20 g/L bentonita	9 meses
EF02-9	filtrado + 0,20 g/L bentonita	9 meses
EB05-9	0,50 g/L bentonita	9 meses
EF05-9	filtrado + 0,50 g/L bentonita	9 meses

V.4 Resultados y discusión

V.4.1 Caracterización de la materia prima

La composición del jugo de naranjas (var. Valencia Late) utilizado para la elaboración del vino base y posterior transformación en espumante, se muestra en la (Tabla V-3).

El rendimiento en jugo alcanzado en el proceso de extracción de 195 kg de fruta, fue del 51,3%, obteniéndose 100 L de jugo con las siguientes características, pH: 3,28, sólidos solubles: 10,4; acidez: 1,028 (g ac. cítrico/100mL de jugo), ratio: 10,12; Fan et al., (2009) reporta valores de 10^oBx, pH:4,24; acidez total de 0,51% y ratio de 19,61 para naranjas de la variedad Qixue cheng con la que elaboró vino de naranja, el rendimiento en jugo reportado por estos autores fue inferior al obtenido por nosotros (41,56%) y similar al obtenido en naranjas de la variedad Kozan (40%) de Turquía (Selli et al., 2004), siendo por lo tanto la variedad Valencia Late alrededor de un 10% superior en rendimiento a los dos casos reportados.

En la elaboración de vinos espumosos las propiedades características de la materia prima con la que se elabora el vino base ejercen una gran influencia en el producto final; en el caso del jugo de naranjas la valoración de su calidad se puede llevar a cabo mediante la utilización de índices estadísticos definidos a partir de muestras genuinas de producto (Schöttler, 2012). Así se puede decir que el jugo de naranjas presenta características sávido - aromáticas agradables cuando la acidez alcanza valores del 1% y el pH 3,5 (Lombard en Ashurst, P.R., 1999); en nuestro jugo el pH resulto inferior y la acidez superó levemente este valor.

La proporción y perfil específico de azúcares ha sido sugerida como un indicador determinante de la autenticidad del jugo (Lee, H.S. and Castell, 2001) la relación azúcares reductores directos / azúcares totales fue aproximadamente de 1/2; la concentración de ácido ascórbico, nitrógeno amínico, pectina y flavonoides que se encontraron están dentro de lo esperado para valores estándar en un jugo de naranja (Schöttler et al.2012).

Tabla V-3 Propiedades fisicoquímica del jugo de naranja var Valencia (valores medios y desviación estándar)

pH	3,28±0,001
Sólidos solubles (°Brix)	10,40±0,054
Acidez total (% ácido cítrico anhidro)	1,028±0,026
Azúcares reductores directos (g/100 mL jugo)	4,10±0,072
Azúcares totales (g/100 mL jugo)	7,77±0,05
Ácido Ascórbico (mg/100 mL jugo)	56,74±0,07
Nitrógeno Amínico (mg/100 mL jugo)	16,05±0,06
Flavonoides (hesperidina) (mg/100 mL jugo)	53,65±0,03
Carotenoides(β caroteno) (mg/100mL de jugo)	0,08±0,01
Aceites esenciales (μL/100 mL jugo)	7,85±0,02
Pectina (mg/L)	136,2±0,8

V.4.2 Caracterización físico química del Vino Base

Los principales parámetros del vino base son los indicados en la (Tabla V-4). La concentración de etanol al final de la primera etapa del proceso de vinificación fue de 11,2%v/v, con un remanente de 0,14 g/100 mL de azúcares totales; la evolución del contenido de etanol durante la fermentación fue proporcional al consumo de azúcar. En trabajos realizados por (Corazza M.L., Rodrigues D.G.& Nozaki, 2001), Fan et al., (2009), la graduación alcohólica estuvo comprendida entre 10,4 y 10,6 % v/v, en ambos casos las densidades fueron inferiores a 1,000 g.cm⁻³ en concordancia (Vogt, 1986) con que la densidad es una respuesta a inversa al tenor de alcohol por lo que en vinos completamente fermentados suele ser menor a 1,00 g.cm⁻³

El valor final de sólidos solubles se situó entre valores encontrados en otros estudios relativos a vinos de naranja y fermentados de fruta. Si bien el grado Brix no es un parámetro de referencia en la elaboración de vinos, el conocimiento de este valor nos permite comprender en forma directa la evolución de proceso fermentativo (Ferreyra, 2006)

La acidez total de un vino debe estar comprendida entre 3 y 7 g.L⁻¹ para lograr un buen equilibrio gustativo, cuando el vino presenta excesiva acidez, es agresivo, y por el contrario, si el vino es insuficientemente ácido, se presenta frágil y con sabor pastoso; el contenido de acidez total del vino base presentó una

disminución en relación a la inicial del mosto, esta disminución probablemente se deba a reacciones químicas redox de degradación de los ácidos orgánicos (Amerine, M. A. Berg, H. W. Kunkel & C. S. Singleton, V. L and Webb, 1980). Esta misma tendencia se presentó entre el mosto y el vino de naranja de la variedad Kozan elaborado por (Kelebek et al., 2009).

Por otra parte en la fabricación de vinos espumosos el papel que juega la acidez del vino base es la de aportar estructura y estabilidad, contribuyendo notablemente al equilibrio gustativo, para este tipo de vinos obtenidos a partir de uva el valor de acidez total expresada en g H₂SO₄/L debe ser como mínimo de 5,5 en tartárico

La acidez volátil también constituye un parámetro físico-químico importante y su seguimiento analítico se realiza durante toda la elaboración del vino; desde el punto de vista cualitativo su valor está ligado a la calidad del mismo, ya que un valor elevado evidencia un vino mal elaborado o mal conservado, es un factor muy negativo tanto para la nariz como para la boca, en Francia un vino de apelación de origen controlada es “comercial” si su acidez volátil no supera 1,1 g.L⁻¹ en ácido acético, en el vino base de naranja de la variedad Valencia este valor fue de 0,17 g.L⁻¹.

Tabla V-4 Parámetros físico-químicos del vino base
(Valores medios y desviación estándar).

pH	3,4±0,02
Densidad (g/L)	1,008± 0,002
Acidez Total(% ac. cítrico)	0,83±0,06
Acidez Volátil (g/L)	0,17± 0,03
Etanol (g/100ml)	11,2± 0,2
Glicerol (g/L)	5,74± 0,78
Sólidos Solubles (° Brix)	7,00± 0,3
Az. reduct (g/100mL)	0,12±0,03
Az. totales (g/100mL)	0,14±0,07
SO ₂ libre (mg/L)	28,61± 1,6
SO ₂ total(mg/L)	73,6±1,2
Ac. Cítrico (mg/100mL)	103,17± 6,58
Ac. Málico (mg/100mL)	18,21± 4,17
Ac. Quínico (mg/100mL)	87,92± 2,77
Vit. C (mg/100 mL)	42,7± 1,58
Hesperidina (mg/100 mL)	43,12± 4,98
Extracto seco (g/L)	24± 1,9

El pH no tiene una relación directa con la acidez total pero es un factor de estabilidad, para los vinos Cava la recomendación de la norma (BOE189278:37587-93, 1991) es de 2,8 a 3,3 ya que un pH bajo contribuye a dificultar la fermentación maloláctica.

El SO₂ total y libre también es un parámetro reglamentario a tener en cuenta en la elaboración de este tipo de vinos, su importancia está relacionada a la estabilidad química (antioxidante) y microbiológica, un exceso puede impedir la fermentación y producir olores y sabores extraños y por el contrario por debajo del nivel recomendado puede comprometer la estabilidad del color. La reglamentación en relación a este parámetro es amplia, la norma BOE,1991 especifica valores inferiores a 140 mg.L⁻¹, (Kolb, 2002) recomiendan para vinos de frutas valores entre 25 y 40 mg.L⁻¹. Su connotación negativa para el aroma del vino se debe a su bajo umbral de detección (\approx 30 mg/L).

Cuando se conduce la fermentación en presencia de SO₂ se produce un incremento en el contenido de acetaldehído y de otros compuestos, con los que se combina, lo cual empobrece el aroma del vino. En cambio, al combinarse con el acetaldehído, enmascara la sensación de sequedad que comunica este aldehído, lo cual es beneficioso. Con el empleo de SO₂ se obtienen mostos más transparentes y brillantes debido a que se facilita la sedimentación de las micelas y pectinas insolubles de la pulpa de uva (Herráiz, 1989).

Otro grupo de compuestos que tiene una amplia participación en la constitución, estabilidad y cualidades organolépticas de los vinos son los ácidos orgánicos, que provienen de la fruta: como el cítrico, ascórbico y málico y del proceso de fermentación (ac. pirúvico, ac. ácido láctico, ac. succínico, ac. acético entre otros) estos ácidos están presentes en los vinos en cantidades inferiores al del jugo de la fruta, donde su disminución se debe precisamente al proceso de fermentación (Kelebek et al., 2009); en la Figura V-3 se muestra un cromatograma típico de los ácidos orgánicos presentes en el vino base.

El ácido cítrico fue el más abundante (1,03g. L⁻¹), su tenor en los mostos y vinos antes de la fermentación maloláctica va de 0,5 a 1,0 g.L⁻¹ (Ribéreu-Gayón, P., Glories, Y., Maujean, A., 2003) seguido del ácido quínico (0,87 g. L⁻¹) y el málico (0,182 g. L⁻¹), estos ácidos han sido de interés también por otros autores (Kelebek et al., 2009; Schwab, 2006) debido a la estrecha relación con el sabor.

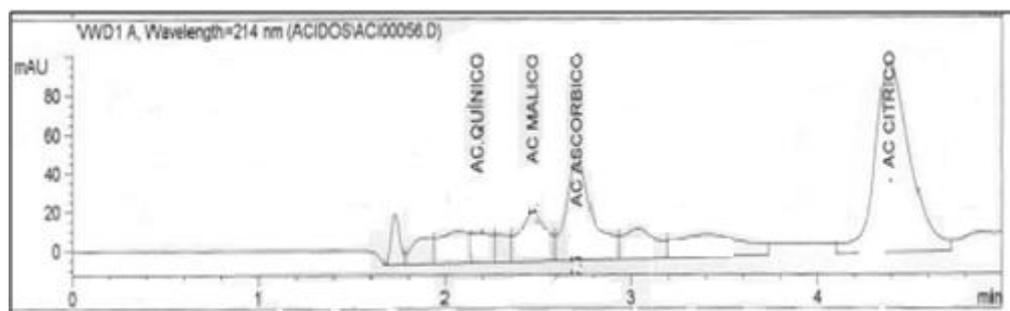


Figura V-3 Cromatograma representativo de los ácidos orgánicos del vino base obtenidos por HPLC

Otro parámetro de calidad sumamente importante es el color; el mismo fue estudiado tanto para el vino base como para los espumantes en el espacio Cie Lab.

Los valores obtenidos de L^* , a^* y b^* para el vino base se muestran en la [Tabla V-5](#); el valor del parámetro L^* (luminosidad) es superior a los reportados por [\(Fan et al., 2009\)](#) en ensayos de vinificación de jugo de naranja var Quixue realizados mediante fermentación espontánea ($L^* = 74,11 \pm 0,15$) y fermentación controlada (inoculación con levaduras activas deshidratadas) ($L^*=76,52 \pm 0,27$), en la que no describen la utilización de agentes clarificantes en la elaboración, pudiendo ser este el factor responsable de la menor luminosidad en el producto final obtenido por ellos, sin embargo en el trabajo realizado por [Cano Yuste, L y García Esparza, M,J \(2013\)](#) de elaboración de vino de naranja var Valencia y mandarina var Clementina para estudiar la influencia de distintas operaciones finales, los valores de L^* obtenidos en los vinos clarificados con bentonita a razón de 0,5g/L fue superior ($L^*=98,735 \pm 0,109$) al obtenido por nosotros, esto podría explicarse por la utilización de la operación de filtrado con tamaño de poro de 4-5 μm para el abrillantamiento del vino. Otros trabajos de elaboración de vino de naranja de la variedad W.Navel [\(Schvab, et al., 2004\)](#) indican para este parámetro valores medios comprendidos entre 95,5 y 98,0 para vinos obtenidos de mosto natural.

Los valores medios de los parámetro a^* y b^* obtenidos para el vino base son inferiores a los obtenidos por [\(Fan et al., 2009\)](#) y similares a los de [\(Schvab, et al., 2001\)](#) indicando que el color del mismo es amarillo verdoso ($h^* a^* b^* = 86,25$), de acuerdo con la escala establecida para el tono (h^*) que define al rojo= 0, rojo-

naranja= 45, amarillo= 90, verde= 180 y azul= 270 (Heredia *et al.*, 2004); el parámetro de color C* (croma), que representa la intensidad de color fue superior a la de los espumantes en cada uno de los niveles de tratamiento; en términos de absorbancia, valores orientativos sugeridos por (Viader, 2012) para la medición instrumental del vino base con la que se fabrica el Cava son Abs.₄₂₀ ≤ 0,20 y Abs.₅₂₀ ≤ 0,10 los valores medios obtenidos por nosotros en estas longitudes de onda fueron Abs.₄₂₀ = 0,32 Abs.₅₂₀ = 0,049

De las absorbancias Abs.₄₂₀ (Figura V-4) se puede decir que hubo una evolución en la intensidad del color amarillo a los 9 meses de contacto con las borras ya que este valor aumento en ese período de tiempo; indicando que el color evoluciona en el período de crianza. Un comportamiento similar fue reportado por (Martinez Lapuente, 2013) en espumantes de 6 meses de contacto sobre las lías donde se produjeron pérdidas de todos los compuestos fenolicos analizados debido a su alta reactividad y a fenómenos de adsorción por las levaduras, reportando además que los compuestos fenolicos adsorbidos al final de la fase de tiraje fueron liberados durante los últimos tres meses de envejecimiento debido al proceso autolítico de las levaduras.

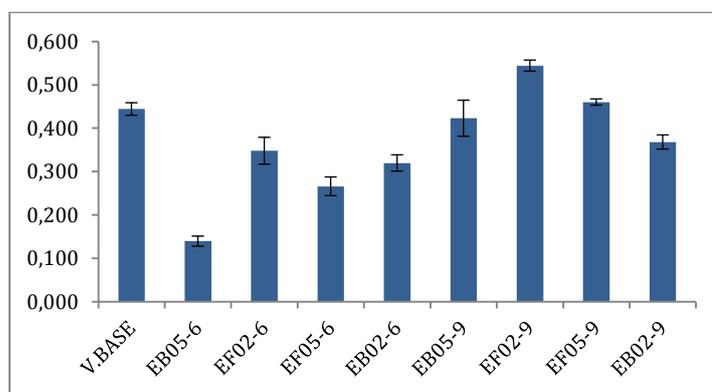


Figura V-4 Variación en el Índice de Amorronado ($A_{\lambda 420}$) para el Vino base y los Vinos espumantes de naranja

Esto mismo se puede analizar desde el punto de vista de las diferencias de color (ΔE) en la que para que exista un diferencia visual notable en la percepción de color entre dos situaciones cualesquiera, el ΔE^* (diferencia total de color) deberá ser igual o mayor que 2 (Francis, F.G. and Clydesdale, 1975).

En la (Tabla V-5) se puede observar que el único par de muestras que no exhibió diferencia de color en el tiempo fue EF02-6 – EF02-9 probablemente debido a la operación de filtrado elimina en mayor medida compuestos causantes de oxidación.

V.4.1 Evaluación Sensorial del Vino Base

Los ensayos sensoriales se llevaron a cabo por un panel previamente seleccionado y entrenado, según normas IRAM 20002 (1995) e ISO 6658 (1985) (Anzaldúa Morales, 1994).

Se aplicó un ensayo sensorial descriptivo cuantitativo. Las muestras fueron presentadas a cada panelista en copas de vidrio tipo Afnor para vinos blancos (ISO 3591, 1977) en un volumen de 30 mL, a temperatura de $12\pm 1^{\circ}\text{C}$, con la instrucción de evaluar los atributos en el siguiente orden: en primer lugar figuran las apreciaciones o sensaciones visuales que permiten valorar atributos muy importantes como son el color y el aspecto ya que el color puede tener efectos significativos sobre otras características sensoriales, especialmente el gusto (Carpenter, R.P., Lyon, D.H. & Hasdell, 2002).

La segunda fase es la olfativa; el olfato es el sentido más comprometido en la degustación y es el único sentido capaz de captar un espectro infinito de sensaciones. La fase gustativa es la que proporciona la información definitiva.

Se definió a los panelistas los descriptores usados: la astringencia como una combinación de sensación de sequedad y aspereza en la boca (Zamora, M.C. and Guirao, 2002), al regusto como la sensación gustativa y gustativo-olfativo que el vino deja después de la persistencia gustativa-olfativa y que a veces puede ser menos agradable y a la sensación global como la armonía entre las sensaciones visuales, olfativas y gustativas (Aleixandre Benavent, 1997).

En base a escala cuantitativa desarrollada para los atributos sensoriales analizados, se procesaron los resultados de las evaluaciones sensoriales, y se obtuvieron los resultados que se muestran en la Figura V-5.

El panel estuvo conformado por jueces previamente entrenados y seleccionados en análisis de “vinos de naranja” (Schwab, 2006).

Tabla V-5 Características cromáticas del vino base y los vinos espumantes de naranja

	V. Base	EB02-6	EB02-9	EB05-6	EB05-9	EF02-6	EF02-9	EF05-6	EF05-9
L*	89,3±0,35	85,20±0,45	90,04±0,56	91,64±0,92	96,3±0,14	94,2±0,88	95,5±0,66	93,2±0,34	97,01±0,70
a*	-1,6±0,08	-1,05±0,09	-1,86±0,12	-1,95±0,14	-1,6±0,13	-0,79±0,03	-0,86±0,06	-2,02±0,03	-1,4±0,32
b*	24,11±0,25	16,82±0,47	17,02±0,21	15,1±0,60	13,12±0,24	19,18±0,9	18,9±0,20	13,2±0,54	13,4±0,15
C*ab	24,16±0,26	16,85±0,21	17,12±0,17	15,23±0,08	13,22±0,21	19,20±0,34	18,92±0,19	13,35±0,41	13,47±0,15
h*	86,203±0,15	86,427±0,98	83,763±1,23	82,641±0,78	83,047±0,52	87,641±1,03	87,394±1,58	81,299±0,23	84,035±0,96
ΔE		4,911		5,075		1,332		3,865	

(Valores medios y desviación estándar)

El sabor afrutado y el aroma son predominantes, el color es el apropiado para un vino base. Cabe destacar que la sensación del sabor ácido da un nivel intermedio, que resulta muy favorable para iniciar una segunda fermentación; dulzor y acidez están equilibrados. La ausencia prácticamente de sabor amargo y sabores extraños son aspectos positivos a destacar. El atributo sensorial astringencia presenta un valor intermedio, en realidad mayor al esperado, pero se espera que en la segunda fermentación este valor sea suavizado. El aspecto es bueno. En el conjunto de las apreciaciones, la sensación global resulta aceptable.

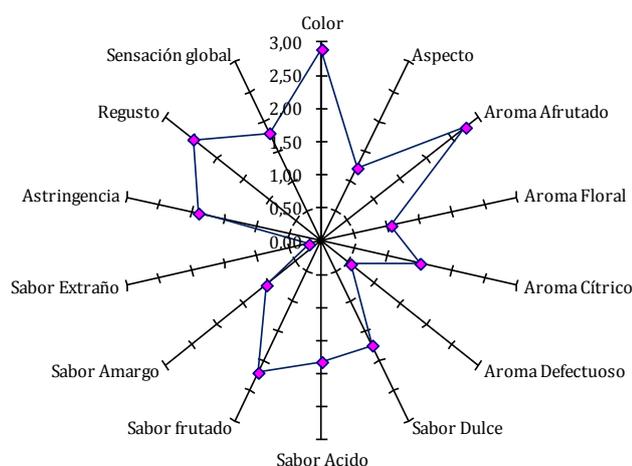


Figura V-5 Perfil sensorial del Vino Base de la var. Valencia

V.4.2 Caracterización físico- química de los Espumantes

Así como están determinadas las características analíticas con los valores recomendados para la obtención de un buen vino base, también están cuantificados los parámetros que debe poseer el espumante o producto final de acuerdo a las diferentes reglamentaciones; su grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, anhídrido sulfuroso, pH y azúcares totales entre otros son los parámetros más importantes y determinantes en el establecimiento de la calidad e identidad de los mismos.

Los resultados de estos parámetros en las ocho (8) muestras de vinos espumantes de naranja se muestran en la (Tabla V-6).

Tabla V-6 Composición físico-química de los Vino espumantes de naranja (valores medios y desviación estándar)

Muestras	Alcohol (% v/v)	Glicerol (g/L)	pH	Ac. Total (% ac. cítrico)	Acidez volátil (g/100)	Az. Totales (g/100)	Az. Reductores (g/100)	SO2 total (mg/L)	SO2 libre (mg/L)	Extr. Seco (g/L)
EB02-6	12,86±0,05 ^a	7,21±0,61 ^a	3,45±0,01 ^a	0,91±0,03 ^a	0,41±0,02 ^a	0,35±0,01 ^b	0,303±0,002 ^c	26,56±0,1 ^d	14,6±0,6 ^f	2,93±0,02 ^{bc}
EB02-9	12,92±0,01 ^a	7,17±0,94 ^a	3,50±0,01 ^c	0,92±0,01 ^a	0,39±0,025 ^a	0,36±0,02 ^b	0,303±0,008 ^c	25,86±0,1 ^c	15,9±0,8 ^g	2,66±0,02 ^a
EB05-6	12,66±0,02 ^c	6,96±0,47 ^a	3,42±0,01 ^d	0,86±0,03 ^c	0,39±0,07 ^a	0,30±0,01 ^a	0,218±0,002 ^b	27,93±0,1 ^e	12,08±0,9 ^c	2,71±0,2 ^{ab}
EB05-9	12,71±0,01 ^c	7,15±0,51 ^a	3,52±0,01 ^b	0,75±0,01 ^b	0,36±0,02 ^a	0,32±0,01 ^a	0,203±0,001 ^a	26,36±0,1 ^d	11,73±0,6 ^b	2,84±0,04 ^{abc}
EF02-6	13,39±0,02 ^b	6,56±0,97 ^a	3,44±0,01 ^a	0,91±0,01 ^a	0,39±0,01 ^a	0,52±0,02 ^c	0,483±0,013 ^f	24,71±0,1 ^b	15,9±0,9 ^g	3,03±0,03 ^c
EF02-9	13,48±0,11 ^b	7,41±0,33 ^a	3,47±0,01 ^e	0,91±0,01 ^a	0,40±0,03 ^a	0,49±0,02 ^c	0,463±0,003 ^e	24,26±0,1 ^a	13,86±0,4 ^e	3,05±0,19 ^c
EF05-6	13,33±0,21 ^b	6,49±0,17 ^a	3,42±0,01 ^f	0,91±0,01 ^a	0,396±0,02 ^a	0,34±0,03 ^{ab}	0,326±0,011 ^d	25,80±0,1 ^c	12,9±0,7 ^d	2,63±0,07 ^a
EF05-9	13,40±0,03 ^b	6,68±0,25 ^a	3,51±0,01 ^b	0,89±0,02 ^d	0,32±0,03 ^a	0,33±0,02 ^a	0,306±0,003 ^c	26,40±0,1 ^d	9,6±0,7 ^a	2,72±0,15 ^{ab}
p-valor	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05

Muestras con la misma letra en la columna no difieren estadísticamente por el test de LSD de Fisher (p<0,05)

Al comprar los vinos espumantes de naranja con los parámetros de referencia establecidos para un vino Cava vemos que no todos los vinos espumantes de naranja presentaron valores en los parámetros analizados dentro de los límites pre-establecidos de acuerdo a la norma *BOE189278:37587-93*, 1991, el contenido de etanol es el más llamativo de todos, ya que en todos los casos los valores fueron superiores a 12,5%v/v, valor aproximado esperado para el producto final teniendo en cuenta que para producir 1 atm de presión se necesitan entre 4 a 4,3 g de sacarosa ([Torresi et al., 2011](#)), lo que provocaría un aumento de entre 1,0 a 1,5 %v/v; observándose además que en el caso de los espumantes sometidos al tratamiento de filtración que la concentración de alcohol fue superior a los 13%v/v, pero por otra parte la levadura utilizada para la segunda fermentación (ALG 804-DSM) produce hasta 15°GL a 20°C, con lo que la levadura utilizada para la segunda fermentación en las condiciones de trabajo mostró una muy buena adaptación y producción de alcohol.

Este resultado concuerda al obtenido por ([Puig-Deu, M., Lóez-Tamames, S. Buxaderas, M.C., 1999](#)) en espumantes elaborados con uvas de las variedades Macabeo y Parellada donde el uso de tratamientos combinados de clarificación (microcelulosa cristalina y caseinato) dio fermentaciones más completas, con menos contenido de azúcar residual, probablemente por la absorción de sustancias inhibitoras por parte de estos agentes de clarificación, tal como lo indican los proveedores.

El pH, resultante en todos los espumantes presentó valores cercanos a los sugeridos para el Cava (2,8-3,3) ([BOE189278:37587-93, 1991](#)) el contenido de SO₂ total fue muy inferior al límite superior establecido para este producto.

V.4.3 Influencia del proceso de clarificación en las características de calidad más relevantes en los Espumantes de naranja.

La etapa de clarificación es de fundamental importancia tanto del punto de vista tecnológico como sensorial, un diseño factorial de tipo screening nos permitirá comprender el impacto de dos o más factores categóricos, determinando, si hay o no interacción entre los mismos, así como también si existen o no

diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los diferentes niveles de los factores.

Los factores evaluados y los niveles seleccionados se presentaron en la (Tabla V.2). Como variables de respuesta se eligieron dos grupos de datos:

-Variables relacionadas con la calidad sensorial:

- Aspecto visual: Luminosidad (L^*), saturación (C^*) y tonalidad (h^*) de los espumantes.

- Sabor: Contenido de Azúcares totales, acidez total, principales ácidos orgánicos, etanol y glicerol.

-Variables relacionadas con la calidad tecnológica:

-Contenido de proteínas

- Principales grupos de compuestos que aportan al aroma

Para determinar qué factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre cada una de las variables de respuesta los resultados experimentales se analizaron mediante un análisis de ANOVA multifactorial (con un $\alpha=0,05$). En las Tabla V-5 y Tabla V-6 se presentan los valores de las respuestas relacionadas con el tratamiento aplicado a los Vinos espumantes de naranja para cada uno de los niveles y factores ensayados.

El análisis estadístico revela que de los tres factores evaluados (bentonita, filtración y tiempo), dos (filtración y tiempo) influyen positiva y significativamente en el parámetro (L^*) con un nivel de confianza del 95% y que la bentonita aunque no significativamente mostró el mismo efecto en la luminosidad de los espumantes; no existiendo interacciones estadísticamente significativas entre ninguno de los factores; para el parámetro (C^*), ningún p-valor es menor que 0,05.

Para el ultimo atributo de color (h^*), el resultado ANOVA muestra que dos de los factores principales (bentonita y filtrado) y el total de sus interacciones presentan efecto significativo en la tonalidad del color. El tono está relacionado a los parámetros a^* y b^* por medio de la ecuación: $h^*=\text{arc tg } (b^*/a^*)$; estos parámetros hacen referencia al color verde cuando la medición de “a” es negativa y rojo cuando es positiva. Para la variable “b” el color es amarillo cuando la medición proporciona un dato positivo y azul cuando es negativo.

De los gráficos de interacción (Figura V-6) podemos observar que cuando los espumantes fueron obtenidos a partir de un vino base filtrado, a los 6 meses en

contacto con las borras el ángulo de la tonalidad aumenta hacia el color amarillo; por otro lado la menor diferencia de matiz se dio en vinos espumantes no filtrados que fueron tratados con la mayor concentración de bentonita, por lo que entorno al nivel de 0,5 g/L de bentonita se obtendrían espumantes con menores diferencias de tonalidad.

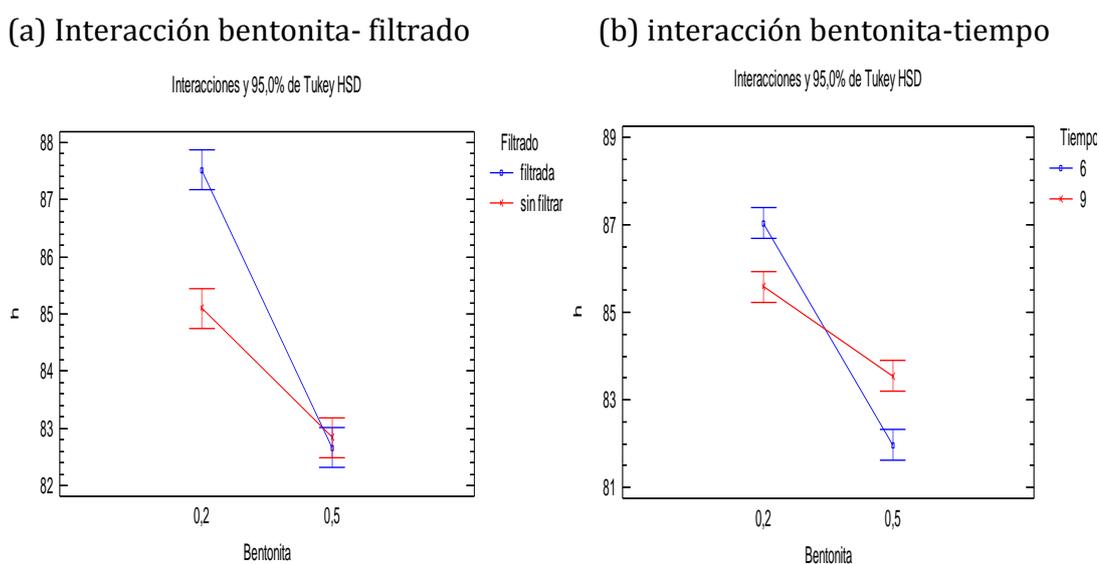


Figura V-6 Gráfico de las interacciones para la respuesta (h) tono.

Podemos decir además que las coordenadas de color de los ocho vinos espumantes de naranja han dado un producto de características similares a las que se esperan para un vino tipo Cava, definido en el Pliego de condiciones Denominación de Origen Protegida “Cava” que hace referencia a las características organolépticas que deben presentar estos vinos, definiendo al mismo como: limpio, brillante y sin partículas en suspensión y que presentará color amarillo, de tonalidades diversas, del amarillo pálido al amarillo paja, pudiendo tener algún matiz verdoso.

Los azúcares totales, la acidez total y los principales ácidos orgánicos también fueron estudiados mediante un análisis ANOVA multifactorial, no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$) en ninguno de los factores y niveles estudiados.

El etanol y el glicerol también son parámetros importantes directamente relacionados a la calidad y percepción global de los vinos (Mandeep Kaur *et al.*

2013). Dos de los factores principales estudiados (bentonita y filtrado) exhibieron p-valor < 0,05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el alcohol con un 95% de nivel de confianza, el tiempo no es un factor que incide en el contenido de alcohol, esto estaría de acuerdo con lo reportado por (Alexandre, H., & Guilloux-Benatier, 2006; Torresi et al., 2011) de que la segunda fermentación ocurre entre 0,5 y 1,5 meses; la sobrepresión alcanzada en los espumantes estuvo en un rango de 7,7 y 7,9 atm la medición de la misma se realizó por afrómetro y en una botella por tratamiento. En los gráficos de la Figura V-7 podemos ver el efecto de las variables principales en sus diferentes niveles.

(a) Interacción bentonita-tiempo

(b) interacción bentonita-filtrado

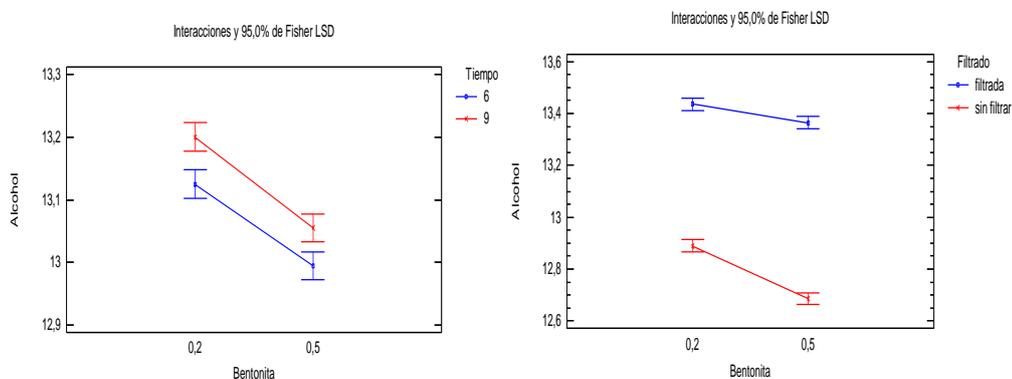


Figura V-7 Gráfico de las interacciones para la respuesta alcohol

El glicerol es probablemente el constituyente químico del vino más importante después del agua y del etanol, su tenor mínimo en vinos es igual a 5 g/L, pero puede alcanzar en función de las condiciones de fermentación valores de 15 a 20 g/L (Ribéreau-Gayón, P., Glories, Y., Maujean, A., 2003) en vino de naranja fueron informados por Ferreira y Schwab, (2006) valores medios del orden de 5,5 g/L, muchos trabajos y desde hace mucho tiempo reportan sobre la importancia de este compuesto en el vino (Vogt, 1972, 1986; Rankine and Bidson, 1971; Noble and Bursick (1984); Noble and Bursick (1984); Nurgel and Pickering, 2005; Gawel et al. (2007); Mandeep Kau et al., 2013), su interés radica en la contribución a las sensaciones en boca que produce, en el caso de los vinos secos su sabor azucarado se agrega al del alcohol etílico; contribuye a la suavidad y al efecto de aterciopelado.

Se ha indicado que las cantidades de glicerol necesarias para producir un incremento detectable sensorialmente en el dulzor es de 5,2 g/L (Lubbers, S., Verret, C. and Voilley, 2001) los espumantes de naranja produjeron este compuesto en un rango de 6,49-7,21. No presentando diferencias estadísticamente significativas entre los valores de sus medias.

El contenido de etanol y su relación con el contenido de proteínas también es interesante de analizar ya que de acuerdo a los trabajos realizados por (Vanrell, Guillem., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J.M, Zamora, 2007), en el vino base y su correspondiente Cava se produce una pequeña disminución del conjunto de proteínas y esta disminución puede ser atribuida al incremento de la concentración de etanol que tiene lugar durante la toma de espuma y que puede desnaturalizar parte de las proteínas presentes, en el caso de los espumantes de naranja el contenido de proteínas a los nueve (9) meses de contacto con sus borras y del vino base que les dio origen no presentó diferencia estadísticamente significativa entre los valores de sus medias. (Tabla V-7).

Sin embargo los espumantes que solamente fueron tratados con bentonita presentaron valores de proteína levemente más bajos. Si bien las proteínas son constituyentes minoritarios del vino, son grandes contribuyentes a la calidad del mismo; de hecho son responsables por la sensación de “cuerpo”, actúan reteniendo compuestos volátiles y tienen un efecto positivo en la estabilidad de la espuma (Torresi et al., 2011), en los espumantes de naranja el contenido detectado en los mismos fue muy superior a los reportados en otros trabajos de vinos espumosos elaborados a partir de variedades tradicional y no tradicionales; (Caliari et al., 2014) con uvas Moscato Embrapa y Niagara informo 42-40 mg.L⁻¹ respectivamente mientras que en espumantes de obtenidos de Sauvignon Blanc el contenido fue del orden de 20,3 mg.L⁻¹

Tabla V-7 Valores medios y desviación estándar del contenido de proteína en (ppm)

Muestras	Proteína (ppm)	Muestra	Proteína (ppm)
EB02-6	169,98 ± 2,91 ^a	EB02-9	161,65± 3,96 ^a
EB05-6	158,99± 4,32 ^a	EB05-9	158,04±4,75 ^a
EF02-6	166,42± 3,97 ^a	EF02-9	165,66±7,84 ^a
EF05-6	163,20± 4,99 ^a	EF05-9	164,00±3,22 ^a
p-valor	>0,05		>0,05

Muestras con la misma letra en la columna no difieren estadísticamente por el test de LSD de Fisher (p<0,05)

Una de las desventajas percibidas por el uso de bentonita como agente de afinamiento es que se piensa que la misma reduce el flavor y aroma en el vino. Esta percepción no está soportada por evidencias fuertes en los rangos operacionales normales de adición de bentonita durante la fabricación (Waters,E.J., & Colby, 2009)

La caracterización de la composición química del vino (sustancias volátiles y no volátiles) distinguen su sabor y aroma y por lo tanto su calidad e identidad (Villena et al., 2006). Los compuestos volátiles determinan la calidad de cada vino, especialmente ésteres y alcoholes superiores producidos durante la fermentación alcohólica (Valero, E., Moyano, M., Millan, M., Medina, M., Ortega, 2002), estos compuestos usualmente por las altas concentraciones en las que están presentes son denominados productos de fermentación (Lambrechts, M. G. y Pretorius, 2000). La **Tabla V-8** muestra los principales grupos de compuestos volátiles libres encontrados en los vinos espumantes de naranja.

Tabla V-8 Concentración en ($\mu\text{g/L}$) de los principales grupos aromáticos de los Vinos espumantes de Naranja.

MUESTRAS	ESTERES	ALCOHOLES	ACIDOS	TERPENOS
EB02-6	56165± 7512	151446± 16609	13764± 2287	1320±108
EF02-6	59905± 29797	71600± 32804	8997± 1694	1119±148
EB05-6	26180± 9916	97931± 44934	4747± 1805	827±169
EF05-6	62489± 38537	83444± 9915	4757± 898	1187±261
EB02-9	37595± 16537	80674± 15552	11137± 5280	1160±8,50
EB05-9	57643± 1320	103109± 2233	4997±907	1472±73
EF02-9	60750± 31673	71922± 33259	12340±6275	836±178
EF05-9	47031± 1912	99874± 49265	8577±269	1116±71
p-valor	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05

Los resultados del ANOVA Multifactorial para las variables de respuesta ésteres, alcoholes, ácidos y terpenos muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas para cada uno de factores principales ensayados y sus niveles, así como tampoco en sus interacciones a un nivel de confianza ($\alpha=0,05$).

Al analizar los gráficos de los efectos principales (**Figura V-8**) para cada una de las variable de respuesta podemos decir que para la variable de respuesta ésteres, la mayor concentración se da en espumantes que fueron filtrados tratados con la menor concentración de bentonita, que y permanecieron nueve meses en

contacto con sus borras; la variable de respuesta alcoholes presentó concentraciones más altas en los espumantes más jóvenes (6 meses de contacto con las borras) no filtrados y tratados con la mayor concentración de bentonita ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$).

Los ácidos disminuyen con la mayor concentración de bentonita ($0,5 \text{ g.L}^{-1}$) y con el tiempo de contacto con las lías (9 meses), mientras que la operación de filtrado no parece tener mucha influencia en la respuesta de esta variable.

Los terpenos también fueron estudiados mediante este análisis, dentro de esta familia los monoterpenos y sesquiterpenos son susceptibles de ser odoríferos, sus umbrales de percepción son bastante bajos, van desde algunas decenas a algunas centenas con descripciones olfativas de Rosa para el Linalol y de lirio para el α -terpineol (Riberáu-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., 2003) como el origen de estos compuestos en los vinos es varietal podemos decir que los niveles de tratamiento que menos influencia tiene sobre este grupo de compuestos son $0,2 \text{ g.L}^{-1}$ de bentonita, filtrado y 6 meses de contacto con las borras. El estudio de estos grupos de compuestos aromáticos será ampliado en el capítulo VI.

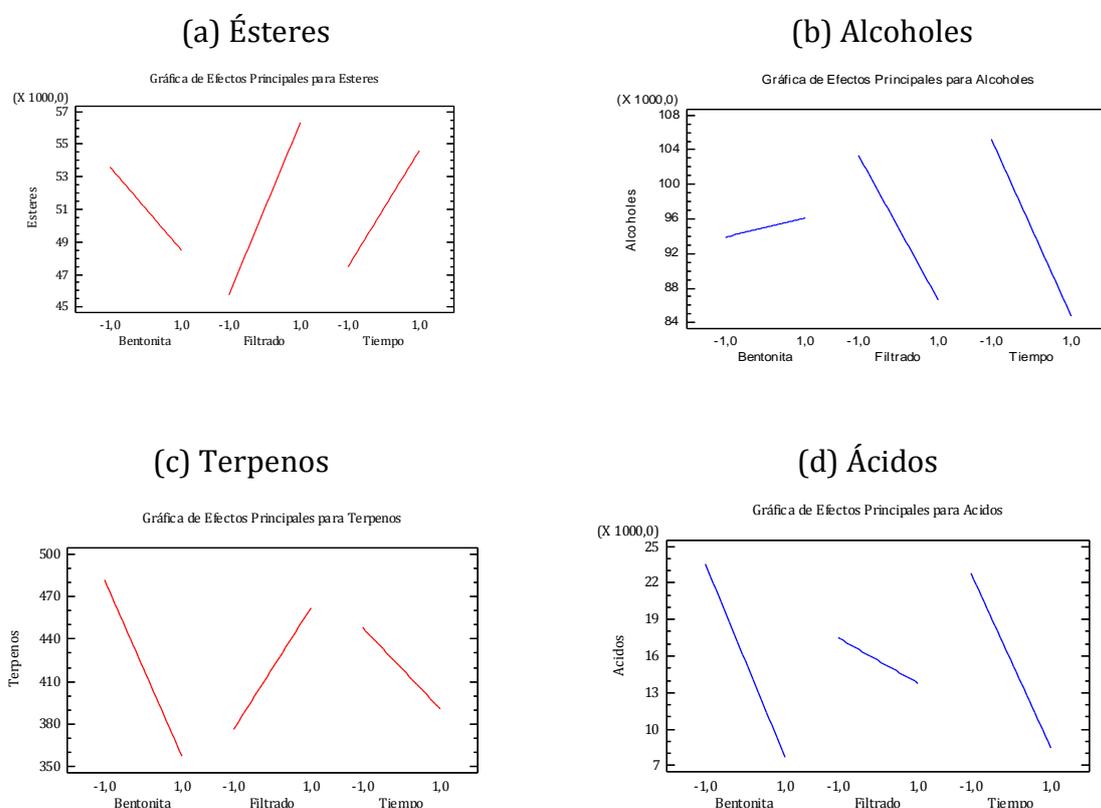


Figura V-8 Gráfico de los efectos principales para las respuestas (a) Ésteres, (b) Alcoholes, (c) Terpenos, (d) Ácidos

V.5 Conclusiones

Comparando los resultados de los parámetros enológicos básicos para el control de la calidad de un vino base, que será sometido a segunda fermentación podemos decir que:

- El vino base de naranja presentó un adecuado grado alcohólico, acidez elevada y bajo pH indicando que esta materia prima posee un buen potencial para la elaboración de vino espumoso.

- De los resultados de la evaluación sensorial del vino base el sabor y el aroma afrutado fueron dos de los atributos predominantes, la intensidad del color también resultó apropiado, ubicándose más cercano al extremo definido como amarillo pálido

De la evaluación de los parámetros enológicos básicos para los vinos espumantes de naranja podemos decir que:

- Las ocho muestras estudiadas presentaron valores en sus parámetros fisicoquímicos similares a los esperados para vinos tipo espumosos. Nuevamente la acidez total se manifestó por encima de lo recomendado, debido a que la misma es un rasgo inherente de la materia prima.

- La luminosidad y el grado alcohólico fue superior en los Vinos espumantes de naranja clarificados por filtración, con valores de L^* por encima de los 94 y tenor de alcohol con encima de los 13,33 °GL.

- Durante el proceso de vinificación y envejecimiento se observó que a los 6 meses de contacto con las borras, la absorbancia ($A_{\lambda 420}$) de los Vinos espumantes de naranja disminuyó, para luego, en los 3 meses siguientes, hasta completar los 9 meses de contacto con las borras, volver a aumentar, debido probablemente a una absorción y posterior liberación de los compuestos fenólicos durante este proceso (aumento del Índice de Amarronado).

- Otro aspecto a destacar es que ni las proteínas, ni los principales grupos aromáticos se vieron significativamente afectados en las condiciones de diseño estudiadas.

- La clarificación mediante filtración redujo la cantidad de borras lo que facilitó la operación de degüelle, ocasionando menores pérdidas de líquido y por lo

tanto menor adicionado de licor de expedición para alcanzar el volumen final en cada botella.

- Tecnológicamente se puede decir que tanto el filtrado como los niveles de bentonita estudiados dieron por resultado vinos de gran limpidez, estables en el tiempo.

RECEPCION DE LA MATERIA PRIMA –PREPARACIÓN DEL MOSTO- 1ª ETAPA FERMENTACIÓN



OPERACIÓN DE FILTRADO



AGREGADO DEL LICOR DE TIRAGE



ESPUMANTE FILTRADO



ESPUMANTE SIN FILTRAR



Figura V-9 Etapas del proceso de obtención de Vino Espumantes de Naranja

CAPITULO VI

Estudio de la fracción aromática libre en los Vinos espumantes de naranja

VI.1 Introducción

El estudio de los constituyentes aromáticos en alimentos ha sido un desafío para numerosos investigadores durante las últimas cuatro décadas; su desarrollo unido al del análisis instrumental, concretamente la cromatografía gaseosa, ha permitido la apertura de un nuevo campo de investigación con numerosas posibilidades de aplicación en la industria alimentaria (Bueso Jordán M^a José, 1999; Carrau, F., Boido, E., Gaggero, C., Medina, K., Fariña, L., Disegna, E., Dellacassa, 2011)

Las técnicas extractivas y pre-separativas disponibles y las técnicas cromatográficas de alta resolución acopladas a métodos de análisis estructural cada vez más sofisticados, permitieron acceder a un conocimiento más profundo de los constituyentes volátiles del aroma de un vino (Boido, 2002); siendo la cromatografía gaseosa acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) el método analítico elegido para la separación y mejor determinación (identificación y cuantificación) de los compuestos volátiles presentes en matrices complejas (Cerdán-Calero, Sendra, & Sentandreu, 2012), sumado a esto la elección de la técnica de extracción de los compuestos responsables del aroma que represente cualitativa y cuantitativamente el aroma original del vino ha sido uno de los mayores desafíos en la investigación, con objetivo el de obtener un extracto que contenga todos los compuestos volátiles del vino original, sin tener alteración, degradación o formación de artefactos (Boido, E. Versini, G., Dellacassa, E., Carlin, S Fedrizzi, B., 2008)

Entre las técnicas de extracción utilizadas en el análisis de aromas del vino se encuentran las extracciones líquido-líquido, técnicas de análisis de espacio de cabeza, extracción en fase sólida (SPE) y más actualmente microextracción en fase sólida (SPME) (Carrau, F., Boido, E., Gaggero, C., Medina, K., Fariña, L., Disegna, E., Dellacassa, 2011), a continuación se describirá la extracción en fase sólida y sus ventajas ya que es el método seleccionado para la caracterización de los espumantes.

VI.1.1 Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida (SPE) se presenta, por sus beneficios y ventajas sobre las técnicas tradicionales como la extracción líquido-líquido, como la técnica más potente disponible para la preparación rápida y selectiva de muestras.

A modo de ejemplo, en la [Figura VI-1](#) se esquematizan los procedimientos para conseguir la adsorción y desorción de los compuestos volátiles libres en una muestra de vino, mediante la utilización de un cartucho ISOLUTE_ ENV+. Las características de la fase utilizada en este trabajo, Isolute_ ENV+, se describen a continuación:

VI.1.2 Cartucho ISOLUTE_ ENV+

Es una resina polimérica del tipo estireno divinil benzeno, que se presenta en la forma de cartuchos, es un medio adsorbente muy hidrofóbico especialmente derivatizado con la presencia de grupos fenoles ([Figura VI-2](#)), lo que le confiere una superficie fácilmente hidrofílica, eliminando la necesidad del acondicionamiento previo en el uso con soluciones acuosas, y presentando una gran capacidad de adsorción ([IST, 2001](#)).

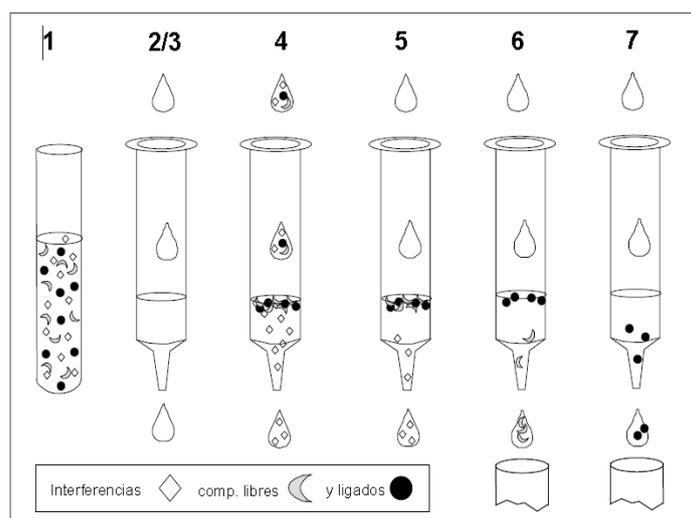
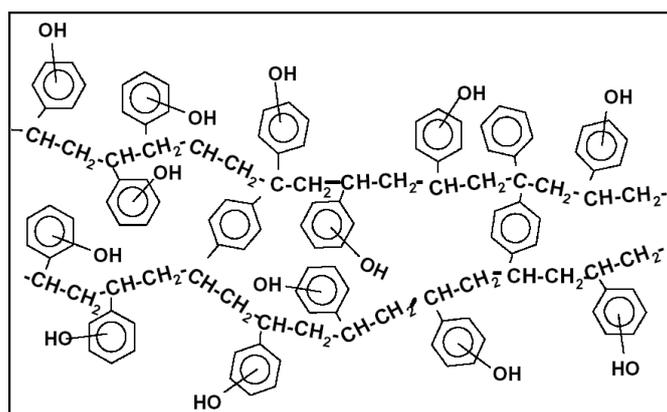


Figura VI-1 Esquema del procedimiento de retención y elución de los distintos compuestos aromáticos del vino para el caso del cartucho ISOLUTE® ENV+. (Adaptado de International Sorbent Technology (2001))

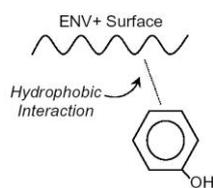
- 1 – Pretratamiento de la muestra. En el caso del vino no es necesario, se utiliza la muestra diluida al medio.
- 2/3 – La fase ENV+ puede ser usada para el vino sin realizar la etapa de solvatación y equilibrio, sin embargo es recomendable realizar un lavado de la fase con solventes miscibles en agua como el metanol, con lo cual se logra la eliminación de interferencias, debiendo realizar un posterior lavado con agua.
- 4 – Pasaje de la muestra, 4-5 mL/min.
- 5 – Elución de interferencias con agua.
- 6 – Elución de los compuestos volátiles libres con diclorometano, recuperándose para su análisis.
- 7 – Elución de los compuestos glicosidados con metanol, recuperándose para su análisis.



Adaptado de E.M. Thurman, M.S. Mills. Solid-Phase Extraction Principles and Practice. John Wiley & Sons, Inc., New York, 1998

RETENCIÓN

Interacciones hidrofóbicas entre el analito y la superficie del polímero, retienen al analito durante la carga



ELUCIÓN

Un solvente que puede interrumpir las interacciones hidrofóbicas, como el metanol, eluye al analito

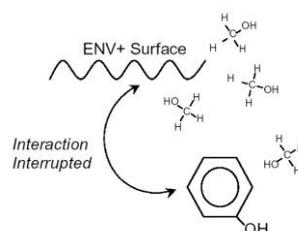


Figura VI-2 Estructura de la fase utilizada en el cartucho ISOLUTE® ENV+ formado por una estructura básica de poliestireno derivatizado.

VI.1.3 Compuestos responsables del Aroma en los Vinos Espumantes

En los vinos espumantes los compuestos volátiles tienen tres orígenes:

-*aromas primarios* provenientes de la uva, generalmente presentes en productos jóvenes y *aromas prefermentativos*, estos pueden tener una influencia positiva en la calidad del vino (maceración en frío de los aromas) o efecto negativo derivado de un almacenamiento y procesamiento inadecuado de la uva.

-*aromas secundarios*: originados en la primera y segunda fermentación en botella, principalmente afectados por el mosto y la calidad del vino base; temperatura de fermentación y la levadura y finalmente,

- *aromas terciarios* provenientes de la maduración del vino sobre las borras y de la lisis celular por las levaduras, después de un largo período de añejamiento (Parodi, 2002; Torresi et al., 2011; Ubigli, 2004).

Aunque hay muchos factores involucrados en la composición química de los espumantes tales como las características del vino base (Hidalgo, p., Pueyo, E., Pozo-Bayón, M.A., Martínez-Rodríguez, A.J., Martínez-Alvarez, P., & Polo, 2004; Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Buxaderas, 2010b), para los espumantes producidos por el método tradicional las transformaciones en la composición volátil ocurren en la segunda fermentación y el añejamiento, ambos son factores claves en el perfil aromático y afectan las cualidades sensoriales de los espumantes.

Durante el añejamiento del vino sobre las lías, simultáneamente la degradación y síntesis de compuestos volátiles ocurre, resultando predominante en cualquier momento cualquiera de estos dos procesos (Pozo-Bayón, Pueyo, Martín-Álvarez, Martínez-Rodríguez, & Polo, 2003). Las enzimas liberadas durante la autólisis de la levadura causan el incremento de algunos aromas varietales (Francioli, Torrens, J., Riu-Aumatell, M., López Tamames, E., & Buxaderas, 2003; Riu-Aumatell, M., Bosch-Fusté, J., Lopez Tamames, E., Buxaderas, 2006), mientras que la mayoría de los compuestos hidrofóbicos pueden absorberse sobre lías de levadura reduciendo su concentración en los vinos espumantes añejados (Pozo-Bayón et al., 2009).

Muchos compuestos volátiles son formados durante la autólisis (Hidalgo, p., Pueyo, E., Pozo-Bayón, M.A., Martínez-Rodríguez, A.J., Martínez-Alvarez, P., & Polo,

2004) algunos con bajos niveles de percepción. Los ésteres son la familia de compuestos volátiles con mayor importancia liberados durante el proceso de autólisis. Diferentes autores describen que la calidad de los vinos espumosos se relaciona con la concentración de esteres tales como el caproato, caprato y caprilato de etilo, acetato de amilo, acetato de 2-feniletilo, succinato de dietilo.

Aunque se acepta que la segunda fermentación y al añejamiento por contacto con las lías altera el perfil aromático de los vinos espumosos (Francioli, Torrens, J., Riu-Aumatell, M., López Tamames, E., & Buxaderas, 2003) el impacto de estos compuestos en las propiedades sensoriales de los espumantes es pobremente entendida y está sujeta a mayores estudios.

VI.1.4 Aromas Varietales:

Contrariamente a la uva, que es un fruto poco aromático, en la naranja el aroma de la misma es uno de los atributos de calidad más importante; se sabe que el jugo de naranja es uno de los de mayor consumo mundial y uno de los factores condicionantes de este hecho es la calidad de su fracción aromática (Shaw, P.E., Buslig, B.S., Moshonas, 1994).

Muchos han sido los investigadores que dedicaron sus esfuerzos a identificar el aroma del jugo de naranjas (Baxter, Easton, Schneebeli, & Whitfield, 2005; Cerdán-Calero et al., 2012; Selli et al., 2004) ya que es bien conocido el hecho de que sin aroma, un zumo de naranjas no es más que una solución azucarada y acidulada.

Los contribuyentes importantes al flavor del jugo de naranjas incluyen esteres, aldehídos, cetonas, terpenos y alcoholes (Nisperos-Carriedo, M.O., Shaw, 1990). El mayor contribuyente al sabor y aroma del jugo fresco es el grupo de los terpenos, este grupo está constituido sobre todo por compuestos volátiles localizados en sacos en el flavedo los cuales son arrastrados parcialmente al jugo durante la extracción mecánica (Cerdán-Calero et al., 2012).

En el caso de la naranja y el vino de naranja se han identificado una gran cantidad de compuestos terpénicos (Figura VI-3), siendo algunos de estos compuestos los siguientes:

a – *hidrocarburos monoterpénicos* (C₁₀) como limoneno (i), α-terpineno (ii), γ-terpineno, α-pineno y mirceno, o sesquiterpenos (C₁₅) como valenceno.

b – *alcoholes monoterpénicos* muy aromáticos como linalol (iii), α-terpineol (iv), nerol (v), geraniol (vi), citronelol (vii) (Tabla VI-1).

c – *aldehídos* como el geranial, neral y citronelal, los cuales son muy aromáticos pero con aromas menos florales que los alcoholes correspondientes.

Tabla VI-1 Descriptores del aroma y umbral de percepción de los principales terpenos reportados en vinos y otras matrices

Compuesto	Descriptor	Umbral (µg.L ⁻¹)	Medio	Referencia
Linalol	Floral, coriandro, lavanda, bergamota	0,006	Agua	4,7
		0,01	Sim. Vino	3
		0,05	Vino	6
		0,08	Cerveza	1
α-terpineol	Floral, pino	0,28-0,35	Agua	4,7
		0,40	Vino	6
		2	Cerveza	1
Citronerol	Dulce, floral	0,04	Agua	5
		0,10	Sim. Vino	3
		0,018	Vino	6
Nerol	Lima,rosa, Jacinto	0,3	Agua	5
		0,4	Vino	6
		0,5	Cerveza	1
Geraniol	Frutado, floral	0,075	Agua	2
		0,03	Sim. Vino	3
		0,13	Vino	6

1 Meilgaard (1985); 2 Pyysalo et al. (1977); 3 Guth (1997b); 4 Buttery et al. (1971); 5 Ohloff (1978b); 6 Ribereau-Gayon et al. (1998); 7 Ahmed et al. (1978); 8 Simpson (1979); 9 Terrier et al. (1972)
(Adaptado de Boido, 2001)

El limonenolimoneno es el compuesto predominante del jugo de naranja, y es considerado uno de los mayores contribuyentes del flavor de la misma (Fan et al., 2009; Nisperos-Carriedo, M.O., Shaw, 1990; Selli et al., 2004; Shaw PE, 1991), su umbral de percepción en una matriz de jugo de naranja desodorizado es de 13,7 ppm; el Valenceno y el Mirceno fueron reportados como los compuestos más abundantes después del limoneno en el jugo de las variedades Qixue Cheng y en el jugo y aceite de cáscara de naranja de la variedad Kozan (Fan et al., 2009; Selli et al., 2004)

En relación a los compuestos terpénicos en los vinos de naranja, se ha encontrado que el linalol, citronelol, α-terpineol, nerol y geraniol son importantes contribuyentes al aroma del vino debido a sus bajos umbrales de percepción (Selli,

S., Canbas, A. and Cabaroglu, 2003) y que el linalol, el terpinene-4-ol y el α -terpineol se encuentran entre los más abundantes.

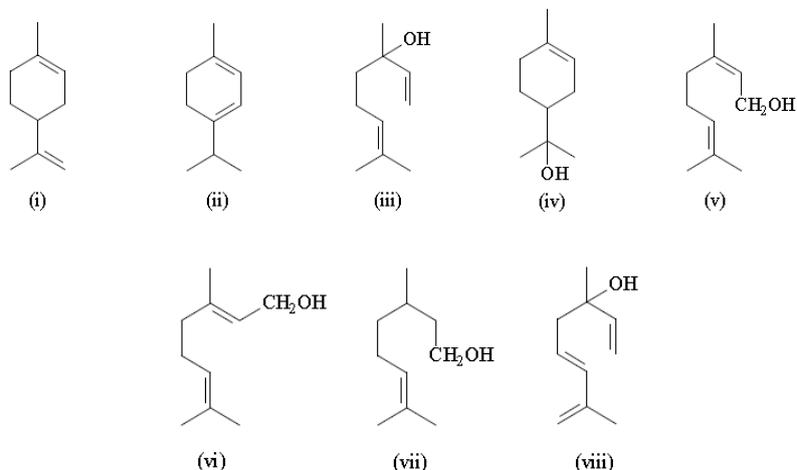


Figura VI-3 Principales compuestos terpénicos reportados en naranja y vinos de naranja

Por otra parte en la elaboración de vino, también otros compuestos presentan propiedades odoríferas interesantes y contribuyen al aroma varietal, como ser los norisoprenoides que provienen de la degradación química o enzimática de los carotenos; o las metoxipirazinas por su rol en el aroma herbáceo de ciertos cepajes como el Cabernet Sauvignon (Riberáu-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., 2003) o la contribución de los precursores de origen fenolicos; en los vinos de naranja por lo menos dos de los fenoles volátiles se han reportado en la mayor parte de los trabajos, el 4-vinil-fenol y el 4 vinil-guyacol (Fariña,L., Boido,E., Carrau, F., Dellacassa, 2007)

Por último existe otro grupo de compuestos caracterizados por ser azufrados, responsable de aromas varietales aunque por mucho tiempo muchos de ellos fueron considerados como responsables de defectos (B. Fedrizzi, F. Magno, S. Moser, G. Nicolini, 2007)

VI.1.5 Aromas Pre- fermentativos

Para el caso de la uva, son aquellos que se originan durante los procesos a los que se somete la misma, desde la cosecha hasta el principio de la fermentación alcohólica (proceso de prensado para obtener el mosto), la acción de estrujado en presencia de oxígeno permite que comiencen a actuar complejos enzimáticos, por

lo que las reacciones son oxidaciones enzimáticas sobre ácidos grasos, siendo el principal sustrato de estas enzimas, los ácidos linoléico y linolénico.

Estos complejos enzimáticos están formados por enzimas que actúan secuencialmente: lipasas, lipoxigenasas, enzimas de ruptura o fragmentación de cadenas, isomerasas y alcohol deshidrogenasas (Bayanove, C., Baumes, R., Cruzet, J., & Günata, 2000).

El aroma prefermentativo lo forman generalmente aldehídos y alcoholes de C₆, responsables de los aromas y sabores verdes, herbáceos, y en algunos casos amargos (Riu-Aumatell, M., Bosch-Fusté, J., Lopez Tamames, E., Buxaderas, 2006; Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Bouxaderas, 2010).

VI.1.6 Aromas Fermentativos

La fermentación alcohólica es la transformación anaerobia de azúcares, principalmente glucosa y fructosa, en etanol y dióxido de carbono:



Este proceso que no es solamente llevado a cabo por las levaduras sino también por algunas bacterias tales como *Zymomonas mobilis*; es afortunadamente mucho más complejo ya que al mismo tiempo que la reacción general se lleva a cabo un serie de otros procesos bioquímicos, químicos y fisicoquímicos, haciendo posible la transformación de la uva en vino; sin la producción de alcoholes superiores, ésteres, glicerol, ácido succínico, diacetilo, acetoina y 2,3 butanodiol y otros compuestos del jugo de uva que son transformados por el metabolismo de las levaduras, el vino tendría poco interés organoléptico (Zamora, 2009).

El etanol es el segundo compuesto mayoritario después del agua, puede estar presente en concentraciones que varían del 8 al 16% en vol. dependiendo del grado de maduración del fruto y la forma de preparación del vino (Ugliano, M., Bartowsky, E. J., Mc Carthey, J., Moio, L., & Henschke, 2006), interviene en el aroma en forma directa debido a que las cantidades producidas son muy superiores a su umbral de percepción el cual ha sido reportado con valores de 8-200 mg.L⁻¹ en agua (Boido, 2002); una concentración excesiva de etanol en vino

modifica en forma significativa la volatilidad y los umbrales de percepción de la mayoría de los compuestos volátiles del vino (Z. Aturki, V. Braudi, 2004) afectando al equilibrio y a la expresión relativa de las diferentes series aromáticas Goldner, et al., (2009), observaron que con mayores graduaciones alcohólicas se destacan los aromas herbáceos, mientras que con bajos contenidos de etanol predomina la serie frutal (Escudero et al., 2008)

Los compuestos cuantitativamente más importantes del sabor y aroma son los alcoholes superiores y sus ésteres y ácidos volátiles asociados, formados a partir de los aminoácidos.

Los alcoholes cuantitativamente mayoritarios procedentes del metabolismo de la levadura son el etanol y el glicerol, seguidos por los dioles y los alcoholes superiores alifáticos (1-propanol, 2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol) y aromáticos (2-feniletanol). Estos últimos se encuentran presentes en un rango de concentración entre 100 y 500 mg/L (Lambrechts, M. G. y Pretorius, 2000).

Por lo que se refiere a los ésteres, su producción transcurre en paralelo a la formación del etanol. Aunque se producen en pequeñas cantidades son los compuestos que determinan en mayor intensidad el aroma secundario del vino. El éster mayoritario en vinos es el acetato de etilo y tiene connotaciones aromáticas no deseables (Lambrechts y Pretorius, 2000), pero también se forman otros ésteres de alcoholes superiores (acetato de isobutilo, de isoamilo, de 2-feniletilo) y de ácidos grasos de cadena corta (caproato de etilo, caprilato de etilo) conocidos como “ésteres afrutados” que son responsables del aroma frutal y floral de los vinos.

La presencia de acetato de isoamilo y también la del acetato de 2-feniletilo en el mosto fermentado se considera una cualidad positiva que inspira fragancias afrutadas y por consiguiente, realza la calidad del producto.

Además de estos compuestos, las levaduras sintetizan también otros compuestos aromáticos minoritarios que incluyen: i) aldehídos producidos por la oxidación de los alcoholes (acetaldehído), ii) cetonas y ácidos orgánicos cuyo impacto sensorial sobre el aroma del vino es muy débil (acetona, acetoína, 2, 3-pentadiona y ácido acético), iii) fenoles procedentes del metabolismo de la microflora o bien de la hidrólisis de polifenoles presentes en la uva (4-vinilfenol, 4-

vinilguaiacol), y iv) compuestos orgánicos sulfurados derivados del metabolismo de aminoácidos azufrados (SH₂) (Lambrechts, M. G. y Pretorius, 2000).

VI.1.7 Aromas terciarios o post-fermentativos

El aroma terciario, post-fermentativo o bouquet aparece como consecuencia de una serie de reacciones enzimáticas y/o físico-químicas que tienen lugar en el proceso de envejecimiento y crianza del vino, y en el caso de los vinos espumosos esta formado por todos aquellos compuestos que se originan durante la crianza sobre las lías.

La mayoría de los estudios relacionados con los cambios en la composición volátil durante el envejecimiento sobre las lías son contradictorios. Algunos autores muestran un incremento en ésteres etílicos y en alcoholes durante la crianza sobre lías (Francioli, Torrens, J., Riu-Aumatell, M., López Tamames, E., & Buxaderas, 2003; Hidalgo, p., Pueyo, E., Pozo-Bayón, M.A., Martínez-Rodríguez, A.J., Martínez-Alvarez, P., & Polo, 2004). Otros que durante esta etapa se produce la hidrólisis de algunos ésteres como los acetatos de alcoholes superiores, con lo que el vino se empobrece en compuestos relacionados con notas aromáticas más frescas y asociadas con aromas florales y frutales (Caliari, V., Prieto Panzeri, C., Pier Rosier, J., & Bordignon-Luis, 2015; Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Buxaderas, 2010a). También se ha observado una disminución de ésteres de acetatos y ácidos grasos debido a fenómenos de adsorción con las manoproteínas de las paredes celulares de las levaduras (Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Buxaderas, 2010a).

Por lo general la evolución del aroma durante el envejecimiento sobre las borras consiste en la pérdida de las notas características varietales y de matices de fermentación y la aparición de notas de crianza como tostadas y las lácticas (Styger et al., 2011; Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Buxaderas, 2010a).

La unión de los compuestos aromáticos formados durante la elaboración de los vinos espumosos, tanto procedentes de la segunda fermentación como también de la autólisis de las levaduras, junto a los existentes en el vino base procedentes de la variedad de la uva y la fermentación del mosto y todos ellos arrastrados y potenciados por el desprendimiento del gas carbónico, consiguen el desarrollo de

una característica gama de aromas, todos ellos muy sutiles y gran complejidad que definen el complejo perfil volátil de los vinos espumosos (Francioli, Torrens, J., Riu-Aumatell, M., López Tamames, E., & Buxaderas, 2003; Riu-Aumatell, M., Bosch-Fusté, J., Lopez Tamames, E, Buxaderas, 2006).

VI.2 Objetivos

1. Identificar y cuantificar los compuestos aromáticos libres en el vino base y los espumantes de naranja.
2. Determinar el perfil característico de los compuestos aromáticos libres para el vino base y los espumantes.
3. Evaluar las modificaciones que se producen en un número de compuestos volátiles como consecuencia de la primera y segunda fermentación y del proceso de clarificación.

VI.3 Materiales y Métodos

VI.3.1 Vinos base y Espumantes utilizados para el análisis

Para el análisis se utilizó el Vino Base (var. Valencia) y ocho (8) muestras de espumantes, con los tratamientos y niveles descritos en la (Tabla VI-2).

Tabla VI-2 Diseño experimental para el estudio de la fracción volátil libre de los vinos espumantes de naranja.

Muestra	Tratamiento de clarificación	Tiempo de contacto con las lías
EB02-6	0,20 g/L bentonita	6 meses
EF02-6	filtrado - 0,20 g/L bentonita	6 meses
EB05-6	0,50 g/L bentonita	6 meses
EF05-6	Filtrado-0,50 g/L bentonita	6 meses
EB02-9	0,20 g/L bentonita	9 meses
EF02-9	filtrado - 0,20 g/L bentonita	9 meses
EB05-9	0,50 g/L bentonita	9 meses
EF05-9	filtrado - 0,50 g/L bentonita	9 meses

VI.3.2 Extracción de los Componentes Volátiles

Para la extracción de los componentes volátiles se utilizó la técnica de extracción en fase sólida, la misma se realizó con cartucho ISOLUTE®ENV+ según el método puesto a punto por Carlin, (1998)

Se fraccionaron los aromas libres de 50 mL de vino, diluidos a 100 mL y adicionados de 0.1 mL de n-heptanol como estándar interno (solución hidroalcohólica al 50% con concentración 0.229 g/L), con cartuchos Isolute_ (IST Ltd, Mid Glamorgan, UK) ENV+ con 1 g de SDVB (estireno divinil benzeno) polímero (40-140 mm, cod. n°915-0100-C). Pevio al pasaje de la muestra el cartucho se acondicionó eluyendo 15 mL de metanol, seguido de 20 mL de agua. La fracción libre se eluyó con 30 mL de diclorometano, adaptando un sistema de depresión controlada para tener un flujo de 4-5 mL/min. Se recogió el solvente orgánico con la fracción libre, se anhidrificó con Na₂SO₄, se concentró hasta aproximadamente 3-4 mL en baño termostatzado a 40°C y pevio al análisis cromatográfico se concentró hasta aproximadamente 0.5 mL mediante corriente de N₂.

La identificación se realizó mediante GC-MS con un gascromatógrafo Shimadzu GC-17 acoplado con un detector de espectrometría de masa Shimadzu QP 5050. Las condiciones de trabajo fueron: columna capilar de silica fundida (25 m x 0.25 mm d.i.), fase estacionaria BP 20 (film de 0,25 µm de espesor) (SGE, Australia); programa de temperatura 40°C (6 min), 40-180°C a 3°C/min, 180-220°C a 10°C/min, 220°C (20 min); temperatura del inyector, 250°C; modo de inyección split, relación de split 1:40, volumen inyectado, 1.0 µL. Gas portador He, 92.6 kPa (55.9 cm/seg); temperatura de interface 250°C; rango de masas 40-400 uma. La identificación se realizó mediante bibliotecas de espectros de referencia (Adams, 1995) y librería propia realizada con estándares y datos reportados en la literatura.

La identificación de los compuestos se confirmó por medio de la determinación de índices de retención de Kovats, obtenidos mediante la inyección de un estándar del compuesto y la mezcla de n-alcanos. Cuantificación de compuestos aromáticos se realizó por medio de HRGC, en un cromatógrafo Carlo Erba 2900, equipado con detector de ionización de llama (FID) y software de

procesamiento de datos Shimadzu EZChrom. Se utilizaron las mismas condiciones descritas en la identificación por GC-MS. Temperatura del inyector 250°C, temperatura del detector 280°C; modo de inyección split, relación de split 1:30, volumen inyectado 0.5 µL.

VI.3.3 Análisis estadístico

Las diferencias en las concentraciones de los compuestos volátiles libres se evaluaron mediante el análisis de varianza considerando los efectos tratamiento de clarificación y tiempo de contacto con las borras.

Las diferencias entre las medias para las muestras con los diferentes tratamientos, se determinaron mediante el Least Significant Differences test (LSD test).

Se realizaron además, análisis de componentes principales (PCA). Los cálculos se realizaron con el programa STATGRAPHICS PLUS 5.0; FactoMineR (Lê, S., Josse, J., & Husson, 2008).

VI.4 Resultados y Discusión

En las Figuras VI-4 y VI-5 se muestran los cromatogramas típicos obtenidos por GC-MS (TICs –corriente iónica total-) para las fracciones libre del vino base y uno de los espumantes. En la Tablas VI-3 y Tabla VI-4 se presenta el listado de los compuestos identificados en el perfil de compuestos aromáticos libres respectivamente. Se indica además el índice de retención lineal para cada compuesto y el método por el cual se asignó la identificación a cada pico.

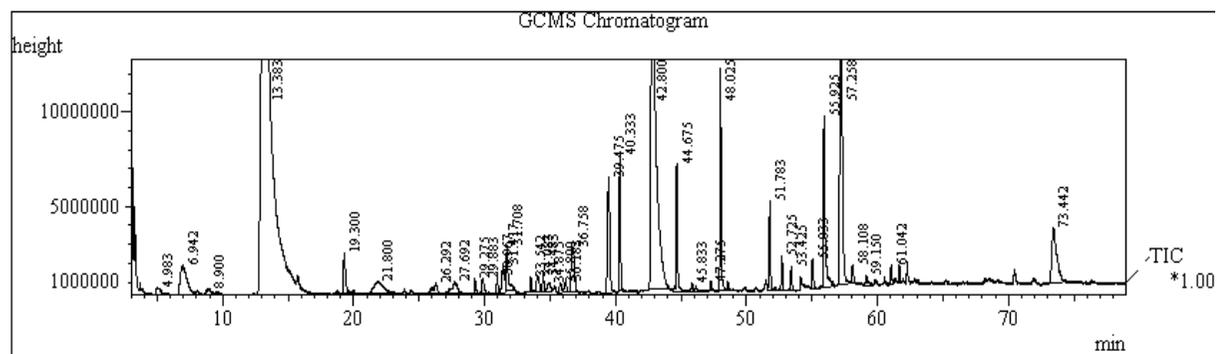


Figura VI-4 Perfil gascromatográfico de la fracción libre, extracción con cartucho ISOLUTE _ ENV+, del vino de naranja, obtenido en columna capilar de sílica fundida, fase estacionaria BP 20 (SGE, Australia)

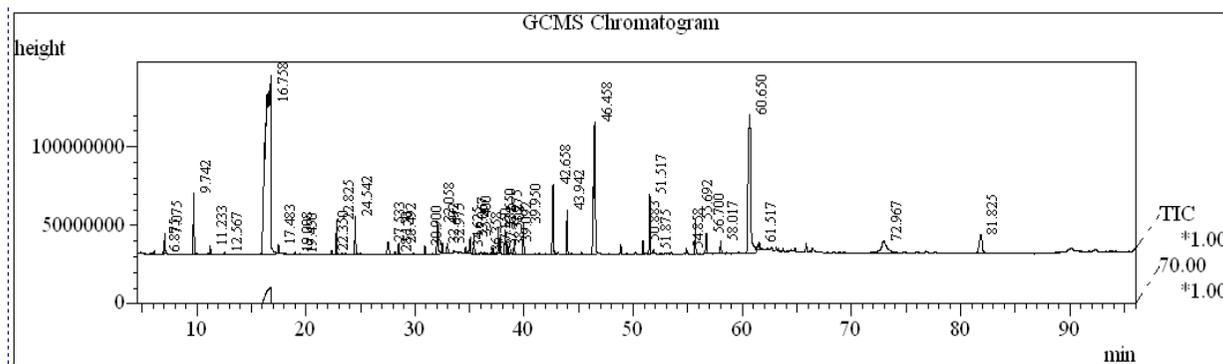


Figura VI-5 Perfil gascromatográfico de la fracción libre, extracción con cartucho ISOLUTE _ ENV+, de un espumante de naranja, obtenido en columna capilar de sílica fundida, fase estacionaria BP 20 (SGE, Australia)

Tabla VI-3 Listado de los compuestos aromáticos libres identificados en vino de naranja de la variedad Valencia Late

Pico	Compuesto	IRL ⁽¹⁾	Identificación ⁽²⁾
1	1-Propanol	1037	A
2	Alcohol Isobutilico (isobutanol)	1099	A
3	Acetato de isoamilo	1125	A
4	1- Butanol	1155	A
5	3-metil-1-butanol	1221	B
6	Lactato de etilo	1353	A
7	Octanoato de etilo (caprilato de etilo)	1436	B
8	1-Heptanol	1468	Estándar
9	Acido isobutanoico	1584	A
10	Linalol	1570	A
11	γ -butirolactona	1624	B
12	Terpinen-4-ol	1591	A
13	Acido Isovalerico	1690	B
14	α -terpineol	1718	A
15	3-metiltio-1-propanol	1723	B
16	3-hidroxibutanoato de etilo	1410	B
17	Alcohol β -feniletílico	1918	A
18	Pantolactona	2028	B
19	Malato de dietilo	2058	B
20	Acido Octanoico	2072	A
21	4-vinil-guaiacol	2180	A
22	γ -caprolactona	1745	B
23	Acido decanoico	2261	A
24	Succinato acido de dietilo	2370	A
25	Vomifoliol	3167	B
26	Vainillina	2580	A
27	Acido Dodecanoico	2510	A
28	Tirosol	2999	B

⁽¹⁾ índice de retención lineal

⁽²⁾ identificaciones por: A, comparación de los índices de retención y espectro de masa con estándares auténticos; B, comparación de los índices de retención y espectro de masa de bibliografía (Adams, 1995; Bureau et al., 2000; Marais et al., 1992; McLafferty y Stauffer, 1991; Wirth et al., 2001); C, tentativa por espectro de masa.

Tabla VI-4 Compuestos aromáticos en forma libre presentes en el Vino Base var. Valencia valores promedio por duplicado en ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

COMPUESTO	VINO BASE	
	Media ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Desv. Est
ESTERES		
Acetato de isoamilo	281	35
Lactato de etilo	661	13
Octanoato de etilo	312	16
Acetato de propilo	1160	109
3-hidroxibutanoato de etilo	490	189
Malato de dietilo	109	12
Succinato de dietilo	216	41
Succinato acido de etilo	19146	3921
Σ Esteres	22376	
ALCOHOLES		
1-Propanol	346	68
Alcohol Isobutilico	1614	223
1-butanol	26	8
3-metil-1-butanol	45435	7392
3-metilio-1-propanol	213	46
Alcohol vainillínico	214	-
Alcohol β - feniletílico	15317	2863
Σ Alcoholes	63165	
ÁCIDOS		
Ácido isobutírico	153	10
Ácido butanoico	194	2
Ácido hexanoico	1405	206
Ácido isovalerico	125	67
Ácido octanoico	2594	756
Ácido decanoico	528	285
Ácido dodecanoico	3266	985
Σ Ácidos	8265	
TERPENOS		
Linalol	237	59
Terpinen-4-ol	137	12
α - terpineol	194	31
Σ Terpenos	568	
OTROS		
γ - butirolactona	161	43
Pantolactona	60	39
4-vinil-guiacol	1224	576
4-vinil-fenol	611	24
γ - caprolactona	340	48
Vomifoliol	214	8
Vainillina	281	-
Tirosol	5129	2147
Total	102394	

VI.4.1 Estudio de los Compuestos Aromáticos libres en el Vino Base

Tal como se muestra en la [Tabla VI-4](#) un total de 33 compuestos fueron identificados y cuantificados en el vino base de naranja ($102394 \mu\text{g/L}$). Los compuestos mayoritarios fueron los alcoholes (61%) seguido de los ésteres (22%), los ácidos (8 %), el grupo “otros” 8,5%y los terpenos el (0,55%) restante.

La mayor parte de los compuestos identificados en el vino base son de origen fermentativo; entre los atribuibles a la naranja se encuentra, el linalol, el terpinen-4-ol y el α -terpineol. La importancia de estos compuestos terpénicos radica en la contribución que realizan al aroma del vino, dado por su aroma floral-frutal con notas cítricas (limón) y sus bajos umbrales de percepción ([Ribéreau-Gayón et al., 2000](#)). De los tres terpenos identificados el linalol fue el que presentó mayor concentración ($237 \mu\text{g.L}^{-1}$), su OAV calculado con un umbral de percepción de $25 \mu\text{g.L}^{-1}$ ([Vilanova, Genisheva, Masa, & Maria, 2010](#)) fue de 9,46, por lo que este compuesto que es descripto con notas florales y de lavanda, produciría una contribución positiva al aroma del vino base.

Por otra parte, entre los terpenos predominantes del jugo de naranja se encuentra al limonenolimoneno; este representa aproximadamente el 74% del total de los compuestos volátiles en el jugo ([Fan et al., 2009](#)), en el vino base este compuesto no fue encontrado, sin embargo se identificó y cuantificó el terpinen-4-ol y el α -terpineol, este último es conocido como el principal contribuyente del “off-flavor” en el jugo de naranjas, realizando una contribución negativa al sabor del mismo cuando los niveles son iguales o superiores 2ppm, su presencia se debe a que es un producto de degradación del limoneno o el linalol o de la hidrólisis de los precursores glicosídicos volátiles de la naranja durante la fermentación ([Fan et al. 2009](#)).

Los compuestos más abundantes en el vino base fueron los alcoholes ($62926 \mu\text{g.L}^{-1}$); el 3-metil-1-butanol o alcohol isoamilico y el alcohol β -feniletílico; ambos alcoholes superiores, se presentaron en la mayor cantidad. El alcohol isoamilico es el principal alcohol alifático mientras que el alcohol β -feniletílico es un alcohol aromático, posee un aroma floral y de rosas que contribuye positivamente al aroma del vino ([Selli, 2007](#)). Estos compuestos también fueron reportados como significativos en vinos de naranja de las variedades Moro, Kozan

y Qixue Cheng (Fan et al., 2009; Selli, S., Canbas, A. and Cabaroglu, 2003). Rapp, A., & Mandery, (1986) indican que los alcoholes superiores afectan positivamente la calidad de un vino cuando no superan las cantidades de 400 mg.L⁻¹, la concentración total de estos compuestos se situó muy por debajo de este valor, los OAV calculados para ambos compuestos exhibieron valores de 0,75 y 1,53 (Goldner, 2008; Sanchez-Palomo et al.2012) respectivamente, indicando la importancia de su contribución al aroma del vino.

Otros tres alcoholes también fueron identificados, el 1-propanol, 1-butanol y el 3-metiltio-1-propanol. Moshonas & Shaw, (1995) cuantificaron el 1-propanol en jugo de naranja Valencia Late exprimido manualmente y mediante máquina, la concentración fue del orden del obtenido en el vino base; es un alcohol simple de origen vegetal y levaduriano (Ribéreau-Gayón et al., 2000); el 3-metiltio-1-propanol o metionol es un derivado azufrado, este tipo de compuestos se caracterizan por los olores de reducción y por sus umbrales de percepción muy bajos, su descripción olfativa es de repollo cocido, en el vino base su OAV fue =0,18.

El tirosol o alcohol p-hidroxifeniletílico es otro compuesto de origen levaduriano, se forma a partir de la tirosina y está presente en todos los medios fermentados en concentraciones de 6-25 mg.L⁻¹, en el vino base presentó una concentración media levemente inferior a este valor.

Tanto los ésteres como los alcoholes superiores son producidos durante la fermentación alcohólica y dependiendo del tipo de compuesto y su concentración juegan un importante rol en el flavor del vino, (Valero et al.2002; Selli et al. 2004, 2007), el vino base presentó una concentración total de ésteres de (21215 µg.L⁻¹), el aporte mayoritario fue realizado por el succinato ácido de etilo.

Entre los ésteres acéticos provenientes de los alcoholes superiores se encontró el acetato de isoamilo, este compuesto presenta un olor que recuerda a la banana, con un umbral de percepción es de 1,2 mg.L⁻¹ (Shinohara & Shimizu, 1981), de los ésteres de los ácidos grasos se identificó al octanoato de etilo, se sabe que estos ésteres tienen un papel muy favorable en el aroma afrutado de vinos blancos, particularmente los ésteres de los ácidos de 6 a 12 átomos de carbono (Bertrand, 1975), se considera que estos ésteres, y más concretamente el octanoato de etilo, son responsables directos de la calidad de los vinos jóvenes (Suárez-Lepe, 2002). El lactato de etilo, también afecta positivamente en el análisis

sensorial, se forma en concentraciones muy variables según la cepa de levadura (Bertrand *et al.*, 1978).

Siete, fueron los ácidos grasos volátiles encontrados en el vino base, los más predominantes, en orden decreciente fueron tres, dodecanoico, octanoico y hexanoico, la contribución al aroma del vino en los dos primeros es considerada poco importante, por el hecho de estar presentes en concentraciones mucho más bajas que sus umbrales de percepción (Etiévant, 1991; Selli, S., Canbas, A. and Cabaroglu, 2003). Para el ácido hexanoico el OAV calculado con un umbral de percepción de 30 (Vilanova, Genisheva, Masa, & Maria, 2010) fue de 47,66, este compuesto es descripto con aromas de vegetal-frutal.

En general los ácidos grasos contribuyen a la frescura de los vinos o al desagrado de los mismos si se encuentran en exceso (Riberau- Gayón *et al.*, 2001), su producción depende de factores como el mosto, el cultivo, la levadura y la temperatura de fermentación (Nykänen, 1986).

Entre las lactonas volátiles de origen fermentativo susceptibles de participar en el aroma de los vinos, la más conocida es la γ -butirolactona, la misma fue identificada en el vino base en una concentración media de 161 $\mu\text{g.L}^{-1}$, según Rocha *et al.*, (2004) este compuesto exhibe aromas dulces, mantecosos; ha sido identificado también en vinos de cereza.

Por último dentro de los compuestos con origen fenólico se identificó al 4-vinil-fenol y 4-vinil-guayacol, ambos con OAV >1; los compuestos fenólicos son considerados componentes habituales del aroma del vino y dependiendo de su concentración pueden contribuir positiva o negativamente al mismo. Estos compuestos que poseen aromas que recuerdan a la almendra, clavo de olor, curry (Vilanova *et al.*, 2010), pero también olores farmacéuticos a ténpera, clavel pigmentado (Riberau-Gayón *et al.*, 2001) fueron también identificados en otros vinos de naranjas de las variedades Kozan y Moro (Selli, 2007; 2003), el impacto olfativo de estos dos vinil-fenoles deben ser considerados mezclados en las proporciones en las que se encuentran en los vinos; en la mayoría de los vinos blancos se caracterizan por una relación 1:1, en el vino base de naranja var. Valencia el valor fue de 0,50.

VI.4.2 Estudio de los compuestos aromáticos libres en los espumantes. Modificaciones producidas por la segunda fermentación.

Los Vinos espumantes de naranja obtenidos a partir del vino base con diferentes tratamientos de clarificación y tiempo de contacto con las borras también fueron estudiados a partir de su fracción volátil; se identificaron un total de 30 compuestos los cuales fueron cuantificados y separados en grupos químicos (Tabla VI-5); en todos los espumantes los alcoholes fueron los compuestos mayoritarios, seguidos de los ésteres y los ácidos, esta distribución fue la misma que presentó el vino base.

Observando la Figura VI-6 para los tres grupos mayoritarios de compuestos se puede ver que si bien no existen diferencias estadísticamente significativas con el vino base a un nivel de significancia de ($\alpha=0,05$) los alcoholes y los ésteres aumentaron durante la segunda fermentación, los ácidos presentaron un comportamiento variable que podría atribuirse a variaciones mínimas de temperatura durante la fermentación, esto está de acuerdo con Ganss, Kirsch, Winterhalter, Fischer, & Schmarr, (2011) que hace referencia a que uno de los mayores efectos debido a la segunda fermentación del vino base considera cambios en el espectro de los ácidos grasos y sus correspondientes ésteres etílicos.

Al estudiar los compuestos de la naranja, se observa que los terpenos son los mismos que los identificados para el vino base, no presentando diferencias estadísticamente significativas con el mismo para un ($\alpha=0,05$), en concordancia con lo expuesto por (Rapp, A., & Mandery, 1986; Selli, S., Canbas, A. and Cabaroglu, 2003) de que la concentración de terpenos no cambia marcadamente durante la fermentación alcohólica, indicando que no son productos que se forman durante la fabricación (Fan et al., 2009); en todos los casos el linalol fue el terpeno mayoritario, seguido del α -terpineol, además de que ambos presentaron un valor por encima de su umbral de percepción (Tabla VI-I) las concentraciones encontradas fueron muy superiores a las reportadas por (Torchio et al., 2012) para vinos espumantes tintos dulces de Barcheto; y también para los vinos espumantes de Albariño Vilanova, Genisheva, Masa, & Oliveira, (2010) donde los rangos reportados fueron del orden de los 25-41,5 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, esto se debe probablemente a

las diferencias en composición de las frutas, en nuestro caso la naranja, donde las concentraciones reportadas de estos compuestos es diferente.

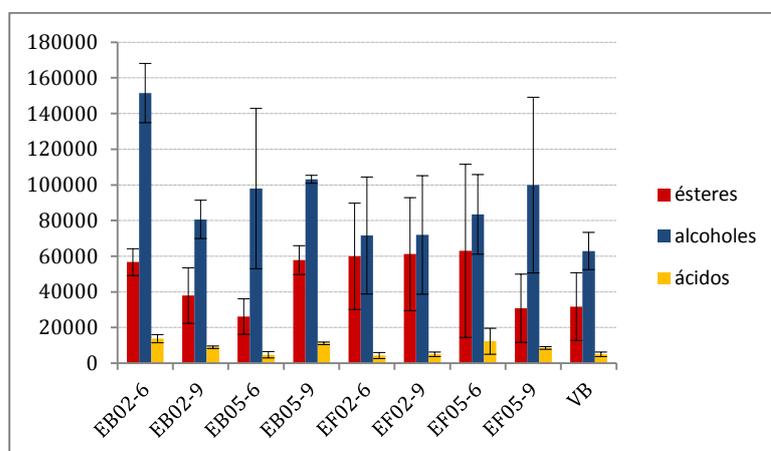


Figura VI-6 Concentración en ($\mu\text{g. L}^{-1}$) de ésteres, alcoholes y ácidos en el vino base y los espumantes estudiados.

Los alcoholes fueron el grupo mayoritario; los alcoholes superiores son formados a partir de los aminoácidos y el metabolismo del azúcar (Boulton, R.B., Singleton, V.I., Bisson, I.F., & Kunkee, 1996), en las condiciones de trabajo utilizadas no se resuelve la separación de los alcoholes 2- y 3-metil-1-butanol, apareciendo ambos en un mismo pico, la relación de concentraciones es minoritaria para el 2-metil-1-butanol, por lo tanto en todos los resultados presentados en este trabajo la concentración determinada para este pico se informó como 3-metil-1-butanol o alcohol isoamílico.

La formación de 1-propanol está ligada al metabolismo del azufre por acción de las levaduras Garofolo, A., Morassut, M., & Ciolfi, (1990) demuestran que un buen espumante presenta concentraciones en el rango de 5-27 mg.L^{-1} , su umbral de percepción es de 50 mg.L^{-1} (Tao, Y.S and Li, 2010) y su aroma está relacionado a descriptores de alcohol y fruta madura (Peinado *et al.*, 2004a), los valores medios de este compuesto en todos los espumantes fue inferior a 1 mg.L^{-1} y situados en el rango de 0,153 a 0,949 mg.L^{-1} , así como también sus OAV se encontraron todos por debajo de 1. El 3-metil-1-propanol aumento su concentración durante la segunda fermentación en todas las muestras de espumante, este alcohol encuadrado dentro de los alcoholes “pesados” proviene siempre del metabolismo de las levaduras por fermentación, su concentración se

mantiene estable durante la conservación, no como los compuestos “livianos” que pueden aumentar durante la conservación en ciertas condiciones (Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. & Dubourdieu, 2000), en los defectos de reducción este compuesto es importante, la levadura lo forma a partir de la metionina del mosto que sufre una desaminación y luego una descarboxilación por la llamada reacción de Ehrlich (Figura VI-7).

Dentro de los alcoholes superiores el 1-butanol fue identificado y cuantificado en las muestras tratadas con 0,20 y 0,50 g.L⁻¹ de bentonita y 6 y 9 meses de contacto con las borras; no fue identificado en ninguna de las muestras filtradas, pero este alcohol es descrito con los términos de “alcohol y medicinal” cuyo umbral de percepción es de 150 mg.L⁻¹ (Back y Cadwallader, 1999; Sumitani *et al.*, 1994; Loira, 2014), presentó en todas las muestras un OAV <1.

Nuevamente el 3-metil-1-butanol y el alcohol β-feniletílico fueron los compuestos mayoritarios dentro del grupo de los alcoholes, en todos los vinos espumantes de naranja la concentración del alcohol β-feniletílico fue superior a la del vino base, con un 37% más en EB02-6 y un 84% más en EF05-9, en concordancia con Caliri, *et al.*, (2014) este es uno de los compuestos más aromáticos, presentó valores superiores a los reportados por (Bordiga, M., Rinaldi, M., Locatelli, M., Piana, G., Travaglia, F., Coïsson, J.D., 2013) para espumantes elaborados con uvas Muscat, así como también en los espumantes elaborados con uvas de las variedades Macabeo, Xarelo y Parellada cuyos valores no superaron los 20578 μg. L⁻¹ (Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Bouxaderas, 2010), este compuesto contribuye al aroma de los espumantes con notas floral, dulces de rosa y miel, posee un umbral de percepción de 10 mg.L⁻¹ (Bakker, J. and Clarke, 2012; Koing, H., Uden, G. and Frölich, 2009), y en todos los vinos espumantes de naranja su OAV fue >1.

El lactato de etilo y el succinato de dietilo, son considerados marcadores dentro de los vinos espumantes, son compuestos volátiles post-fermentativos producidos durante el añejamiento del Cava en contacto con las levaduras durante la segunda fermentación (Fusté, *et al.*, 2007).

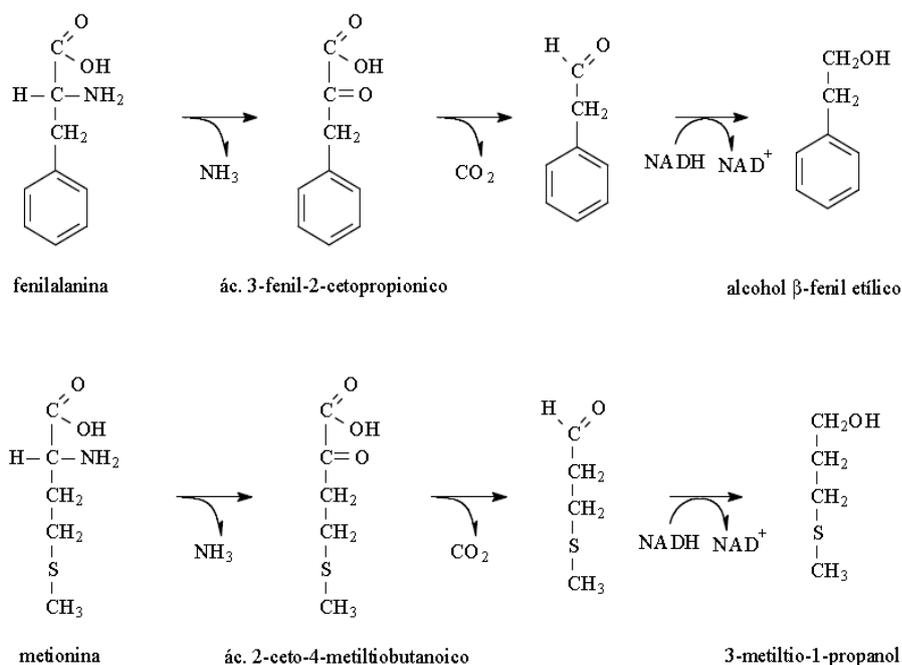


Figura VI-7 Reacción de Ehrlich de formación de los alcoholes β-feniletílico y 3-metiltio- 1-propanol a partir de los aminoácidos fenil-alanina y metionina respectivamente.

La concentración del succinato de dietilo se incrementa durante el añejamiento y es un marcador de la evolución del Cava durante su almacenamiento en bodega (Francioli, et al., 1999; Riu-Aumatell et al., 2006; Fusté, et al., 2007) se forma a partir de la reacción de esterificación entre el etanol y el ácido láctico, aporta notas lácteas y contribuye a la suavidad en boca del vino (Tao & Li, 2009; Lerm et al., 2010), estos dos compuestos mayormente aumentaron durante la segunda fermentación en todos los vinos espumantes de naranja.

El mayor compuesto fenólico fue el tirosol, con valores de 3950 µg. L⁻¹ (EB02-9) a 18358 µg. L⁻¹(EF05-6), este compuesto es un producto de fermentación (desaminación de la tirosina), y se ha demostrado que puede comportarse también como un potente antioxidante asociado a los efectos beneficiosos del vino (Bruzzone, 2014)(Caliari Vinicius, et al., 2014).

De los 29 compuestos listados cinco no fueron identificados en la primera fermentación, estos compuestos son: isobutirato de etilo, hexanoato de etilo, decanoato de etilo, 3-hidroxietanoato de etilo y el 2-hidroxiglutarato de etilo, todos pertenecientes al grupo de los ésteres; a su vez no fueron identificados en todas las muestras de vino espumante de naranja. El isobutirato de etilo se identificó y cuantificó en (5) muestras (Tabla VI-5), este compuesto es descrito con notas

dulces y frutales por Yun wei Niu, Xianom ing Zhang, Zuobig Xiao, Shiqing Song, Karangwa Eric, Chengsheng Jia, Haiyan Yu, (2011) en vinos de cereza, además fue reportado como un constituyente de los mostos puros fermentados de Chardonnay (Mamede, *et al.*, 2005).

El hexanoato de etilo (caproato de etilo) y el decanoato de etilo (caprato de etilo), ambos con importancia sensorial, son descriptos, el primero como, dulce, frutal, ananá con notas verdes y el segundo como graso, frutal, manzana; presentaron OAV >1 en todos los vinos espumantes de naranja para el caso del hexanoato de etilo y OAV ≤1 para el caso del decanoato de etilo. El hexanoato de etilo ha sido ampliamente reportado: en vino de cereza (Yun wei Niu, *et al.*, 2011), en Vinos Chardonnay de California (Lee, *et al.*, 2003), en una bebida alcohólica de manzana “Cashew Apple” como un compuesto impacto, con alta intensidad (Garruti, *et al.*, 2006) y en Desertand Sparkling White Wine por su alto puntaje en el GC-O (Campo, *et al.*, 2008).

Los ésteres acéticos son derivados de la reacción de la acetil-CoA con los alcoholes superiores formados por la degradación de los aminoácidos o los carbohidratos (Perestrelo, *et al.*, 2006), el acetato de isoamilo con aroma frutal a banana fue encontrado en todas las muestras de vino espumante de naranja en un rango de 277 μg. L⁻¹ a 774 μg. L⁻¹ , para las muestras su OAV >1 y en concentraciones superiores a la del vino base, por lo que se podría suponer este compuesto aumenta durante la segunda fermentación.

Tabla VI-5 Valores medios y desv. est para las concentraciones ($\mu\text{g/L}$) de los compuestos volátiles libres identificados en Vinos espumantes de naranja

	EB02-6	EF02-6	EB05-6	EF05-6	EB02-9	EB05-9	EF02-9	EF05-9
ESTERES								
Isobutirato de etilo	159 \pm 10 ^c	n.d	76 \pm 11 ^{a,b}	n.d	67 \pm 9 ^a	88 \pm 6 ^b	n.d	83 \pm 4 ^b
Acetato de isoamilo	774 \pm 156 ^a	227 \pm 147 ^a	514 \pm 246 ^a	437 \pm 60 ^a	398 \pm 67 ^a	431 \pm 5 ^a	357 \pm 14 ^{b,c}	632 \pm 93 ^{d,e}
Hexanoato de etilo	228 \pm 36 ^{b,c}	132 \pm 43 ^{a,b}	235 \pm 56 ^{b,c}	n.d	303 \pm 78 ^c	n.d	68 \pm 5 ^a	96 \pm 9 ^a
Lactato de etilo	1501 \pm 612 ^{a,b}	745 \pm 172 ^a	879 \pm 201 ^a	897 \pm 96 ^a	2030 \pm 392 ^b	2208 \pm 83 ^b	638 \pm 140 ^a	1157 \pm 398 ^a
Octanoato de etilo	628 \pm 142 ^b	314 \pm 54 ^a	389 \pm 57 ^{ab}	321 \pm 81 ^a	373 \pm 71 ^{ab}	n.d	308 \pm 47 ^a	290 \pm 73 ^a
3-hidroxibutanoato de etilo	529 \pm 98 ^a	365 \pm 63 ^a	482 \pm 38 ^a	609 \pm 180 ^a	449 \pm 56 ^a	479 \pm 119 ^a	459 \pm 119 ^a	546 \pm 160 ^a
Succinato de dietilo	504 \pm 182 ^a	375 \pm 37 ^a	172 \pm 50 ^a	353 \pm 98 ^b	962 \pm 159 ^b	1352 \pm 39 ^c	393 \pm 63 ^a	328 \pm 98 ^a
Succinato acido de dietilo	51617 \pm 8450 ^a	57447 \pm 5635 ^a	23527 \pm 9426 ^a	59831 \pm 8239 ^a	32593 \pm 15216 ^a	51530 \pm 7161 ^a	58384 \pm 7946 ^a	43948 \pm 10680 ^a
3-hidroxiacetato de etilo	529 \pm 49 ^a	415 \pm 98 ^a	n.d	532 \pm 64 ^a	330 \pm 71 ^a	n.d	445 \pm 108 ^a	n.d
Malato de dietilo	226 \pm 45 ^a	367 \pm 96 ^{a,b}	149 \pm 53 ^a	346 \pm 222 ^b	634 \pm 47 ^b	1004 \pm 160 ^c	374 \pm 105 ^{a,b}	268 \pm 73 ^b
2-hidroxiglutarato de etilo	1665 \pm 248 ^d	n.d	428 \pm 40 ^a	716 \pm 69 ^{b,c}	1098 \pm 189 ^c	1134 \pm 176 ^c	1018 \pm 213 ^c	974 \pm 49 ^b
Σesteres	58360	60387	26851	64041	39237	58226	62444	48322
ALCOHOLES								
1-Propanol	769 \pm 299 ^{b,c}	153 \pm 45 ^a	169 \pm 23 ^a	200 \pm 18 ^a	949 \pm 48 ^c	428 \pm 52 ^{a,b}	163 \pm 59 ^a	837 \pm 69 ^c
Alcohol Isobutilico	3467 \pm 337 ^{cd}	729 \pm 354 ^a	1148 \pm 237 ^a	1285 \pm 198 ^a	2828 \pm 714 ^{bc}	2592 \pm 209 ^b	760 \pm 397 ^a	3990 \pm 462 ^d
3-metil-1-butanol	104419 \pm 16838 ^b	36389 \pm 4344 ^a	69215 \pm 2738 ^{a,b}	45346 \pm 660 ^a	58119 \pm 6902 ^{a,b}	72259 \pm 3129 ^{a,b}	36733 \pm 4126 ^a	65084 \pm 3003 ^{a,b}
3-metil-1-propanol	1011 \pm 437 ^a	574 \pm 168 ^a	472 \pm 185 ^a	602 \pm 102 ^a	617 \pm 88 ^a	572 \pm 113 ^a	560 \pm 105 ^a	634 \pm 109 ^a
Alcohol beta feniletílico	41781 \pm 1441 ^a	33755 \pm 2388 ^a	26927 \pm 2553 ^a	36011 \pm 2125 ^a	18162 \pm 2915 ^a	27258 \pm 4898 ^a	33707 \pm 2868 ^{a,b}	29330 \pm 2863 ^a
Σalcoholes	151447	71600	97931	83444	80674	103109	71922	99874
ACIDOS								
Acido isobutirico	614 \pm 193 ^a	173 \pm 42 ^b	514 \pm 96 ^a	n.d	543 \pm 31 ^a	n.d	370 \pm 163 ^a	n.d
Acido butanoico	894 \pm 153 ^a	574 \pm 179 ^a	n.d	n.d	779 \pm 45 ^a	670 \pm 69 ^a	757 \pm 18 ^a	713 \pm 136 ^a
Acido isovalerico	393 \pm 69 ^a	228 \pm 98 ^a	324 \pm 89 ^a	500 \pm 174 ^a	n.d	n.d	214 \pm 91 ^a	288 \pm 76 ^a

Acido hexanoico	3283±115 ^a	2377±157 ^a	n.d	2678±803 ^a	n.d	n.d	2409±861 ^a	2327±202 ^a
Acido octanoico	7006±971 ^a	5597±471 ^a	3909±856 ^a	6005±693 ^a	2990±876 ^a	4327±1230 ^a	5524±1835 ^a	4340±1480 ^a
Acido decanoico	1574±457 ^a	n.d	n.d	1950±255 ^a	n.d	n.d	2972±684 ^a	909±25 ^a
Σácidos	13764	8949	4757	4747	11133	4997	12340	8577
TERPENOS								
α- terpineol	329±83 ^a	351±95 ^a	243±97 ^a	416±77 ^a	326±8 ^a	449±73 ^a	372±33 ^a	321±71 ^a
terpinen-4-ol	161±49	339 ±116	70±23	522 ±102	437 ±98	277 ±96	334 ±42	n.d
Linalool	830± 74 ^c	470± 13 ^{a,b}	514±78 ^{a,b}	534±100 ^b	356±21 ^a	390±60 ^{a,b}	481 ±75 ^{a,b}	515±89 ^{a,b}
Σterpenos	1320	1160	827	1472	1119	1116	1187	836
OTROS								
Gamma butirrolactona	1088±57 ^c	392±98 ^a	548±93 ^a	517±87 ^a	1099±78 ^c	835±37 ^a	395±102 ^b	564±146 ^a
4-vinil-guiacol	7054±725 ^{c,e}	5170±385 ^{c,d}	3767±436 ^b	6032±381 ^{d,e}	1615±196 ^a	1920±182 ^{c,d}	5331±491 ^a	4754±855 ^{b,c}
4-vinil-fenol	303±19	615±46	497±95	203±45	592±19	n.d	738±57	n.d
Tirosol	13246±609 ^c	9619±746 ^a	5240±660 ^a	18358±991 ^d	3950±807 ^a	5040±559 ^b	9596±779 ^a	10722±783 ^b

VI.4.1 Modificaciones producidas por el tratamiento de clarificación y el tiempo de contacto con las borras.

Las modificaciones en la fracción volátil producidas por los tratamientos de clarificación aplicados a los espumantes fueron estudiadas a través de un ANOVA multifactorial. Este procedimiento sirve para contrastar la hipótesis acerca de los efectos de una o más variables (factores) sobre la media de una única variable dependiente, así como también el efecto conjunto de los factores considerado como un factor adicional que recoge la posibilidad de que además del efecto de la bentonita, el filtrado y el tiempo que se suman aparezca otro más que también se suma a los anteriores que es la interacción entre ellos (Tabla VI-6).

Tabla VI-6 Compuestos con significancia estadística (ANOVA multifactorial) para los factores ensayados y sus interacciones.

COMPUESTO	Bentonita	Filtrado	Tiempo	B-F	B-T	F-T
1-propanol	-	*	*	*	-	-
Alcohol isobutilico	-	*	*	*	*	*
3-metil-1-butanol	-	*	-	-	-	-
Lactato de etilo	-	*	*	-	-	*
γ -butirolactona	-	*	-	*	-	-
Succinato de dietilo	-	*	*	-	-	*
Malato de dietilo	-	*	*	-	-	*

(*) p_valor < 0,05 B-F(bentonita-filtrado) B-T (bentonita-tiempo) F-T (filtrado tiempo)

En la Tabla VI-6 podemos ver los compuestos que presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para el efecto filtrado y tiempo ($\alpha=0,05$), el análisis de las interacciones fue significativo en las interacciones filtrado-tiempo para los compuestos: alcohol isobutilico, succinato de dietilo, lactato de etilo el malato de dietilo.

El succinato y el malato de dietilo son dos ésteres polares responsables de la textura, densidad y espesor, por lo que dan cuerpo y consistencia a los vinos (Baumes, R., Cordonnier, R., Nitz, S. & Drawert, 1986), en ambos compuestos el tiempo parece ser el factor que más influye, aumentando su concentración a los 9 meses de contacto con las borras, cuando las muestras no recibieron tratamiento de filtrado (Figura VI-8)

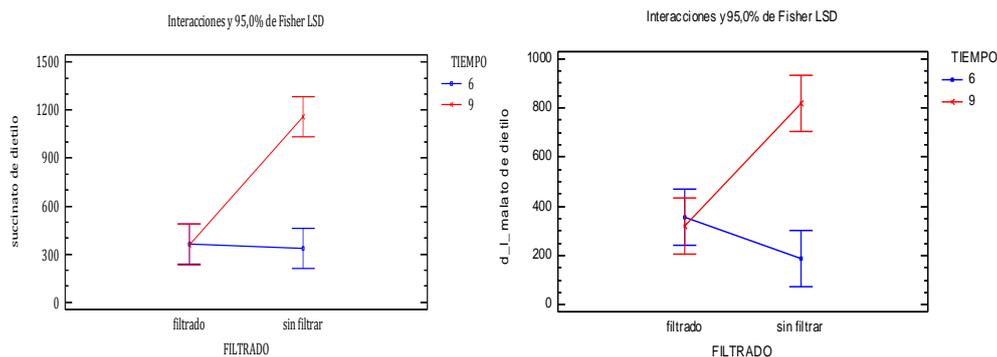


Figura VI-8 Gráfico de las interacciones para las respuestas (a) succinato de dietilo y (b) malato de dietilo

El lactato de etilo, (Figura VI-9 a), presentó el mismo comportamiento que los compuestos antes descritos, este compuesto fue reportado (Vilanova, *et al.*, 2010) como el ester más importante en concentración en los vinos de Albariño; en los vinos espumantes de naranja el aumento en su concentración nuevamente parece estar asociado al envejecimiento del vino, la interacción se dio entre los 9 meses de contacto con las borras y las muestras sin filtrar, pudiendo ser la operación de filtrado un factor negativo en la formación de este compuesto durante la segunda fermentación.

La interacción entre la bentonita y el filtrado fue significativa cuando la respuesta estudiada fue la γ -butirolactona (Figura VI-9 b), el filtrado ejerce un efecto significativo sobre los vinos espumantes de naranja, presentando la menor concentración en muestras tratadas con la dosis más baja de bentonita.

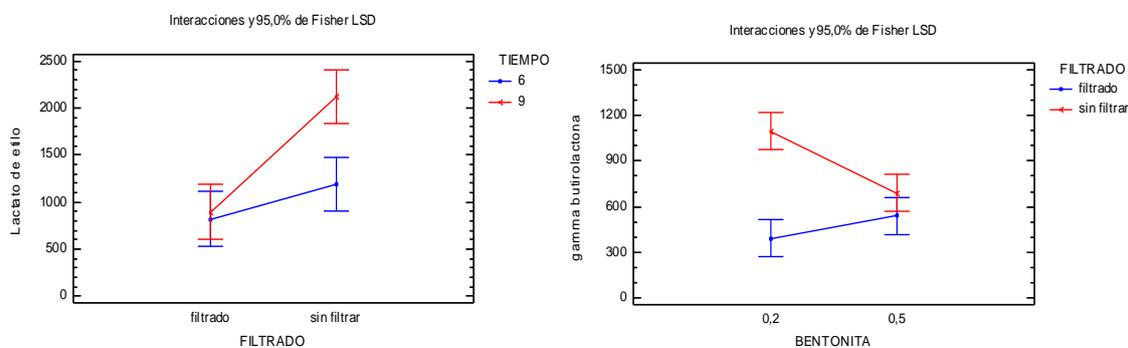


Figura VI-9 Gráfico de las interacciones para las respuestas (a) Lactato de etilo y (b) γ -butirolactona

VI.4.2 Identificación de compuestos volátiles libres con impacto en el perfil aromático de los espumantes de naranja

El aroma de los vinos está constituido por centenas de compuestos volátiles presentes en concentraciones que varían desde varias centenas de mg.L^{-1} hasta menos de un ng.L^{-1} ; sin embargo no todos los compuestos volátiles presentes en el vino contribuyen al aroma de la misma manera (Welke J. E., Zanus M., Lazzarotto M., 2014), ya que esto depende por otra parte del umbral de percepción de los compuestos que a su vez es muy diverso, lo que determina que el impacto en el aroma de los distintos compuestos volátiles dependa de las unidades de aroma de los mismos (Boido, 2002).

La unidad de aroma (OAV), es la contribución de un compuesto químico al aroma de un vino y es una medida de la importancia de un compuesto específico al aroma de la muestra, calculada como la relación entre la concentración individual del compuesto y el umbral de percepción [concentración mínima a partir de la cual en una prueba triangular, el 50% de los degustadores reconocen la presencia de una sustancia odorífera, sin por ello ser capaces de identificar el olor] (R.J. McGorin, 2007) encontrado en la literatura (Vilanova, *et al.*, 2010).

Por lo tanto compuestos que están presentes en un vino en concentraciones de ng.L^{-1} pueden tener un impacto notable en el aroma del vino, mientras que otros con concentraciones de varios de mg.L^{-1} pueden prácticamente no intervenir en las características sensoriales de la muestra (Ribéreau-Gayón, 2000).

Para estimar la contribución de los distintos compuestos volátiles analizados en el perfil sensorial de los espumantes se calcularon las unidades de aroma Tabla VI-7 y Tabla VI-8, considerando que solamente aquellos compuestos cuyos OAV superen el valor de 1 contribuyen individualmente al aroma del vino (Vilanova, Genisheva, Masa, & Oliveira, 2010; Caliar *et al.*, 2014).

Luego, para esos compuestos fue calculado el ROC (contribución relativa), que es el porcentaje de impacto de un compuesto aromático particular y se calcula como la relación entre el OAV individual del compuesto y la suma de los OAV de todos los compuestos que exhibieron valor mayor a 1 (Welke, *et al.*, 2014) Tabla VI-9.

Tabla VI-7 Descripción aromática de los diferentes compuestos; umbrales de percepción y OAV para el vino base y OAV mín y máx para los Espumantes

	Compuesto	Descriptor	Umbral de Percepción (mg.L ⁻¹)	OAV (Vino Base)	OAV Mín en Espumantes	OAV Máx en Espumantes
1	1-propanol	Disolvente ⁽¹⁾	500 ⁽¹⁾ -750 ⁽⁵⁾	<1	<1	<1
2	alcohol isobutilico (2-metil-1-propanol)	Alcohol	500 ⁽¹⁾	<1	<1	<1
3	acetato de isoamilo	Afrutado, plátano, manzana esmalte de uñas ⁽⁵⁾ ; solvente ⁽⁴⁾ ; alcohol; cítrico	0,03 ⁽²⁾ -0,16 ⁽³⁾	1,75	1,41	4,83
4	3-metil-1-butanol	(limón, naranja) ⁽⁶⁾ ; malta, caramelo, tostado; queso	65 ⁽²⁾ -30 ⁽²⁾ ⁽⁴⁾	0,69-1,51	0,56	1,60
5	hexanoato de etilo	Afrutado, manzana verde, fresa	0,014 ⁽⁵⁾ ;0,05 ⁽⁴⁾ ; 0,08 ⁽⁷⁾		4,71 ⁽⁵⁾	21,64 ⁽⁵⁾
6	Lactato de etilo	Afrutado: fresa ⁽⁴⁾ , frambuesa ⁽⁸⁾ manteca ⁽⁵⁾	14 ⁽⁸⁾ ;150 ⁽⁷⁾ , 154,7 ⁽⁵⁾	<1 ⁽⁸⁾	0,045	0,15
7	Octanoato de etilo	Afrutado: manzana ^(5,9) ; piña; pera ^(2,6,7) , floral ^(2,7,10)	0,002 ⁽⁶⁾ ; 0,005 ⁽⁵⁾	156,5	145	314
8	3-hidroxibutanoato de etilo					
9	Linalol	flores, lavanda ⁽⁵⁾	0,025 ⁽⁵⁾			
10	ácido isobutirico	rancio, queso ⁽⁵⁾	0,173 ⁽⁵⁾	1,13	<1	3,31
11	terpinen-4-ol					
12	gamma butirrolactona	Caramelo, dulce ^(7,11) nata, leche ⁽²⁾	0,35 ^(11,12) ; 20 ⁽⁷⁾ ;50 ^(2,12)	0,046	1,12 ^(11,12)	3,14 ^(11,12)
13	ácido butanoico					
14	decanoato de etilo	Frutal, manzana, solvente ⁽⁵⁾	0,2 ⁽⁵⁾			
15	ácido isovalerico	Rancio, sudor, queso azul	0,033, 3	0,041	0,054	0,16
16	succinato de dietilo	Afrutado: Sandía ⁽¹³⁾ , melón ⁽⁷⁾	200 ^(14,15) ;500 ⁽⁶⁾ ; 1200 ⁽¹⁶⁾	0,00108	0,00086	0,007
17	3-hidroxietanoato de etilo					
18	alfa-terpineol					
19	3-metiltio-1-propanol	Vegetales cocidos, col, patatas ^(8,17) ; Baked cabbage ⁽⁵⁾	0,5 ⁽⁴⁾ ;1 ⁽⁵⁾ ; 1,5 ⁽¹⁶⁾	0,142	0,31	0,67

20	ácido hexanoico	Geranio, vegetal(5); queso(4,12,13); sudor, rancio(15,12,11)	0,03 ⁽⁵⁾ ; 0,42 ^(11,15) ; 3 ^(6,11) ; 8 ⁽⁴⁾	0,17	0,29	0,41
21	alcohol β-feniletílico	Floral, rosas, miel, dulce ⁽⁵⁾	10 ⁽⁵⁾ ; 14 ⁽⁰⁾ ; 200 ⁽⁰⁾	1,53	1,81	4,18
22	malato de dietilo					
23	ácido octanoico	Rancio ^(2,8) , queso ^(2,15,16,17) , sudor ^(11,18)	8,8 ⁽⁴⁾ ; 10 ^(3,18)	0,04	0,30	0,70
24	4-vinil guaiacol	curry, clavo de olor ⁽⁵⁾	0,010 ⁽⁵⁾	122,4	161,5	705,4
25	2-hidroxi-glutarato de etilo					
26	ácido decanoico	rancio, grasa	0,09, 1 ⁽⁵⁾ , 3 ⁽¹⁹⁾	0,176	0,3	0,99
27	succinato ácido de etilo	caramelo, café ⁽¹¹⁾	1000 ⁽¹¹⁾	0,019	0,023	0,058
28	4-vinil fenol	almendra, stramonio ⁽⁵⁾	0,18 ⁽⁵⁾	3,39	1,68	4,1
29	ácido dodecanoico	jabonoso, cera ⁽⁵⁾	6,1 ⁽⁵⁾	0,53	0,028	5,71
30	Tirosol					

¹ (Lambercht & Pretorius, 2000); ² (Tao & Lee, 2009); ³ (Peinado et al., 2004a); ⁴ (Köin, et al., 2009); ⁵ (Vilanova, et al., 2010)

⁶ (Jiang & Shang, 2010); ⁷ (Peinado, et al., 2004b); ⁸ (Villamor, 2012); ⁹ (Olivera, et al., 2008); ¹⁰ (Selli, et al., 2004)

¹¹ (Sanchez-Palomo, et al., 2012); ¹² (Tao & Zhang, 2010); ¹³ (Fan & Qian, 2006); ¹⁴ (Culleré, et al., 2004); ¹⁵ (Zhang, et al., 2013)

¹⁶ (Maraval, et al., 2008); ¹⁷ (Selli, et al., 2004); ¹⁸ (Mendez, et al., 2012); ¹⁹ (Bakker & Clarke, 2012)

Del resultado de la [Tabla VI-8](#) podemos ver que 12 fueron los compuestos que presentaron unidades de aroma mayores a la unidad y por lo tanto con una contribución más o menos importante en el perfil sensorial.

Sin embargo de acuerdo a los resultados de la [Tabla VI-9](#), los compuestos que realizan en todas las muestras la mayor contribución al aroma global son el 4-vinil-guaiacol con descriptores de curry y clavo de olor, en un rango de 55,83-75,75% y el octanoato de etilo con descriptores de afrutado, manzana, piña, pera, floral en un rango de 20,13-28,68%, el linalol sería el tercer compuesto con una contribución positiva entre un 2,63-5,45% y último el hexanoato de etilo con una participación mucho menor pero que particularmente en el espumante EB02-9 contribuye con un 7,45%.

A pesar de que son dos los compuestos que realizan en todas las muestras de espumante la mayor contribución, en concordancia con ([Benkwitz F., Nicolau L., Lund C., Beresford M. & M., 2012](#)) el resto de los compuestos con OAV mayor o cercano a 1 pueden producir de igual manera un efecto sinérgico con carácter

positivo sobre el aroma de los espumantes, dando por resultado el aroma final del mismo.

Por otra parte es sabido que el OAV no proporciona una respuesta definitiva al impacto que diferentes compuestos pueden tener en el aroma global ([Esnik, Ar, & Lisjak, 2015](#)); ya que al tratar de investigar los compuestos responsables de los distintos aromas encontrados en una muestra, se presenta la dificultad de obtener los valores del umbral de percepción para un importante número de los compuestos volátiles, estudiados en una muestra de la misma naturaleza de la que se esta trabajando.

Además esta dificultad se torna mayor porque el impacto de estos compuestos en forma individual no es el percibido sensorialmente debido a las interacciones que aparecen en mezclas complejas como es en nuestro caso el vino.

Tabla VI-8 Compuestos aromáticos con OVA >1 encontrados en las muestras de Vinos espumantes de naranja

MUESTRAS	Acetato de isoamilo	3-metil-1-butanol	Hexanoato de etilo	Octanoato de etilo	Ácido isobutírico	Gama-butirolactona	alcohol β-feniletílico	4-vinil guaiacol	4-vinil fenol	Ácido dodecanoico	Linalol	α-terpineol
EB02-6	4,84	1,61	16,29	314	3,55	3,11	4,18	705	1,68	5,71	33,2	1,32
EF02-6	1,73	0,56	4,71	157	1,00	1,12	3,38	517	3,41	3,27	18,78	1,40
EB05-6	3,21	1,06	16,79	195	0,00	1,56	2,69	377	0,00	0,03	20,54	0,97
EF05-6	2,73	0,70	0,00	160	0,00	1,48	3,60	603	1,13	0,16	21,36	1,66
EB02-9	2,49	0,89	21,64	81	1,63	3,14	1,82	161	0,00	0,07	14,24	1,30
EB05-9	2,69	1,11	0,00	68	0,00	2,38	2,73	192	0,00	0,20	15,58	1,79
EF02-9	2,23	0,57	4,86	154	2,14	1,13	3,37	533	4,10	0,08	19,24	1,49
EF05-9	3,95	1,00	6,82	145	0,00	1,61	2,93	475	0,00	0,05	20,58	1,28

Tabla VI-9 Porcentaje de impacto de los compuestos aromáticos con OAV>1 en los Vinos espumantes de naranja

MUESTRAS	Acetato de isoamilo	3-metil-1-butanol	Hexanoato de etilo	Octanoato de etilo	Ácido isobutírico	Gama-butirolactona	alcohol β-feniletílico	4-vinil guaiacol	4-vinil fenol	Ácido dodecanoico	Linalol	α-terpineol
EB02-6	0,44	0,15	1,49	28,68	0,32	0,28	0,38	64,43	0,15	0,52	3,03	0,12
EF02-6	0,24	0,08	0,66	21,98	0,14	0,16	0,47	72,50	0,48	0,46	2,63	0,20
EB05-6	0,52	0,17	2,72	31,47	0,00	0,25	0,44	60,95	0,00	0,00	3,32	0,16
EF05-6	0,34	0,09	0,00	20,13	0,00	0,19	0,45	75,75	0,14	0,02	2,68	0,21
EB02-9	0,86	0,31	7,48	27,84	0,56	1,09	0,63	55,83	0,00	0,02	4,92	0,45
EB05-9	0,94	0,39	0,00	23,60	0,00	0,83	0,95	67,13	0,00	0,07	5,45	0,63
EF02-9	0,31	0,08	0,67	21,21	0,29	0,16	0,46	73,40	0,56	0,01	2,65	0,20
EF05-9	0,60	0,15	1,04	21,99	0,00	0,24	0,45	72,21	0,00	0,01	3,13	0,19

VI.4.3 Análisis de componentes principales para los compuestos aromáticos libres de los vinos espumantes de naranja

Considerando la complejidad del aroma de un vino, en el cual son numerosas las moléculas que lo componen, así como los efectos sinérgicos y antagónicos entre ellas, la interpretación del aroma de un vino a partir de los datos analíticos requiere frecuentemente del análisis estadístico multivariante a modo de clasificar los productos según determinadas propiedades y conocer, en ocasiones, si un vino corresponde al perfil esperado (Torrens, 2002), por esto, dado el alto número de variables (compuestos) identificados en las muestras de espumante y con el objetivo de analizar la influencia conjunta de las mismas se llevo a cabo un ensayo de tipo PCA (análisis de componentes principales) (Figura VI-10)

Este análisis explicó con las dos primeras dimensiones el 62,75% de la varianza (Tabla VI-10), (Martinez Lapuente, 2013) explica el 80% en cinco dimensiones para la caracterización aromática de vinos espumantes de variedades no tradicionales, (Puig-Deu, M., Lóez-Tamames, S. Buxaderas, M.C., 1999) explica el 53,1% en las dos primeras dimensiones para el estudio de la calidad del vino base y los espumantes en función del tipo de agente clarificante utilizado durante el proceso.

Tabla VI-10 Porcentaje de la varianza explicada como resultado de ensayo PCA para los compuestos de la fracción volátil libre de los vinos espumantes de naranja

	Valores propios	% varianza explicada	% varianza acumulada
comp 1	10,404	35,876	35,876
comp 2	7,791	26,868	62,744
comp 3	4,581	15,798	78,542
comp 4	2,285	7,881	86,424
comp 5	1,816	6,262	92,686
comp 6	1,222	4,217	96,903
comp 7	0,897	3,096	100,00

En la primera dimension (Dim.1) los espumantes se diferencian preferentemente por las contribuciones absolutas de las variables 3-metiltio-1-propanol (8,70%), acido hexanoico (8,23%); linalol (7,47%); octanoato de etilo

(6,43%); acetato de isoamilo(6,20 %); 3-metil-1-butanol (6,06 %); ácido butanoico (5,98 %) y ácido dodecanoico (5,34%).

La segunda dimensión (Dim.2) viene determinanda fundamentalmente por el lactato de etilo (10, 53 %); γ -butirolactona (7,42%); succinato de dietilo (7,29%); alcohol β -feniletílico (7,29%); 1- propanol (6,16%); hexanoato de etilo (5, 89 %); ácido octanoico (6,64%), 4-vinil-guaiacol (8,62%); tirosol (6,11%).

Las muestras que más contribuyen a la primera dimensión son: EB02-6 (80%); EF02-6 (6,82%); EF02-9 (6,06%) y en la segunda dimensión: EB02-9 (41,9%); EB05-9 (18,11%); EF02-6 (14,5%); EF05-6 (13,3%) y EF02,9 (11,70%).

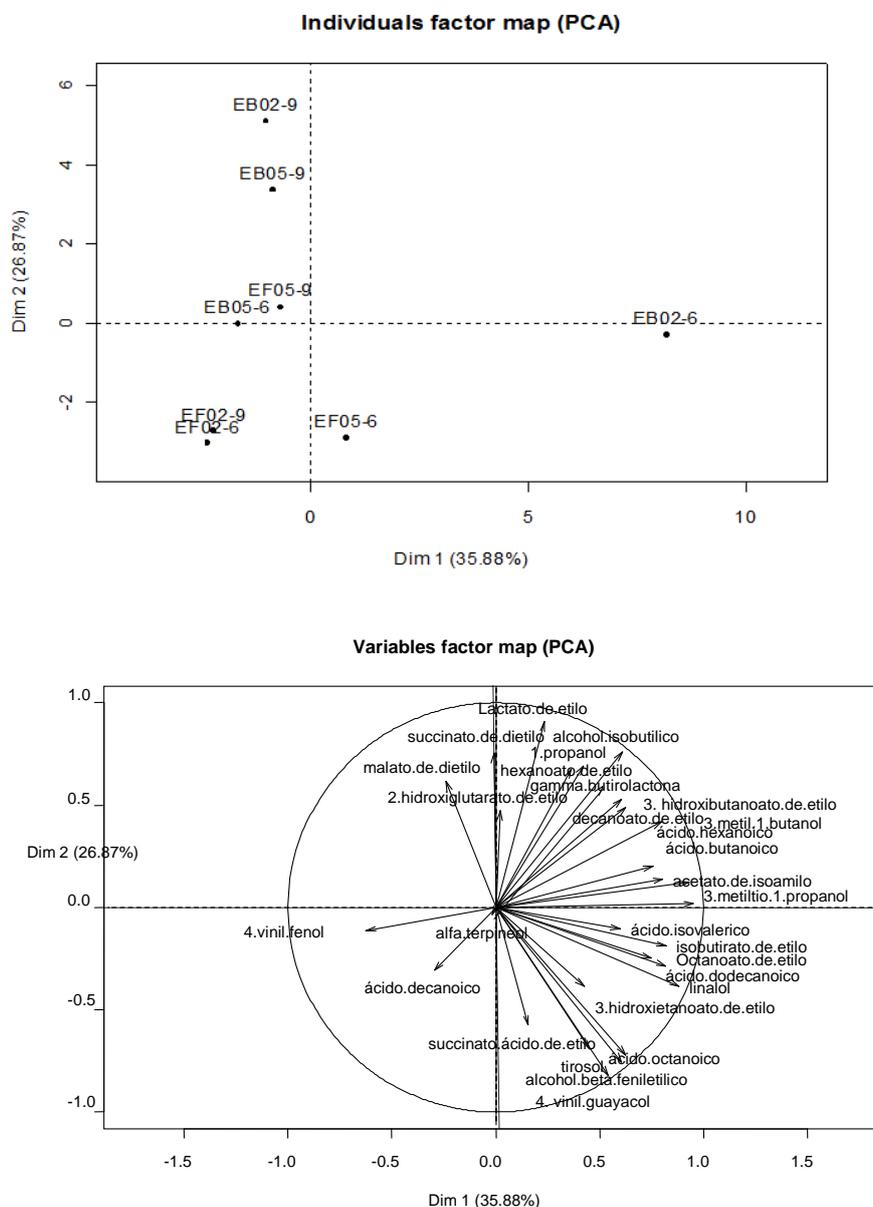


Figura VI-10 Análisis de PCA para los vinos espumantes de naranja. (a)-Proyección de las muestras en dim.1 y dim2 y cargas factoriales de los compuestos volátiles libres.

Por lo tanto, del ensayo PCA (Figura VI-10) podemos ver como se discriminaron los espumantes; así en la primera dimensión se encuentra EB02-6 caracterizado por un grupo diverso de compuestos, algunos relacionados a la materia prima como el linalol y el resto de origen fermentativo; por otro lado en la Dim.2, las muestras EB02-9 y EB05-9 están estrechamente relacionadas al grupo de los ésteres a través de los compuestos lactato de etilo, malato de dietilo, hexanoato de etilo, succinato de dietilo y la α -butirolactona, todos estos con notas afrutadas y lácticas o de caramelo y dos de ellos considerados indicadores de la evolución o crianza de los espumantes sobre las borras (lactato y succinato de dietilo).

En la Dim 2, en el cuadrante inferior, se ubicaron los espumantes que recibieron previo tratamiento de filtrado (EF02-6; EF02-9 y EF05-6) estas muestras en concordancia con (Puig-Deu, M., Lóez-Tamames, S. Buxaderas, M.C., 1999) que aplicó un tratamiento similar al vino base no quedaron representadas por los etil ésteres y la α -butirolactona, por lo que esta operación no incrementaría la composición aromática de los espumantes como ha sido reportado anteriormente por (Amati, 1986) aunque esto también podría ser por la dosis de bentonita añadida posteriormente, que pudiese actuar absorbiendo compuestos del aroma o sus precursores, las mismas de hecho quedaron representadas principalmente por el 4-vinil-guayacol, determinado como un compuesto impacto para los espumantes de naranja pero también se caracterizaron por compuestos como el alcohol β -feniletílico y el ácido octanoico.

Con las dos primeras dimensiones no se logró caracterizar a los espumantes EB05-6 y EF05-6 habría que incluir el estudio de las siguientes dimensiones ya que las Dim 1 y 2 no permiten obtener información de los compuestos que más representan al aroma de estos espumantes.

VI.5 Conclusiones

De acuerdo a los resultados obtenidos, los alcoholes y los ésteres son los grupos aromáticos predominantes tanto en el vino base como en los “Vinos espumantes de naranja”, seguidos por los ácidos y los terpenos.

Durante la segunda fermentación se determinó la formación de nuevos ésteres, entre estos el isobutirato de etilo, hexanoato de etilo, decanoato de etilo, 3-hidroxietanoato de etilo y 2-hidroxiglutarato de etilo no identificados en el vino base, todos ellos descritos principalmente con notas frutales.

Los compuestos químicos con impacto al aroma de los “Vinos espumantes de naranja” determinados a través de su OAV y su ROC fueron 12 de los 30 compuestos cuantificados, sin embargo solo dos (4-vinil-guyacol y el octanoato de etilo) contribuyen en mayor medida al aroma global de los mismos.

El perfil aromático de los espumantes no solo está estrechamente relacionada al proceso de segunda fermentación y al tiempo de contacto con las borras, sino también parecería estar influenciado por el proceso de clarificación ya que los Vinos espumantes de naranja que solo fueron tratados con bentonita se vieron menos afectados en las concentraciones de los compuestos considerados como marcadores de crianza en los vinos espumosos, este resultado también se vio a través del ensayo de PCA que muestra los diferentes perfiles de aroma para los “Vinos espumantes de naranja” y los compuestos que mejor los representan.

Por ultimo, las grandes y pequeñas diferencias en las concentraciones de los compuestos volátiles probablemente sean las responsables por las diferentes características aromáticas de los mismos, pero no se puede afirmar que sean indicadores de una mejor o peor calidad.

CAPITULO VII

Caracterización sensorial de los Vinos espumantes de naranja. Ensayos con consumidores

VII.1 Introducción

El desarrollo tecnológico y científico de las últimas décadas ha logrado un crecimiento de la disponibilidad de alimentos superior a su demanda. Esto ha reducido la importancia de la disponibilidad y el precio como determinantes de la compra de alimentos y ha aumentado la importancia de otros factores en las elecciones de los consumidores (Costa, A.I.A., & Jongen, 2006). Es por esto que desde hace algunas décadas, viene prosperando un nuevo enfoque de desarrollo de productos basado en el mercado y no en la producción, enfoque basado en el consumidor (Costa, A.I.A., & Jongen, 2006; Stewart-Knox, B., Parr, H., Bunting, B., & Mitchell, 2003).

En Argentina desde el año 2012 se vienen presentando nuevos “trends” en el consumo de bebidas alcohólicas, particularmente en el sector de vinos espumosos; esto se debe a que crece el consumo en el mercado doméstico y a que los consumidores lo han adoptado como un compañero ideal de las comidas cotidianas (Fresco, 2012).

Además de esto, en estos últimos años, los espumantes han dejado la rigidez de tener que ser secos y elaborados solo con cepas de champagne; entendiéndose esto como un desprendimiento evolutivo en la elaboración de vinos espumosos que dio lugar a vinos gasificados dulces aromáticos, muy presentes en el joven consumidor al que las variedades tradicionales no habían logrado captar masivamente, conocida como categoría de iniciación.

Prestar atención entonces al desarrollo de nuevos productos con enfoque en el consumidor, que a su vez resulten innovadores y aporten valor será la estrategia para sobrevivir y lograr éxito en el mercado global de alimentos (Moskowitz, 1994; Stewart-Knox, B., Parr, H., Bunting, B., & Mitchell, 2003).

La evaluación sensorial en este sentido puede ser utilizada como un enlace entre la investigación y desarrollo, al enfocarse en los aspectos técnicos de los alimentos, el comportamiento y psicología de los consumidores y la investigación de mercado (Moussaoui & Varela, 2010); siendo uno de sus desafíos, el proveer información útil acerca de las modificaciones a realizar en las formulaciones y no únicamente la descripción de los productos (Moskowitz, H., & Hartmann, 2008) para así lograr el producto ideal.

Por otra parte, la hipótesis de que los consumidores son capaces de describir productos con precisión es cada vez mas manejada dentro de la comunidad de la ciencia sensorial (Moussaoui & Varela, 2010; Vidal et al., 2014). De hecho, las nuevas

herramientas que surgieron como herramientas complementarias a la ciencia del consumidor y sensorial, pueden ser aplicadas para obtener descripciones de los productos directamente del consumidor, con el beneficio adicional de obtener el “feedback” de ellos y con su propio vocabulario (Moussaoui & Varela, 2010).

Para acompañar estas tendencias en el diseño y desarrollo de productos basado en la “voz del consumidor” a finales de los años 80 aparecieron nuevos métodos de caracterización sensorial, como el Perfil Libre o “Free Choice Profiling” (FCP), el método de la grilla o Repertory Grid (RG), que oficiaron de precursores de los métodos alternativos que han aparecido en los últimos 5-10 años (Thomson, D. M. H., & McEwan, 1988; Williams, A. A., & Arnold, 1985), estos nuevos métodos de tipo “holístico”, que evalúan al producto como un todo, asumen que el producto es un conjunto de características sensoriales que no pueden evaluarse por separado, y que se pregunta ¿cuándo evaluamos un producto, pensamos en atributos individuales o tenemos en cuenta la experiencia “global”? antes de abordar estas noveles metodologías, hoy cada vez más difundidas por la comunidad de la ciencia sensorial, basadas en la hipótesis de que los consumidores son capaces de describir productos con precisión (Moussaoui & Varela, 2010) es interesante referir una de las metodologías más potentes y frecuentemente utilizadas para describir las características sensoriales de los productos, el Análisis Descriptivo Cuantitativo™ — QDA™ (Stone, H., Sidel, J.L., Oliver, S., Woolsey & Singleton, 1974) que durante muchos años sirvió de puente entre las características del producto y el consumidor final (Stone, H., & Sidel, 2004); al proporcionar una descripción sensorial completa, teniendo en cuenta todas las sensaciones que son percibidas cuando se evalúa el producto. En esta metodología, los jueces son entrenados en el reconocimiento de los atributos, usando un lenguaje común y consensuado; lográndose una descripción cuantitativa de los productos (ASTM, 1992). Usualmente, el panel está compuesto por 8-12 jueces que evalúan las muestras al menos por duplicado. La información obtenida de esta metodología es un puntaje de intensidad para cada atributo y para cada muestra, la cual es normalmente analizada generando un mapa sensorial que reduce el número de variables y provee una representación gráfica de las muestras de acuerdo a sus similitudes y/o diferencias en la intensidad de los atributos sensoriales (Varela & Ares, 2012). La alta especialización de los paneles descriptivos permite obtener resultados muy detallados, robustos, consistentes, estables en el tiempo y dentro de un espacio sensorial seguro (Moussaoui & Varela, 2010), por lo que no ha podido ser

sustituido en todos los casos por las metodologías noveles donde las mediciones del panel entrenado han demostrado en varios casos un mejor desempeño; por ejemplo cuando es necesario comparar muestras en diferente momento de tiempo, o cuando se compraran diferentes set de muestras con pequeñas diferencias entre las mismas, o cuando una descripción muy detallada es necesaria (Moussaoui & Varela, 2010), pero que actualmente presenta algunas cuestionamientos como por ejemplo que la importancia de los diferentes atributos en la percepción global de los jueces es desconocida (Perrin et al., 2008) o que asume que la percepción de los productos que tienen los consumidores es igual a la de un panel de jueces entrenados. Estas, entre otras razones hacen que crezca el interés en el desarrollo de esas nuevas metodologías de caracterización sensorial que provean de resultados certeros y confiables en corto tiempo y con menos necesidades de recursos (Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, 2012; Varela & Ares, 2012).

Entre los métodos rápidos se encuentra el mapeo proyectivo (Risvik, E., McEwan, J.A. and Rodbotten, 1997) o Napping® (Pagès, 2003, 2005), denominación que proviene de “nappe”, palabra francesa que significa mantel y que recibe este nombre debido a la amplia utilización del método en trabajos de investigación franceses (Holt, 2014); ha sido reportado como una metodología simple que puede ser utilizada con consumidores o panel de jueces entrenados (Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, 2012; Varela & Ares, 2012) últimamente ha sido aplicado a un gran número de productos alimenticios tales como chocolate (Risvik, E., McEwan, J.A., Colwill, J.S., Rogers, R. and Lyon, 1994), quesos de oveja (Barcnas et al. 2004), vino (Pagès, 2005; Perrin et al., 2008; Ross, C.F., Weller, K.M. and Alldredge, 2012), manzanas (Nestrud, M.A. and Lawless, 2010), postres de leche (Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Giménez & Gambaro, 2010), nuggets de pescado (Albert, A., Varela, P., Salvador, A., Hough & Fiszman, 2011) y bebidas deshidratadas (Ares, G., Varela, P., Rado, G. and Gimenez, 2011) entre otros.

El mapeo proyectivo y su caso particular el Napping®, es una técnica de tipo proyectiva que recoge mapas perceptuales bidimensionales por evaluador en una única sesión sensorial; busca generar tareas ambiguas y poco estructuradas para no condicionar al evaluador ni condicionar su percepción (Varela & Ares, 2012). En este método las muestras son presentadas en simultáneo para ser posicionadas por cada evaluador en el espacio del Napping® que con frecuencia es en una hoja en blanco A4 o A3, pero que también puede hacerse en una pantalla de computadora donde los

evaluadores utilizan las dos dimensiones tal como en una hoja y donde un software sensorial permite registrar y medir los datos inmediatamente de generados por el consumidor desde la cabina de evaluación en un entorno totalmente controlado (Holt, 2014).

Este ensayo consiste en que los evaluadores ordenen las muestras de acuerdo a las similitudes o diferencias entre las mismas, de modo que dos muestras similares se encontraran más próximas en la hoja del Napping® (Perrin et al., 2008), el criterio de posicionamiento y su importancia es elegido por cada evaluador, lo que lo vuelve un procedimiento espontáneo y flexible (Varela & Ares, 2012). Los evaluadores reciben las diferentes muestras codificadas y en forma aleatorizada como en cualquier otro ensayo sensorial, disminuyendo de esta forma el sesgo o efecto del orden de gustación (Hopfer, H. and Heymann, 2013), una vez posicionadas las muestras muchas veces se les pide a los participantes que escriban comentarios describiendo las muestras o los grupos de muestras, las razones de su agrado, este método generalmente se conoce como Perfil Ultra Flash (Pagès, 2003; Perrin et al., 2008); otra forma de enriquecer el ensayo del Napping ® es con información descriptiva suplementaria obtenida mediante la utilización de por ejemplo una Pregunta Abierta, esta metodología es menos conocida pero persigue el mismo objetivo, el de entender cuáles son las principales características responsables de las similitudes o diferencias entre los productos (Bécue-Bertaut, 2008.; Pagès, 2005) en esta metodología los evaluadores son preguntados para que provean una descripción de las características sensoriales de un set de productos con el objetivo de entender cuáles son las principales características que determinan la percepción del consumidor sobre el producto y especialmente motivan el puntaje de aceptación. La descripción de los productos puede realizarse utilizando principalmente tres enfoques: la aplicación original de esta metodología por ten Kleij and Musters (2003) que permite a los consumidores que voluntariamente escriban un comentario luego de la puntuación de la pregunta hedónica; la alternativa de (Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Giménez & Gambaro, 2010) que preguntan a los consumidores para que describan en no más de cuatro palabras las muestras luego de haber realizado la evaluación global como una parte de la tarea que deben completar y más recientemente Symoneaux, R., Galmarini, M.V. and Mehinagic, (2012) que le dan a los consumidores la opción de una etapa libre en la

que pueden evaluar los productos de acuerdo a su agrado o desagrado (liked and/or disliked) (Varela & Ares, 2012)

Considerando que esta es una metodología aplicable en estudios con consumidores el número de evaluadores necesarios para el buen desempeño de la misma se encuentra en un rango de 50-100 consumidores (Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., Giménez, A., & Gámbaro, 2010); esta prueba que no tiene restricciones por parte de los investigadores hace que se genere información muy rica que algunas veces puede bajar la puntuación y otras complementar cuantitativamente lo determinado por un panel de jueces entrenados (ten Kleij and Musters 2003); sin embargo la complejidad inherente a los datos textuales dificulta con frecuencia el análisis de los mismos con lo que la tarea se vuelve intensiva e insume bastante tiempo (Varela & Ares, 2012). Entre los productos alimenticios que se ha aplicado esta metodología se encuentran la mayonesa (ten Kleij and Musters 2003); postres lácteos (Ares, G., Giménez, A., Barreiro, C. and Gámbaro, 2010) y manzanas (Symoneaux, R., Galmarini, M.V. and Mehinagic, 2012), lo interesante de esta metodología y de estos estudios es que junto con el mapa de las muestras dieron resultados similares a los obtenidos con el clásico análisis descriptivo (QDA) obtenido con un panel de jueces entrenados (Varela & Ares, 2012).

Otra de las metodologías que en los últimos años ha ganado popularidad en las investigaciones sensoriales es el ensayo CATA (check-all-that-apply) o pregunta marque todo lo que corresponda, introducida por (Adams, J., Williams, A., Lancaster, B., & Foley, 2007). Esta metodología se ha reportado como un método rápido y simple para obtener información precisa acerca de la percepción de los consumidores sobre las características sensoriales de los productos, teniendo menos influencia sobre la aceptabilidad que las escalas de adecuación o de intensidad (Adams, *et al.*, 2007) y brindando resultados confiables y estables (Jaeger *et al.*, 2013).

La pregunta marque todo lo que corresponda (CATA) es una pregunta múltiple opción que consiste en una lista de palabras o frases de la cual los encuestados deben seleccionar todas las palabras que consideren adecuadas para describir el producto o muestra evaluada (Adams, J., Williams, A., Lancaster, B., & Foley, 2007). La principal ventaja de este tipo de pregunta es que le permite a los consumidores elegir o seleccionar características entre una multiplicidad de opciones en vez de forzarlo a prestar atención en atributos específicos para su evaluación (Smith, Dillman, Christian & Stern, 2006; Varela & Ares, 2012). Los términos incluidos pueden estar

exclusivamente vinculados con las características sensoriales de las muestras o pueden incluir términos acerca de características no sensoriales como ocasiones de uso, posicionamiento del producto o emociones (Varela & Ares, 2012). Los términos a incluir pueden corresponder a los descriptores utilizados por el panel de jueces entrenados o pueden ser seleccionados en base a estudios previos con consumidores (Dooley, L., Lee, Y.S., & Meullenet, 2010).

Algo que es importante a tener en cuenta cuando se aplica esta prueba es que debido a su sencillez los consumidores tienden a dar respuestas rápidas sin un procesamiento profundo de lo que están respondiendo y seleccionando, que por lo general son los primeros términos que aparecen en la lista o los que llaman más su atención (Krosnick, 1999). Por esta razón, se recomienda aleatorizar los términos en las boletas entre los consumidores (cada consumidor utiliza una pregunta CATA con los términos en diferente orden) y entre las muestras (cada muestra se presenta con los términos en un orden diferente)(Jaeger et al., 2013). Este tipo de aleatorización compromete a un nivel de procesamiento de la información más profundo, ya que los consumidores tienen que prestar atención a toda la lista de términos cada vez que evalúan una muestra (Jaeger et al., 2014).

El ensayo CATA ha sido ampliamente utilizado por diferentes investigadores para la caracterización sensorial de productos alimenticios: en cerveza (Reinbach, Giacalone, Ribeiro, Bredie, & Frøst, 2014); frutas frescas (Jaeger et al., 2013); postres de chocolate (Ares, et al., 2010); helado de vainilla (Dooley, L., Lee, Y.S., & Meullenet, 2010); postres lácteos (Bruzzone, 2014); vino tinto del Valle de Loire (Perrin et al., 2008; Perrin Lucie., Symoneaux Ronan, Maître Isabelle., Asselin Christian., Jourjon Frédérique., 2013) entre otros.

VII.2 Objetivos

El objetivo de este capítulo es caracterizar sensorialmente a los espumantes de naranja utilizando técnicas con consumidores.

1- Caracterizar a espumantes de naranja “jóvenes”: de 6 meses de contacto con sus borras y clarificados en diferentes condiciones, utilizando el mapeo proyectivo (Napping®) acompañado de una fase descriptiva.

2- Realizar una segunda caracterización en función de los resultados obtenidos, empleando en esta oportunidad la metodología CATA (check all apply that) o pregunta marque todo lo que corresponda.

3- Conocer las preferencias de los consumidores mediante la utilización de ensayos hedónicos.

VII.3 Materiales y Métodos

VII.3.1 Primera etapa

En esta etapa fueron estudiados seis espumantes de naranja [Tabla VII.1](#) que permanecieron en contacto con sus borras por un periodo de seis (6) meses. De estos, cuatro (4) espumantes fueron tratados para su clarificación con dos concentraciones de bentonita, 0,20g/L y 0,50g/L y con y sin filtrar. Los dos espumantes restantes fueron adicionados con 25g/L de azúcar en el licor de expedición para evaluar el impacto del agregado de la misma en la aceptabilidad y percepción global del producto.

Tabla VII-1 Diseño experimental para los ensayos Napping® y Pregunta Abierta

Muestra	Tratamiento de clarificación	Agregado de azúcar
EB05-6	0,50 g/L bentonita	s/a
EF02-6	filtrado - 0,20 g/L bentonita	s/a
EB02-6	0,20 g/L bentonita	s/a
EF05-6	filtrado - 0,50 g/L bentonita	s/a
EBA02-6	0,20 g/L bentonita	c/25 g/L
EFA02-6	filtrado - 0,20 g/L bentonita	c/25 g/L

VII.3.1.1 Estudio con consumidores

Cincuenta consumidores de edades comprendidas entre 20 y 55 años, egresados de la Escuela de Sommeliers de la UDELAR en la ciudad de Montevideo Uruguay fueron convocados para la evaluación de las muestras, la selección de estos panelistas se debió a que al ser el espumantes de naranja un producto nuevo se creyó conveniente que la generación de los primeros descriptores fuera

realizada por personas con un mayor conocimiento sobre la degustación de bebidas alcohólicas.

VII.3.1.2 Condiciones de los ensayos

Las seis muestras fueron presentadas en copas de vidrio ISO 3591 (1977) con aproximadamente 50 mL cada una a una temperatura de 7-8°C (del Castillo García, 1993); cada muestra fue codificada con un número de tres dígitos elegidos al azar. El orden de presentación de las muestras a cada evaluador se hizo siguiendo un ordenamiento balanceado y único para cada participante de modo de disminuir la probabilidad de sesgo en la evaluación por parte de los panelistas.

La evaluación fue llevada a cabo en el laboratorio de evaluación sensorial diseñado en concordancia con la ISO 8589 (ISO 1988), equipado con luz artificial del tipo luz día, con temperatura controlada (entre 22 y 24°C) y circulación de aire, el ensayo consistió en pedirle a cada consumidor que sobre una escala de nueve puntos marque cuanto le gusta o le disgusta el producto, luego mediante una pregunta abierta que lo describa en no más de cuatro o cinco términos y por ultimo sobre una hoja en blanco tamaño A3 (60 x 40 cm) que coloquen las muestras teniendo en cuenta que la distancia entre ellas es una medida de su similitud o diferencia (Ensayo Napping®).

VII.3.1.3 Análisis de Datos

Para determinar si existen diferencias significativas en la aceptabilidad (overall liking) de los consumidores se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) sobre las puntuaciones globales considerando a los consumidores y las muestras como una fuente fija de variación. Se calcularon las medias y las diferencias significativas mediante el test LSD de Fisher ($\alpha=0,05$).

El ensayo pregunta abierta se analizó en forma cualitativa agrupando los términos en categorías afines, considerando validos aquellos términos cuya frecuencia de aparición fue igual o superior al 10%.

El ensayo Napping® se analizó mediante análisis multifactorial (MFA) utilizando las coordenadas del mapa de cada uno de los evaluadores para cada muestra y los términos resultantes del ensayo pregunta abierta.

VII.3.2 Segunda etapa

En esta segunda etapa se trabajó sobre cuatro muestras de espumante [Tabla VII.2](#) que permanecieron durante un período de 9 meses en contacto con sus borras seleccionadas a partir del resultado del ensayo de preferencia aplicado en la primera etapa; las mismas fueron evaluadas sensorialmente por medio de los siguientes ensayos, aceptabilidad global por medio de escala estructurada de nueve puntos donde debían marcar cuanto le gusta o le disgusta el producto, luego mediante preguntas marque todo lo que corresponda (ensayo CATA) debían indicar los términos que mejor caracterizaran al producto.

Tabla VII-2 Diseño experimental para el ensayo CATA

Muestra	Tratamiento de clarificación	Agregado de azúcar
EB02-9	0,2 g/L bentonita	s/a
EB05-9	0,5g/L bentonita	s/a
EBA02-9	0,2g/L bentonita	c/25 g/L
EBA05-9	0,5g/L bentonita	c/25 g/L

En esta oportunidad 100 consumidores fueron convocados para la evaluación de las muestras, los mismos debían marcar la aceptación global del producto utilizando una escala hedónica de nueve puntos y una pregunta CATA (check-all-that-apply) que consistió en una lista de 27 términos, compuesta por atributos hedónicos y sensoriales; los evaluadores debían marcar cuales términos eran los más apropiados para describir cada uno de los espumantes. Los términos considerados fueron los siguientes: seco, dulce, amargo, cítrico, suave, tostado, agradable, aromático, frutal, floral, alcohólico, especiado, ácido, madera, tabaco, fruta tropical, caramelo, frutos secos, vegetal, olor extraño, aroma a levadura y términos relacionados con la espuma y las burbujas como burbuja rápidas, burbujas medias, burbujas lentas, espuma baja, espuma media, espuma abundante.

De estos términos, dieciséis (16) se obtuvieron como resultado del ensayo pregunta abierta aplicado en la etapa 1, los once (11) restantes fueron seleccionados a criterio e interés del equipo de trabajo.

VII.3.3 Análisis de Datos

Para el estudio CATA en primer lugar se determinó el número de consumidores que eligió cada término para cada una de las muestras evaluadas. Para encontrar diferencias globales entre las muestras se utilizó el test Chi-cuadrado y para evaluar diferencias en cada uno de los términos el test Q de Cochran (Manoukian, 1986). El mapa sensorial de las muestras y las relaciones entre términos se determinó utilizando un Análisis Múltiple de Correspondencia (MCA) Meyners, Castura, & Carr,(2013).

Todos los datos fueron analizados con el programa estadístico FactoMineR (Lê and Husson 2008; Lê *et al.* 2008) y SPSS Statistics 17.0.

VII.4 Resultados y Discusión

VII.4.1 Ensayo Napping®

En la [FiguraVII-1](#) se observan los valores medios correspondientes a la aceptabilidad global evaluada en las seis muestras y por los 50 consumidores, el rango quedó definido por los valores medios de las muestras entre 4,6 y 5,2, indicando esto que la aceptación de los consumidores en relación a las muestras fue cercana al punto de indiferencia.

El ensayo de comparación de medias (LSD de Fisher) no indico diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$) entre las 6 muestras evaluadas, sin embargo la mayor aceptabilidad se presentó en muestras de espumante adicionadas de azúcar en el licor de expedición; Mamede, *et al.*,(2012) trabajando con 8 muestras de mosto de dos variedades de uva para la elaboración de espumante obtuvo puntuaciones del orden de 3,37 a 5,50, considerando que los valores por encima de 5 corresponden a moderadamente gustosos, categoría a la que corresponderían tres de nuestros espumantes si se aplicara el mismo criterio.

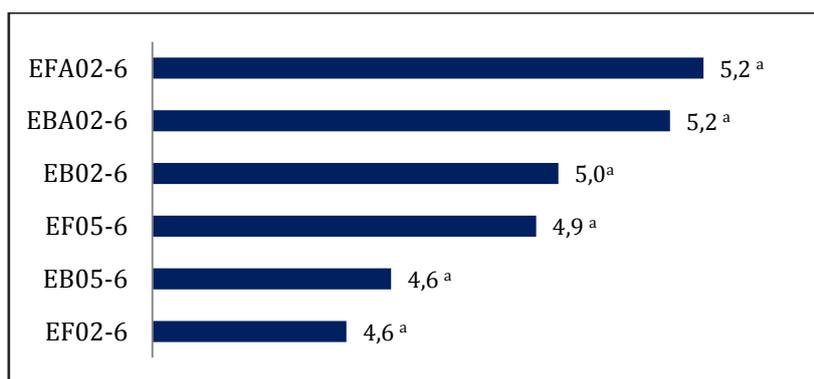


Figura VII-1 Valores medios para la aceptabilidad global en las 6 muestras ensayadas

^(a)Letras iguales significa que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$)

Por otra parte en concordancia con lo propuesto en el ensayo Pregunta Abierta y posterior Napping®, primero se procede al análisis cualitativo; clasificación manual por dos investigadores y en dos instancias, en forma individual y luego conjunta para unificar criterios en relación a los términos sugeridos por los cincuenta consumidores como respuesta a la Pregunta Abierta; de la misma surgieron 35 descriptores de los cuales se descartaron los que presentaron una frecuencia de aparición inferior al 10% (Ares *et al.*, 2010) y no exhibieron similitud en ninguna categoría, los términos con significado similar fueron agrupados en 16 categorías finales en cada una de las muestras, tal como se muestra en la Tabla VII-3. Vannier, *et al.*, (1999) en su trabajo de aplicación del análisis sensorial a Champagnes para su caracterización y discriminación obtuvo en la etapa de generación de términos mediante una lista cerrada 64 atributos al final de 18 sesiones de entrenamiento, que luego por consenso fue reducida 19 atributos.

Al comparar el resultado de la Pregunta Abierta con la lista cerrada de Vannier *et al.*, 1999 encontramos que cinco términos presentan coincidencia, tres gustativos: ácido, amargo y dulce, un término olfativo: tostado y otro que corresponde a fermentado para ellos y lo podríamos asociar a levadura en nuestro trabajo, representando 31% de coincidencia entre ambos trabajos.

Tabla VII-3 Términos utilizados por los consumidores para describir los espumantes antes del mapeo proyectivo y su número de menciones

<i>Categoría</i>	<i>Número de Mediciones</i>
Ácido	89
Frutal	60
Burbujeante	47
Amargo	47
Dulce	45
Aromático	41
Amarillo Oro	26
Madera+ Tabaco	26
Tostado (ahumado, quemado, panceta)	24
Agradable	23
Fuerte	20
Seco	18
Suave	16
Alcohólico	14
Levadura	12
Frutos Secos	6

Para la comprensión del ensayo del Napping®, con las coordenadas X e Y de cada uno de los consumidores se realizó un análisis multifactorial (MFA), las coordenadas fueron consideradas como variables activas y los descriptores de los consumidores como variables suplementarias, tal como lo sugerido por [Páges \(2005\)](#). Este ensayo ubica las muestras en función de los resultados del mapeo proyectivo, tal como se muestra en la Figura x, y relaciona las dimensiones con cada uno de los atributos a los efectos de encontrar cuales fueron los responsables de las diferencias o similitudes entre muestras.

El ensayo factorial explicó con las dos primeras dimensiones el 52,487% de la varianza [Tabla VII-4](#), en trabajos similares realizados por [Leanie Louw et al., \(2013\)](#) en brandy se logró explicar el 62,98% de la varianza y en trabajos realizados por [Lucie Perrin et al., \(2008; 2013\)](#) sobre 10 vinos tintos del Valle de Loire el análisis del Napping® combinado con el UFP explicó el 59,77% de la varianza con las dos primeras dimensiones.

El espacio sensorial resultante quedo construido de la siguiente manera ([Figura VII-2](#)): en la primera dimensión las muestras que más contribuyen son EB02-6 (33,31%) y EFA02-6 (40,41%) y en la segunda dimensión EF05-6 (32,55%) y EBA02-6 (57,44%), las muestras EB06-6 (62,40%) y EF02-6 (58,37%) quedaron mejor explicadas en las dimensiones 3 y 4 respectivamente.

Tabla VII-4 Valores propios y porcentaje de la varianza del MFA para el ensayo Napping®

	Valor propio	% varianza	% acumulado
Dim.1	19,347	27,983	27,983
Dim.2	16,941	24,503	52,487
Dim.3	13,316	19,261	71,747
Dim.4	11,101	16,057	87,804
Dim.5	8,432	12,196	100,000

Al observar la posición de las muestras en el mapa vemos que hay dos grupos bien diferenciados, en el cuadrante superior derecho los espumantes EF02-6 y EFA02-6, caracterizados por términos hedónicos como “agradable” y “fuerte”, por atributos de color como “amarillo oro”, por sensaciones táctiles “burbujeante” así como también por notas aromáticas “madera, tabaco”, este grupo de muestras comparten la característica de ser filtrados, pudiendo esta operación ser la responsable de las diferencias con los espumantes clarificados por el método tradicional que independientemente de la concentración de bentonita con la que fueron tratados quedaron caracterizados por los términos “levadura” y “suave”. De las dos muestras restantes, EF05-6 fue caracterizada como “amarga” “ácida” y “seca” todas sensaciones sávido gustativas y la muestra EBA02-6 quedo representada con el término “suave” probablemente esta característica haya sido impartida por el azúcar agregado en el licor de expedición.

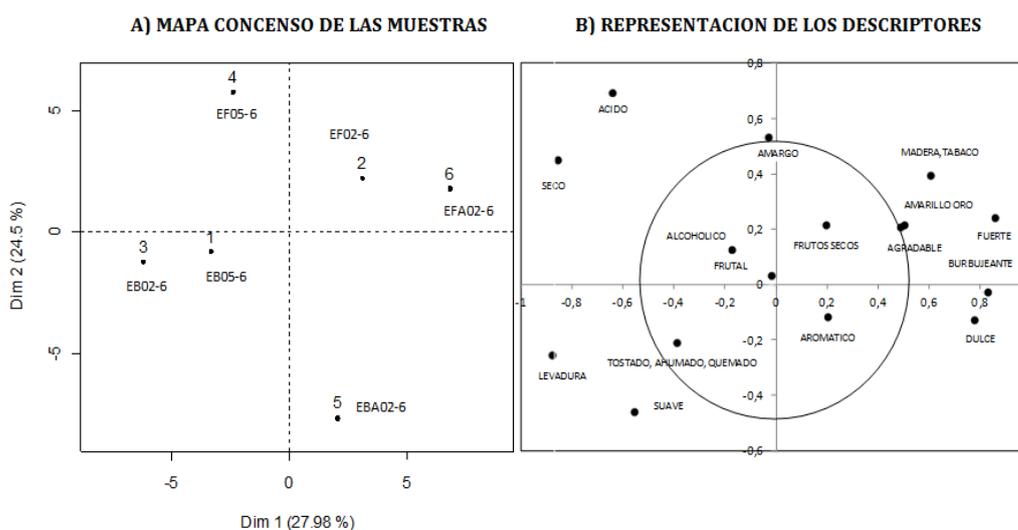


Figura VII-2 Mapa perceptual del ensayo Napping® y sus correspondientes descriptores para los Vinos espumantes de naranja.

De este primer ensayo podemos ver que independientemente del tratamiento aplicado a los diferentes espumantes para su obtención y al ser este un producto nuevo sin antecedentes los términos utilizados por los consumidores para su caracterizaron sensorial representan bien al tipo de producto; de los 16 descriptores generados en esta primera etapa podríamos decir que ninguno posee connotación negativa que pueda asociarse a defectos en los mismos.

Dado que los espumantes de naranja son vinos jóvenes y siguiendo la comparación con la caracterización a Champagnes hecha por [Vannier, et al., 1999](#) en el que considera que uno de los descriptores típico de los vinos espumantes jóvenes es el término “herbáceo” podemos decir que en ninguno de nuestros espumantes el mismo fue sugerido o identificado, así como tampoco otros descriptores (“polvo”, “hongo”, “goma”) propuesto por este autor como característicos en Champagnes añejados.

Por último resulta interesante prestar atención a la caracterización resultante de los espumantes EF02-6 y EFA02-6 estrechamente relacionados a los términos “fuerte” y “amarillo oro” ya que al observar los valores analíticos de estos espumantes resultó que su graduación alcohólica fue la más elevada (13,48% v/v), así como también sus características cromáticas $C^*_{ab} = 19,20 \pm 0,34$ y $h^* = 87,64 \pm 1,03$ e índice de amarronado ($A_{\lambda 420}$) serían coincidentes con la descripción realizada por los consumidores.

VII.4.2 Ensayo CATA

Cuarenta y cuatro (44) consumidores de sexo femenino y cincuenta y seis (56) de sexo masculino, de edades comprendidas entre 19 y 69 años realizaron el ensayo CATA (marque todo lo que corresponda), primeramente respondieron la pregunta hedónica, el resultado de la misma se observa en la [Figura VII-3](#), el análisis de la varianza (test LSD de Fisher) indicó que existen diferencias estadísticamente significativas ($\alpha=0,05$), siendo preferidos por los consumidores los espumantes adicionadas de azúcar en el licor de expedición o tipo Demisec.

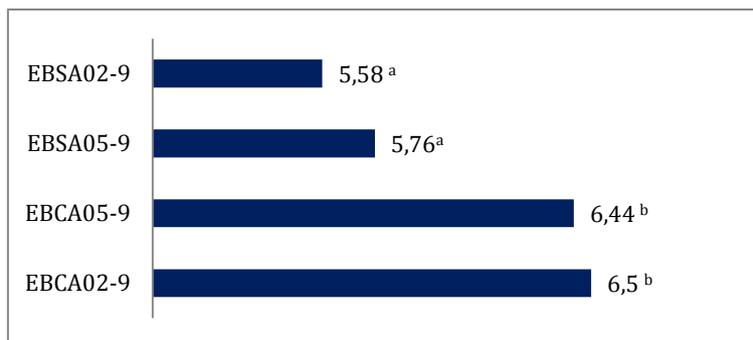


Figura VII-3 Valores promedios para la aceptabilidad global en 4 muestras de espumantes tratados con bentonita y con 9 meses de contacto con sus borras

(^{a, b}) Letras iguales significa que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$)

La [Tabla VII-5](#) muestra la frecuencia de aparición de cada uno de los atributos en cada una de las muestras de la lista propuesta en el ensayo CATA; los términos de mayor aparición fueron: Seco, agradable, burbujas medias, espuma media y ácido.

Para comprender si existen diferencias globales en la distribución de frecuencia de todos los términos de la pregunta CATA se aplicó el test chi-cuadrado, en este caso $\chi^2 = 116,67$; $p = 0.0015$, por lo que de acuerdo a la percepción de los consumidores, existen diferencias significativas entre las muestras evaluadas, por otra parte para evaluar diferencias en cada uno de los términos se aplicó el test Q de Cochran's ([Parente, M. E., Manzoni, A. V., & Ares, 2011](#)) donde el (*) al lado de cada término indica que existen diferencias significativas en ese término, por último para obtener un mapa sensorial de las muestras y determinar relaciones entre términos y muestra se realizó un Análisis de Correspondencia (CA).

Tabla VII-5 Resultado del ensayo CATA y frecuencia para cada atributo y muestra evaluada

<i>Atributos</i>	<i>Muestras</i>			
	EBSA05-9	EBCA02-9	EBCA05-9	EBSA02-9
Seco*	43	27	23	48
Dulce*	12	32	36	8
Amargo*	33	16	23	34
Suave	22	34	27	24
Cítrico	10	12	11	13
Tostado	6	7	8	6
Burbujas Rápidas	35	29	28	39
Burbujas Medias	33	37	39	30
Burbujas Lentas	13	16	19	18
Agradable*	25	40	40	22
Aromático	15	18	22	20
Floral	8	10	5	5
Alcohólico	35	31	28	23
Floral	9	5	6	8
Espuma Abundante	18	11	16	22
Espuma Media	35	39	36	27
Espuma Baja	24	27	25	22
Ácido*	44	19	24	45
Madera	17	20	9	17
Fruta Tropical	5	3	5	6
Tabaco	3	9	9	5
Caramelo	5	12	7	5
Olor Extraño	9	12	7	11
Aroma Levadura	12	6	10	8
Vegetal	2	5	3	3
Frutos Secos	5	5	5	8

(*)Indica diferencia significativa para un $p_{\text{valor}} < 0,05$

Los autovalores de la [Tabla VII-6](#) muestran el porcentaje de varianza de los ejes. El primer eje explicó el 74,60% de la varianza y el segundo 15,98%, por lo que se consideraran para el análisis solo las dos primeras dimensiones.

Tabla VII-6 Autovalores y porcentaje de varianza de los tres primeros ejes

	Valores propios	% varianza	% acumulado
Dim.1	10,04	74,60	74,60
Dim.2	20,00	15,98	90,58
Dim.3	30,00	9,42	100,00

La [Figura VII-4](#) muestra que en el extremo derecho del primer eje esta el dulce junto al tabaco el caramelo y el agradable, en el extremo izquierdo del primer eje están asociados el ácido, el amargo y el seco. El segundo eje viene asociado a los

frutos secos y el aroma a levadura, mientras que en el inferior esta el término madera.

El peso que cada variable tiene en la formación de cada uno de los ejes es analizado a través de las contribuciones absolutas, así por ejemplo en el primer eje los espumantes se diferencian preferentemente en función del dulce (21,68%), amargo (14,13%), agradable (11,48%), ácido (18,40%), seco (9,90%) y en la segunda dimensión por los términos madera (33,69%), dulce (8,69%), amargo (8,00%), floral y alcohólico (6,60 y 6,16%), el término aromático (5,62%), el resto de los descriptores todos en menor porcentaje.

Por lo tanto para seleccionar los atributos que mejor caracterizan a los espumantes nos basamos en las variables que mas influían en el primer y segundo eje, así como en las coordenadas de las muestras y las contribuciones de las muestras a la formación de los ejes, con lo que los términos dulce, tabaco, caramelo y agradable caracterizan mejor a EBCA05-9 y a EBCA02-9 la caracterizan mejor los términos vegetal, floral y madera, ambas muestras adicionadas de azúcar en el licor de expedición. En las otras dos muestras EBSA02-9 y EBSA05-9 sobresalieron las características de ácido, amargo y seco, pero también aunque en menor medida dos características muy importantes de este tipo de productos como son la espuma y las burbujas, que en fueron asociadas a estos espumantes con los descriptores de “Espuma Abundante” y “Burbujas Rápidas”.

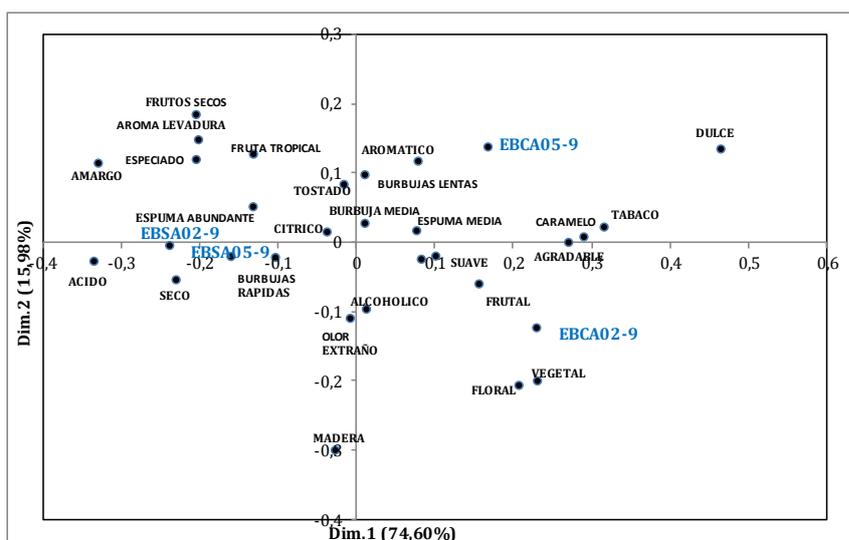


Figura VII-4 Mapa perceptual bidimensional obtenido como respuesta a la pregunta (CATA)

VII.5 Conclusiones

La aplicación de metodologías basadas en la percepción del consumidor nos permitió lograr una primera caracterización sensorial del producto “Vino espumante de naranja” en función de los tratamientos seleccionados para su elaboración.

La pregunta abierta por su parte generó un número importante de descriptores, altamente coincidentes con los términos empleados por otros autores para la caracterización sensorial de este tipo de vinos, siendo este aspecto muy favorable atendiendo a las profundas diferencias entre las materias primas.

La aplicación del mapeo proyectivo permitió identificar diferencias y similitudes entre los espumantes y junto con la pregunta abierta comprender a que se debieron las mismas.

Con el ensayo CATA se logró una segunda descripción de los vinos espumantes, los resultados fueron concordantes con los del Napping®; la selección de los términos empleados para la caracterización fue similar, siendo que los consumidores podían elegir los descriptores de una lista más amplia que se había generado por consenso entre los investigadores para obtener mayor información del producto.

En ambos ensayos se vio que los espumantes más dulces recibieron mayor puntaje en la prueba de aceptabilidad mostrando esto una posible tendencia en el gusto del consumidor, por otra parte los espumantes que fueron evaluados después de los nueve meses de contacto con sus borras también recibieron una puntuación en la aceptabilidad global más alta que los que fueron evaluados a los seis meses, mostrando que el tiempo mejora la aceptabilidad del producto por parte de los consumidores.

Los espumantes evaluados mediante el ensayo Napping® se discriminaron en función del tratamiento aplicado para su clarificación, las muestras filtradas fueron descritas con el término “fuerte” pudiendo asociarse al contenido alcohólico de las mismas que fue cuantificado como superior al de las muestras sin filtrar.

Las muestras adicionadas de azúcar en el ensayo CATA se relacionaron mejor con el término dulce, agradable, caramelo y en menor medida con los

términos aromáticos, floral, vegetal, todos descriptores con connotación positiva en el producto y probablemente responsables de la mayor aceptabilidad por parte de los consumidores; en cambio en las muestras sin azúcar resaltan las características de ácido, amargo y se relacionan mejor con los descriptores de especiado, frutos secos y aroma de levadura, cualquiera de estos términos, de toda formas, se condicen con descriptores utilizado por otros autores para la caracterización de este tipo de vinos.

CAPITULO VIII

Conclusiones generales

-Es posible desarrollar un Vino espumante de naranja de calidad a partir de una materia prima diferente como es en este caso la Naranja var. Valencia Late.

- El vino base presentó valores en los parámetros enológicos y atributos sensoriales adecuados para ser sometido a una segunda fermentación.

-Los vinos espumantes de naranja presentaron valores en sus parámetros físicoquímicos similares a los recomendados para este tipo de productos, no obstante la acidez total mostró concentraciones superiores ya que esta es una característica propia de la materia prima.

- Los diferentes tratamientos aplicados al vino base para la obtención de los espumantes tienen efecto significativo sobre los parámetros enológicos estudiados, tal es el caso del etanol y la luminosidad (L^*) que fueron superiores en espumantes obtenidos a partir de un vino base filtrado.

- Desde el punto de vista tecnológico, el empleo de menores tiempos de contacto con las borras (6 meses), podría tener ventajas para la obtención de vinos espumantes con menor intensidad de color, ya que a mayor tiempo de contacto (9 meses) los vinos espumantes exhibieron un aumento en el Índice de Amarronado.

- Tecnológicamente se puede decir que tanto el filtrado y la bentonita como únicas operaciones de clarificación, dieron por resultado vinos de gran limpidez, estables en el tiempo.

-Del estudio de la composición de la fracción volátil libre de los vinos espumantes de naranja se desprende que los alcoholes y los ésteres son los grupos aromáticos predominantes al igual que en el vino base, seguidos por los ácidos y los terpenos.

-Se identificaron y cuantificaron treinta compuestos volátiles en los vinos espumantes de naranja, de los cuales doce presentaron un OAV superior a 1 y dos el 4-vinil-guyacol y el octanoato de etilo, puesto de manifiesto a través su contribución relativa (ROC) aportaron en mayor medida al aroma global.

Desde el punto de vista de la composición aromática los espumantes que permanecieron más tiempo en contacto con las borras y fueron tratados con bentonita como único agente clarificante, mostraron una mayor correlación con

los ésteres indicando probables diferencias en los perfiles aromáticos de los Vinos espumantes de naranja.

-La aplicación de metodologías basadas en la percepción del consumidor permitió lograr una primera caracterización sensorial del producto “Vino espumante de naranja” en función de los tratamientos seleccionados para su elaboración.

- Los ensayos Pregunta Abierta, Napping® y CATA permitieron obtener una descripción de los Vinos espumantes de naranja en términos de consumidores e identificar similitudes y diferencias entre los productos en función del tratamiento seleccionado para su elaboración.

-Desde el punto de vista sensorial, un mayor tiempo de contacto con las borras da por resultado una mayor aceptabilidad por parte de los consumidores, los que su vez mostraron una marcada preferencia por los espumantes de la categoría demisec (adicionados de azúcar en el licor de expedición).

-Es importante destacar que este trabajo de tesis es una primera caracterización hecha al vino base y los vinos espumante de naranja obtenidos por biotransformación del jugo de naranja de la variedad Valencia Late.

-Por otra parte el conjunto de resultados obtenidos nos impulsan a continuar investigando sobre el tema para lograr una comprensión más acabada del perfil químico-sensorial de este novedoso producto, así como también de las variables que más influyen para su obtención.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, R. P. (1995). *Identification of essential oils by gas chromatography/mass spectroscopy* (Allured Pu). Illinois.
- Adams, J., Williams, A., Lancaster, B., & Foley, M. (2007). Advantages and uses of check-all-that-apply response compared to traditional scaling of attributes for salty snacks. In *7th pangborn sensory science symposium* (pp. 12–16). Minneapolis, USA.
- Albert, A., Varela, P., Salvador, A., Hough, G. and, & Fiszman, S. (2011). Overcoming the issues in the sensory description of hot served food with a complex texture. Application of QDA, flash profiling and projective mapping using panels with different degrees of training. *Food Qual. Prefer*, 22, 463–473.
- Albim Amalie. (2011). El Mercado del Vino Espumante. Retrieved from www.winebusiness.com
- Aleixandre Benavent, J. L. (1997). *La cultura del vino. Cata y degustación*. (U. P. de Valencia, Ed.). España.
- Aleixandre Benavent, J.L. y Garcia Esparza, M. J. (1996). *Prácticas Alimentos, procesos de elaboración y conservación de*. (UPV, Ed.).
- Alexandre, H., & Guilloux-Benatier, M. (2006). Yeast autolysis in sparkling wine – A review. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12, 19–127.
- Amati, A. (1986). L'impiego dei coadiuvanti nella fermentazione dei mosti. *Vini d'Italia*, 2, 19–26.
- Amerine, M. A., & Roessler, E. B. (1983). *Wines. Their Sensory Evaluation*. New York: W.H. Freeman and Company.
- Amerine, M. A. Berg, H. W. Kunkee, R. E. O., & C. S. Singleton, V. L and Webb, A. C. (1980). *The Technology of Wine Making* (4th ed., Vol. 4). Avi PublishingCo., Inc. Westport, C.T. U. S.A.
- Amerine, M.A. y Ough, C. S. (1976). *Análisis de vinos y mostos*. (Acribia, Ed.). Zaragoza, España.
- Anzaldúa Morales, A. (1994). *La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica*. (Acribia, Ed.). Zaragoza, España.
- Ares, G., Barreiro, C., Deliza, R., Giménez, A., & Gámbaro, A. (2010). Application of a check-all-that-apply question to the development of chocolate milk desserts. *Journal of Sensory Studies*, 25, 67–86.
- Ares, G., Deliza, R., Barreiro, C., Giménez, A. and, & Gambaro, A. (2010). Comparison of two sensory profiling techniques based on consumer perception. *Food Qual. Prefer*, 21, 417–426.

- Ares, G., Giménez, A., Barreiro, C. and Gámbaro, A. (2010). Use of an open-ended question to identify drivers of liking of milk desserts. Comparison with preference mapping techniques. *Food Qual. Prefer*, 21, 286–294.
- Ares, G., Varela, P., Rado, G. and Gimenez, A. (2011). Are consumer profiling techniques equivalent for some product categories? The case of orange-flavored powdered drinks. *J. Food Sci. Technol*, 46, 1600–1608.
- B. Fedrizzi, F. Magno, S. Moser, G. Nicolini, G. V. (2007). Concurrent quantification of light and heavy sulphur volatiles in wine by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography/mass. Rapid Commun. spectrometry. *Mass Spectrom*, 21, 707–714.
- Babayan, T. L., & Bezrukov, M. G. (1985). Autolysis in yeasts. *Acta Biotechnologica*, 2, 129–136.
- Bakker, J. and Clarke, R. J. (2012). *Wine: Flavor Chemistry*. Willey-Blackwell. USA.
- Balik, J. (2003). Effect of bentonite clarification on concentration of anthocyanins and colour intensity of red rose wines. *HORT. SCI.*, 30-4, 135–141.
- Baumes, R., Cordonnier, R., Nitz, S. & Drawert, F. (1986). Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 927–943.
- Baxter, I. a., Easton, K., Schneebeli, K., & Whitfield, F. B. (2005). High pressure processing of Australian navel orange juices: Sensory analysis and volatile flavor profiling. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6, 372–387. doi:10.1016/j.ifset.2005.05.005
- Bayanove, C., Baumes, R., Cruzet, J., & Güinata, Z. (2000). Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos. In AMW (Ed.), (C Flanzy).
- Bécue-Bertaut, M. and P. (n.d.). A principal axes method for comparing contingency tables: MFACT. *Comput. Stat. Data Anal*, 45, 481–503.
- Benedetto, A. (2007). Valorización de la identidad territorial, políticas públicas y estrategias de desarrollo territorial en los países del MERCOSUR. *Revista Opera*, 139–165.
- Benkwitz F., Nicolau L., Lund C., Beresford M., W., & M., K. P. A. (2012). Evaluation of key odorants in Sauvignon Blanc wines using three different methodologies Title. *J. Agric. Food Chem*, 60, 6293 – 6302. doi:10.1021/jf300914n
- Bidan, P., Feuillat, M., & Moulin, J. P. (1986). Les vins mousseux. Rapport de la France. 65ème Assemblée Générale de l'OIV. *Bulletin OIV*, 59, 563–625.
- BOE189278:37587-93 (1991).

- Boido, E. (2002). Modificaciones producidas por la fermentación maloláctica en la fracción aromática de los vinos Tannat .
- Boido, E. Versini, G., Dellacassa, E., Carlin, S Fedrizzi, B., M. . (2008). *Analysis of Aroma Compounds in Wine. Hyphenated Techniques in Grape and Wine Chemistry* (John Wiley). Chichester, West Sussex, England.
- Bordiga, M., Rinaldi, M., Locatelli, M., Piana, G., Travaglia, F., Coisson, J.D. (2013). Characterization of Muscat wines aroma evolution using comprehensive gas chromatography followed by a post-analytic approach to 2D contour plots comparison. *Food Chemistry, 140*(1–2), 57–67.
- Bosch-Fusté, J., Riu-Aumatell, M., Guadayol, J.M., Caixach, J., López-Tamames, E., Buxaderas, S. (2007). Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) analysis. *Food Chemistry*.
- Boulton, R.B., Singleton, V.I., Bisson, I.F., & Kunkee, R. E. (1996). *Principles and practices of winemaking*. (D. C. & Hall, Ed.).
- Brown, C.M., Campbell, I. and Priest, F. . (1989). *Introducción a la Biotecnología*. (Acribia, Ed.). Zaragoza, España.
- Bruzzone, F. (2014). *Aplicación de metodologías de caracterización sensorial con consumidores en el desarrollo de postres lácteos funcionales*.
- Bueso Jordán M^a José. (1999). *Constituyentes aromáticos del zumo de naranja. Efecto del procesado industrial*. Universidad de Murcia.
- Burnaj-Espumoso de Naranja. (2012). Retrieved from <http://cordobanauta.blogspot.com.ar/2012/11/burnaj-espumoso-de-aranja.html>.
- Caliari, V., Burin, V. M., Rosier, J. P., & Bordignon Luiz, M. T. (2014). Aromatic profile of Brazilian sparkling wines produced with classical and innovative grape varieties. *Food Research International, 62*, 965–973. doi:10.1016/j.foodres.2014.05.013
- Caliari, V., Prieto Panceri, C., Pier Rosier, J., & Bordignon-Luis, M. . (2015). Effect of the traditional Charmat and Asti method production on the volatile composition of Moscato Giallo sparkling wine. *LWT-Food Science and Technology, 61*, 393–400.
- Carlin, S. (1998). *Metodi de Arrechimento di composti dell'aroma per una possibile tipificazione di vini tramenier*. Università delgi Studi di Udine.
- Carpenter, R.P., Lyon, D.H. & Hasdell, T. . (2002). *Análisis Sensorial en el Desarrollo y Control de la Calidad de Alimentos*. (Acribia, Ed.). Zaragoza, España.

- Carrau, F., Boido, E., Gaggero, C., Medina, K., Fariña, L., Disegna, E., Dellacassa, E. (2011). Vitis vinifera Tannat, chemical characterization and functional properties. *Multidisciplinary Approaches on Food Science and Nutrition for de XX Century*, 4, 53–71.
- Casas, A., Mallent, D. & Montoro, R. (1976). Evaluación Rápida del Contenido en Carotenoides Totales del Zumo de Naranja. *Rev. Agroq. Tecnol. Alim.*
- Castagnini, J. . (2014). *arándanos y su utilización como ingrediente para la obtención de un alimento funcional por impregnación a vacío.*
- Cerdán-Calero, M., Sendra, J. M., & Sentandreu, E. (2012). Gas chromatography coupled to mass spectrometry analysis of volatiles , sugars , organic acids and aminoacids in Valencia Late orange juice and reliability of the Automated Mass Spectral Deconvolution and Identification System for their automatic identifi. *Journal of Chromatography A*, 1241, 84–95. doi:10.1016/j.chroma.2012.04.014
- Charpentier, C., Feuillat, M. (1993). *Yeast autolysis.* (Wine & microbiology and Biotechnology, Eds.) (Graham G.).
- Cilindre, C., Liger-Belair, G., Villaume, S., Jeandet, P., & Marchal, R. (2010). Foaming properties of various Champagne wines depending on several parameters: Grape variety, aging, protein and CO₂ content. *Analytica Chimica Acta*, 660, 164–170.
- Clark. (1980). *The Brewer.* Winnipeg.
- Corazza M.L., Rodrigues D.G.& Nozaki, J. (2001). Preparação e caracterização do vinho de laranja. *Quim. Nova*, Vol. 24, N, 449–452.
- Costa, A.I.A., & Jongen, W. M. . (2006). New insights into consumer-led food product development. *Trends in Food Science & Technology*, 17, 457–465.
- Daban, M. (2005). Los Espumosos del Mundo. Factor variedad y fermentación. *ACE Revista Enología*. Retrieved from <http://www.acenologia.com/dossier71.htm>
- Del Castillo García, F. (1993). La región del cava. Problemas espaciales de este espumoso y principales fases de su proceso de elaboración. In *Espacio, Tiempo y For* (Serie VI, pp. 213–236).
- Delfini, C., Formica, J. . (2001). *Wine Microbiology: Science and Technology.* *Food Science and Technology* (1ª ed.).
- Dooley, L., Lee, Y.S., & Meullenet, J. F. (2010). The application of check-all-that-apply (CATA) consumer profiling to preference mapping of vanilla ice cream and its comparison to classical external preference mapping. *Food Quality and Preference*, 21, 394–401.

- Duarte, W. F., Dias, D. R., Oliveira, J. M., Teixeira, J. a., de Almeida e Silva, J. B., & Schwan, R. F. (2010). Characterization of different fruit wines made from cacao, cupuassu, gabirola, jaboticaba and umbu. *LWT - Food Science and Technology*, 43(10), 1564–1572. doi:10.1016/j.lwt.2010.03.010
- Escudero, A., Campo, E., Ferreira, V., Cacho, J., Carrau, F., Boido, E., ... Dellacassa, E. (2008). QUIMICO-SENSORIAL AROMÁTICO DEL VINO TANNAT, 1–6.
- Esnik, H. B. Č., Ar, D. B. A. V. Č., & Lisjak, K. (2015). Volatile profile of wine Teran PTP, 5–14. doi:10.14720/aas.2015.105.1.01
- Etiévant, P. X. (1991). *Wine. In Volatile compounds in foods and beverages*. (H. Maarse, Ed.) (Marcel Dek). New York.
- Fachinelo, J. . (2008). Mirtilo. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 30, 285–576.
- Fan, G., Xu, X., Qiao, Y., Xu, Y., Zhang, Y., Li, L., & Pan, S. (2009). Volatiles of orange juice and orange wines using spontaneous and inoculated fermentations, 849–856. doi:10.1007/s00217-008-0992-x
- Fariña, L., Boido, E., Carrau, F., Dellacassa, E. (2007). Determination of volatile phenols in red wines by dispersive liquid–liquid microextraction and gas chromatography–mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 1157, 46–50.
- Federcitrus. (2011). No Title La actividad citrícola Argentina. Retrieved from www.federcitrus.org
- Federcitrus. (2014). La Actividad Citrícola Argentina. Retrieved from www.federcitrus.org
- Ferreira, M. . (2006). *Estudio del proceso biotecnológico para la elaboración de una bebida alcohólica a partir de jugo de naranja*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Formulario MV-01/C y SIM. (2014). INV.
- Fornairon-Bonnefond, C., Camarasa, C., Moutounet, M., & Salmon, J. M. (2002). New trends on yeast autolysis and wine ageing on lees: A bibliographic review. *Journal International Des Sciences de La Vigne*, 36, 49–69.
- Francioli., Torrens, J., Riu-Aumatell, M., López Tamames, E., & Buxaderas, S. (2003). Volatile Compounds by SPME-GC as age markers of sparkling wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54, 158–162.
- Francis, F.G. and Clydesdale, F. . (1975). *Food Colorimetry. Theory and Applications*. AVI Publishing Co. Inc., Westport, C.T.

- Fresco, M. (2012). Espumantes, la nueva era. Retrieved from <http://www.cronista.com/claseejecutiva/Espumantes-la-nueva-era-20121206-0121.html>
- Ganss, S., Kirsch, F., Winterhalter, P., Fischer, U., & Schmarr, H. G. (2011). Aroma changes due to second fermentation and glycosylated precursors in Chardonnay and Riesling sparkling wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 2524–2533. doi:10.1021/jf103628g
- Garofolo, A., Morassut, M., & Ciolfi, G. (1990). Composizione della base Spumante in relazione al metabolismo de stipiti di specie diverse. *Industrie delle Bevande*, XIX.
- Gattuso, G., Barreca, D., Garguilli, C., Leuzzi, C., Coristi, C. (2007). Flavonoid composition of citrus juice. *Molecules*, 12, 1641–1673.
- Goldner, M. C. (2008). *Caracterización sensorial y físicoquímica de vinos chardonnay y malbec de distintas regiones vitivinícolas argentinas*. Universidad de Buenos Aires.
- Grainger, k. (2009). *Wine quality: Tasting and selection*. (J. W. & S. Ltd, Ed.). Chichester, United Kingdom.
- Guillou, C., Aleixandre, J.L., Garcia, M.J., Lizama, V. (1998). Influence de la clarification sur les caractéristiques analytiques et sensorielles du vin sec de muscat. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 32 n°2, 111–119.
- Hidalgo, J. (2011). *Tratado de enología*. (Mundi-Prensa, Ed.) (Vol I. 2ª). Madrid.
- Hidalgo, J. (2012). Sparkling trends: las nuevas tendencias en espumante. Retrieved from <http://www.planetajoy.com/?Sparkling+Trends%3A+conoc%20E9+las+nuevas+tendencias+en+espumantes&page>
- Hidalgo, p., Pueyo, E., Pozo-Bayón, M.A., Martínez-Rodríguez, A.J., Martínez-Alvarez, P., & Polo, M. C. (2004). Sensory and analytical study of ro'se sparkling wines manufactured by second fermentation in bottle. *J. Food Sci*, 52, 6640–6645.
- Holt, H. W. P. (2014). Sensory and Flavour. *Technical Review*, 208.
- Hopfer, H. and Heymann, H. (2013). A summary of projective mapping observations – the effect of replicates and shape, and individual performance measurements. *Food Qual. Prefer*, 28, 164–181.
- Howley, M. and Young, N. (1992). Low alcohol wines: the consumers choice. *Int. J. Wine Marketing*, 4,3, 45–46.

- Hsu, J. and D. H. (1987). Heat-Unstable Proteins in Grape Juice and Wine. I. Characterization and Removal by Ultrafiltration. *Am. J. Enol. Vitic.*, *38*, 11–16.
- INV-Resolución N° C. 6/2013. (n.d.).
- Jackson, R. S. (2008). *Wine science. Principles and applications*. (Academic Press, Ed.) (3rd editio). Burlington, MA, USA.
- Jaeger, S. R., Cadena, R. S., Torres-Moreno, M., Antúnez, L., Vidal, L., Giménez, A., ... Ares, G. (2014). Comparison of check-all-that-apply and forced-choice Yes/No question formats for sensory characterisation. *Food Quality and Preference*, *35*, 32–40. doi:10.1016/j.foodqual.2014.02.004
- Jaeger, S. R., Chheang, S. L., Yin, J., Bava, C. M., Gimenez, A., Vidal, L., & Ares, G. (2013). Check-all-that-apply (CATA) responses elicited by consumers: Within-assessor reproducibility and stability of sensory product characterizations. *Food Quality and Preference*, *30*(1), 56–67. doi:10.1016/j.foodqual.2013.04.009
- Jarvis, B. (1996). Cider, Perry, Fruit Wine and Other Alcoholic Fruit Beverages. In A. Press (Ed.), *Fruit Processing* (Arthey, D., pp. 97–103). London.
- Karadeniz, F. (2004). Main organic acid distribution of authentic citrus juices in Turkey, *Turk. J. Agric.*, *28*, 267–281.
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., & Cabaroglu, T. (2009). HPLC determination of organic acids , sugars , phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv . Kozan. *Microchemical Journal*, *91*(2), 187–192. doi:10.1016/j.microc.2008.10.008
- Kimball, D. (1991). *Citrus Processing Quality Control and Technology*. (V. N. Reinhold, Ed.). New York.
- Klavons, J.A., Bennett, R.D. and Vannier, S. D. (1994). Physical and chemical nature of pectin associated with commercial orange juice cloud. *J. Food Sci*, *59*,2, 399–401.
- Koing, H., Unden, G. and Frölich, J. (2009). Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine. *Springer Germany*.
- Kolb, E. (2002). *Vinos de Frutas. Elaboración Artesanal e Industrial*. (Acribia, Ed.). Zaragoza, España.
- Krosnick, J. . (1999). Survey research. *Annual Review of Psychology*, *50*, 537–567.
- Ladaniya, M. . (2008). Citrus Fruit. Biology, technology and evaluation. USA.
- Lambrechts, M. G. y Pretorius, I. S. (2000). Yeast and its importance to wine aroma. A review. *J. Enol. Vitic S. Afr.*, *21*, 97–129.

- Landbo, Kaack & Meyer, A. . (2004). Effects of different enzymatic maceration treatments on enhancement of anthocyanins and other phenolics in black currant juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5(4), 503–513.
- Lê, S., Josse, J., & Husson, F. (2008). Factominer: an R package for multivariate analysis. *Journal of Statistical Software*.
- Lee, H.S. and Castell, W. . (2001). Seasonal changes of carotenoid pigments and color in Hamlin, Earlygold and Budd Blood orange juice. *J. Agric. Food Chem*, 49, 870–882.
- Lombard. (1999). Producción y Envasado de Zumos y Bebidas de Frutas sin Gas. In Acibia (Ed.), *Ashurst, P.R.* Zaragoza, España.
- López C., G. Ramírez, A. Mejía, G. (2002). Manual de Métodos de análisis para el laboratorio de bromatología. Universidad de Antioquia, Medellín.: Dpto. de Farmacia, Facultad de Química Farmacéutica.
- Lubbers, S., Verret, C. and Voilley, A. (2001). The Effect of Glycerol on the Perceived Aroma of a Model Wine and a White Wine. *Wiss. U. Technol.*, 34, 262–265.
- M.J. Herderich, T.E. Siebert, M. Parker, Y. Hayasaka, C. Curtin, M. (2012). Mercurio. metabolomics and the quest for understanding quality in flavor chemistry and wine research. In *Recent advances in the analysis of food and flavors* (S Toth and, p. 1098).
- Mamade, M.E.O., Cardello, H, Pastore, G. (2005). Evaluation of an aroma similar to that of sparkling wine: Sensory and gas chromatography analyses of fermented grape must. *Food Chemistry*, 89, 63–68.
- Manoukian, E. B. (1986). *Mathematical nonparametric statistics* (Gordon & B). N.Y. USA.
- Marchal, R., Lallemand,A.,Jeandet,P.,& Establet, G. (2003). Clarification of Muscat must using wheat proteins and the flotation technique. *J. Agric. Food Chem*, 36, 169–173.
- Martinez Lapuente, L. (2013). *Estudio químico-sensorial de vinos espumosos elaborados con variedades de uvas tradicionales de vinos tranquilos*. Universidad de la Rioja.
- Martínez-Rodríguez, A. J., & Polo, M. C. (2003). Effect of the addition of bentonite to the tirage solution on the nitrogen composition and sensory quality of sparkling wines. *Food Chemistry*, 81(3), 383–388.
- Martínez-Rodríguez, A. J., Carrascosa, A. V., & Polo, M. C. (2001). Release of nitrogen compounds to the extracellular medium by three strains of *Saccharomyces*

cerevisiae during induced autolysis in a model wine system. *International Journal of Food Microbiology*, 68, 155–160.

Martinez-Rodriguez, A.J & Pueyo, E. (2009). Sparkling Wines and Yeast Autolysis. In M. C. P. M. Vicotria Moreno-Arribas (Ed.), *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 61–80). New York, USA: Springer Science+Business Media, LLC, 233. doi:10.1007/978-0-387-74118-5

Meléndez, M.E., Sanchez, M.S, Iñiguez, M., Sarabia, L. A. and O., & M.C. (2001). *Psychophysical parameters of colour and the chemometric characterisation of wines of the certified denomination of origin "Rioja"*. *Anal. Chim.* (Vol. 446).

Merken, H.M., Beecher, G. R. (2000). Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 576–599.

Meyners, M., Castura, J. C., & Carr, B. T. (2013). Existing and new approaches for the analysis of CATA data. *Food Quality and Preference*, 30(2), 309–319. doi:10.1016/j.foodqual.2013.06.010

Moskowitz, H. . (1994). Product optimization: approaches and applications. In H.J.H. MacFie and D.M.H. Thomson (Ed.), *Measurement of Food Preferences* (Blackie Ac, pp. 97–136). London.

Moskowitz, H., & Hartmann, J. (2008). Consumer research: creating a solid base for innovative strategies Howard. *Trends in Food Science & Technology*, 19, 581–589.

Moussaoui, K. a., & Varela, P. (2010). Exploring consumer product profiling techniques and their linkage to a quantitative descriptive analysis. *Food Quality and Preference*, 21(8), 1088–1099. doi:10.1016/j.foodqual.2010.09.005

Nestrud, M.A. and Lawless, H. . (2010). Perceptual mapping of apples and chesses using projective mapping and sorting. *J. Sensory Studies*, 25, 309–324.

Nisperos-Carriedo, M.O., Shaw, P. . (1990). Comparison of volatile flavor components in fresh and processed orange juices. *J. Agric. Food Chem*, 38, 1048–1052.

Nykänen, L. (1986). Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled alcoholic beverages. *American Journal of Enology and Viticulture*, 37, 84–96.

Obiols, J. M., de la Presa-Owens, C., Buxaderas, S., Bori, J. L., & de la Torre-Boronat, M., & C. (1998). Protocolo de evaluación de la formación de la efervescencia y espuma en un vino espumoso. *ACE, Revista d'Enología*, 3–8.

OIV. ORGANISATION INTERNATIONALE DE LA VIGNE ET DU VIN (2009).

- Olivero, R. E., Aguas, Y., & Cury, K. (2011). Evaluation of effect of various strains of yeast (Montrachet, K1-V1116, EC-1118, 71B-1122 y IVC-GRE) and clearer on the sensory attributes orange wine (*Citrus sinensis*). *Rev. Colomb. Biotecnol*, 163–171.
- Ortiz, J. M. (2002). Botany: taxonomy, morphology and physiology of fruits, leaves and flowers. In G. D. and A. Di Giacomo (Ed.), *Citrus. The genus citrus* (Medicinal , pp. 16–35). N.Y. USA.
- P. Rapisarda, G. Carollo, B. Fallico, F. Tomaselli, E. M. (1998). Hydroxycinnamic acids as markers of Italian blood orange juices. *J. Agric. Food Chem*, 46, 464–470.
- Pagès, J. (2003). Direct collection of sensory distances: Application to the evaluation of 10 white wines of the Loire Valley. *Sciences Des Aliments*, 23, 679–688.
- Pagès, J. (2005). Collection and analysis of perceived product inter-distances using multiple factor analysis: Application to the study of 10 white wines from the Loire Valley. *Food Quality and Preference*, 16, 642–649.
- Parente, M. E., Manzoni, A. V., & Ares, G. (2011). External preference mapping of commercial antiaging creams based on consumers' responses to a check-all-that-apply question. *Journal of Sensory Studies*, 28, 158–166.
- Parodi, G. (2002). L'affinamento dei vini con l'ausilio di preparati enzimatici. *Vignevini*, 5, 54–58.
- Peinado, R., Moreno, J., Medina, M., García, J. (n.d.). Changes in volatile compounds and aromatic series in sherry wine with high gluconic acid levels subjected to aging by submerged flor yeast cultures. *Biotechnol Lett*, 26(9), 757–762.
- Perrin, L., Symoneaux, R., Maître, I., Asselin, C., Jourjon, F., & Pagès, J. (2008). Comparison of three sensory methods for use with the Napping® procedure: Case of ten wines from Loire valley. *Food Quality and Preference*, 19(1), 1–11. doi:10.1016/j.foodqual.2007.06.005
- Perrin Lucie., Symoneaux Ronan, Maître Isabelle., Asselin Christian., Jourjon Frédérique., P. J. (2013). Comparison of three sensory methods for use with the Napping_ procedure: Case of ten wines from Loire valley.
- Peynaud, E. 199. (1996). Balance in wine. In J. W. & Sons (Ed.), *The taste of wine* (2^o Ed., p. Cap. 9, p 188–209). New York, USA.
- Pozo-Bayón, M. Á., Martínez-Rodríguez, A., Pueyo, E., & Moreno-Arribas, M. V. (2009). Chemical and biochemical features involved in sparkling wine production: from a traditional to an improved winemaking technology. *Trends in Food Science & Technology*, 20(6-7), 289–299. doi:10.1016/j.tifs.2009.03.011

- Puig-Deu, M., Lóez-Tamames, S. Buxaderas, M.C., T.-B. (1999). Quality of base and sparkling wines as influenced by the type of fining agent added pre-fermentation. *Food Chemistry*, 66, 35–42.
- Pupin, A.M., Dennis, M.J. and Toledo, M. C. . (1998). HPLC Analysis of Carotenoids in Orange Juice. *Food Chemistry*, 64, 269–275.
- R.J. McGorin. (2007). Character-impact flavor compounds. In B. R. Taylor & Francis Group (Ed.), *Sensory-directed flavor analysis* (R. Marsili, pp. 223–268). FL, USA, 2007.
- Rapp, A., & Mandery, H. (1986). Wine aroma. *Experientia*, 42, 873–884.
- Reinbach, H. C., Giacalone, D., Ribeiro, L. M., Bredie, W. L. P., & Frøst, M. B. (2014). Comparison of three sensory profiling methods based on consumer perception: CATA, CATA with intensity and Napping®. *Food Quality and Preference*, 32, 160–166. doi:10.1016/j.foodqual.2013.02.004
- Riberáu-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A., D. (2003). *Tratado de Enología. 2.Química del Vino Estabilización y tratamientos* (1ª ed.). Hemisferio Sur S.A. doi:978-950-504-573-6
- Ribereau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. & Dubourdieu, D. (2000). *Handbook of Enology*. (J. Wiley, Ed.). Paris.
- Risvik, E., McEwan, J.A. and Rodbotten, M. (1997). Evaluation of sensory profiling and projective mapping data. *Food Qual. Prefer.*, 8, 63–71.
- Risvik, E., McEwan, J.A., Colwill, J.S., Rogers, R. and Lyon, D. . (1994). Projective mapping: A tool for sensory analysis and consumer research. *Food Qual. Prefer*, 5, 263–269.
- Riu-Aumatell, M., Bosch-Fusté, J., Lopez Tamames, E, Buxaderas, S. (2006). Development of volatile compounds of Cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees. *Food Chemistry*, 95, 237–242.
- Ross, C.F., Weller, K.M. and Alldredge, J. . (2012). Impact of serving temperature on sensory properties of red wine as evaluated using projective mapping by a trained panel. *J. Sensory Studies*, 27, 463–470.
- S. Gorinstein, R. Haruenkit, Y.S. Park, S.T. Jung, Z. Zachwieja, Z. J. (2004). Bioactive compounds and antioxidant potential in fresh and dried Jaffa sweeties, a new kind of citrus fruit. *J. Sci. Food Agrc*, 84, 1459–1463.
- Schöttler, P. (n.d.). Take the Best – Separate the Rest Separators , decanters and process lines.

- Schvab, M. del C. (2006). *Bebida alcohólica de jugo de naranja: Estudio de los parámetros de calidad, influencia de las variables de proceso y caracterización del producto*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Selli, S., Cabaroglu, T., & Canbas, A. (2004). Volatile flavour components of orange juice obtained from the cv . Kozan of Turkey, *17*, 789–796. doi:10.1016/j.jfca.2003.10.005
- Selli, S., Canbas, A. and Cabaroglu, T. (2003). Flavour components of orange wine obtained from a Turkish orange cv. *Kozan. J. Food Sci. Technol*, 587–593.
- Shaw PE. (1991). *Volatile compounds in food and beverages*. (M. Dekker, Ed.). New York.
- Shaw, P.E., Buslig, B.S., Moshonas, M. G. (1994). Classification of orange and grapefruit juices by pattern recognition techniques. *Fruit Processing*, 2, 45–49.
- Statgraphics Centurion. (2006). No Title.
- Stefani, A., Arteaga, M. C. C., Schvab, C., Ferreira, M. M., Fariña, L., & Dellacassa, E. (2014). APLICACIÓN DEL MAPEO PROYECTIVO (NAPPING®) PARA LA CARACTERIZACIÓN SENSORIAL DE ESPUMANTE DE NARANJA., *1*.
- Stefani, A., Cayetano Arteaga, M.C., Ferreyra, María M., Schvab, M., Soldá, C., Tonello, M. J. (2009). CARACTERÍSTICAS DE “VINO JOVEN DE NARANJA” PARA LA ELABORACIÓN DE ESPUMANTE. In *XII Congreso CYTAL - AATA*. Facultad de Ciencias de la Alimentación, UNER.
- Stewart-Knox, B., Parr, H., Bunting, B., & Mitchell, P. (2003). A model for reduced fat food product development success. *Food Quality and Preference*, 14, 583–593.
- Stone, H., & Sidel, J. L. (2004). Sensory evaluation practices. *El Servier Academic Press*.
- Stone, H., Sidel, J.L., Oliver, S., Woolsey, A. and, & Singleton, R. C. (1974). Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. *Food Technol.*, 28, 24–33.
- Styger, G., Prior, B., & Bauer, F. F. (2011). Wine flavor and aroma, 1145–1159. doi:10.1007/s10295-011-1018-4
- Symoneaux, R., Galmarini, M.V. and Mehinagic, E. (2012). Comment analysis of consumer’s likes and dislikes as an alternative tool to preference mapping. A case study on apples. *Food Qual. Prefer*, 24, 59–66.
- Tao, Y.S and Li, H. (2010). Active volatiles of cabernet sauvignon wine from Changli Country. *Natural Science*, 1, 176–182.

- Thomson, D. M. H., & McEwan, J. A. (1988). An application of the repertory grid to investigate consumer perceptions of foods. *Appetite*, *10*, 181–193.
- Ting, S.V. and Rouseff, R. (1986). *Citrus Fruits and their Products. Analysis and Technology*. (Marcel Dekker, Ed.). New York.
- Tito, G. & Cattaneo, C. (2000). Producción de alimentos sanos a pequeña escala, comercialización y limitaciones reglamentarias: elementos para un análisis del tema. Buenos Aires.
- Todd, B. E. N., Fleet, G. H., & Henschke, P. A. (2000). Promotion of autolysis through the interaction of killer and sensitive yeasts: Potential application in sparkling wine production. *American Journal of Enology and Viticulture*, *51*(1), 65–72.
- Tonello, J., Soldá, C., Ferreyra, M. (2009). *Comparación del efecto de tres agentes clarificantes en vino de naranja*. (XVII Jornadas de Jóvenes Investigadores, Ed.). EDUNER.
- Torchio, F., Segade, S. R., Gerbi, V., Cagnasso, E., Giordano, M., Giacosa, S., & Rolle, L. (2012). Changes in varietal volatile composition during shelf-life of two types of aromatic red sweet Brachetto sparkling wines. *FRIN*, *48*(2), 491–498. doi:10.1016/j.foodres.2012.04.014
- Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Bouxaderas, S. (2010a). Assesment of volatile and sensory profiles between base and sparkling wines. *Agricultural and Food Chemistry*, *58*, 2455–2461.
- Torrens, J., Riu-Aumatell, M., Vichi, S., Lopez Tamames, E., Bouxaderas, S. (2010b). Assessment of volatile and sensory profiles between base and sparkling wine. *J. Agric. Food Chem*, *58*, 2455–2461.
- Torresi, S., Frangipane, M. T., & Anelli, G. (2011). Biotechnologies in sparkling wine production . Interesting approaches for quality improvement : A review. *Food Chemistry*, *129*(3), 1232–1241. doi:10.1016/j.foodchem.2011.05.006
- Tudela, R., Gallardo Chacon, J.J., Rius, N., López-Tamames, E., & Buxaderas, S. (2012). Ultrastructural changes of sparkling wines lees during long-term aging in real enological conditions. *FEMS Yeast Research*, *12*, 466–476.
- Ubigli, M. (2004). *Guida all'assaggio degli spumanti*. (Ed agricole, Ed.) *I profili del vino*.
- Ugliano, M., Bartowsky, E.J., Mc Carthey, J., Moio, L., & Henschke, P. . (2006). Hydrolysis and transformation of grape glycosidically bound volatile compounds during fermentation with three *Sacharomyces* yeast strains. *J. Agric. Food Chem*, *54*, 6322–6331.
- Unilever N.V. (1994). Tratamiento de bebidas alcohólicas.

- Unwin, T. (1996). *Wine and the vine. An historical geography of viticulture and the wine trade*. London: Roudledge.
- Valentin, D., Chollet, S., Lelièvre, M., & Abdi, H. (2012). Quick and dirty but still pretty good: A review of new descriptive methods in food science. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*, 1563–1578.
- Valero, E., Moyano, M., Millan, M., Medina, M., Ortega, J. (2002). Higher alcohols and esters production by *Saccaromyces cerevisiae*. Influence of the initial oxygenation of the grape must. *58*, 67–71.
- Vanrell, G., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. M., & Zamora, F. (2007). Food Chemistry Influence of the use of bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wines (Cava), *104*, 148–155. doi:10.1016/j.foodchem.2006.11.014
- Vanrell G.,Canals R.,Canals J.M., & Z. F. (2004). “Influencia de la clarificación sobre la fracción proteica del vino blanco; Efecto preventivo sobre la quiebra proteica y consecuencias organolépticas (aroma, espuma,...).” Retrieved from <<http://garnachaderioja.es/ingles/pdf/texto.pdf>>
- Vanrell, Guillem., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals,J.M, Zamora, F. (2007). Influence of the use of bentonite as a riddling agent on foam quality and protein fraction of sparkling wine (Cava). *Food Chemistry*, *104*, 148–155.
- Varela, P., & Ares, G. (2012). Sensory profiling, the blurred line between sensory and consumer science. A review of novel methods for product characterization. *Food Research International*, *48*(2), 893–908. doi:10.1016/j.foodres.2012.06.037
- Velarde, I. (2012). Construcción social de productos típicos con agricultores familiares: la legitimación del fermentado de ciruela de Berisso, provincia de Buenos Aires, Argentina. Retrieved from <http://misfotosecuencias.com.ar/riacho-dulce-y-la-paradoja-del-vino-de-fruta/>
- Vera, L.,Diaz Velez, R., Rivanderneira, F., Garran, S., & Garin, R. Informe citrícola regional de Entre Ríos (2007). Entre Rios: INTA-FEDERCITRUS.
- Viader, R. (2012). Mejorando el Cava. Retrieved from ww.capsulariumviaderlab.wordpress.com
- Vidal, L., Cadena, R. S., Antúnez, L., Giménez, A., Varela, P., & Ares, G. (2014). Stability of sample configurations from projective mapping: How many consumers are necessary? *Food Quality and Preference*, *34*, 79–87. doi:10.1016/j.foodqual.2013.12.006

- Vilanova, M., Genisheva, Z., Masa, A., & Maria, J. (2010). Correlation between volatile composition and sensory properties in Spanish Albariño wines. *Microchemical Journal*, 95(2), 240–246. doi:10.1016/j.microc.2009.12.007
- Vilanova, M., Genisheva, Z., Masa, A., & Oliveira, J. M. (2010). Correlation between volatile composition and sensory properties in Spanish Albariño wines. *Microchemical Journal*, 95(2), 240–246. doi:10.1016/j.microc.2009.12.007
- Vogt, E. (1986). *El Vino: Obtención, Elaboración y Análisis*. (Acribia, Ed.). Zaragoza, España.
- Waters, E. J., & Colby, C. (2009). Proteins. In M. V. Moreno-Arribas (Ed.), *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 191–212). Springer.
- Welke J. E., Zanus M., Lazzarotto M., A. Z. C. (2014). Quantitative analysis of headspace volatile compounds using comprehensive two-dimensional gas chromatography and their contribution to the aroma of Chardonnay wine. *Food Research International*, 59, 85–99. doi:10.1016/j.foodres.2014.02.002
- Wilkinson, J. (2003). *Oportunidades y desafíos para la pequeña producción en el nuevo cuadro de dominación del Sistema Agroalimentario en América Latina. VII Congreso Internacional ALACEA*. Lima.
- Williams, A. A., & Arnold, G. M. (1985). A comparison of the aroma of six coffees characterised by conventional profiling, free-choice profiling and similarity scaling methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36, 204–214.
- Yun wei Niu, Xianom ing Zhang, Zuobig Xiao, Shiqing Song, Karangwa Eric, Chengsheng Jia, Haiyan Yu, J. Z. (2011). Characterization of odor-active compounds of various cherry wines by gas chromatography-mass spectrometry, gas chromatography-olfactometry and their correlation with sensory attributes. *Journal of Chromatography*, 8, 2287–2293.
- Z. Aturki, V. Braudi, M. S. (2004). Separation of flavanone-7-O-glycoside diastereomers and analysis in citrus juices by multidimensional liquid chromatography coupled with mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem*, 52, 5303–5308.
- Zamora, F. (2009). Biochemistry of Alcoholic Fermentation. In M. C. P. M. Victoria Moreno-Arribas (Ed.), *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 3–25). España: Springer.
- Zamora, M.C. and Guirao, M. (2002). Analysing the contribution of orally perceived attributes to the flavor of wine. *Food Qual. Pref*, 13, 275–283.
- Zoecklein, B. (2002). A review of Méthode champenoise production. In *Virginia Tech*.

ANEXOS

Anexo I- Boleta de Evaluación del Vino Base

COLOR	Amarillo pálido	...I.....I...	Ambarino
ASPECTO.	Muy turbio	...I.....I...	Cristalino
AROMAS			
Afrutado	Nada	...I.....I...	Extremadamente
Floral	Nada	...I.....I...	Extremadamente
Citrico	Nada	...I.....I...	Extremadamente
Defectuosos	Ausencia	...I.....I...	Presencia*
* describir			
SABOR			
Dulzor	Nada	..I.....I...	Extremadamente
Acidez	Nada	...I.....I...	Extremadamente
Afrutado	Nada	...I.....I...	Extremadamente
Amargo	Nada	...I.....I...	Extremadamente
Extraño	Ausencia	...I.....I...	Presencia*
* describir			
ASTRINGENCIA			
Áspero	Nada	...I.....I...	Extremadamente
REGUSTO			
	No satisfactorio	...I.....I...	Excelente
* describir			
S. GLOBAL	Desequilibrado	...I.....I...	Armonioso en alto grado

Anexo II- Boleta de Evaluación utilizada para los Ensayos (a) Napping® y (b) CATA

(a) Ensayo Napping

BOLETA DE EVALUACIÓN

Masculino___

Femenino___

Edad_____

INSTRUCCIONES:

- ▶ Ud. recibirá una 6 muestras de **espumante**.
- ▶ Por favor, pruebe las muestras y responda a la pregunta

¿Cuánto le gusta este espumante?

<input type="checkbox"/>								
Me disgusta mucho				Me es indiferente				Me gusta Mucho

Describa en no más de cinco palabras este espumante

.....

.....

.....

2-Usted deberá probar una serie de seis muestras de espumantes codificados con números de tres cifras y evaluar sus similitudes y diferencias.

- ▶ Ud. debe ubicar cada uno de los espumantes en la hoja de acuerdo a sus similitudes y diferencias de forma tal que dos espumantes que estén cerca en la hoja corresponden a espumantes que son muy parecidos entre sí, y dos espumantes que estén lejos corresponden a espumantes que son muy distintos.

Utilice el criterio que crea conveniente para ubicar los espumantes. No hay respuestas correctas o incorrectas.

Recuerde que cada galleta debe ocupar una única posición en la hoja.

b- Ensayo CATA

BOLETA DE EVALUACIÓN

EDAD: _____

SEXO: _____

INSTRUCCIONES:

- ▶ Ud. recibirá cuatro muestras de **ESPUMANTE**.
- ▶ Por favor, pruebe las muestras en el orden que Ud. desee y responda a la pregunta utilizando la lista de palabras que se presenta.
- ▶ Enjuáguese la boca con un poco de agua entre muestra y muestra.

Muestra N° _____

¿Cuánto le gusta este espumante?

Me disgusta
mucho

Me es
indiferente

Me gusta
Mucho

Marque todas las palabras que considera adecuadas para describir este espumante:

- | | | |
|---|---|---|
| <input type="checkbox"/> Seco | <input type="checkbox"/> Agradable | <input type="checkbox"/> Acido |
| <input type="checkbox"/> Dulce | <input type="checkbox"/> Aromático | <input type="checkbox"/> Madera |
| <input type="checkbox"/> Amargo | <input type="checkbox"/> Frutal | <input type="checkbox"/> Fruta Tropical |
| <input type="checkbox"/> Suave | <input type="checkbox"/> Floral | <input type="checkbox"/> Tabaco |
| <input type="checkbox"/> Cítrico | <input type="checkbox"/> Alcohólico | <input type="checkbox"/> Caramelo |
| <input type="checkbox"/> Tostado | <input type="checkbox"/> Especiado | <input type="checkbox"/> Olor Extraño |
| <input type="checkbox"/> Burbujas rápidas | <input type="checkbox"/> Espuma abundante | <input type="checkbox"/> Aroma Levadura |
| <input type="checkbox"/> Burbujas media | <input type="checkbox"/> Espuma media | <input type="checkbox"/> Vegetal |
| <input type="checkbox"/> Burbujas lentas | <input type="checkbox"/> Espuma baja | <input type="checkbox"/> Frutos secos |