



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DE UN TANINO COMERCIAL Y EL ESPACIO DE CABEZA SOBRE
LA TEMPORALIDAD SENSORIAL DE LA ASTRINGENCIA**

Tesis para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo y al Grado de
Magister en Enología y Vitivinicultura

JOSÉ LUIS ROMERO FLORES

Directores de Tesis
MARCELA MEDEL MARABOLÍ
ELÍAS OBREQUE SLIER

Profesores Consejeros
CARLA INGRID JARA CAMPOS
ÁLVARO IVAN PEÑA NEIRA

SANTIAGO - CHILE
2015

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFFECTO DE UN TANINO COMERCIAL Y EL ESPACIO DE CABEZA SOBRE LA
TEMPORALIDAD SENSORIAL DE LA ASTRINGENCIA**

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Título Profesional de
Ingeniero Agrónomo y al Grado de Magíster en Enología y Vitivinicultura

JOSÉ LUIS ROMERO FLORES

	Calificaciones (Memoria de Título)	Calificaciones (Tesis de Grado)
DIRECTORES DE TESIS		
Marcela Medel M. Ingeniero Agrónomo - Enólogo, Dr.	6,7	Aprobado
Elías Obreque S. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,5	Aprobado
PROFESORES CONSEJEROS		
Carla Jara C. Ingeniero Agrónomo – Enólogo, Dr.	6,5	Aprobado
Álvaro Peña N. Ingeniero Agrónomo – Enólogo, Dr.	6,7	Aprobado

Santiago, Chile
2015

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a mis padres Luis y Sylvia por ser mi apoyo fundamental durante todo este proceso, por su amor y confianza. A mi Familia Romero-Romero y Flores-Almendras, por contribuir y apoyar cada paso hasta este punto.

A Diego, Marcelo y Matías, gracias por su amistad, alegría y por acompañarme en este largo camino.

También agradecer a Alejandro, Luis, Mariana, Úrsula, Javier, Gina, Jaime, Evelyn, Cielo, Héctor, Catalina, Rubén y Anita, por su colaboración en el panel de astringencia.

A los profesores del Departamento de Agroindustria y Enología gracias por su entrega tanto de conocimientos como de experiencias de vida y profesional. En especial a Marcela Medel y Elías Obreque, por su tiempo, paciencia y motivación durante este estudio.

Finalmente, agradecer al Proyecto Fondecyt de Iniciación 11140403, quienes hicieron posible el financiamiento de este estudio.

ÍNDICE

CAPITULO I: TEMPORALIDAD SENSORIAL DE LA ASTRINGENCIA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	2
Astringencia	2
Factores que afectan la percepción de la astringencia	2
Métodos para evaluar la astringencia	4
Dominancia temporal de sensaciones (DTS)	5
Planteamiento del problema	5
LITERATURA CITADA	7
CAPITULO II: EFECTO DE UN TANINO COMERCIAL Y EL ESPACIO DE CABEZA SOBRE LA TEMPORALIDAD SENSORIAL DE LA ASTRINGENCIA	12
RESUMEN	13
PALABRAS CLAVE	13
ABSTRACT	14
KEYWORDS	14
INTRODUCCIÓN	15
HIPÓTESIS	17
OBJETIVO	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
Lugar del estudio	18
Materiales	18
Equipamiento	18
Método	18
Tratamiento y Diseño experimental	18
Preparación de soluciones modelo	19
Entrenamiento del panel sensorial.	19
Variables a medir	22
Análisis químico	22
Evaluación sensorial	22
Análisis estadístico	23
RESULTADOS	25
Entrenamiento panel sensorial	25
Umbral de detección de la astringencia del alumbre de potasio	25
Ordenamiento de intensidad	25
Validación temporal del panel	25
Perfiles de las evaluaciones finales utilizando DTS tradicional	26
Perfiles de las evaluaciones finales utilizando DTS de astringencia	28
Variables temporales de los descriptores del DTS tradicional	29
Variables temporales de los descriptores del DTS de astringencia	31
Contenido de fenoles y taninos totales	35
pH y contenido de oxígeno	36

Cuantificación de Fenoles de bajo peso molecular de soluciones vínicas modelo por HPLC-DAD	37
DISCUSIÓN	40
CONCLUSIÓN	43
BIBLIOGRAFÍA	44

CAPITULO I: TEMPORALIDAD SENSORIAL DE LA ASTRINGENCIA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Astringencia

La astringencia es una percepción asociada al consumo de comidas y bebidas ricas en taninos, que se caracteriza por una sequedad, aspereza y arrugamiento en la mucosa de la boca (Lee y Lawless, 1991). Esta sensación táctil es generada por la pérdida de lubricación de la cavidad bucal (Smith y Noble, 1998), asociada a la interacción de las proteínas salivales con algunos compuestos fenólicos, que en el caso del vino tinto corresponde a los taninos (Bacon y Rhodes, 2000). Esta sensación no está vinculada con una región particular de la boca, siendo un fenómeno difuso que demora entre 15-20 segundos en manifestarse y su pérdida gradual se relacionaría muy probablemente con el lavado de los complejos tanino-proteínas por parte de la saliva fresca (Valentova *et al.*, 2002)

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar el fenómeno de la astringencia. Sin embargo, la hipótesis comúnmente aceptada indica que se trataría de una interacción y precipitación entre compuestos fenólicos, especialmente las proantocianidinas, y las proteínas salivales (Nayak y Carpenter, 2008; Obreque-Slier *et al.*, 2010). Diversos autores señalan que las principales proteínas que participan en el mecanismo de astringencia, son las proteínas con un alto contenido de prolina (PRP) y las ricas en histidinas, las cuales tienen gran afinidad por los taninos proantocianidínicos (Sarni *et al.*, 2008; McRae y Kennedy, 2011). Esta interacción produciría una reducción en la eficiencia de lubricación de la saliva (Lyman y Green, 1990). Recientemente, se ha observado que la astringencia estaría más estrechamente relacionada con la interacción entre proantocianidinas y proteínas salivales que con su precipitación (Payne *et al.*, 2009).

Factores que afectan la percepción de la astringencia

Existen diversos factores físicos y químicos que están involucrados en la percepción de la astringencia. La concentración de etanol (Obreque-Slier *et al.* 2010), dulzor (Ishikawa y Noble, 1995), viscosidad (Peleg y Noble, 1999), ácidos orgánicos (Lesschaeve y Noble, 2005), pH (Sowalsky y Noble, 1998), concentración y composición de los taninos (Vidal *et al.* 2004), y oxígeno (Waterhouse y Laurie, 2006), han mostrado ser determinantes en la percepción de astringencia en el vino.

Algunos autores han reportado que las proteínas ricas en prolina muestran una reducción de la afinidad con los taninos en presencia de alcohol (Serafini *et al.*, 1997). Además, diversos estudios han mostrado que el etanol reduce la percepción de astringencia a través de un incremento en la viscosidad de la saliva (Pickering *et al.*, 1998), un incremento en el poder lubricante de la saliva (Smith *et al.*, 1996), o a través de su propio amargor o dulzor enmascarando la percepción de astringencia (Scinska *et al.*, 2000). Por otra parte, Demiglio y Pickering (2008) demostraron que vinos desalcoholizados son percibidos como más adhesivo (grippy), agresivo y secante. Asimismo, mediante la metodología Tiempo-Intensidad (TI) se ha observado que la máxima intensidad y la duración total de la astringencia disminuyen significativamente con el aumento de la concentración de la sacarosa (Ishikawa y Noble, 1995). Según Smith y Noble (1998), que utilizaron TI como

método, encontraron que la máxima intensidad y la duración total de la astringencia disminuyó a medida que la viscosidad aumentó.

Por otro lado, los ácidos orgánicos afectan la interacción y precipitación entre las proantocianidinas y las proteínas salivales (Hoyuelos, 2014). Así, la adición de ácidos reduce el pH de una solución y aumenta el porcentaje de taninos en forma de fenolatos, y por lo tanto aumenta la probabilidad de enlaces de hidrógeno (Kallithraka *et al.*, 1997), aumentando la disponibilidad de taninos para formar complejos con las proteínas. De acuerdo a Lesschaeve y Noble (2005) el aumento de la acidez ocasiona un aumento de la intensidad de astringencia. Se ha mostrado que la intensidad máxima de la astringencia aumenta significativamente con la disminución del pH del vino (Kallithraka *et al.*, 1997). Según Lira (2014) al disminuir el pH se genera una mayor percepción de astringencia.

Con respecto a los polifenoles, Vidal *et al.* (2004), encontraron que la concentración de procianidinas fue el mayor factor responsable de la astringencia. La intensidad máxima de la astringencia y amargor fue significativamente correlacionada con el contenido total de fenoles y catequinas. Monteleone *et al.* (2004), Gawel *et al.* (2007) y Cliff *et al.* (2007) encontraron correlaciones similares entre la astringencia percibida y la composición fenólica total de los vinos estudiados. Gawel *et al.* (2007) establecieron una relación entre distintas concentraciones de fenoles y distintos descriptores de astringencia, encontrando que la cantidad de fenoles totales, taninos totales están positivamente relacionados con los descriptores áspero y abrasivo, por lo que al aumentar la concentración de estas variables se incrementaría la intensidad de los descriptores mencionados. Por su lado, Cliff *et al.* (2007) quienes trabajaron con distintas variedades y cosechas de vinos Canadienses, demostraron una alta correlación entre la astringencia percibida y el contenido de fenoles y taninos totales. Montelone *et al.* (2004), observaron que al incrementar la concentración de ácido tánico y de un extracto de semilla de uva, aumentó la intensidad de la astringencia percibida. Así, los niveles bajos de concentración (0,5 - 2 g/L) generaron un aumento en la intensidad de percepción de astringencia, mientras que a mayores niveles (2 - 3 g/L) los aumentos de intensidad se mantuvieron estables.

Por otra parte, Quijada-Morin *et al.* (2012), mostraron correlaciones significativas entre la intensidad global de la astringencia y las características estructurales de las procianidinas. Así una mayor proporción de sub-unidades de epicatequina en posición de extensión y galocatequinas en posición terminal mostraron que incrementan la percepción de astringencia. Por otra parte, la cantidad de epigalocatequina tanto en posición de extensión como terminal fue correlacionada negativamente con la astringencia percibida.

En el caso del efecto del oxígeno sobre la composición fenólica del vino, y por lo tanto de la astringencia, Waterhouse y Laurie (2006) señalan que la exposición controlada del vino al oxígeno puede impartir beneficios a una gran gama de vinos mediante la estabilización del color y reducción de la astringencia. Esta reducción de la astringencia se debe a la disminución de la concentración total de fenoles, dada por su precipitación y por la polimerización de fenoles de forma directa o mediante acetaldehído. Dentro de estas polimerizaciones, la formación de taninos poliméricos y de complejos antociano-tanino pueden modificar las sensaciones en boca mediante la disminución de la astringencia (Vidal *et al.*, 2004). Existen diversas técnicas para exponer al vino a cantidades controladas de

oxígeno, dentro de las cuales se encuentra la microoxigenación, la guarda en barricas y los espacios de cabeza en botella. La microoxigenación es una técnica que busca, mediante un microdifusor, replicar el aporte de oxígeno de la guarda en barricas de madera de roble (Gomez-Plaza y Cano-López, 2011), mientras que en botellas el uso de corcho de alcornoque permitiría la difusión del oxígeno (Cano-Lopez *et al.*, 2008). Por su parte, la dosificación del espacio de cabeza (Kwiatkowski *et al.*, 2008) en botellas selladas con tapones herméticos expone el vino a un volumen conocido de oxígeno. Todas estas técnicas buscan entre otras cosas aumentar la estabilidad del color (Cano-López *et al.*, 2008), amplificar la componente aromática (Kwiatkowski *et al.*, 2008; Hernández-Orte *et al.*, 2009) y modificar las sensaciones en boca, principalmente la astringencia (Pérez-Prieto *et al.*, 2003; Llaudy *et al.*, 2006; Nevares y Del Alamo, 2008)

Métodos para evaluar la astringencia

Actualmente, existe una gran diversidad de metodologías, ensayos y modelos que proponen evaluar objetivamente las interacciones entre taninos y proteínas mediante la evaluación de alteraciones fisicoquímicas que experimentan suspensiones proteicas en presencia de taninos. Obreque-Slier (2010), señala que una gran cantidad de componentes fenólicos han sido utilizados en estos estudios, tales como ácido tánico, diversas proantocianidinas puras, fracciones fenólicas extraídas de semillas y hollejos. Por otra parte, proteínas como caseína, gelatina, albúmina, poli-L-prolina y fracciones salivares, entre otras, han sido utilizadas en ensayos modelos para evaluar su interacción con compuestos fenólicos (Obreque-Slier, 2010). Se han descrito diversas metodologías para evaluar la interacción tanino-proteína, tales como, la titulación microcalorimétrica (Frazier *et al.*, 2003), las técnicas basadas en la turbidimetría (De Freitas y Mateus, 2001), el uso de nefelómetros (Monteleone *et al.*, 2006), el cálculo del coeficiente de fricción mediante técnicas mecánicas (Prinz y Lucas, 2000), la utilización de superficie de agarosa-prolina (Edelman y Lendl, 2002), la utilización de microbalanza de cuarzo (Kaneda *et al.*, 2003), la utilización de técnica Cromatográfica en papel (Dawra *et al.*, 1988), la utilización de técnica Cromatográfica Líquida de Alta Resolución (Kallithraka *et al.*, 2001).

Por otra parte, la evaluación sensorial de la astringencia ha sido limitada tradicionalmente a solo determinar su intensidad total mediante metodologías como el test de ranking (Amerine *et al.*, 1965) o el análisis descriptivo. Si bien, generalmente la astringencia se evalúa como un único atributo, determinándose su intensidad total, éste es un atributo sensorial complejo que involucra diversas sensaciones que son percibidas simultáneamente (Gawel *et al.*, 2001). Por este motivo, además de conocer la intensidad de astringencia total de un vino es importante determinar las sensaciones que caracterizan a dicha astringencia (Bajec y Pickering, 2012). De acuerdo con Lee y Lawless (1991), la astringencia está relacionada con sensaciones de sequedad, amargor, aspereza, y endurecimiento en boca, las cuales aparecen en distintos momentos de la evaluación de un vino y con distinta intensidad. De la misma forma, los expertos en vino utilizan varios términos temporales en la descripción sensorial de vinos; como ataque, longitud en boca, final, persistencia y retrogusto, que incorporan el tiempo en la percepción de sensaciones en la degustación de vinos. Existe un interés en la aplicación de metodologías sensoriales temporales para determinar la calidad de los vinos e integrar la percepción de la astringencia dentro de una matriz compleja de sensaciones como lo es el vino.

La evolución en el tiempo de un atributo se ha utilizado como complemento al método tradicional del perfil sensorial (Cairncross y Sjöstrom, 1950), desarrollando el tiempo intensidad o Time-intensity (TI); evolución de un atributo en el tiempo, (Lee y Pangborn, 1986). Pineau *et al.* (2009), desarrollaron la evolución simultánea de varios atributos en el tiempo, e integraron las diferentes percepciones del vino en el método Dominancia Temporal de Sensaciones (DTS).

Dominancia temporal de sensaciones (DTS)

El método DTS combina las características del tiempo-intensidad, y las del perfil sensorial clásico, identificando y calificando las sensaciones percibidas como dominantes hasta el término de la percepción (Pineau *et al.*, 2009). Este método se basa en tres factores: tiempo, intensidad y dominancia. Las curvas DTS grafican el índice de dominancia, que permite observar la evolución de la posición dominante de cada atributo en el tiempo (Meillon, 2009).

Para la construcción de las curvas, los datos de todas las repeticiones y jueces son combinados y correspondidos con el número de veces que un descriptor se consideró como dominante de cada evaluación. Esta cifra se divide por el número de jueces y repeticiones para obtener los índices de dominancia. Finalmente, para facilitar el uso de las curvas, se debe aplicar un ajuste de los datos; el cual puede llevarse a cabo mediante la determinación de los promedios móviles de los índices de dominancia (André, 2004) o también con una interpolación de Bézier. En estos gráficos la intensidad no es considerada.

Este índice de dominancia presenta dos niveles, el de suerte (Pineau *et al.*, 2009) que corresponde a la fórmula $1 * (\text{número de atributos})^{-1}$. Cuando el índice de dominancia de un atributo está por debajo de esta línea, se considera que el atributo ha sido citado por casualidad. El segundo nivel es el de significancia (Pineau *et al.*, 2009), obtenida mediante una prueba binomial. Cuando los índices de dominancia son superiores a esta curva, el atributo se considera significativamente dominante. Cuando la curva del atributo está entre estos dos niveles, el descriptor es dominante. Sin embargo, cuanto mayor sea el dominio, mayor el número de personas que han citado este descriptor dominante en el tiempo t y mayor es el consenso del panel en la sensación que domina (Pineau *et al.*, 2009).

Planteamiento del problema

A partir de los antecedentes anteriormente expuestos, se observa que existe limitada información acerca de la temporalidad sensorial de la astringencia en soluciones vínicas modelo y más aún si se trata de temporalidad sensorial de los descriptores de astringencia. Además, la utilización de metodologías temporales (DTS), se vuelven innovadoras debido a la ausencia de experimentos orientados a evaluar astringencia y su temporalidad en soluciones modelo. Por otra parte, la mayoría de la información referida a los efectos del espacio de cabeza está más enfocada en evaluar los efectos visuales y olfativos (Kwiatkowski *et al.*, 2008), en desmedro de los efectos en la sensación en boca. Es por

esto, que estudiar el efecto de distintos espacios de cabeza sobre la astringencia se vuelve muy relevante para generar conocimiento del real efecto del oxígeno sobre esta sensación.

LITERATURA CITADA

André, P. 2004. Mise en place d'un panel d'évaluation sensorielle : apport de la dimension temporelle pour la caractérisation en bouche des alcools forts. Reporte de práctica de DESS. Université de Bourgogne-ENSBANA, Dijon, France.

Amerine, M.; E. Roessler y C. Ough. 1965, mar. Acids and the acid taste. I. The effect of pH and titratable acidity. American Journal of Enology and Viticulture, 16(1): 29-37.

Bacon, J. y Rhodes, M. 2000, feb. Binding affinity of hydrolyzable tannins to parotid saliva and to proline-rich proteins derived from it. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(3): 838-843.

Bajec, M. y Pickering, G. 2012, abr. Influence of stimulus temperature on orosensory perception and variation with taste phenotype. Chemosensory Perception 5(3): 243-265

Cairncross, S. y Sjöström, L. 1950. Flavor profiles--a new approach to flavor problem. Food Technology 4(8): 308-311.

Cano-López, M.; F. Pardo-Mínguez; G. Schmauch; C. Saucier; P. Teissedre; J. López-Roca y E. Gómez-Plaza. 2008, jun. Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(14): 5932-5941.

Cliff, M.; King, M. y Schlosser, J. 2007, ene. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. Food Research International, 40(1): 92-100.

Dawra, R.; H. Makkar y B. Singh. 1988, abr. Protein-binding capacity of microquantities of tannins. Analytical Biochemistry 170(1): 50-53.

De Freitas, V y Mateus, N. 2001, ene. Structural features of procyanidin interactions with salivary proteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49(2): 940-945.

Demiglio, P y Pickering, G. 2008, ago. The influence of ethanol and pH on the taste and mouthfeel sensations elicited by red wine. Journal of Food, Agriculture & Environment 6(3): 143-150.

Edelman A. y Lendl, B. 2002, nov. Toward optical tongue: flow-through sensing of tannin-protein interactions based of FTIR spectroscopy. Journal of the American Chemical Society 124(49): 14741-12747.

Frazier R.; A. Papadopoulou; I. Mueller-Harvey; D. Kissoon y R. Green. 2003, jul. Probing protein-tannin interactions by isothermal titration microcalorimetry. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(18): 5189-5195.

Gawel R.; P. Iland and I. Francis. 2001. Characterizing the astringency of red wine: a case study. Food Quality and Preference 12(1): 83-94.

Gawel, R.; L. Francis y E. Waters. 2007, mar. Statistical correlations between the in-mouth textural characteristics and the chemical composition of Shiraz wines. Journal of agricultural and food chemistry 55(7): 2683-2687.

Gomez-Plaza, E. y Cano-López, M. 2011, abr. A review on micro-oxygenation of red wines: Claims, benefits and the underlying chemistry. Food Chemistry 125(4): 1131-1140.

Hernández-Orte P.; A. Lapeña; A. Escudero; J. Astrain; C. Baron; I. Pardo, et al. 2009, may. Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in Wood. Food Science and Technology 42(1): 391-401.

Hoyuelos, C. 2014. Efecto de los ácidos orgánicos sobre la interacción tanino-proteína y su relación con la sensación de astringencia. Tesis de Magister. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 64h.

Ishikawa, T. y Noble, A. 1995. Temporal perception of astringency and sweetness in red wine. Food Quality and Preference 6(1): 27-33.

Kallithraka, S.; J. Bakker y M. Clifford. 1997, mar. Evaluation of bitterness and astringency of (+)-catechin and (-)-epicatechin in red wine and in a model solution. Journal of Sensory Studies 12(1): 25-37.

Kallithraka, S.; J. Bakker; M. Clifford y L. Vallis. 2001, mar. Correlations between saliva protein composition and some T-I parameters of astringency. Food Quality and Preference 12(2): 145-152.

Kaneda H.; J. Watari; M. Takashio y Y. Okahata. 2003. Measuring astringency of beverages using a quartz-crystal microbalance. Journal of the American Society of Brewing Chemists 61(3): 119-124.

Kwiatkowski, M.; G. Skouroukounis; K. Lattey y E. Waters. 2008, jul. The impact of closures, including screw cap with three different headspace volumes, on the composition, colour and sensory properties of a Cabernet Sauvignon wine during two years' storage. Australian Journal of Grape and Wine Research 13(2): 81-94.

Lee, C. y Lawless, H. 1991. Time-course of astringent sensations. Chemical Senses 16(3): 225-238.

Lee, W. y Pangborn, M. 1986, nov. Time-intensity: the temporal aspects of sensory perception. Food Technology 40(11): 71-78.

Lesschaeve, I. y Noble, A. 2005, ene. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. The American journal of clinical nutrition 81(1): 330-335.

Lira, C. 2014. Efecto del pH sobre la interacción proantocianidina-proteína salival y su relación con la sensación de astringencia. Tesis de Magister. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 62h.

Llaudy, M.; R. Canals; S. González; J. Canals; C. Santos-Buelga y F. Zamora. 2006, jun. Influence of Micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency and color of red wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(12): 4246-4252.

Lyman, B. y Green, B. 1990. Oral astringency: Effects of repeated exposure and interactions with sweeteners. Chemical Sense 15(2): 151-164.

McRae, J. y Kennedy, J. 2011, mar. Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: A review of current research. Molecules 16(3): 2348-2364.

Meillon, S. 2009. Impact of alcohol reduction on the sensory perception of wine and acceptability by consumers. Tesis doctoral. Sciences de l'alimentation. l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Dijon, Francia. 223h.

Monteleone, E.; N. Condelli; C. Dinnella y M. Bertuccioli. 2004, oct. Prediction of perceived astringency induced by phenolic compounds. Food Quality and Preference 15(7): 761-769.

Monteleone, E.; N. Condelli; C. Dinnella y A. Cerone. 2006, ene. Prediction of perceived astringency induced by phenolic compounds II: Criteria for panel selection and preliminary application on wine samples. Food Quality and Preference 17(1): 96-107.

Nayak, A. y Carpenter, G. 2008, oct. A physiological model of tea-induced astringency. Physiology & Behavior 95(3): 290-294.

Nevares, I. y Del Alamo, M. 2008, jul. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. Analytica Chimica Acta 621(1): 68-78.

Obreque-Slier, E. 2010. Caracterización fenólica de uvas cultivar Carménère y su relación con la sensación de astringencia. Tesis Doctoral. Tarragona, España: Universitat Rovira I Virgili. 240h.

Obreque-Slier, E.; A. Peña-Neira y R. Lopez-Solis. 2010, mar. Enhancement of both salivary protein-enological tannin interactions and astringency perception by alcohol. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58(6): 3729-2735.

Payne, C.; P. Bowyer; M. Herderich y S. Bastian. 2009, jul. Interaction of astringent grape seed procyanidins with oral epithelial cells. Food Chemistry 115(2): 551-557.

Peleg H. y Noble, A. 1999, jul. Effect of viscosity, temperature and pH on astringency in cranberry juice. Food Quality and Preference 10(4): 343-347.

Pérez-Prieto, L.; J. López-Roca; A. Martínez-Cutillas; F. Pardo-Mínguez y E. Gómez-Plaza. 2003, jul. Extraction and formation dynamic of oak-related volatile compounds from different volume barrels to wine and their behavior during bottle storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(18): 5444-5449.

Pickering, G.; D. Heatherbell; L. Vanhanen; M. Barnes. 1998, sep. The effect of ethanol concentration on the temporal perception of viscosity and density in white wine. American Journal of Enology and Viticulture 49(3): 306-318.

Pineau, N.; P. Schlich; S. Cordelle; C. Mathonnière; S. Issanchou; A. Imbert; M. Rogeaux; P. Etiévant y E. Koster. 2009, sep. Temporal dominance of sensations: Construction of the TDS curves and comparison with time-intensity. Food Quality and Preference 20(6): 450-455.

Prinz, J. y Lucas, P. 2000, nov. Saliva tannin interactions. Journal of Oral Rehabilitation 27(11): 991-994.

Quijada-Morin, N.; J. Regueiro; J. Simal-Gándara; E. Tomás; J. Rivas-Gonzalo y M. Escribano-Bailón. 2012, nov. Relationship between the sensory sensory-determined astringency and the flavanolic composition of red wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(50): 12355-12361.

Sarni, P.; J. Canals-Bosch; G. Mazerolles y V. Cheynier. 2008, sep. Influence of the glycosilation of human salivary proline-rich proteins on their interactions with condensed tannins. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(20): 9563-9569.

Scinska, A.; E. Koros; B. Habrat; A. Kukwa y W. Kostowski. 2000, ago. Bitter and sweet components of ethanol taste in humans. Drug and Alcohol Dependence 60(2): 199-206.

Serafini, M.; G. Maiani y A. Ferro-Luzzi. 1997, ago. Effect of ethanol on red wine tannin-protein (BSA) interactions. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45(8): 3148-3151.

Smith, A.; H. June y A. Noble. 1996, jul. Effects of viscosity on the bitterness and astringency of grape seed tannin. Food Quality and Preference 7(3): 161-166.

Smith A. y Noble, A. 1998, may. Effects of increased viscosity on sourness and astringency of aluminum sulfate and citric acid. Food Quality and Preference 9(3): 139-144.

Sowalsky, R. y Noble, A. 1998, ene. Comparison of the effects of concentration, pH and Anion Species on Astringency and sourness of organic acids. Chemical Sense 23(3): 343-349.

Valentova, H.; S. Skrovánková; Z. Panovská y J. Pokorný. 2002, jul. Time-intensity studies of astringent taste. Food Chemistry 78(1): 29-37.

Vidal, S.; L. Francis; P. Williams; M. Kwiatkowski; R. Gawel; V. Cheynier y E. Waters. 2004. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. Food Chemistry 85(4): 519-525.

Waterhouse, A. y Laurie, F. 2006, sep. Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. American Journal of Enology and Viticulture 57(3): 306-313.

CAPITULO II: EFECTO DE UN TANINO COMERCIAL Y EL ESPACIO DE CABEZA SOBRE LA TEMPORALIDAD SENSORIAL DE LA ASTRINGENCIA

RESUMEN

La astringencia es una sensación táctil generada por la reducción de la lubricación en la cavidad bucal, y es generalmente atribuida a la interacción de las procianidinas o taninos condensados, con proteínas salivales. Se ha observado que diversos factores influyen en la interacción tanino-proteína, tales como pH, alcohol, dulzor, oxígeno y contenido de polifenoles. Un factor escasamente estudiado es el efecto del oxígeno (espacio de cabeza) sobre la temporalidad sensorial de la astringencia. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto de distintas concentraciones de un tanino comercial y volúmenes de espacios de cabeza sobre la temporalidad de la percepción de astringencia. Para ello se utilizó una solución vínica modelo enriquecida con tres concentraciones de un tanino enológico comercial (TEC) y con tres espacios de cabeza de embotellado. Las muestras se sometieron a un tiempo de almacenaje de tres meses. Asimismo, se entrenó un panel en la percepción de astringencia en vinos tintos, utilizando el método tradicional de dominancia temporal de sensaciones (DTS). Se seleccionaron los descriptores de astringencia y se estructuró un nuevo método temporal para caracterizar la astringencia. Se evaluaron las muestras utilizando ambos métodos temporales.

En las curvas de DTS tradicional se observó, que los tratamientos con mayor concentración de TEC, mostraron un mayor y más persistente índice de dominancia en el descriptor astringencia. Además, en la variable duración del estímulo, se observó un aumento de la astringencia a medida que se incrementó el nivel del TEC. Asimismo, se observó un antagonismo de dominancia temporal de la astringencia por sobre el alcohol. Para el DTS de astringencia, se observó que a bajas concentraciones del TEC, fueron dominantes los descriptores suave y adhesivo, mientras que a altas concentraciones del TEC se percibieron como dominantes los descriptores agresivo y secante. En el caso del espacio de cabeza, hubo un efecto sensorial en los niveles altos de tanino. Así, en la medida que aumentó el espacio de cabeza disminuyó el índice de dominancia percibido de los descriptores señalados como dominantes. El aumento de la concentración de tanino en un medio vínico genera un aumento de la dominancia y duración de la astringencia. Además, disminuye la duración de la sensación de alcohol. Finalmente, se pudo determinar que el tipo de astringencia percibida está estrechamente relacionada con la concentración de tanino. Por otra parte, es necesario un nivel mínimo de tanino para que el espacio de cabeza genere, en el tiempo, una disminución de la dominancia de los distintos descriptores de astringencia.

PALABRAS CLAVE

Astringencia, espacio de cabeza, tanino, DTS.

ABSTRACT

The astringency is a tactile sensation generated by reducing lubrication in the oral cavity, and is generally attributed to the interaction of procyanidins or condensed tannins, with salivary proteins. It has been observed that several factors influence the tannin-protein interaction, such as pH, alcohol, sweetness, oxygen and polyphenol content. A scarcely studied factor is the effect of oxygen (headspace) on sensory temporality of astringency. The objective of this research was to evaluate the effect of different concentrations of a commercial tannin and headspace volumes about the timing of the perception of astringency. For this model a vinous solution enriched with three concentrations of a commercial wine tannin (TEC) and three bottling headspace was used. The samples were subjected to a storage time of three months. Also, a panel trained in the perception of astringency in red wines using the traditional method of temporal dominance of sensations (DTS). Astringency descriptors were selected and a new temporary method was structured to characterize the astringency. The samples were evaluated using both time methods.

In traditional DTS curves observed that treatments with higher concentrations of TEC, showed a higher and more persistent dominance index in the descriptor astringency. Moreover, in the variable stimulus duration, it increased astringency as TEC level increased was observed. Likewise, antagonism temporary astringency dominance above alcohol was observed. For DTS astringency, it was observed that at low concentrations of TEC, were dominant both soft and adhesive descriptors, whereas at high concentrations the TEC is perceived as the dominant aggressive and drying descriptors. In the case of headspace, there was a sensory effect in the high levels of tannin. Thus, to the extent that increased the headspace it decreased the perceived dominance index descriptors marked as dominant. Increasing the concentration of tannin in a vinous means generates an increased duration of dominance and astringency. It also reduces the duration of the sensation of alcohol. Finally, it was determined that the type of perceived astringency is closely related to the concentration of tannin. Moreover, a minimum level of tannin is required for the headspace generate, in time, a decreased dominance of different descriptors astringency.

KEYWORDS

Astringency, headspace, tannin, DTS.

INTRODUCCIÓN

La astringencia es una percepción en boca que se caracteriza por una sequedad, aspereza y arrugamiento de la mucosa en la cavidad bucal (Lee y Lawless, 1991). Esta sensación táctil es generada por la pérdida de lubricación (Smith y Noble, 1998), asociada con la interacción de los taninos (en el caso del vino) con las proteínas salivales (Bacon y Rhodes, 2000). Existen diversos factores físicos y químicos que están involucrados en la percepción de la astringencia, como la concentración de etanol (Obreque-Slier *et al.* 2010), el dulzor (Ishikawa y Noble, 1995), la viscosidad (Peleg y Noble, 1999), los ácidos orgánicos (Lesschaeve y Noble, 2005), el pH (Sowalsky y Noble, 1998), la concentración de los taninos (Vidal *et al.* 2004), y el oxígeno (Waterhouse y Laurie, 2005). Con respecto a los dos últimos factores de importancia, Vidal *et al.*, (2004) encontraron que la intensidad máxima de la astringencia fue significativamente correlacionada con el contenido total de fenoles y catequinas; siendo la concentración de procianidinas el mayor factor responsable de la astringencia. Monteleone *et al.* (2004) y Cliff *et al.* (2007) encontraron correlaciones similares entre la astringencia percibida y la composición fenólica total de los vinos estudiados. Concordante con lo anterior, Gawel *et al.* (2007) señalan que la cantidad de fenoles totales y taninos totales están positivamente relacionados con los descriptores de astringencia áspero y abrasivo.

En cuanto al oxígeno, Waterhouse y Laurie (2005) señalan que la exposición controlada al oxígeno puede impartir beneficios al vino, mediante la estabilización del color y reducción de la astringencia. Esta reducción de la astringencia estaría dada por la disminución de la concentración total de fenoles, debido a su precipitación y polimerización de forma directa o mediante acetaldehído. Dentro de estas polimerizaciones, la formación de taninos poliméricos y de complejos antociano-tanino pueden modificar las sensaciones en boca mediante la disminución de la astringencia (Vidal *et al.*, 2004). Existen diversas técnicas para exponer el vino a cantidades controladas de oxígeno, dentro de las cuales se encuentra la dosificación de espacio de cabeza (Kwiatkowski *et al.*, 2008) en botellas selladas con tapones que expone al vino a un volumen conocido de oxígeno. Este método busca mejorar la estabilidad del color (Cano-López *et al.*, 2008), mejorar la componente aromática (Kwiatkowski *et al.*, 2008; Hernández-Orte *et al.*, 2009) y modificar las sensaciones en boca, principalmente la astringencia (Pérez-Prieto *et al.*, 2003; Llauduy *et al.*, 2006; Nevares y Del Alamo, 2008)

Por otra parte, el vino es un producto complejo, en el que se perciben sensaciones dinámicas. Noble (1995) observó que para caracterizar los cambios de la astringencia percibida en el vino los estudios temporales serían esenciales. La temporalidad de sensaciones parece adecuada para identificar los descriptores ligados a la calidad del vino (Meillon *et al.*, 2009; Medel 2011). Pineau *et al.* (2009) desarrollaron la evolución simultánea de varios atributos en el tiempo, e integraron las diferentes percepciones del vino en el método Dominancia Temporal de Sensaciones (DTS). Este método no requiere una formación larga y permite evaluar varios atributos al mismo tiempo. Este método, se ha utilizado con éxito para describir la temporalidad de las sensaciones en vinos (Pessina, 2006). Meillon *et al.* (2009), trabajaron con DTS en vinos desalcoholizados en variedades Merlot y Syrah, y reportaron que en ambas variedades disminuyó la percepción del alcohol a medida que el alcohol disminuía en los tratamientos. No obstante, en el resto de los atributos hubo un comportamiento diferencial. Así, en el caso de Merlot, la astringencia se

modificó por la reducción de alcohol, mientras que para el Syrah, el dulzor se vio afectado. Por otro lado, la complejidad percibida de un vino estaría ligada a la calidad sensorial de un vino (Charters y Petigrew, 2007). Medel (2011) relacionó la temporalidad del vino con su nivel de complejidad, reportando una sucesión de sensaciones percibidas en los vinos más y menos complejos, relacionando así, la temporalidad de los vinos con la calidad sensorial percibida.

A partir de lo anteriormente descrito, se observa que la metodología de DTS es una relevante herramienta sensorial que podría ser aplicada para evaluar la astringencia. Sin embargo, escasa información existe acerca de su uso en la evaluación de astringencia. Más aún, escaso conocimiento existe acerca del efecto del espacio de cabeza y la concentración de tanino en el tipo y duración de la astringencia.

HIPÓTESIS

El aumento progresivo de las dosis de un tanino a un medio vínico con distintos niveles de espacios de cabeza, aumenta la dominancia y duración de la astringencia.

El tipo de astringencia está estrechamente relacionada con la concentración del tanino y los distintos niveles de espacio cabeza.

OBJETIVO

Evaluar el efecto de distintas concentraciones de un tanino comercial y volúmenes de espacios de cabeza sobre la temporalidad de la percepción de astringencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio

Este estudio se realizó en el laboratorio de Evaluación sensorial y de Química enológica del Departamento de Agroindustria y Enología de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

Un tanino enológico comercial (TEC) marca GraptanS (tanino extraído de hollejos de uvas blancas) fue adquirido en VINOTEC, Chile. Las botellas de vidrio verde de 750mL, fueron adquiridas en Cristal Chile S.A., mientras que los corchos técnicos fueron adquiridos en industria Corchera S.A.

Para el entrenamiento de los panelistas, se utilizaron estándares sensoriales adquiridos en Sigma Corporation (Saint Louis Missouri, EEUU) y Cramer, alumbre de potasio, pectina, vinos Pinot noir y Cabernet sauvignon (Medalla Real, Santa Rita), copas negras INAO y distintos solventes de la Drogueria Mitchelson (Santiago, Chile).

Equipamiento

Para los análisis químicos fue utilizado un Espectrofotómetro Shimadzu UV-1700 Pharmaspec UV-vis y un Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia (HPLC-DAD) marca Agilent Technologies 1200 series, constituido por un inyector automático modelo L-7200 y un detector de arreglo de fotodiodos alineados modelo L-7455. Para el caso del análisis sensorial, se utilizó el software FIZZ aquitions (Biosystemes, Couternon, Francia), mientras que para la construcción de las graficas y obtención de los datos de parámetros temporales se utilizó FIZZ calculation. El análisis estadístico de los resultados químicos y sensoriales fue procesado con el software Infostat (Cordoba, Argentina).

Método

Tratamiento y Diseño experimental

El diseño experimental del análisis químico fue en parcela dividida (3x3x2), utilizando el volumen de espacio de cabeza, concentración de taninos y el tiempo en botella como factores. En el caso de la evaluación sensorial se estructuró en bloques al azar siendo cada panelista un bloque.

Los tratamientos utilizados en esta investigación fueron 3 niveles de espacios de cabeza de 4 mL (E1), 16 mL (E2) y 64 mL (E3) (Kwiatkowski *et al.*, 2008), mientras que las concentraciones de taninos correspondieron a 1 g/L (C1), 2 g/L (C2) y 3 g/L (C3) (Ketter, 2008). Por último, el factor tiempo en botella tuvo 2 niveles: el momento de embotellado (T0) y 3 meses después de embotellar (T1). Los tratamientos tuvieron 3 repeticiones cada uno. La unidad experimental fue el par de botellas de solución modelo, una fue evaluada en T0 y la otra en T1, siendo la solución vínica contenida en cada botella la unidad muestral.

Preparación de soluciones modelo

Las soluciones base se prepararon con etanol al 12% en agua tamponada, con un contenido de 3,5 g/L de ácido tartárico, ajustando el pH a 3,2 con NaOH. Una vez preparadas la solución base se fraccionó en tres contenedores para agregar las dosis de tanino correspondiente (1, 2 y 3 g/L). Para determinar los volúmenes de solución que debe haber en cada tratamiento de espacio de cabeza, se midió la distancia desde la parte superior de la botella hasta la parte inferior del corcho, y desde aquí se midieron los diferentes volúmenes, extrayendo dicho volumen. Las botellas con estas soluciones fueron almacenadas por un período de 3 meses a $\approx 16^{\circ}\text{C}$ en una bodega ubicada en el subterráneo de la Planta Piloto del Departamento de Agroindustria y Enología.

Entrenamiento del panel sensorial.

Selección y entrenamiento de un panel de jueces entrenados. Se seleccionó a 14 jueces, de los cuales 13 realizaron las evaluaciones finales. Para el entrenamiento del panel se contó con un total inicial de 14 personas, de los cuales 8 personas tienen experiencia previa en análisis sensorial de alimentos o vinos. El panel es un panel interno, lo que implica que sus integrantes pertenecen a la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. En el entrenamiento y evaluaciones se realizaron pagos a cada evaluador como incentivo.

Determinación del umbral de percepción de astringencia del alumbre de potasio. Se utilizó la metodología de estímulos constantes (Centeno, 2006), para determinar el umbral de percepción. Se utilizaron seis soluciones de alumbre de potasio, las concentraciones fluctuaron entre 0,1 g/L y 0,8 g/L. Se estableció la zona posible de umbral para cada evaluador, se aplicó el método Triangular 3-AFC (Alternative Forced Choice) (Centeno, 2006), según la capacidad de cada evaluador de reconocer la muestra astringente en el triangular, se aumenta o disminuye la concentración evaluada, hasta llegar a la solución con la concentración de astringencia mínima reconocida por cada evaluador, la que debió ser reconocida en un 100% en una serie de tres tests Triangulares 3-AFC para ser considerado como su “umbral de detección”.

Entrenamiento del panel de jueces en evaluación de intensidad de astringencia. Se realizaron seis pruebas de ordenamiento para astringencia con el Método de Ranking (Amerine *et al.*, 1965), que permiten mejorar la capacidad de los evaluadores de reconocer diferentes intensidades y por lo tanto desarrollar la habilidad de jerarquizar según su astringencia. 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 (Centeno, 2006).

Cuadro 1. Ejemplo de cálculo del número de inversión del panel (Centeno, 2006).

Alumbre de potasio g/L	Evaluadores														Orden	Σ	Ha	
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N				
0	3	6	6	6	4	1	5	4	1	5	3	2	4	1	1	X	51	51
0,75	6	5	4	3	2	4	6	3	3	2	4	3	3	3	2	X	51	102
1,5	4	4	3	2	3	3	3	1	2	3	1	5	1	2	3	X	37	111
2,25	5	3	2	4	5	5	4	5	6	6	6	4	5	6	4	X	66	264
3	2	2	1	1	1	2	1	2	5	4	2	1	2	5	5	X	31	155
4	1	1	5	5	6	6	2	6	4	1	5	6	6	4	6	X	58	348
numero de inversión	16	18	14	12	8	6	16	10	6	12	12	8	10	6				1031

Ho para 14 evaluadores y 6 muestras según Page= 1078 Número de Inversión total Ha= 1031

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 (Centeno, 2006). Estos valores resultantes se suman, 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 1. Si Ha es mayor a Ho, se considera que el panel discrimina significativamente la diferencia de concentración entre las muestras evaluadas. Los compuestos y las concentraciones utilizadas para la ejecución de estos test se describen en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Resumen de Test de Ranking, compuestos y concentraciones evaluadas

Nº	Compuesto utilizado	Concentraciones evaluadas	Muestras evaluadas	Parámetro
1	Alumbre de potasio en agua	0 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1 g·L ⁻¹	5	Astringencia
2	Alumbre de potasio en vino dulce	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3 - 4 g·L ⁻¹	6	Astringencia
3	Alumbre de potasio en vino seco	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3 - 4 g·L ⁻¹	6	Astringencia
4	Tanino en vino Dulce	0 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2 g·L ⁻¹	5	Astringencia
5	Tanino en Solución Modelo	0 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2 g·L ⁻¹	5	Astringencia
6	Tanino en Solución Modelo	0 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2 g·L ⁻¹	5	Astringencia

Entrenamiento del panel de jueces en caracterización de astringencia. De forma introductoria, se realizó un circuito de texturas, en donde se presentaron diversos elementos con distintas texturas, de esta manera los evaluadores podían conocer asociar los descriptores percibidos a través de las manos, con las sensaciones que posteriormente debieron evaluar en algunos alimentos astringentes. El circuito consistió en los siguientes elementos y alimentos:

- Satín, gamuza, seda, cuerina, terciopelo, lija fina, lija media, lija gruesa, arpillera fina, arpillera media, arpillera gruesa, cotelé, trevira lisa, trevira estampada, osnaburgo, talco, arcilla, aserrín, polvo y plasticina.
- Té, mancaqui, cascara de plátano y uva.

Mediante discusión abierta con el líder del panel se llegó a un acuerdo en los descriptores apropiados para cada una de las muestras. En esta instancia se consideró la utilización de referencias de textura manual para cada descriptor, como las utilizados por Gawel *et al.* (2000).

Posteriormente, en sesiones abiertas, se les presentó a los jueces soluciones de compuestos astringentes (alumbre de potasio y tanino enológico, tanto en agua como en vino) y se les pidió que indiquen los términos apropiados para describir la astringencia de las muestras, utilizando la lista seleccionada en la generación de descriptores.

Se utilizaron los descriptores de astringencia de Gawel (2000) en las soluciones modelo para determinar los descriptores más representativos de las distintas concentraciones de tanino y utilizarlas en el DTS de astringencia (señalado en metodología DTS).

Caracterización de la astringencia en soluciones hidroalcohólicas “modelo”. Se realizó una caracterización de astringencia de soluciones de distintas concentraciones del tanino comercial. Los taninos fueron agregados a una solución vínica modelo preparada con etanol al 12% y ácido tartárico, ajustando con NaOH hasta alcanzar un pH de 3,2. El panel de jueces evaluó la intensidad de astringencia y la caracterizó utilizando los descriptores previamente seleccionados.

Caracterización temporal de las soluciones modelo. Se utilizaron dos modalidades del método de dominancia temporal de sensaciones (DTS) (Meillon *et al.*, 2009), para integrar la astringencia con las demás percepciones sensoriales que caracterizan al vino tinto. Esta metodología se realizó utilizando descriptores generales de vino (acidez, astringencia, amargor, alcohol y frutos rojos), y otra utilizando los descriptores de astringencia de la rueda de astringencia de Gawel *et al.* (2000) que tuvieron mayor frecuencia de aparición en las evaluaciones de soluciones modelo durante el entrenamiento (suave, adhesivo, llenado de boca, agresivo y secante). Además se utilizaron botones de selección (en vez de escalas no estructuradas) para simplificar la evaluación a los panelistas y focalizar la evaluación sólo en la sensación dominante.

Variables a medir

Análisis químico

Se realizaron los siguientes análisis químicos al inicio y al final del tiempo en botella:

- pH, mediante potenciometría (García Barceló, 1990).
- Grado alcohólico, mediante destilación simple (García Barceló, 1990).
- Fenoles Totales, se realizó mediante análisis espectrofotométrico a 280 nm (García Barceló, 1990).
- Taninos Totales, se realizarán mediante la reacción de Metilcelulosa (Mercurio *et al.*, 2007).
- Fenoles de bajo peso molecular, se realizó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD) (Obreque-Slier *et al.*, 2009)
- Se realizó una cuantificación porcentual con un analizador de gas portátil Checkpoint (Dansensor, España) a los espacios de cabeza para determinar el porcentaje de oxígeno contenida en el volumen de aire (Restuccia *et al.*, 2006)

Evaluación sensorial

Para la realización de este método el panel se sometió a 2 sesiones de entrenamiento, en donde se familiarizó al panel con el protocolo del método y el software a utilizar (Fizz-Biosystem), tanto con vinos como con soluciones modelo. Las evaluaciones se realizaron en cabinas aisladas, a una temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Las muestras de una alícuota de 30 mL fueron servidas en copas INAO negras. Las muestras fueron presentadas en forma simultánea, codificadas aleatoriamente y presentadas de acuerdo a un plan cuadrado latino de Williams para equilibrar el orden y disminuir los efectos de contraste. La temperatura de servicio fue de $17^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

En la evaluación sensorial se determinó el índice de dominancia, observado en las gráficas temporales obtenidas mediante el software FIZZ calculations. Se midieron dos parámetros temporales:

- El tiempo de aparición (T): corresponde al momento en el cual el juez ha seleccionado el inicio de la dominancia del descriptor.
- La duración de la dominancia (D): es el tiempo total que el descriptor permanece como dominante.

El método DTS o Dominancia temporal de sensaciones, está estructurado con el siguiente protocolo (Meillon *et al.*, 2009):

Cuadro 3. Protocolo de evaluación del método DTS

Tiempo	Descripción
Instrucciones previas	Para determinar la sensación dominante debe seleccionar el botón que se encuentra al lado derecho de su respectivo descriptor. Debe colocar toda la muestra en la boca, con la copa en la mano izquierda y el mouse en la mano derecha, la evaluación comienza al presionar el botón START al momento que ingrese toda la muestra a la boca.
0 segundos	El contenido de la copa es introducido a la boca y comienza el cronómetro
12 segundos	Escupa la muestra
30 segundos	Pulse el botón STOP cuando ya no perciba nada
100 segundos	Termino de la evaluación

Análisis estadístico

En el caso de los análisis químicos se analizó mediante el siguiente modelo estadístico.

$$Y = \mu + t_i + \gamma_j + \delta_k + (t\gamma)_{ij} + (t\delta)_{ik} + (\gamma\delta)_{jk} + (t\gamma\delta)_{ijk} + P_l + B_s(P) + \varepsilon_{ijkl s}$$

Y: Respuesta al tratamiento

μ : Media general

t_i : Efecto del tanino, i : 1, 2, 3

γ_j : Efecto del espacio de cabeza, j : 4, 16, 64

δ_k : Efecto del tiempo, k : 0, 1

P_l : Efecto de la parcela, l : 1, 2, 3

B_s : Efecto de la botella, s : 1, 2

$\varepsilon_{ijkl s}$: Error estándar

El modelo se analizó mediante el módulo de modelos lineales generales de Infostat. Este modelo al ser homocedástico (considera homogeneidad de varianza), presenta los datos de las medias acompañadas de su error estándar. De existir diferencias significativas se utilizó la prueba de Fisher, con un nivel de significancia del 5%.

Para el análisis del DTS se analizó mediante el siguiente modelo estadístico.

$$Y = \mu + t_i + S_j + J_k(S) + \varepsilon_{ijk}$$

Y: Respuesta al tratamiento

μ : Media general

t_i : Efecto del tratamiento, i : 1, ..., 18

S_j : Efecto de la sesión, j : 1, 2, 3, 4

J_k : Efecto del juez, k : 1, ..., 13

ε_{ijk} : Error estándar

Debido a que las variables tiempo de aparición y duración del estímulo tienen datos desbalanceados al no tener necesariamente la misma cantidad de citaciones por descriptor, se ajustó el modelo a las condiciones de los datos, de manera tal, que los factores se presentan ya cruzados. Por lo tanto el factor efecto del tratamiento representa todas las combinaciones de los tres factores propuestos (en Tratamiento y Diseño Experimental). El modelo se analizó mediante el módulo de modelos lineales generales de Infostat. De existir diferencias significativas se utilizará la prueba de Fisher, con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS

Entrenamiento panel sensorial

Umbral de detección de astringencia

En el Cuadro 4, se muestra que el promedio del umbral de detección de la astringencia del alumbre de potasio del panel fue de 0,14 g/L. De los 14 integrantes del panel, el 64,3 % de los evaluadores tuvo un umbral menor al promedio del panel.

Cuadro 4. Umbrales de detección de astringencia de alumbre de potasio en agua

Evaluador	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	Prom
Umbral g/L	0,1	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,14

Ordenamiento de intensidad

En el Cuadro 5, se muestra el ordenamiento de intensidades de astringencia. El contenido de azúcar residual del vino dulce fue de 12,7 g/L de azúcar y del vino seco fue de 2,5 g/L de azúcar. En las tres primeras sesiones de ordenamiento de intensidad, se observó que el panel perdió el sentido de discriminación al degustar inicialmente una matriz de agua y luego una matriz vínica. Esto se debería a la saturación del panelista provocada por la astringencia de la solución. Sin embargo, el uso de la solución de pectina en el enjuague entre muestras, disminuyó la saturación del panelista.

Cuadro 5. Resumen de las sesiones de ordenamiento de intensidad de astringencia

Sesión	Concentraciones	Nº Muestras	Evaluadores	Ho	Ha	Panel discrimina (Ho>Ha)	uso de pectinas
Alumbre en agua	0 - 0,25 - 0,5 - 0,75 - 1	5	14	756	661	si	no
Alumbre en vino dulce	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3 - 4	6	14	866	1078	no	no
Alumbre en vino seco	0 - 0,75 - 1,5 - 2,25 - 3 - 4	6	14	1026	1078	no	no
Tanino en vino dulce	0 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2	5	14	699	661	si	si
Tanino en solución modelo*	0 - 0,1 - 0,5 - 1 - 2	5	14	733	661	si	si

*Esta sesión se repitió, obteniendo discriminación del panel.

Validación temporal del panel

En la Figura 1, se muestran los perfiles temporales, de 3 soluciones vínicas modelo con distintas concentraciones del tanino comercial, más dos vinos: un Pinot noir y un Cabernet sauvignon. El panel estableció claras diferencias entre las muestras, en las soluciones

modelo se observó un incremento del índice de dominancia de la astringencia y un incremento de la persistencia de la dominancia de la astringencia, a medida que se aumenta la concentración de tanino. En los vinos se observaron diferencias en los perfiles, en el índice de dominancia de la astringencia; Cabernet superó el 70%, además obtuvo un período más prolongado de dominancia que el Pinot noir. Por otra parte, la acidez sensorial del vino Pinot noir mostró una dominancia mayor que el Cabernet sauvignon. Estas observaciones permiten establecer una alta regularidad en la respuesta de los evaluadores, debido a que la variedad Cabernet sauvignon contiene cantidades de tanino y un pH significativamente mayores que la variedad Pinot noir (Cliff *et al.*, 2007).

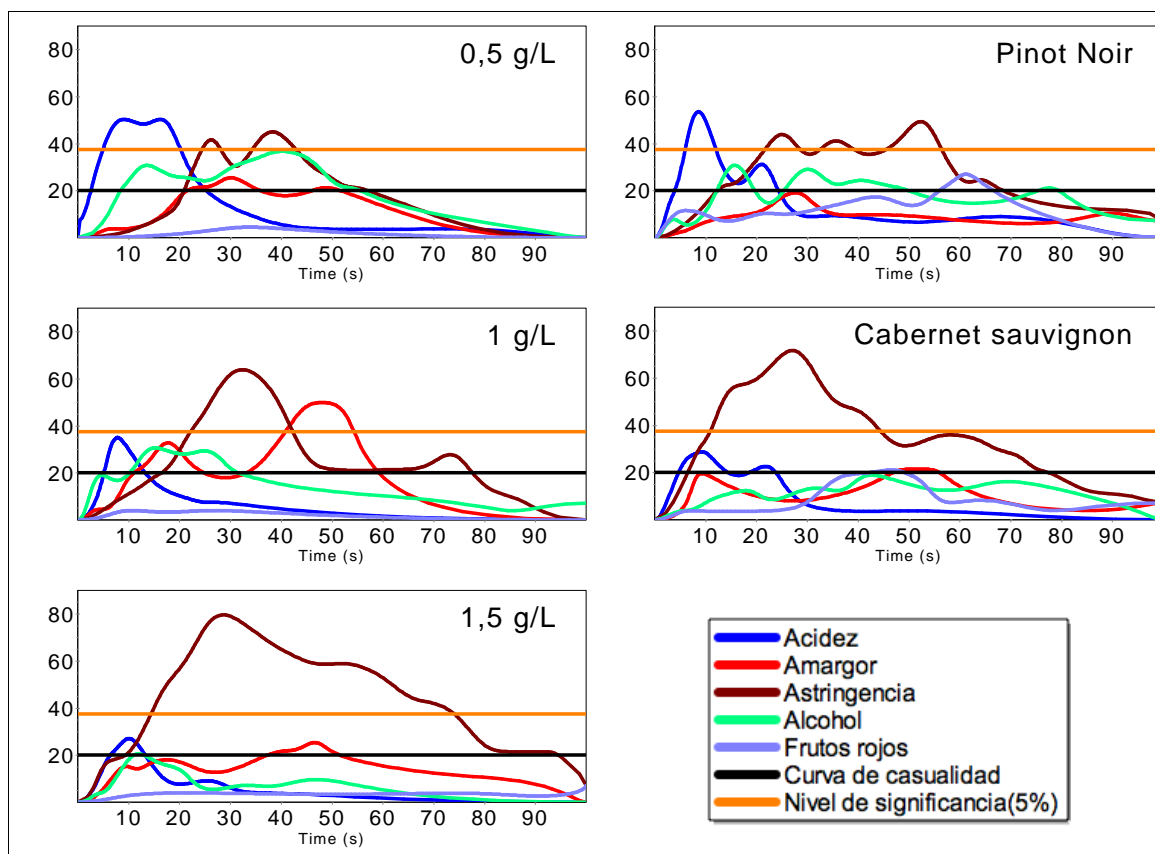


Figura 1. Perfiles temporales de la sesión de entrenamiento

Perfiles de las evaluaciones finales utilizando DTS tradicional

En la Figura 2, se presentan los perfiles evaluados en el primer momento de medición (T0). Se observó que independiente del momento de medición existe un aumento del índice y duración de la dominancia de la astringencia a medida que se incrementa el nivel de tanino. Además, no se observó un efecto en el perfil del DTS en la medida que variaron los espacios de cabeza.

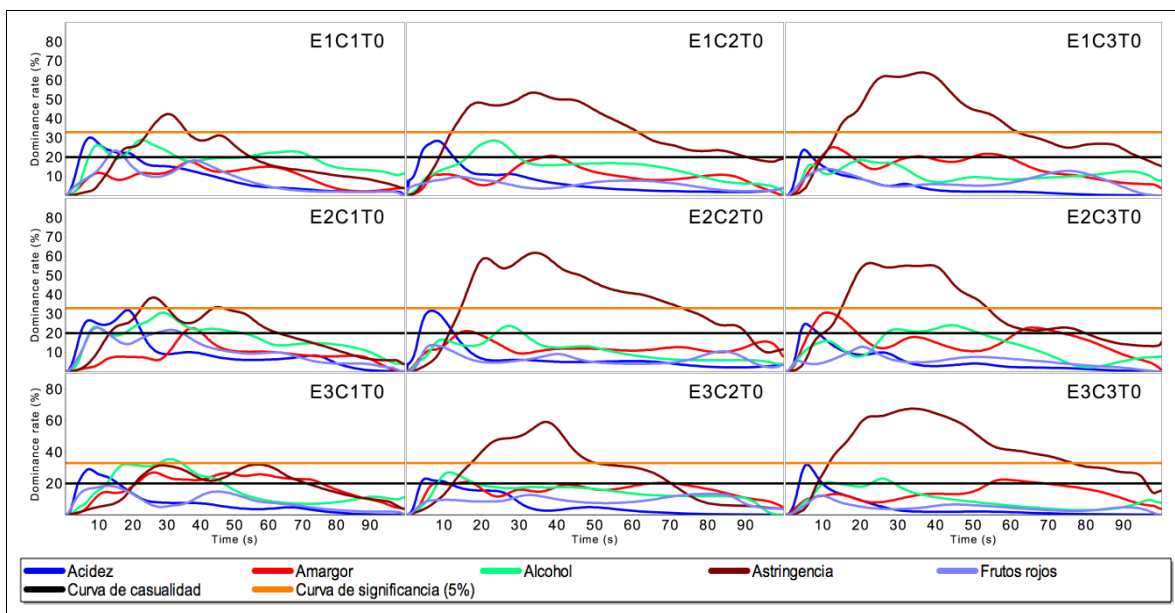


Figura 2. Perfiles de DTS tradicional de tratamientos evaluados en el primer momento de medición (T0)

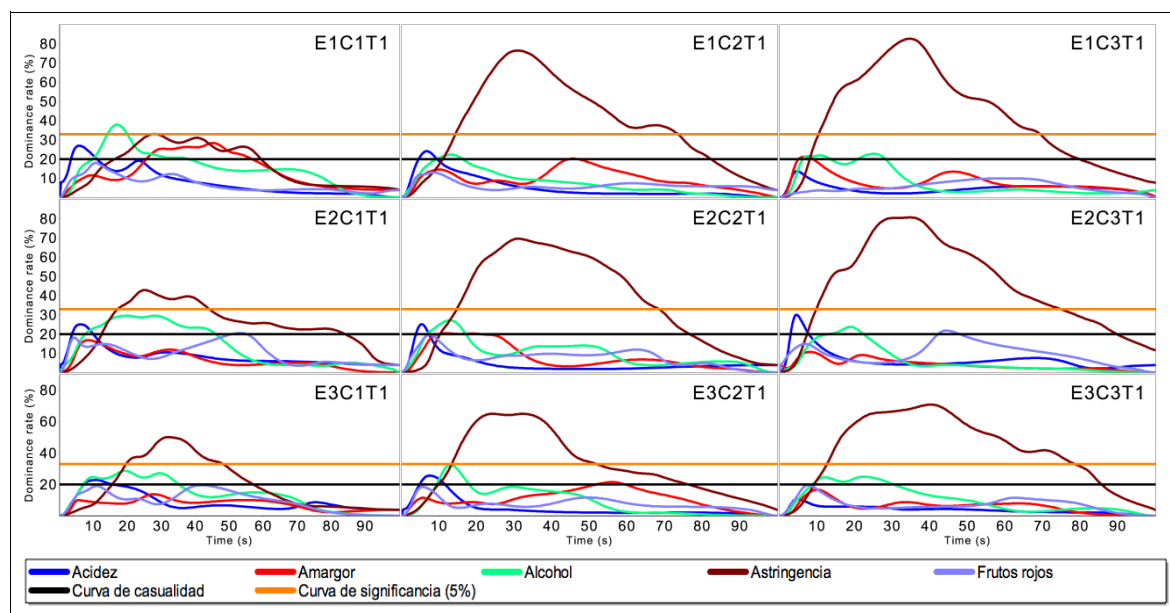


Figura 3. Perfiles de DTS tradicional de tratamientos evaluados en el segundo momento de medición (T1)

En la Figura 3, se presentan los perfiles evaluados en el segundo momento de medición (T1). Se observó que existe un aumento del índice de dominancia y de la duración de la dominancia de la astringencia a medida que se incrementa el nivel de tanino. Asimismo, se observó que el tiempo de medición T1 alcanzó una mayor dominancia del descriptor astringencia que T0.

Perfiles de las evaluaciones finales utilizando DTS de astringencia

En la Figura 4, se presentan los perfiles evaluados en el primer momento de medición (T0). En los distintos niveles de concentración de tanino es posible observar una composición diferencial de los descriptores dominantes. En los tratamientos con un bajo nivel de concentración de tanino (C1), los descriptores que resultaron dominantes fueron llenado de boca, adhesivo y suave. En los tratamientos con un nivel medio de concentración de tanino (C2), los descriptores dominantes fueron adhesivo, secante y llenado de boca. Por otra parte, en los tratamientos con un alto nivel de concentración de taninos (C3) el descriptor significativamente dominante fue el secante, siendo más persistente y dominante que en C2. Además los descriptores adhesivo y suave mostraron dominancia marcada después del descriptor secante. En este momento de medición no se observó un efecto de los espacios de cabeza en los distintos tratamientos.

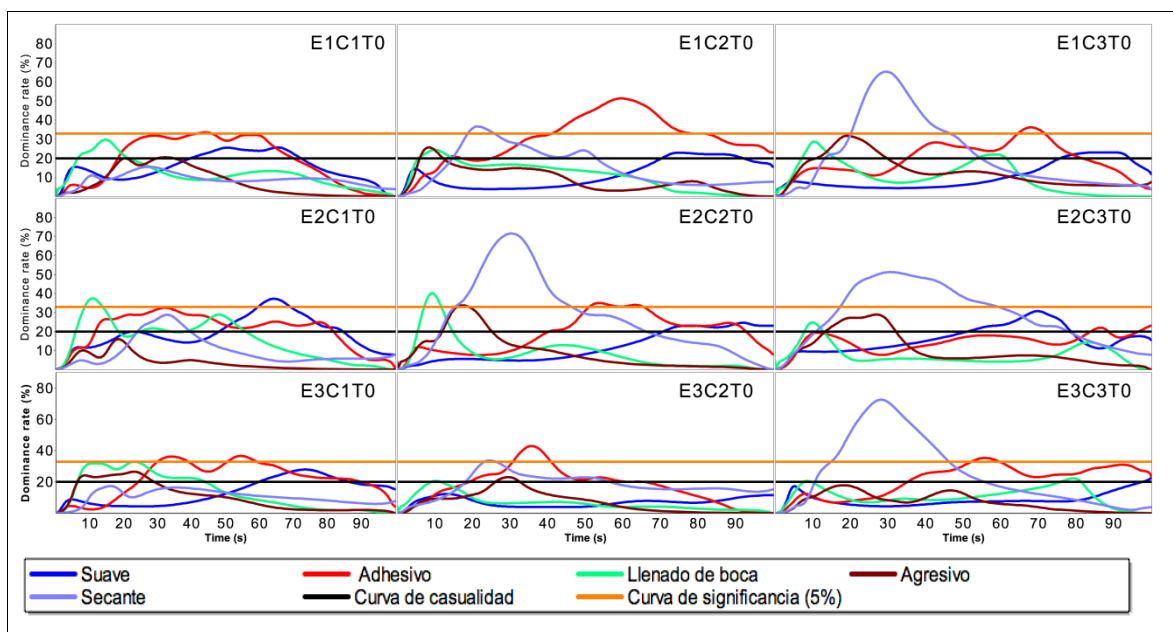


Figura 4. Perfiles de DTS de astringencia de tratamientos evaluados en el primer momento de medición (T0)

En la Figura 5, en el segundo momento de medición (T1), se observaron descriptores dominantes distintos en la medida que varió la concentración del tanino. En los tratamientos pertenecientes a la concentración C1, los descriptores significativamente dominantes fueron suave, secante y adhesivo. En los tratamientos C2 los descriptores que mostraron dominancia significativa fueron agresivo, secante y adhesivo. Además, se observó una disminución de los índices de dominancia en el nivel alto de espacio de cabeza (E3). Por otra parte, en las muestras del tratamiento C3 los descriptores que mostraron dominancia significativa fueron suave, agresivo y secante, mostrando una disminución de los índices de dominancia en el nivel alto del espacio de cabeza (E3).

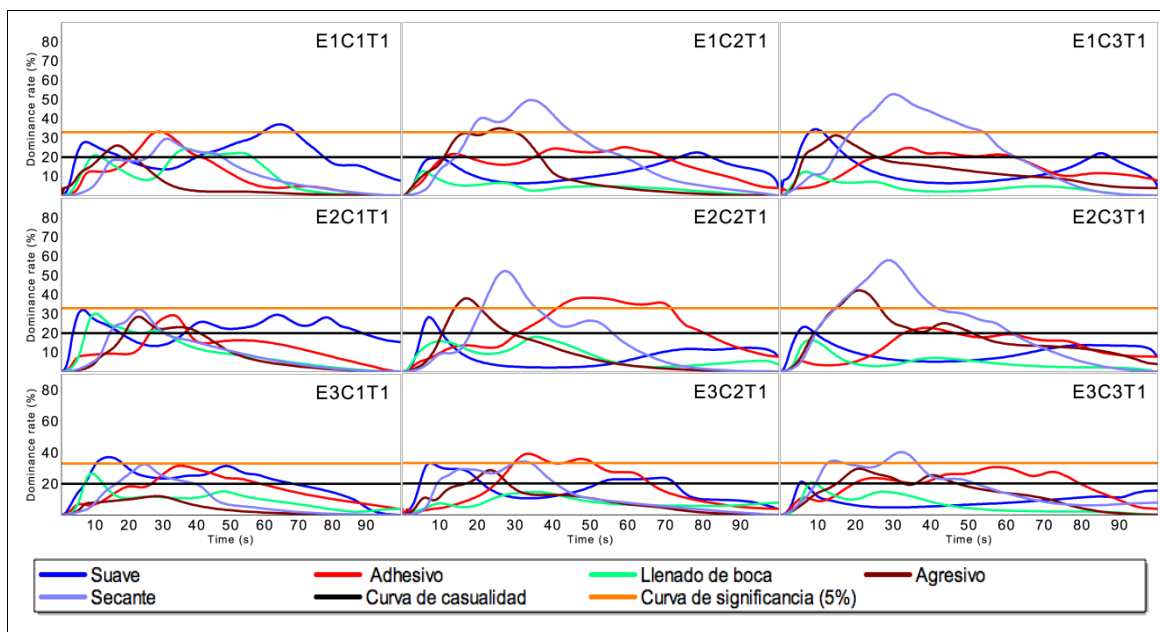


Figura 5. Perfiles de DTS de astringencia de tratamientos evaluados en el segundo momento de medición (T1)

Variables temporales de los descriptores del DTS tradicional

En la Cuadro 6, se muestran los promedios del tiempo de duración de los descriptores alcohol y astringencia. Estos descriptores fueron los únicos que presentaron diferencias significativas y tendencias claras en su respuesta. En el alcohol, se observó que en la medida que se incrementa la concentración del tanino, existe una disminución de la duración de este descriptor. Por otro lado, se observó que independiente del nivel del espacio de cabeza, la duración del descriptor astringencia es mayor en la medida que la concentración del tanino aumenta.

Cuadro 6. Tiempo de duración de estímulos en DTS tradicional

Tiempo de duración Alcohol (seg)						
		T0			T1	
C1	E1	22,08 ± 3,1	a	15,11 ± 2,93	cd	
	E2	21,96 ± 3,1	ab	15,44 ± 3,01	bcd	
	E3	15,83 ± 2,9	abc	16,06 ± 3,01	abc	
C2	E1	16,44 ± 3	abc	9,10 ± 3,11	de	
	E2	12,59 ± 3,1	cde	10,92 ± 3,01	cde	
	E3	16,54 ± 3,1	abc	9,87 ± 3,11	cde	
C3	E1	12,28 ± 3	cde	8,41 ± 3,06	e	
	E2	14,97 ± 3,1	cde	8,75 ± 3,22	de	
	E3	10,32 ± 3,1	cde	14,92 ± 3,16	de	
Tiempo de duración Astringencia (seg)						
		T0			T1	
C1	E1	21,3 ± 4,9	e	20,4 ± 5,01	e	
	E2	21,5 ± 4,8	e	28,1 ± 4,92	cde	
	E3	19,3 ± 4,8	e	20,1 ± 4,68	e	
C2	E1	32,9 ± 4,6	bcd	38,5 ± 4,61	abc	
	E2	35,5 ± 4,6	abcd	36,2 ± 4,55	abcd	
	E3	25,9 ± 4,6	de	33,2 ± 4,68	bcd	
C3	E1	35,7 ± 4,6	abcd	41,3 ± 4,61	ab	
	E2	29,8 ± 4,6	cde	45,7 ± 4,61	a	
	E3	41,8 ± 4,6	ab	40,5 ± 4,55	ab	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos.

En el Cuadro 7, se muestran las diferencias en los promedios del tiempo de aparición de la astringencia. En el nivel mayor de espacio de cabeza (E3), en la medida que se incrementa la concentración de tanino, el tiempo de aparición de la astringencia es menor, por lo tanto, el descriptor se demora significativamente menos tiempo en aparecer en el caso del T0.

Cuadro 7. Tiempo de aparición de estímulo de DTS tradicional

Tiempo de aparición Astringencia (seg)						
			T0	T1		
C1	E1	20,6 ± 2,2	bc	20,5 ± 2,24	bc	
	E2	21,4 ± 2,2	bc	18,5 ± 2,19	bcd	
	E3	28,4 ± 2,1	a	21,6 ± 2,09	b	
C2	E1	17,6 ± 2	bcd	17,2 ± 2,06	bcd	
	E2	19,6 ± 2	bcd	19,5 ± 2,03	bcd	
	E3	20,4 ± 2,1	bc	16,3 ± 2,09	cd	
C3	E1	17,1 ± 2	bcd	15,4 ± 2,06	d	
	E2	18,1 ± 2	bcd	15 ± 2,06	d	
	E3	15,1 ± 2,1	d	18 ± 2,03	bcd	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

Variables temporales de los descriptores del DTS de astringencia

En el Cuadro 8, se muestran los promedios del tiempo de aparición de los descriptores de la astringencia: suave, adhesivo y llenado de boca. Para el descriptor suave se observó que a medida que aumenta el nivel de tanino, disminuye la duración del estímulo, mientras que para el descriptor adhesivo, no se observó una clara tendencia en la duración del estímulo. Por su parte, el descriptor de llenado de boca, mostró una disminución de la duración del estímulo desde T0 a T1.

Cuadro 8. Tiempo de duración de estímulos de DTS de astringencia

Tiempo de duración Suave (seg)						
			T0		T1	
C1	E1	23,85 ± 3,6	abc	26,12 ± 3,26	a	
	E2	25,35 ± 3,3	abc	23,03 ± 3,06	abc	
	E3	19,02 ± 3,5	abcde	24,57 ± 3,19	ab	
C2	E1	17,02 ± 3,9	abcde	16,24 ± 3,73	bcde	
	E2	21,76 ± 4	abcde	11,50 ± 3,52	e	
	E3	14,56 ± 4,2	cde	21,57 ± 3,52	abcd	
C3	E1	16,28 ± 4	bcde	17,00 ± 3,62	bcde	
	E2	24,33 ± 3,7	abc	15,12 ± 3,73	cde	
	E3	13,30 ± 4	de	11,16 ± 3,26	e	
Tiempo de duración Adhesivo (seg)						
			T0		T1	
C1	E1	23,50 ± 3,8	bcd	14,91 ± 3,93	d	
	E2	24,46 ± 3,6	bc	16,91 ± 3,93	bcd	
	E3	25,14 ± 3,6	bc	21,96 ± 3,93	bcd	
C2	E1	36,09 ± 3,7	a	24,41 ± 4,02	bcd	
	E2	24,36 ± 3,9	bcd	25,54 ± 3,71	b	
	E3	21,31 ± 3,7	bcd	22,72 ± 3,85	bcd	
C3	E1	24,22 ± 3,7	bcd	19,26 ± 3,93	bcd	
	E2	16,73 ± 3,6	cd	15,30 ± 3,93	d	
	E3	22,66 ± 3,5	bcd	20,85 ± 3,64	bcd	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

(Continúa)

Cuadro 8. (Continuación)

Tiempo de duración Llenado de boca (seg)					
T0			T1		
C1	E1	21,01 ± 2,80	a	13,94 ± 2,59	bcdef
	E2	16,82 ± 2,38	abc	14,44 ± 2,59	abcdef
	E3	18,59 ± 2,53	ab	12,93 ± 2,59	bcdef
C2	E1	15,72 ± 2,73	abcde	9,51 ± 2,99	def
	E2	11,06 ± 2,59	cdef	12,16 ± 2,65	bcdef
	E3	10,44 ± 2,65	def	12,66 ± 2,99	bcdef
C3	E1	12,02 ± 2,59	cdef	9,80 ± 2,99	def
	E2	10,92 ± 2,80	cdef	7,72 ± 2,89	f
	E3	15,90 ± 2,73	abcd	8,78 ± 2,72	ef

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

En la Cuadro 9, se muestran los promedios de tiempo de aparición de los descriptores agresivo y secante. Para el descriptor agresivo se observó que aumentó el tiempo de duración del estímulo desde T0 a T1, en los niveles altos de tanino (C3). Por su parte, el descriptor secante presentó una tendencia ascendente de la duración del estímulo a medida que se aumenta el nivel de tanino.

Cuadro 9. Tiempo de duración de estímulos de DTS de astringencia

Tiempo de duración Agresivo (seg)					
T0			T1		
C1	E1	12,21 ± 3,50	bcd	13,20 ± 3,91	bcd
	E2	7,21 ± 4,08	d	19,19 ± 3,91	abc
	E3	15,37 ± 3,29	bcd	12,76 ± 4,54	bcd
C2	E1	11,94 ± 3,20	cd	16,13 ± 3,20	bcd
	E2	11,94 ± 3,20	cd	14,49 ± 3,29	bcd
	E3	12,18 ± 3,62	bcd	20,23 ± 3,75	abc
C3	E1	17,02 ± 3,05	bc	18,70 ± 3,13	bc
	E2	15,17 ± 3,30	bcd	26,91 ± 3,12	a
	E3	11,81 ± 3,50	cd	20,87 ± 3,30	ab

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

(Continúa)

Cuadro 9. (Continuación)

Tiempo de duración Secante (seg)						
T0				T1		
	E1	14,38 ± 4,8	d	20,49 ± 4,82	bcd	
C1	E2	16,91 ± 4,7	cd	15,10 ± 4,53	d	
	E3	18,44 ± 4,7	bcd	13,71 ± 4,54	d	
	E1	17,78 ± 4	cd	22,64 ± 3,85	bcd	
C2	E2	29,11 ± 3,7	ab	16,31 ± 3,78	d	
	E3	28,38 ± 4,5	abc	19,54 ± 4,41	bcd	
	E1	26,68 ± 3,9	abc	23,81 ± 3,78	bcd	
C3	E2	33,79 ± 3,9	a	26,79 ± 3,93	abc	
	E3	25,59 ± 3,7	abc	22,23 ± 4,01	bcd	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

En el Cuadro 10, se muestran los promedios del tiempo de aparición de los descriptores suave, adhesivo y secante. Para el descriptor suave, los valores mayores del tiempo de aparición se concentran en tratamientos con un alto nivel de taninos. Además los valores más bajos de este parámetro se concentran en los tratamientos con un bajo nivel de taninos.

Cuadro 10. Tiempo de aparición de estímulos de DTS de astringencia

Tiempo de aparición Suave (seg)						
T0				T1		
	E1	18,9 ± 7,1	d	16,4 ± 6,4	d	
C1	E2	30,4 ± 6,6	abcd	23,1 ± 6,1	cd	
	E3	29,4 ± 6,9	abcd	18,0 ± 6,3	d	
	E1	32,3 ± 7,6	abcd	28,0 ± 7,3	abcd	
C2	E2	47,2 ± 7,8	a	31,8 ± 6,9	abcd	
	E3	23,4 ± 8,1	bcd	16,8 ± 6,9	d	
	E1	44,2 ± 7,8	a	24,1 ± 7,1	bcd	
C3	E2	42,7 ± 7,3	ab	29,1 ± 7,3	abcd	
	E3	33,5 ± 7,8	abcd	37,1 ± 6,4	abc	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos.

(Continúa)

Cuadro 10. (Continuación)

Tiempo de aparición Adhesivo (seg)						
		T0			T1	
C1	E1	23,2 ± 4,2	cde	24,5 ± 4,1	cde	
	E2	24,5 ± 4,5	bcde	20,1 ± 4,5	e	
	E3	33,6 ± 4,4	abc	20,8 ± 4,4	e	
C2	E1	26,3 ± 4,5	abcde	36,5 ± 4,1	a	
	E2	22,7 ± 4,3	cde	19,4 ± 4,1	e	
	E3	28,9 ± 4,1	abcde	35,1 ± 4,0	ab	
C3	E1	21,8 ± 4,5	de	32,4 ± 4,5	abcd	
	E2	24,0 ± 4,2	cde	27,7 ± 4,2	abcde	
	E3	23,9 ± 4,2	cde	18,2 ± 4,6	e	
Tiempo de aparición Secante (seg)						
		T0			T1	
C1	E1	21,7 ± 3,3	bc	15,9 ± 2,9	c	
	E2	20,5 ± 3,3	bc	20,7 ± 3,3	bc	
	E3	20,3 ± 2,7	bc	16,5 ± 3,2	bc	
C2	E1	18,3 ± 2,7	bc	16,2 ± 2,8	c	
	E2	30,7 ± 3,5	a	24,9 ± 3,4	ab	
	E3	22,9 ± 3,4	abc	17,5 ± 2,6	bc	
C3	E1	18,9 ± 3,5	bc	15,4 ± 2,8	c	
	E2	24,8 ± 2,9	ab	22,0 ± 2,7	bc	
	E3	18,1 ± 2,8	bc	18,6 ± 2,8	bc	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada uno de los descriptores indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos.

Contenido de fenoles y taninos totales

La Cuadro 11, muestra el contenido de fenoles y taninos totales de las soluciones vínicas modelos, con distintas concentraciones de un tanino enológico comercial (C1, C2 y C3) y distintos tratamientos de espacio de cabeza (E1, E2 y E3). Además, se observa la interacción entre los tres factores del estudio.

Se observó un aumento sustancial del contenido de fenoles totales en la medida que aumenta la concentración del tanino enológico (TEC). En el caso del espacio de cabeza, se observó la misma tendencia con la segunda y tercera concentración del TEC. Además, el

contenido de fenoles totales es mayor en el segundo muestreo en comparación con el primero.

Cuadro 11. Contenido de fenoles y taninos totales de las soluciones vínicas modelo

		Fenoles totales (mg·L ⁻¹ de ácido gálico)				Taninos totales (mg·L ⁻¹ de catequina)							
		T0		T1		T0		T1					
C1	E1	391,8	± 6,6	i	431,3	± 6,6	h	317,6	± 38,8	d	87,0	± 38,8	fg
	E2	394,0	± 6,6	i	426,4	± 6,6	h	303,5	± 38,8	d	87,1	± 38,8	fg
	E3	392,8	± 6,6	i	417,1	± 6,6	h	318,4	± 38,8	d	21,7	± 38,8	g
C2	E1	765,8	± 6,6	fg	783,7	± 6,6	f	703,8	± 38,8	c	252,2	± 38,8	de
	E2	760,4	± 6,6	g	813,9	± 6,6	e	656,4	± 38,8	c	150,0	± 38,8	ef
	E3	766,1	± 6,6	fg	842,0	± 6,6	d	671,5	± 38,8	c	130,7	± 38,8	fg
C3	E1	1143,8	± 6,6	c	1177,2	± 6,6	b	1590,1	± 38,8	a	1560,4	± 38,8	a
	E2	1137,5	± 6,6	c	1238,1	± 6,6	a	1603,3	± 38,8	a	1125,0	± 38,8	b
	E3	1140,4	± 6,6	c	1236,3	± 6,6	a	1516,6	± 38,8	a	1051,5	± 38,8	b

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en filas y columnas de cada uno de los parámetros indican diferencias significativas (Fisher test, p<0,05) entre los distintos tratamientos

En el caso de los taninos totales se observó un aumento significativo de los taninos totales a medida que se incrementa la concentración del tanino enológico. Asimismo, en el tiempo T1, se observaron contenidos diferenciales de estos compuestos en los espacios de cabeza E1 y E3. Además, se observó una disminución del contenido de estos compuestos durante el tiempo del ensayo (T0 comparado con T1).

pH y contenido de oxígeno

En el Cuadro 12, se presenta la interacción triple de los valores del pH de los distintos tratamientos. Se observó que en la medida que aumentó el contenido de TEC, los valores de pH aumentaron gradualmente. Por su parte, el espacio de cabeza no mostró una tendencia clara de respuesta. Además, se observó que existe una disminución significativa del pH entre los dos momentos de muestreo. En el caso del porcentaje de oxígeno en el espacio de cabeza se observaron diferencias significativas en la interacción doble del espacio de cabeza y el tiempo (Cuadro 13). Así, se observó que el porcentaje de oxígeno en el espacio de cabeza disminuye significativamente entre el primer y segundo muestreo, mientras que el tratamiento con un espacio de cabeza menor, presentó un mayor porcentaje de oxígeno en el segundo muestreo.

Cuadro 12. pH de las soluciones vínicas modelo

		pH				
		T0			T1	
C1	E1	3,44 ± 0,01	d	3,37 ± 0,01	gh	
	E2	3,44 ± 0,01	d	3,39 ± 0,01	f	
	E3	3,44 ± 0,01	d	3,38 ± 0,01	fg	
C2	E1	3,49 ± 0,01	bc	3,37 ± 0,01	gh	
	E2	3,48 ± 0,01	c	3,36 ± 0,01	h	
	E3	3,48 ± 0,01	c	3,41 ± 0,01	e	
C3	E1	3,50 ± 0,01	a	3,41 ± 0,01	e	
	E2	3,50 ± 0,01	ab	3,41 ± 0,01	e	
	E3	3,51 ± 0,01	a	3,41 ± 0,01	e	

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

Cuadro 13. Porcentaje de oxígeno en el espacio de cabeza

% Oxígeno del espacio de cabeza		
E1T0	20,53 ± 0,2	a
E2T0	20,53 ± 0,2	a
E3T0	20,5 ± 0,2	a
E1T1	2,13 ± 0,2	b
E2T1	1,12 ± 0,2	c
E3T1	0,99 ± 0,2	c

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

Cuantificación de fenoles de bajo peso molecular de soluciones vínicas modelo por HPLC-DAD

En el Cuadro 14, se muestra el contenido de ácidos benzoicos de las soluciones vínicas modelo (C1, C2 y C3), sometidas a los distintos tratamientos de espacio de cabeza, observándose una interacción triple de factores. En los ácidos benzoicos, se observó una disminución de la concentración al comparar los dos tiempos de medición. Por otra parte, al aumentar la concentración de tanino, se incrementó la concentración de los ácidos benzoicos. En el caso del espacio de cabeza, se observó que en el tratamiento T1, C3 presentó una mayor concentración en E1 en comparación con E3.

Cuadro 14. Contenido de Ácidos Benzoicos de las soluciones vónicas modelo

Ácidos Benzoicos (mg·L ⁻¹ de eq. ácido gálico)					
T0			T1		
C1	E1	1,56 ± 0,13	i	2,22 ± 0,13	gh
	E2	1,55 ± 0,13	i	2,53 ± 0,13	g
	E3	1,57 ± 0,13	i	2,16 ± 0,13	gh
C2	E1	3,71 ± 0,13	de	3,5 ± 0,13	def
	E2	3,76 ± 0,13	de	3,15 ± 0,13	f
	E3	3,77 ± 0,13	de	3,19 ± 0,13	f
C3	E1	6,17 ± 0,13	a	4,71 ± 0,13	c
	E2	5,72 ± 0,13	b	4,39 ± 0,13	c
	E3	6,31 ± 0,13	a	3,41 ± 0,13	ef

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas (Fisher test, $p < 0,05$) entre los distintos tratamientos

En el Cuadro 15, se muestra el contenido de flavonoles (solo (+)-catequina y (-)-epicatequina) y del resto de procianidinas de las soluciones vónicas modelo. A pesar que ambas variables mostraron respuestas similares, se observó una diferencia significativa en la interacción triple de factores. En ambos casos se observó una disminución de la concentración al comparar los dos tiempos de medición. Por otra parte, al aumentar la concentración del tanino, se incrementa la concentración de ambas variables. En el caso del espacio de cabeza se observaron diferencias en los tratamientos de T1, específicamente en C2 y C3. En el caso del tratamiento T1 con la condición C2, se observó que la concentración de procianidinas y flavonoles es mayor en E1 con respecto a E2 y E3. Para los tratamientos C3 con la condición T1 se observó que la concentración fue mayor en E1 y E2 con respecto a E3.

En el caso de los flavonoles se observaron diferencias en la interacción doble entre la concentración del tanino y el tiempo de muestreo. Asimismo, el espacio de cabeza no presentó un efecto sobre los flavonoles. Por otra parte, los estilbenos mostraron diferencias estadísticamente significativas en las interacciones dobles entre la concentración del tanino con el tiempo de muestreo y el espacio de cabeza.

En el Cuadro 16, se muestra el contenido de flavonoles y estilbenos (resveratrol) de las soluciones vónicas. Se observó una disminución del contenido de flavonoles al comparar los dos tiempos de medición (T0 y T1). Por otra parte, al aumentar la concentración del tanino, el contenido de flavonoles aumenta, mientras que los estilbenos disminuyeron sustancialmente al comparar ambos tiempos de medición. Finalmente, se observó que al aumentar la concentración del tanino, se incrementa significativamente la concentración de estilbenos.

Cuadro 15. Contenido de Procianidinas y Flavanoles en las soluciones vínicas modelo

	Procianidinas (mg·L ⁻¹ de eq. catequina)		Flavanoles (mg·L ⁻¹ de eq. catequina)		
	T0	T1	T0	T1	
C1	E1	5,14 ± 0,31 ef	3,93 ± 0,31 g	9,73 ± 0,6 f	8,61 ± 0,6 fg
	E2	5,14 ± 0,31 ef	4,58 ± 0,31 fg	9,76 ± 0,6 f	9,14 ± 0,6 fg
	E3	5,09 ± 0,31 ef	3,95 ± 0,31 g	9,67 ± 0,6 fg	7,95 ± 0,6 g
C2	E1	15,85 ± 0,31 b	7,20 ± 0,31 d	26,17 ± 0,6 b	14,58 ± 0,6 d
	E2	15,86 ± 0,31 b	5,94 ± 0,31 e	26,41 ± 0,6 b	12,57 ± 0,6 e
	E3	16,05 ± 0,31 b	5,95 ± 0,31 e	26,07 ± 0,6 b	12,16 ± 0,6 e
C3	E1	21,09 ± 0,31 a	10,26 ± 0,31 c	38,52 ± 0,6 a	21,54 ± 0,6 c
	E2	21,17 ± 0,31 a	9,52 ± 0,31 c	38,27 ± 0,6 a	20,26 ± 0,6 c
	E3	21,32 ± 0,31 a	7,42 ± 0,31 d	39,00 ± 0,6 a	13,75 ± 0,6 de

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en filas y columnas de cada uno de los parámetros indican diferencias significativas (Fisher test, p<0,05) entre los distintos tratamientos

Cuadro 16. Contenido de flavonoles y estilbenos de las soluciones vínicas modelo

	Flavonoles (mg·L ⁻¹ de eq. Quercetina)	Estilbenos (mg·L ⁻¹ de Resveratrol)
C1T0	3,37 ± 0,15 d	0,24 ± 0,02 c
C2T0	7,52 ± 0,15 b	0,45 ± 0,02 b
C3T0	9,22 ± 0,15 a	0,56 ± 0,02 a
C1T1	1,91 ± 0,15 f	0,04 ± 0,02 e
C2T1	2,78 ± 0,15 e	0,07 ± 0,02 de
C3T1	4,12 ± 0,15 c	0,11 ± 0,02 d

Los valores corresponden al promedio ± error estándar. Letras minúsculas en cada columna indican diferencias significativas (Fisher test, p<0,05) entre los distintos tratamientos

DISCUSIÓN

La percepción de la astringencia es un proceso altamente dinámico, que cambia continuamente durante la ingestión y especialmente después de la expectoración o deglución (Noble, 1995). Actualmente, existe una gran cantidad de metodologías, ensayos y modelos que proponen evaluar objetivamente la astringencia (Obreque-Slier, 2010). No obstante, la evaluación sensorial por parte de un panel entrenado es la metodología más ampliamente utilizada (Gawel *et al.*, 2001). Actualmente, el estudio de la evolución de las sensaciones organolépticas provocadas por los productos alimenticios están siendo intensamente estudiadas (Pineau *et al.*, 2009; Meillon *et al.*, 2010). Así, la metodología de “dominancia temporal de sensaciones” (DTS) ha sido desarrollada para incorporar la variable tiempo a los análisis descriptivos tradicionales y así conocer en tiempo real los cambios en la percepción de sensaciones. Pineau *et al.* (2009) señalan que el DTS evalúa la dominancia de varios descriptores al mismo tiempo, entregando el contexto global de la percepción de una matriz compleja. A pesar de lo anterior, no existe información con respecto al uso de ésta metodología en la percepción de astringencia bajo condiciones de distintas concentraciones de un tanino enológico comercial (TEC) y distintos espacios de espacio de cabeza. En este estudio se evaluaron ambos factores sobre la percepción de astringencia generada por una solución vínica enriquecida con taninos, utilizando como metodología central el DTS y sus parámetros de dominancia y duración de ésta sensación.

En cuanto a los resultados del DTS tradicional, se observó que los tratamientos con mayor concentración de TEC mostraron un mayor y más persistente índice de dominancia en el descriptor astringencia. Esta observación estaría estrechamente relacionada con la mayor presencia de polifenoles, y específicamente con la concentración de taninos condensados e hidrolizables, los cuales aumentaron en la medida que aumentó la dosis de TEC en la solución vínica. Estos compuestos se han descrito como importantes precipitantes de las proteínas salivales, provocando una pérdida de la lubricación de la cavidad bucal, y generando consecuentemente una mayor sensación de sequedad o astringencia (Vidal *et al.*, 2004). Es interesante notar que en las variables temporales del DTS tradicional, la duración del estímulo del descriptor astringencia, presentó un aumento de la persistencia a medida que se incrementó el nivel de TEC. Esta observación estaría estrechamente relacionada con la concentración de polifenoles y taninos presentes en la solución vínica enriquecida con un TEC, tal como se describió previamente.

Por otro lado, se observó una relación indirecta entre la concentración del TEC y la duración del descriptor alcohol. Así, se observó que a una mayor concentración del TEC se produjo una disminución en la duración del descriptor alcohol, y un aumento en la duración del descriptor astringencia. Según Meillon *et al.* (2010), al disminuir la concentración del alcohol se generaría un aumento en la dominancia de la astringencia, lo cual podría estar relacionado con la interrupción del alcohol del puente de hidrógeno que se forma entre el tanino y la proteína de la saliva (Noble, 1990). No obstante, algunos estudios mencionan que un mayor contenido de alcohol aumentaría la intensidad de la astringencia percibida por un panel (Obreque-Slier *et al.*, 2010), los resultados de este estudio muestran que un aumento del contenido de un TEC provocaría un descenso en la duración del descriptor del alcohol y un aumento de la duración de la astringencia. Ambas observaciones respaldarían

la hipótesis que la intensidad y duración de la astringencia responderían a factores distintos. Además, los resultados de este estudio sugerirían que un contenido creciente de polifenoles podría enmascarar el efecto de la percepción del alcohol en el tiempo, debido a que este último tendría un máximo de percepción en presencia de los polifenoles.

Luego de utilizar el método DTS tradicional como herramienta para evaluar la intensidad y dominancia de varios descriptores al mismo tiempo, entre ellos la astringencia, se procedió a realizar un DTS específico para la percepción de astringencia. Así, los descriptores se seleccionaron por frecuencia de aparición en una evaluación de muestras con distintas concentraciones de TEC, utilizando como referencia la rueda de astringencia de Gawel (2000). Según las respuestas en las curvas de dominancia de los tratamientos, se observó un cambio evidente en los descriptores dominantes en función de la concentración de TEC. Así, con las menores concentraciones, los parámetros dominantes correspondieron a suave y adhesivo, mientras que con las altas concentraciones los descriptores dominantes correspondieron a agresivo y secante. Ambas observaciones se relacionarían estrechamente con el grado de pérdida de lubricación de la cavidad bucal y consecuentemente con la percepción de astringencia, la cual estaría supeditada a la concentración de TEC en el medio vínico (Obreque-Slier et al., 2013). Así, los descriptores sensoriales percibidos a bajas concentraciones de TEC (suave y adhesivo) provocarían un grado de pérdida de lubricación bajo a moderado, mientras que los descriptores percibidos a altas concentraciones (agresivo y secante) tendrían una fuerte relación con un alto grado de pérdida de lubricación. Adicionalmente, es interesante notar que los descriptores sensoriales de la astringencia, están fuertemente relacionados con la concentración del tanino. Esta última observación es de alta relevancia, pues algunos estudios describen que la composición y estructura del tanino afectan sustancialmente el tipo de astringencia. De acuerdo a los resultados de este estudio la concentración del tanino participaría fuertemente en la descripción de la astringencia.

Con respecto a las variables temporales de la duración del estímulo, se observó que la respuesta de los panelistas al descriptor suave fue contraria a la del descriptor secante, las cuales fueron fuertemente dependientes de la concentración de TEC en el medio. Así, se observó que en la medida que aumentó la concentración del tanino, la dominancia y duración de la astringencia fue mayor para el descriptor “secante”, mientras que la variable “suave” disminuyó gradualmente. Este resultado podría relacionarse con el nivel de lubricación de la cavidad bucal reportado por los evaluados, asociándose una percepción suave y secante a una menor y mayor lubricación, respectivamente. Es importante señalar que con respecto al efecto del espacio de cabeza en la percepción de astringencia, se observó una disminución del índice de dominancia de los distintos descriptores identificados por los panelistas como dominantes, a medida que aumentó el volumen del espacio de cabeza. Es interesante notar que el efecto del espacio de cabeza en la percepción de astringencia estaría estrechamente ligado a la concentración del tanino, lo cual implicaría que su efecto en el tiempo estaría condicionado a una concentración mínima de tanino.

Finalmente, mediante el uso de ambos métodos temporales (DTS tradicional y DTS astringencia) se observó que un aumento de la concentración del TEC en el medio, generó un aumento de los porcentajes de dominancia de los atributos identificados como

dominantes (astringencia y secante, respectivamente) por el panel en su conjunto. Así, una mayor concentración de taninos en el medio provocó una certera identificación de la astringencia como parámetro dominante, debido muy probablemente a que fue el único componente de la solución modelo que fue modificado, lo que conllevó a sobresalir del resto de los descriptores identificados.

CONCLUSIÓN

El aumento de la concentración de tanino en soluciones vínicas modelo genera un aumento de la dominancia y duración de la astringencia. Además, disminuye la duración de la sensación de alcohol.

Finalmente, se pudo determinar que el tipo de astringencia percibida está estrechamente relacionada con la concentración de tanino. Por otra parte, es necesario un nivel mínimo de tanino para que el espacio de cabeza genere, en el tiempo, una disminución de la dominancia de los distintos descriptores de astringencia.

BIBLIOGRAFÍA

Amerine, M.; E. Roessler y C. Ough. 1965, mar. Acids and the acid taste. I. The effect of pH and titratable acidity. American Journal of Enology and Viticulture, 16(1): 29-37.

Bacon, J. y Rhodes, M. 2000, feb. Binding affinity of hydrolyzable tannins to parotid saliva and to proline-rich proteins derived from it. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48(3): 838-843.

Cano-López, M.; F. Pardo-Mínguez; G. Schmauch; C. Saucier; P. Teissedre; J. López-Roca y E. Gómez-Plaza. 2008, jun. Effect of micro-oxygenation on color and anthocyanin-related compounds of wines with different phenolic contents. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(14): 5932-5941.

Centeno, R. 2006. Creación de un panel de degustación especializado en astringencia y amargor. Memoria Ingeniero Agrónomo, Mención Enología. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 59h.

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

Cliff, M.; M. King, y J. Schlosser. 2007, ene. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. Food Research International, 40(1): 92-100.

García-Barcelo, J. 1990. Técnicas analítica para vinos. Barcelona, España. Penedès Edicions.

Gawel, R.; A. Oberholster e I. Francis. 2000, abr. A “Mouth-feel Wheel”: terminology for communicating the mouth-feel characteristic of red wine. Australian Journal of Grape and Wine Research, 6(1): 203-207.

Gawel R.; P. Iland and I. Francis. 2001. Characterizing the astringency of red wine: a case study. Food Quality and Preference 12(1): 83-94.

Gawel, R.; L. Francis y E. Waters. 2007, mar. Statistical correlations between the in-mouth textural characteristics and the chemical composition of Shiraz wines. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(7): 2683-2687.

Hernández-Orte P.; A. Lapeña; A. Escudero; J. Astrain; C. Baron; I. Pardo, et al. 2009, may. Effect of micro-oxygenation on the evolution of aromatic compounds in wines: Malolactic fermentation and ageing in Wood. Food Science and Technology 42(1): 391-401.

Ishikawa, T. y Noble, A. 1995. Temporal perception of astringency and sweetness in red wine. Food Quality and Preference 6(1): 27-33.

Ketter, R. 2008. Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales del cv. Cabernet sauvignon provenientes de tres valles de Chile, de las vendimias 2002 y 2003. Tesis Ing. Agrónomo. Facultad de CS. Agronómicas, Universidad de Chile. 51h.

Kwiatkowski, M.; G. Skouroukounis; K, Lattey y E. Waters. 2008, jul. The impact of closures, including screw cap with three different headspace volumes, on the composition, colour and sensory properties of a Cabernet Sauvignon wine during two years' storage. Australian Journal of Grape and Wine Research 13(2): 81–94.

Lee, C. y Lawless, H. 1991. Time-course of astringent sensations. Chemical Senses 16(3): 225–238.

Lesschaeve, I. y Noble, A. 2005, ene. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. The American Journal of Clinical Nutrition 81(1): 330-335.

Llaudy, M.; R. Canals; S. González; J. Canals; C. Santos-Buelga y F. Zamora. 2006, jun. Influence of Micro-oxygenation treatment before oak aging on phenolic compounds composition, astringency and color of red wine. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54(12): 4246-4252.

Medel, M. 2011. Perception of wine quality by consumers. Tesis Doctoral. Dijon, Francia: Universite de Bourgogne. 251h.

Meillon, S. 2009. Impact of alcohol reduction on the sensory perception of wine and acceptability by consumers. Tesis doctoral. Sciences de l'alimentation. l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Dijon, Francia. 223h.

Meillon, S.; D. Viala; M. Medel; C. Urbano; G. Guillot y P Schlich. 2010, oct. Impact of partial alcohol reduction in Syrah wine on perceived complexity and temporally of sensations and link with preference. Food Quality and Preference 21(7): 732–740.

Mercurio, M.; R. Damberg; M. Herderich y P. Smith. 2007, jun. High throughput analysis of red wine and grape phenolics adaptation and validation of methyl cellulose precipitable tannin assay and modified Somers color assay to a rapid 96 well plate format. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55(12): 4651-4657.

Monteleone, E.; N. Condelli; C. Dinnella y M. Bertuccioli. 2004, oct. Prediction of perceived astringency induced by phenolic compounds. Food Quality and Preference 15(7): 761-769.

Nevares, I. y Del Alamo, M. 2008, jul. Measurement of dissolved oxygen during red wines tank aging with chips and micro-oxygenation. Analytical Chemical Acta 621(1): 68-78.

Noble, A. 1990. Bitterness and astringency in wine. Bitterness in Foods and Beverages. Amsterdam: Elsevier Science. 145-158.

Noble, A. 1995, mar. Application of Time-Intensity procedures for the evaluation of taste and mouthfeel. American Journal of Enology and Viticulture 46(1): 128-133.

Obreque-Slier, E.; A. Peña-Neira; R. López-Solís; C. Ramírez-Escudero y F. Zamora-Marín. 2009, ago. Phenolic caracterización of comercial enological tannins. European Food Research and Technology 229(6): 859-866

Obreque-Slier, E. 2010. Caracterización fenólica de uvas cultivar Carménère y su relación con la sensación de astringencia. Tesis Doctoral. Tarragona, España: Universitat Rovira I Virgili. 240h.

Obreque-Slier, E.; A. Peña-Neira y R. Lopez-Solis. 2010, mar. Enhancement of both salivary protein-enological tannin interactions and astringency perception by alcohol. Journal of Agricultural and Food Chemistry 58(6): 3729-2735.

Obreque-Slier, E.; A. Peña-Neira; R. Lopez-Solis; A. Cáceres-Mella; H. Toledo-Araya y A. López-Rivera. 2013, dic. Phenolic composition of skin from four Carmenet grapes varieties (*Vitis vinífera L.*) during ripening. Food Science and Technology 54(2): 404-413.

Page, E. 1963, abr. Ordered hypotheses for multiple treatments: a significance test for linear ranks. Journal of the American Statistical Association 58(301): 216-230.

Peleg H. y Noble, A. 1999, jul. Effect of viscosity, temperature and pH on astringency in cranberry juice. Food Quality and Preference 10(4): 343-347.

Pérez-Prieto, L.; J. López-Roca; A. Martínez-Cutillas; F. Pardo-Mínguez y E. Gómez-Plaza. 2003, jul. Extraction and formation dynamic of oak-related volatile compounds from different volume barrels to wine and their behavior during bottle storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51(18): 5444-5449.

Pessina, R. 2006. Dominance temporelle des sensations gustatives et aromatiques du vin. Tesis Doctoral. Italia: Università degli Studi di Foggia. 205h.

Pineau, N.; P. Schlich; S. Cordelle; C. Mathonnière; S. Issanchou; A. Imbert; M. Rogeaux; P. Etiévant y E. Koster. 2009, sep. Temporal dominance of sensations: Construction of the TDS curves and comparison with time-intensity. Food Quality and Preference 20(6): 450-455.

Restuccia, C; C. Randazzo y C. Caggia. 2006, may. Influence of packaging on spoilage yeast population in minimally processed orange slices. International journal of food microbiology 109(1): 146-150.

Smith A. y Noble, A. 1998, may. Effects of increased viscosity on sourness and astringency of aluminum sulfate and citric acid. Food Quality and Preference 9(3): 139-144.

Sowalsky, R. y Noble, A. 1998, ene. Comparison of the effects of concentration, pH and Anion Species on Astringency and sourness of organic acids. Chemical Sense 23(3): 343-349.

Vidal, S.; L. Francis; P. Williams; M. Kwiatkowski; R. Gawel; V. Cheynier y E. Waters. 2004. The mouth-feel properties of polysaccharides and anthocyanins in a wine like medium. Food Chemistry 85(4): 519-525.

Waterhouse, A. y Laurie, F. 2006, sep. Oxidation of wine phenolics: A critical evaluation and hypotheses. American Journal of Enology and Viticulture 57(3): 306-313.