

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**CREACIÓN DE UN PANEL DE DEGUSTACIÓN
ESPECIALIZADO EN ASTRINGENCIA Y AMARGOR**

RODRIGO ANDRÉS CENTENO GÁRATE

SANTIAGO, CHILE
2006

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**CREACIÓN DE UN PANEL DE DEGUSTACIÓN
ESPECIALIZADO EN ASTRINGENCIA Y AMARGOR**

**TASTING PANEL CREATION SPECIALIZED IN
ASTRINGENCY AND BITTERNESS**

RODRIGO ANDRÉS CENTENO GÁRATE

SANTIAGO, CHILE
2006

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

**CREACIÓN DE UN PANEL DE DEGUSTACIÓN
ESPECIALIZADO EN ASTRINGENCIA Y AMARGOR**

**Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención: Enología y Vitivinicultura**

RODRIGO ANDRÉS CENTENO GÁRATE

PROFESORES GUÍAS	Calificaciones
Sr. Álvaro Peña Neira Dr. Ingeniero Agrónomo-Enólogo	7,0
Sra. Katrina Müller Botti M. Sc. Ingeniero Agrónomo-Enólogo	6,9
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Eduardo Loyola Madariaga Dr. Ingeniero Agrónomo-Enólogo	6,8
Sr. Rodrigo Infante Espiñeira Dr. Ingeniero Agrónomo	7,0
Colaborador	
Sra. Ester Araya Araya Técnico Industrial en Alimentos	

**SANTIAGO, CHILE
2006**

ÍNDICE

RESUMEN	1
PALABRAS CLAVE	1
ABSTRACT	2
KEY WORDS	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODO	8
Lugar de trabajo	8
Materiales	8
Metodología	9
Determinación del umbral de percepción de la cafeína	9
Entrenamiento	10
Sensibilidad a la feniltiocarbamida (PTC)	10
Reconocimiento de estándares	10
Memoria sensorial	10
Ordenamiento de intensidades	10
Capacidad de discriminación	12
Test Triangular Simple	12
Test Pareado 2-AFC (Alternative Forced Choice, <i>modificado</i>)	12
Control o Evaluación del Panel	13
Capacidad de discriminación	13
Repetibilidad y discriminación	13

Selección final del panel	14
Análisis químico y evaluación sensorial de extracto de semillas	14
Determinaciones Analíticas	15
Análisis de polifenoles en semillas	15
Análisis Estadístico	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
Encuesta	16
Asistencia de evaluadores	16
Umbral de detección del amargor de la cafeína	17
Feniltiocarbamida (PTC)	17
Test de memoria sensorial	18
Test de Ranking con diluciones	19
Sulfato de quinina	19
Cafeína	20
Cacao en chocolate	21
Alumbre de potasio en agua	22
Alumbre de potasio en vino	22
Test Triangular Simple	23
Test Pareado 2-AFC (Alternative Forced Choice, <i>modificado</i>) en agua y vino	24
Test Pareado 2-AFC (Alternative Forced Choice)	25
Selección final de evaluadores	26
Análisis Químico y Sensorial de Extractos de Semillas de Carmenère	27
Fotografías de pardeamiento de semillas variedad Carmenère	29

Evolución de compuestos fenólicos de bajo peso molecular en semillas	30
Análisis Sensorial para Astringencia y Amargor	32
CONCLUSIONES	35
BIBLIOGRAFÍA	36
APÉNDICE I	42
APÉNDICE II	43
APÉNDICE III	44
APÉNDICE IV	45
ANEXO I	46
ANEXO II	47
ANEXO III	47
ANEXO IV	48
ANEXO V	49
ANEXO VI	50
ANEXO VII	50
ANEXO VIII	51
ANEXO IX	52
ANEXO X	53

RESUMEN

Algunos de los parámetros de calidad más importantes en los vinos tintos lo constituyen la astringencia y el amargor, los cuales muchas veces determinan la aceptabilidad de un producto. En Chile no existe un panel entrenado para definir estos importantes parámetros del vino, motivo por el cual se planteó la siguiente investigación, que tuvo por objetivo formar un panel de degustación especializado en amargor y astringencia, tanto en soluciones acuosas como hidroalcohólicas (vino).

Un total de 25 personas, 14 mujeres y 11 hombres entre 28 y 56 años de edad, fueron entrenadas en evaluación sensorial para los parámetros de amargor y de astringencia en 22 sesiones (45 minutos a 1 hora de duración), durante tres meses. De estos, 21 evaluadores poseían experiencia previa en evaluación sensorial de alimentos.

El entrenamiento consistió en la determinación del umbral de detección de la cafeína para el gusto amargo, el reconocimiento de soluciones estándares astringentes y amargos, el ordenamiento de intensidades en soluciones acuosas e hidro-alcohólicas (soluciones modelo) y tests de diferencia entre muestras.

Concluida la etapa de entrenamiento, se sometió al panel a una validación final mediante el cual se evaluó la repetibilidad y discriminación de los evaluadores en sesiones diferentes. El análisis de este test, en conjunto con los tests aplicados durante el entrenamiento para el gusto amargo y para la sensación de astringencia, determinó la selección de 16 evaluadores, 10 mujeres y 6 hombres, para formar parte del panel definitivo. De estas 16 personas, 13 fueron seleccionadas para astringencia y 15 para amargor.

Finalmente, con los 16 evaluadores seleccionados, cuatro muestras de extractos de semilla de uvas de la variedad Carmenère, cosechadas en diferentes fechas de madurez, fueron analizadas tanto química como sensorialmente en los parámetros amargor y astringencia, en solución hidro-alcohólica al 10%.

El análisis sensorial de los extractos de semilla, dio como resultado mayores niveles promedio de astringencia y amargor en la primera y tercera fecha de cosecha, resultados que concuerdan con los obtenidos a través del análisis químico, donde la primera y tercera fecha fueron las que obtuvieron los mayores niveles de fenoles totales, taninos totales, (+)-catequina y (-)-epicatequina, entre otros compuestos fenólicos de bajo peso molecular.

PALABRAS CLAVE

Análisis sensorial, Carmenère, entrenamiento de panel, semillas de uva, umbral de detección.

ABSTRACT

Tasting Panel Creation Specialized in Astringency and Bitterness

Twenty five persons (14 women, 11 men) between 28 and 56 years old, were trained in sensory evaluation for bitterness and astringency in aqueous and hidroalcoholic solutions (model solutions and red wine). Twenty one panelists had previous experience in sensory food evaluation.

The training consisted in the determination of caffeine threshold (bitter), recognition of bitter and astringent standard solutions, intensity ordering in aqueous and hidroalcoholic solutions and difference test among samples.

Concluded the training phase, panelists were submitted to a final validation, where repeatability and discrimination of two enological tannin samples were evaluated with three replicants, in two different sessions. The analysis of this test, together with others applied during the training, determined the selection of 16 panelists for the definitive tasting panel, 13 persons for astringency and 15 for bitterness.

Finally, four samples of grape seed extract from a Carmenère cultivar (hidroalcohólic solution 10% v/v), harvested at different ripening stages, were submitted to sensory and chemical analysis for bitterness and astringency. The sensory analysis of the seed extracts, gave as result, greater average levels of astringency and bitterness for the first and third date of harvest, results that were agreed with the results obtained by the chemical analysis, where the first and third dates were those that obtained the greater levels of total phenols, total tannins, (+)-catechin and (-)-epicatechin, among other low molecular weight phenolic compounds, proving the capacity of 16 trained panelists to detect the differences between grape seeds for bitterness and astringency parameters.

A maximum number of samples per session and concentration differences among samples for caffeine, quinine sulphate and potassium alum were determined for the training of bitterness and astringency. A difference in sensitivity for bitter compounds was determined for caffeine and quinine sulphate among panelists, which justifies the use of different bitter standards in sensorial bitterness training. Finally, the difficulty of discrimination between aqueous solutions versus complex solutions as wine for astringency and bitterness was also demonstrated.

KEY WORDS

Sensory analysis, Carmenère, panel training, grape seeds, detection threshold.

INTRODUCCIÓN

Para analizar la calidad de los alimentos se emplean mediciones físicas, químicas y microbiológicas, olvidando muchas veces las características organolépticas del producto, factor predominante para determinar si éste tendrá o no aceptación en el mercado (Fellmann, 1985). Estudios de marketing y de consumidores muestran que el gusto, en relación al valor nutritivo percibido o el valor de salud asociado, es el factor clave en la influencia de la selección de alimentos (Glanz *et al.*, 1998).

El control de calidad organoléptica de un alimento, la aceptabilidad por el consumidor y la determinación de diferencias entre productos, se realiza a través de la evaluación sensorial, una disciplina científica, a través de la cual el evaluador sensorial evoca, analiza, mide e interpreta respuestas humanas a estímulos percibidos a través de los sentidos (Cross *et al.*, 1978).

Para ello, se recurre a un grupo de personas que forman un “panel de degustadores”, los que han sido seleccionados y entrenados en forma científica para evaluar los diferentes atributos de los alimentos, utilizando sus sentidos como instrumentos de medición (Amerine *et al.*, 1965; Wittig, 1981). Las etapas involucradas en la creación de un panel sensorial incluyen: preselección, entrenamiento, evaluación y selección (Cross *et al.*, 1978).

El número de evaluadores de un panel entrenado es muy variable dependiendo de los objetivos o tipo de estudio, de los medios económicos con que se cuente y de la disponibilidad de personas calificadas (Amerine *et al.*, 1965). Sin embargo, según la norma UNE (1995), no es aconsejable poner en marcha un panel de degustación especializado con menos de 10 evaluadores.

La preferencia por productos dulces han sido extensamente estudiadas pero hay muy pocos estudios dirigidos hacia la aceptabilidad del amargor o la astringencia. Estos son dos parámetros sensoriales de crucial importancia, para describir las propiedades sensoriales de ciertas frutas, vegetales y algunos alimentos o bebidas como el aceite de oliva o el vino. A su vez son a menudo citados como el motivo por el cual los consumidores rechazan productos vegetales a pesar de los conocidos beneficios para la salud de algunos compuestos amargos y astringentes como los polifenoles (Drewnowski y Gómez-Carneros, 2000).

El amargor es un gusto percibido por receptores sensoriales, mientras que la astringencia es considerada una sensación táctil, percibida vía mecanoreceptores (Martin y Jessel, 1991), descrita en términos sensoriales como: sequedad, dureza y arrugamiento de la cavidad bucal relacionada con la precipitación de las proteínas de la saliva, llevando a la pérdida de lubricación de la boca (Lyman y Green, 1990; Lee y Lawless, 1991; Martin y Jessel, 1991; Smith *et al.*, 1996; Vidal *et al.*, 2004).

Los umbrales de detección del gusto amargo son extremadamente bajos (Mc Burney, 1978). El gusto amargo está dado por una diversidad estructural de varios compuestos pero no hay una clara definición de las propiedades moleculares que confieren amargor (Belitz y Wieser, 1985), foco actual de intensa investigación.

El gusto amargo es producido por alcaloides tales como quinina, cafeína, y estricnina, sin embargo no hay una clase de compuesto que sea característicamente amarga. Varias sales de amonio, cesio, rubidio y magnesio son amargas. Compuestos nitrogenados como ácido pícrico aumentan su amargor mientras aumenta el número de átomos de nitrógeno. La mayoría de las amidas son amargas, así como glucósidos, benzamidas sustituidas, algunos aldehídos, cetonas, nitrilos, uretanos y bencenos sustituidos (Amerine *et al.*, 1965). La diversa estructura química de estos compuestos ha sugerido la existencia de múltiples receptores de gusto amargo. Mc Burney (1978) propuso que existen más de 3 tipos de receptores diferentes sensibles a la quinina, la urea y a la feniltiocarbamida (PTC).

Como el amargor está dado por la interacción a través de un receptor de membrana específico (Kinnamon, 1988) o a través de interacciones en la superficie de membranas (Kumazawa *et al.*, 1988), a medida que se incrementa el tamaño de las procianidinas el amargor decrece. Esto quizás sea el resultado de un impedimento estérico el cual reduce la fuerza de las interacciones entre los flavonoides y el receptor de membrana causando que los trímeros sean percibidos menos astringentes (Peleg *et al.*, 1999a).

Según Lea (1990), el amargor es el resultado del acceso de moléculas a los receptores de membrana celulares y está probablemente limitado por el tamaño molecular. Por otra parte, señala que la diferente solubilidad de los trímeros y tetrámeros de taninos en los lípidos de membranas celulares les permite despolarizar las células receptoras, aumentando así la percepción del gusto amargo.

Varios mecanismos de transducción para la percepción del gusto amargo han sido identificados y parecen ser compuesto específico (Naim *et al.*, 1994), sin embargo ningún modelo se ajusta a todos los compuestos amargos (Peleg *et al.*, 1999a). Otros estudios sugieren un mecanismo común en la percepción del gusto dulce y amargo, posiblemente relacionados a proteínas G dado que pequeños cambios en la estructura química pueden alterar el gusto de una sustancia desde amargo a muy dulce (Bartoshuk, 1993).

Un reciente descubrimiento es el de una nueva familia de receptores de gusto amargo. Estos receptores (T2Rs) están organizados en el genoma en clusters y están genéticamente relacionados a loci que influyen la percepción del amargo en humanos y ratones (Adler *et al.*, 2000). Los T2Rs se expresan en todas las papilas circunvaladas, foliadas y en el paladar (Chandrashekar *et al.*, 2000). Aunque los T2Rs están raramente expresados en las papilas fungiformes, aquellas que los expresaron usualmente tenían un completo set de diferentes receptores, lo que sugiere que cada célula quizás sea capaz de reconocer múltiples gustos amargos. Esto es consistente con la observación de que los humanos sean capaces de reconocer diversas sustancias amargas pero no siempre distinguirlas entre ellas (Brieskorn, 1990).

En bebidas como el té, cidra y vino tinto como también en varios tipos de frutas, nueces, chocolate, cereales como sorgo y mijo, el gusto amargo y la sensación de astringencia están dados principalmente por fenoles flavonoides, fundamentalmente flavanoles y flavonoles (Charlton *et al.*, 2002; Lesschaeve y Noble, 2005).

Los compuestos fenólicos, poseen un anillo aromático al que se le unen diversos grupos sustituyentes, como hidroxilo, carboxilo, metoxilo y a menudo otras estructuras cíclicas no aromáticas (Salisbury y Ross, 1992). Se clasifican en compuestos flavonoides y no flavonoides. Los no flavonoides presentan en solución modelo, un sabor cítrico, gusto amargo y sensación astringente, presentes mayoritariamente en vinos criados en madera. Los flavonoides incluyen cuatro grandes familias: los flavonoles, los flavanonoles y flavonas, los antocianos y los flavanoles también llamados taninos condensados o procianidinas (Zamora, 2003).

Los monómeros de flavanol ((+)-catequina, (-)-epicatequina, epigalocatequina, epicatequina galato y epigalocatequina galato), sus oligómeros y también polímeros, llamados procianidinas o taninos condensados son los más abundantes en vino tinto y té. Ambas procianidinas (polímeros de (-)-epicatequina y (+)-catequina) y prodelphinidinas (polímeros de epigalocatequina) han sido detectadas en uvas (Piretti *et al.*, 1976; Czochanska *et al.*, 1979). Con la excepción del amargor de la cafeína en té, los flavanoles son la principal fuente de amargor y astringencia en té y vino tinto (Piretti *et al.*, 1976; Czochanska *et al.*, 1979; Arnold *et al.*, 1980; Lee y Lawless, 1991; Zoeklein *et al.*, 2001; Vidal *et al.*, 2004).

Estos compuestos son inestables y por medio de diferentes reacciones químicas durante el envejecimiento de un vino dan como resultado cambios de color y sabor. Las variaciones en la composición de proantocianidinas, tales como el tamaño del polímero, grado de galoilación y formación de derivados, afectan tanto a la astringencia como al amargor (Vidal *et al.*, 2002). Otros factores también influyen sobre estas sensaciones, como el pH, el nivel de etanol, dulzor (Lesschaeve y Noble, 2005) y viscosidad (Burns y Noble, 1985; Lesschaeve y Noble, 2005).

El amargor de los fenoles es disminuido por la sacarosa y es sustancialmente realizado por el etanol (Noble, 1994; Noble, 1998). En tanto Fisher (1990), encontró que incrementos en la concentración de etanol en vino desde 8% a 14% (v/v) doblaron la intensidad del amargor pero no tuvo efecto sobre la astringencia.

Disminuciones del pH del vino incrementaron la acidez pero no tuvo efecto sobre el amargor (Fisher y Noble, 1994), mientras que adiciones de ácido han provocado incrementos en la astringencia de jugo de cranberry (Peleg y Noble, 1999b), vinos (Kallithraka *et al.*, 1997a) y compuestos fenólicos en soluciones modelo (Peleg *et al.*, 1998).

En soluciones de fenoles en agua, pesos moleculares entre 500 y 3000 han sido necesarios para aportar la sensación de astringencia (Bate-Smith y Swain, 1962). Adams y Harbertson

(1999), detectaron astringencia sólo en taninos que tenían más de tres unidades de flavanol. A pesar de la inhabilidad de los compuestos fenólicos con pesos moleculares menores de 500 para precipitar proteínas en ensayos químicos, los monómeros de flavanol (Thorngate y Noble, 1995; Kallithraka *et al.*, 1997b), dímeros y trímeros de flavanol y los ácidos hidroxibenzoicos han presentado la capacidad de entregar la sensación de astringencia (Peleg *et al.*, 1999a)

La astringencia de pequeños fenoles como los ácidos benzoicos sustituidos, de masas moleculares entre 122 y 170 son hipotéticamente el resultado de la precipitación, o de una fuerte unión, con proteínas debido a la presencia de dos o tres grupos hidroxilo los cuales quizás expliquen la astringencia de los monómeros de flavanol (Mc Manus *et al.*, 1981).

La astringencia de diferentes proantocianidinas, degustadas a iguales concentraciones, se ve incrementada con el largo de la cadena o grado de polimerización. Evaluaciones de fracciones poliméricas de ácido tánico y taninos han demostrado que a medida que el tamaño molecular se incrementa el amargor decrece, mientras la astringencia aumenta (Lea y Arnold, 1978; Robichaud y Noble, 1990; Peleg *et al.*, 1999a).

La saliva producida por las glándulas salivares está formada por un grupo de proteínas constituidas de múltiples repeticiones de una secuencia inusual de aminoácidos que contienen una gran cantidad de prolina siendo al parecer su principal función la acomplejación de polifenoles formando complejos insolubles, previniendo su absorción e interacción con otros compuestos biológicos (Jöbstl *et al.*, 2004).

Thorngate (1993) sugiere que al aumentar la polimerización aumenta el número de lugares posibles de unión de puentes de hidrógeno entre las proteínas de la saliva y taninos, lo que supone aumenta la astringencia.

La astringencia se percibe de manera diferente según variaciones en el flujo salivar de cada individuo, por lo cual la preferencia y aceptabilidad de un producto puede variar tremendamente entre personas. Los menores niveles de astringencia percibidos por sujetos con un alto flujo salival quizás sea reflejo de su mayor capacidad para restablecer la lubricación de la cavidad oral, dado su mayor volumen de producción de saliva (Lesschaeve y Noble, 2005).

Individuos que poseen un bajo flujo salival perciben la máxima sensación de astringencia más tarde, la evalúan más intensamente y por un tiempo más prolongado que los individuos con alto flujo salival para vino tinto (Ishikawa y Noble, 1995) y blanco (Fisher, 1990). Sin embargo resultados opuestos fueron observados en otros estudios, donde la percepción de astringencia no varió con el flujo salival (Smith *et al.*, 1996; Peleg, *et al.*, 1998; Courregelongue *et al.*, 1999).

A su vez, la intensidad de la astringencia como la del amargor crece cuando varias muestras son degustadas en serie. Proporcionalmente, la astringencia se incrementa con repetidas degustaciones de la misma muestra. Según Noble (2002) la máxima intensidad de

astringencia se incrementa con repetidas degustaciones de vino tinto a intervalos de 25 segundos.

La dificultad para valorar el gusto amargo y la astringencia de diversos compuestos fenólicos está relacionada en parte con el hecho de que la astringencia encubre al gusto amargo. A medida que los vinos maduran se produce la polimerización de los taninos y posiblemente su precipitación. Esto junto con la disminución de la astringencia de los taninos por acción de los agentes clarificantes proteicos, por ejemplo, puede revelar lentamente el gusto amargo (Lea y Arnold, 1978).

Vale la pena hacer notar que los consumidores no siempre describen los productos con los descriptores correctos. Cuando les agrada un vino, no usan el amargo como un descriptor; el término amargo es usado para expresar aversión y tiende a ser asociado con las características sensoriales de astringencia y acidez, pero no con amargor. Por otra parte a quienes les gustan los vinos astringentes, los describen como vinos con carácter o con un prolongado retrogusto (Lesschaeve, 2005, datos no publicados).

El fin de un entrenamiento sensorial es favorecer el aprendizaje e integrar los conceptos ligados a la calidad de los alimentos, al vocabulario, a las sensaciones asociadas, así como a la utilización de escalas de intensidad (Fortin y Desplancke, 2001). Los métodos más frecuentes para seleccionar y entrenar evaluadores, son los de análisis de percepción, con los que se determina la capacidad de reacción ante estímulos (determinación de umbrales), los de análisis discriminativos que determinan variaciones específicas entre muestras como también del grado de reproducibilidad (Pareado 2-AFC, Triangular, Ranking) y por último análisis descriptivos que determinan la habilidad de percibir la presencia e intensidad de los atributos organolépticos (Ureña y D'Arrigo, 1999).

En Chile no existe un panel entrenado para evaluar sensorialmente la astringencia y amargor de alimentos y bebidas como el vino. A su vez, una nueva variedad de uva vinífera, el Carmenère, hasta hace poco desconocida en la vitivinicultura chilena, está siendo estudiada para comprender la evolución de los compuestos fenólicos durante su maduración tanto en pieles como semillas y caracterizando los vinos provenientes de los diferentes valles donde se cultiva, con el objeto de definir el mejor manejo vitícola y enológico a realizar, para la obtención de uvas y vinos de calidad. Por lo anteriormente señalado es que se han propuesto los siguientes objetivos:

- Entrenar un panel sensorial especializado en astringencia y en gusto amargo.
- Evaluar la capacidad del panel y de cada uno de los individuos en el reconocimiento y discriminación de la astringencia y amargor en vino.
- Analizar química y sensorialmente extractos de semillas del cv. Carmenère provenientes de uvas cosechadas en cuatro fechas diferentes del periodo de maduración de bayas.

MATERIALES Y MÉTODO

Lugar de trabajo

Los análisis instrumentales y sensoriales se realizaron en los laboratorios de Enología y de Evaluación Sensorial del Departamento de Agroindustria y Enología ubicados en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

El entrenamiento del panel, los ensayos y análisis químicos se realizaron entre abril y diciembre del año 2005.

Materiales

Para el entrenamiento del panel se contó con un total inicial de 25 personas, de los cuales 21 personas tenían experiencia previa en el análisis sensorial de alimentos o vinos.

El panel es un “panel interno”, lo que implica que sus integrantes pertenecen a la Universidad de Chile (23 evaluadores a la Facultad de Ciencias Agronómicas, un evaluador a la Facultad de Medicina y un evaluador a la Facultad de Odontología). Durante la fase de preselección se eliminó a tres personas por falta de interés, uno por motivos médicos y dos por viaje, quedando finalmente 19 evaluadores para el entrenamiento del panel.

Para la preparación de soluciones acuosas e hidroalcohólicas amargas y astringentes, los compuestos utilizados se mencionan a continuación:

Compuesto	Sensación
Alumbre de potasio (Sigma-Aldrich)	Astringencia
Sulfato de Quinina (Sigma-Aldrich)	Amargor
Cafeína (Merck)	Amargor
Feniltiocarbamida (PTC) (Sigma-Aldrich)	Amargor
Tanino proantocianídico Partner Oenologie	Astringencia y Amargor
Tanino proantocianídico VR Supra Laffort Oenologie	Astringencia y Amargor

Para la preparación de las soluciones acuosas en la determinación del umbral de cafeína, se utilizó agua destilada, mientras que se utilizó agua mineral no gasificada para los ordenamientos de intensidad, soluciones estándares y tests de diferencia. Para las soluciones hidro-alcohólicas, los vinos utilizados fueron: Cabernet Sauvignon Exportación de viña Concha y Toro, y Carmenère Santa Emiliana, ambos vinos varietales de la cosecha 2004.

Para la preparación de los extractos de semilla de Carmenère se utilizaron bayas suministradas por Viña Haras de Pirque, cosechadas en cuatro fechas: 25 de Marzo; 7 de Abril; 16 de Abril y 6 de Mayo del año 2005.

Para el análisis de compuestos fenólicos mediante espectrofotometría se utilizó un espectrofotómetro Unicam Helios γ .

Para el análisis de compuestos fenólicos de bajo peso molecular se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia Merck Hitachi, el cual consta de una bomba modelo L-6200, un inyector automático modelo L-7200, un detector de arreglo de fotodiodos alineados modelo L-7455 y una columna Waters Nova-pack C₁₈ de 3,9 mm de diámetro interno con 300 mm de longitud.

Metodología

Para la selección y entrenamiento de los evaluadores se utilizó la metodología propuesta por Cross *et al.* (1978) y se llevó a cabo en 25 sesiones (Apéndice I):

Inicialmente, a cada evaluador se le realizó una encuesta (Apéndice II) con el objetivo de conocer el interés en el proyecto, estado de salud, existencia de restricciones alimenticias o falta de disponibilidad.

Determinación del umbral de percepción de la cafeína

Se utilizó la metodología propuesta por la Norma UNE (1992). Para ello, se aplicó el “método de estímulos constantes” (Anexo I), a través del cual el evaluador señala la zona donde probablemente podría encontrar su umbral de percepción mediante la evaluación de seis muestras en concentración creciente de cafeína, más una muestra control con agua destilada. Las concentraciones fluctuaron entre 0,005% (50 mg·L⁻¹) y 0,015% (150 mg·L⁻¹) de cafeína.

Luego de establecer cuál podría ser la zona probable de umbral para cada evaluador, se aplicó el método Triangular 3-AFC (Alternative Forced Choice) (Anexo II), a través del cual se determinó el umbral de detección de cafeína de 22 evaluadores. En este test, el evaluador conoce la diferencia que hay entre las muestras (en este caso el gusto amargo). Se entregan tres vasos de vidrio con dos muestras iguales (Ej.: agua) y una diferente (Ej.: amarga), con 25 mL de muestra, y se solicita que se indique cuál es la muestra amarga. La solución utilizada en este test correspondió a la concentración de amargor mínima reconocida por cada evaluador en el test de estímulos constantes anteriormente realizado. Posteriormente, según la capacidad de cada evaluador de reconocer o no la muestra amarga en el triangular, se aumenta o disminuye la concentración evaluada hasta llegar a la concentración mínima detectada por cada evaluador, la que debió ser reconocida en un 100% en una serie de seis tests Triangulares 3-AFC para ser considerado un “umbral de detección”.

Entrenamiento

Sensibilidad a la feniltiocarbamida (PTC). En este test se midió la sensibilidad a la Feniltiocarbamida (PTC) a una concentración de $81,25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ mediante una pauta no estructurada con una escala de 10 cm (Anexo III). Se utilizó un trozo de papel filtro de un centímetro de ancho por ocho centímetros de largo impregnado con la solución de PTC y se solicitó a cada evaluador introducir el trozo de papel filtro en su boca y presionar su lengua con el paladar por tres segundos, para luego evaluar el nivel de amargor percibido.

Reconocimiento de estándares. Se presentaron estándares amargos y astringentes en solución acuosa e hidro-alcohólica, con el fin de dar a conocer y familiarizar a los evaluadores con las sensaciones de amargor y astringencia. Para el reconocimiento del gusto amargo se utilizó sulfato de quinina en concentraciones de 2, 4, 6 y $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en agua y 4, 8 y $12 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en vino tinto. Para la sensación de astringencia se utilizó alumbre de potasio en concentraciones de 0,5; 1,0 y $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en agua y 1,5; 3,0 y $5,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en vino tinto. Los evaluadores pudieron comparar las diferencias en sesión abierta y comentar sus impresiones.

Memoria sensorial. Se realizó el “Test de Sensibilidad de la Memoria” (Araya, 2006) (Anexo IV), mediante el cual se les solicitó a los evaluadores degustar una muestra de vino tinto ($11,72 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ azúcar residual) a la que se adicionó $1,5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de alumbre de potasio. Luego de cinco minutos se degustó otra muestra con el mismo vino tinto base, pero con $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de sulfato de quinina. Los evaluadores debían anotar si la primera y segunda muestra eran iguales o diferentes. Si las muestras eran consideradas distintas, los evaluadores debían identificar la diferencia entre los parámetros de dulzor, amargor, sabor, astringencia y acidez.

Ordenamiento de intensidades. Se realizaron seis pruebas de ordenamiento para amargor y seis para astringencia con el Método de Ranking (Amerine *et al.*, 1965) (Anexo V), que permiten mejorar la capacidad de los evaluadores de reconocer diferentes intensidades y por lo tanto desarrollar la habilidad de jerarquizar según una característica dada. Este método consiste en ordenar varias muestras, de menor a mayor intensidad entregadas en orden aleatorio. Luego se calcula el “número de inversión” del evaluador mediante la resta (en valor absoluto) entre el orden correcto de la muestra evaluada (según su intensidad) y el lugar en que fue ubicada por el evaluador, para luego sumar el valor obtenido de cada resta y obtener así el número de inversión de cada evaluador.

El número de inversión de cada evaluador debe ser igual o menor a $n+1$ (siendo n el número de muestras) para ser considerado discriminante. En el Cuadro 1 se ejemplifica la forma de calcular el número de inversión de cada evaluador.

Cuadro 1. Ejemplo de cálculo de número de inversión.

	Ordenamiento Según Concentración							
Sulfato de Quinina mg·L⁻¹	0	0.5	1	2	3	4	5	
Orden según evaluador B	5	6	1	3	4	7	2	
Orden correcto	1	2	3	4	5	6	7	
N° inversión	4	4	2	1	1	1	5	18

El número de inversión del panel completo, se calcula mediante la sumatoria de los valores parciales de cada muestra degustada por todos los evaluadores. Luego, esta sumatoria, se multiplica por el valor de orden correcto de cada muestra dentro de la serie degustada. Estos valores resultantes se suman, con el cual se obtiene el número de inversión total del panel, para su análisis mediante el test de Page (Page, 1963), como se muestra en el Cuadro 2. Si H_a es mayor a H_0 , se considera que el panel discrimina significativamente la diferencia de concentración entre las muestras evaluadas.

Cuadro 2. Ejemplo de cálculo del número de inversión del panel.

Sulfato de Quinina mg·L ⁻¹	Evaluadores																		Orden	Σ		
	A	B	C	E	F	G	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	T	V	X				
0	1	5	1	2	1	2	2	1	3	1	2	3	5	3	2	2	2	1	1	x	39	39
0,5	2	6	2	1	2	5	1	5	1	6	3	1	1	2	3	4	4	2	2	x	51	102
1	3	1	3	3	4	1	3	2	6	2	4	4	4	5	6	1	1	5	3	x	58	174
2	4	3	5	4	3	3	6	3	2	3	1	5	3	4	1	3	5	7	4	x	65	260
3	5	4	4	5	5	6	4	4	4	7	5	2	2	6	4	7	3	4	5	x	81	405
4	6	7	6	6	6	7	5	7	7	5	6	7	7	1	5	5	7	3	6	x	103	618
5	7	2	7	7	7	4	7	6	5	4	7	6	6	7	7	6	6	6	7	x	107	749
N° Inversión	0	18	2	2	2	12	6	8	12	12	6	10	12	12	10	10	10	10				

H_0 para 18 evaluadores y 7 muestras según tabla Page= 2097

Número Inversión Total (Ha) **2347**

Los compuestos y las concentraciones utilizadas para la ejecución de estos tests se describen a continuación:

Cuadro 3. Resumen de Tests de Ranking, compuestos y concentraciones evaluadas.

N°	Tipo de Test	Concentraciones Evaluadas	Muestras Evaluadas	Parámetro
1	Sulfato de Quinina en Agua	0 - 0,5 - 1,0 - 2,0 - 3,0 - 4,0 - 5,0 mg·L ⁻¹	7	Amargo
2	Sulfato de Quinina en Vino Dulce ¹	0 - 2 - 4 - 6 - 8 - 10 mg·L ⁻¹	6	Amargo
3	Sulfato de Quinina en Vino Seco ²	0 - 2 - 4 - 6 - 8 - 10 mg·L ⁻¹	6	Amargo
4	Sulfato de Quinina en Vino Seco ²	0 - 3 - 6 - 9 - 12 mg·L ⁻¹	5	Amargo
5	Cafeína en Vino Seco ²	0 - 0,4 - 0,8 - 1,2 - 1,6 g·L ⁻¹	5	Amargo
6	Cafeína en Vino Dulce ¹	0 - 0,4 - 0,8 - 1,2 - 1,6 g·L ⁻¹	5	Amargo
7	Chocolate Amargo	70 - 85 - 99 % Cacao	3	Amargo
8	Alumbre en Agua	0 - 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,6 - 0,8 g·L ⁻¹	7	Astringente (continúa)

Cuadro 3 (continuación)

Nº	Tipo de Test	Concentraciones Evaluadas	Muestras Evaluadas	Parámetro
9	Alumbre en Agua	0 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1,0 - 1,25 - 1,5 g·L ⁻¹	7	Astringente
10	Alumbre en Vino Dulce ¹	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3,0 - 4,0 g·L ⁻¹	6	Astringente
11	Alumbre en Vino Seco ²	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3,0 - 4,0 g·L ⁻¹	6	Astringente
12	Alumbre en Vino Seco Pasos Grandes ²	0 - 1,0 - 2,5 - 4,0 - 5,5 g·L ⁻¹	5	Astringente
13	Alumbre en Vino Dulce Pasos Grandes ¹	0 - 1,0 - 2,5 - 4,0 - 5,5 g·L ⁻¹	5	Astringente

¹/Azúcar residual vino dulce: 11,72 g·L⁻¹

²/Azúcar residual vino seco: 2,7 g·L⁻¹

Capacidad de discriminación

Para determinar la capacidad de discriminación de cada uno de los evaluadores en amargor y astringencia, se utilizó el Test Triangular Simple (Anexo VI) y el Test Pareado 2-AFC (modificado) (Anexo VII).

Test Triangular Simple. Se presentan al evaluador tres muestras simultáneamente, dos de ellas son idénticas y una es diferente. Los evaluadores deben indicar cuál es la diferente en cada trío e identificar si la muestra diferente es amarga o astringente.

Se realizaron dos tests Triangular Simple con alumbre de potasio (0,5 g·L⁻¹) y sulfato de quinina (2,0 mg·L⁻¹) en agua. En el primer test se presentaron dos muestras de sulfato de quinina y una muestra de alumbre, y en el segundo test se presentaron dos muestras iguales de alumbre y una muestra de sulfato de quinina.

Test Pareado 2-AFC (Alternative Forced Choice) *modificado*. Se presentaron al evaluador cuatro muestras (agua o vino) con distintas concentraciones de compuestos astringentes y amargos, más una muestra control. El evaluador debió indicar cual o cuales eran iguales o más intensas que el control en amargor y/o astringencia (cuadros 4 y 5).

Cuadro 4. Test Pareado 2-AFC (modificado) en agua.

Gusto o Sensación	Concentración y Compuesto Evaluado
Testigo	Agua
Astringencia	Agua + 0,75 g·L ⁻¹ de Alumbre
Astringencia/Amargo	0,75 g·L ⁻¹ Alumbre + 3,0 mg·L ⁻¹ Sulfato de Quinina
Amargo	3,0 mg·L ⁻¹ Sulfato Quinina

Cuadro 5. Test Pareado 2-AFC (modificado) en vino.

Gusto o Sensación	Concentración y Compuesto Evaluado
Testigo	Vino
Astringencia	Vino + 2,5 g·L ⁻¹ Alumbre
Astringencia/Amargo	Vino + 2,5 g·L ⁻¹ Alumbre + 6,0 mg·L ⁻¹ Sulfato de Quinina
Amargo	Vino + 6,0 mg·L ⁻¹ Sulfato Quinina

Control o Evaluación del Panel

Capacidad de discriminación. Se realizó mediante el Test Pareado 2-AFC (Araya, 2006) y Test Pareado Direccional (Amerine *et al.*, 1965) (Anexo VIII) para discriminación entre dos muestras. En este test el evaluador conoce en qué podría estar la diferencia de las muestras evaluadas (Ej.: astringencia o gusto amargo). Se entregan a los evaluadores las muestras en pares, y se le solicita determinar si son iguales o diferentes. Las muestras amargas contenían $0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cafeína mientras que las astringentes $1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de alumbre. Luego, en la parte direccional, los evaluadores deben identificar a que sensación corresponde cada una de ellas. Se evaluaron diez pares de muestras, distribuidas en dos sesiones de cinco pares cada una, según se observa en el Cuadro 6. Un evaluador discrimina significativamente cuando tiene un porcentaje de respuestas correctas igual o superior a 50% (UNE, 1995).

Cuadro 6. Orden de pares evaluados Test Pareado 2-AFC.

Primera sesión	Segunda sesión
Amargo-Amargo	Amargo-Astringente
Amargo-Astringente	Astringente-Astringente
Amargo-Amargo	Amargo-Amargo
Astringente-Amargo	Astringente-Astringente
Astringente-Astringente	Astringente-Amargo

Repetibilidad y discriminación. Con el objetivo de evaluar la discriminación (capacidad de diferenciar entre muestras) y la repetibilidad (determinar si sus respuestas eran constantes en el tiempo) de los evaluadores, se analizaron los parámetros de astringencia y amargor, en una pauta no estructurada con una escala de 15 centímetros, para dos taninos enológicos comerciales (tanino A y tanino B) con tres repeticiones, en dos sesiones, en días diferentes. La concentración utilizada de ambos taninos fue de $2,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ en una solución modelo hidro-alcohólica al 10% de alcohol (v/v) con $2,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de ácido tartárico.

En la primera sesión se evaluaron, en forma individual, dos muestras del tanino A (primera y tercera muestra) y una muestra del tanino B (segunda muestra). En la segunda sesión se evaluaron dos muestras del tanino B (primera y tercera) y una muestra del tanino A (segunda).



Estos resultados se analizaron mediante el test de señal/ruido (Schlich, 1993), que consiste en calcular un índice de discriminación (señal) y un índice de repetibilidad (ruido) para luego obtener su cociente:

Señal= Valor absoluto (A_rep 1 – B_rep 1)

$$\text{Ruido} = \frac{\text{ABS (A1-A3)+ ABS (A2-A3)}}{2} \quad \text{ó} \quad \frac{\text{ABS (B1-B2)+ ABS (B1-B3)}}{2}$$

Según Schlich (1993), el valor de este cociente debe ser mayor a 1 para considerar las respuestas de un evaluador constantes y repetibles en el tiempo.

Selección final del panel

Para la selección final de los evaluadores, se analizaron en conjunto, los resultados de los siguientes tests:

- Sulfato de Quinina en Agua
- Sulfato de Quinina en Vino Seco
- Cafeína en Vino Seco
- Alumbre en Agua
- Alumbre en Vino Seco
- Test Pareado 2-AFC modificado en Agua y Vino
- Test Pareado 2-AFC y direccional en Vino
- Test Memoria Sensorial en Vino
- Test Señal/Ruido

Análisis químico y evaluación sensorial de extracto de semillas

Los racimos de Carmenère provenientes de plantas de 8 años cultivadas en espaldera y ubicadas en el valle del Maipo, luego de ser cosechados se congelaron a -18°C para su posterior análisis. Se extrajeron las semillas de las bayas, se limpiaron con toalla de papel una por una, y se congelaron a -80°C durante aproximadamente cuatro semanas, hasta que las semillas de la última fecha de cosecha fueron procesadas. Luego se pesaron y se realizaron análisis de taninos totales, fenoles totales, índice de gelatina, índice de etanol, índice de taninos poco polimerizados (DMACH) y fenoles de bajo peso molecular mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). La extracción de polifenoles para estos análisis se realizó según la metodología propuesta por Venencie *et al.* (1997).

Posteriormente, para realizar los extractos utilizados en el análisis sensorial, las semillas se molieron en un molinillo para café (Moulinex) hasta su pulverización. Para la extracción de polifenoles se utilizó una metodología modificada de Venencie *et al.* (1997) que se detalla en el Apéndice III. Con las semillas pulverizadas de cada una de las cuatro fechas de cosecha se realizaron tres extracciones de dos horas cada una con 100 mL de agua destilada y etanol al 10% (v/v), con agitador magnético. Luego de cada una de las extracciones, el líquido sobrenadante se centrifugó a 5000 rpm por 20 minutos y se recuperó, el cual se analizó para medirle fenoles totales, mediante densidad óptica con espectrofotómetro.

Finalmente este extracto se diluyó con agua destilada a una concentración de $430 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ equivalentes en ácido gálico (EAG), para su evaluación sensorial.

Con el fin de realizar una primera evaluación con el panel definitivo, se evaluaron sensorialmente mediante una pauta no estructurada con una escala de 0 a 15 centímetros (Anexo X) para los parámetros de amargor y astringencia, cuatro muestras de extractos de semillas de la variedad Carmenère correspondientes a cuatro fechas de cosecha, en un medio agua-alcohol al 10% (v/v).

Determinaciones Analíticas

Análisis de polifenoles en semillas

Fenoles Totales: Se realizaron mediante análisis espectrofotométrico a 280 nm (García Barceló, 1990).

Taninos Totales: Se realizaron mediante la reacción de Bate-Smith (Bate-Smith, 1981).

Grado de Polimerización de taninos condensados: Se analizaron mediante el método de *p*-dimetilaminocinamaldehído (DMACH) (Vivas *et al.*, 1994).

Índice de taninos: Se analizaron mediante el índice de etanol y gelatina (Glories, 1978).

Además para cada una de las cuatro fechas de cosecha se determinaron, mediante cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a un detector de fotodiodos (HPLC-DAD), las concentraciones de compuestos fenólicos presentes en los extractos de semilla. Los compuestos fenólicos fueron posteriormente identificados mediante la comparación de su espectro de absorción y tiempo de retención con su respectivo estándar.

Para la cuantificación de los compuestos de bajo peso molecular se empleó el método del estándar externo, determinando las concentraciones mediante rectas de calibrado calculadas para las diferentes sustancias patrones disponibles en el mercado (Sigma-Aldrich, EEUU), empleando las mismas condiciones descritas para las muestras. Las rectas de calibrado utilizadas se obtuvieron a 280 nm para los compuestos fenólicos de bajo peso molecular

Análisis Estadístico

En el Método de Ranking con diluciones el análisis de resultados se realizó por el Test de Page (Page, 1963).

La evaluación sensorial de los extractos de semillas de Carmenère fue analizada con un diseño de bloques al azar (evaluadores). Los resultados se analizaron mediante ANDEVA.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software Minitab v.13.32.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Encuesta

Se aplicó una encuesta a los evaluadores, para conocer sus hábitos de consumo de tabaco, café y otros productos que suelen ser amargos o astringentes (Apéndice II). Se observa que un 20% de los mismos tiene el hábito de fumar, en promedio hace 20 años y con un consumo promedio de siete cigarrillos al día. Un 95% de los evaluadores consume café, un 74% señala consumir té, mientras que un 42% de ellos utiliza edulcorantes artificiales. Un 90% de los evaluadores consume bebidas alcohólicas, siendo el vino la preferida con 89%, seguidas de cerveza y licores con 59%. Un 26% consume aliños o salsas pungentes, en forma esporádica.

En cuanto a información médica, un 53% sufre de algún tipo de alergia donde la más común es al polen, pero no se observaron alergias a productos alimenticios. Ningún integrante del panel señala sufrir de resfriado crónico, sinusitis, afecciones bucales, caries, infección en papilas, ulcera, asma o bronquitis. Un 58% toma medicamentos, un 32% lo hace diariamente, otro 32% esporádicamente y el resto no consume. Un 42% de los evaluadores hace dieta para controlar su peso, de ellos un 37% en forma esporádica.

Con respecto a la experiencia según el número de años participando en evaluación sensorial, el promedio del panel es de 12 años y el promedio de edad del panel es de 42 años, de 28 a 56 años. El 80% de los evaluadores ha evaluado vino con anterioridad a su participación en este panel.

El principal motivo por participar de este entrenamiento es su interés en la investigación, todo lo relacionado con la ciencia y por su interés en el análisis sensorial. Todo el panel está de acuerdo en que su trabajo podría ayudar a mejorar la calidad del vino en Chile y su comercio, sin embargo, a un 37% le desagrada degustar vino tinto. Por último, el promedio en la frecuencia de consumo de vino tinto del panel es semanal.

En general, se observa que no hay limitantes específicas de los evaluadores a degustar vino y sustancias amargas o astringentes.

Asistencia de evaluadores

De acuerdo a Jellinek (1985), se requiere un 60% de asistencia como mínimo para que un evaluador pueda ser seleccionado en un panel. En el Cuadro 7 se puede observar que cinco personas obtuvieron un porcentaje de asistencia inferior al mínimo descrito por la literatura

como requisito para continuar participando de un panel de evaluación sensorial, razón por la cual los evaluadores W, Y y S fueron descartados automáticamente del panel, quienes obtuvieron menos de un 58% de asistencia.

Cuadro 7. Porcentaje de asistencia.

Evaluador	Asistencia	Evaluador	Asistencia
B, C, J, L, M, N	100	V	63
D, F, H, P, Q, T, U	95	G, K	58
A, E, I, X	89	W	37
R	84	Y	11
O	68	S	5

Umbral de detección del amargor de la cafeína

El promedio del umbral de detección poblacional de la cafeína, según Amerine *et al.* (1965), es de un 0,026% (226 mg·L⁻¹), lo que concuerda con los umbrales de detección de cafeína de los 22 evaluadores quienes obtuvieron un promedio de 0,0215% (215 mg·L⁻¹). El 27,2% de los evaluadores poseen umbrales de detección mayores a lo establecido según literatura (Figura 1).

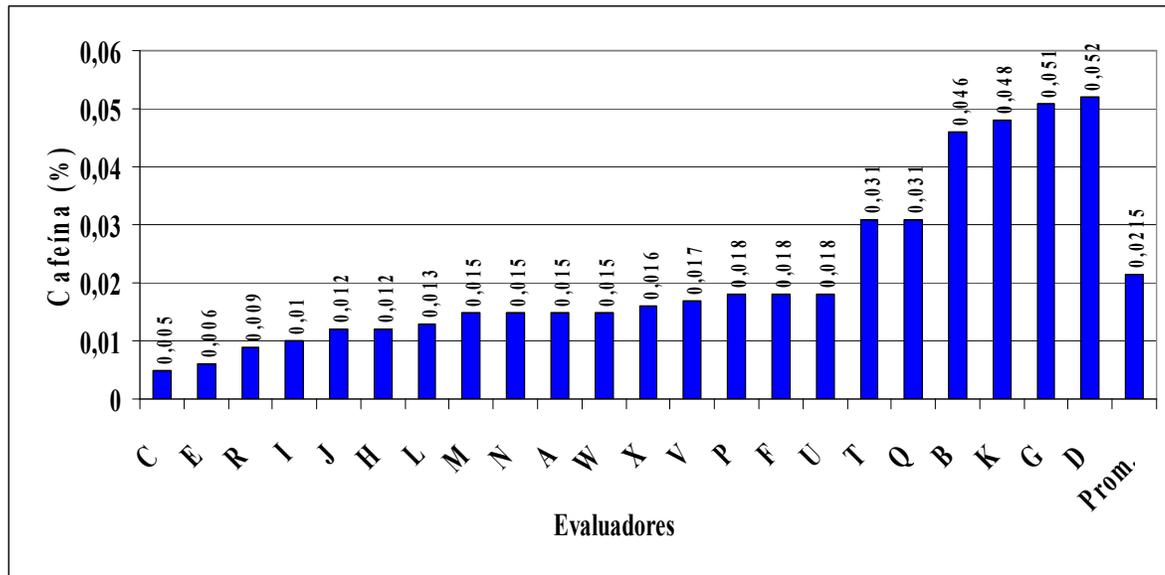


Figura 1. Umbrales de Detección de Cafeína.

Feniltiocarbamida (PTC)

En Cuadro 8 se puede observar la intensidad de la sensación de amargor producida por el PTC, donde un 42,9% de los evaluadores no detecta, o la detecta levemente (intensidad menor a 5).

Cuadro 8. Intensidad del amargor de la Feniltiocarbamida (PTC)

Evaluador	Intensidad PTC	Evaluador	Intensidad PTC	Evaluador	Intensidad PTC
J	0,1	T	3,1	C	8,2
E	0,3	D	4,9	P	8,2
I	0,4	F	5,8	Q	8,6
N	0,6	M	6,8	U	8,9
B	1	W	6,8	O	9,7
H	2,2	R	7,5	L	9,9
K	2,6	G	7,8	A	10

Mediante una correlación de Pearson entre el umbral de cafeína y la intensidad percibida del PTC se obtiene como resultado una correlación de -0,048 (p-value= 0,842). Es decir, la variabilidad en la sensibilidad al PTC no está explicada por la variabilidad en el umbral de cafeína, lo que implica que no existe una relación entre el umbral de cafeína y la capacidad de detección del PTC. Esto concuerda con los resultados obtenidos por ¹Müller (2006), con una correlación de 0,05 entre cafeína y PTC (p-value=0,162) en un panel de 20 personas entrenados en amargor en Montpellier, Francia (Müller, 2006, resultados no publicados).

Test de memoria sensorial

Un 100% de los evaluadores encontraron que los dos vinos evaluados eran diferentes, demostrando una buena capacidad de memoria sensorial, dentro de los cuales un 47% reconoció un aumento en el amargor, siendo este último resultado destacable considerando el azúcar residual del vino utilizado. Con respecto al alumbre de potasio existen dudas respecto a las propiedades que posee este compuesto sobre el aporte a la sensación de astringencia en vino tinto (¹Müller, 2006). Para la sensación de astringencia, sólo un 11,8% de los evaluadores reconoció una disminución de intensidad en la segunda muestra.

¹Müller, Katrina, M. Sc. Ing. Agrónomo-Enólogo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, 2006. Chile (Comunicación Personal).

Cuadro 9. Resultados de Test de memoria sensorial.

Evaluador	Detecta Diferencia	Detecta Amargor	Detecta Astringencia
A	✓		
B	✓	✓	
C	✓		
D	✓		
E	✓	✓	
F	✓		
G	✓		
I	✓		✓
J	✓	✓	✓
K	✓	✓	
L	✓		
M	✓		
N	✓	✓	
P	✓	✓	
Q	✓		
T	✓	✓	
V	✓	✓	
Porcentaje	100	47	11,8

Test de Ranking con diluciones

Sulfato de quinina. El panel sólo discriminó el amargor del sulfato de quinina en el ordenamiento realizado en solución acuosa (Test 1, Cuadro 10), lo que se observa al presentar una hipótesis alternativa mayor a la hipótesis nula para un $\alpha=0,05$ de significancia (Cuadro 11). En contraposición a esto, no hubo discriminación significativa del gusto amargo para las tres series realizadas en vino.

La dificultad de discriminación en medios hidro-alcohólicos como el vino se puede deber, a que el vino es un medio complejo (Flanzy, 2000), lo que dificulta el reconocimiento y la discriminación de gustos y sensaciones. Sin embargo, un 64% de los evaluadores discriminaron entre el testigo y la concentración más alta de sulfato de quinina para la serie en vino seco ($2,7 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), mientras que sólo un 45% lo hizo para la misma serie realizada en vino con $11,72 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de azúcares reductores. Se analizaron los resultados de cada evaluador, en el Cuadro 11, donde en color azul se observan aquellos evaluadores que obtuvieron números de inversión correctos (es decir que discriminaron correctamente las muestras), y en rojo aquellos evaluadores que discriminaron en forma correcta entre la concentración más baja y la más alta. Analizando los resultados de esta forma, se observa también que la discriminación mejora cuando no hay dulzor en el vino, lo que concuerda con lo señalado por Noble (1998), quien afirma que el azúcar ha sido agregada muchas veces a los vinos para reducir el gusto amargo.

La diferencia de concentración de sulfato de quinina entre muestras consecutivas es un factor importante que marca una diferencia en el grado de discriminación de los

evaluadores. Al aumentar la diferencia entre muestras consecutivas para el sulfato de quinina (0, 2, 4, 6, 8 y 10 mg·L⁻¹ versus 0, 3, 6, 9 y 12 mg·L⁻¹) en vino seco, hay un mayor número de evaluadores discriminantes. Se observa a su vez un menor número de inversión promedio del panel para la última serie, lo que implica una mejor discriminación.

Cuadro 10. Test de Ranking y concentraciones evaluadas.

Nº	Tipo de Test	Concentración	Muestras	Parámetro
1	Sulfato de Quinina en Agua	0 - 0,5 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5 mg·L ⁻¹	7	Amargo
2	Sulfato de Quinina en Vino Dulce ¹	0 - 2 - 4 - 6 - 8 - 10 mg·L ⁻¹	6	Amargo
3	Sulfato de Quinina en Vino Seco ²	0 - 2 - 4 - 6 - 8 - 10 mg·L ⁻¹	6	Amargo
4	Sulfato de Quinina en Vino Seco ²	0 - 3 - 6 - 9 - 12 mg·L ⁻¹	5	Amargo

¹/Azúcar residual vino dulce: 11,72 g·L⁻¹

²/Azúcar residual vino seco: 2,7 g·L⁻¹

Cuadro 11. Números de inversión para los tests de Ranking realizados con sulfato de quinina en agua y vino.

Sulfato de Quinina	Evaluadores																Hipótesis		Número Inversión Promedio			
	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	T	V		X	Ha	Ho
En Agua	0	18	2		2	2	12	6	8	12	12	6	10	12	12	10	10	10	2347	2097	8,5	
En Vino dulce PC ¹	12	6	8	6	12	10	10	12	12	10	6	14	10	6	14	12	12		16	1343	1375	10,1
En Vino seco PC ¹		16	12	6	12	16	11		18	4	12	10	14	6	14	12	6	10	12	1270	1303	11,2
En Vino seco PG ²	8	10	6	12	8	4	6	8	12	12	4	12	10	12	10	4	6	10	10	841	891	8,63

¹/PC: pasos cortos (poca diferencia entre concentración de muestras consecutivas).

²/PG: pasos grandes (mayor diferencia entre concentración de muestras consecutivas). El detalle de las concentraciones evaluadas se observa en el Cuadro 3.

Cafeína. El panel discriminó significativamente las diferentes concentraciones de cafeína en vino seco y vino dulce. En ambos tests la hipótesis alternativa es mayor a la hipótesis nula para un $\alpha=0,05$ de significancia (Cuadro 13). Para los dos tests realizados, un 82%, y 88% de los evaluadores discriminaron entre el testigo y la concentración más alta de cafeína, respectivamente. En el Cuadro 12 se presenta un resumen de los tests realizados con cafeína.

Cuadro 12. Test de Ranking y concentraciones evaluadas.

Nº	Tipo de Test	Concentración	Nº Muestras	Parámetro
5	Cafeína en Vino Seco ²	0 - 0,4 - 0,8 - 1,2 - 1,6 g·L ⁻¹	5	Amargo
6	Cafeína en Vino Dulce ¹	0 - 0,4 - 0,8 - 1,2 - 1,6 g·L ⁻¹	5	Amargo

¹/Azúcar residual vino dulce: 11,72 g·L⁻¹

²/Azúcar residual vino seco: 2,7 g·L⁻¹

Cuadro 13. Números de inversión para los tests de Ranking realizados con cafeína en vino dulce y seco.

	Evaluadores																Hipótesis		N° Inversión Promedio	
	A	B	C	D	E	F	I	J	L	M	N	P	Q	R	T	V	X	Ha		Ho
Vino seco ²	2	4	2	2	10	2	12	4	4	6	4	4	10	4	6	0	8	850	800	5
Vino dulce ¹	10	6	2	4	2	4	2	4	8	6	4	4	6	4	4	2	4	874	800	4

¹/Azúcar residual vino dulce: 11,72 g·L⁻¹

²/Azúcar residual vino seco: 2,7 g·L⁻¹

Se observa una diferencia entre el sulfato de quinina y la cafeína en términos de la sensibilidad que entregan estos dos compuestos amargos, ya sea por que los evaluadores son más sensibles a la cafeína, o porque las diferencias de concentración entre muestras para las soluciones con cafeína son mayores que en el caso del sulfato de quinina. La mayor parte de este panel ha evaluado y ha sido entrenado tanto en alimentos, como en bebidas, utilizando cafeína como indicador del gusto amargo, lo que podría explicar un mayor grado de reconocimiento de la cafeína que del sulfato de quinina, siendo ésta, una sustancia sensorialmente nueva para la totalidad de los evaluadores. Es posible que ambos compuestos respondan a receptores diferentes del amargor. Según Mc Burney (1978), existe un número igual o mayor a tres receptores diferentes para el gusto amargo, sensibles a quinina, urea y a PTC o a propiltiouracilo (PROP) y más recientemente se descubrió una familia de más de 50 diferentes receptores para el gusto amargo (Drewnowski y Gómez-Carneros, 2000).

El azúcar residual presente en el vino no fue suficiente para enmascarar la cafeína agregada, ya que en ambos tests (con y sin azúcar), se obtuvo una buena discriminación de las concentraciones evaluadas. Cabe destacar que el número de muestras evaluadas fue menor (cinco muestras) que en los tres primeros tests con sulfato de quinina en vino (seis muestras) e igual al cuarto test con sulfato de quinina, lo que reduce la fatiga de los evaluadores y permite un mayor grado de discriminación entre las muestras.

Cacao en chocolate. Con el fin facilitar la comprensión del gusto amargo, se realizó un Test de Ranking con chocolate negro (Anexo IX) de diferente concentración de cacao: 70, 85 y 99 %. El panel discriminó significativamente las diferencias de intensidad de amargor en la serie de muestras evaluadas, como se observa según el número de inversión de cada evaluador en el Cuadro 14. Sólo tres personas tuvieron problemas de ordenamiento.

Cuadro 14. Números de inversión para los tests de Ranking realizados con chocolate amargo.

	Evaluadores																Hipótesis				
	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	T	V	X	Ha	Ho
N° Inversión	0	2	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	260	239

Alumbre de potasio en agua. En el Cuadro 15 se resumen los tests realizados con alumbre de potasio en agua, mientras que en el Cuadro 16 se puede apreciar que el panel discriminó significativamente de acuerdo al test de Ranking, las concentraciones evaluadas. En ambos tests el 100% de los evaluadores discriminaron entre la concentración más alta de alumbre y la muestra control.

Cuadro 15. Tests de Ranking y concentraciones evaluadas.

N°	Tipo de Test	Concentración	Muestras	Parámetro
8	Alumbre en Agua	0 - 0,1 - 0,2 - 0,3 - 0,4 - 0,6 - 0,8 g·L ⁻¹	7	Astringente
9	Alumbre en Agua	0 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1,0 - 1,25 - 1,5 g·L ⁻¹	7	Astringente

Cuadro 16. Números de inversión para los tests de Ranking realizados con alumbre de potasio en agua.

	Evaluadores																Hipótesis		N° Inversión Promedio			
	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	T	V		X	Ha	Ho
En agua PC ¹	4	10		0	4	10	4	4	4	14	10	4	6							1609	1410	6
En agua PG ²	0	6	4	4	4	6	6	2	4	4	2	8	4	4	4	2	2	4	8	2605	2217	4

¹/PC: pasos cortos (poca diferencia entre concentración de muestras consecutivas).

²/PG: pasos grandes (mayor diferencia entre concentración de muestras consecutivas). El detalle de las concentraciones se observa en el Cuadro 3.

Los tests de ranking realizados con sulfato de quinina y alumbre demuestran un buen reconocimiento y habilidad del panel para discriminar soluciones amargas y astringentes en soluciones acuosas. Por otra parte, se observa que el nivel de discriminación del panel (comparando a los 12 evaluadores que realizaron ambos tests de alumbre en agua) aumenta si la diferencia de concentración entre muestras consecutivas es mayor. La sumatoria de números de inversión por evaluador (Cuadro 16) es menor para el test 9 ($\Sigma=52$), que para el test 8 ($\Sigma=74$).

Alumbre de potasio en vino. Se realizaron cuatro tests de Ranking (Cuadro 17). El panel discriminó significativamente en todos los tests realizados en vino las diferencias de concentración de alumbre de potasio.

Cuadro 17. Tests de Ranking y concentraciones evaluadas

N°	Tipo de Test	Concentraciones	Muestras	Parámetro
10	Alumbre en Vino Dulce ¹	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3,0 - 4,0 g·L ⁻¹	6	Astringente
11	Alumbre en Vino Seco ²	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3,0 - 4,0 g·L ⁻¹	6	Astringente
12	Alumbre en Vino Seco Pasos Grandes ²	0 - 1 - 2,5 - 4,0 - 5,5 g·L ⁻¹	5	Astringente
13	Alumbre en Vino Dulce Pasos Grandes ¹	0 - 1 - 2,5 - 4,0 - 5,5 g·L ⁻¹	5	Astringente

¹/Azúcar residual vino dulce: 11,72 g·L⁻¹

²/Azúcar residual vino seco: 2,7 g·L⁻¹

En contraposición a los buenos resultados alcanzados en soluciones acuosas, el reconocimiento y discriminación del alumbre en el vino fue menor. Los resultados de los vinos con azúcar residual de $11,72 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Test 13, Cuadro 17), fueron levemente inferiores a aquellos en vino seco (Test 12, Cuadro 17) con un 53 % de discriminación *versus* un 71% respectivamente. A pesar de lo anteriormente expuesto, se puede observar que el factor que marcó una diferencia en la discriminación del panel fue la disminución del número de muestras y un aumento de la diferencia en la concentración de muestras consecutivas. En el Cuadro 18 se pueden apreciar diferencias importantes entre los tests 10 y 11 *versus* los tests 12 y 13 los cuales presentaron mejores resultados relativos (números de inversión individuales). Estos resultados se podrían explicar según lo expuesto por algunos autores en cuanto a que la astringencia depende de la cantidad de saliva presente en la boca (Ishikawa y Noble, 1995) y que a su vez la intensidad crece cuando varias muestras son degustadas en serie (Noble, 2002) por lo que una menor cantidad de muestras mejoraría el nivel de reconocimiento de los evaluadores. Por otra parte, según Noble (2002) la intensidad de la astringencia como la del amargor crece cuando varias muestras son degustadas en serie.

Cuadro 18. Números de inversión para los tests de Ranking realizados con alumbre de potasio en vino.

Alumbre de Potasio	Evaluadores																Hipótesis		N° Inversión Promedio			
	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	T	V		X	Ha	Ho
Vino dulce PC ¹	10	10	14	16	4	10	14	8	8	6	10	10	10	14	10		12	8	1307	1303	10	
Vino seco PC ¹	2	14	8	14	8	16	6	8	6	6	6	14	10	12	4	0	2	4	12	1522	1433	8
Vino seco PG ²	6	6	6	2		4	8	8	4		4	8	6	8	8	4	10	4	4	816	800	6
Vino dulce PG ²	0	10	6	5	8	8		10	4		4	6	0	8	4	7	10	8	4	835	800	6

¹/PC: pasos cortos (poca diferencia entre concentración de muestras consecutivas).

²/PG: pasos grandes (mayor diferencia entre concentración de muestras consecutivas). El detalle de las concentraciones se observa en el Cuadro 3.

Test Triangular Simple

En este test, 15 de 16 evaluadores lograron diferenciar la sensación amarga de la astringente, obteniendo la mitad de los evaluadores un 100% de respuestas correctas, esto es, un completo reconocimiento de ambas sensaciones. Un 43% de los evaluadores obtuvo un 50% de respuestas correctas y sólo un evaluador no logró diferenciar ninguna de las dos sensaciones. En el Cuadro 19 se presentan los resultados de este test.

Cuadro 19. Resultados Test Triangular Simple.

Evaluadores	Respuestas Correctas
A, E, F, I, J, M, R, T	100%
B, C, K, N, P, Q, V	50%
D	0%

Test Pareado 2-AFC (Alternative Forced Choice, *modificado*) en agua y vino

De acuerdo a las normas españolas UNE (1995), un evaluador se considera discriminante cuando logra un mínimo de 50% de respuestas correctas. En Chile, el Laboratorio de Evaluación Sensorial de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile trabaja con un 100% de respuestas correctas para considerar a un evaluador como discriminante para gustos básicos como el dulzor, ácido, salado, umami y amargo en soluciones acuosas o medios alimenticios simples. Sin embargo, si se considera que el vino es un medio muy complejo y que la sensación de astringencia y el gusto amargo son particularmente difíciles, para este estudio se tomó como discriminante, a los evaluadores con más de un 60% de respuestas correctas en soluciones con agua y a partir de un 50% en vino. De acuerdo a lo anteriormente expuesto, en el Cuadro 20 se puede observar que existen dos evaluadores (P y X) que no discriminan correctamente astringencia y amargor tanto en agua como en vino, y se observa que en un medio como el vino hay cuatro evaluadores adicionales a quienes se les dificulta la discriminación (evaluadores A, R, F y L).

Cuadro 20. Respuestas totales para astringencia y gusto amargo en agua y vino.

AGUA				VINO			
Evaluador	Buenas	Malas	% de Acierto	Evaluador	Buenas	Malas	% de Acierto
P	1	7	12,5	A	2	6	25,0
X	4	4	50,0	R	2	6	25,0
A	5	3	62,5	F	3	5	37,5
C	5	3	62,5	L	3	5	37,5
F	5	3	62,5	P	3	5	37,5
B	6	2	75,0	X	3	5	37,5
D	6	2	75,0	B	4	4	50,0
E	6	2	75,0	D	4	4	50,0
I	6	2	75,0	I	4	4	50,0
J	6	2	75,0	M	4	4	50,0
L	6	2	75,0	Q	4	4	50,0
N	6	2	75,0	T	4	4	50,0
R	6	2	75,0	C	5	3	62,5
T	6	2	75,0	J	5	3	62,5
V	6	2	75,0	N	5	3	62,5
M	7	1	87,5	V	5	3	62,5
Q	7	1	87,5	E	6	2	75,0

En los cuadros 21 y 22 se presentan el número de respuestas incorrectas separadas por parámetro, tanto en agua como en vino. En el Cuadro 21 se observan niveles similares de respuestas incorrectas tanto para amargo como para astringencia, mientras que en el Cuadro 22, se observa un mayor número de respuestas incorrectas para astringencia.

Cuadro 21. Respuestas incorrectas Test 2-AFC modificado separadas por parámetro en agua.

Parámetro	Evaluadores																
	A	B	C	D	E	F	I	J	L	M	N	P	Q	R	T	V	X
Amargor	2	2	2	1	2	1	0	0	1	0	1	3 ¹	1	1	1	0	2
Astringencia	1	0	1	1	0	2	2	2	1	1	1	4 ¹	0	1	1	2	2

1/Más de 50% de respuestas incorrectas

Cuadro 22. Respuestas incorrectas Test 2-AFC modificado separadas por parámetro en vino.

Parámetro	Evaluadores																
	A	B	C	D	E	F	I	J	L	M	N	P	Q	R	T	V	X
Amargor	3 ¹	3 ¹	1	2	0	2	2	3 ¹	3 ¹	1	0	3 ¹	1	3 ¹	0	1	3 ¹
Astringencia	3 ¹	1	2	2	2	3 ¹	2	0	2	3 ¹	3 ¹	2	3	3 ¹	4 ¹	2	2

1/Más de 50% de respuestas incorrectas

Test Pareado 2-AFC (Alternative Forced Choice)

Para este test se presentaron 10 pares de muestras y se solicitó a los evaluadores en una primera instancia determinar si las dos muestras de cada par eran iguales o eran diferentes (a la mitad de las muestras se adicionó $0,4 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de cafeína y a la otra mitad $1,0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de alumbre). En el Cuadro 23 se observan los porcentajes de respuestas correctas. Se consideró un mínimo de 50% de respuestas correctas como discriminante. En este test se logró determinar que 10 de los 17 evaluadores que hicieron el test son discriminantes para ambos parámetros.

Cuadro 23. Porcentaje de respuestas correctas Test Pareado 2-AFC.

Evaluador	Respuestas Correctas
L	90
M, N	80
A, C, F	70
E, I, P	60
J	50
D, R, T, U	40
X	30
Q	20
B	10

Utilizando las mismas muestras del Test Pareado 2-AFC, en una segunda parte (Test Pareado Direccional) se les solicitó a los evaluadores que determinaran cuales eran las diferencias entre cada uno de los pares entregados (amargo o astringente). En el Cuadro 24 se puede observar, que el evaluador A fue capaz de reconocer el parámetro amargo con el mayor grado de certeza, esto es con un 80% de respuestas correctas. Los evaluadores I e M

reconocieron el gusto amargo con 60% de respuestas correctas y el evaluador N con un 50%. Existen 12 evaluadores que no alcanzan un mínimo de 50% de respuestas correctas para el parámetro de gusto amargo.

Para el parámetro astringencia, el evaluador N, lo reconoció con un 80% de respuestas correctas, mientras que el evaluador M reconoció con un 70%. Los evaluadores A, F, y L reconocieron las muestras astringentes con 60% de respuestas correctas y el evaluador D con un 50%. Para este parámetro existen 10 evaluadores que no fueron capaces de reconocer las muestras astringentes en cada uno de los pares evaluados al no llegar a reconocer un mínimo de 50% de respuestas correctas.

Cuadro 24. Resultados Test Pareado Direccional.

Amargo (0,4 g·L⁻¹ cafeína)				Astringente (1,5 g·L⁻¹ alumbre de Potasio)			
Evaluador	Buenas	Malas	% de Acierto	Evaluador	Buenas	Malas	% de Acierto
P	0	10	0	C	2	8	20
F	1	9	10	P	2	8	20
Q	1	9	10	E	3	7	30
D	2	8	20	I	3	7	30
E	2	8	20	Q	3	7	30
J	2	8	20	R	3	7	30
R	2	8	20	T	3	7	30
T	2	8	20	X	3	7	30
C	3	7	30	B	4	6	40
X	3	7	30	J	4	6	40
B	4	6	40	D	5	5	50
L	4	6	40	A	6	4	60
N	5	5	50	F	6	4	60
I	6	4	60	L	6	4	60
M	6	4	60	M	7	3	70
A	8	2	80	N	8	2	80

Selección final de evaluadores

Para la selección final de los evaluadores que pasarían a formar el panel definitivo, se seleccionaron aquellos tests que por sus características y resultados lograron ser más efectivos en revelar las capacidades sensoriales de los evaluadores. De todos los tests realizados durante la etapa de entrenamiento, el análisis global se hizo a partir de los siguientes:

- Sulfato de Quinina en Agua (Amargor)
- Sulfato de Quinina en Vino Seco (Amargor)
- Cafeína en Vino Seco (Amargor)
- Alumbre en Agua (Astringencia)
- Alumbre en Vino Seco (Astringencia)

- Test Pareado 2-AFC modificado en Agua y Vino (Astringencia y Amargor)
- Test Pareado 2-AFC y Test Direccional en Vino (Astringencia y Amargor)
- Test Memoria Sensorial en Vino (Astringencia y Amargor)
- Test Señal/Ruido (Astringencia y Amargor)

Para determinar qué evaluadores pasarían a formar parte del panel definitivo, los tests seleccionados fueron agrupados de acuerdo al tipo de parámetro evaluado (amargor o astringencia). Luego se analizaron los resultados del Cuadro 25, en el cual se indica el porcentaje de respuestas correctas de los tests que evaluaban gusto amargo, los que evaluaban el parámetro de astringencia y los tests que medían la capacidad discriminatoria de ambos parámetros de cada evaluador (2-AFC y Memoria Sensorial).

Cuadro 25. Evaluación final por parámetro (Porcentaje de Tests Sensoriales Correctos)

Parámetro	Evaluadores																			
	A	B	C	D	E	F	G	I	J	K	L	M	N	P	Q	R	T	V	X	
Amargor	63	50	63	57	63	63	13	63	63	25	63	63	50	50	25	57	63	57	43	
Astringencia	71	71	71	86	50	71	25	57	86	67	71	29	71	29	43	57	29	67	29	
Discriminación	70	10	70	40	60	70	A	60	50	A	90	80	80	60	20	40	40	A	30	

A: ausente

De acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación final por parámetro y al poder de discriminación, quedaron eliminados los evaluadores G, Q y X por presentar niveles de discriminación bajo un 50% como también de los parámetros de astringencia y de gusto amargo. El panel definitivo quedó conformado por los evaluadores A, B, C, D, E, F, I, J, K, L, M, N, P, R, T, y V.

Los evaluadores que pasaron a formar parte del panel definitivo, fueron a su vez seleccionados según su desempeño para evaluar amargor o astringencia, ya que no todos poseían la habilidad para evaluar ambos parámetros. Para el parámetro amargo, fueron seleccionados los evaluadores A, B, C, D, E, F, I, J, L, M, N, P, R, T y V (nueve mujeres y seis hombres), mientras que los evaluadores seleccionados para evaluar el parámetro de astringencia fueron A, B, C, D, E, F, I, J, K, L, N, R y V (ocho mujeres y cinco hombres).

Análisis Químico y Sensorial de Extractos de Semillas de Carmenère

Finalizada la etapa de entrenamiento, los evaluadores seleccionados analizaron sensorialmente en los parámetros de amargor y astringencia, cuatro muestras de extracto de semillas de uvas de la variedad Carmenère cosechadas en diferentes fechas.

A continuación se presentan en el Cuadro 26 los análisis de la composición fenólica e índice de etanol y gelatina para dichas muestras. En forma adicional en el Cuadro 27 se

presentan los resultados de la composición fenólica pormenorizada realizados por cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a un detector de fotodiodos alineados (HPLC-DAD).

Cuadro 26. Análisis de la composición fenólica e índices de etanol y gelatina de muestras de semillas del cv. Carmenère cosechadas en cuatro fechas.

Análisis/Fecha Muestra	25 Marzo	7 Abril	16 Abril	6 Mayo
Fenoles Totales ¹	3.199	2.380	2.703	2.388
Taninos Totales ²	6.638	5.364	5.448	5.089
Índice Gelatina ³	56,90	34,88	48,37	48,52
Índice Etanol ⁴	13,55	18,15	14,00	10,64
DMACH ⁵	65,14	59,05	57,32	43,51
DMACH ⁶	33,58	24,79	24,30	17,30

¹/mg·Kg⁻¹ semilla en equivalente de ácido gálico (EAG).

²/ mg·Kg⁻¹ semilla en equivalente de (+)-catequina.

³/Porcentaje (%)

⁴/Porcentaje (%)

⁵/Porcentaje (%) IGPT.

⁶/mg (+)-catequina/g semilla.

Es posible apreciar en el Cuadro 26, una tendencia hacia la disminución de los fenoles y taninos totales durante la maduración, debido una oxidación por acción de ciertos radicales libres (Kennedy *et al.*, 2000), lo que se comprueba observando el pardeamiento de las semillas en las diferentes fechas de cosecha (figuras 2 a 5). En el tercer muestreo se observa un leve aumento en las concentraciones, lo que coincide con un descenso en el peso de las semillas, lo que provocaría un aumento en la concentración de fenoles, para luego disminuir hacia la fecha de cosecha determinada por los enólogos.

El índice de taninos poco polimerizados (DMACH), estima el grado de polimerización de los taninos presentes en la muestra y permite cuantificar taninos poco polimerizados de forma selectiva. Se realiza mediante el método del aldehído *p*-dimetilaminocinamaldehído (DMACH) (Vivas *et al.*, 1994). Tiene directa relación con la sensación de astringencia en las uvas y el vino (Flanzy, 2000). A medida que la baya madura, monómeros y oligómeros de procianidinas se van polimerizando, produciendo una disminución de la astringencia (Flanzy, 2000). En los resultados obtenidos es posible observar en el Cuadro 26 una tendencia hacia la disminución de los taninos poco polimerizados a medida que las bayas maduran hasta llegar a un mínimo en la fecha de cosecha.

El índice de gelatina se considera un reflejo de la astringencia presente en el vino. Expresa el porcentaje de taninos capaces de reaccionar con las proteínas, es decir, el porcentaje de taninos astringentes (Zamora, 2003), lo que implica que mientras más elevado sea, (superior a 50%), más astringente es el extracto. Es posible observar en el Cuadro 26, que el índice de gelatina disminuye entre la primera y segunda fecha de cosecha para luego aumentar y estabilizarse en torno a 48%, lo que sería el límite de un porcentaje de astringencia alto para el autor antes mencionado.

En el índice de etanol, los pigmentos combinados a las sales y a los polisacáridos son precipitados por exceso de etanol, indicando valores mayores, una menor reactividad de los taninos. La medición antes y después de la precipitación, determina un índice de estas sustancias (Glories, 1978). En las muestras analizadas se observa en el Cuadro 26 un aumento hacia el segundo muestreo, para luego presentar una disminución hasta la fecha final de cosecha.

Como una forma de apreciar visualmente, se fotografiaron las semillas de cada una de las cuatro fechas mencionadas, pudiendo observarse una disminución de la coloración verde y un aumento de la coloración parda en la medida que se posterga la fecha de cosecha.



Figura 2. Cosecha 25 de marzo.



Figura 3. Cosecha 7 de abril.



Figura 4. Cosecha 16 de abril.



Figura 5. Cosecha 6 mayo.

Evolución de compuestos fenólicos de bajo peso molecular en semillas

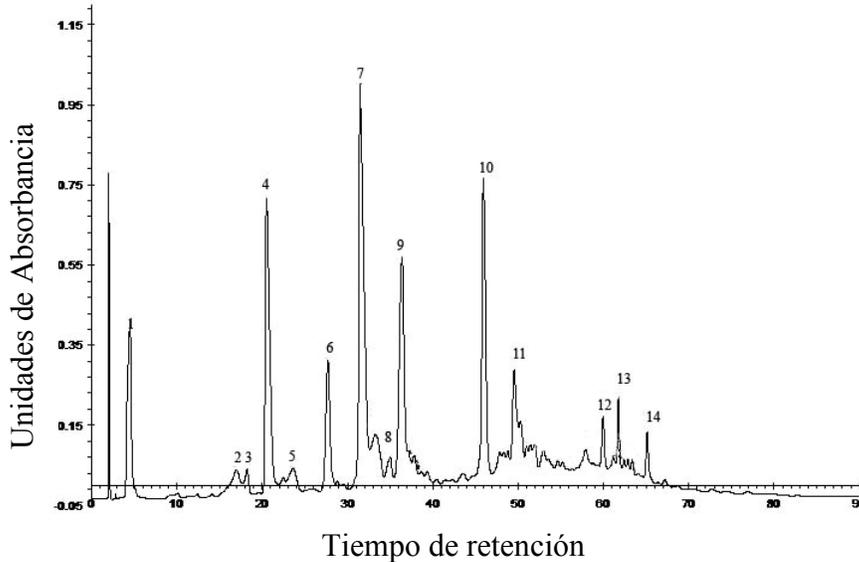


Figura 6. Cromatograma (280nm) de fenoles de bajo peso molecular en extractos de semillas de Carmenère.

En la Figura 6 se observa un cromatograma tipo de extracto de semillas de Carménère, en el cual se detallan los compuestos identificados ordenados de acuerdo a su tiempo de retención. (1) ácido gálico, (2) procianidina B3, (3) procianidina B1, (4) (+)-catequina, (5) procianidina B4, (6) procianidina B2, (7) (-)-epicatequina (8) galato dímero de procianidina (9) procianidina trímero C1, (10) epicatequina-3-*O*-galato, (11) procianidina B5, (12) procianidina 1, (13) procianidina 2, (14) procianidina 3.

El comportamiento en la evolución de los compuestos de las semillas observado en el Cuadro 27, durante la maduración, es similar al que han observado para semillas de la variedad Carmenère, Cabernet Sauvignon, Pinot Noir y Syrah, Cárdenas (2006) y Sepúlveda (2003).

Cuadro 27. Concentración de compuestos fenólicos de baja masa molecular en semillas del cv. Carmenère, durante el período de muestreo de las bayas.

Compuesto/Fecha Muestra	25 Marzo	7 Abril	16 Abril	6 Mayo
	mg·Kg ⁻¹			
<i>Ácido gálico y galatos</i>				
Ácido gálico	86,79	40,01	60,84	71,26
Galato dímero de procianidina	40,36	9,04	35,77	42,04

(continúa)

Cuadro 27 (continuación)

Compuesto/Fecha Muestra	25 Marzo	7 Abril	16 Abril	6 Mayo
	mg·Kg ⁻¹			
Epicatequina-3- <i>O</i> -galato	600,85	232,19	337,68	254,91
Procianidina galato trímero	113,72	117,24	60,52	153,77
Total	841,72	398,48	494,81	521,98
Monómeros				
(+)-Catequina	696,00	173,23	376,22	396,40
(-)-Epicatequina	1008,71	366,16	788,88	623,31
Total	1704,71	539,39	1165,1	1019,71
Procianidinas dímeros y trímeros				
Procianidina B1	29,5	13,62	45,85	68,23
Procianidina B2	268,5	177,09	218,26	237,01
Procianidina B3	56,02	23,55	42,19	60,84
Procianidina B4	56,25	23,61	73,68	91,44
Procianidina trímero	492,46	217,28	349,91	329,31
Procianidina 1	60,56	31,82	44,46	42,8
Procianidina 2	57,17	26,75	38,73	41,19
Procianidina 3	56,43	25,52	38,70	44,88
Total	1076,89	539,24	851,78	915,7

En la Figura 7 se observa que la suma de (+)-catequina y (-)-epicatequina fue mayor en la primera y tercera fecha de cosecha. Según Vidal *et al.* (2002), estos compuestos fenólicos tienen una participación sensorial importante en la sensación de amargor y de astringencia.

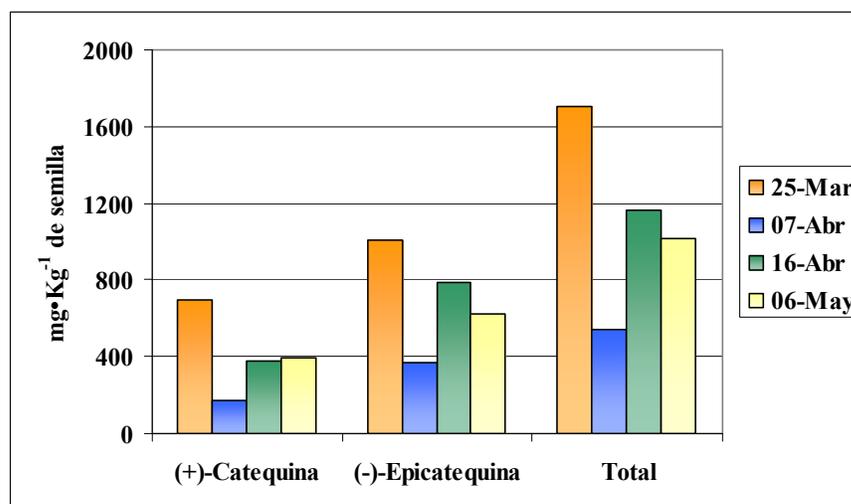


Figura 7. (+)-catequina, (-)-epicatequina presentes en semillas de Carmenère.

En la Figura 8, se puede observar la evolución de compuestos fenólicos de baja masa molecular como el ácido gálico y galatos presentes en semillas de Carmenère.

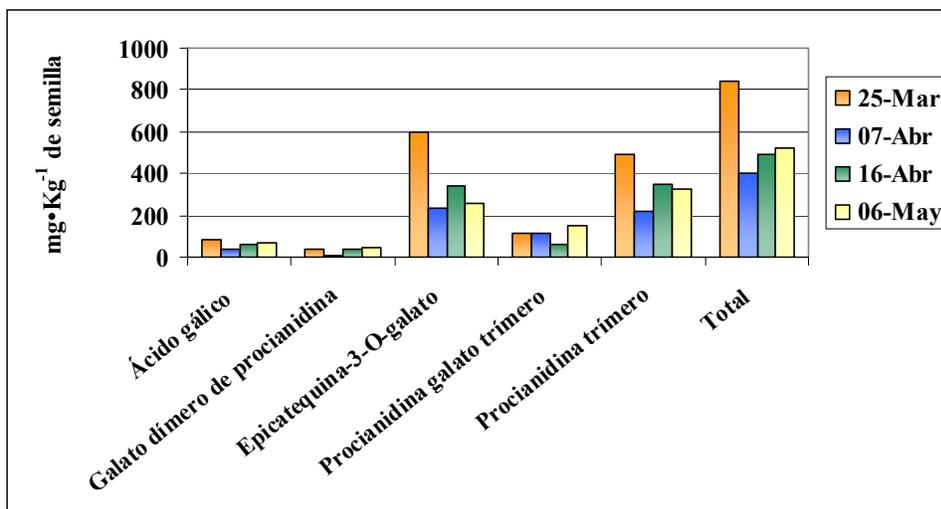


Figura 8. Ácido gálico y galatos presentes en semillas de Carmenère.

Análisis Sensorial para Astringencia y Amargor

De acuerdo al análisis sensorial realizado a extractos de semillas del cv. Carmenère en cuatro fechas de cosecha, en la Figura 9 se puede observar que el panel encontró una mayor intensidad promedio en la primera y tercera fecha de cosecha tanto para astringencia como para amargor.

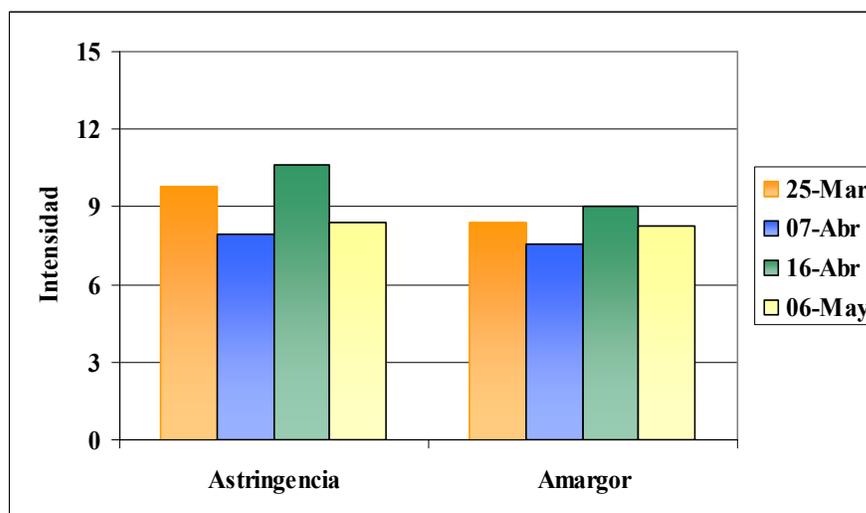


Figura 9. Promedio de intensidad para astringencia y amargor.

Aunque la magnitud de las diferencias sensoriales para amargor y astringencia en las cuatro fechas de cosecha, no fue estadísticamente significativa para un $\alpha=0,05$ (Apéndice IV), se observa una tendencia similar de los resultados sensoriales respecto de los análisis químicos efectuados a las semillas con las cuales se hicieron los extractos. Estos cuatro extractos presentaban una concentración equivalente de fenoles totales correspondiente a $430 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EAG. Es importante consignar que la concentración media de fenoles totales de un vino tinto es de aproximadamente $1500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ EAG (Zoecklein *et al.*, 2001) y que la metodología de extracción para el análisis químico de polifenoles fue diferente de la utilizada para el análisis sensorial (Apéndice III), aún cuando las semillas sobre las que se hicieron ambos tipos de extracción fueron las mismas.

En la Figura 10 se puede observar el resultado del análisis químico de fenoles y taninos totales presentes en semillas de Carmenère en cada una de las cuatro fechas de cosecha.

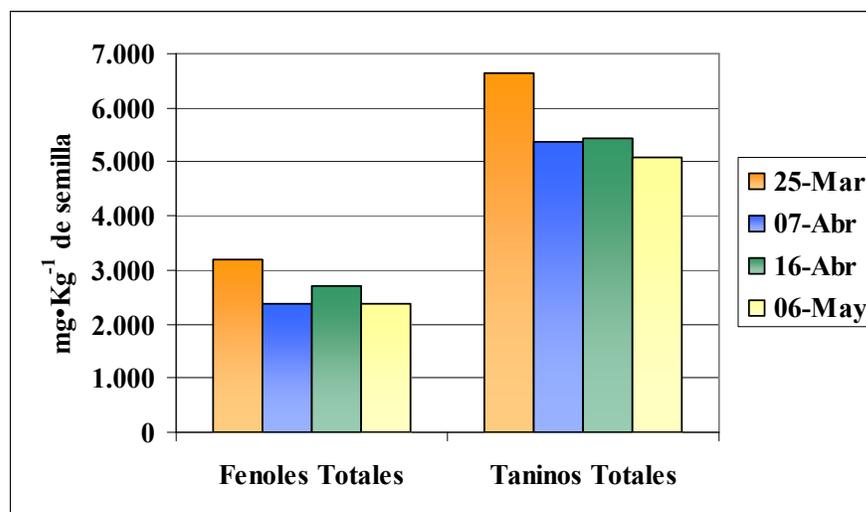


Figura 10. Fenoles y taninos totales presentes en semillas de Carmenère.

Resulta interesante observar en el Cuadro 26, que entre la primera y última fecha de cosecha se produjo una disminución de un 23,3% en el valor de taninos totales, y que entre la primera y segunda fecha se observó una caída de 38,7% en el índice de gelatina, este último con valores por debajo a los considerados como de una astringencia alta por la literatura (sobre 50%; Zamora, 2003). Sin embargo, el panel fue capaz de diferenciar la tercera fecha (16 de abril) con una mayor astringencia y amargor aún cuando la segunda y cuarta fecha de muestreo presentan valores similares de fenoles y taninos totales.

En forma práctica muchos enólogos y vitivinicultores en el campo realizan una degustación directa de las semillas para determinar el momento óptimo de cosecha con destrucción de sus estructuras en la boca por masticación, por lo que perciben directamente la sensación de astringencia o gusto amargo. Dados los resultados obtenidos y la subjetividad de un evaluador que no ha sido entrenado en los parámetros de amargor y astringencia, resulta

algo dudoso el que necesariamente con este parámetro, salvo que se presenten diferencias más extremas en los cambios de composición fenólica, se pueda de manera objetiva, tener certeza de elegir el mejor momento para cosechar.

Por otra parte, se debe consignar que en cultivares más precoces en su cosecha como Cabernet Sauvignon, Merlot y Syrah, los cambios de composición fenólica de las semillas suelen ser más notorios (Errázuriz 2003, Sepúlveda 2003 y Cárdenas 2006), pudiendo en dichos casos tal vez ser una herramienta útil la degustación de las semillas como forma de determinar el momento óptimo de cosecha.

CONCLUSIONES

Se logró formar un panel entrenado, especializado en amargor y astringencia en vino tinto con 16 de los 19 evaluadores que completaron la etapa de entrenamiento. Se seleccionaron 15 personas para amargor y 13 para astringencia.

El medio de disolución de los compuestos amargos y astringentes afecta su nivel de percepción, observándose un mayor nivel de reconocimiento en soluciones acuosas que en vino tinto.

El tipo de compuesto amargo, influye en su nivel de reconocimiento, observándose un mayor nivel de percepción en cafeína que para sulfato de quinina.

El número de muestras afecta la percepción del gusto amargo y de astringencia, observándose un aumento del reconocimiento de ambos, al disminuir el número de muestras evaluadas por debajo de seis.

Existe coincidencia, entre los niveles de compuestos fenólicos en semillas de bayas del cv. Carmenère de diferente grado de maduración y las sensaciones de astringencia y amargor de extractos, percibida por un panel entrenado.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, D. and J. Harbertson. 1999. Use of alkaline phosphatase for the análisis of tannins in grapes and red wines. *American Journal of Enology and Viticulture* 50: 247-252.
- Adler, E., M. Hoon, L. Mueller, J. Chandrashekar, N. Ryba, and C. Zuker. 2000. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* 100: 693-702.
- Amerine, M., R. Pangborn, and E. Roesler. 1965. Principles of sensory evaluation of food. Ed. Academic Press, New York, EEUU. 602p.
- Araya, E. 2006. Guía de Laboratorio. Evaluación Sensorial de Alimentos. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 81p.
- Arnold, R., A. Noble, and V. Singleton. 1980. Bitterness and astringency of phenolic fractions in wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 28: 675-678.
- Bartoshuk, L. 1993. The Biological basis of food perception and food acceptance. *Food Quality Preferentes* 4: 21-32.
- Bate-Smith, E. 1981. Astringent tannins of the leaves of *Geranium* species. *Phytochemistry* 20: 211-216.
- Bate-Smith, E. and T. Swain. 1962. Flavonoids compounds. pp. 755-809. *In*: Mason, H. and A. Florkin. *Comparative Biochemistry*. Ed. Academic Press, New York, EEUU.
- Belitz, H. and H. Wieser. 1985. Bitter Compounds: occurrence and structure-activity relationships. *Food Reviews Internacional* 1: 271-274.
- Brieskorn, C. 1990. Physiological and therapeutical aspects of bitter compounds. pp. 15-34. *In*: Rouseff R. *Bitterness in foods and beverages; developments in food science*. Ed. Elsevier, New York, EEUU. 356p.
- Burns, D. and A. Noble. 1985. Evaluation of the separate contribution of viscosity and sweetness of sucrose to perceived viscosity, sweetness and bitterness of vermouth. *Journal of Texture Studies* 16: 365-381.
- Cárdenas, G. 2006. Efecto de dos niveles de carga sobre la composición fenólica de semillas de las variedades Pinot Noir, Syrah y Carmenère durante su maduración en el valle del Maipo. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 68p.

Chandrashekar, J., L. Mueller, and M. Hoon. 2000. T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* 100: 703-711.

Charlton, A., A. Baxter, L. Khan, A. Moir, E. Haslam, A. Davies, and P. Williamson. 2002. Polyphenol/peptide binding and precipitation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1593-1601.

Courregelongue, S., P. Schlich, and A. Noble. 1999. Using repeated ingestion to determine the effect of sweetness, viscosity and oiliness on temporal perception of soymilk astringency. *Food Quality and Preference* 10: 273-279.

Cross, H., R. Moen, and M. Stanfield. 1978. Training and testing of judges for sensory analysis of meat quality. *Food Technology* 37: 48-54.

Czochanska, Z., L. Foo, and L. Porter. 1979. Compositional changes in lower molecular weight flavans during maturation. *Phytochemistry* 18: 1819-1822.

Drewnowski, A. and C. Gómez-Careros. 2000. Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *American Journal of Clinical Nutrition* 72: 1424-1435.

Errázuriz, S. 2003. Caracterización de la composición fenólica de las bayas del cv. Merlot provenientes de dos zonas de los valles Maipo y Cachapoal. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 87p.

Fellmann, P. 1985. Formación de un panel de degustación universal. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 100p.

Fisher, U. 1990. The influence of ethanol, pH and phenolics composition on the temporal perception of bitterness and astringency, and parotid salivation. MS thesis. University of California, Davis.

Fisher, U. and A. Noble. 1994. The effect of ethanol, catechin concentration, and pH on sourness and bitterness of wine. *American Journal of Enology and Viticulture* 45: 6-10.

Flanzy, C. 2000. *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 782p.

Fortin, J. y C. Desplancke. 2001. *Guía de Selección y Entrenamiento de un Panel de Catadores*. Ed. Acirbia, Zaragoza, España. 99p.

García-Barceló, J. 1990. *Técnicas analíticas para vinos*. Ed. Gab, Barcelona, España. 300p.

Glanz, K., M. Basil, E. Maibach, J. Goldberg, and D. Snyder. 1998. Why americans eat what they do: taste, nutrition cost, convenience and weight control concerns as influences

on food consumption. *Journal of the American Dietetic Association* 98: 1118-1126.

Glories, Y. 1978. Recherches sur la matière colorantes des vins rouges. Thèse doctorat d'état, Université de Bordeaux II. 364 p.

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

Jellinek, G. 1985. *Sensory evaluation of foods: theory and practice*. Ed. Ellis Horwood, Chichester, England. 429p.

Jöbstl, E., J. O'Connell, P. Fairclough, and M. Williamson. 2004. Molecular model for astringency produced by polyphenol/proteins interactions. *Biomacromolecules* 5: 942-949.

Kallithraka, S., J. Bakker, and M. Clifford. 1997a. Red wine and model wine astringency as affected by malic and lactic acid. *Journal of Food Science* 62: 416-420.

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

Kennedy, J., G. Troup, J. Pilbrow, D. Hutton, D. Hewitt, C. Hunter, R. Ristic, P. Iland, and G. Jones. 2000. Development of seed polyphenols in berries from *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6: 244-254.

Kinnamon, S. 1988. Taste transduction: A diversity of mechanisms. *Trends in Neurosciences* 11: 491-496.

Kumazawa, T., T. Nombra, and K. Kurihara. 1988. Liposomes as a model for taste cells: receptor sites for bitter substances including N-C=S substances and mechanism of membrane potential changes. *Biochemistry* 27: 1239-1244.

Lea, A. and G. Arnold. 1978. The phenolics of ciders: bitterness and astringency. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 29: 478-483.

Lea, A. 1990. Bitterness and astringency, the procyanidins of fermented apple ciders. pp. 123-143, *In*: Rouseff R. *Bitterness in foods and beverages; developments in food science*. Ed. Elsevier, New York, EEUU. 356p.

Lee, C. and H. Lawless. 1991. Time-course of astringent sensations. *Chemical Sences* 16: 225-238.

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

- Lyman, B. and B. Green. 1990. Oral astringency: effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. *Chemical Senses* 15: 151-64.
- Martin, J. and T. Jessel. 1991. Modality coding in the somatic sensory system. pp. 341-352. *In: Kandel, E., J. Schwartz, and T. Jessel. Principles of Neural Sciences. 3rd ed. Elsevier, New York, EEUU. 1135p.*
- Mc Burney, D. 1978. Psychological dimensions and perceptual analyses of taste. *In: Carterette, E. and M. Friedman. Handbook of perception: tasting and smelling. Vol. 6A. Ed. Academic Press, New York, EEUU. 477p.*
- Mc Manus, J., K. Davis, T. Lilley, and E. Haslam. 1981. The association of proteins with polyphenols. *Journal of the Chemical Society-Chemical Communications* 7: 309-311.
- Naim, M., R. Seifert, B. Nürnberg, L. Grünbaum, and G. Schultz. 1994. Some taste substances are direct activators of G-proteins. *Journal of Biochemistry* 297: 451-454.
- Noble, A. 1994. Bitterness in wine. *Physiology & Behavior* 56: 1251-1255.
- Noble, A. 1998. Why do wines taste bitter and feel astringent? pp. 156-165. *In: Waterhouse, A. and S. Ebeler. Chemistry of wine flavor. Ed. American Chemical Society, Washington D.C., EEUU. 245p.*
- Noble, A. 2002. Astringency and bitterness of flavonoid phenols. pp. 192-199. *In: Given P. and D. Paredes. Chemistry of taste mechanisms, behaviors and mimics. Ed. American Chemical Society. Washington, D.C., EEUU. 376p.*
- Page, E. 1963. Test for Linear Ranks. *Journal of the American Statistical Association* 58: 216-230.
- Peleg H., K. Bodine, and A. Noble. 1998. Effects of acids on astringency: alum vs phenolics compounds. *Chemical Senses* 23: 371-378.
- Peleg, H., K. Gacon, P. Schlich, and A. Noble. 1999a. Bitterness and astringency of flavan-3-ol monomers, dimmers and trimmers. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 1123-1128.
- Peleg, H. and Noble A. 1999b. Effect of viscosity, temperature and pH on astringency in cranberry juice. *Food Quality and Preference* 10: 343-347.
- Piretti, M., M. Ghedini, and G. Serrazanetti. 1976. Isolation and identification of the polyphenolics and terpenoids constituents of *vitis vinífera*. Trebbiano variety. *Phytochemistry* 36: 781-784.
- Robichaud, J. and A. Noble. 1990. Astringency and bitterness of selected phenolics in

wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 53: 343-353.

Salisbury, F. and C. Ross. 1992. *Plant Physiology*. 4^{ta} Ed. Iberoamérica. México D.F., México. 759p.

Sepúlveda, C. 2003. Caracterización de la composición fenólica de las bayas del cv. Cabernet Sauvignon provenientes de dos zonas en los valles del Maipo y Cachapoal. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 80p.

Schlich, P. 1993. Répétabilité d'un dégustateur de vin, homogénéité du jury, et rapport Signal-Bruit. INRA-DIJON, publication interne.

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

Thorngate, J. 1993. Flavan-3-ol and their polymers: analytical techniques and sensory considerations. pp. 57-63. *In*: Gump, B. and D. Pruett. *Beer and Wine Production: Characterization, Analysis and Technical Advances*. Ed. American Chemical Society, Washington D.C., EEUU. 275p.

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

Une 87-006. 1992. *Análisis Sensorial. Metodología. Prueba Triangular*. Ed. Aenor, Madrid, España 10p.

Une 87-024-1. 1995. *Análisis Sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y control de jueces*. Ed. Aenor, Madrid, España. 28p.

Ureña, O. y D'arrigo M. 1999. *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Ed. Universidad Agraria La Molina, Lima, Perú. 197p.

Venencie, C., M. Uveira, et S. Guet. 1997. Maturité polyphénolique du raisin mise en place d' une methode d' analyse de routine. *Revue francise d'oenologie* 167: 36-41.

Vidal, S., D. Cartalade, J. Souquet, H. Fulcrand, and V. Cheynier. 2002. Changes in proanthocyanidin chain length in winelike model solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2261-2266.

Vidal, S., F. Leigh, P. Williams, M. Kwiatkowski, R. Gawel, V. Cheynier, and E. Waters. 2004. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. *Food Chemistry* 85: 519-525.

Vivas, N., Y. Glories, L. Lagune, C. Saucier et M. Augustin. 1994. Estimation du degré de polymérisation des procynidines du raisin et du vin par la méthode au p-diméthylaminocinnamaldéhyde. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 28: 319-336.

Wittig, E. 1981. *Evaluación Sensorial; una metodología actual para tecnología de alimentos*. Ed. Santiago Talleres Gráficos USACH, Santiago, Chile. 134p.

Zamora, F. 2003. *Elaboración y Crianza de Vino Tinto*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid, España. 225p.

Zoecklein, B., K. Fugelsang, B. Gump, and F. Nury. 2001. *Análisis y Producción de Vino*. Ed. Acribia, Zaragoza, España. 612p.

APÉNDICE I Calendario de Entrenamiento (2005)

Nombre del Test	Fecha
Test Estímulos Constantes Cafeína y encuesta	Jueves 14 Abril
Test Estímulos Constantes Cafeína	Jueves 28 Abril
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Jueves 12 Mayo
Test Estímulos Constantes Sulfato Quinina	Martes 17 Mayo
Test PTC	
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Ranking Alumbre en Agua	Jueves 19 Mayo
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Martes 24 Mayo
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Jueves 26 Mayo
Test Ranking Alumbre en Agua	
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Martes 31 Mayo
Test Ranking Sulfato Quinina en Agua	
Triangular Simple	
Test Ranking Sulfato Quinina Vino Dulce	Jueves 2 Junio
Test Ranking Alumbre en Vino Dulce	
Soluciones Estándares Alumbre Sulfato Quinina en Agua	
Soluciones Estándares Alumbre Sulfato Quinina en Vino	Martes 7 Junio
Test Memoria Sensorial	
Test Ranking Alumbre en Vino Seco	Jueves 9 Junio
Test Ranking Chocolate Amargo	
Test Ranking Sulfato Quinina Vino Seco	Martes 14 Junio
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Jueves 16 Junio
Test Ranking Sulfato Quinina Vino Seco (pasos grandes)	
Test Ranking Alumbre en Vino Seco (pasos grandes)	Martes 21 Junio
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Ranking Cafeína en Vino Seco	Jueves 23 Junio
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Pareado 2-AFC (modificado) Agua y Vino	Martes 28 Junio
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Ranking Cafeína en Vino Dulce	Martes 5 Julio
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Ranking Alumbre en Vino Dulce	Jueves 7 Julio
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	
Test Pareado 2-AFC Direccional	Martes 12 Julio
Test Pareado 2-AFC Direccional	
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Martes 19 Julio
Test Final Taninos en Solución Hidroalcohólica Parte I	
Test Final Taninos en Solución Hidroalcohólica Parte II	Jueves 11 Agosto
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Martes 16 Agosto
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Jueves 19 Agosto
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Martes 23 Agosto
Test Triangular 3-AFC para umbral de cafeína	Viernes 2 Septiembre

APÉNDICE II Encuesta de Caracterización de Evaluadores

Nombre: _____ Fecha: _____
 Género: Masculino ___ Femenino ___ Edad: ___ años
 Nivel de Estudios: ___: Primarios ___: Secundarios ___: Superiores Actividad: _____

Hábitos de Consumo

Fuma: Si ___ No ___ Hace cuanto: ___ años N° de cigarrillos por día: ___
 ¿Tiene intención de dejar de fumar? ___: Si ___: No
 Té: Si ___ No: ___ Tazas al día: ___ Café: Si ___ No: ___ Tazas al día: ___
 Azúcar: Si ___ No: ___ Número de cucharadas por taza: ___ Edulcorantes Artificiales: Si ___ No: ___
 Bebidas Alcohólicas: Si: ___ No: ___ Vino: ___ Cerveza: ___ Licores: ___
 Aliños o Salsas Pungentes: Si: ___ No: ___

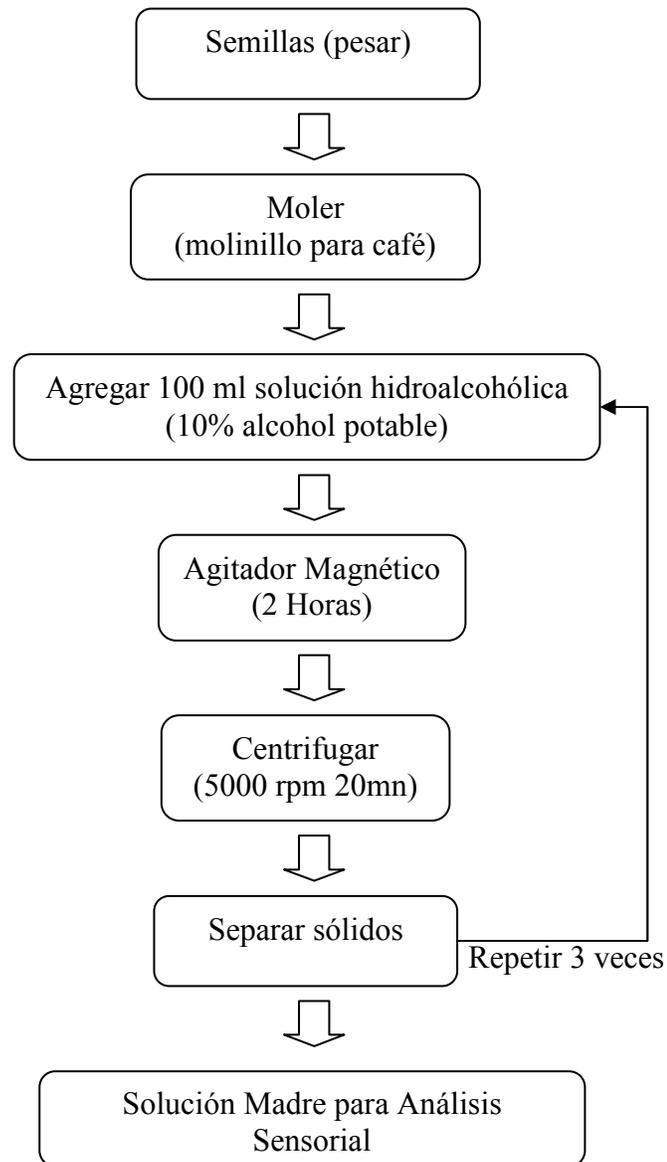
Información Médica

Alergias: Si: ___ No: ___ Alergeno: _____
 Resfrío Crónico: Si: ___ No: ___ Sinusitis: Si: ___ No: ___
 Afecciones Bucales: Si: ___ No: ___ Caries: Si: ___ No: ___
 Infección en papilas: Si: ___ No: ___
 Ulceras: Si: ___ No: ___ Asma: Si: ___ No: ___ Bronquitis: Si: ___ No: ___
 Ingiere Medicamentos: Si ___ No: ___ Diariamente: Si ___ No: ___ Esporádicamente: Si ___ No: ___
 Jarabe: ___ Cápsulas: ___ Comprimidos: ___ Hace Dietas: Si: ___ No: ___ Esporádica: Si ___ No: ___

Información General

Numero de años participando en análisis sensorial: ___ años
 ¿Ha evaluado sensorialmente vino con anterioridad? Si: ___ No: ___
 ¿Por qué desea formar parte de un jurado de análisis sensorial?
 ___ Por gusto en productos nuevos, por curiosidad
 ___ Por interés en la investigación y lo relacionado con la ciencia
 ___ Por interés en el análisis sensorial
 ___ Para relacionarse con otras personas
 ___ Por la remuneración
 ___ Para llenar una parte del tiempo libre
 ¿Considera que este trabajo puede ser importante para mejorar la calidad del vino en Chile y su comercio internacional? Si ___ No: ___
 ¿Le desagrada degustar vino tinto? Si ___ No: ___
 ¿Cual es su hábito de consumo de vino tinto? ___: Diario ___: Semanal ___: Mensual

APÉNDICE III Metodología de Extracción de Polifenoles para Análisis Sensorial de Semillas de Carmenère. (Adaptado de Venencie *et al.*, 1997)



APÉNDICE IV Análisis de Varianza para Astringencia y Amargor en Extractos de Semilla de Carmenère.

Análisis de Varianza de Astringencia

Es posible observar en el Cuadro 28, que el ANDEVA realizado para el parámetro de astringencia entrega como resultado un p-value=0,207 lo que implica que no existe diferencia significativa en astringencia entre las fechas de cosecha para un $\alpha=0,05$.

Cuadro 28. ANDEVA para astringencia.

Fuente Variación	GL	SC	CM	F	P
Fecha Cosecha	3	44,14	14,71	1,61	0,207
Evaluadores	10	268,02	26,8	2,94	0,011
Error	30	273,83	9,13		
Total	43	585,98			

Análisis de Varianza de Gusto Amargo

El análisis de varianza para gusto amargo entrega como resultado un p-value=0,733 lo que implica que no existe diferencia significativa en gusto amargo entre las fechas de cosecha para un $\alpha=0,05$ (Cuadro 29).

Cuadro 29. ANDEVA para gusto amargo.

Fuente Variación	GL	SC	CM	F	P
Fecha Cosecha	3	10,73	3,58	0,43	0,733
Evaluadores	9	376,24	41,8	5,02	0,001
Error	27	224,66	8,32		
Total	39	611,64			

ANEXO I Método de Estímulos Constantes
Determinación de los Umbrales del Gusto

Nombre:..... Fecha:.....

Deguste cuidadosamente las muestras en el orden presentado. Corresponde a un gusto determinado.

No Trague las muestras. Enjuáguese la boca con agua entre una y otra degustación.

Por favor indique su intensidad de acuerdo a la siguiente escala.

- 0= ninguno o agua pura
- ?= diferente del agua pero el gusto no es identificable.
- (= umbral, muy débil
- 1= débil
- 2= moderado
- 3= fuerte o alto o intenso
- 4= muy intenso
- 5= extremadamente intenso

Gusto:.....

Muestra N°	Intensidad	Concentración (Sólo para uso del analista)
.....
.....
.....
.....
.....
.....
.....

Interpretación de resultados

Concentración:

Intensidad:

ANEXO II Test Triangular 3-AFC

Nombre:..... Fecha:.....

Usted tiene tres muestras, dos son iguales, agua y una es diferente, de gusto **amargo**.¿Cuál es la muestra **amarga**?

Tríos

Gusto amargo

ANEXO III Test de detección de Feniltiocarbamida (PTC)

Nombre:..... Fecha:.....

Ud. Tiene en sus manos una tira de papel filtro con una muestra de PTC (amargo). Presione el filtro de papel entre su lengua y paladar y señale con una marca vertical sobre la línea punteada la intensidad percibida (0-10).

Un 40% de la población norteamericana es ciega al gusto amargo del PTC.

0-----10

Comentarios:.....

ANEXO IV Test de Sensibilidad de la Memoria

Nombre: Fecha:

1° Parte

Evalúe la muestra presentada:.....

Degústela y memorícela
Una vez memorizada devuelva la muestra
Espere 5 minutos

2° Parte

Evalúe la segunda muestra presentada e indique si es igual o diferente a la primera muestra servida.

Igual.....

Diferente.....

Si su respuesta es diferente, indique en que está la diferencia

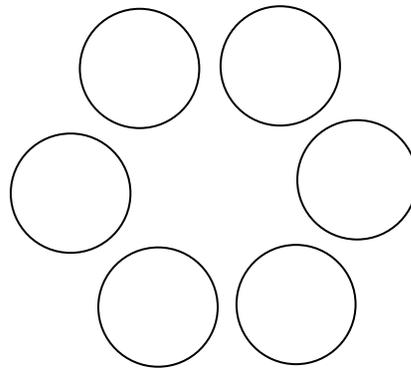
Dulzor..... Amargor..... Sabor.....

Astringencia..... Acidez.....

ANEXO V Test de Ranking con Diluciones

Nombre: Fecha:

Ordene las muestras de acuerdo a su intensidad de menor a mayor:



Orden:

Comentarios:.....

IMPORTANTE: Espere 20 segundos entre cada muestra.
Deguste los 20 ml de una sola vez.

ANEXO VI Test Triangular Simple

Nombre:..... Fecha:.....

Usted tiene tres muestras, dos son iguales y una es diferente. **¿Cuál es la diferente?**

Tríos	Diferente	Gusto o Sensación Percibida
-------	-----------	-----------------------------

.....
.....
.....

ANEXO VII Test Pareado 2-AFC (Modificado)

Nombre:..... Fecha:.....

Usted debe degustar la muestra testigo presentada y luego indicar si cada una de las cuatro muestras presentadas presenta diferencias o no en astringencia y/o amargor.

Los símbolos para responder son:

= : Para equivalencia.

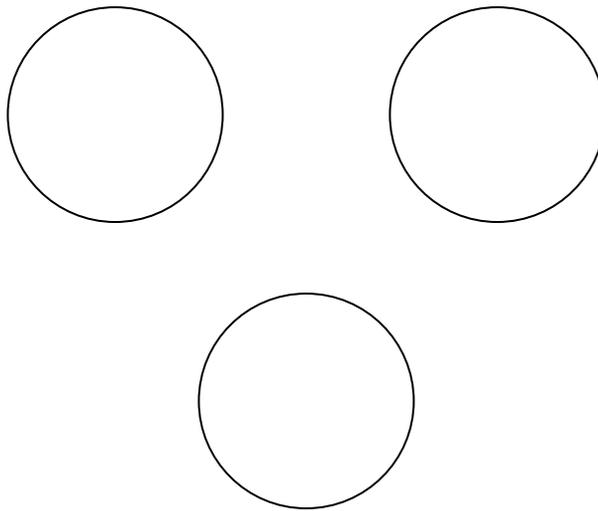
+ : Para una intensidad superior

		Muestras			
Amargo					
Astringencia					

ANEXO IX Test de Ranking Chocolate Amargo

Nombre:..... Fecha:.....

Usted tiene tres muestras de chocolate, por favor ordénelas según su amargor de menor a mayor intensidad:



Orden:

Comentarios:

ANEXO X Calidad para Astringencia y Amargor

Nombre:..... Fecha:.....

Nº muestra:.....

Usted tiene una muestra de extracto de semilla de la variedad Carmenère en un medio hidroalcohólico compuesto solamente de agua y alcohol.

Marque con una línea vertical la intensidad de cada sensación para amargor y astringencia.

IMPORTANTE:

- Esperar al menos 20 segundos entre cada muestra.
- Enjuagarse entre muestras.
- Degustar una sola vez el contenido completo de la copa.

Astringencia

0.....15

Nada

Extremadamente

Amargor

0.....15

Nada

Extremadamente

Comentarios:

.....
.....