



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE QUIMICA

Trabajo de Tesis Doctoral:

***DESARROLLO DE UNA BEBIDA EN POLVO
CONTENIENDO LOS POLIFENOLES DEL VINO
TINTO: CARACTERIZACION FISICOQUIMICA Y
SENSORIAL***

Tesista: Ing. Agro Ind. Diego Fernando Rocha Parra

Directora: Dra. María Clara Zamora

Directora: Dra. María Cecilia Lanari

2016

El presente trabajo de Tesis, para optar al título de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, fue realizado en el Laboratorio de Alimentos y Análisis Sensorial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Pontificia Universidad Católica Argentina y el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA-UNLP-CONICET) bajo la dirección de la Dra. María Clara Zamora y la codirección de la Dra. María Cecilia Lanari.

Financiamiento

El presente trabajo fue financiado por el **Premio Nacional ARCOR a la Innovación en Alimentos, Edición 2013.**

Publicaciones y difusión

Parte de los resultados obtenidos en esta tesis fueron difundidos a través de su publicación en revistas con referato internacional, y en actas de congresos nacionales e internacionales.

Rocha Parra, D.F., Galmarini, M.V., Chirife, J., Zamora, M.C. (2015). Influence of information, gender and emotional status for detecting small differences in the acceptance of a new healthy beverage. ***Food Research International***. 76, 269–276.

Rocha Parra, D.F., Lanari, M.C., Zamora, M.C., Chirife, J. (2016). Influence of storage conditions on phenolic compounds stability, antioxidant capacity and colour of freeze-dried encapsulated red wine. ***LWT- Food Science and Technology***. 70, 162-170.

Rocha Parra, D.F., Garcia-Burgos, D., Munsch, S., Chirife, J., Zamora, M.C. (2016). Application of hedonic dynamics using multiple-sip temporal-liking and facial expression for evaluation of a new beverage. ***Food Quality and Preference***. 52, 153-159.

Rocha Parra, D.F., Garcia-Burgos, D., Munsch, S., Chirife, J., Zamora, M.C. (2015). Evaluación de la aceptación de una nueva bebida saludable mediante registros intensidad-tiempo y reacciones orofaciales. *Actas del XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Buenos Aires, Argentina.

Rocha Parra, D., Lanari, M.C., Chirife, J., & Zamora, M.C. (2015). Estabilidad físico- química de vino tinto encapsulado en una matriz de maltodextrina y

goma arábica. *Actas del XV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Buenos Aires, Argentina.

Rocha Parra, D.F., Garcia-Burgos, D., Munsch, S., Chirife, J., Zamora, M.C. (2015). The Dynamic Acceptance and Different Emotions Evoked Between Genders by a New Healthy Powdered Wine Beverage. *Actas del 11th Pangborn Sensory Science Symposium*. Gothenburgo, Suecia.

Rocha Parra, D.F., Galmarini, M.V., Chirife, J., Zamora, M.C. (2015). Formulation of a new healthy wine powder beverage according to consumers preferences. *Actas del 11th Pangborn Sensory Science Symposium*. Gothenburgo, Suecia.

Rocha Parra, D.F., Galmarini, M.V., Chirife, J., Zamora, M.C. (2014). Influencia de la información, género y tipo de escala en la detección de pequeñas diferencias en la preferencia de una nueva bebida saludable. *Actas International Conference on Food Innovation FoodInnova*. Concordia (Entre Rios), Argentina.

Dedico este trabajo a mis padres y a mi hermano, su apoyo incondicional y cariño genuino fueron necesarios para alcanzar este objetivo.

Los Justos

Un hombre que cultiva un jardín, como quería Voltaire.

El que agradece que en la tierra haya música.

El que descubre con placer una etimología.

Dos empleados que en un café del Sur juegan un silencioso ajedrez.

El ceramista que premedita un color y una forma.

Un tipógrafo que compone bien esta página, que tal vez no le agrada

Una mujer y un hombre que leen los tercetos finales de cierto canto.

El que acaricia a un animal dormido.

El que justifica o quiere justificar un mal que le han hecho.

El que agradece que en la tierra haya Stevenson.

El que prefiere que los otros tengan razón.

Esas personas, que se ignoran, están salvando el mundo.

Jorge Luis Borges

Agradecimientos

A la Dra. María Clara Zamora y al Dr. Jorge Chirife por ofrecerme la oportunidad de iniciar y culminar este proceso. Con gran gratitud recuerdo todo el apoyo que me brindaron durante estos años de trabajo. Cada uno desde su conocimiento y experiencia, me dio las herramientas necesarias para sacar adelante los objetivos planteados. Pienso que el crecimiento académico, profesional y personal que logré en estos años se lo debo en gran parte a la confianza que depositaron en mi trabajo, siempre tuvieron en cuenta mi opinión y me quedan los mas gratos recuerdos de los días en que nos podíamos sentar a discutir un resultado, escuchando lo que cada uno tenía para aportar con el fin de entender de la mejor manera posible eso que nos estaban mostrando los datos.

A la Dra. María Cecilia Lanari porque siempre saqué provecho de cada una de las reuniones que tuvimos, desde que inicié el Master hasta el día de hoy, además de sus anécdotas, las recomendaciones de libros, las charlas de historia siempre eran un plus cuando iba a consultarla.

Al CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) por haberme financiado la beca para la realización del doctorado, a la Universidad Nacional de la Plata (UNLP) por haberme permitido formarme durante estos años en el doctorado la Facultad de Ciencias Exactas con un nivel académico sobresaliente.

Al grupo de investigación en alimentos de la UCA, pues desde el primer día de trabajo siempre fueron amables y conté con su apoyo para lo que necesitara: Mara, Carolina, Rosa, Luciana, Iz mari y Virginia, quien también me enseñó mucho en mi desempeño como docente en la cátedra de Química Biológica.

Al personal del CIDCA, tanto técnico como administrativo, que de alguna manera contribuyeron en el desarrollo de mi trabajo directa o indirectamente.

A los Dres. David García-Burgos y Simone Munsch de la Universidad de Fribourg (Suiza) por el trabajo en colaboración para el análisis de las microexpresiones faciales.

A mi hermano Felipe quien ya pasó por esta etapa y sabe cuán importante es haber llegado hasta aquí.

A Juliana y Camilo que fueron mis compañeros de línea de investigación por su paciencia y colaboración.

A Facu y a Lucas que se convirtieron en un apoyo desde que los conocí, siempre sentí su sostén y amistad.

A mis compañeros del CIDCA con los que compartí muchos buenos momentos, y de los que también aprendí cosas valiosas.

A Pablito, a Gordelo, dos amigos colombianos con los cuales compartí ocasiones de alegría en este país.

A mis amigos que están en Colombia, siempre fue agradable escucharlos, o leerlos desde la distancia: Choky, Samuel, Menchito, Valencia, Camilo, Oscar, Julián.

A mis compañeros de la Alianza Francesa: Emily, Diego, Carito, Patricia, Ana, por quienes siento un gran aprecio.

A Caro, mi amiga “santiagueña”, que siempre estuvo dispuesta a escucharme cuando la necesité.

A mi familia, con la que siempre conté aún a la distancia, y en especial a mis incondicionales tías, a mi primo Juan Camilo que amablemente me ofrecía su departamento en Capital siempre que lo necesité, y por su puesto a mis padres.

Y finalmente, a todas las personas que me aportaron algo valioso en estos años, de todos ellos se aprende, muchas gracias

Resumen

La evidencia actual permite asegurar que el vino tinto posee un perfil fenólico abundante, variado y funcional (más de 200 compuestos diferentes). Sin embargo, existe un límite a su consumo debido al contenido alcohólico de la bebida. Más allá del complejo problema que ha significado determinar si el alcohol cumple un rol en los efectos saludables adjudicados al vino tinto, varios estudios permiten explicar estos efectos acudiendo únicamente a la fracción polifenólica.

En este sentido se hace necesaria la búsqueda de alternativas que permitan aprovechar ese interesante perfil de compuestos que integran la composición del vino tinto. Si bien, los polifenoles son compuestos que poseen propiedades funcionales apreciables, carecen de estabilidad a largo plazo por su sensibilidad a la luz, y en especial a la temperatura. Bajo este contexto, la liofilización puede ser una tecnología adecuada para su aprovechamiento teniendo en cuenta su probada termolabilidad.

El éxito de un nuevo producto lo determina el consumidor que es quién decide si lo vuelve a consumir. El análisis sensorial cuenta con metodologías tradicionales para conocer la opinión del consumidor que son robustas a nivel estadístico. Sin embargo, con los nuevos abordajes acerca de la compleja experiencia emocional se hace necesario acudir a metodologías innovadoras que aporten conocimientos para interpretar la información que ofrece el consumidor.

A lo largo de esta tesis doctoral se estudió el desarrollo, la caracterización físico-química y sensorial, así como la formulación de una bebida en polvo a base de vino tinto conteniendo sus polifenoles pero no el alcohol. Para ello, se obtuvo un polvo mediante liofilización de vino tinto *Cabernet sauvignon* adicionado de una mezcla de maltodextrina y goma arábica como coadyuvantes del secado. Se determinaron aspectos relacionados con la estabilidad física, tales como sorción de agua a diferentes humedades relativas, temperatura de transición vítrea (T_g) y análisis microestructural mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). El polvo de vino se almacenó bajo diferentes condiciones de humedad relativa y tiempo, y se realizó el seguimiento de los cambios de color (asociados a la degradación

de antocianinas), así como la estabilidad de la capacidad antioxidante y el perfil fenólico determinado por cromatografía líquida (HPLC-DAD).

Asimismo, durante el almacenaje se siguió la concentración de siete compuestos fenólicos en el polvo: ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico, resveratrol, malvidina 3-G y antocianinas totales. El ácido gálico, la catequina, epicatequina, ácido cafeico y resveratrol se mantuvieron aproximadamente constantes durante todo el período de almacenamiento (145 días a 38 °C,) a una actividad de agua (a_w) = 0,11. Por el contrario, la malvidina 3-G registró una importante disminución inicial. Con un valor de a_w superior a 0,33 y la misma temperatura (condiciones de almacenamiento acelerado), el ácido gálico fue el único compuesto que se mantuvo prácticamente constante. La catequina y epicatequina mostraron una disminución en el periodo inicial pero luego se mantuvieron constantes hasta el final de almacenamiento acelerado.

Malvidina 3-G y antocianinas totales fueron los compuestos fenólicos que mostraron mayores pérdidas durante el almacenamiento. Un aumento de la actividad de agua de 0.11 a 0,58 incrementó la pérdida de estos compuestos, indicando que la actividad de agua (o contenido de humedad) es el factor clave para la estabilidad de estos compuestos durante el almacenamiento.

La actividad antioxidante del polvo de vino (medido por DPPH * y el sistema β caroteno/ ácido linoleico) mostró una buena estabilidad durante los 145 días de almacenamiento acelerado. La disminución en los compuestos fenólicos analizados no afectó la capacidad antioxidante del polvo que se mantuvo constante. Este comportamiento puede ser explicado por las reacciones que ocurren entre los compuestos fenólicos oxidados que darían lugar a la formación de nuevas estructuras con capacidad antioxidante.

El análisis sensorial de la bebida formulada se realizó aplicando las técnicas tradicionales de evaluación combinadas con un enfoque innovador, que permitió seguir los cambios temporales de la aceptación de la bebida en forma dinámica con el fin de reflejar más fielmente las condiciones de un consumo habitual.

Se determinó el perfil descriptivo cuantitativo (QDA[®]) de cuatro prototipos seleccionados de la bebida formulada a base de polvo de vino,

edulcorante no calórico, goma guar y aroma a frambuesa. Estos prototipos fueron evaluados por 144 consumidores obteniéndose el de mayor aceptación, y a través de un mapa de preferencia se establecieron las características sensoriales (atributos) asociadas a esa preferencia. La muestra preferida fue la que contenía la mayor proporción de polvo de vino y edulcorante, siendo los atributos de dulzor y cuerpo los que determinaron esta aceptación. A partir de estos resultados se siguió trabajando con dos prototipos, el de mayor y menor intensidad de dulzor y cuerpo.

La evolución temporal de los atributos característicos se llevó a cabo por la técnica de Dominancia Temporal de las Sensaciones, aplicando esta misma metodología para evaluar la evolución de las emociones experimentadas durante el consumo (cambiando la lista de atributos por una lista de emociones), a través de un esquema de múltiples sorbos. La diferencia entre ambas muestras se observó durante la ingestión del primer sorbo en la dominancia de los atributos dulzor y aroma. En cuanto a las emociones, se identifica en la muestra más aceptada un perfil de bienestar (satisfecho y placentero) que se observa desde el primer sorbo y por un mayor período de tiempo.

El análisis dinámico de la respuesta hedónica se efectuó a través de los registros de intensidad de aceptación en función del tiempo (60 segundos) durante el consumo de tres sorbos consecutivos (0, 20 y 40 segundos). En paralelo a esta evaluación, se filmaron las caras de los consumidores (35 mujeres y 38 hombres) con el fin de medir las micro-expresiones faciales que luego fueron decodificadas a través de un programa que proporcionó la respuesta emocional de forma implícita. Con la medida implícita, se detectaron interesantes patrones en la aceptación debidos al género; como por ejemplo, que las mujeres mostraron una mayor intensidad de la valencia negativa y una mayor sensación de disgusto durante los tres sorbos, particularmente al primer contacto con la bebida (intervalo de tiempo de 1 segundo). Estos resultados apoyan la noción de la variación de la aceptabilidad a lo largo de la experiencia de consumo, y permiten destacar la metodología de múltiples sorbos como una herramienta adecuada destinada a observar la forma en que la aceptación varía con el tiempo.

Indice

Resumen	8
CAPITULO 1	14
1.1. El Vino	15
1.2. Composición del vino tinto	15
1.3. Vinos Argentinos	18
1.4. La "Paradoja Francesa"	20
1.5. El Vino y la Salud	21
1.5.1. Efectos antioxidantes	22
1.5.2. Efectos en la homeostasis lipídica	23
1.5.3. Efectos en la respuesta inmune	24
1.5.4. Incidencia sobre la enfermedad cardiovascular	24
1.6. El vino y el problema del alcohol	27
1.7. Encapsulación de polifenoles por liofilización	29
1.8. Temperatura de transición vítrea	34
1.9. El proceso de consumo y selección de un alimento	39
1.10. El estudio de las emociones.....	42
1.11. Medición de las emociones	43
1.11.1. Métodos explícitos.....	43
1.11.2. Métodos implícitos.....	44
1.12. La expresión facial	46
1.13. Interpretación de las expresiones faciales	47
1.14. Teoría de la emoción.....	47
1.15. Modelos dimensionales.....	49
1.16. Codificación manual de la expresión facial (Sistema FACS)	50
1.17. Análisis Automático de la Expresión facial.....	52
1.18. Etapas de la detección automática de la expresión facial.....	52
1.18.1. Detección facial	53
1.18.2. Extracción de los rasgos faciales	53
1.18.3. Clasificación de la expresión facial	54
HIPÓTESIS	55
OBJETIVOS	57
CAPITULO 2	58
2. MATERIALES Y MÉTODOS	59
2.1. Materiales y métodos correspondientes al Capítulo 3	59
2.1.1. Materiales.....	59
2.1.2. Procedimiento de encapsulación	59
2.1.3. Condiciones de almacenamiento	61
2.1.4. Actividad de agua (a_w).....	61
2.1.5. Contenido de humedad	61
2.1.6. Determinación de color	62
2.1.7. Isoterma de sorción.....	63
2.1.8. Temperatura de transición vítrea (T_g).....	63
2.1.9. Microscopía electrónica de barrido (SEM)	63
2.1.10. Polifenoles Totales	64
2.1.11. Capacidad antioxidante.....	65
2.1.11.1. DPPH•.....	66
2.1.11.2. Sistema β -caroteno / ácido linoleico.....	67

2.1.12. Análisis del perfil de polifenoles por HPLC	68
2.1.13. Análisis de los datos.....	70
2.2. Materiales y métodos correspondientes al Capítulo 4	70
2.2.1. Definición del concepto. Grupos de enfoque (Focus group)	70
2.2.2. Metodología Focus group.....	70
2.2.2.1. Presentación de las muestras	72
2.2.2.2. Adquisición de datos	72
2.2.2.3. Análisis de datos	72
2.2.3. Definición de la composición de los prototipos	72
2.2.4. Selección de prototipos	73
2.2.4.1. Metodología aplicada para la selección de los prototipos.....	73
2.2.4.1.1. Estudio de preferencia	73
2.2.4.1.1.1. Presentación de las muestras	74
2.2.4.1.1.2. Adquisición de datos	74
2.2.4.1.1.3. Análisis de datos	74
2.2.5. Perfil Descriptivo Cuantitativo QDA®	74
2.2.5.1. Entrenamiento del panel	74
2.2.5.1.1. Presentación de las muestras	76
2.2.5.1.2. Adquisición de datos	76
2.2.5.1.3. Análisis de datos	77
2.2.6. Agrupamiento (<i>Sorting task</i>).....	78
2.2.6.1. Metodología <i>Sorting task</i>	78
2.2.6.1.1. Presentación de las muestras	78
2.2.6.1.2. Adquisición de datos	78
2.2.6.1.3. Análisis de datos	79
2.2.7. Estudio de aceptación de los prototipos seleccionados.....	79
2.2.7.1. Desarrollo del estudio.....	81
2.2.7.1.1. Participantes.....	81
2.2.7.1.2. Procedimiento	82
2.2.7.1.3. Presentación de las muestras	84
2.2.7.1.4. Adquisición de datos	84
2.2.7.1.5. Análisis de los datos.....	84
2.3. Materiales y métodos correspondiente al Capítulo 5	85
2.3.1. Perfil dinámico: sensaciones y emociones empleando múltiples sorbos.....	85
2.3.1.1. DTS (Dominancia Temporal de Sensaciones)	85
2.3.1.2. DTE (Dominancia Temporal de Emociones).....	86
2.3.1.3. Metodología Múltiples Sorbos	87
2.3.1.4. Procedimiento perfil dinámico múltiple sorbo de sensaciones (DTS) ..	88
2.3.1.5. Procedimiento perfil dinámico múltiple sorbo de emociones (DTE)....	88
2.3.1.6. Entrenamiento Perfiles dinámicos DTS y DTE.....	89
2.3.1.6.1. Primera sesión	89
2.3.1.6.2. Segunda sesión.....	89
2.3.1.7. Evaluación formal DTS y DTE.....	90
2.3.1.8. Presentación de las muestras	91
2.3.1.9. Adquisición de datos	91
2.3.1.10. Análisis de datos.	91
2.3.2. Medidas explícitas de la evaluación dinámica hedónica:	
Curvas Aceptación Temporal Múltiples Sorbos (ATMS).....	93
2.3.2.1. Participantes.....	93

2.3.2.2. Ensayos preliminares	94
2.3.2.3. Procedimiento	94
2.3.3. Medidas implícitas de la evaluación dinámica hedónica: Expresiones faciales (valencia positiva/negativa, emociones básicas, unidades de acción)	95
2.3.4. Presentación de las muestras	98
2.3.5. Adquisición de datos	98
2.3.6. Análisis de datos	98
CAPITULO 3	100
3.1. Estabilidad física	101
3.2. Cambios de color	105
3.3. Estabilidad de polifenoles en el PVE.....	107
3.4. Capacidad antioxidante del PVE.....	112
3.5. Estabilidad microbiológica del vino del PVE	115
Conclusiones Parciales del Capítulo 3.....	116
CAPITULO 4	118
4.1. Focus Group.....	120
4.2. Definición y selección de prototipos	122
4.2.1. Estudio preliminar de preferencia.....	122
4.2.2. Perfiles preliminares de los prototipos iniciales.....	124
4.3. Prototipos finales.....	125
4.4. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA®).....	126
4.5. Prueba de agrupamiento (sorting task).....	128
4.6. Estudio de consumidores	129
4.6.1. Análisis de penalidades.....	129
4.6.2. Influencia del género y la información sobre la aceptación de la bebida.....	131
4.7. Mapa de preferencia externo	133
4.8. Doble chequeo: Escala Análoga Visual (VAS).....	135
4.9. Preguntas abiertas: qué gusta y qué no gusta de las muestras	137
4.10. Estado emocional.....	139
Conclusiones Parciales del Capítulo 4.....	142
CAPITULO 5	144
5.1. Perfiles dinámicos: sensaciones y emociones	146
5.1.1. Curvas DTS (Dominancia Temporal de Sensaciones).....	146
5.1.2. Curvas DTE (Dominancia Temporal de Emociones)	150
5.2. Curvas de Aceptación Temporal Múltiple Sorbo (ATMS).....	153
5.3. Expresiones faciales: valencia, emociones básicas y unidades de acción	155
Conclusiones Parciales del Capítulo 5.....	162
CONCLUSIONES	164
Conclusiones Generales	165
BIBLIOGRAFIA	169
ANEXOS	197

CAPITULO 1

1.1. El Vino

El vino es una bebida producida desde los inicios de la civilización, como se constata en los jeroglíficos alegóricos a la bebida, encontrados en las zonas egipcias de oriente-medio (Barnard y col., 2011). La importancia e influencia del vino en el desarrollo de varias sociedades antiguas, está asociada a un fuerte simbolismo sagrado, de ahí que le han consagrado diferentes dioses como Shesmu, Dionisio o Baco, la sangre de Cristo, entre otros (Mazué, 2011). Desde la antigüedad, el vino ha estado ligado al régimen alimentario de los países que bordean el mediterráneo (particularmente Francia, Italia y España). Las cifras de consumo de esta bebida, revalidan este comportamiento, sumado al importante consumo de otros países industrializados como USA que para el 2013 la Organización internacional de la Vid y el Vino (OIV) situaba con un consumo levemente superior al de Francia (constituyéndose en los dos países con más consumo de la bebida a nivel mundial). Estas cifras también destacan el consumo de vino en Alemania, China y algunos países sudamericanos como Chile, Argentina y Brasil. Debido a su importancia y creciente consumo, el vino ha suscitado un interés particular a nivel científico, indicado por el hecho de que no hay ninguna otra bebida que tenga una ciencia dedicada exclusivamente a su estudio como lo es la *enología*.

1.2. Composición del vino tinto

Como se ha visto el vino es una bebida que ha acompañado al hombre a través de la historia y los principios de su producción poco han cambiado a lo largo del tiempo. Su obtención se hace a partir de la fermentación alcohólica de la uva, en un proceso conocido como vinificación (Mazué, 2011). La mayoría de los compuestos presentes en la uva se encuentran en el vino, sin embargo, el proceso de vinificación puede variar el perfil final de esta bebida.

Durante la fermentación, y como consecuencia de la aparición del etanol, se favorece la extracción de compuestos fenólicos hidrofóbicos contenidos en la uva, que generalmente no aparecen o son escasos en otros productos generados a partir del mismo sustrato, como jugos, zumos o

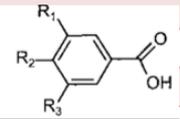
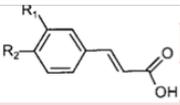
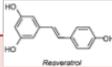
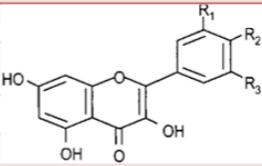
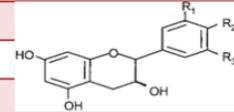
concentrados de uva. Otra consecuencia del proceso fermentativo es la aparición de productos secundarios como el glicerol, ácido acético, ácido succínico, ácido láctico, alcoholes superiores, aldehídos y cetonas (El Darra, 2013). Además, cuando el vino es almacenado en barriles de madera, generalmente fabricados de roble, puede haber transferencia de algunos compuestos aromáticos y/o fenólicos hacia la bebida (Mazué,2011).

Tabla 1.1. Principales compuestos del vino tinto (adaptado de Mazué,2011)



Compuesto		Concentración (g/L)	
		Minima*	Maxima*
Agua		800	900
Carbohidratos	Glucosa	0.5	1
	Fructosa	0.5	1
	Pentosas (arabinosa, xilosa)	0.8	2
	Pectina	0	trazas
	Inositol	0.3	0.5
	Fucosa	0	0.005
Etanol		80	150
Métanol y otros alcoholes		1.9	3
Glicérol		3	14
Aldéhididos		0.01	0.5
Acidos organicos (acidos tartarico, lactico, succionico, acetico, malico, citrico, fumarico)		3	11
Compuestos Nitrogenados		0.1	0.9
Compuestos Fenolicos		0.9*	2.5*
Compuestos minerales	Potasio, Magnésio, Dioxido de Carbono, Fosforo, Azufre, Calcio, Cloro, Silicio, Fluor, Aluminio, Manganéso, Sodio, Hierro, Bromo, Iodo, Cobre	1.5	4

Tabla 1.2. Principales compuestos fenólicos del vino tinto (adaptado de Mazué, 2011)

Compuesto		Concentración (mg/L)	
		Minima*	Maxima*
No Flavonoides		240	500
Acidos benzoicos		0	260
	Acido <i>para</i> -hidrobenzoico	20	20
	Acido galico	26	320
	Galatos	30	50
	Acido salicilico	N/D	N/D
	Acido sinigico	4.2	5.9
	Acido protocatécunico	88	88
Acidos hidroxicinamicos		62	334
	Acido <i>cis/trans</i> -couterico	16	24
	Acido <i>cis/trans</i> -caftarico	11	47
	Acido caféico	3	18
	Acido cumarico	7.5	22
	Acido férulico	19	19
Estilbenos		4	19
	 <i>Trans</i> -resvératrol	0.1	2.3
Flavonoides		750	1060
Flavonoles		10	203
	Quercétina	5	53
	Mirecétina	2	45
	Kamempférol	18	18
	Rutina	0.5	10.8
Flavonoles		48	440
	Catéquina	27	191
	Epicatéquina	21.4	128
	Procianidinas	29	333
Antocianinas		20	500
	Delfinidina 3-monoglucosido	22	22
	Cianidina 3-monoglucosido	2.8	38
	Pétunidina 3-monoglucosido	18	18
	Péonidina 3-monoglucosido	32	32
	Malvinidina 3-monoglucosido	24	170
Total de compuestos fenolicos		900*	2500*

1.3. Vinos Argentinos

Argentina es un creciente productor y consumidor de vino a nivel mundial, con cerca de 225846 hectáreas de viñedos representa aproximadamente el 3 % del área total cultivada a nivel mundial. La provincia de Mendoza tiene cerca del 70 % del área destinada a la producción de uva vinícola, convirtiéndose en una de las más o la más importante región argentina destinada a la viticultura (Fanzine y col., 2010).

Debido a la creciente importancia de la vitivinicultura en Argentina, el Fondo Vitivinícola Mendoza –en el año 2000- dio un paso fundamental para avalar científicamente los beneficios del vino argentino en la salud. Para esto, realizó un estudio interdisciplinar titulado “Vinos argentinos, salud y calidad de vida” que es el primer antecedente argentino de trascendencia mundial con información analítica específica y competente sobre las propiedades antioxidantes de los vinos argentinos. Se estudiaron 100 vinos tintos que abarcaron un amplio rango de variedades y lugares de origen, con predominancia de la región Mendoza. Los variedades estudiados fueron Malbec, Cabernet *sauvignon*, Tempranillo, Merlot y Bonarda. Se estudió tanto la capacidad antioxidante y la composición polifenólica de los vinos elegidos; con respecto a la capacidad antioxidante se utilizaron métodos independientes: químicos (inhibición de la oxidación de liposomas y oxidación del NADH por peroxinitrito), bioquímicos (oxidación de vitamina E plasmática por AAPH) y fisiológicos (oxidación de células Jurkat y producción de especies activas del oxígeno por aorta de rata). Prácticamente todos los vinos estudiados tuvieron capacidad antioxidante en todos los ensayos empleados. En ensayos dosis/respuesta realizados con algunos de los vinos seleccionados se observó que la respuesta de los diferentes ensayos dependía de la cantidad de vino adicionada (a mayor dosis mayor respuesta), indicando la causalidad del vino en la capacidad antioxidante. En general, el poder antioxidante de los 100 vinos argentinos estudiados estuvo directamente ligado a la riqueza polifenólica de los mismos. Los vinos con un perfil más rico en polifenoles expresaron mayor poder antioxidante, particularmente flavano 3-oles (catequinas monoméricas) y proantocianidinas (taninos, catequinas poliméricas). La alta capacidad antioxidante encontrada se confirmó cuando se compararon los vinos

argentinos con vinos similares de Francia, España, Italia y Chile. Esta capacidad antioxidante no fue influenciada significativamente por la variedad o la zona de producción pero sí por el rendimiento del viñedo (Fondo Vitivinícola Mendoza, 2009).

Otro estudio relacionado con la valoración de la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales en vinos de origen argentino fue realizado por Avalos-Llano y col. (2003) que estudiaron 12 vinos tintos, 5 vinos rosados y siete vinos blancos. Los resultados mostraron un mayor número de fenoles totales para los vinos tintos argentinos con un rango de variación de 553.3 mg Ac. gálico/L a 1803.3 mgAc. gálico/L, seguido por los vinos rosados en el rango de 574.1 mg ac. gálico/L a 674.7 mg ac. gálico/L, y finalmente los vinos blancos con un menor contenido de fenoles variando desde los 67.3 mg ac. gálico/L a 318.0 mg ac. gálico/L. Además, se encontró una relación lineal entre la actividad antioxidante (vía DPPH) de los 24 vinos argentinos estudiados y el contenido de fenoles totales (coeficiente de correlación $r^2 = 0.981$).

Camussoni y Carnevali (2004) analizaron el contenido de polifenoles de 10 vinos argentinos (variedades Merlot, Malbec, Syrah, Bonarda y Cabernet *sauvignon*) provenientes de dos zonas vitivinícolas argentinas importantes: Mendoza y San Juan. Además, hicieron comparaciones con valores encontrados en otros vinos a nivel mundial. El estudio destaca que los vinos argentinos analizados tienen rangos de fenoles totales que variaron de 1200 a 2400 mg ac. Gálico/L, que son valores que se encuentra dentro del rango reportado en otros vinos a nivel mundial. Señalan también, que los valores de proantocianidinas presentan gran variación en los vinos analizados, con un rango que iba desde los 200 mg/L hasta los 1100 mg/L. El estudio señala que estos últimos valores están dentro del promedio de proantocianidinas reportado para otros vinos a nivel mundial. Finalmente, reportaron un contenido antocianos totales en los vinos analizados que variaba entre 200 mg/L y 650 mg/L, destacando que se encuentran en los límites de otros trabajos reportados a nivel mundial .

Fanzone y col., (2010) estudiaron 61 monovarietales Malbec provenientes de 11 zonas geográficas de la República Argentina. En todas las muestras el contenido de fenoles totales varió entre de 1932 y 3507 mg/L,

destacando que estos resultados están cercanos a los conseguidos por Minussi y col. (2003) para vinos latinoamericanos. El contenido de antocianos totales encontrado estuvo comprendido en el rango de 261 a 803 mg/L. El contenido total de taninos varió entre 2783 a 4943 mg/L, valores similares a los observados en vinos Uruguayos *Cabernet sauvignon*, Merlot y Tannat (González-Neves y col., 2004).

1.4. La “Paradoja Francesa”

El padre de esta paradoja fue el médico nutricionista y epidemiologista francés Serge Renaud, quien para 1992 publicó en la revista *The Lancet* (área epidemiología) una constatación epidemiológica de un evento que bautizó “*la paradoja francesa*”. Con datos epidemiológicos provenientes del proyecto MONICA (a cargo de la Organización Mundial de la Salud), basado en el monitoreo de las tendencias y determinantes de la enfermedad cardiovascular a nivel mundial, el Dr. Renaud constató que Francia tenía una baja tasa de incidencia de la enfermedad cardíaca, a pesar de que tenía índices de consumo de grasa saturada elevados (asociados a problemas vasculares) similares a otros países industrializados como Reino Unido y Estados Unidos (ver **Figura 1.1.**).

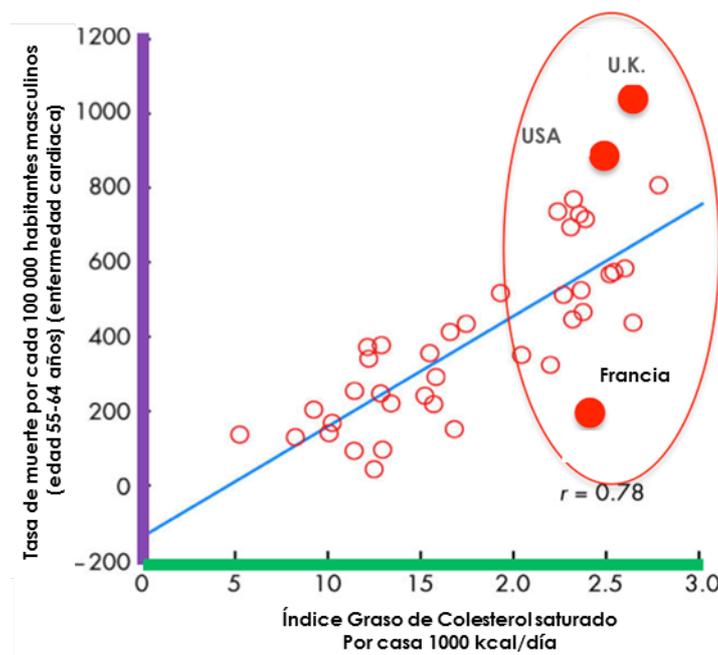


Figura 1.1. Paradoja francesa (adaptado de Renaud y de Lorgeril, 1992)

Renaud planteó una hipótesis para explicar dicha paradoja partiendo de las cifras obtenidas en estudios previos. Él sugirió que el consumo de vino tinto podría explicar este comportamiento paradójico, en la medida que mostraba el elevado consumo de vino tinto en el país galo, comparado con otros países que al igual que Francia tenían alto consumo de grasas saturadas. En ese mismo artículo Renaud discutía cifras sobre la asociación entre el consumo moderado de vino tinto y el menor riesgo de enfermedad cardíaca. A partir de este artículo (Renaud y de Lorgeril, 1992) surgieron una gran cantidad de investigaciones que buscaban explicar el efecto benéfico del consumo moderado de vino tinto sobre la salud.

1.5. El Vino y la Salud

Se ha demostrado que el vino tinto está asociado a un mayor grado de beneficios para la salud que el vino blanco. Esto encuentra una explicación en el hecho que los polifenoles del vino, que se originan principalmente de las pieles y semillas de uvas, están presentes en una mayor variedad y concentración en el vino tinto que en el vino blanco, debido a que la uva roja es más rica en ellos especialmente contenidos en la piel. Las interacciones químicas entre los diferentes compuestos fenólicos y otros constituyentes del vino, se combinan para producir una serie de diferentes efectos que inciden sobre la salud (**Figura 1.2**).

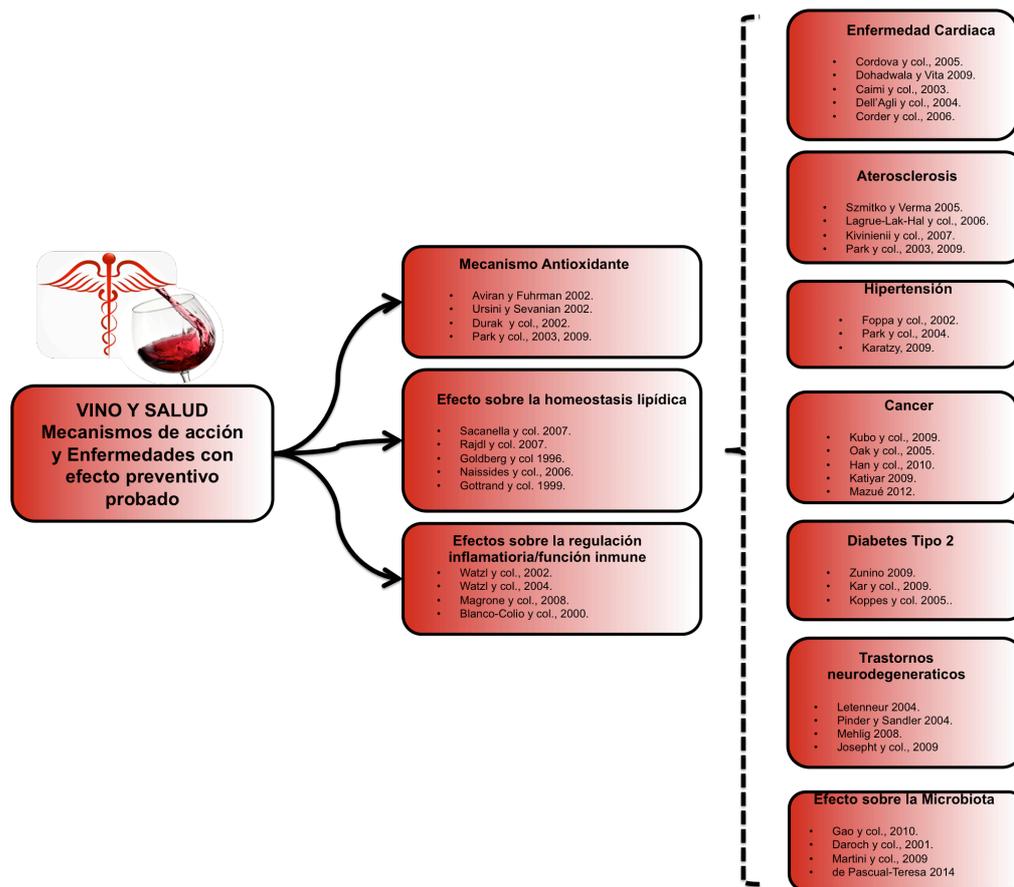


Figura 1.2. –El vino y la salud (adaptado de Guilford y Pezzutto (2011))

1.5.1. Efectos antioxidantes

El estrés oxidativo (desbalance interno entre sistemas oxidantes y antioxidantes) está asociado con enfermedades crónicas, incluyendo la aterosclerosis, insuficiencia cardíaca, algunos tipos de cáncer y la degeneración neurológica; además se cree que acelera el proceso de envejecimiento. Una dieta alta en grasas saturadas causa altos niveles de daño oxidativo a las lipoproteínas del plasma, que debe ser contrarrestado con compuestos antioxidantes que lo eviten. La oxidación del colesterol LDL está fuertemente asociada con la enfermedad cardiovascular. Se ha demostrado que los flavonoides del vino tinto protegen contra la oxidación de las lipoproteínas LDL (Aviram y Fuhrman, 2002; Ursini y Sevanian, 2002). El potencial antioxidante del vino tinto está ligado al aumento de la capacidad antioxidante del plasma, la supresión de la generación de especies reactivas de oxígeno, el aumento de la capacidad de absorción de radicales oxígeno en el

suero, y la disminución del daño oxidativo del ADN (Guilford y Pezzuto, 2011). Las procianidinas del vino tinto son especialmente activas en la prevención de la oxidación de los lípidos de los alimentos, mientras están en el tracto digestivo. Esto indica que el consumo de vino tinto acompañando a las comidas proporciona una mayor protección a los daños oxidativos (Ursini y Sevanian, 2002). Los efectos antioxidantes del vino tinto y de sus principales polifenoles han sido demostrados en sistemas in vitro, cultivo celulares, y estudios clínicos humanos (Soleas y col., 1997; Fernández-Pachon y col., 2006; Modun y col., 2008). Los más importantes compuestos antioxidantes presentes en el vino incluyen al ácido cafeico, catequina, ácido clorogénico, epicatequina, ácido ferúlico, mircetina, ácido procatecuico, quercetina, y resveratrol (Chopra y col., 2000; Boveris y col., 2002; Afaq y col., 2003). Se ha observado una correlación de la actividad antioxidante con el contenido de polifenoles en vinos tintos (López-Vélez y col., 2003). Pignatelli y col. (2006) demostraron en estudios clínicos que los polifenoles del vino tomados en concentraciones relevantes interaccionan sinérgicamente para producir efectos antioxidantes.

1.5.2. Efectos en la homeostasis lipídica

El consumo moderado de vino tinto se asocia con cambios beneficiosos en la homeostasis de los lípidos. El consumo de vino aumentaría las lipoproteínas del colesterol de alta densidad (HDL), que son importantes para librar al cuerpo del exceso de colesterol. El vino también ayuda a disminuir los niveles de colesterol LDL, que se asocia con un alto contenido en grasas saturadas en la dieta. Los elevados niveles de colesterol LDL están asociados con un mayor riesgo de aterosclerosis, obesidad, diabetes tipo 2 (Njajou y col., 2009). El vino tinto es más efectivo que el vino blanco aumentando los niveles de HDL lo que sugiere que los polifenoles del primero juegan un papel importante en el balance lipídico (Guilford y Pezzuto, 2011). En este sentido, otros estudios señalan que la presencia de etanol en el vino puede ayudar al incremento de lipoproteínas HDL (Goldber y col., 1996; Naissides y col., 2006).

1.5.3. Efectos en la respuesta inmune

La inflamación crónica es un componente crítico en muchas enfermedades, condiciones y desórdenes humanos, incluyendo la obesidad, enfermedad cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas, diabetes, envejecimiento, y algunos tipos de cáncer. Tanto el etanol como los polifenoles del vino tinto son capaces de modular la respuesta inmune (Magrone y col., 2008). Los cambios en biomarcadores inflamatorios estudiados en humanos sugieren que el vino tinto es capaz de proteger al cuerpo contra diversos trastornos relacionados con desórdenes del sistema inmune, estimulando tanto la respuesta inmune innata como la adaptativa, así como la reducción de la inflamación. Ejemplos de estos cambios incluyen la supresión de la liberación de citoquinas inflamatorias (tales como factor-kappaB nuclear), y la inducción de la liberación de citoquinas antiinflamatorias y otras moléculas de protección (interleuquinas 1 α , 6, 10, 12, y el interferón-gamma). Por otra parte, se ha demostrado que el óxido nítrico (NO), el cual protege al cuerpo contra las infecciones, se libera de células sanguíneas mononucleares en respuesta a polifenoles del vino tinto. Los biomarcadores inflamatorios que se reducen por el consumo de vino tinto incluyen la proteína C-reactiva (CRP), monocitos, y moléculas de adhesión endotelial (CAM1-vascular, ICAM-1, LFA-1, Mac-1, VLA-4, MCP-1). El vino también está asociado con una reducción en el fibrinógeno (responsable de la coagulación), la viscosidad del plasma, y el recuento de glóbulos blancos (Estruch y col., 2004; Imhof y col., 2004). En estudios en humanos y animales, se encontró que los jugos de uva y sus extractos ayudan a la función inmune, exhibiendo efectos antiinflamatorios, lo que soportaría el papel de la fracción polifenólica del vino tinto (Zern y col., 2005, Castilla y col., 2006, 2008, Percival 2009). Respecto a la función en el sistema inmune el vino tinto parece tener mayores efectos positivos que el vino blanco (Guilford y Pezzuto, 2011).

1.5.4. Incidencia sobre la enfermedad cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo, tanto en hombres como en mujeres. Estudios epidemiológicos y

meta-análisis han demostrado que el consumo moderado de vino tinto (uno a dos vasos al día) se asocia con una disminución de la mortalidad cardiovascular y una disminución del riesgo de enfermedad cardíaca (de Gaetano y col., 2003). Estos beneficios se han atribuido al aumento de las capacidades antioxidantes, los cambios en los perfiles de lípidos, y efectos antiinflamatorios (Córdova y col., 2005; Dohadwala y Vita, 2009). Estudios clínicos demostraron que el vino blanco, vino tinto, y extractos de uva conducen al aumento de los niveles de adiponectina (hormona que participa en el metabolismo de los ácidos grasos), lo que genera una disminución del riesgo de infarto de miocardio (Sano y col., 2007; Joosten y col., 2008; Imhof y col., 2009). En estudios sobre modelos animales, se ha encontrado que el resveratrol y las proantocianidinas son algunos polifenoles del vino tinto que se asocian a la protección contra el daño del miocardio por reperfusión (Das y col., 1999; Rakotovo y col., 2004; Opie y Lecour 2007).

Aterosclerosis. Los estudios realizados con sistemas in vitro, animales y humanos han demostrado que los polifenoles del vino tinto interfieren con la iniciación, progresión, y ruptura de las placas ateroscleróticas por exhibir actividad antioxidante, antiplaquetaria, y antitrombótica (Aviram y Fuhrman, 2002; Szmitko y Verma, 2005; Lagrue- Lak-Hal y Andriantsitohaina, 2006). Los polifenoles del vino tinto disminuyeron la presión arterial, redujeron la inflamación, mejoraron la función endotelial, disminuyeron la expresión de la adhesión de molécula, e inhibieron la proliferación de células del músculo liso a nivel vascular (Dell'Agli et al., 2004). Todos estos procesos, interfieren con el desarrollo de la placa aterosclerótica, trombosis vascular, y la oclusión. Los vinos tintos han mostrado efectos positivos sobre biomarcadores de la aterosclerosis en seres humanos sanos, incluyendo una disminución de la relación LDL / HDL, niveles de fibrinógeno, lipoproteína (a), factores coagulantes, CRP, y los niveles de oxidación de LDL (Sharpe y col., 1995; Avellone y col., 2006). Además, se ha reportado el aumento de colesterol HDL, niveles de TGFbeta, t-PA, PAI-1, fluidez de la membrana, y capacidad antioxidante plasmática total, debido a la acción del vino tinto. Los estudios clínicos también demostraron que las intervenciones a corto plazo con moderada cantidades de etanol, vino tinto desalcoholizado, o vino espumoso

con bajo nivel de polifenoles redujeron el riesgo de aterosclerosis, medida por biomarcadores (Vazquez-Agell, 2007; Imhof y col., 2008).

Hipertensión. Los polifenoles del vino tinto tienen efectos vaso relajante que se asocian con la presión arterial baja (Carollo y col., 2007). El consumo de vino tinto, vino tinto desalcoholizado, y jugo de uva redujeron la presión arterial en pacientes con enfermedad arterial coronaria o hipertensión (Foppa y col., 2002; Park y col., 2004; Karatzi y col., 2005; Jimenez y col., 2008). Los beneficios parecen ser mayores cuando el vino tinto (y en menor medida, el vino blanco) se consume durante una comida (Papamichael y col., 2008). Para el caso particular del control de la hipertensión se cree que los polifenoles, en lugar del alcohol, son los responsables de este efecto saludable ya que el mismo también se encontró con extractos de uva (Guilford y Pezzuto, 2011).

Incidencia sobre el cáncer. Un alto porcentaje de la literatura referente a los efectos preventivos del vino tinto contra el cáncer se centra en un compuesto en particular: el resveratrol. Este compuesto suprime la proliferación de una amplia variedad de células tumorales, incluyendo linfocitos, mieloides, de mama, próstata, estómago, colon, páncreas, tiroides, piel, cabeza, ovario y cuello uterino. Además, ha sido eficaz en la prevención de la formación de cáncer de piel, oral, colorrectal, esófago, hepatoma, neuroblastoma, glioma, laringe, y tumores gástricos en modelos animales (Guilford y Pezzuto, 2011). El resveratrol ha recibido gran parte de la atención, ya que bloquea el proceso multi-estadios de la carcinogénesis en varias etapas: la activación de carcinógenos, la iniciación del tumor, la promoción de tumores y la progresión del tumor (Jang y col., 1997). Otros compuestos del vino tinto de actividad anticancerígena interesante son las procianidinas B5 y análogas, y la miricetina (He y col., 2008). El consumo de aproximadamente un vaso de vino al día se asoció con un menor riesgo de desarrollar esófago de Barrett, un precursor del adenocarcinoma de esófago, cuando se hizo la comparación de bebedores y no bebedores (Kubo y col., 2009). Chao (2007) encontró mediante un meta-análisis que el consumo moderado de vino tiene una asociación inversa con el desarrollo de cáncer de pulmón. En un estudio de pacientes mujeres con linfoma no Hodgkin se encontró una significativa mejora en la supervivencia global a cinco años (75% vs. 69%) y una mejora de supervivencia libre de la

enfermedad (70% vs. 67%) de los consumidores de vino moderado en comparación con los abstemios (Han y col., 2010).

1.6. El vino y el problema del alcohol

Como puede verse, existe numerosa bibliografía encaminada a explicar los complejos procesos asociados a la prevención de enfermedades degenerativas mediante el consumo de vino tinto (**Figura 1.2.**). Una parte importante de esos trabajos ha intentado demostrar el efecto benéfico que podría tener el consumo de vino tinto sobre la enfermedad cardíaca. Teissedre y col. (1995) estudiaron los efectos de los compuestos fenólicos de la uva, y el vino tinto sobre la salud, sugiriendo que si bien hay evidencia sobre el efecto positivo del alcohol del vino en el aumento del tenor de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), la disminución de la oxidación de baja densidad (LDL), y la prevención de la agregación plaquetaria (causante de enfermedad coronaria), el efecto del alcohol no sería suficiente para explicar y entender la protección del vino tinto frente a la enfermedad cardíaca. En este contexto, si bien existen estudios que destacan el efecto positivo del alcohol del vino sobre la enfermedad cardiovascular y su importancia en la homeostasis de lípidos y efecto antiplaquetario (Tsang y col., 2005; Lavy y col., 2004; Pace-Asciak y col., 1996; Pellegrini y col., 1996), también existen otros estudios que explican los efectos benéficos del vino tinto sobre la enfermedad cardíaca acudiendo únicamente a la **fracción polifenólica del vino tinto**. Estos estudios se realizaron usando vino tinto desalcoholizado, o controles a partir de extractos y/o jugos de uva. De esta forma, Frankel y col., (1993), Zern y col., (2005), Castilla y col. (2006) comprobaron que la fracción fenólica del vino tinto conseguía regular la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad LDL y/o intervenía de manera favorable en el balance lipídico de las lipoproteínas. Junto con ellos Folts, (1998) y Keevil y col., (2009), verificaron que la actividad antiplaquetaria se puede explicar por el contenido fenólico presente en el vino tinto.

Como bien lo plantean Guilford y Pezzutto (2011), aunque existe evidencia extensiva que adjudica los efectos benéficos del vino tinto sobre la salud tanto a la fracción etanólica como a la fracción fenólica, no deja de ser un problema bastante complejo de resolver el mayor o menor peso que tienen en los diferentes mecanismos saludables de acción. Debido a la complejidad del sistema metabólico de los seres humanos, existen diferentes mecanismos de acción del vino tinto que actúan para diferentes tipos de enfermedades, y si bien la acción conjunta de las dos fracciones puede generar efectos sinérgicos, en otros mecanismos dicho sinergismo puede no tener incidencia alguna.

Además, se debe recordar que la fracción etanólica, en dosis elevadas genera toxicidad, de ahí que muchos de los estudios sobre el efecto benéfico del vino tinto terminan en la recomendación de un consumo moderado de la bebida. Klatsky (2015) hizo un análisis de los aspectos relacionados con los estándares de consumo recomendados para bebidas alcohólicas como el vino. Su análisis hizo hincapié en que si bien hay evidencia que apoya la acción benéfica del alcohol sobre la salud, muchas de las curvas de riesgo de enfermedad cardíaca vs. consumo de vino no son respuestas lineales, situación que aumenta la complejidad a la hora de generar recomendaciones. Finalmente, hace recomendaciones para realizar estudios epidemiológicos sin dejar de lado el reconocimiento que se hace a nivel mundial de que el consumo de alcohol es un problema de salud pública. En este sentido, uno de los efectos más negativos del consumo de vino tinto es que por su contenido alcohólico puede ser causante de intoxicación etílica o embriaguez. Este es un estado que se alcanza cuando el etanol actúa sobre el sistema nervioso central, alterando todas las funciones cerebrales. Dos problemas gravemente asociados al consumo alcohólico son los accidentes generados (principalmente por las cifras de accidentes automovilísticos) y la inducción hacia el alcoholismo o estado de dependencia alcohólico, un tema bastante complejo de analizar, en la medida que tiene muchas implicaciones sociales y psicológicas. Para el caso de consumo excesivo de una bebida alcohólica, hay evidencia que lo asocia a problemas neurológicos ligados a depresiones y/o suicidios, problemas de desarrollo del feto en madres alcohólicas, cirrosis alcohólica, pancreatitis aguda, y la asociación con algunos tipos de cánceres. De hecho, respecto a esto último, el Centro Internacional de Investigación sobre el Cáncer (CIRC, por

sus siglas en francés) clasifica al etanol como un cancerígeno del grupo 1 (Mazué, 2011).

Más allá del obligatorio límite impuesto al consumo de vino debido a su carga etanólica, la evidencia actual permite asegurar que el vino tinto posee un interesante, abundante, variado y funcional perfil fenólico (más de 200 compuestos diferentes), que hace necesaria la búsqueda de alternativas que permitan aprovechar dicha fracción fenólica de la mejor manera. En un contexto de nutrición preventiva y hábitos de vida saludable, Manach y col., (2004) sugieren que esta fracción puede ser considerada como un valioso complemento funcional para la dieta diaria.

1.7. Encapsulación de polifenoles por Liofilización

Munin y Edwards-Lévy (2011) señalaron que, si bien los polifenoles son compuestos que poseen propiedades interesantes para su uso funcional, carecen de estabilidad a largo plazo, ya que suelen ser muy sensibles a la luz y a la temperatura, y propensos a cambios oxidativos asociados a condiciones de almacenamiento .

Las reacciones de oxidación pueden conducir a la formación de sustancias más o menos polimerizadas, que producen cambios en la calidad de los alimentos, asociados al color y/o las características sensoriales. Fang y Bhandari (2010) establecen algunas condiciones ambientales, que afectan a los polifenoles de acuerdo a la familia química a la que pertenecen. De esta forma plantean que, **Ácidos Hidroxibenzoicos:** son sensibles a la temperatura, oxidación, pH y luz. **Ácidos Hidroxicinámicos:** son sensibles a la oxidación y pH; **Flavanoles:** *Catequinas:* son sensibles a la oxidación, luz y pH; *Taninos (proantocianidinas):* son sensibles a las altas temperaturas y oxidación. **Flavonoles:** son sensibles a la oxidación luz y pH. **Antocianinas:** son altamente sensibles a la temperatura, oxidación, pH y luz.

Por esta razón es necesario buscar métodos que protejan estos compuestos de la influencia de las condiciones ligadas a su deterioro, y garanticen su estabilidad.

La liofilización es uno de los métodos físicos empleados para realizar encapsulación de materiales la cual consiste en una técnica de protección de los compuestos por la cual los mismos son recubiertos (o atrapados) dentro de otro material (Madene y col., 2006). La sustancia que se usa para encapsular el material (en este caso los polifenoles) se suele llamar *carrier*, material de pared, material de soporte, o matriz (Nedovic y col., 2011).

Por medio de la encapsulación se producen diferentes tipos de morfología llamadas **tipo reservorio** y **tipo matriz**. La primera se llama también capsula, núcleo simple, o mono-nuclear y consiste en un solo núcleo rodeado de una cobertura. La segunda se conoce como poli-nuclear, o de múltiples núcleos, y puede ser representada como agregados en donde en encuentra dispersos o embebidos muchos núcleos del agente activo disperso en la matriz, Una variante de la morfología tipo matriz puede ser una capsula poli-nuclear, es decir el material disperso pero rodeado de una pared (Schrooyen y col., 2001; Nedovic y col., 2011). (ver **Figura 1.3.**)

Las diferentes morfologías que adopten los encapsulados dependen del proceso de encapsulación empleado, de las propiedades del compuesto encapsulado y del material de pared empleado (Fang y Bhandari, 2010).



Figura 1.3. Morfologías típicas de la encapsulación

El proceso de encapsulación, independientemente de la técnica y los materiales empleados, busca generar una barrera entre el compuesto activo y el ambiente que lo rodea, garantizando que este permanezca lo más libre de influencias del exterior posible (llámese efectos de luz, humedad y oxígeno) para aumentar de esta manera su estabilidad .

La liofilización también conocida como “criodesecación”, ha sido usada en numerosas aplicaciones a través del tiempo, siendo las más comunes la industria farmacéutica y de alimentos. Hay sin embargo muchos otros usos para este proceso incluido la estabilización de biomateriales vivos tales como cultivos microbiológicos y preservación de especímenes para su manejo en museos. La liofilización es un proceso de deshidratación que involucra la remoción de agua a partir de un producto congelado por medio de la sublimación. Esta última ocurre cuando un líquido congelado pasa directamente al estado gaseoso sin pasar por el estado líquido.

La encapsulación mediante secado por congelación (liofilización) puede ser utilizada en la industria de los alimentos para proteger compuestos nutraceuticos de naturaleza termolábil, previniendo su oxidación, reduciendo pérdidas en sustancias volátiles, dificultando la interacción prematura de estos

con otros ingredientes alimentarios, con la ventaja de favorecer su manipulación (Deyse Gurak y col., 2013).

Numerosos agentes encapsulantes están disponibles para su uso en los alimentos. El encapsulante ideal debe tener propiedades de formación de película, emulsionantes, ser biodegradable, resistentes en el tracto gastrointestinal, baja viscosidad a alto contenido de sólidos, baja higroscopicidad y tener un bajo costo. Los hidrocoloides, tales como maltodextrina y goma arábica, están entre los *carriers* más comúnmente utilizados en el proceso de encapsulación de jugos de fruta ya sea utilizando secado por spray o liofilización. Estos *carriers*, así como las mezclas entre ellos, protegen también adecuadamente compuestos bioactivos provenientes de frutas (por ejemplo, antocianinas) de la oxidación (Ferrari y col., 2013; Tonon y col., 2010).

Recientemente, Mahdavi y col., (2014) estudiaron la microencapsulación de las antocianinas con diferentes biopolímeros a través de secado spray para desarrollar pigmentos naturales que tuvieran una alta estabilidad, solubilidad y dispersabilidad. Estos autores observaron que la elección del biopolímero usado para la microencapsulación mediante secado spray es muy importante para la eficiencia de la encapsulación y la estabilidad de la micro cápsula. Indicaron, además, que los biopolímeros generalmente adecuados para la microencapsulación en secado por spray de las antocianinas incluyen goma arábica y maltodextrina. La encapsulación puede también ser utilizada para producir pigmentos en polvo obtenidos a partir de subproductos del vino, aunque este proceso requiere una etapa adicional de extracción previa usando solventes.

De Souza y col., (2014) produjeron y evaluaron pigmentos en polvo obtenidos a partir subproductos de vinificación de uvas rojas Bordo (*Vitis labrusca*). El extracto concentrado obtenido a partir de los subproductos fue secado tanto por spray como por liofilización bajo diferentes condiciones de operación, por ejemplo temperaturas de entrada de aire (130 a 170 ° C) y concentración de *carriers* (maltodextrina) (10-30%).

Sánchez y col., (2011) encapsularon vino tinto por liofilización empleando 20% (en peso) de maltodextrina como único *carrier*. Cuando no se utilizó maltodextrina luego de liofilizar vino tinto se obtuvo una masa pegajosa difícil de manejar (**Figura 1.4.**). La explicación a este fenómeno se debe a la baja temperatura de transición vítrea del extracto seco del vino tinto que incluye compuestos como el glicerol, azúcares reductores, ácido tartárico y ácido málico (Fang y Bhandari, 2010). Como se verá en el siguiente apartado (1.8.), la temperatura de transición vítrea (T_g) del sistema es determinante en la formación de un estado “gomoso” como el que se observó cuando se liofilizó el vino tinto sin coadyuvantes. La humedad absorbida en sistemas deshidratados, como se verá más adelante, produce un efecto plastificante sobre la T_g , postibilitando el aumento de la degradación química como consecuencia de la mayor movilidad molecular (Li y col., 2011).



Figura 1.4. Vino tinto liofilizado con y sin coadyuvante (adaptado de Sánchez y col., 2011)

Es de hacer notar, que en la encapsulación hay que tratar de utilizar la menor proporción posible de agentes encapsulantes para así obtener una mayor concentración de polifenoles en el producto seco resultante.

1.8. Temperatura de transición Vítrea

Las transiciones de fase son cambios en el estado de los materiales, que tienen efectos significativos en sus propiedades físicas. El conocimiento de las temperaturas de transición y su dependencia con la composición son factores importantes en el control de los procesos de elaboración, almacenamiento y manipulación de alimentos (Galmarini, 2009). A partir década de los 90, se comenzaron a estudiar conceptos relacionados con las transiciones de fase que intentan dar explicación a fenómenos que ocurren en muchos alimentos basados en modelos que hacen parte de la ciencia de los polímeros (Khalloufi, 2001).

Muchos autores consideran la matriz alimentaria, como una compleja mezcla de moléculas compuesta por azúcares, aminoácidos, proteínas, lípidos, y otros compuestos menores, que se encuentran influenciados por el contenido de agua presente en el sistema. Esta compleja composición, sumado a que pueden existir en más de una fase dentro del sistema hace que la matriz alimentaria sea definida como una mezcla multifase de biopolímeros que pueden estar en condiciones termodinámicamente estables (sólidos cristalinos, solución líquida, o vapor de agua), termodinámicamente meta-estables (vítrea, gomoso) o en ambas condiciones (Khalloufi, 2001).

Roos (2006) ha señalado que las transiciones que dominan a los alimentos de baja humedad (deshidratados, congelados, liofilizados) son aquellas típicamente asociadas a sistemas amorfos o no cristalinos, donde predominan las condiciones de no equilibrio o metaestabilidad que las hace dependientes del tiempo. El estado amorfo de un material, se refiere a que su estructura molecular se encuentra distribuida al azar, sin seguir patrones de orden definidos, es decir, que no es posible definir la posición exacta de las moléculas constituyentes en un determinado período de tiempo (Roos, 2009).

La transición vítrea es una de las más importantes características fisicoquímica de los sólidos amorfos (no cristalinos) siendo una transición reversible que ocurre en un rango de temperaturas. El límite crítico bajo el cual

ocurre esta transición se conoce como la temperatura de transición vítrea (T_g). Debajo de esta temperatura las moléculas del material amorfo son “congeladas” en sus posiciones, y sus movimientos moleculares son limitados a rotaciones y vibraciones, dando origen a un material sólido quebradizo de alta viscosidad, conocido como “vidrio o estado vítreo”. Cuando el vidrio sobrepasa su T_g las moléculas ganan movilidad traslacional y entran en un estado de líquido sub-enfriado de mucha menos viscosidad. Este último estado se conoce como “estado gomoso” (*rubbery*). Debido a los cambios experimentados durante la transición, el estado gomoso se encuentra menos impedido a nivel molecular para permitir mayores cambios físicos y químicos (Roos, 2009).

Existen diferentes métodos para obtener sólidos en estado amorfo, la mayoría buscan producir cambios bruscos de presión y/o temperatura que consigan evitar que las moléculas formen una estructura ordenada (cristalina). La liofilización es un proceso que permite la producción de compuestos completamente amorfos. Es un proceso que se desarrolla en dos etapas de deshidratación, la primera es la sublimación y la segunda es la remoción del agua no congelable (Roos, 2009)

La **Figura 1.5.** presenta el diagrama de fase suplementado para formación de un sistema amorfo en estado vítreo mediante liofilización. Generalmente se emplean este tipo de diagramas binarios, soluto-agua para facilitar la comprensión del sistema. En el eje de las abscisas se presenta la fracción másica del soluto y el eje de las ordenadas las temperaturas a las que ocurren los cambios. El diagrama presenta dos líneas de equilibrio termodinámico (línea de fusión/congelación y línea de solubilidad) suplementadas de una línea de equilibrio metaestable (línea de transición vítrea T_g).

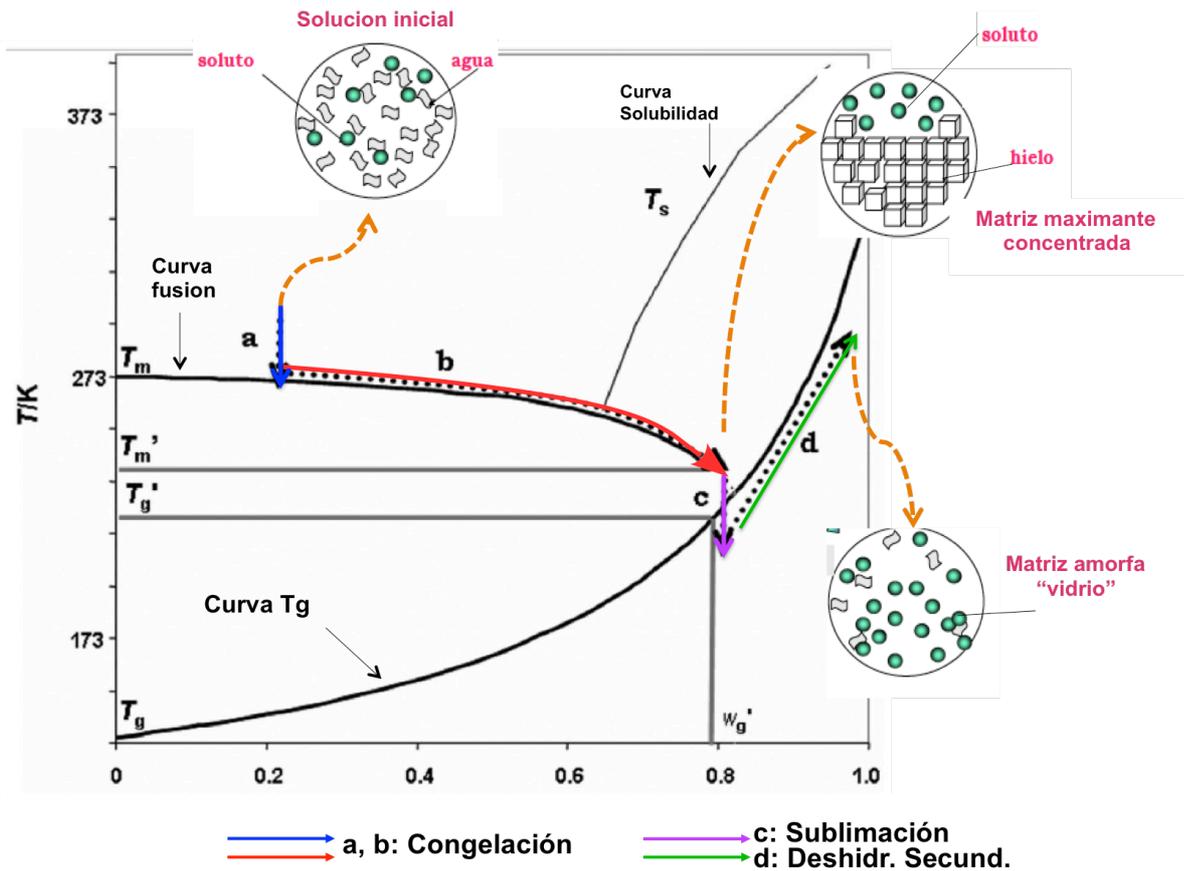


Figura 1.5. Diagrama de fase sistema soluto-agua para obtener un estado amorfo mediante liofilización (adaptado Buera y col., 2011)

De acuerdo con Buera y col. (2011) el proceso se inicia con la congelación del sistema soluto-agua dando lugar a la formación del hielo que posteriormente sublimará a presión reducida (líneas a-b-c). La caída de la línea b que se observa en la Figura 1.5, muestra el descenso crioscópico que experimenta el sistema a medida que el agua se va congelando y el soluto se va concentrando. La línea b se prolonga más allá del final de la curva de equilibrio de congelación (punto de unión con la línea de solubilidad) debido a que el soluto aún no ha alcanzado su temperatura de cristalización y se sigue concentrando en una matriz junto con los cristales de hielo. La máxima cantidad de hielo que el sistema puede formar se consigue cuando el sistema alcanza la temperatura T_m' . Este punto representa la matriz "máximamente concentrada" o matriz no congelada, con una fracción de soluto correspondiente a w_g' . Una concentración adicional de la matriz en este punto no es posible debido al impedimento cinético que tiene el sistema por la

elevada concentración de soluto. Alcanzar una matriz altamente concentrada es importante en la liofilización, debido a que de esta forma se asegura que el sistema pueda soportar su propio peso y resista el flujo durante la sublimación (previene el así llamado **colapso estructural**) (Roos, 2009). A medida que avanza la sublimación, los últimos cristales de hielo toman la energía para sublimar de la fase o matriz no congelada, lo cual ocasiona un descenso de temperatura, tal como se observa en la línea c. Debido a que aún existe una cantidad de agua no congelada en la matriz máximamente concentrada, esta es eliminada en la deshidratación secundaria o secado por desorción, representado por la línea d. Teóricamente, la temperatura a la cual se alcanza la matriz máximamente concentrada T_m' y la temperatura de transición vítrea correspondiente a esa concentración (T_g') tienen conceptos diferentes pero los dos se refieren al fenómeno de crio-concentración, el cual da lugar a la matriz de mayor concentración. La deshidratación primaria, T_g' es el concepto al que se acude para explicar el **colapso estructural** (fenómeno no deseable asociado a la disrupción de la integridad estructural de materiales liofilizados). Para algunos autores es más útil explicar este fenómeno mediante el uso de T_m' (Buera y col., 2011). Esto se debe a que una temperatura por encima de T_m' hace que empiece a existir hielo fundido en el sistema, incrementando el contenido de agua de la fase no congelable (plastificándola) lo que genera un rápido decrecimiento de su viscosidad. De esta manera, una temperatura superior a T_m' es la primera razón de la movilidad del sistema.

Al final del proceso de liofilización, se consigue un sistema de baja humedad, de estructura vítrea cuya alta viscosidad impide o dificulta el desarrollo de algunas reacciones de deterioro. Para conseguir la completa retención estructural de los sólidos dentro del “vidrio” se requiere que la temperatura del sistema sea más baja que su T_g durante y después de la liofilización, es decir su almacenamiento (Roos, 2009). Esta es la razón por la cual muchas soluciones de monosacáridos y polioles no pueden ser liofilizadas debido a que sus T_g están por debajo de la temperatura ambiente.

El conocimiento del concepto de transición vítrea puede ser usado para la formulación de productos, diseño de procesos, y evaluación de condiciones de almacenamiento con el fin de garantizar la calidad de productos alimentarios

(Roos, 2006). La temperatura de transición vítrea de un sistema puede ser afectada por la adición de un agente plastificante. En los sistemas biológicos el plastificante más importante es el agua y su agregado conduce a una reducción de la Tg del sistema (Galmarini, 2009). Este efecto puede ser apreciado en la

Figura 1.6.

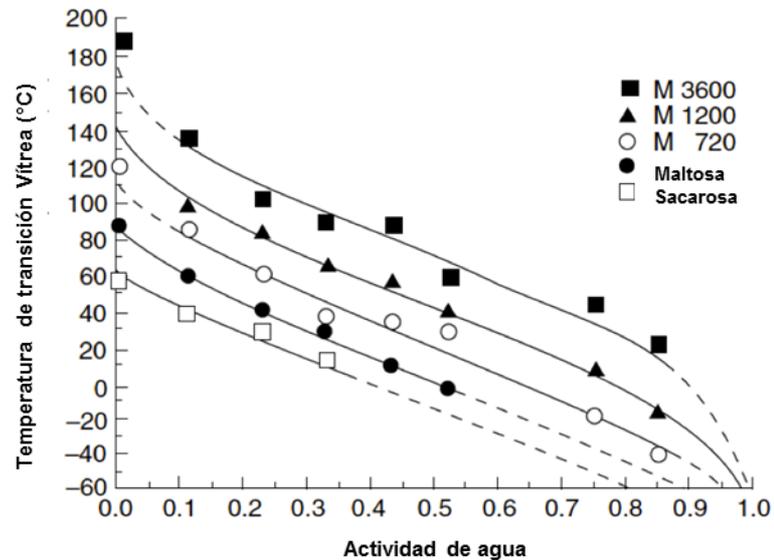


Figura 1.6. Efecto plastificante del agua sobre la Tg de maltodextrinas (M) de diferentes peso molecular (M 3600, M 1200, M 720), Maltosa y Sacarosa (adaptada de Roos, 2006).

La adición de hidratos de carbono de alta masa molecular (maltodextrina, goma arábica) a alimentos o componentes de los mismos, se puede usar para alterar la Tg y retrasar los cambios físicos. Los sistemas que son susceptibles a cambios físicos tales como apelmazamiento, caking y colapso, ya sea durante el procesamiento o el almacenamiento, pueden ser estabilizados por la adición de sustancias de alta masa molecular en la formulación del producto. Uno de los productos más utilizados con este propósito son las maltodextrinas (MD) y la **Figura 1.7.** muestra el efecto de la adición de maltodextrinas de diversas dextrosas equivalentes (DE) en el Tg de una mezcla sacarosa y maltodextrina. Además, se pueden apreciar los valores de las Tg y de los tipos de MD puras empleadas junto con otros compuestos.

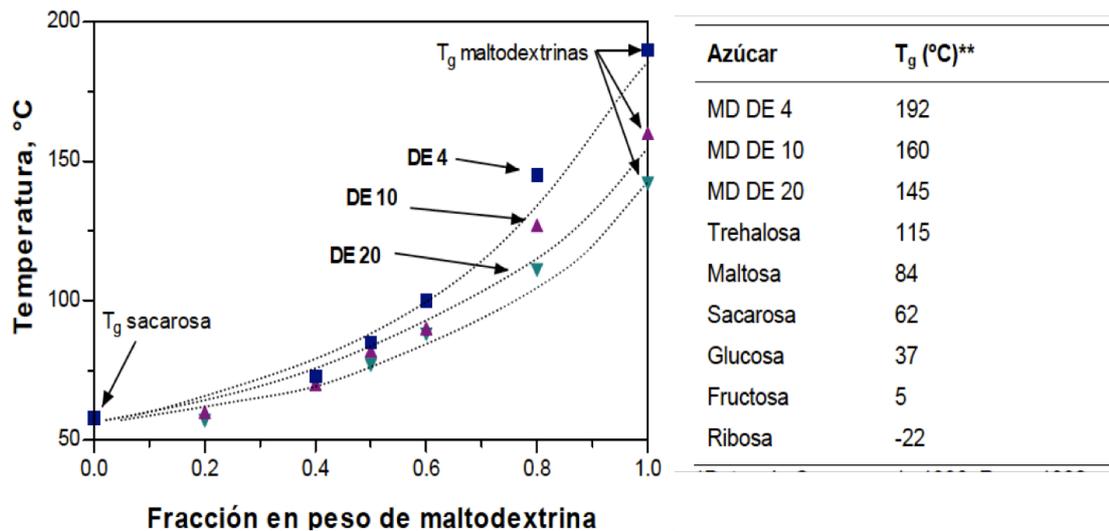


Figura 1.7. Efecto de la cantidad y el tipo de MD en una mezcla con sacarosa. Al costado se pueden apreciar los valores de las T_g y de las MD puras junto con otros compuestos (adaptada de Galmarini, 2009).

1.9. El proceso de consumo y selección de un alimento

Dado que el objetivo de este trabajo es desarrollar una bebida saludable conteniendo los polifenoles del vino tinto y que sea aceptable por los consumidores es imperativo que se evalúe el comportamiento hedónico de la misma mediante métodos tradicionales (estudio de consumidores) y nuevos enfoques (análisis facial, estudio de emociones).

Comer, beber y elegir alimentos están entre los más frecuentes comportamientos humanos. El proceso de consumo y elección de un alimento es una experiencia compleja que se encuentra determinada por diferentes factores interrelacionados. La elección de un alimento va mucho más allá de la calificación hedónica, como puede verse en las fallidas experiencias de mercado de nuevos productos que han sido lanzados después de haberse sometido a ensayos con consumidores. Esto plantea la pregunta de si el concepto de aceptación global o la calificación hedónica es suficiente punto de

referencia para la predicción de mercado o para el éxito de un producto (Jian y col. 2014; Jager y col., 2014).

Köster (2009) hace un estudio detallado de los diferentes aspectos que intervienen en el proceso de consumo y elección de un alimento (**Figura 3**) y plantea que cada uno de ellos puede ser abordado por varias disciplinas del conocimiento, las cuales a su vez tratan de responder al menos parcialmente a las preguntas centrales sobre las que se centra la investigación del consumo de alimentos: ¿Por qué?, ¿quién?, ¿qué?, ¿cuándo?, ¿dónde? La biología (balance energético), fisiología (mecanismos gastrointestinales) y la psicología de decisión (busca de estímulos) y la motivación buscan atacar *el porqué* del consumo de alimentos, admitiendo a su vez que dicha respuesta se encuentra modulada por otros factores. De la misma forma la biología (factores genéticos, género), la sociología (cultura, tradición, estatus social), y la psicología social, (formación de grupos, edades, aprendizaje, rasgos de personalidad) tratan de responder a la pregunta *¿quién?* A su vez, la ciencia alimentaria, el análisis sensorial, y el estudio de los consumidores (atributos sensoriales, físico-químicos, valor nutricional), junto con el análisis de marketing (actitudes y creencias del consumidor, marcas), la psicología del aprendizaje, memoria y percepción (interacciones sensoriales, aprendizajes, expectativas) y la economía (precio, beneficio) se enfocan en responder a la pregunta *¿qué?* Finalmente, casi todas estas disciplinas buscan respuestas al *¿dónde?* y *¿cuándo?*, biología y psicología (hambre, sed, saciedad, inicio y final del proceso de consumo), economía (disponibilidad, presupuesto), sociología (tradiciones culturales, límites de tiempo en la cocina, influencia de los viajes), marketing (propaganda, distribución), ciencia del consumidor (percepción de riesgo, actitudes del consumidor) y la psicología de la memoria, emocional, social (aspectos situacionales, influencia grupal, comportamiento impulsivo vs restringido).

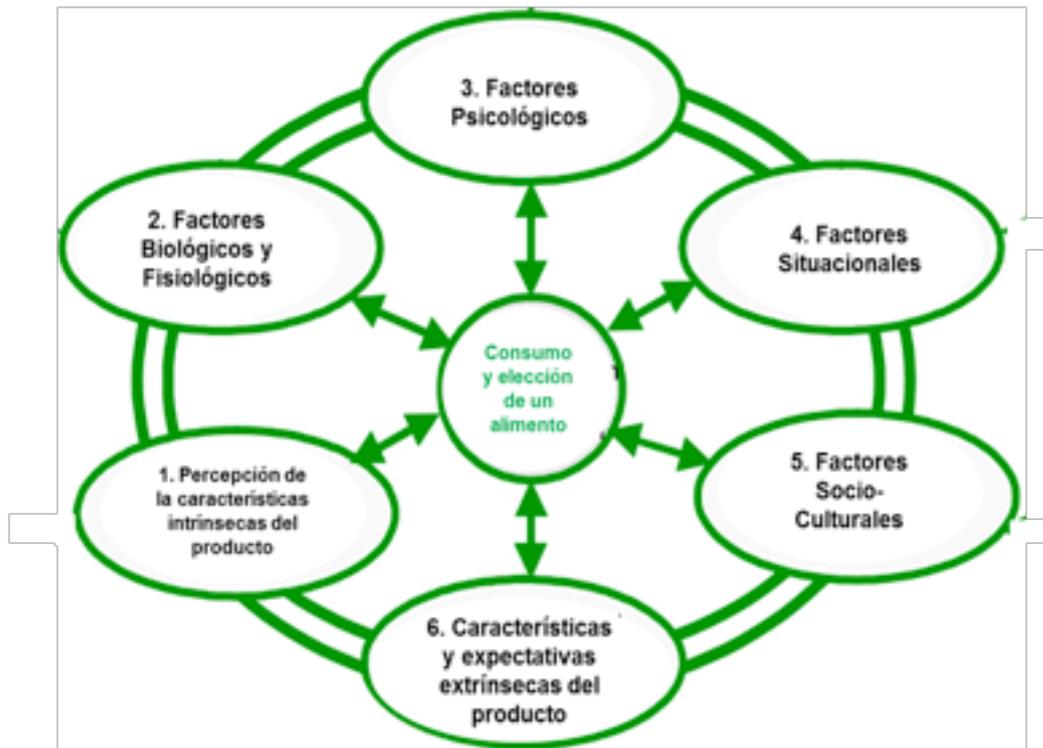


Figura 1.8 Elementos asociados al proceso de consumo y elección de un alimento (adaptación, Köster, 2009)

De manera general puede verse que la frecuencia, cantidad y elección de un alimento está afectado por variables que no solamente se relacionan con las necesidades fisiológicas o el valor nutritivo del mismo. En esa medida, se debe abordar desde una perspectiva más amplia la investigación acerca de la forma cómo los consumidores experimentan un producto alimenticio, puesto que la experiencia sensorial es mucho más compleja de lo que parece. Para lograrlo, hay que tener en cuenta todas las asociaciones que los consumidores asignan a un producto basados en su experiencia y aprendizaje. Una parte importante de estas asociaciones tienen una alta connotación emocional (Mojet y col. 2015; Cardello y col., 2012; King y Meiselman, 2010). Si bien, en general se reconoce que la conducta alimentaria de los seres humanos, es influenciada por las señales del alimento, el cuerpo y el entorno físico y social, hay un creciente acuerdo sobre el importante rol que juegan las emociones (Desmet y Schifferstein, 2008).

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, la medición de las **emociones** evocadas por los alimentos puede mejorar la comprensión de los procesos inherentes a la elección del alimento, su consumo y facilitar el entendimiento del comportamiento del consumidor.

1.10. El Estudio de las emociones

Cohn (2006) plantea la importancia del estudio de las emociones, debido a su rol fundamental en las diferentes actividades de la vida diaria de los seres humanos. El éxito de la comunicación humana depende de la habilidad para leer señales afectivas y emocionales (Baltrušaitis, 2014). Si bien, las emociones se consideran como experiencias psicofisiológicas, no existe una única definición debido a su complejidad y su estudio puede ser abordado desde diferentes áreas del conocimiento, por ejemplo la neurociencia y la psicología. (Adolphs, 2002; Rolls, 2000; Russel y Fernandez-Dols, 1997).

A nivel alimentario, las respuestas afectivas son desencadenadas por un estímulo, que está vinculado a connotaciones positivas o negativas dando como resultado la aceptación/rechazo o el gusto/disgusto de dicho estímulo (Arnade, 2013).

El comportamiento afectivo de los seres humanos es multimodal y complejo. La comunicación entre las personas se basa en la expresión e interpretación de señales como la prosodia vocal (elementos superiores del habla, entonación, acento, entre otros), las expresiones faciales, los gestos corporales, entre otros. Todas estas modalidades transportan una importante información afectiva que los seres humanos usan para inferir el estado emocional (Baltrušaitis, 2014). Las emociones consisten en múltiples componentes que pueden incluir intenciones, tendencias de acción, valoraciones, conocimientos previos, cambios en la fisiología central y periférica y sentimientos subjetivos. A nivel individual ninguno de estos componentes es suficiente para definir la emoción y las interacciones entre ellos deben tenerse en cuenta. La expresión de la emoción se logra a través de

intrincadas combinaciones de información verbal y no verbal producida a partir de diversas fuentes del cuerpo y el cerebro (ver **Figura 4**) (Ahn y Picard, 2014).

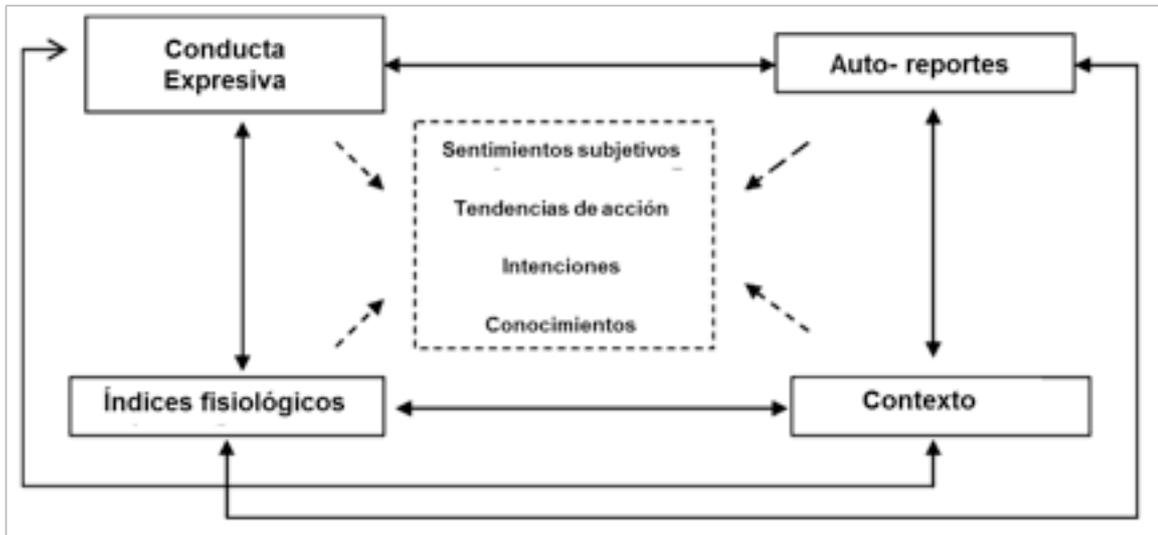


Figura 1.9. Los diferentes componentes de la emoción y los mecanismos que permiten su medición (adaptada de Cohn, 2006)

1.11. Medición de las emociones

Las emociones no son directamente observables, pero se pueden inferir a partir de la conducta expresiva, auto-informe (cuestionarios), indicadores fisiológicos, y contexto (**Figura 1.9**).

1.11.1 Métodos Explícitos

Medida de emociones a través de cuestionarios (auto reportes)

Los cuestionarios empleados para valorar la emoción han sido usados por diferentes áreas; sin embargo, existen estudios exclusivamente enfocados a la respuesta emocional de alimentos y olores. En dichos estudios se les pide a los consumidores verbalizar su respuesta emocional a través de la creación o la clasificación de una lista de términos. Las listas utilizadas pueden variar en la cantidad de términos empleados. Se ha trabajado con listas desde 39 hasta 73 términos que pueden ser utilizados empleando la metodología CATA (Check All

That Apply) que permite seleccionar después del estímulo experimentado, todos los términos que aplican de la lista entregada (Arnade, 2013). Con respecto a su aplicación en ciencia alimentaria los cuestionarios basados en emociones han permitido un más profundo entendimiento de la conexión emocional que un individuo puede experimentar con un estímulo. King y Meiselman (2010) desarrollaron un cuestionario para estudiar alimentos y encontraron que generalmente los términos emocionales asociados a los alimentos fueron positivos.

Estos auto-reportes o cuestionarios son métodos que se enfocan en las respuestas explícitas, por lo tanto dependen del pensamiento cognitivo de los participantes acerca de sus propias emociones. Los cuestionarios son frecuentemente usados para calificar la intensidad o seleccionar las emociones experimentadas en base en una lista de términos definida. La extracción de las emociones de forma explícita depende de un proceso de post-racionalización consciente que conduce al participante a pensar acerca de su propia emoción después del estímulo. Esta post-racionalización puede causar una desconexión de lo que el evaluador está sintiendo realmente frente a lo que está diciendo verbalmente. Por esta razón se han desarrollado nuevas metodologías para capturar señales no-verbales más genuinas de la respuesta emocional (Arnade, 2013).

Respecto a las investigaciones que se han hecho en alimentos, la medida directa de la emoción explícita es el método más frecuentemente utilizado. Su principio fundamental como se vio es el uso de un listado de palabras asociadas a emociones, elegidas por el evaluador luego de consumir el alimento.

1.11.2. Métodos Implícitos

La medida del comportamiento emocional implícito no demanda la interpretación verbal de la emoción o la atención explícita por parte de los participantes, es decir, evita esa relación consciente de la emoción con el alimento que se está consumiendo, como pasa en los métodos explícitos. Se llaman mediciones implícitas porque el participante no tiene poder explícito sobre la reacción experimentada (Köster y Mojet, 2015).

Los métodos que se enfocan en respuestas implícitas incluyen las medidas fisiológicas autónomas y las respuestas faciales. Las respuestas fisiológicas puede ser medidas a través de herramientas como las imágenes por resonancia magnética funcional (fMRI, escaneo del cerebro), la electroencefalografía (EEG, actividad eléctrica del cerebro), la electrocardiografía (ECG, ritmo cardíaco), la temperatura corporal y la transpiración. La extracción implícita se basa en una respuesta subconsciente y espontánea que es difícil de suprimir o de falsificar. La robustez de estos métodos puede ser disminuida debido a protocolos instrumentales o instrucciones deficientes. Generalmente, las respuestas de los métodos implícitos están ligadas a procesos intuitivos, dicho proceso es rápido, automático, asociativo y no razonado. El proceso intuitivo produce impresiones involuntarias de objetos, mientras que el proceso razonado produce juicios intencionales a partir de un proceso consciente (Jian y col., 2014).

Si bien la mayor parte del debate sobre el vínculo emoción-expresión se basa en teorías de doble procesamiento donde intervienen procesos automáticos o inconscientes, y procesos controlados o conscientes que le siguen al estímulo, todos los modelos estudiados coinciden en que la respuesta emocional inicial es automática, y no racional (Ahn y Picard, 2014). A pesar del conocimiento ganado sobre el comportamiento humano a lo largo de las últimas décadas, los hallazgos sobre el razonamiento intuitivo y el peso de la naturaleza inconsciente sobre el proceso de toma de decisiones, a nivel de investigación sensorial son escasas las aproximaciones que se han hecho en este campo. En general, gran parte de los estudios han estado encaminados al enfoque de la toma de decisiones consciente y racional, sin tener en cuenta las críticas hechas en materia de validez predictiva, debilidades metodológicas y fuertes sesgos teóricos (Köster, 2007).

1.12. La Expresión facial

Entre los canales de comunicación que expresan emociones, la cara se considera a menudo como la fuente más rica de información no verbal (Ahn y Picard, 2014). Las expresiones faciales han sido uno de los focos de la investigación de la emoción a lo largo de más de cien años. Ellas juegan un rol muy importante en las más recientes teorías de la emoción. El rostro humano contiene una gran proporción del comportamiento expresivo emocional. La cara es una herramienta determinante en la interacción social debido a que es el elemento social más visible del cuerpo humano. Ella revela emociones, comunica intenciones, y ayuda a regular los vínculos sociales (Baltrušaitis, 2014).

La cara es una parte intrincada y altamente diferenciada del cuerpo humano. De hecho, es uno de los más complejos sistemas de señales disponibles para los seres humanos. Esta incluye cerca de 40 músculos estructurales y funcionalmente autónomos que se desempeñan independientemente uno del otro (**Figura 1.10.**). La actividad de cada músculo facial es altamente especializada para la expresión, permitiendo compartir gran cantidad de información social.

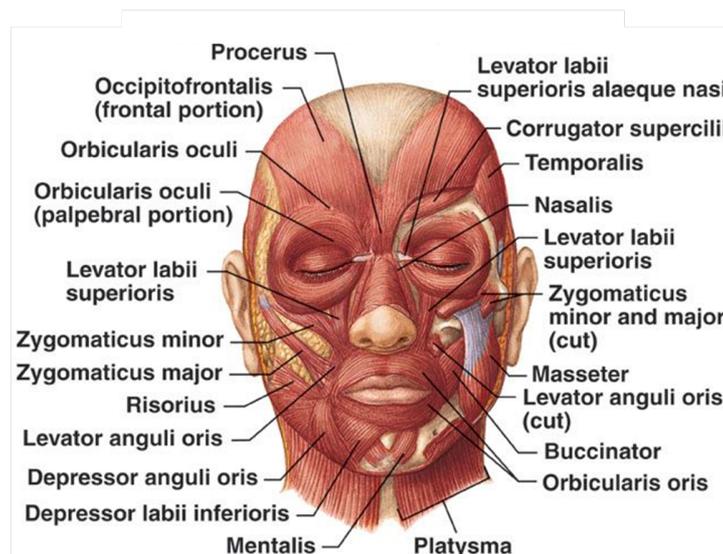


Figura 1.10. Algunos de los músculos faciales determinantes de la acción facial (adaptado The McGraw-Hill companies).

El sistema facial muscular es el único lugar del cuerpo humano donde los músculos están ligados tanto a los huesos como al tejido facial (en otros lugares del cuerpo humano, el músculo conecta dos huesos), o el músculo está ligado solamente al tejido facial, como es el caso del músculo alrededor de los ojos y labios. La expresión facial se define como una deformación temporal de los rasgos de la cara tales como, párpados, cejas, nariz labios y textura de la piel generada por la contracción de los músculos faciales (Fischer, 2004).

Las expresiones faciales pueden ser voluntarias o involuntarias, dependiendo de la región cerebral que regula esta actividad (Fox, 2008)

1.13. Interpretación de las expresiones faciales

Las expresiones faciales pueden ser interpretadas en términos del estado afectivo (emociones) o en términos de la actividad muscular facial que subyace al despliegue de la expresión facial. Estas dos aproximaciones se originan directamente de los dos sistemas más importantes para medir la expresión facial a nivel psicológico:

- Las medidas de los **juicios del mensaje**.
- Las medidas de los **juicios de la señal**.

En el **juicio del mensaje** el observador hace inferencias acerca de algo que subyace en el comportamiento facial, como la emoción, el estado de ánimo, la actitud, personalidad y los gustos. Debido a esta razón los observadores son comúnmente conocidos como jueces. Las medidas de mensaje infieren generalmente las emociones expresadas en los movimientos faciales y para su clasificación se emplean dos categorías: *Teoría discreta de la emoción y modelos dimensionales*.

1.14. Teoría discreta de la emoción

Asume la existencia de seis emociones básicas, cada una con diferentes programas de acción, expresiones faciales, procesos fisiológicos, y

acompañantes cognitivos. El sistema sobre el cual se apoya está soportado en los estudios de Ekman y Friesen (1978), acerca de la universalidad de seis emociones básicas (alegría, tristeza, ira, disgusto, sorpresa, temor) (**Figura 1.11.**). Esta teoría fue inspirada por las observaciones realizadas por Darwin, donde planteaba que estas seis emociones expresadas por los hombres han evolucionado a partir de los animales, y por ende, son de carácter innato. Ekman y Friesen (1978) recogen toda esta investigación y validan este trabajo acerca de la universalidad de estas expresiones básicas a través de estudios interculturales, que les permite concluir que ellas se desarrollan en todas las personas independiente del factor cultural (Khan, 2013).

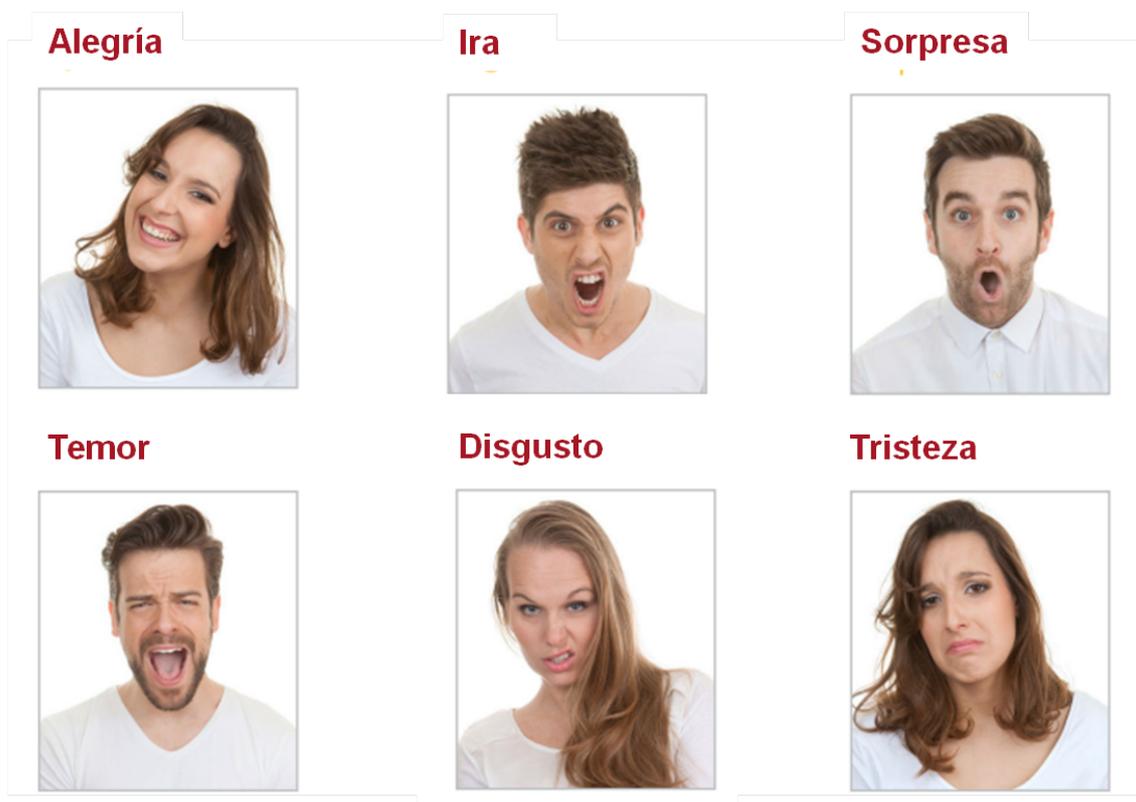


Figura 1.11. Ejemplo de las expresiones faciales para las seis emociones básicas (adaptado IMOTIONS®-Guide Facial Expression).

1.15. Modelos dimensionales

Este modelo asume que las emociones pueden ser agrupadas y ordenadas a través de dos o más dimensiones. La mayoría de estos modelos usan la valencia (emociones positivas vs. emociones negativas) como eje horizontal y la “excitación” arousal (emociones activas vs. emociones calmas) como eje vertical (**Figura 1.12.**)

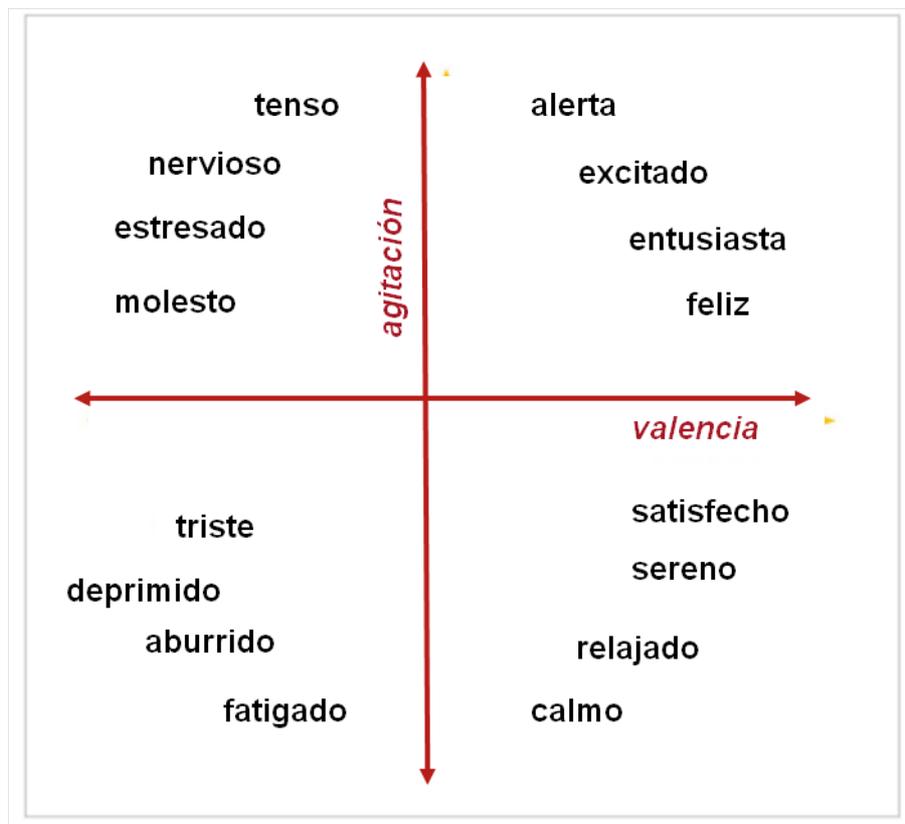


Figura 1.12. Modelo dimensional para categorizar las emociones (adaptado IMOTIONS®-Guide Facial Expression)

Por otra parte, en las medidas de **los juicios de la señal** los observadores describen la superficie del comportamiento facial. Por ejemplo, cuantas veces el rostro se mueve de cierta manera, cuanto duran esos movimientos, en que zonas se ubican dichos movimientos, o que rasgos participan, por esta razón a los observadores se les conoce como

codificadores. El sistema sobre el cual se soporta es el sistema FACS (Facial Action Coding System) desarrollado por Ekman y Friesen (1978).

1.16. Codificación manual de la expresión facial (Sistema FACS)

El uso de un sistema de códigos para el análisis de la expresión facial provee el medio de caracterización de la respuesta emocional más viable, menos costoso y menos invasivo. Muchas metodologías o herramientas han sido desarrolladas para este fin. Ekman y Friesen (1978) desarrollaron el hoy en día bien conocido Sistema de codificación de la acción facial (FACS). Este método discrimina 44 potenciales movimientos que son anatómicamente separados y visualmente distinguibles. Cada movimiento es caracterizado como una **Unidad de Acción (UA, o AU por su sigla en inglés)**. El método incluye una calificación de intensidad en una escala de 5 puntos para cada UA. Por medio de FACS los codificadores pueden manualmente asignar un código a cada uno de los movimientos visualmente distinguibles.

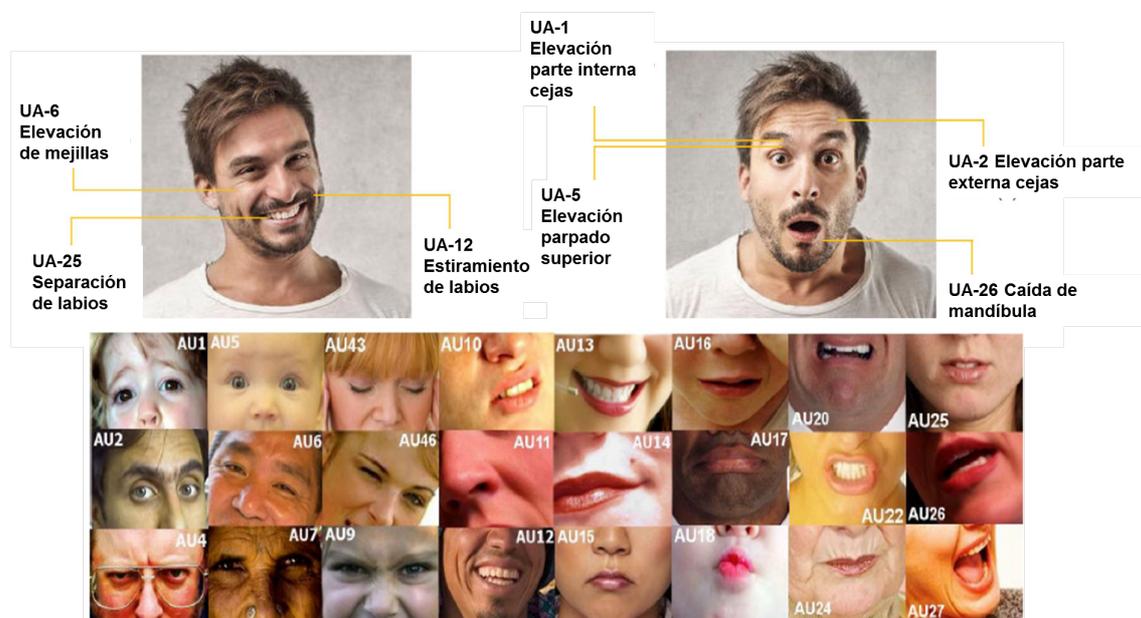


Figura 1.13. Ejemplo de algunas Unidades de Acción (UA o AU) del sistema FACS (adaptado IMOTIONS®-Guide Facial Expression)

Estas Unidades de Acción (UA) se pueden combinar de forma que existen cerca de 7000 posibles combinaciones (**Figura 1.13**). Dichas combinaciones son de dos tipos: aditivas y no aditivas. El primer grupo son combinaciones en las cuales la apariencia de la UA permanece constante, y por el contrario las combinaciones no aditivas son aquellas en las que la UA (o AU por su sigla en inglés) original cambia su naturaleza. En la **Figura 1.14.**, se puede apreciar que la combinación AU 1+2 pertenece al grupo de las aditivas y la combinación AU 1+4 y AU 1+2+4 son no aditivas.

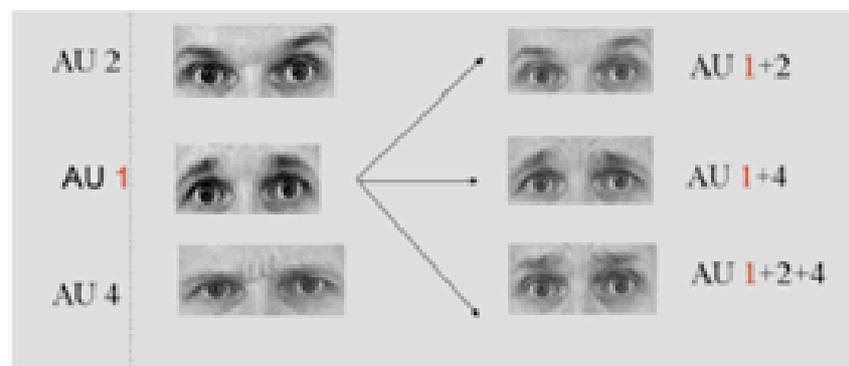


Figura 1.14. Ejemplo de combinaciones aditivas y no aditivas (adaptado Arnade, 2013).

A diferencia de algunos sistemas que utilizan etiquetas para describir la emoción, FACS distingue explícitamente entre las unidades de acción (UA) y permite hacer inferencias acerca de lo que ellas significan. *FACS es un sistema netamente descriptivo* que incluye descriptores no específicos de la emoción. Las hipótesis e inferencias acerca del significado emocional de las acciones faciales son extrínsecas a FACS. De todas maneras, existen un abordaje teórico que marca los parámetros para hacer inferencias basadas en la emoción a partir de los códigos de las FACS. Debido a su poder descriptivo FACS es considerado por muchos como la medida estándar del comportamiento facial y es ampliamente usado en diferentes campos. (Cohn, 2006).

1.17. Análisis Automático de la Expresión facial

El análisis de la expresión facial puede hacerse manualmente (sistema FACS) o por medio del uso de softwares que leen la expresión facial de manera automática. Algunos de los softwares que han sido utilizados con este propósito son ObserverTM, FaceReaderTM, Affdex y Emotient FACET. Si bien estos softwares han sido usados mayoritariamente en las áreas de marketing para diseño de nuevos productos, han contado con un uso limitado a nivel de ciencia alimentaria (Arnade, 2013). El análisis computacional de la expresión facial trata de imitar las habilidades de los seres humanos, para capturar de manera cruda una expresión y comprometerla con un contenido emocional.

El análisis automático de la expresión facial ha interesado a los investigadores por cerca de 30 años, la mayoría de los intentos iniciales se basaron en sistemas que dependían de muy restringidas condiciones. En los últimos años se han venido desarrollando plataformas con diversos enfoques para el análisis automático de la expresión facial. Algunas de estas aproximaciones dependen de imágenes mientras que otras se basan en videos.

1.18. Etapas de la detección automática de la expresión facial

Generalmente, los sistemas automáticos de reconocimiento de la expresión facial comprenden las mismas tres etapas que se resumen en: detección facial, extracción de los rasgos faciales y clasificación de la expresión facial (**Figura 1.15.**)

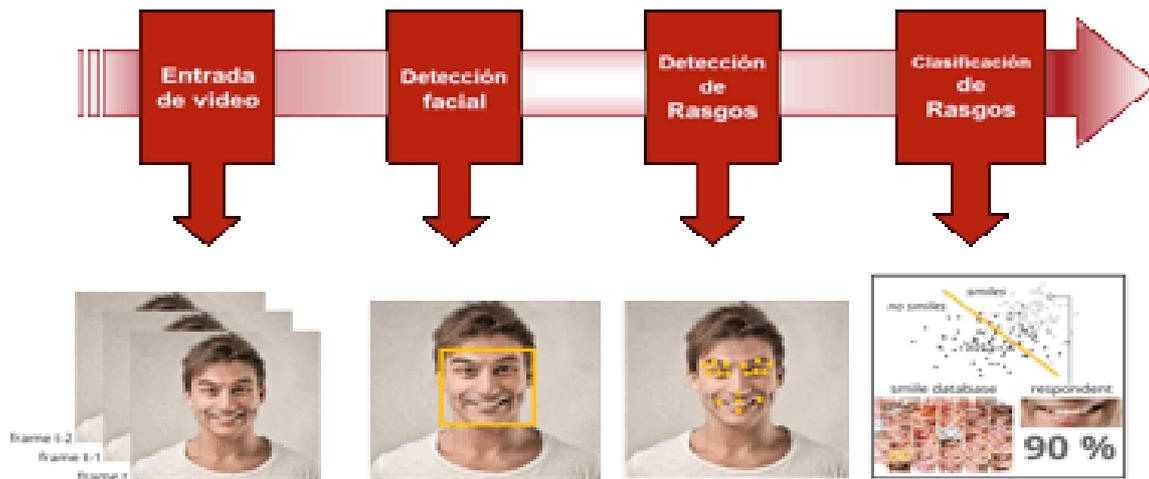


Figura 1.15. Etapas de un esquema automático de detección de expresiones faciales (adaptado IMOTIONS®-Guide Facial Expression)

1.18.1. Detección facial

La primera parte consiste en el reconocimiento de la cara dentro de una imagen o video. La posición de la cara es encontrada y mediante procesamiento de imágenes se aplican algunos filtros que permiten identificar la cara independiente de las condiciones del registro.

1.18.2. Extracción de los rasgos faciales

La extracción de rasgos es asociada a la detección de los puntos de referencia, es decir la localización de los ojos, párpados, cejas, nariz, pómulos, etc. Después de esto, un modelo facial interno dependiente de cada software, ajusta en posición, tamaño y escala, la imagen o video procesado, en orden de hacer un *matching*, con un modelo estándar o base de datos estándar. El modelo se adapta a cualquier cambio detectado en la expresión. Generalmente, los modelos extraen los rasgos principales que son suficientes para que el sistema termine de ejecutar el trabajo. Los métodos de extracción de los rasgos pueden ser divididos de acuerdo a la dimensión del modelo que se utilice ya sea en 2D o 3D. El primero, no considera la profundidad del objeto y el segundo considera la geometría de la cara.

1.18.3. Clasificación de la expresión facial

Una vez aplicado el modelo de simplificación facial, la posición y orientación de todos los rasgos claves son alimentadas a unos algoritmos de clasificación los cuales traducen esos rasgos en códigos de Unidades de Acción, estados emocionales y otros indicadores de métrica afectiva, como la valencia.

HIPÓTESIS

En los últimos años, ha habido un creciente interés en el desarrollo de nuevas bebidas funcionales con características especiales y propiedades para la salud. La fortificación de bebidas ofrece una alternativa conveniente para contribuir a una mejor calidad nutricional de la población y un mayor equilibrio en la dieta diaria. En particular, las bebidas enriquecidas con compuestos fenólicos contenidos principalmente en el vino han recibido considerable interés por sus efectos beneficiosos.

Si bien, las características nutricionales o el valor saludable de un producto tienen influencia en la elección de un alimento, el sabor es el que determina la aceptación de los consumidores. Por otra parte, las preferencias son altamente variables entre las personas teniendo mucha influencia factores como el sexo o la edad que añaden complejidad al estudio de preferencia / aceptación de nuevas bebidas saludables. Diferencias específicas de género han sido identificadas en el comportamiento del consumo de vino. Mientras que los hombres tienden a consumir más vino y prefieren más el vino tinto, las mujeres muestran una mayor preferencia por el vino blanco. Por otra parte, los aromas frutales parecen ser más importantes para las mujeres, mientras que los hombres prefieren los caracteres del vino añejado.

La primera hipótesis de trabajo es suponer que estas diferencias de género en las preferencias del sabor del vino podrían ser transferidas a la nueva bebida en polvo. Para explorar esta hipótesis se aplicarán métodos estáticos y dinámicos con la modalidad múltiple sorbo a fin de simular condiciones de consumo habitual en una población homogénea y balanceada entre el número de hombres y mujeres.

La aceptación del consumidor para un nuevo alimento o bebida también puede ser analizada teniendo en cuenta las respuestas hedónicas implícitas como las emociones, obtenidas a través de la medición de las expresiones faciales. Por lo tanto, la segunda hipótesis de trabajo es inferir que si los hombres manifiestan una mayor aceptación de la nueva bebida seguramente se va a registrar una mayor intensidad en las emociones positivas. Para

corroborar esta hipótesis se van filmar las caras de los participantes durante el consumo de la bebida y los videos serán evaluados por un programa que decodifica las reacciones faciales.

OBJETIVOS

Objetivo General

El presente estudio tiene como objetivo general elaborar una bebida en polvo, sin alcohol, partiendo del secado por liofilización de vino tinto (Cabernet *sauvignon*) con el agregado de un carrier adecuado. De esta manera los compuestos fenólicos del vino tinto quedan encapsulados en una matriz protectora. Posteriormente se formulará y evaluará la aceptación de la bebida así obtenida simulando condiciones de consumo habitual.

Objetivos específicos

- a) Obtener un polvo de vino sin alcohol, elaborado a partir de la liofilización del vino tinto Cabernet *sauvignon*, adicionado de coadyuvantes adecuados que permitan lograr un polvo corredizo y de fácil disolución.
- b) Caracterizar la estabilidad física del polvo en términos de su isoterma de sorción, temperatura de transición vítrea (T_g), caking y morfología.
- c) Almacenar el polvo en condiciones aceleradas (38°C , HR = 33%), verificando la evolución de los cambios de color, la variación de la capacidad antioxidante, y la estabilidad de los siguientes compuestos fenólicos: ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico, resveratrol, malvidina 3-G, antocianos totales.
- d) Estudiar la influencia de la actividad de agua (a_w) en la estabilidad de los compuestos fenólicos estudiados.
- e) Formular una bebida tomando como base el polvo de vino y agregados de aroma, viscosantes y edulcorantes.
- f) Seleccionar la formulación de mayor aceptación aplicando métodos estáticos y dinámicos con ingestión de múltiples sorbos.
- g) Examinar la influencia de la información de *bebida saludable*, así como también del género en la aceptación de la nueva bebida.
- h) Evaluar la respuesta emocional que genera la bebida aplicando el análisis de las microexpresiones faciales.

CAPITULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales y métodos correspondientes al Capítulo 3

2.1.1. Materiales

Se utilizó vino tinto embotellado Cabernet *sauvignon*, "Postales del Fin del Mundo" (Bodega del Fin del Mundo, cosecha 2013, envejecido en roble) de una región vinícola de clima frío (provincia de Neuquén, Argentina). Su contenido de alcohol fue de 13,7% v/v y pH 3,6. Todas las botellas fueron compradas al mismo tiempo en una bodega ubicada en la ciudad de Buenos Aires. El coadyudante de secado utilizado para la encapsulación por liofilización fue una mezcla de maltodextrina (Dextrosa Equivalente 10 (MD10), Productos de Maíz, SA, Argentina) y goma arábiga (GA) (Gelfix, Buenos Aires, Argentina).

Las sales (grado analítico) utilizadas para el control de la humedad relativa (RH%) fueron: CH_3COOK , MgCl_2 , K_2CO_3 , y NaBr ; adquiridas en Biopack, Argentina. El reactivo de Folin-Ciocalteu se obtuvo en Merck KgaA Darmstadt, Alemania. El radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•), β -caroteno, ácido linolénico $\geq 99\%$, (monolaurato de polietilenglicol sorbitán) 20 TWEEN® y cloroformo utilizado para la cuantificación antioxidante fueron adquiridos en Sigma Aldrich, St. Louis, EE.UU. Los reactivos grado HPLC (cromatografía líquida de alta performance) fueron : malvidina-3-glucósido (malvidina 3-G), catequina, epicatequina, ácido cafeico, ácido gálico, y resveratrol (todos pureza $> 95\%$) fueron adquiridos en Sigma Aldrich, St. Louis, EE.UU. Los eluyentes: acetonitrilo (pureza $> 99,9\%$), ácido fórmico (98%) y metanol ($> 99,5\%$) se obtuvieron en JT Baker (USA), Cicarelli (Argentina) y Carlo Herba (España), respectivamente.

2.1.2. Procedimiento de encapsulación

La encapsulación se hizo mezclando el vino tinto (Postales del Fin del Mundo) con maltodextrina (MD10) y goma arábiga (GA) (65:35) en una proporción en peso de 91% de vino tinto y 9 % de coadyuvantes. Esta mezcla se vertió en una bandeja de aluminio (profundidad de la muestra, 1 cm) y se congeló a -20°C durante 24 horas. Posteriormente, la mezcla congelada se liofilizó a

temperatura ambiente ($22 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$) en un liofilizador FIC LI-I-E300-CRT (Rificor, Buenos Aires, Argentina) con placa de congelamiento y condensador a -40°C , y presión de vacío por debajo de $200 \text{ }\mu\text{mHg}$. Durante la liofilización, además, del agua se removía prácticamente todo el alcohol del vino tinto. El aspecto físico del producto liofilizado final era el de una torta porosa, posteriormente molida en un molino eléctrico de café. El “polvo de vino tinto encapsulado” (PVE de aquí en mas) así obtenido era un producto corredizo, caracterizado por su color rojo-violáceo intenso (**Figura 2.1**)

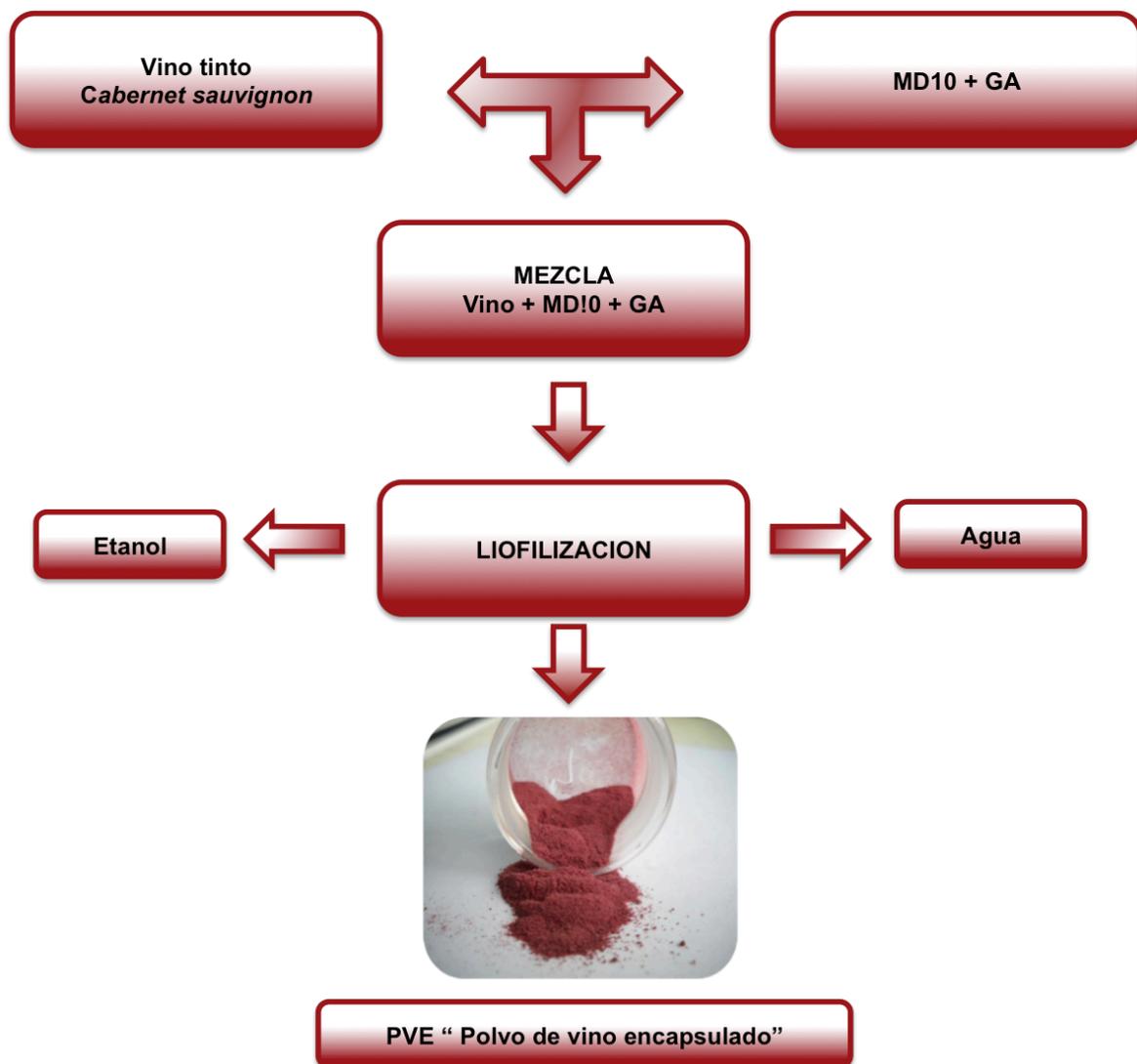


Figura 2.1. Proceso de encapsulación del vino tinto

2.1.3. Condiciones de almacenamiento

El polvo de vino encapsulado (PVE) se fraccionó (5 g) en frascos pequeño de vidrio opaco y se almacenó a temperatura y actividad de agua (a_w) seleccionadas (y controladas). El almacenaje se hizo en una estufa de temperatura constante a $38^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ en una u otra de las siguientes condiciones:

- a) en frascos herméticamente cerrados con el fin de preservar su condición inicial de humedad ($a_w = 0,11$);
- b) en frascos abiertos colocados sobre una solución saturada de MgCl_2 , que proporcionaba una humedad relativa constante de 33%, y
- c) en frascos abiertos colocados sobre una solución saturada de NaBr , que proporcionaba una humedad relativa constante de 58%.

La temperatura de 38°C es representativa de estudios de vida útil acelerada (Labuza, 1982); por lo tanto el presente almacenamiento a 38°C y a_w 0,33 se denominara en adelante "condiciones de almacenamiento acelerado". Las muestras de todos los sistemas se analizaron periódicamente durante 145 días.

2.1.4. Actividad de agua (a_w)

La actividad de agua se determinó con un equipo electrónico con sensor de punto de rocío Aqualab Serie 3 (Decagon Devices, Pullman, Washington, USA). El equipo se calibró con soluciones de sales saturadas cuya actividad de agua estaba dentro rango de interés del presente estudio (Iglesias y Chirife, 1982). La determinación se realizó por triplicado y el error en la medida fue del orden de ± 0.004 .

2.1.5. Contenido de humedad

El contenido de humedad se determinó gravimétricamente. Para ello, una delgada capa de PVE se colocó en una estufa de circulación forzada a $90^\circ\text{C} (\pm 1^\circ\text{C})$ hasta alcanzar peso constante (AOAC, 1998). Todas las medidas se hicieron por duplicado.

La humedad de cada muestra se calculó según,

$$\text{Contenido de agua \%} = 100(m_1 - m_2) / m_1$$

donde m_1 = peso de la muestra antes del secado (g)

m_2 = peso de la muestra después del secado (g)

2.1.6. Determinación de color

Los cambios asociados al color del PVE fueron realizados utilizando un colorímetro MINOLTA CM-600d (Konica-Minolta Orserver, Crop., USA), con iluminante D65 y un ángulo de observación de 2°. La medición se obtuvo colocando una capa uniforme de PVE (1 g de polvo) sobre recipientes plásticos de fondo blanco. Los valores medidos fueron leídos en el espacio de color L* a* b* (CIELab). Este espacio está definido por los parámetros: L*, claridad o luminosidad, que varía desde 0 (negro) a 100 (blanco); a*, define a los componentes rojo - verde, rojo para valores positivos y verde para negativos y b*, define la componente amarillo – azul, amarillo para valores positivos y azul para negativos (**Figura 2.2**). Todas las medidas se realizaron por triplicado.

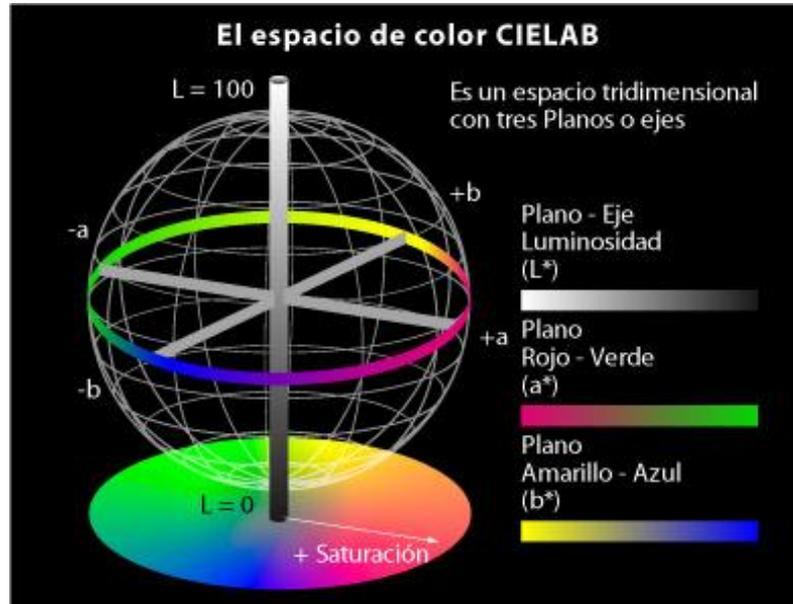


Figura 2.2. Espacio de color CIELAB. (tomado de http://www.gusgsm.com/espacio_color_cie_lab)

2.1.7. Isotherma de sorción

La humedad de equilibrio del PVE se determinó por medio del método estático gravimétrico (Iglesias y Chirife, 1982). Las muestras del PVE se colocaron en desecadores que contenían cuatro diferentes soluciones saturadas de sal que proporcionan las siguientes humedades relativas, CH_3COOK (22% RH); MgCl_2 (33% RH); K_2CO_3 (RH 43%) y NaBr (58% HR). Los desecadores fueron colocados en una estufa a 38 °C y después de un tiempo de equilibrio de tres semanas se determinó el contenido de humedad de las muestras usando el método gravimétrico (**sección 2.1.5**). Una vez alcanzado el equilibrio se supone que los valores de a_w de cada muestra son iguales al valor de %HR/100 respectivo. Cada punto de la isoterma se hizo por triplicado.

2.1.8. Temperatura de transición vítrea (T_g)

Se determinó utilizando un calorímetro diferencial de barrido (DSC modelo 2010, TA Instruments, New Castle, DE, EE.UU.). Aproximadamente 3-5 mg de polvo equilibrado con solución saturada de MgCl_2 (33% RH), se colocaron en cápsulas de aluminio (20 μl). Las muestras se cerraron herméticamente con tapa de aluminio y se pesaron. El equipo se calibró con zafiro (600 °C) y se usó nitrógeno seco como gas de purga. Las muestras fueron escaneadas de -30 a 100 °C a una velocidad de 10 °C / min. Una cápsula vacía se utilizó como referencia. Los valores de inicio de las transiciones térmicas (en en este caso transición vítrea) de las muestras se calcularon utilizando el software de análisis universal (TA instruments).

2.1.9. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El análisis morfológico de PVE fue realizado por SEM usando un microscopio FEI, Quanta 200 (Países Bajos). Las muestras se colocaron en un soporte de carbono y fueron recubiertas con una capa de oro (40-50 nm). Se examinaron las siguientes muestras de PVE usando un voltaje de aceleración de 5 kV:

- a) PVE antes y después de 145 días de almacenamiento acelerado.
- b) PVE después de un almacenamiento a 38 °C y 0,58 a_w .

2.1.10. Polifenoles Totales

Los polifenoles totales del vino tinto líquido y PVE se determinaron por el método Folin- Ciocalteau (FC) (Cioroi y Musat, 2007; Camussoni y Carnevali, 2004). Su mecanismo básico es una reacción de oxidación/reducción, donde los compuestos oxidados son los fenoles presentes que entran en reacción con un reactivo de molibdeno y wolframio (tungsteno) (compuesto de color amarillo). La reacción es monitoreada espectrofotométricamente debido a que la oxidación de los fenoles genera que las sales reducidas de molibdo-tungsteno presenten una coloración azul intensa con un pico máximo de absorción a 760 - 765 nm. El PVE se disolvió en agua (1 g de PVE en 8 g de agua, relación de peso perdido en la liofilización). A 20 μL de la solución acuosa de muestra descrita anteriormente se le adicionó H_2O bidestilada hasta completar un volumen de 1580 μL , y luego se agregaron 100 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu, se esperaron 2 minutos y se incorporaron 300 μL de una solución de Na_2CO_3 20% (p/v). Luego se agitó empleando un agitador magnético y se incubaron los tubos de reacción en un baño termostático a 40°C , durante 30 minutos. La lectura se realizó en un espectrofotómetro T60 PG Instruments (Leicester, UK.), a una absorbancia de 765 nm. La calibración del método de FC, y la presentación de los resultados se realizó utilizando ácido gálico como patrón (AG). Se preparó una solución de AG a una concentración de 0.5 % p/v (Fluka, EEUU). Posteriormente se realizaron diluciones sucesivas (desde 50 ppm hasta 500 ppm) y medidas sus absorbancias para construir la curva de calibración. Todas las medidas se realizaron por duplicado. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de polvo (Figura 2.3).

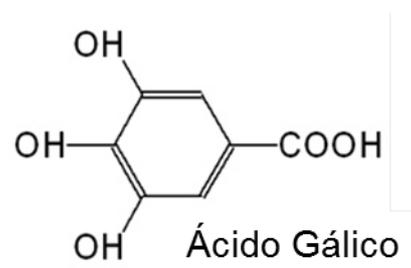


Figura 2.3. Estructura de ácido gálico

2.1.11. Capacidad antioxidante

Actualmente existen un número creciente de métodos *in vitro* para medir la capacidad antioxidante en materiales biológicos y/o compuestos alimentarios. Sin embargo, el entendimiento del rol que cumplen los diferentes antioxidantes en la compleja matrix alimentaria se ha constituido en un reto. La dificultad radica en que los antioxidantes se comportan de manera diferente de acuerdo a su estructura, y por ende tienen diferentes mecanismos de reacción. Además del complejo sistema alimentario, sus propiedades de fases, la influencia del pH, la transformación de los compuestos originales y el sinergismo (que puede surgir entre las diferentes moléculas) afecta este tipo de ensayos (Badarinath y col., 2010). Teniendo en cuenta los diferentes mecanismos de acción de los compuestos fenólicos y sus metabolitos derivados, no existe una técnica de evaluación única. Generalmente se emplean métodos unidimensionales para medir compuestos multifuncionales, lo que dificulta la estandarización, y por esta razón, cuando se requiere hacer una evaluación de las propiedades antioxidantes lo más acertado es usar diferentes técnicas que permitan valorar los diferentes mecanismos existentes (Frankel y Meyer, 2000).

La evaluación de la capacidad antioxidante a lo largo del almacenamiento de PVE se realizó utilizando dos métodos independientes:

- a) medición de la **Capacidad de captación radicales libres mediante el radical DPPH•** (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) (Brand Williams y col., 1995; Marc y col, 2004; Klopotek y col. 2005; Hukkanen y col., 2006; Stratil y col., 2006) y
- b) medición de la **capacidad de inhibición de la oxidación de lípidos mediante el sistema β -caroteno / ácido linoleico** (Lu y Foo, 2000).

Para los dos métodos se disolvió 1 g PVE en 8 ml de agua destilada. Se realizaron cinco diluciones con el fin de obtener soluciones de PVE que estuvieran dentro del intervalo deseado de linealidad de cada método.

2.1.11.1. DPPH•

Como ya se mencionó uno de los métodos empleados para determinar la capacidad antioxidante fue la técnica del secuestro de radicales libres usando el radical 2,2-difenil-1-picril hidracilo (**DPPH•**). Este ensayo se fundamenta en el seguimiento de la estabilización (via-reducción y manifestada como decoloración) del radical **DPPH•**, debido a la presencia de compuestos antioxidantes. Ese cambio de coloración es monitoreado espectrofotométricamente siguiendo el delta de absorbancias a 517 nm. En su forma estable el **DPPH•** es color violeta intenso, pero al reaccionar con el antioxidante produce un cambio de coloración hacia el amarillo cuya intensidad depende de la fuerza antioxidante del sustrato en cuestión (**Figura 2.4**).

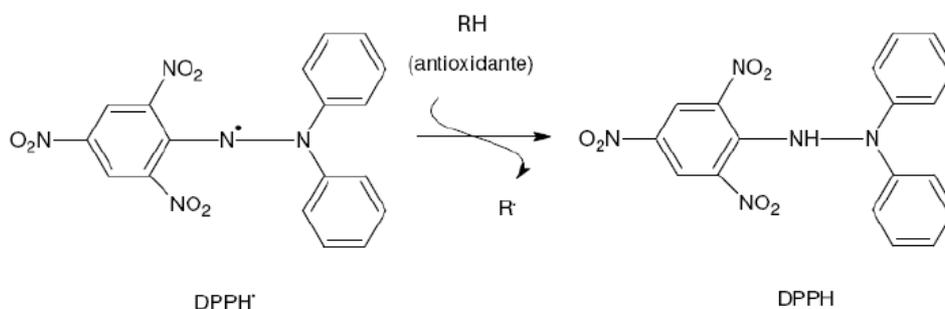


Figura 2.4. Mecanismo de reacción del radical DPPH•

Una alícuota de 100 µl de PVE disuelta se mezcló con 3,9 ml de DPPH• disuelto en etanol (25 mg DPPH•/ L). La absorbancia se determinó a 517 nm después de 60 minutos de reacción en oscuridad. La actividad antioxidante se expresó como el porcentaje de inhibición (I%) del DPPH• radical libre, calculado con la siguiente ecuación:

$$I (\%) = (Abs_b - Abs_s / Abs_b) \times 100$$

donde Abs_b es la absorbancia de la reacción de control (sin la muestra) y Abs_s es la absorbancia de la muestra. Cada % de inhibición se representó gráficamente frente a la concentración en mM de equivalentes de ácido gálico necesaria para lograr esas inhibiciones, obteniéndose una regresión lineal (R^2 siempre > 0,995). Finalmente, esta curva se utilizó para obtener la

concentración en mmoles de ácido gálico equivalentes necesaria para inhibir 50% el radical DPPH•. De esta forma se expresaron los resultados como mmoles equivalentes de ácido gálico en 100 gramos de polvo. Todas las medidas se realizaron por duplicado en un espectrofotómetro UV-Visible T60 Instrumentos PG, Leicester, Reino Unido.

2.1.11.2. Sistema β-caroteno / ácido linoleico

Este método se basa en la capacidad de diversos antioxidantes de disminuir la decoloración oxidativa del β-caroteno en una emulsión ácida de β-caroteno/ácido linoleico. El ácido linoleico en presencia de agentes iniciadores o calor se oxida fácilmente generando radicales peroxilo que atacan al β-caroteno provocando su oxidación (**Figura 2.5**). Dicha oxidación se refleja en la correspondiente pérdida de absorbancia a 470 nm (Moon y Shibamoto, 2009).

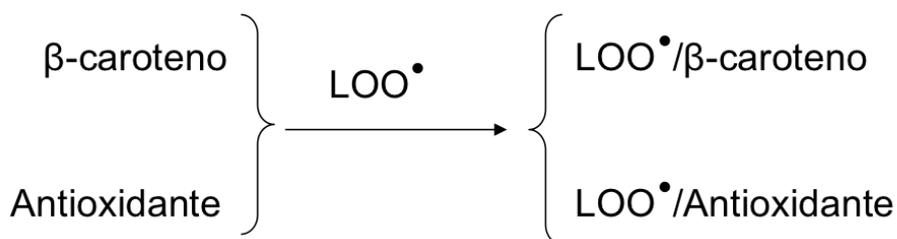


Figura 2.5. Formación de complejos entre el β-caroteno y el antioxidante con el radical peroxilo.

Un mililitro de una solución de β-caroteno en cloroformo (3,34 mg / ml) se pipeteó en un matraz que contenía 40 mg de ácido linoleico y 400 mg de Tween 20. El cloroformo se eliminó empleando un rotavapor a 40 ° C durante 5 min y, al residuo se le añadieron 100 ml de agua destilada lentamente y luego, se agitó vigorosamente. De esta manera, se formó la emulsión a emplear. Una alícuota de 5 ml de la emulsión se añadió a un tubo que contenía 0,2 ml de PVE disuelto y la absorbancia se midió a 470 nm. El blanco consistió en la emulsión sin β-caroteno. Los tubos se colocaron en un baño de agua a 40 ° C y las mediciones de absorbancia se realizaron nuevamente a los 120 minutos (Wettasinghe y Shahidi, 1999).

La inhibición de la oxidación del β -caroteno (% AI) se calculó usando la siguiente ecuación:

$$AI\% = 100 \times [1 - (Abs_{s0} - Abs_{s120}) / (Abs_{c0} - Abs_{c120})]$$

donde: Abs_{s0} y Abs_{s120} son las absorbancias de la muestra a 0 y 120 minutos y, Abs_{c0} y Abs_{c120} son las absorbancias del control a 0 y 120 minutos, respectivamente. Se usó como control una emulsión con β -caroteno pero con agua en lugar de muestra. Las mediciones se hicieron por duplicado y se realizaron por medio de un espectrofotómetro UV-Visible T60 Instrumentos PG, Leicester, Reino Unido.

2.1.12. Análisis del perfil de polifenoles por HPLC

El perfil de compuestos polifenólicos fue obtenido mediante cromatografía líquida en un equipo HPLC Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). El equipo multimódulo (**Figura 2.6**) usado incluía desgasificador de solventes, bomba de inyección cuaternaria, inyector automático, compartimento de columna termostatazido y detector DAD.

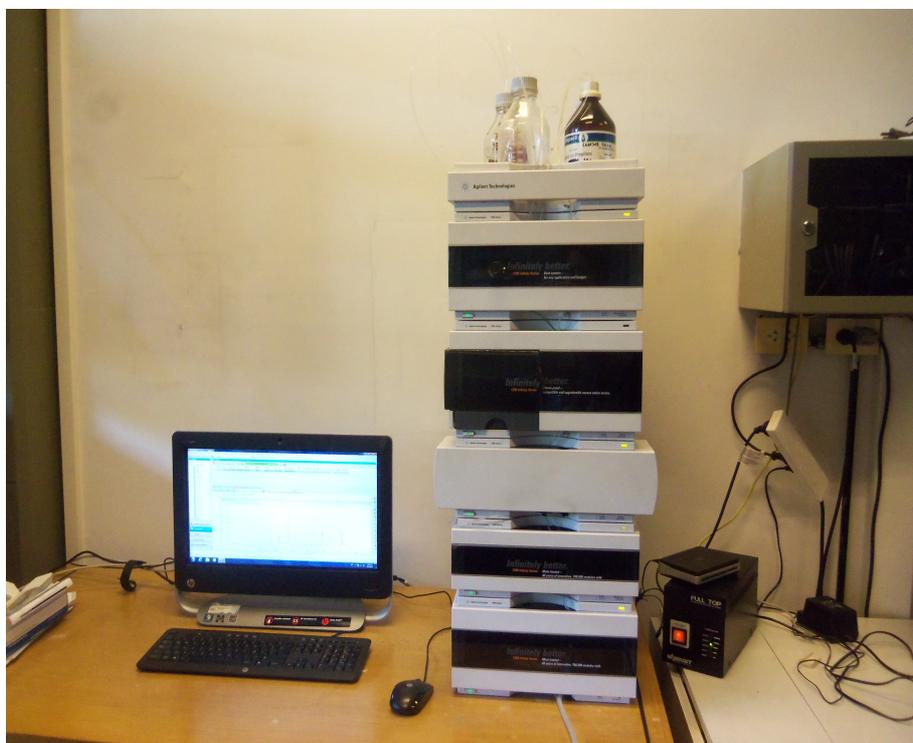


Figura 2.6. Equipo multimódulo HPLC-DAD Agilent Technology

La separación se consiguió en una columna de fase reversa C18 Phenomenex Gemini 5 μ (columna Zorbax 300 SB-C18 (250 x 4.6 mm; 5 μ m)). La temperatura de la columna se mantuvo a 30 ° C, y la detección se realizó utilizando un detector de arreglo de diodos DAD conectado a un ordenador (HP Chemstation).

Las muestras se prepararon mediante la disolución de $60,0 \pm 0,5$ mg de PVE en 1,5 ml de disolvente, una mezcla de agua / metanol / HCl (89/10/1) (Souquet y col., 2006). Antes de la inyección se filtraron a través de un filtro de jeringa Whatman PTFE (diámetro = 13 mm, porosidad = 0,45 micras). El volumen de inyección fue de 20 μ L. Se utilizaron dos solventes de elución durante el análisis. El solvente A o fase acuosa, compuesta de ácido fórmico / agua destilada (95/5) y el solvente B o fase orgánica, compuesta por acetonitrilo / agua / ácido fórmico (80/15/5). Un flujo constante de 1 ml / min fue aplicado empleando un perfil de elución por gradiente. Se utilizaron las siguientes proporciones de solvente B (la diferencia correspondía a la fase acuosa A) siguiendo el método empleado por Galmarini y col. (2013), con algunas modificaciones: 0-3 min, 3%; 3-5 min, 7%; 5-10 minutos, 10%; 10-12 min, 14%; 12 a 20 min, 15%; 20-23 min, 20%; 23-32 min, 25%; , 32-34 min, 40%; 34-39 min, 40%; 39 - 41 min, 20%; y de 41 - 45 min, 3%.

En base a los espectros UV-vis de los patrones utilizados para la cuantificación, y las zonas de máxima absorción dentro del espectro, las longitudes de onda seleccionadas para la detección fueron: 280 nm para ácido gálico, catequina, epicatequina; 320 nm para ácido cafeico y resveratrol y, 520 nm para malvidina 3-G. La cuantificación se realizó por medio de curvas de calibración con patrones de cada compuesto. Se prepararon soluciones stock de cada compuesto disueltas en el mismo solvente utilizado para diluir las muestras de PVE. Se utilizaron cuatro niveles de concentración diferentes de cada compuesto, (cada uno por triplicado) para la construcción de cada curva. Malvidina 3-G, catequina, epicatequina, ácido cafeico, ácido gálico y resveratrol fueron indentificados en las muestras de acuerdo a su tiempo de retención y propiedades espectrales. Los resultados se expresaron como mg de compuesto / 100 g de polvo. Adicional a esto las antocianinas totales también se analizaron por absorción a 520 nm y se expresaron como mg malvidin3-G equivalente / 100 g polvo.

2.1.13. Análisis de los datos

Los experimentos se realizaron por duplicado o triplicado dependiendo del tipo de ensayo y los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía, usando Infostat v.2013 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Comparaciones entre medias y tiempos de almacenamiento se llevaron a cabo mediante la prueba de Tukey a $P < 0,05$. Se realizaron las correlaciones de Pearson entre compuestos fenólicos y los parámetros de color.

2.2. Materiales y métodos correspondientes al Capítulo 4

2.2.1. Definición del concepto: Grupos de enfoque (Focus group)

El PVE sin alcohol conteniendo los polifenoles del vino tinto fue utilizado para la elaboración de una bebida “saludable” en polvo. Con el propósito de identificar y registrar las expectativas y percepciones generadas por este nuevo producto entre los potenciales consumidores se aplicó la metodología denominada Focus group. De esta manera se hizo un diagnóstico preliminar de la posibilidad de utilizar el “polvo de vino” para elaborar una bebida.

2.2.2. Metodología Focus group

La metodología Focus group es una técnica cualitativa exploratoria que utiliza un número pequeño de participantes y permite extraer información acerca de las preferencias, actitudes, opiniones, comportamientos y percepciones de los consumidores frente a un producto o prototipo determinado (Lawless y Heymann, 2010). Se ha convertido en una herramienta ampliamente utilizada dentro del proceso de desarrollo de productos (Kemp y col. 2009).

La técnica consiste en la realización de una reunión (previamente planeada y diseñada) en la que participan un pequeño número de consumidores (10-12) donde discuten acerca de un producto o prototipo. La discusión es guiada por un moderador cuya función principal es mantener el foco sobre el tema a tratar (Meilgaard y col. 1999). La principal ventaja de esta herramienta es su flexibilidad, ya que puede ser utilizada antes o después de

un análisis cuantitativo para filtrar o decantar información, o para dar respuestas a fenómenos que el análisis cuantitativo no haya podido explicar (Morgan, 1984; Lawless y Heymann, 2010).

En este ensayo participaron 40 consumidores (25 mujeres y 15 hombres, con edades comprendidas entre 22-28 años), estudiantes universitarios de la carrera de Ingeniería de Alimentos.

La prueba se desarrolló en cuatro sesiones independientes, de 40 minutos de duración cada una. En cada sesión, un grupo de 10 consumidores (diferentes en cada sesión) se reunían en una mesa redonda y un moderador coordinaba el desarrollo del test.

En la primera parte el moderador daba instrucciones acerca de la metodología del ensayo, su duración y el objetivo de la misma. Seguido, cada consumidor recibía una muestra de PVE que podía ser observada, manipulada, olfateada. El moderador hacía una breve reseña del producto donde se destacaban aspectos como el método de elaboración (técnicas físicas sin aplicación de solventes), una introducción a la “paradoja francesa” (relación vino y salud), y el problema del consumo de alcohol. Luego, con una guía de preguntas previamente establecida, el moderador daba inicio a la discusión.

- ❖ ¿Cómo podría describir el producto sólido que se le está presentando?
- ❖ ¿Cuáles son las características más importantes que lo destacan?
- ❖ ¿Podría darle un nombre como para identificarlo?
- ❖ ¿Le recuerda a algún otro producto existente en el mercado?
- ❖ ¿Su aspecto y aroma le incitan a probarlo?
- ❖ ¿En qué momentos lo consumiría?
- ❖ ¿A qué alimento estaría reemplazando?
- ❖ ¿Le parece un alimento saludable?

Siguiendo las recomendaciones de Lawless y Heyman (2010), el moderador y dos asistentes registraban de forma independiente las respuestas de los consumidores durante cada una de las sesiones.

2.2.2.1. Presentación de las muestras

Durante las cuatro sesiones se usaron recipientes de plástico transparente sin tapa (3.5 cm diámetro x 6.5 cm de profundidad). Cada recipiente contenía aproximadamente 7 gramos de PVE.

2.2.2.2. Adquisición de datos

Los datos obtenidos se iban registrando de manera independiente por parte del moderador y los dos asistentes. Cada uno anotaba en tiempo real los comentarios surgidos en el transcurso del ensayo.

2.2.2.3. Análisis de datos

Se tomaron los términos de mayor frecuencia de mención y se expresaron como porcentajes.

2.2.3. Definición de la composición de los prototipos

La cantidad de PVE a utilizar en el desarrollo de la bebida se determinó a partir de dos factores:

Primero, se tomó como referencia el peso declarado en los sobres de jugos de frutas en polvo con azúcar.

Segundo, se hizo una valoración de la concentración de compuestos fenólicos que aportaría la nueva bebida en comparación con un vaso de vino tinto, de forma tal que 1 litro de la nueva bebida aportara en fenoles el equivalente a por lo menos una copa de vino tinto (150 ml de vino tinto (aproximadamente)).

Con el fin de completar el sabor de la bebida se incorporó un edulcorante y un espesante. Para la elección del espesante (goma guar) se tuvo en cuenta su solubilidad en agua fría, buena estabilidad en almacenamiento refrigerado, ausencia de poder gelificante a bajas temperaturas, y bajo costo, comparado con otros espesantes de propiedades similares (goma xántica). Se realizaron algunos ensayos preliminares para probar las dosis a utilizar, quedando seleccionados los prototipos que se muestran en la **Tabla 2.1**

Tabla 2.1. Prototipos iniciales de la bebida

Prototipo (código)	Composición (g/L)		
	PVE	Edulcorante	Espesante (goma guar)
981	35	2	1
185	35	2	2
624	35	4	2
129	35	4	1
124	40	4	1
540	40	5	1

El edulcorante comercial elegido fue Hileret clásico 1 a 10 (ciclamarato 5700 mg / 100 g; sacarina 2,000 mg / 100 g) y el espesante fue goma guar comercial (Gelfix, Argentina). Además, todas las formulaciones tenían la misma concentración de aroma a frambuesa (0,01 g /L, Symrise, Argentina)

2.2.4. Selección de prototipos

2.2.4.1. Metodología aplicada para la selección de los prototipos

Los prototipos desarrollados fueron evaluados por consumidores con el fin de identificar las muestras más aceptadas. Se fijó como criterio de selección una aceptación superior a 5.5 evaluada sobre una escala hedónica de 9-puntos. Además, los prototipos fueron caracterizados a través de un análisis descriptivo cuantitativo (QDA[®]) realizado por un panel entrenado.

2.2.4.1.1. Estudio de preferencia

El estudio de preferencia fue realizado por 40 consumidores (22 mujeres y 18 varones, con edades comprendidas entre 19 y 26 años) estudiantes universitarios. El estudio se llevó a cabo en 2 sesiones, probando tres muestras en cada sesión en forma aleatoria. Cada consumidor evaluó las muestras sobre una escala hedónica de 9-puntos, siendo 1=me disgusta extremadamente, 5= ni me gusta ni me disgusta y 9= me gusta extremadamente (Meilgaard y col. 1999). Además, debían responder a dos preguntas abiertas para conocer qué les gustaba y qué les disgustaba de cada muestra.

2.2.4.1.1.1. Presentación de las muestras

Durante todas las sesiones se usaron vasos plásticos descartables de 70 ml (5 cm de alto x 5.5 cm de diámetro). Cada vaso contenía 10 ml de muestra (correspondiente a un sorbo) y se codificaron con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a 15 ° C y se proporcionó a los participantes agua mineral para enjuagar la boca entre muestras.

2.2.4.1.1.2. Adquisición de datos

Los datos obtenidos fueron registrados en la escala hedónica de 9-puntos y las respuestas a las preguntas contestadas libremente por cada participante.

2.2.4.1.1.3. Análisis de datos

Los datos de aceptación fueron promediados y las palabras de mayor frecuencia de mención fueron registradas.

2.2.5. Perfil Descriptivo Cuantitativo QDA[®]

El perfil descriptivo cuantitativo denominado QDA[®] (Quantitative Descriptive Analysis – QDA[®]; Stone y Sidel, 1993) es una técnica cuantitativa que provee una completa descripción de las propiedades sensoriales de un producto. Las evaluaciones están basadas en las percepciones visuales, auditivas, olfativas, kinestésicas, gustativas, realizadas por un grupo de alrededor de 10 panelistas entrenados, que desarrollan un lenguaje descriptivo por consenso.

Es un método estadísticamente robusto, que permite un mapeo de las similitudes y diferencias entre diferentes productos, y sienta las bases que determinan los atributos que pueden direccionar la aceptación de un producto. (Meilgaard y col. 1999).

2.2.5.1. Entrenamiento del panel

Los prototipos descriptos en la **sección 2.2.3** se utilizaron para el entrenamiento del panel, independientemente de su nivel de aceptación.

El entrenamiento del panel se realizó en seis sesiones. El panel estuvo conformado por 10 evaluadores de sexo femenino (20-22 años de edad),

estudiantes de Ingeniería de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Agrarias, Pontificia Universidad Católica Argentina. Todos los evaluadores tenían experiencia en análisis sensorial.

Durante el período de entrenamiento (seis sesiones de 30 minutos cada una), los jueces realizaron las siguientes tareas:

- Identificación de gustos básicos utilizando soluciones estándar.
- Identificación de aromas, usando estándares.
- Generación y definición de atributos (**Tabla 2.2.**).
- Uso de escalas no estructuradas.

Tabla 2.2. Glosario utilizado para la descripción de las bebidas a base de “polvo de vino”

Descriptor	Definición	Estándar
<u>GUSTO</u>		
Dulzor	Describe el gusto básico producido por soluciones acuosas de sacarosa.	Solución de sacarosa 5%. <u>3.3 en escala 10 cm</u>
Acidez	Describe el gusto básico producido por soluciones acuosas de ácido cítrico.	Solución de ácido cítrico al 0,05%. <u>1.3 en escala 10 cm</u>
Amargor	Describe el gusto básico producido por soluciones acuosas de cafeína.	Solución de cafeína al 0,08%. <u>3.3 en escala 10 cm</u>
<u>SENSACIONES BUCALES</u>		
Astringencia	Sensación asociada a la contracción y sequedad de las mucosas de la cavidad oral, causada por compuestos fenólicos contenidos en bebidas como el té, mate, vino.	Té concentrado (remojado 1 h) <u>4.3 en escala 10 cm</u>
Cuerpo/ viscosidad/ densidad/espesor	Sensación de peso sobre la lengua provocado por la muestra.	Solución de sacarosa 5%. <u>1 en la escala de 10 cm</u>
<u>Perfil aromático retronasal</u>		

Alcohol	Olor asociado al etanol.	Etanol 1% (v/v) en agua (Soria, Bs. As. Argentina).
Frambuesa	Aroma asociado a la frambuesa fresca. Aroma artificial a frambuesa.	Symrise, Argentina 0.02% (p/v) en agua.
Levadura	Aroma asociado con la levadura de productos de panadería.	Tiras de papel de filtro sumergidas en aroma a levadura (Firmenich, Argentina) colocadas en recipientes de vidrio sellados.
Frutos rojos	Características aromáticas de una mezcla de frutos rojos frescos (arándanos, cassis, sauco, cerezas, etc.).	Tiras de papel de filtro sumergidas en aroma a frutos rojos (Firmenich, Argentina) colocadas en recipientes de vidrio sellados.
Frutilla	Aroma asociado a la frutilla fresca.	Tiras de papel de filtro sumergidas en aroma a frutilla (Firmenich, Argentina) colocadas en recipientes de vidrio sellados.
Fermentado	Aroma asociado a bebidas fermentadas.	Tiras de papel de filtro sumergido en aroma a fermentado (Firmenich, Argentina) colocadas en recipientes de vidrio sellados.

REGUSTO

Astringente	Sensación astringente que continúa en la boca después que la bebida ha sido ingerida.
-------------	---

2.2.5.1.1. Presentación de las muestras

Durante todas las sesiones se usaron vasos plásticos descartables de 70 ml (5 cm de alto x 5.5 cm de diámetro) codificados con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a 15 ° C y se proporcionó a los participantes agua mineral para enjuagar la boca entre muestras. Las evaluaciones se efectuaron en cabinas individuales, mantenidas a una temperatura de 22 ° C, e iluminadas con luz de día (6500 K).

2.2.5.1.2. Adquisición de datos

Las evaluaciones de intensidad de los atributos fueron registradas en escalas no estructuradas de 10 cm.

2.2.5.1.3. Análisis de datos

El entrenamiento fue monitoreado a través de la aplicación de un modelo completo de ANOVA, donde se evaluó consenso, repetitibilidad y discriminación:

atributo = producto + panelista + replicación + interacción [producto x panelista] + interacción [producto x repetición] + error

Consenso: comprobar si los panelistas clasifican el producto en el mismo orden y si utilizan el mismo rango de la escala, empleando "interacción [producto x panelista]" para evaluar este criterio que debe ser $p > 0,01$ ($> 1\%$). Es decir, se asume que la interacción [producto x panelista] no es significativa, con una probabilidad de error menor al 1%.

Si la interacción [producto x panelista] resultara significativa implicaría que los panelistas tienen su propia manera de evaluar los productos, y no habría consenso en absoluto.

Repetibilidad: verificar si el panel como el conjunto + los panelistas como individuos son repetibles, y replican las mismas evaluaciones de una sesión a otra. Se usó la interacción [producto x replicación] para evaluar este criterio, que debe ser $p > 0,01$ ($> 1\%$), lo que significa que la interacción entre el producto y la replicación no es significativo, y se tiene menos de 1% de probabilidad de cometer un error.

Una interacción significativa [producto x replicación] significaría que todos los productos se evalúan sistemáticamente diferentes entre Rep1 y Rep2.

Discriminación: comprobar si el panel como el conjunto + los panelistas como individuos son capaces de discriminar dos o más productos. Se utiliza el "producto" para evaluar este criterio de rendimiento que debe ser $p < 0,1$ ($< 10\%$), lo que significa que los productos son diferentes, con menos del 10% de probabilidad de cometer un error.

2.2.6. Agrupamiento (*Sorting task*)

Dentro de las pruebas diferenciales se encuentran los llamados test de agrupamiento, y es de especial interés la técnica denominada *Sorting task* que es muy útil cuando se tiene un alto número de muestras donde el test del triángulo sería muy tedioso de aplicar. Es un método simple y rápido que permite detectar las similitudes dentro de un determinado grupo de productos (Lawless y Heymann, 2010). Además, se puede pedir que describan las características de cada grupo obteniéndose así información adicional.

2.2.6.1. Metodología *Sorting task*

Una vez identificados los prototipos de mayor aceptación, se evaluó su nivel de similitud aplicando *Sorting task* (Chollet y col., 2014), con el objeto de determinar si eran percibidos en forma diferencial antes de realizar un estudio con consumidores.

Los asesores (10 panelistas entrenados que realizaron el QDA[®]) analizaron cuatro muestras por duplicado. Cada evaluador debía probar todas las muestras y agruparlas en tantos grupos como creyera conveniente de acuerdo a las similitudes encontradas entre ellas. La única restricción era que una misma muestra no podía pertenecer a dos grupos diferentes. Al menos tres atributos de **la Tabla 2.2** debían ser seleccionados para describir cada grupo. Las pruebas se efectuaron en cabinas individuales mantenidas a una temperatura de 22 ° C, e iluminada con luz de día (6500 K).

2.2.6.1.1. Presentación de las muestras

Se usaron vasos plásticos descartables de 70 ml (5 cm de alto x 5.5 cm de diámetro) codificados con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a 15 ° C y se proporcionó a los participantes agua mineral para enjuagar la boca entre muestras.

2.2.6.1.2. Adquisición de datos

Los datos de cada evaluador fueron recogidos sobre matrices individuales de doble entrada donde las filas y las columnas son muestras,

colocando el valor 1 en los pares de muestras que se agrupaban. Los descriptores fueron listados desglosándolos por la mención en cada muestra.

2.2.6.1.3. Análisis de datos

Los datos obtenidos de la prueba de agrupamiento se analizaron aplicando escalamiento multidimensional, junto con la frecuencia de citación de los descriptores utilizando Infostat v. 2013 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Para cada panelista, los datos del agrupamiento fueron codificados en matrices de distancia individual donde filas y columnas son las muestras. La suma a través de todos los participantes de estas matrices individuales proporciona información sobre las similitudes (distancia euclidiana) entre los productos.

2.2.7. Estudio de aceptación de los prototipos seleccionados

Obtenido el perfil sensorial de los prototipos y comprobada la diferencia entre ellos (**secciones 2.2.5 y 2.2.6**) se procedió a realizar el estudio de consumidores.

La estrategia planteada para este estudio se basó en el uso de metodologías que permitieran medir las diferencias en aceptación entre géneros (hombres y mujeres), verificar el impacto de la información entregada a los evaluadores relacionada con los beneficios saludables, y mejorar la comprensión de la influencia de los atributos sensoriales sobre el direccionamiento de la aceptación.

En este sentido, se utilizaron dos escalas para medir aceptación, primero se usó la tradicional escala hedónica de 9-puntos (Meilgaard y col., 1999) seguida de una segunda escala no estructurada y continua (10 cm) a modo de doble chequeo (Aitken, 1969).

Varios estudios se han llevado a cabo utilizando diferentes escalas encontrando resultados diferentes de acuerdo a la sensibilidad de la escala empleada (Lawless y Heymann, 2010). Un criterio importante para la selección del tipo de escala tiene que ver con la necesidad de identificar o descubrir segmentos de consumidores con diferentes preferencias. El uso de escalas continuas y discretas ha permitido algunas veces discriminar mejor las preferencias (Villanueva y Da Silva, 2009).

El suministro de información acerca de los beneficios para la salud podría tener un gran impacto sobre la evaluación de productos enriquecidos con polifenoles (Jaeger y col, 2009). La estrategia de proveer información de los efectos saludables, puede contribuir a una mejor evaluación de algunos productos, particularmente en lo referente a la intención de compra (Tuorila y Cardello, 2002; Casati y col., 2012).

Una comprensión más adecuada de la aceptación se puede conseguir empleando técnicas que midan el impacto y/o las relaciones existentes entre los atributos sensoriales del producto y las calificaciones hedónicas. Dos técnicas que contribuyen a este fin son el análisis de penalidades y el uso de mapas de preferencias.

El análisis de penalidades es un método que permite evaluar el efecto de un atributo sensorial sobre la caída de aceptación en una muestra. Para esto se utiliza una escala de punto justo por cada atributo que quiera ser evaluado (JAR, por sus siglas en inglés). Una vez calificado el atributo por los consumidores, esta herramienta permite obtener una serie de penalidades, que no son más que el castigo que tendría la aceptación cuando un determinado atributo que no se encuentra en su valor ideal (Rothman, 2007).

Otra técnica empleada en el desarrollo de productos, son los mapas de preferencias. Es una técnica de análisis multivariado que investiga la aceptación de los consumidores para una serie de productos mediante el uso de técnicas de mapeo estadístico (análisis de componentes principales (PCA), regresión de componentes principales (PCR), regresión de mínimos cuadrados parciales (PLS). Es una herramienta robusta que permite entender las relaciones entre los atributos sensoriales del producto y la aceptación de los consumidores, identificando los principales direccionadores sensoriales de la preferencia junto con los productos más aceptados (Naes y col., 2010). Estas importantes relaciones se obtienen porque la técnica hace uso de los datos sensoriales analíticos, que pueden ser obtenidos por diferentes métodos (el más usado es el QDA[®]), junto con las calificaciones hedónicas obtenidas mediante un estudio de consumidores. Primero, se hace un análisis de componentes principales con los datos provenientes del perfil descriptivo (QDA[®] u otro metodo) utilizando una matriz de correlación con las medias de

las muestras analizadas. Después de esto, los consumidores se agrupan de acuerdo con sus preferencias (agrupación por cluster). Finalmente, utilizando los valores de aceptación promedio para cada grupo, un modelo (puede ser vector, punto ideal elíptico, punto ideal circular) se aplica para predecir la aceptación de cada grupo de consumidores sobre la base de los atributos de las muestras. El resultado final es un gráfico multivariado que permite explicar fácilmente las relaciones existentes entre estos dos tipos de calificaciones (Lawless y Heymann, 2010).

De manera complementaria, también se buscó relacionar *el estado emocional* de los consumidores con las respuestas hedónicas. Desde el punto de vista del desarrollo de un nuevo producto, las expectativas de los consumidores hacia un nuevo alimento o bebida pueden ser exploradas teniendo en cuenta las emociones que estos productos generan. En general, se reconoce que las elecciones alimenticias humanas se ven afectadas y/o se encuentran asociadas a las emociones. (Desmet y Schifferstein, 2008; Hanoch, y col., 2007; Manzocco y Lagazio, 2013).

2.2.7.1. Desarrollo del estudio

2.2.7.1.1. Participantes

El estudio se realizó con 144 consumidores reclutados en el campus universitario de la Universidad Nacional de Quilmes, (Argentina) en función de la frecuencia de consumo de jugos de fruta (al menos 2 o 3 veces por semana) y vino tinto (al menos una vez por semana). La población estuvo balanceada, compuesta por 70 mujeres y 74 hombres, con edades entre 19 a 35 años, $M = 23,3$, $SD = 4,0$. La elección de la universidad para hacer el estudio, se fundamentó en la facilidad logística de poder contar con un número grande de consumidores dispuestos a realizar el ensayo.

Para investigar la influencia de la información en la aceptación de la bebida, la población total se dividió en dos grupos al azar, siendo uno de ellos el grupo control (sin información) y el otro el grupo al que le fue proporcionada la siguiente información:

“Las sustancias conocidas como antioxidantes son compuestos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza y tienen la capacidad de

retrasar los procesos oxidativos (como el envejecimiento), ayudan a reducir el riesgo de enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y el desarrollo de diferentes tipos de cánceres.

*Dadas sus ventajas sobre la salud, se está estimulando el consumo de alimentos con alto contenido o suplementados con antioxidantes. En este caso desarrollamos una **bebida a base de vino en polvo que contiene los polifenoles del vino pero no su alcohol.***

*Históricamente se ha relacionado el consumo de vino con la calidad de vida. En los últimos años, a partir de la postulación de la "Paradoja Francesa", se ha dado un marco científico al concepto tradicional de vino y salud. Esta paradoja se apoya en los resultados del estudio de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1989) donde se mostró que la **ingesta de cantidades moderadas de vino tinto (200-300 ml/día)**, sería responsable de la baja incidencia de patologías coronarias en Francia. Este efecto beneficioso se ha atribuido al alto contenido de polifenoles del vino tinto”.*

2.2.7.1.2. Procedimiento

Se pidió a los participantes evaluar las cuatro muestras (10 ml por muestra) durante la misma sesión. Las muestras fueron presentadas siguiendo un diseño cuadrado latino de forma monádica secuencial. El orden de presentación de las muestras fue balanceado entre los 144 consumidores de acuerdo a las recomendaciones de MacFie, y col., (1989).

Los atributos se analizaron de forma secuencial en el siguiente orden.

1. Aceptación global:

- a. Primero se usó una escala hedónica de 9-puntos, con los extremos “me disgusta extremadamente” (1) y “me gusta extremadamente” (9) con un punto neutral en (5) “Ni me gusta ni me disgusta”. (Meilgaard y col. 1999);
- b. Después se usó una escala análoga visual (VAS) (Aitken, 1969) continua no estructurada de 10 cm, siendo los extremos “me gusta muy poco” y “me gusta mucho”. Esta segunda escala fue usada solamente

como *doble chequeo* de la evaluación de los consumidores, por esta razón el orden de las escalas fue siempre el mismo.

2. Qué gusta y qué No gusta de la bebida.

Se les solicitó a los participantes contestar dos preguntas abiertas para expresar las razones por las cuales gusta o disgusta la bebida consumida.

- a. Qué fue lo que le gustó del producto?
- b. Qué fue lo que No le gustó del producto?

3. Estado emocional

Se pidió a los consumidores que expresaran cómo se sentían después de probar las muestras mediante la selección de todas las palabras que consideraban apropiadas a partir de una lista de 39 términos (**Tabla 2.3**). La lista, que describe las emociones asociadas con los alimentos es una adaptación al castellano de la lista de King y Meiselman (2010). Seis de los términos originales fueron suprimidos (amable, buen carácter, cariñoso, alegre, nostálgico y educado) y seis nuevos términos fueron introducidos "neutral", "natural", "tranquilo", "triste", "animado", "sorprendido". Estos términos fueron adoptados para facilitar una mejor comprensión. El orden de las palabras era el mismo para todos los participantes.

Tabla. 2.3. Lista de chequeo de la emociones. Adaptado de King y Meiselman (2010) para la gente hispano parlante.

Activo	Contento	Placentero
Innovativo	Bueno	Sorprendido
Afectuoso	Natural	Tranquilo
Agresivo	Culpable	Satisfecho
Aburrido	Feliz	Seguro
Calmo	Interesado	Estable
Atrevido	Alegre	Manso
Disgustando	Informal	Tierno
Ansioso	Liviano	Comprensivo
Enérgico	Triste	Cálido

Entusiasta	Animado	Entero
Libre	Pacífico	Enojado
Neutral	Encantado	Preocupado

4. Cuerpo / viscosidad: se midió con una escala de punto justo (JAR; 5 puntos) limitada por dos extremos: 2 = excesivamente viscosa y -2 = demasiado diluida, además un punto central (0, cuerpo óptimo). La ubicación de la escala JAR después de la calificación hedónica obedece a las recomendaciones realizadas por Rothman y Parker (2009).

5. Frescura, aroma, sabor, dulzor, acidez y astringencia fueron también medidas mediante el uso de las dos escalas.

7. La intención de volver a consumir junto con la intención de compra de la bebida fueron evaluadas con una escala Likert (para evaluar el estado de acuerdo o desacuerdo) de 5 puntos que va desde 1 = "No la consumiría" / "No la compraría" hasta 5 = "Si la volvería a consumir" / "Si la compraría".

2.2.7.1.3. Presentación de las muestras

Durante la sesión se usaron vasos plásticos descartables de 70 ml (5 cm de alto x 5.5 cm de diámetro). Cada vaso contenía 10 ml de muestra (correspondiente a un sorbo) y se codificaron con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a 15 ° C y se proporcionó a los participantes agua mineral para enjuagar la boca entre muestras.

2.2.7.1.4. Adquisición de datos

La encuesta completa se encuentra en el **Anexo I**.

2.2.7.1.5. Análisis de los datos

Las diferencias entre las muestras, la influencia de la información y género fueron analizadas también mediante el comando Modelo lineal general del software PASW Statistics 18 (SPSS Inc., Chicago, IL). Las comparaciones

entre medias fueron realizadas por la aplicación del test de menor diferencia significativa (LSD) a $p < 0.05$.

El análisis de penalidades fue llevado a cabo sobre los datos de la escala de punto justo (JAR) para determinar el impacto en la aceptación global del atributo “cuerpo” (Lovely y Meullenet, 2009). Se utilizó el software XLSTAT v. 2014.5.03 (AddisoftTM).

La preferencia de los consumidores junto con los datos descriptivos del panel fueron analizados mediante un Mapa de Preferencias externo descrito por Schlich y McEwan (1992), con XLSTAT v. 2014.5.03 (AddisoftTM).

Las respuestas a las preguntas qué gustó o qué no gustó de la muestra, así como las palabras asociadas a las emociones fueron analizadas por su frecuencia de citación, distribución de chi-cuadrado y análisis de correspondencia factorial (FCA) usando Infostat v.2008 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). El FCA generó una matriz de datos, donde las filas representan las muestras evaluadas, y las columnas representan los atributos utilizados para describir las muestras. Dos tablas de contingencia fueron hechas (Schlich y McEwan, 1992). Las comparaciones de medias se realizaron mediante la prueba de Friedman a $p < 0.05$.

2.3. Materiales y métodos correspondientes al Capítulo 5

2.3.1. Perfil dinámico: sensaciones y emociones empleando múltiples sorbos.

2.3.1.1. DTS (Dominancia Temporal de Sensaciones)

El test de Dominancia Temporal de Sensaciones (DTS), es una prueba dinámica que permite monitorear a través del tiempo aquellos atributos que más “captan nuestra atención” en un determinado momento, permitiendo ver su evolución durante el proceso de ingestión de un alimento (Schlich, 2007; Pineau y col., 2009; Di Monaco y col., 2014). DTS es una técnica multivariada, relativamente rápida en comparación con otras técnicas temporales como el ensayo I-T (Intensidad –Tiempo), que miden la intensidad de cada atributo en forma individual. En TDS se acude al concepto de “dominancia” (no necesariamente el más intenso) para rastrear el atributo que más despierta la

atención del evaluador en un determinado período de tiempo en contraste con los otros atributos evaluados (Kemp y col., 2009). Existen diferentes herramientas informáticas que permiten registrar los datos necesarios para el desarrollo de DTS, entre las que se destacan TimeSens[®] y Sensomaker (Jager y col. 2014; Zorn y col. 2014).

Con algunas variantes dependiendo del software utilizado, de manera general el método consiste en presentar a los evaluadores un conjunto de atributos que aparecen en la pantalla de la computadora. Una vez ingerido el producto, se da inicio al ensayo y se comienza a seleccionar de un set de atributos, aquel que se considere dominante (el que más atraiga la atención). Cada vez que el evaluador piense que la percepción del atributo dominante ha cambiado (en intensidad o en calidad) puede elegir un nuevo atributo si lo considera necesario. Por cada corrida, este método permite registrar una secuencia de atributos sensoriales (de acuerdo a la metodología, puede capturar intensidades) citados en tiempos diferentes a lo largo del ensayo. Una vez finalizado el ensayo y procesados los datos recolectados se obtienen curvas individuales por cada atributo que muestran las relaciones de dominancia (% de asesores que eligieron el atributo como dominante en un determinado periodo de tiempo) (Kemp y col., 2009).

2.3.1.2. DTE (Dominancia Temporal de Emociones)

Las emociones como muchas otras percepciones, no son respuestas estáticas sino que evolucionan a lo largo del tiempo (Sander y col., 2005; Jager y col., 2014). Si bien en años recientes se han desarrollado nuevos métodos para la medición de emociones predominantemente positivas (Desmet y Schifferstein, 2008; King y Meiselman, 2010), todos estos métodos han enfocado la emoción como parte de un simple evento. Solamente hacen un único registro de la emoción o emociones evocadas por un determinado alimento inmediatamente después de su consumo.

Jager y col. (2014) fueron los primeros en hacer una evaluación dinámica de emociones en diferentes muestras de chocolate. Mediante el empleo de la herramienta TimeSens[®] utilizada también para la generación de perfiles DTS, usaron 10 atributos emocionales en lugar de atributos sensoriales

y pidieron a cada evaluador elegir la “emoción dominante” a lo largo del ensayo, de esta manera fueron generados los perfiles emocionales DTE.

2.3.1.3. Metodología Múltiples Sorbos

Comer y beber son procesos multi-fase en los cuales los alimentos son ingeridos a través de porciones ya sea, trozo por trozo, o sorbo por sorbo en el caso de las bebidas. Una vez en la cavidad oral los componentes alimentarios entran en un contacto repetido con las superficies orales, generándose una serie de transformaciones mecánicas y biológicas, proceso que algunos han llamado *predigestión* (de Wijk y col., 2012; Langfried, 2013). Estas rápidas transformaciones desencadenan estímulos inmediatos que son percibidos por el consumidor. La respuesta a estos estímulos depende de la velocidad de adaptación de cada persona. Por esta razón, en bebidas complejas como la cerveza un primer vaso no es suficiente para percibir todo los aspectos del producto (Köster,2003).

Muchos de los ensayos sensoriales se basan en la medida de un único estímulo, sin embargo en la vida real los productos son consumidos en rápidas y repetidas ingestiones que ocasionan una serie de eventos tiempo-dependientes que se traducen en cambios en la percepción del producto. De esta forma se hace necesario emplear metodologías tiempo-dependientes que ayuden a un mejor entendimiento de la evolución de las percepciones.

Para acercarse a una experiencia más real en el consumo de alimentos, diferentes autores han medido los cambios de las percepciones a través de extendidos períodos de tiempo (Köster, y col., 2002; Stein y col., 2003) o de cortos períodos de tiempo (Pineau y col., 2012). Sin embargo, en la mayoría de los estudios se acude al procedimiento estándar de un solo estímulo y son pocos los estudios que han abordado la metodología múltiple sorbo.

Algunos de los autores que han hecho uso de esta esta metodología emplearon medidas del perfil de atributos mediante el sistema DTS (Zorn y col., 2014) combinadas con medidas hedónicas mediante test de aceptación

(Corrêa y col., 2015) encontrando cambios en los parámetros medidos a lo largo de los sorbos sucesivos.

Zorn y col., 2014 aplicaron el método DTS, en la modalidad de tres sorbos sucesivos, para determinar los cambios del perfil temporal de seis atributos evaluados.

2.3.1.4. Procedimiento del perfil dinámico de sensaciones con ingestión de múltiples sorbos (DTS)

La prueba se realizó con un panel de 28 evaluadores con experiencia en análisis sensorial (8 hombres y 20 mujeres; 22 a 27 años, $M = 22,5$, $SD = 2,0$). Los asesores calificaron las muestras usando la metodología DTS descrita por Pineau y col. (2009). Se realizó un entrenamiento previo que consistió en la identificación de los atributos usando soluciones estándar, introducción al concepto de “atributo dominante”, y el uso del software destinado a la adquisición de datos.

Los cinco atributos (dulzor, acidez, cuerpo, aroma y regusto astringente) fueron seleccionados a partir del análisis descriptivo cuantitativo (QDA[®]) realizado previamente a las muestras. La adquisición de datos fue realizada a través del módulo Temporal Dominance of Sensation del programa SensoMaker v1.8 (Federal University of Lavras, Brazil) (Rodríguez y col. 2014; Zorn y col., 2014).

2.3.1.5. Procedimiento del perfil dinámico de emociones con ingestión de múltiples sorbos (DTE)

La prueba se realizó con un panel de 54 evaluadores (26 hombres y 28 mujeres; 15 a 50 años, $M = 20,7$, $SD = 2,0$). Los asesores calificaron las muestras usando la metodología DTE descrita por Jager y col. (2014). Se realizó un entrenamiento previo que consistía en la introducción al concepto de “emoción dominante”, y el uso del software destinado a la adquisición de datos. Las ocho emociones seleccionadas (placentero, natural, satisfecho, aburrido, sorprendido, disgustado, interesado y alegre) fueron las de mayor frecuencia de mención obtenida en la prueba estática del estado emocional. El programa empleado para el desarrollo del test fue nuevamente el módulo de adquisición de datos (Temporal Dominance of Sensation) acoplado al SensoMaker v1.8

(Federal University of Lavras, Brazil) (Rodríguez y col. 2014; Zorn y col., 2014). Esta vez en el lugar donde se ubicaban los atributos (para el caso del ensayo DTS) fueron ubicadas las ocho emociones seleccionadas.

2.3.1.6. Entrenamiento Perfiles dinámicos DTS y DTE

El entrenamiento realizado para los evaluadores de DTS y de DTE solamente presentó una variante, los participantes que realizaron DTE solamente realizaron la última parte de la primera sesión, después el entrenamiento fue igual para los dos grupos.

2.3.1.6.1. Primera sesión

Reconocimiento de los cinco atributos seleccionados (dulzor, acidez, cuerpo, aroma y regusto astringente) mediante el uso de soluciones estándar (**Tabla 2.2.**), introducción al significado de atributo o emoción dominante, definiéndose como la percepción sensorial (o emoción experimentada) que desencadena la mayor atención en un determinado período de tiempo (Pineau y col., 2009; Labbe y col., 2009; Lenfant y col., 2009; Albert y col., 2012). Para ayudar a entender el concepto, se usó la analogía de la orquesta, donde en cada período de tiempo existe algún instrumento que capta nuestra mayor atención (Ng, 2014).

2.3.1.6.2. Segunda sesión

En esta sesión los asesores fueron entrenados en el uso de la temporalidad del método. Primero se acudió a un entrenamiento de tipo discreto sin el uso del software, donde se les solicitó a los participantes tildar el atributo de la lista impresa (o la emoción para el caso de DTE) que consideraban dominante en determinados períodos de tiempo (10, 20, 30, 40 segundos) luego de probar una muestra (Boushell, 2014).

En la segunda parte se realizó un entrenamiento de tipo continuo esta vez empleando el software de adquisición de datos. Para comenzar se les solicitó a los evaluadores sorber todo el contenido de la muestra en la boca e

inmediatamente se les pidió que oprimieran el botón “start” para dar inicio al test.

Los asesores debían elegir a lo largo de 30 segundos cuál de los atributos de la lista de cinco que aparecían en pantalla (dulzor, acidez, cuerpo, aroma y regusto astringente) (o las ocho emociones seleccionadas para el caso de DTE) y consideraban dominante. Además, una vez elegido el primer atributo (emoción), el cual aparecería sombreado de verde en la pantalla, podían elegir libremente otro atributo (emoción) una vez que se modificara la percepción de este. Un mismo atributo (emoción) podía ser elegido las veces que lo consideraran necesario durante el período de evaluación.

Como parte del diseño del programa, los participantes podían ver en tiempo real, el tiempo que iba transcurriendo desde que daban inicio al ensayo por medio de un cronómetro desplegado en la pantalla.

El software fue programado previamente para que se detuviera automáticamente a los 30 segundos de iniciada la prueba. El orden de los atributos (emociones) en pantalla fue diferente entre todos los participantes, para evitar efectos de orden, pero fue el mismo para cada panelista cuando evaluaba muestras diferentes.

2.3.1.7. Evaluación formal DTS y DTE

En la evaluación formal los panelistas debían consumir las muestras evaluadas en tres sorbos diferentes, cada 20 segundos. Los tres sorbos se debían tomar a los 0, 20 y 40 segundos, para un tiempo total de evaluación de 60 segundos. Las instrucciones fueron las mismas que las utilizadas en la segunda parte del entrenamiento. El software fue programado para detenerse automáticamente a los 60 segundos y los evaluadores por medio del cronómetro desplegado en la pantalla sabían en qué momento tomar los sorbos de la muestra (**Figura 2.7**).

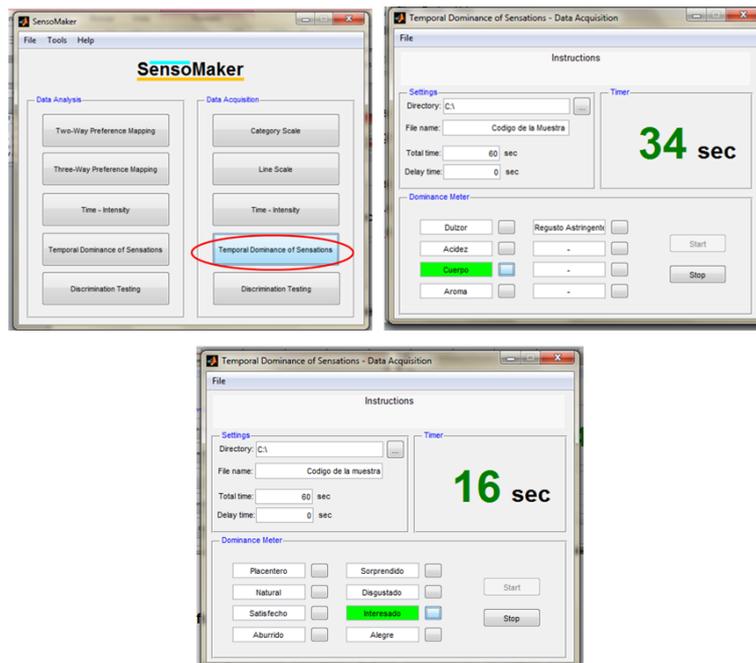


Figura 2.7. Captura de pantalla del software (SensoMaker v1.8.) de adquisición de datos para DTS y DTS

2.3.1.8. Presentación de las muestras

Durante todas las sesiones se usaron vasos plásticos descartables de 70 ml (5 cm de alto x 5.5 cm de diámetro). Cada vaso contenía 10 ml de muestra (correspondiente a un sorbo) y se codificaron con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a 15 ° C. Se utilizó agua mineral para el enjuague entre las muestras, pero no se realizó enjuague entre sorbos.

2.3.1.9. Adquisición de datos

Realizada a través del módulo de adquisición de datos (Temporal Dominance of Sensation) acoplado al SensoMaker v1.8 (Federal University of Lavras, Brazil) (Rodríguez y col., 2014; Zorn y col., 2014).

2.3.1.10. Análisis de datos

Las curvas de dominancia temporal muestran gráficamente la proporción de participantes que seleccionan como dominante un determinado atributo (emoción). De esta forma, a lo largo de los tres sorbos, la relación de dominancia para cada atributo (emoción) durante cada tiempo (cada segundo) fue determinada como el porcentaje de juicios emitidos por los asesores que consideraban un atributo (emoción) como dominante, en un tiempo

determinado.

Una relación de dominancia con un valor de 50 significa que el 50 % de los panelistas consideran como dominante ese atributo (emoción) para ese tiempo determinado. Cuanta más alta es la relación de dominancia para un determinado atributo (emoción), mayor es el nivel de acuerdo entre los participantes.

Las líneas de nivel de oportunidad (Po) y nivel de significancia (Ps) fueron calculadas y representadas en las curvas. Po fue calculado como la inversa del número total de atributos (emociones) (Pineau y col., 2009). Mientras que Ps (el valor significativamente más bajo de la relación de dominancia ($\alpha = 0,05$) para cualquier punto de la curva DTS o DTE) se calculó usando el intervalo de confianza de una proporción binomial, basados en una aproximación normal como lo recomienda Pineau y col. (2009), cuando se trabaja con pocos evaluadores.

$$Ps = Po + 1.645 \left(\frac{Po(1-Po)}{n} \right)^{1/2},$$

dónde n es el número de evaluadores.

Con el objeto de comparar las muestras se calcula la diferencia de las relaciones de dominancia de cada curva, pero únicamente se grafican las diferencias que son estadísticamente significativas. El límite de significancia para cada curva (atributo o emoción) es obtenido usando el test que compara dos proporciones binomiales (A-B, es decir A comparado con B) (Kiemele y col., 1995; Pineau y col., 2009). De esta forma el límite para cada curva en cada tiempo es determinado por:

$$P_{t \text{ diff}} = 1.96 + \left(\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right) * P_{\text{moy } t} * (1 - P_{\text{moy } t}) \right)^{1/2}$$

donde:

$$P_{\text{moy } t} = (P_1 * n_1 + P_2 * n_2) / (n_1 + n_2);$$

$P_{t \text{ diff}}$, es el límite de diferencia significativa ($\alpha = 0,05$) para la diferencia de las

proporciones (relaciones de dominancia) al tiempo t ;

P_1 , proporción para el producto 1 al tiempo t ;

P_2 , proporción para el producto 2 al tiempo t ;

n_1 , número de evaluadores que calificaron el producto 1;

n_2 , número de evaluadores que calificaron el producto 2.

Las curvas dibujadas por encima del eje x (tiempo) representan los atributos (emociones) significativamente más altos respecto a la tasa de dominancia para el producto A, mientras que curvas dibujadas por debajo del eje x (tiempo) denotan los atributos (emociones) significativamente más altos (respecto a su tasa de dominancia) en el producto B.

2.3.2. Medidas explícitas de la evaluación dinámica hedónica: Curvas de Aceptación Temporal con ingestión de Múltiples Sorbos (ATMS)

2.3.2.1. Participantes

El estudio se llevó a cabo con 73 consumidores, reclutados en la Pontificia Universidad Católica Argentina, en función de su frecuencia de consumo de jugos de fruta (al menos 2 a 3 veces por semana) y vino tinto (al menos una vez por semana). La población fue balanceada, compuesta por 35 mujeres y 38 varones; de entre 18 a 41 años de edad ($22,3 \pm 3,2$; media \pm desviación estándar). El test se llevó a cabo en cabinas individuales dotadas con una computadora para el registro de los datos en el software utilizado (SensoMaker v1.8).

Durante el test, las expresiones faciales de los participantes se filmaron con una cámara de video acoplada a cada cabina.

Los participantes fueron informados tanto del propósito del estudio como de las filmaciones llevadas a cabo a lo largo del procedimiento experimental. Todos los participantes realizaron las pruebas en una sola sesión, y firmaron previamente un formulario de consentimiento.

2.3.2.2. Ensayos preliminares

Con el fin de determinar el tiempo de duración entre cada sorbo, fue realizada una prueba preliminar con 16 participantes (13 mujeres y 3 hombres). Cada participante evaluó en un solo sorbo cada una de las muestras. El ensayo tuvo una duración de 30 segundos y se usó la metodología de Intensidad en función del Tiempo (I-T) para evaluar la aceptación (Taylor y Pangborn, 1990) (ver procedimiento en la siguiente **sección, 2.3.1.3**).

2.3.2.3. Procedimiento

El panel de 73 consumidores evaluó el nivel de aceptación de las muestras a través del tiempo utilizando el módulo de adquisición de datos (Time-Intensity) acoplado al SensoMaker v1.8 (Federal University of Lavras, Brazil). La escala presenta un rango de 0 a 10, donde 0 = no me gusta y 10 = me gusta extremadamente. Antes de comenzar la prueba, los participantes fueron entrenados en el uso del software. Cada participante consumió tres sorbos de la misma muestra (10 ml cada sorbo), cada 20 segundos, generando una calificación continua durante 60 segundos. El tiempo fue previamente programado con el fin de evitar que el tiempo total difiera de un participante a otro. Cada participante revisaba el tiempo de la prueba por medio de un cronómetro situado dentro de la pantalla. El cursor siempre estaba visible durante todo el ensayo y era la herramienta empleada para que cada participante calificara la muestra sobre la escala que aparecía en pantalla (**Figura 2.8**)

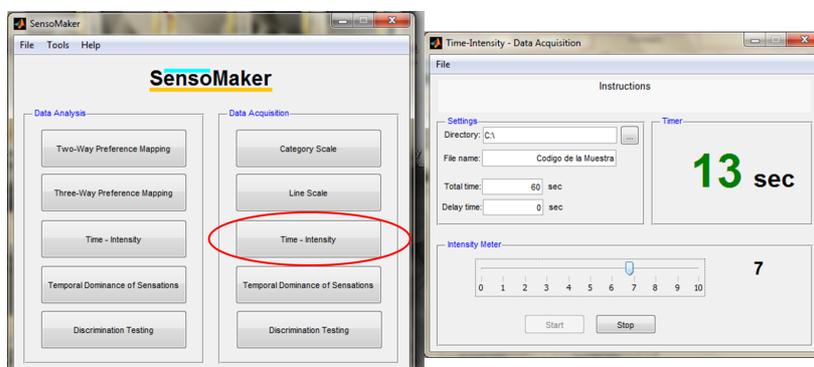


Figura 2.8. Captura de pantalla. Software (Senso SensoMaker v1.8.) de adquisición de datos para las curvas Aceptación Temporal Múltiple Sorbos (ATMS)

Las instrucciones específicas para el desarrollo de este ensayo entregadas a cada participante fueron las siguientes:

"Usted recibirá tres vasos que contienen la misma muestra que deberá calificar durante tres sorbos. La tarea consiste en evaluar la aceptación de la bebida por un período de 60 segundos. Durante todo el ensayo usted deberá responder a la pregunta: ¿Qué tanto le gusta la bebida?"

Para comenzar debe colocar todo el contenido del primer vaso en su boca, y de forma rápida, pulsar el botón de Start. Evalúe el nivel de aceptación moviendo el cursor a lo largo de la escala lineal que aparece en la pantalla de acuerdo a su nivel de aceptación. Cuando el cronómetro indique 20 segundos, debe beber el segundo vaso de la muestra y continuar con la evaluación. A los 40 segundos, beba el tercer y último vaso continuando la evaluación de la aceptación hasta los 60 segundos. Una vez alcanzado el tiempo de 60 segundos el software le avisará que el ensayo ha terminado."

2.3.3. Medidas implícitas de la evaluación dinámica hedónica: Expresiones faciales (valencia positiva/negativa, emociones básicas, unidades de acción)

La medida de las reacciones afectivas desencadenadas por cada formulación se realizó mediante el análisis de los patrones faciales siguiendo el procedimiento de García-Burgos y Zamora (2013). Las reacciones faciales fueron registradas con una cámara de vídeo digital (JVC GZ-MS150SU-CMOS progresivo), que se encontraba ubicada en un orificio de la pared delantera de cada cabina, justo encima de la pantalla de la computadora y en frente del evaluador. Los videos fueron almacenados como archivos (.wmv) en Windows media para su posterior análisis.

La cámara se encontraba a una distancia de 1,5 m. La iluminación de la cara del participante se realizó mediante el uso de lámparas de luz diurna (6500 k). Los participantes se sentaron en frente de cada cabina y se les recomendó mantener la atención sobre la pantalla del ordenador. Los vasos utilizados fueron pequeños (10 ml) y transparentes, de manera que no interfirieran con la

grabación. Además, la cámara tenía tecnología de detección facial que identifica los rostros de las personas siguiendo sus movimientos y realiza ajustes para alcanzar el nivel óptimo de enfoque, exposición y balance de blancos. Las expresiones faciales fueron seguidas en tiempo real mientras se realizaban los registros visuales. El experimentador se encontraba detrás de la cabina, oculto al evaluador y su función era hacer observaciones en caso de ser necesarias, cuando el participante se cubriera el rostro o desviara la atención sobre la pantalla de la computadora, como lo sugiere Arnade (2013). La **Figura 2.9.** muestra el dispositivo de filmación de las expresiones faciales.

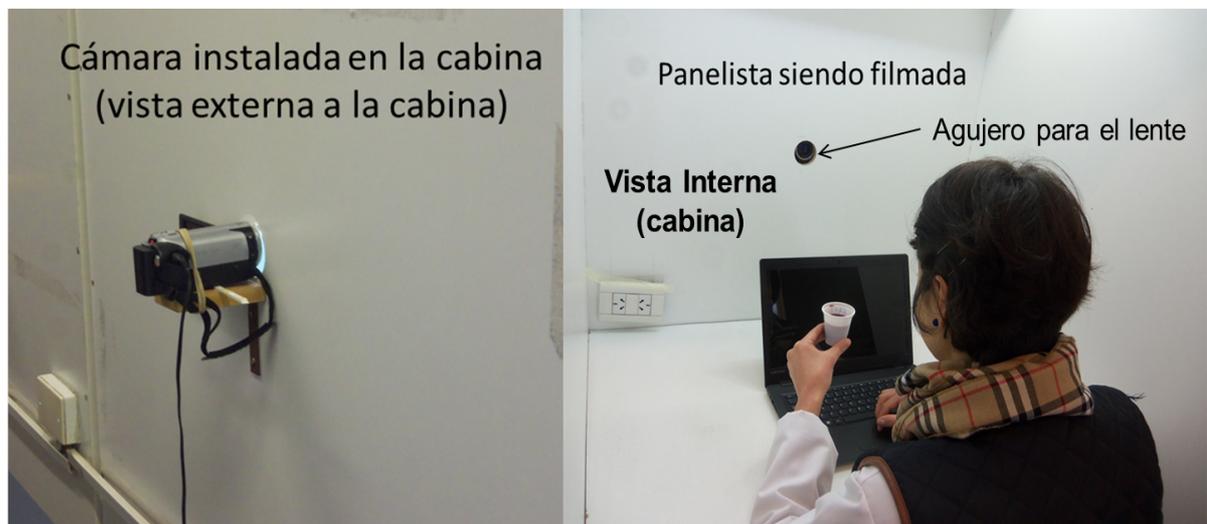


Figura 2.9. Dispositivo para la filmación de las expresiones faciales durante la evaluación sensorial.

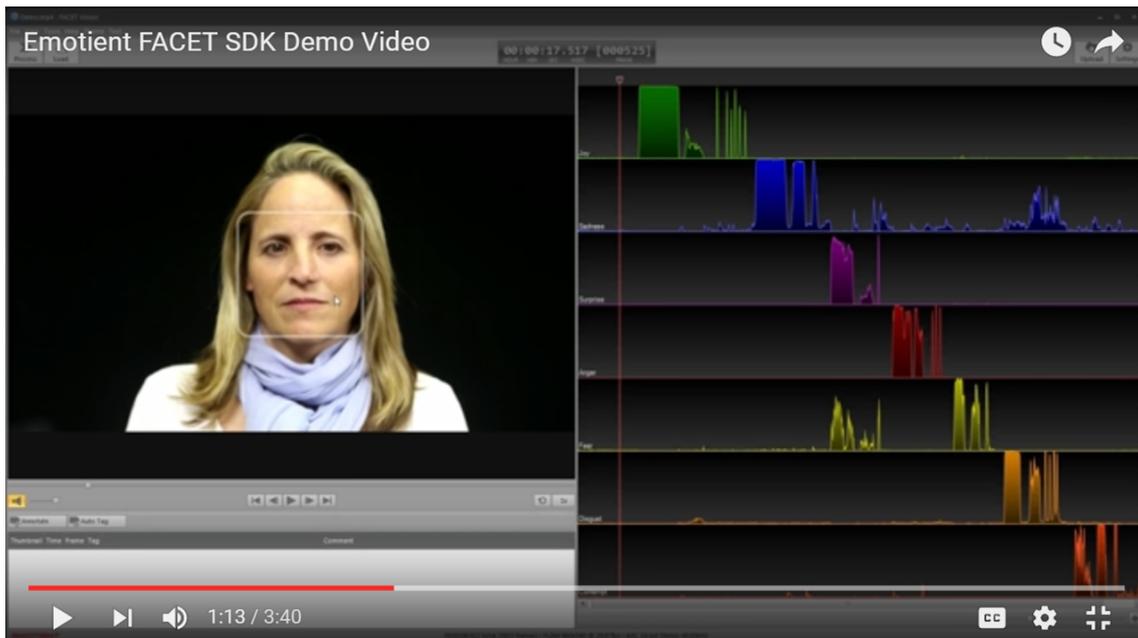


Figura 2.10. Captura de pantalla del software de análisis facial.

Los videos fueron analizados a través del software SDK FACET™ (imotions Inc., Centro de Innovación de Cambridge, Estados Unidos) tal como ilustra la **Figura 2.10**. Este software de reconocimiento automático de la expresión facial sigue y analiza cuadro a cuadro (1/25 s) la intensidad (0 [= ausente] a 1 [=muy alta]) de la valencia positiva / negativa (medida general de afecto positiva y negativa respectivamente), la emoción alegría y disgusto (como medida del agrado / desagrado, generada por la muestra), así como la probabilidad de presencia de Unidades de Acción (UA-s). La UAs son los niveles de activaciones musculares faciales específicas [varían entre 0 = ausente y 1 = fuertemente presente] descritas en el Action Facial Coding System (FACS) (Ekman y Friesen, 1978).

Junto a la medida de las valencias (positiva/negativa) y las emociones elegidas (alegría/disgusto), se seleccionaron las UA-s, que se asociaban a reacciones placenteras y no placenteras, por medio del sistema FACS y sobre la base de resultados previos (Ekman y Friesen, 1978; Ekman, Friesen y O'Sullivan, 1988; Weiland, Ellgring y Macht, 2010). De esta manera la elevación de la mejilla (UA6), el estiramiento de la comisura del labio (UA12) y la succión de labios (UA28) fueron elegidos como los movimientos faciales “positivos” que aparecen como respuesta a un estímulo agradable. Mientras que el

arrugamiento de la nariz (UA9), la elevación del labio superior (UA10), la depresión de la comisura del labio (UA15) y la caída de la mandíbula (UA26) fueron los índices seleccionados como respuesta a estímulos desagradables. La valencia negativa y la emoción disgusto se incluyeron en el análisis con el fin de obtener una visión completa de las reacciones hedónicas globales. Por lo tanto, fueron calculados y transformados en sus valores medios las intensidades de la valencia (positiva y negativa), las emociones básicas (alegría y disgusto) y la probabilidad de UA-s durante intervalos de 1, 5 y 10 segundos después del primer, segundo y tercer sorbo. Se utilizó un intervalo de 10 segundos antes del primer sorbo como línea de base para todos los análisis (la cámara registraba la expresión en este intervalo). Esto con el fin de ayudar a reducir el “ruido emocional” previo a la evaluación y contribuir a dar una respuesta estándar de cada panelista.

2.3.4. Presentación de las muestras

Durante todas las sesiones se usaron vasos plásticos descartables transparentes de 10 ml. Cada vaso contenía 10 ml de muestra (correspondiente a un sorbo) y se codificaron con números aleatorios de tres dígitos. Las muestras se sirvieron a 15 ° C. Se utilizó agua mineral para el enjuague entre las muestras, pero no se realizó enjuague entre sorbos.

2.3.5. Adquisición de datos

Para las medidas hedónicas explícitas los datos fueron capturados a través del módulo de adquisición de datos (Time-Intensity) acoplado al SensoMaker v1.8 (Federal University of Lavras, Brazil). Para las medidas hedónicas implícitas se hizo una grabación simultánea en video de los rostros de los participantes y estos videos fueron analizados posteriormente por el software SDK FACET™ (imotions Inc., Centro de Innovación de Cambridge, Estados Unidos).

2.3.6. Análisis de datos

Siguiendo el mismo análisis de las mediciones de Intensidad-Tiempo (I-T) de Taylor y Pangborn (1990), las curvas hedónicas individuales (ATMS) con $I_{max} > 5$ (gusta) y $I_{max} \leq 5$ (disgusta o neutral) fueron procesadas por

separado. Un Análisis de varianza (ANOVA) factorial mixto (2 géneros × 2 muestras × 3 sorbos) fue realizado para los parámetros de I-T: Intensidad máxima de la aceptación (Imax) y área bajo la curva (AUC). Por otro lado, ANOVAs mixtos (2 géneros × 2 muestras × 3 sorbos) se llevaron a cabo para la intensidad de valencia (positiva / negativa), las emociones básicas (alegría / disgusto) y la probabilidad de las UA-s durante los intervalos de 1, 5 y 10 segundos. La condición de género (hombre vs mujer) fue considerada como el factor inter-sujetos, mientras que la muestra (40-5 vs 35-4) y sorbo (primero contra segundo contra tercero) fueron los factores intra-sujetos. Se utilizó esta estrategia estadística (procedimiento Modelo lineal general de PASW Statistics 18, SPSS Inc., Chicago, IL) con el fin de reducir explicaciones alternativas en términos de sesgo estadístico. Las comparaciones post-hoc se realizaron mediante pruebas de Tukey. Para todos los análisis, $p \leq 0,05$ fue considerado significativo.

CAPITULO 3

A efectos de desarrollar una bebida “saludable” a partir de los polifenoles del vino tinto encapsulados por liofilización, es necesario investigar primero su estabilidad física y química. Por estabilidad física entendemos la determinación de la isoterma de sorción de agua, la temperatura de transición vítrea (T_g) y los cambios de color que se producen en el polvo de vino encapsulado (PVE) durante un almacenamiento acelerado.

Por estabilidad química entendemos verificar el comportamiento de varios compuestos fenólicos cuantificados durante el almacenamiento y el efecto de la actividad de agua del PVE sobre dicho comportamiento. Asimismo, los cambios que se producen en la capacidad antioxidante del PVE durante el mencionado almacenamiento.

3.1. Estabilidad física

Cuanto menor es la adición de agentes encapsulantes antes de la liofilización mayor será la concentración resultante de polifenoles en el PVE, condición importante para el desarrollo de bebidas enriquecidas en ellos. Sin embargo, la adición de encapsulantes tiene que ser lo suficientemente alta como para obtener un T_g que permita realizar la liofilización sin que se produzca el colapso y que conduzca a un polvo final de buena estabilidad física. Luego de varios ensayos se encontró que utilizando una adición de 9% de una mezcla de maltodextrina con goma arábiga (65:35) se podía efectuar la liofilización sin que ocurriera colapso estructural y que el polvo obtenido luego de moler la torta seca fuera de carácter “corredizo”. Una adición de 9 % de *carrier* es sensiblemente menor al 20% de adición de maltodextrina utilizado por Sánchez y col. (2011). Se encontró además que la sustitución de 20% de maltodextrina por 9% de (maltodextrina+ goma arábiga) tenía la ventaja adicional de reducir un ligero sabor residual que se observaba usando solamente maltodextrina.

El PVE obtenido después de la liofilización (y molienda) tenía una $a_w = 0,11$ y su contenido total de polifenoles era $1.577,0 \pm 98.9$ mg GAE / 100 g polvo, que es 7,1 veces más alto que su equivalente en peso como vino líquido. Es de hacer notar, que el PVE una vez reconstituido mostraba una excelente solubilidad.

La **Figura 3.1.** muestra el cromatograma del vino tinto Cabernet *sauvignon* de partida. Las flechas en la figura indican la ubicación de los compuestos fenólicos seleccionados en el cromatograma. Por la naturaleza del método cromatográfico utilizado se observa que compuestos como el ácido gálico, cafeico, catequina y epicatequina eluyen primero al ser de naturaleza más hidrosoluble que los otros.

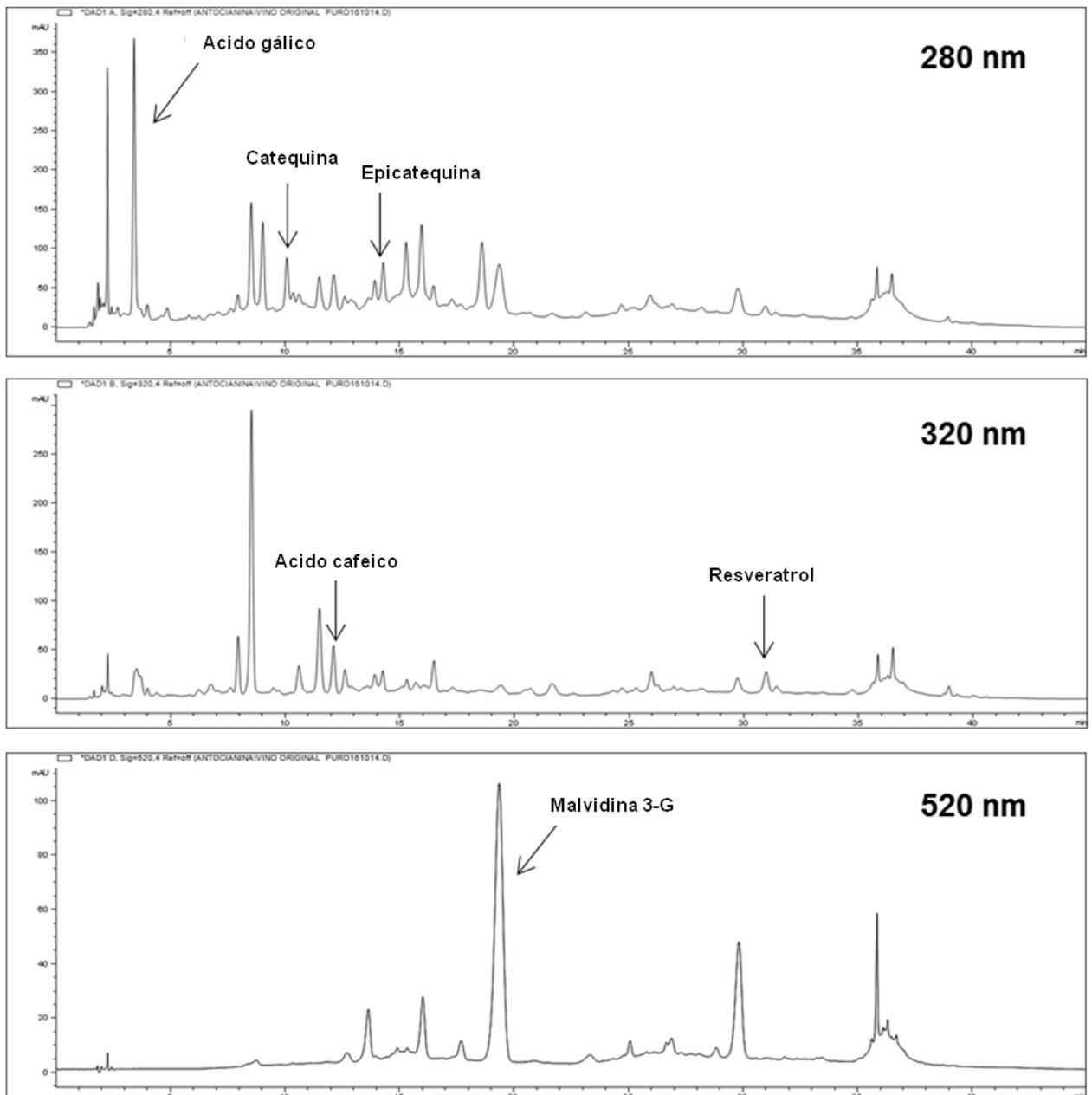


Figura 3.1. Cromatograma del vino tinto Cabernet *sauvignon*

La **Figura 3.2.** muestra algunas propiedades físico-químicas del PVE,

- (a) isoterma de adsorción a 38 °C para un rango seleccionado de actividades de agua (0,22-0,58). Después de un tiempo de equilibrio de tres semanas, se observó apelmazamiento del polvo a $a_w = 0,43$ y 0,58, pero no a $a_w = 0,33$ ni a actividades de agua inferiores. Este comportamiento se puede explicar teniendo en cuenta que cambios físicos tales como el apelmazamiento/caking, dependen del valor $(T - T_g)$ donde T es la temperatura de almacenamiento (38 °C) y T_g es la temperatura de transición vítrea (Roos y Karel, 1991) la cual se indica más abajo. Hay que notar además, que al ser un fenómeno de "no-equilibrio" existe también una dependencia con el tiempo transcurrido.
- (b) En la misma figura inciso (b) se muestra el termograma obtenido por DSC (calorimetría diferencia de barrido) a una actividad de agua 0,33 pudiéndose apreciar la existencia de una transición vítrea. En dicho termograma se indican el inicio, punto medio y punto final de dicha temperatura de transición vítrea. Dado que por convención únicamente se da a conocer una sola temperatura (Roos, 1995), se tomó la temperatura de transición vítrea del inicio (51 °C) como representativa de la temperatura de transición vítrea de PVE con $a_w = 0,33$. Puesto que la temperatura de transición vítrea (51 °C) es superior a la temperatura de almacenamiento (38 °C), la ausencia de apelmazamiento/caking para $a_w \leq 0,33$ (como se indicó previamente en la figura de la isoterma (Fig. 3.2. a) se puede atribuir a la prevalencia del estado vítreo en la matriz amorfa (Roos y Karel, 1991).

El valor observado de T_g se debe a la contribución de los diferentes componentes del PVE (*carrier* + extracto seco del vino tinto) en la mezcla final. Además de alcohol, el vino tinto contiene más de 500 componentes ya sea procedentes de la uva o de subproductos metabólicos originarios de la acción de la levadura durante la fermentación. La mayoría de ellos están presentes en concentraciones muy bajas, pero algunos compuestos llegan a

concentraciones por encima de 100 mg/L. Estos últimos incluyen al agua, alcoholes, ácidos orgánicos, azúcares y glicerol (van Golde y col., 2003).

Algunos estudios previos indican que entre los principales constituyentes del extracto seco del vino tinto se encuentran el glicerol (de 7,0 a 12,8 g / L) (Giurgiulescu, 2008; Rizzon y Miele, 1997); los ácidos tartárico y málico (de 1,66 a 2,64 g / L para el primero) y (0,28 a 1,78 g / L para el segundo) (Rizzon y Miele 2001); y fructosa y glucosa en el orden de 2.2 a 2.7 g / L (Rizzon Miele 1997).

La Tg de la maltodextrina (DE10) anhidra es de 160 ° C (Galmarini y col., 2010) mientras que la goma arábica cuenta con una temperatura de transición vítrea (también anhidra) de aproximadamente 10 °C por debajo de ese valor (Nurhadi y col., 2012). Las Tg de glucosa anhidra, ácido tartárico, fructosa, ácido málico, y glicerol son en cambio muy inferiores a esos valores, siendo de 30, 18, 8, -21 y -85 ° C, respectivamente (Roos 1995; Bhandari y Howes, 2002; Talja y col., 2003). Puede estimarse que la suma de glicerol, azúcares reductores, tartárico y ácido málico en un vino tinto puede alcanzar aproximadamente el 58% p/p del extracto seco del vino. Esta sería la razón principal que Sánchez y col. (2011) encontraron para explicar la masa gomosa amorfa que obtuvieron después de secar el vino tinto por liofilización sin adición de MD. Sin embargo, cuando se añadió 20% (p/p) de MD antes de la liofilización, estos autores consiguieron una microestructura amorfa de aspecto vítreo con 1,53 % de humedad que se podía moler fácilmente. La temperatura de transición vítrea a esa humedad resultó ser 40,8 ° C.

En la misma **Figura 3.2.** (c, d) se muestran micrográficas (microscopio electrónico de barrido) de PVE antes y después del almacenamiento a 38 °C y $a_w = 0,33$. El polvo (c) muestra partículas con forma de placa irregular de diferentes tamaños, debido a que fue molido sin tamizar después de la liofilización. Resultados similares fueron reportados por Deyse Gurak y col. (2013) para jugo de uva seco liofilizado encapsulado con maltodextrina y goma arábica. Después de 4,5 meses de almacenamiento a 38 °C (d) se aprecia algún arrugamiento en las superficies de las partículas con forma de placa irregular.

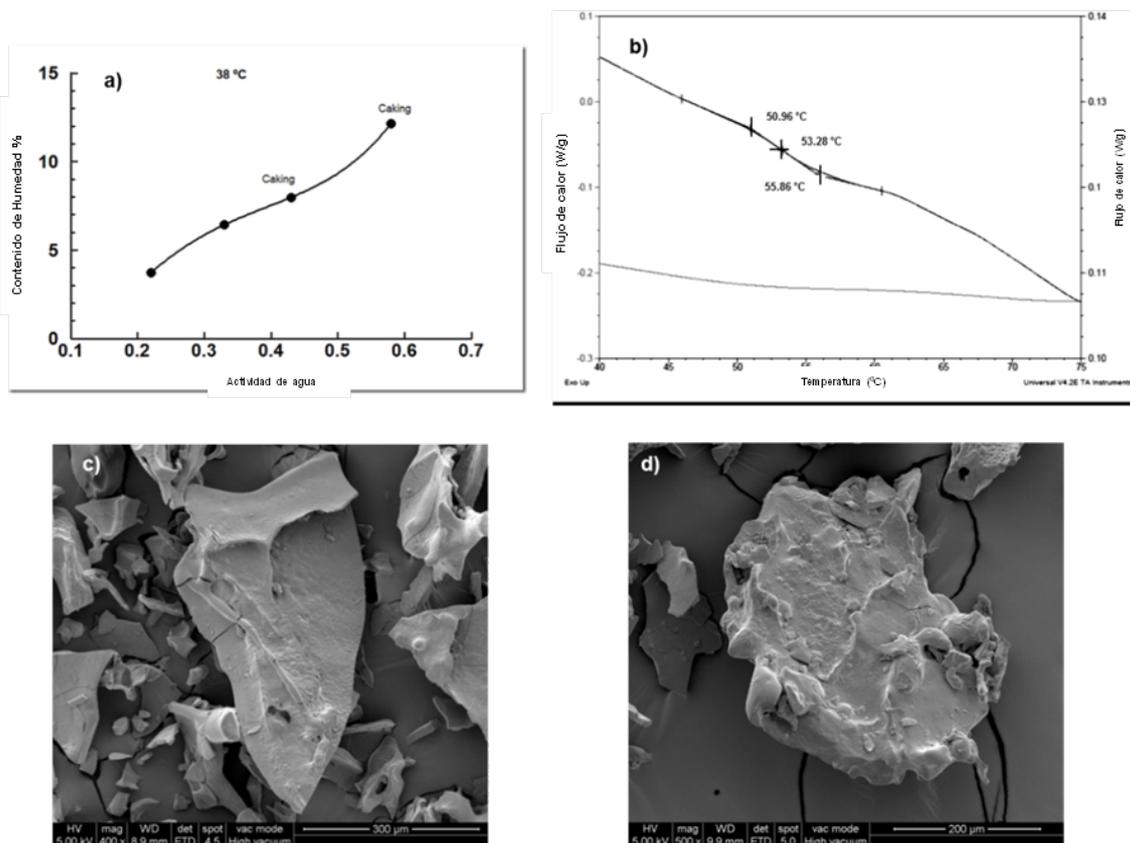


Figura 3.2. Isotherma de sorción (*parcial*), termograma de DSC y morfología del polvo de vino

3.2. Cambios de color

La **Figura 3.3.** muestra los cambios en todos los parámetros de color: a^* (+) (enrojecimiento), b^* (+) (amarillez), y L^* (luminosidad), para PVE almacenado a 38 °C y dos diferentes actividades de agua (0,11 y 0,33) durante más de 145 días. En general, se puede observar que para una $a_w = 0,11$ todos los parámetros de color se mantuvieron aproximadamente constante y esto fue confirmado por una prueba de ANOVA realizada sobre los datos ($p \leq 0.05$). En la actividad de agua 0,33 se observa cierta disminución en el parámetro a^* (+) (enrojecimiento), con un incremento inesperado hacia el final del almacenamiento. También se observó un aumento en b^* (+) (amarillez) y L^* (luminosidad) a lo largo del período de almacenamiento de 145 días, todo esto confirmado de nuevo mediante prueba de ANOVA. Mazza y Francis (1995)

reportaron que durante el almacenamiento de vino tinto a 42 °C el color rojo disminuyó pero el color amarillo aumentó debido a la mayor concentración de chalconas; Esta observación fue similar al aumento medido del parámetro b^* durante el almacenamiento acelerado de PVE.

En un sistema de baja humedad (PVE), la actividad de agua es un factor clave que afecta la estabilidad química (y física) ya que es bien sabido que el agua adsorbida en polvos amorfos actúa como un plastificante generalmente acelerando (aunque no siempre) las reacciones químicas al influir en la movilidad molecular (Roos, 1995; Buera y col., 2006; Li y col., 2011).

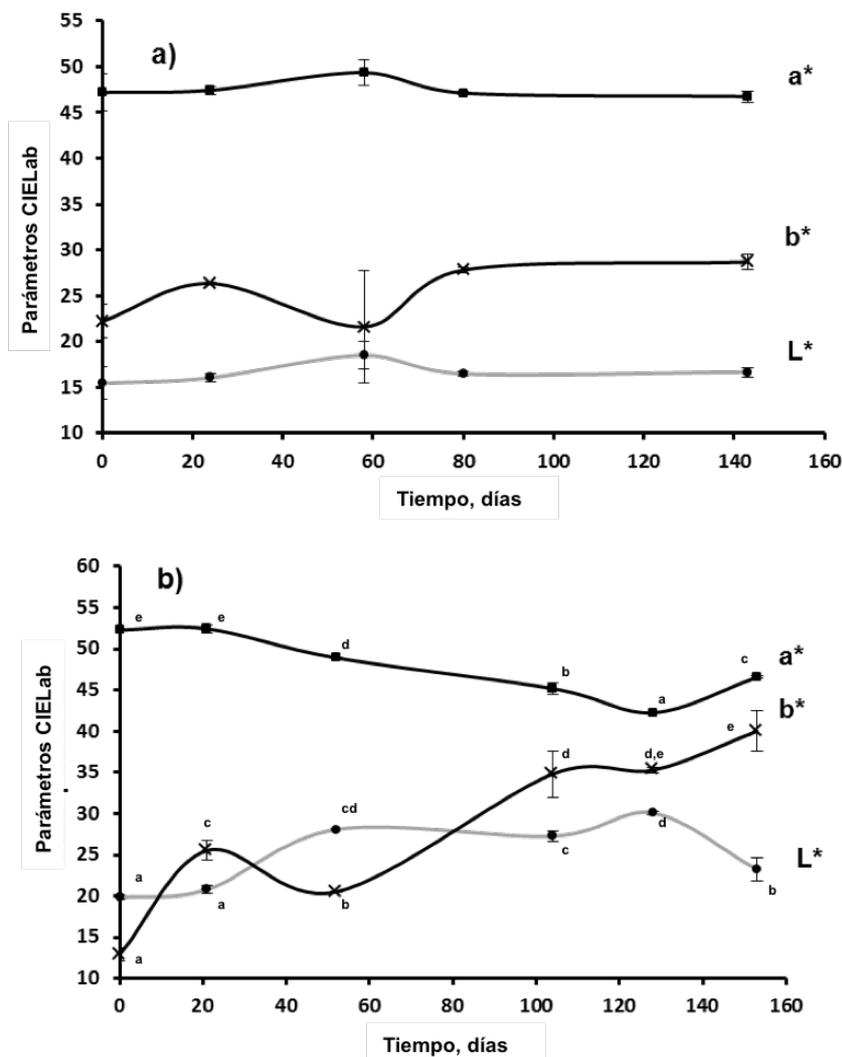


Figura 3.3. Cambios en los parámetros de color (a^* , b^* y L^*) durante el almacenaje de PVE a 38 °C y $a_w = 0.11$ (a) y $a_w = 0.33$ (b). En (a) no se encontraron diferencias significativas y en (b) las letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa a $p < 0.05$.

3.3. Estabilidad de polifenoles en el PVE

La **Figura 3.4.** muestra el cromatograma de HPLC para PVE antes y después de 145 días de almacenamiento acelerado ($a_w = 0,33$ y $T = 38^\circ \text{C}$); los picos de los compuestos fenólicos seleccionados se indican con flechas en la figura. Una vista general cualitativa de estos picos permite observar que la malvidina 3-G y catequina son los compuestos menos estables. Se puede señalar además, que el cromatograma muestra que a 320 nm y 280 nm aparecieron picos no identificados lo que será discutido más adelante.

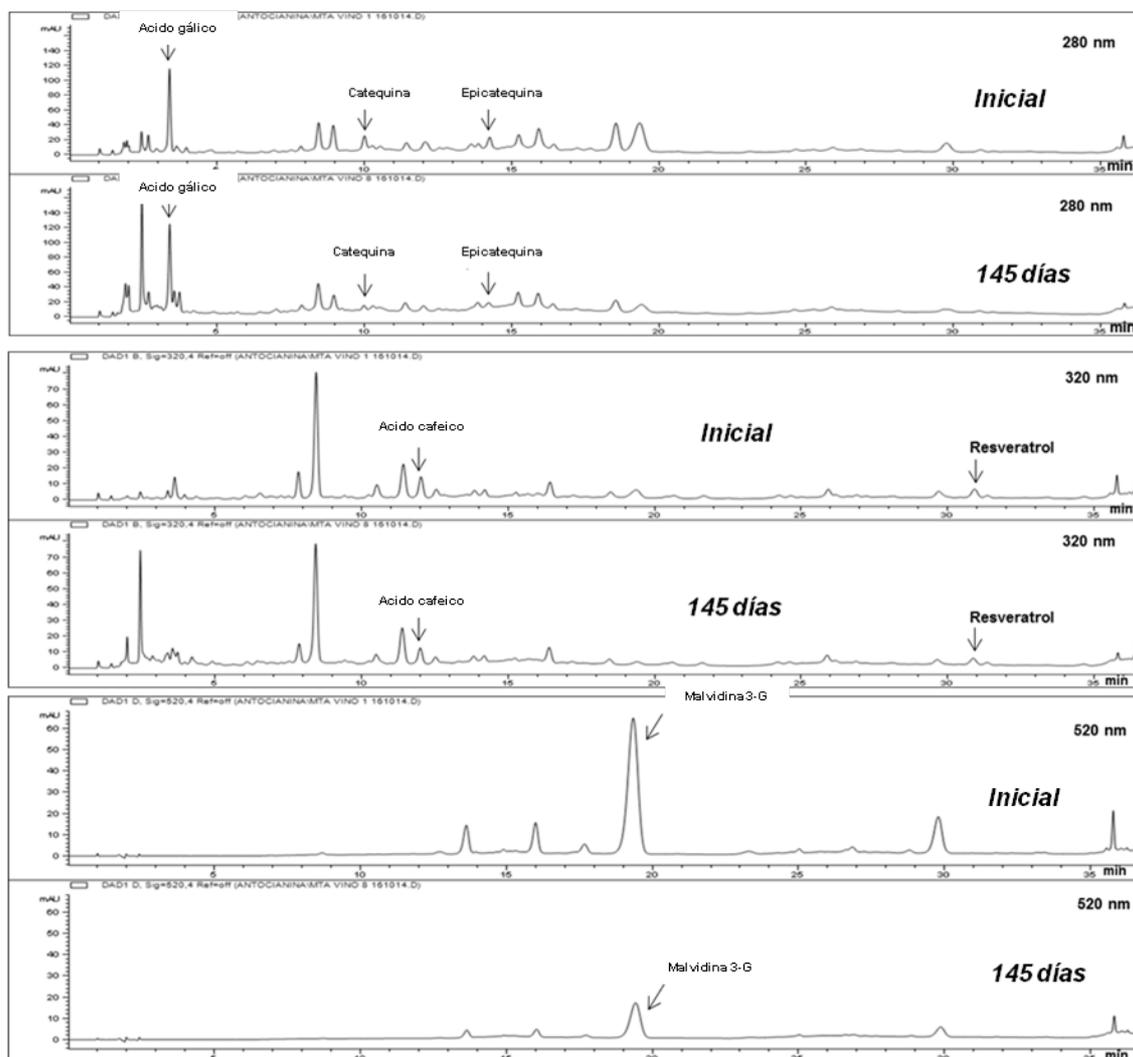


Figura 3.4. Cromatograma de HPLC para PVE antes y después de 145 días de almacenamiento acelerado ($a_w = 0,33$ y $T = 38^\circ \text{C}$).

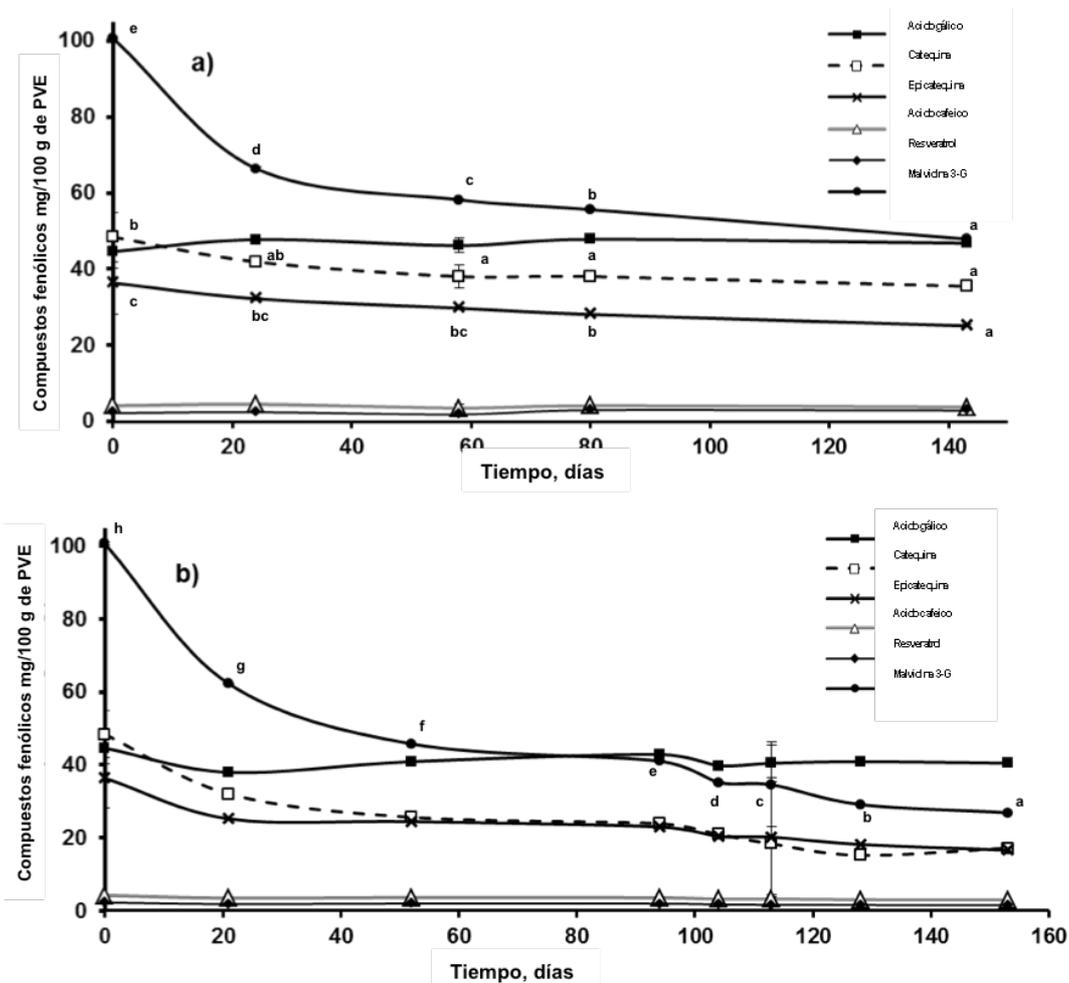
La **Figura 3.5.** (a, b) muestra los cambios en el contenido de algunos

compuestos fenólicos en PVE almacenado a 38 °C y las diferentes actividades de agua (0,11 y 0,33) por más de 145 días. Como lo indicó un test ANOVA realizado sobre los datos ($p \leq 0.05$), el ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico y el resveratrol se mantuvieron aproximadamente constantes durante todo el período de almacenamiento para a_w 0,11. Por el contrario, malvidina 3-G mostró una importante disminución inicial seguida de una más lenta. Para una a_w superior (0,33) solo el ácido gálico se mantuvo constante. La malvidina 3-G en cambio registró una pérdida del 40% al cabo de dicho período.

La catequina y epicatequina mostraron una disminución al inicio del almacenamiento para luego mantenerse aproximadamente constantes hasta el final del almacenaje (145 días); sus pérdidas finales fueron 65 y 54%, respectivamente. En las mismas condiciones de almacenamiento, las pérdidas de ácido cafeico y resveratrol fueron 29 y 31%, respectivamente. Malvidina 3-G mostró la mayor pérdida que ascendió a aproximadamente el 70% de su valor inicial. Es interesante observar que la disminución en el contenido de malvidina 3-G se asocia con la disminución de enrojecimiento (parámetro de color a^*) tal como se señaló anteriormente en la **Figura 3.3**. Este comportamiento fue confirmado por una correlación (Pearson) positiva de 0,80 ($p \leq 0,05$). Sánchez y col. (2015) también reportaron que la pérdida de antocianinas monoméricas se asoció con una disminución en el color rojo (parámetro a^*) durante el almacenamiento de jugo de cereza encapsulado.

En general, la estabilidad de los compuestos fenólicos seleccionados es similar a la reportada por Galmarini y col. (2013) para los mismos compuestos fenólicos en vino tinto, pero encapsulados con 20% de maltodextrina en lugar de 9% de (maltodextrina+goma arábica). Ellos obtuvieron estos datos de estabilidad para valores similares de actividad de agua y temperatura, pero durante un período de almacenamiento significativamente más corto (70 días). Otros autores también reportaron datos sobre la estabilidad de los compuestos fenólicos en alimentos en polvo de baja humedad. Por ejemplo, Tandale (2007) utilizó proteína de suero concentrado como material de soporte (agente encapsulante) para encapsular y almacenar ácido gálico a 25°C. Encontró que el sistema tenía muy buena retención (por encima de 90%) a $a_w = 0,22$ y $0,44$ después de 56 días de almacenamiento. Li y col. (2011) estudiaron el efecto de

la temperatura y la humedad relativa sobre la cinética de degradación de catequinas en el secado por spray de té verde. Utilizaron una marca comercial e informaron que la degradación de catequina se veía afectada por un aumento de la actividad de agua y la temperatura, siendo la temperatura el factor dominante. Tonon y col. (2010) estudiaron la estabilidad de antocianinas de jugo de açai secado por spray y producido con diferentes agentes encapsulantes, encontrando que la temperatura influyó negativamente en la estabilidad de antocianinas. Además, el aumento de la actividad de agua también desencadenaba una mayor degradación. Esto fue atribuido a la mayor movilidad molecular, que facilita la difusión de oxígeno, acelerando de este modo las reacciones de oxidación.



0.33 (b). El gráfico presenta las barras de desviación estándar y el resultado de algunas ANOVAS para facilitar su comprensión.

La **Figura 3.6.** (a) muestra la evolución de los compuestos fenólicos seleccionados durante el almacenamiento de PVE a $a_w = 0,58$ y $38\text{ }^\circ\text{C}$. Como se mencionó anteriormente, en esta combinación de actividad de agua y temperatura la estructura amorfa colapsó y se observa apelmazamiento (b, c). Esto se refleja en una pérdida importante de malvidina 3-G, así como también pérdidas de los otros compuestos fenólicos con la excepción de ácido gálico, que se mantuvo constante.

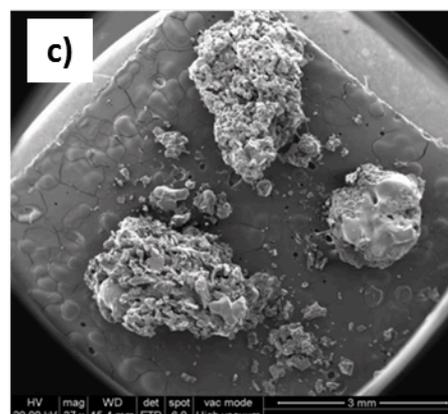
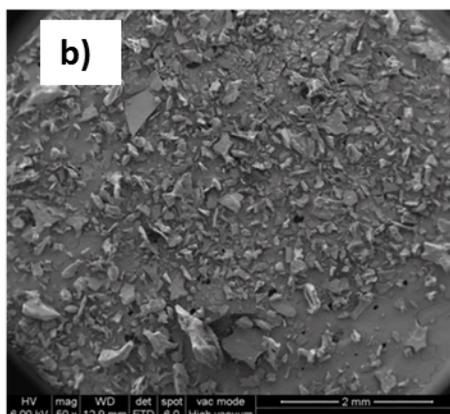
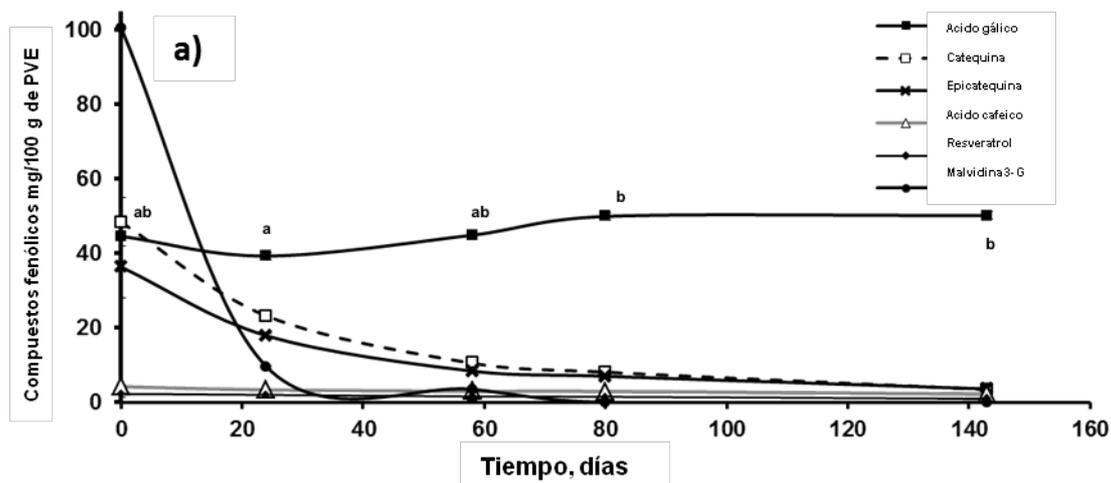


Figura 3.6. Evolución de los compuestos fenólicos seleccionados (a) y cambios morfológicos (b, c) durante el almacenamiento de PVE a $a_w = 0,58$ y $38\text{ }^\circ\text{C}$.). El

gráfico presenta las barras de desviación estándar y el resultado de algunas ANOVAS para facilitar su comprensión.

La **Figura 3.7.** compila el efecto de la actividad de agua sobre el porcentaje de retención de malvidina 3-G y antocianinas totales en el PVE almacenado a 38 °C. Un incremento de la actividad de agua desde 0,11 hasta 0,58 afecta fuertemente la retención de estos compuestos lo que destaca la importancia de la actividad de agua como un parámetro de control para la estabilidad de las antocianinas durante el almacenamiento. Cabe señalar que el comportamiento de malvidina 3-G, y antocianinas totales es similar debido a que malvidina 3-G es el compuesto fenólico principal de las antocianinas totales en el vino tinto analizado.

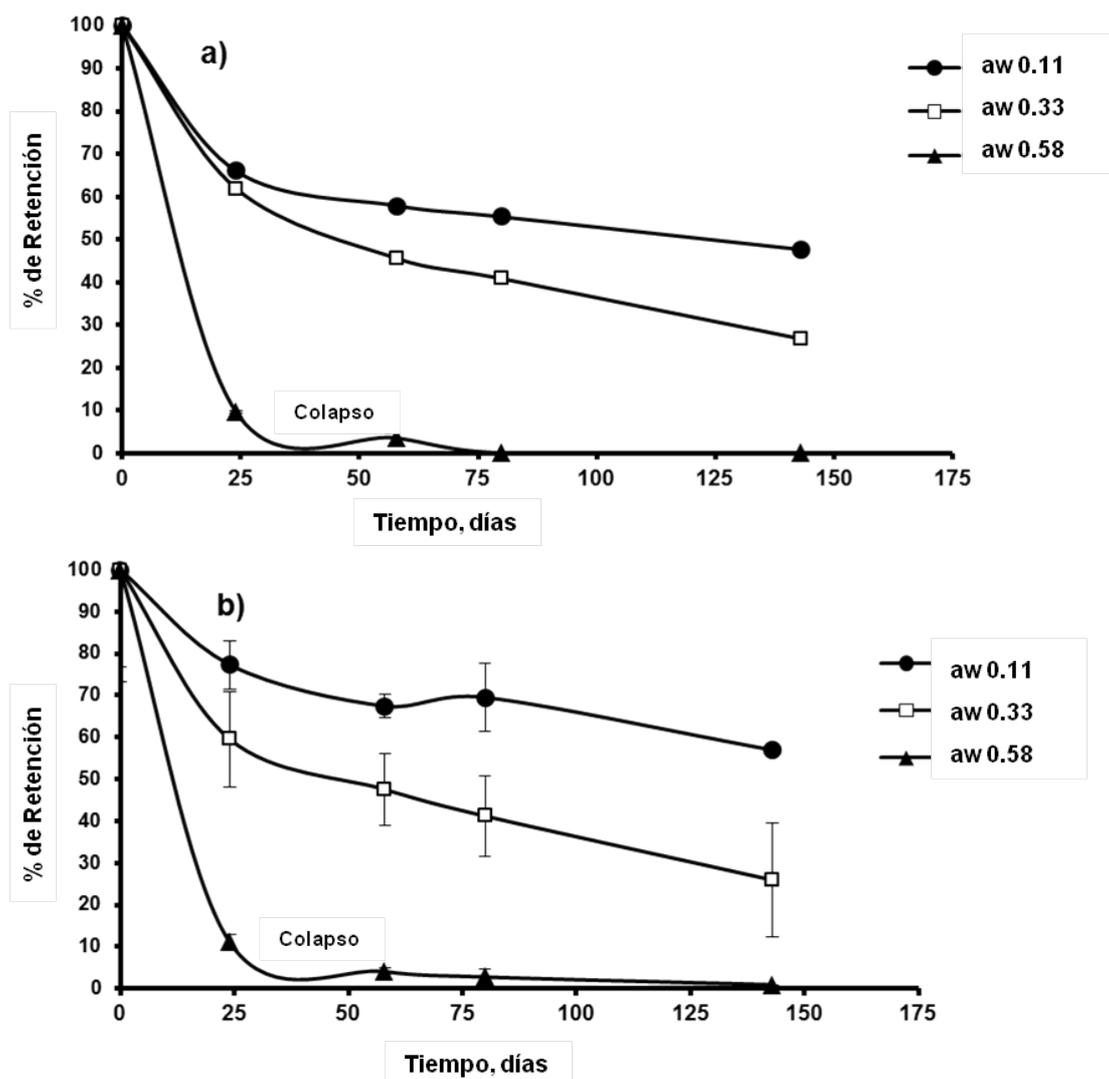


Figura 3.7. Efecto de la actividad de agua sobre el porcentaje de retención de malvidina 3-G y antocianinas totales de PVE almacenado a 38 °C. El gráfico presenta las barras de desviación estándar.

La actividad de agua (a_w) es un parámetro que no solo incide sobre la estabilidad de los polifenoles del PVE, si no que además influye en el apelmazamiento/caking del polvo, ya que la a_w del mismo incide fuertemente en la temperatura de transición vítrea (T_g) del sistema amorfo.

3.4. Capacidad antioxidante del PVE

La capacidad antioxidante de un alimento es una expresión de su capacidad para defender al organismo humano de la acción de los radicales libres, un mecanismo preventivo de desórdenes degenerativos derivados del estrés oxidativo. (Di Majo y col., 2008). Por lo tanto, una de las características importantes de los compuestos polifenólicos es su propiedad antirradical. Existen diferentes métodos utilizados en la determinación de la capacidad antioxidante, como el ensayo del radical libre cromógeno DPPH* (Galmarini y col., 2013; Kruma y col., 2010), FRAP (Stratil y col., 2008), ensayo de β -caroteno / ácido linoleico (Lu y Foo, 2000), entre otros.

La Figura 3.8. muestra la evolución de los polifenoles totales (a), la capacidad antioxidante determinada con el radical cromógeno DPPH* (b) y la capacidad antioxidante determinada por el ensayo de β caroteno / ácido linoleico (c), para PVE en condiciones de almacenamiento acelerado. Estos tres parámetros se mantuvieron aproximadamente constantes durante todo el almacenamiento, tal como fue comprobado mediante test de ANOVA realizado sobre los datos mostrados en la **Figura 3.8.** (a, b, c). Una buena correlación entre la actividad antioxidante (determinado por varios métodos) y el contenido de fenoles totales (método de Folin) se ha observado para los vinos tintos (Stratil y col., 2008; Büyüktuncel, y col., 2014). Sin embargo, la relación entre la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos específicos no está tan clara. Di Majo y col. (2008) indicaron que las propiedades antioxidantes vinos tintos de Sicilia son influenciadas de manera diferente por cada molécula polifenólica. Van Leeuw y col. (2014) estudiaron diferentes vinos que tienen gran variabilidad en los niveles de compuestos fenólicos individuales, así como en

su capacidad antioxidante. Las comparaciones de los diferentes vinos en base a su perfil fenólico individual y capacidades antioxidantes (ORAC, DPPH•, hemólisis, ESR, y fenoles totales) mostraron diferencias limitadas.

Como se mostró anteriormente, los contenidos de malvidina 3-G, catequina y epicatequina en PVE tuvieron una disminución importante después de 145 días en condiciones de almacenamiento aceleradas. Sin embargo, estas pérdidas no se reflejaron en un cambio de la capacidad antioxidante. Esta falta de correlación entre la pérdida de algunos compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante también ha sido informada por otros autores en diferentes sistemas alimentarios. Kotseridis y col. (2013) estudiaron el efecto del almacenamiento sobre la capacidad antioxidante del vino e hipotetizaron que la oxidación de los polifenoles vía almacenamiento daría lugar a vinos con capacidad antioxidante inferior. No obstante, las reacciones entre compuestos fenólicos oxidados pueden producir la formación de nuevos antioxidantes, y se pudo observar un aumento en el estado antioxidante del vino. Kallithraka y col., (2009) evaluaron la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos durante el almacenamiento (nueve meses a 15 °C) en vino blanco envasado. Ellos determinaron las concentraciones de los ácidos caftárico, coutárico, fertarico (metabolito del caftárico), ferúlico, cafeico, p-cumárico y gálico, además de catequina y epicatequina. Ellos encontraron que la mayoría de los compuestos fenólicos disminuyó con el tiempo, pero la actividad antioxidante aumentó durante el almacenamiento. Este comportamiento fue explicado por la formación de nuevos antioxidantes vía reacción de los ya existentes. Por esta razón, destacaron la dificultad de predecir las propiedades antioxidantes de vinos después de haber pasado algunos meses envasados en una botella. Brownmiller y col. (2008) evaluaron los efectos del procesamiento y almacenamiento (6 meses) sobre el total de antocianinas monoméricas, porcentaje de color polimérico, y capacidad antioxidante de arándanos. El almacenamiento a 25 ° C resultó en pérdidas muy grandes de antocianos totales, que van desde el 62% en bayas hasta el 85% en jugos clarificados. Esto coincidió con un notable incremento en los valores del porcentaje de color polimérico de estos productos. Sin embargo, la capacidad antioxidante (ORAC) mostró poco cambio durante el almacenamiento, lo que indica que la formación

de polímeros compensa la pérdida de la capacidad antioxidante, debido a la degradación de los compuestos originales.

La estabilidad observada en la capacidad antioxidante de PVE durante el almacenamiento se puede explicar por las reacciones entre compuestos fenólicos oxidados que darían lugar a la formación de nuevos compuestos con capacidad antioxidante. Como se ha señalado, algunos picos no identificados aparecieron en los cromatogramas a 280 y 320 nm después del período de almacenamiento, tal como se aprecia en la **Figura 3.4** (picos que aparecen a la izquierda del ácido gálico y ácido cafeico). Estos picos no estaban presentes en la muestra inicial de PVE. Galmarini y col. (2013) también encontraron que la capacidad antioxidante (medida por DPPH• y FRAP) de vino tinto encapsulado únicamente con maltodextrina (20 % p/p) permaneció casi constante después de 70 días de almacenamiento a pesar de la pérdida de 33% de malvidina 3-G y pérdidas en catequina y epicatequina.

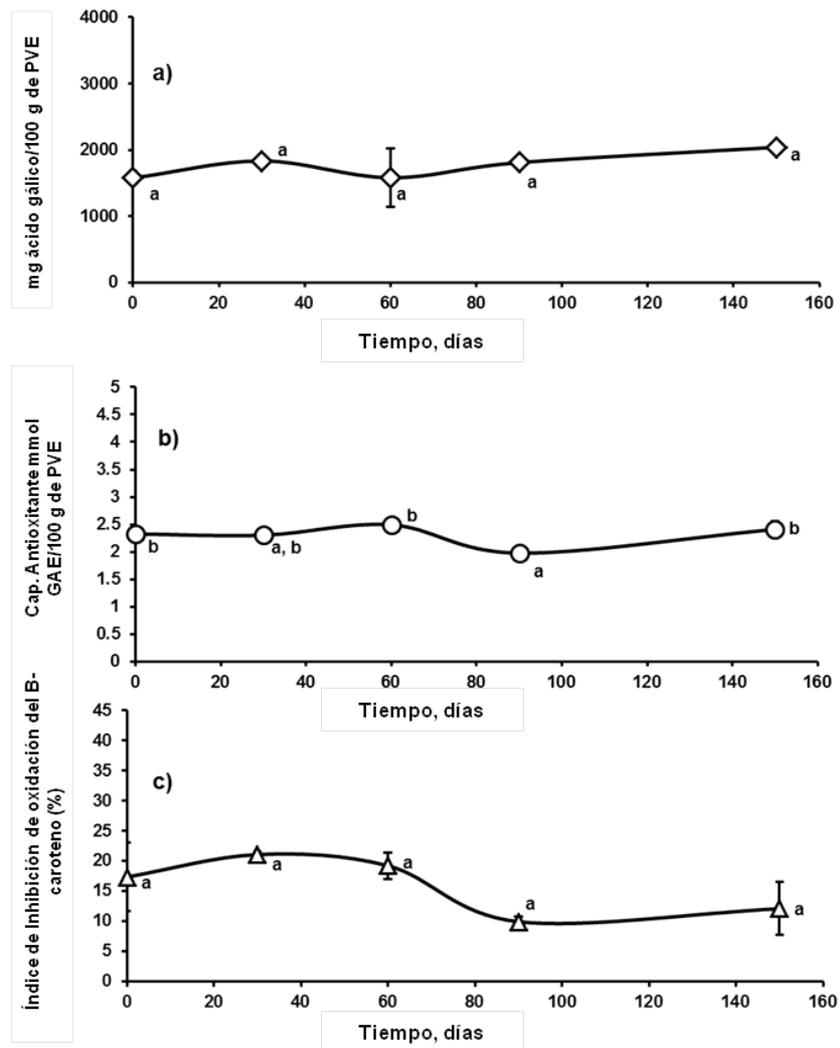


Figura 3.8. Evolución del poder antioxidante (b y c) y polifenoles totales (a) en PVE almacenado a 38°C y a_w 0.33. Letras diferentes indican diferencia estadísticamente significativa a $p < 0.05$

3.5. Estabilidad microbiológica del PVE

En los últimos cincuenta años se ha demostrado exhaustivamente que cada microorganismo tiene una a_w límite por debajo de la cual no puede crecer, a pesar de que otras condiciones del sustrato (pH, nutrientes, temperatura) sean las óptimas para su desarrollo (Scott, 1953; Troller y Christian, 1978; Christian, 1981; Chirife y Fontana, 2007). En particular, por debajo de $a_w = 0,61$ ningún microorganismo (ya sean bacterias, hongos o levaduras) puede crecer y el sistema se considera microbiológicamente estable. Por este motivo y dado que la actividad de agua del polvo de vino encapsulado se encuentra en el rango 0,11- 0,33, no se consideró necesario verificar experimentalmente su estabilidad microbiológica.

Conclusiones Parciales del Capítulo 3

La adición de una mezcla de 9% (65:35) de los agentes encapsulantes maltodextrina (DE 10) y goma arábiga a vino tinto *C. Sauvignon* seguida de una liofilización y molido, permitió obtener un polvo de vino desalcoholizado que tiene una concentración fenólica 7.1 veces mayor que su equivalente en peso de vino tinto líquido original. La temperatura de transición vítrea (T_g) del polvo resultante permitió que el PVE conservara su capacidad de fluir libremente evitando cambios físicos adversos (apelmazamiento/caking) durante las condiciones de almacenamiento acelerado.

El ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico y resveratrol se mantuvieron aproximadamente constante durante todo el período de almacenamiento (38 °C) a a_w 0,11; Por el contrario, la malvidina 3-G registró una importante disminución inicial seguido de una más lenta. La malvidina 3-G en cambio registró una pérdida del 40% al cabo de dicho período.

En una a_w superior de 0,33, el ácido gálico fue el único compuesto que se mantuvo prácticamente constante. La catequina y epicatequina mostraron una disminución en el periodo inicial pero luego se mantuvieron constantes hasta el final de almacenamiento acelerado (145 días); las pérdidas finales fueron 65 y 54% respectivamente. Las pérdidas de ácido cafeico y el resveratrol fueron 29 y 31%, respectivamente. La malvidina 3-G mostró una disminución importante que asciende a alrededor del 70% de su valor inicial. La malvidina 3-G y antocianinas totales fueron los compuestos fenólicos que mostraron mayores pérdidas durante el almacenamiento. Un aumento de la actividad de agua de 0.11 a 0,58 incrementó la pérdida de estos compuestos lo que indica que la actividad de agua es un factor clave que afecta la estabilidad durante el almacenamiento.

La actividad antioxidante (medido por DPPH * y el sistema β caroteno/ácido linoleico) de PVE exhibió una buena estabilidad sobre los 145 días de almacenamiento acelerado. A pesar de las pérdidas en los compuestos fenólicos analizados la capacidad antioxidante del polvo se mantuvo constante.

Comportamiento que puede ser explicado por las reacciones que se dan entre los compuestos fenólicos oxidados que darían lugar a la formación de nuevos compuestos con capacidad antioxidante.

Debido a su alto contenido en polifenoles (7,1 veces más que el vino original) el polvo de vino preparado con la técnica de encapsulación descrita, se puede utilizar para el enriquecimiento en polifenoles de bebidas en polvo.

CAPITULO 4

En los últimos años, ha existido un creciente interés por el desarrollo de nuevas bebidas funcionales con características especiales y/o propiedades saludables. Un alimento funcional (Bellisle y col., 1998, Knorr, 1998) es aquel que se consume como parte de una dieta normal, y que contiene algún componente con una función específica sobre el organismo más allá de su valor nutritivo. Generalmente, las bebidas suelen ser olvidadas cuando se evalúa una dieta saludable, particularmente porque muchas veces se encuentran asociadas con elevados contenidos calóricos, que se traducen en problemas para la salud (Vartanian y col., 2007). Las bebidas en polvo al ser disueltas en agua son una alternativa para cumplir con la ingesta diaria recomendada de agua, de 2 a 2.5 litros día, en una población adulta (European Food Safety Authority, EFSA, 2010).

La fortificación de bebidas ofrece una alternativa interesante para contribuir a una mejor calidad nutricional y un mayor equilibrio en la dieta diaria. En particular, las bebidas fortificadas con polifenoles provenientes del vino tinto pueden convertirse en una prometedora fuente de esos compuestos, cada día más vinculados con posibles propiedades saludables. La evidencia epidemiológica, junto con otro tipo de estudios, apuntan a que el efecto de los polifenoles del vino tinto están asociados a su poder antioxidante, antiinflamatorio, hipotensor, propiedades anticoagulantes o incluso a modificaciones benéficas en la microbiota intestinal (Arranz y col., 2012; Renaud y de Lorgeril, 1992; Hidalgo, 2013).

La falta de comprensión de los mecanismos de acción benéfica de estos compuestos podría explicarse en la medida que algunos estudios aíslan procesos enzimáticos y bioquímicos del “todo fisiológico”. Por otro lado, otros desconocen la transformación que sufren estos metabolitos a nivel biológico, dando lugar a la formación de nuevos compuestos que podrían ser los últimos responsables de la actividad biológica deseable (Somoza y col., 2015).

Más allá de los diferentes enfoques con que se aborda la relación vino y salud, debido a la complejidad que esta implica, de forma general se acepta

que los compuestos polifenólicos pueden jugar un papel importante en los efectos saludables asociados a esta bebida (Hidalgo, 2013).

El perfil fenólico del vino tinto es diferente al del mosto o las uvas de origen (Mazza y Francis, 1995; Radovanovic y col., 2010; Díaz y col., 2012) y puede ser utilizado en el desarrollo de bebidas.

El PVE desarrollado como se explicó en el Capítulo 3 conserva el perfil fenólico del vino tinto de partida, con la ventaja adicional de la ausencia de alcohol, el principal componente que limita su consumo.

Cualquier desarrollo de tipo alimentario es un desafío de enfoques complementarios, en la medida que no basta garantizar la función nutricional y/o funcional perseguida. Los consumidores y la investigación de mercados muestran invariablemente que el sabor es el factor clave en el proceso de selección de alimentos, con las propiedades sensoriales-hedónicas jugando un rol determinante en la aceptación final del consumidor. En ese sentido, el presente capítulo presenta los resultados aplicando diferentes metodologías que permitieron evaluar sensorialmente la bebida en polvo desarrollada..

4.1. Focus Group

La primera etapa del desarrollo de la bebida a partir de PVE libre de alcohol (**Figura 4.1.**) consistió en la implementación de un focus group, metodología frecuentemente empleada en varias etapas del desarrollo de productos (Kemp y col. 2009).



Figura 4.1. Aspecto del PVE

Una vez realizado el análisis por frecuencia de mención de las características del “PVE” entre los 40 consumidores que participaron en el desarrollo del focus group (**Figura 4.2**), se encontró que el 54 % coincidían en la mención del atributo color para definir el polvo evaluado. También, más del 50% de los consumidores asociaban al producto con el jugo de uva, destacaban su aroma y lo percibían como acompañante de alimentos salados.

Otro grupo (entre el 48 y el 43%) relacionaron el polvo con alimentos dulces, como un producto saludable de destacado dulzor por asociación con el aroma. Un total de 20 características fueron ligadas al producto durante las cuatro sesiones, y donde la “textura” y la “astringencia” fueron las menos mencionadas, representando el 5% del total de los consumidores.

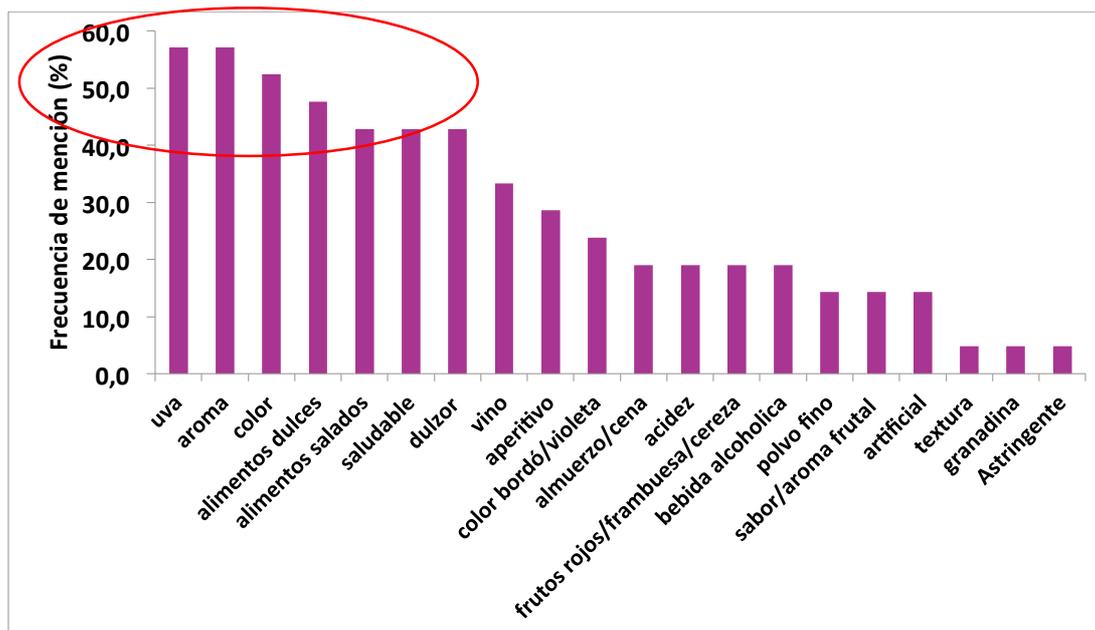


Figura 4.2. Frecuencia de distribución de características del polvo de vino.

Conforme a los resultados obtenidos y con la intención de crear un concepto del desarrollo planteado se infiere que a partir del “PVE” se puede desarrollar una bebida saludable, tipo jugo de uva, que se destaca por su aroma, color, dulzor y que puede ser consumida con diferentes alimentos (dulces y salados)

4.2. Definición y selección de prototipos

4.2.1. Estudio preliminar de preferencia

Sobre la base de los criterios expuestos en la **sección 2.2.3** y la metodología de selección de los prototipos de la **sección 2.2.4**, los resultados que se obtuvieron en el estudio preliminar de preferencia se encuentran condensados en la **Tabla 4.1**.

Tabla 4.1. Selección de prototipos

Prototipo (código)	Composición (g/L)			Preferencia	Que gusta?	¿Que no gusta?
	Base	Edulcorante	Espesante (goma guar)			
981	35	2	1	4.4	Refrescante.	Acida.
185	35	2	2	4.3	Refrescante.	Amarga, espesa
624	35	4	2	4.9	Olor, refrescante.	Espesa.
129	35	4	1	5.8	Olor, refrescante.	Aguada.
124	40	4	1	6.4	Olor, gusto, refrescante.	Astringente.
540	40	5	1	6.6	Gusto, dulce, refrescante.	Astringente.

La **Figura 4.3.** muestra el aspecto de uno de los prototipos reconstituidos comparado con el vino tinto inicial.



Figura 4.3. A la derecha bebida reconstituida, a la izquierda vino Cabernet *sauvignon*.

De acuerdo al criterio previamente establecido para la selección de las muestras que deberían seguir el estudio, (una preferencia superior a 5.5) se observa que tres de los prototipos iniciales (**Tabla 4.1.**) no alcanzaron a superar el límite de aceptación. Se trata de las muestras 185, 981 y 624 que lograron calificaciones promedio de 4.3, 4.4 y 4.9 respectivamente. De la **Tabla 4.1.** puede inferirse que las dos muestras con menor aceptación fueron las que menor cantidad de edulcorante tenían en su formulación (981 y 185; con 2 gramos de edulcorante por litro de bebida). Los consumidores expresaron las

razones de los puntajes otorgados a estas dos muestras acudiendo a los atributos “ácido” para la muestra 981, “amargo” y “espeso” para la muestra 185. Probablemente, los participantes utilizaron dos atributos diferentes como el amargo y el ácido para expresar la misma sensación ya que sus puntajes de aceptación fueron similares (4.4 y 4.3). Esta sensación puede estar asociada al bajo contenido de edulcorante de estas muestras.

Una característica positiva que fue percibida por los consumidores en todas las muestras, independiente de su calificación final, fue “refrescante”. Posiblemente, la temperatura a la que se sirvieron las muestras llevó a los consumidores a coincidir en esta característica favorable.

4.2.2. Perfiles preliminares de los prototipos iniciales

Como puede observarse en los perfiles preliminares generados por el panel durante el entrenamiento (**Figura 4.4.**), las muestras 981 y 185 se encuentran cerca de los vectores de los atributos ácido y amargo. Estos atributos tienen una connotación hedónica negativa, especialmente el amargo, con lo cual puede inferirse que la baja calificación de los consumidores se debió a estos dos atributos. La menor cantidad de edulcorante permitió que estos atributos se percibieran con mayor intensidad.

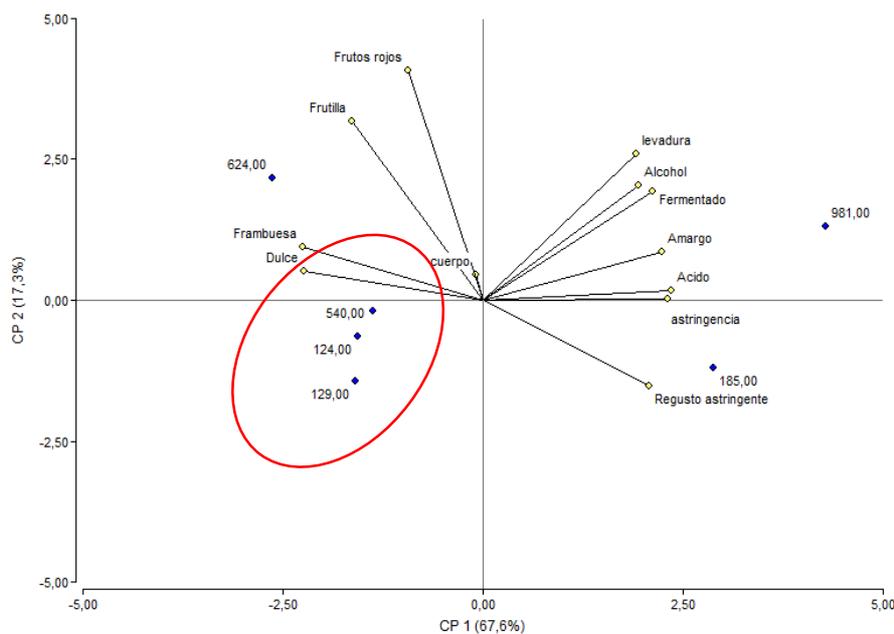


Figura 4.4. Mapa de atributos de los prototipos.

La otra muestra que no logró estar dentro de los prototipos seleccionados fue la 624 con una aceptación de 4.9 en la escala hedónica de 9 puntos. Esta muestra tuvo un mejor puntaje de preferencia que las dos anteriores (981 y 185). La razón de esta calificación fue su mayor nivel de edulcorante (4 gramos por litro de bebida), casi el doble de las dos muestras peor calificadas. Sin embargo, el hecho de que no haya alcanzado el umbral de aceptación (5.5) puede ser atribuido al mayor nivel de espesante (2 gramos de goma guar por litro de bebida). Además, fue calificada como “espesa” dentro de los atributos que no gustaron.

Las muestras que superaron el filtro requerido para su selección fueron la 129, 124 y 540 con aceptaciones de 5.8, 6,4 y 6,6 respectivamente. Las primeras dos muestras (129 y 124) tenían igual cantidad de edulcorante que la muestra 624. Las primeras se diferenciaban por su menor contenido de espesante, exactamente la mitad del contenido de la muestra 624. Las razones que los consumidores expresaron para calificar de esa manera las muestras más aceptadas fueron el olor en el caso de la muestra 129, el gusto y olor para la muestra 124, y el gusto y dulzor para la 540. Esta última muestra (540) fue la de mayor aceptación (6.6) debido al mayor porcentaje de edulcorante (5 gramos por litro de bebida). En la **Figura 4.4.** se puede observar claramente que estas tres muestras se encuentran agrupadas en uno de los cuadrantes y están asociadas a los atributos dulce, y aromas a frambuesa, frutilla y frutos rojos.

4.3. Prototipos finales

Los ensayos preliminares permitieron seleccionar los prototipos que finalmente iban a ser evaluados por los consumidores. En la **Tabla 4.2.** se describe la composición de las muestras seleccionadas:

Tabla 4.2. Prototipos finales de la bebida

Prototipo (código)	Composición (g/L)		
	PVE	Edulcorante	Espesante (goma guar)
*	35	5	1
129	35	4	1
124	40	4	1
540	40	5	1

El (*) de la **Tabla 4.2.** es un prototipo adicional que, si bien no estuvo en los prototipos iniciales, permitía hacer un análisis balanceado en cuanto a la relación de PVE y edulcorante (2 niveles cada uno). De acuerdo a esto, los prototipos serán identificados con los siguientes números, donde el número de la izquierda es la cantidad de gramos de PVE por litro de bebida, y el número de la derecha es la cantidad de gramos de edulcorante por litro de bebida.

- **40-5**
- **40-4**
- **35-5**
- **35-4**

La cantidad de espesante y aromatizante es la misma en las cuatro muestras (ver sección **2.2.3.**)

4.4. Análisis descriptivo cuantitativo (QDA®)

Los valores promedios para todos los atributos evaluados por los panelistas junto con los valores de los estadísticos F para las muestras, panelistas y su interacción, se resumen en la **Tabla 4.3.**

Tabla 4.3. Intensidad de los atributos para las cuatro muestras mediante perfil descriptivo.

Atributos	Muestras				Estadístico-F		
	35-4	35-5	40-4	40-5	Muestra (M)	Asesor (A)	M*A
<i>Sabores básicos y sensaciones bucales</i>							
Dulzor	6.0 ± 0.2 ^a	7.2 ± 0.3 ^{bc}	6.5 ± 0.4 ^{ab}	7.9 ± 0.2 ^c	7.98*	1.18	0.62
Amargor	1.7 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.1 ^a	1.6 ± 0.2 ^a	0.53	1.41	1.13
Acidez	4.1 ± 0.1 ^a	3.8 ± 0.2 ^a	4.6 ± 0.2 ^b	3.9 ± 0.1 ^a	8.31*	0.69	1.31
Astringencia	3.7 ± 0.1 ^a	3.5 ± 0.5 ^a	4.2 ± 0.3 ^a	3.5 ± 0.1 ^a	1.37	1.63	0.44
Cuerpo	2.8 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.1 ^{ab}	3.6 ± 0.3 ^b	4.4 ± 0.2 ^c	16.45**	1.62	1.35
Aromas							
Frambuesa	5.6 ± 0.1 ^a	5.6 ± 0.2 ^a	5.6 ± 0.1 ^a	5.9 ± 0.1 ^a	0.76	2.93**	1.94*
Alcohol	2.3 ± 0.2 ^a	2.4 ± 0.2 ^a	2.4 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.1 ^a	0.35	3.51**	2.78**
Levadura	2.7 ± 0.1 ^a	2.6 ± 0.2 ^a	3.1 ± 0.3 ^b	3.0 ± 0.2 ^b	4.29*	2.75*	2.58**
Frutos Rojos	5.5 ± 0.1 ^a	5.7 ± 0.1 ^{ab}	5.8 ± 0.1 ^b	5.9 ± 0.2 ^b	8.00*	2.14*	1.05
Frutilla	4.6 ± 0.1 ^a	4.7 ± 0.2 ^a	4.8 ± 0.1 ^a	4.9 ± 0.2 ^a	1.71	2.92*	1.50
Fermentado	1.6 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.2 ^a	1.9 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.1 ^a	1.51	2.21*	0.86
Regusto							
Astringente	4.6 ± 0.2 ^c	4.0 ± 0.1 ^{ab}	4.1 ± 0.2 ^{bc}	3.5 ± 0.2 ^a	9.96*	1.13	1.11

Los datos son presentados como medias (± Desviación estándar). Diferentes letras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras de acuerdo al método de la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD); *, ** indican una diferencia a $p < 0.05$ y 0.01 .

Esta Tabla muestra cada uno de los atributos evaluados por el panel. De los 12 atributos, solamente dulzor ($p < 0,05$), acidez ($p < 0,05$), cuerpo ($p < 0,01$), aroma a levadura ($P < 0.05$), aroma a frutos rojos ($p < 0,05$), y regusto astringente ($p < 0,05$) permitieron diferenciar las muestras. El análisis de los estadísticos F para panelistas y la interacciones muestra*panelistas permitió sacar información respecto al funcionamiento del panel. De esta manera y con respecto a los descriptores aromáticos, se pueden observar diferencias significativas entre los panelistas e interacción muestra*panelista (ver frambuesa, alcohol y levadura; $p < 0.01$). Esto sería indicador de que no todos los panelistas evaluaron los atributos de aroma de la misma manera para cada muestra, y / o que las muestras son muy similares en estos descriptores de modo tal que los evaluadores no pueden diferenciar fácilmente entre ellas (Tang, y col.,1999; Zamora y Guirao, 2004). De hecho, todas las muestras tenían la misma cantidad de aroma de frambuesa añadido, por lo tanto las cuatro muestras podrían ser percibidas con similar aroma.

El cuerpo fue el descriptor más relevante para explicar las variaciones entre las cuatro formulaciones. El dulzor diferenció claramente dos de las formulaciones (40-5 y 35-4), y permitió resaltar la percepción del cuerpo. Este particular efecto fue observado solamente cuando se compararon las muestras con mayor cantidad de PVE (40-5 y 40-4). De esta forma, fue necesario un mayor nivel de PVE para inducir la mejora del cuerpo vía dulzor. La muestra 35-4 fue percibida como la menos dulce y con el más alto regusto astringente (superior a la muestra 40-4). Probablemente, el menor cuerpo de la muestra 35-4 haya provocado un aumento en la percepción del regusto astringente.

4.5. Prueba de agrupamiento (sorting task)

De acuerdo con los resultados del ensayo de agrupamiento (**Figura 4.5.**), se pudo observar una clara separación de las cuatro muestras evaluadas. La cercanía de una muestra y un atributo se interpreta en términos de correspondencia. Esto significa que la muestra fue asociada una mayor cantidad de veces a ese atributo en particular con respecto a las demás muestras.

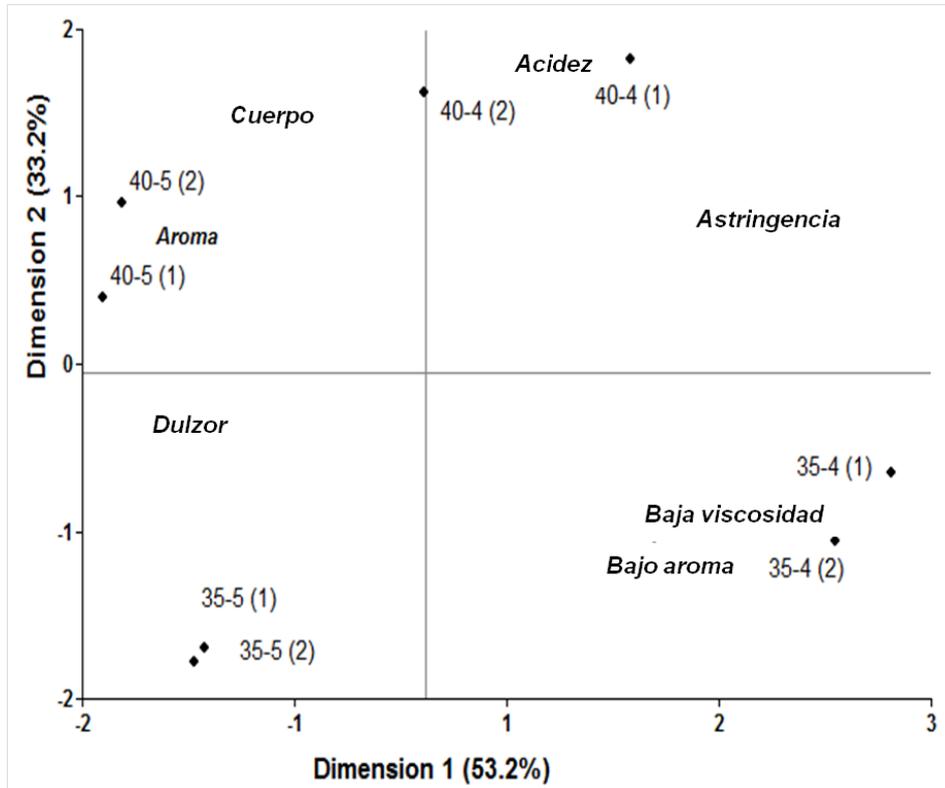


Figura 4.5. Mapa de escalamiento multidimensional para la clasificación por agrupamiento de las cuatro muestras.

Los atributos más mencionados para describir las muestras fueron *cuerpo*, *dulzor*, *aroma*, *acidez* y *astringencia*. Todos los evaluadores identificaron a la muestra 40-5 valiéndose de los tres primeros (*cuerpo*, *dulzor* y *aroma*); a su vez los evaluadores caracterizaron la muestra 35-5 únicamente por el *dulzor*.

Es evidente que los pequeños cambios realizados en la formulación fueron suficientes para que las muestras fueran percibidas como diferentes por los asesores entrenados. La separación permitió conocer que aún con formulaciones muy cercanas (nivel de PVE y nivel de edulcorante) fueron percibidas como diferentes, asegurando una de las condiciones necesarias para que fueran llevadas al estudio de consumidores.

4.6. Estudio de consumidores

4.6.1. Análisis de penalidades

Como el *cuerpo* fue el atributo que mostró las mayores diferencias entre las muestras evaluadas por el panel, los resultados obtenidos a través de la escala de punto justo (JAR) permitieron llevar a cabo un análisis de penalidades para conocer qué tan alejado se encontraba este atributo de su nivel óptimo y si esto tenía impacto en la aceptación global. La **Tabla 4.4.** muestra el porcentaje de consumidores que calificaron el cuerpo de la bebida dentro tres niveles categóricos (punto óptimo y dos extremos penalizables “*muy espesa*” y “*demasiado diluida*”) junto con el valor de la caída media que experimentaría la aceptación global por encontrarse el cuerpo fuera de su valor óptimo

Tabla 4.4. Análisis de penalidades de las cuatro muestras

Muestra	Categoría de la penalidad		
	Muy espesa	Muy diluida	JAR (Punto ideal)
% consumidores (caída de la media)			
40-5	11.8 (0.28)	31.3 (0.14)	56.9
40-4	9.1 (0.12)	47.2 (0.54)	43.7
35-5	9.7 (0.37)	42.1 (0.66)*	48.3
35-4	9.1 (0.14)	49.7 (0.89)**	41.3

* p< 0.05; **p< 0.01

En las muestras con menor cantidad de PVE, se puede observar que una alta proporción de los consumidores (42.1 % para la 35-5 y 49.7 % para la 35-4) percibieron las muestras como “*demasiado diluida*” (cuerpo fuera del óptimo). Esto generó un impacto significativo sobre la caída de la aceptación media global (0.66 puntos, $p < 0,05$ y 0.89 puntos, $p < 0,01$, para las muestras 35-5 y 35-4, respectivamente). La muestra 40-5 tuvo la más alta proporción de consumidores (56,9%) que consideraron que el atributo cuerpo estaba en su nivel óptimo (punto 0 o valor medio de la escala JAR). Si bien, para esta muestra un aumento en el cuerpo podría ser conveniente (ya que el 31,3% de los asesores la consideraron “demasiado diluida”), posiblemente no sería necesario ya que el impacto en la caída de la aceptación global de ese particular segmento de consumidores no fue significativo. Además, es necesario ser cuidadoso al interpretar y responder a este tipo de resultados ya que cualquier cambio en el atributo (incremento o decremento) que busque disminuir la proporción de consumidores que se encuentran fuera del óptimo, impacta al mismo tiempo sobre la proporción de los consumidores que se encuentran en el óptimo (Rothman, 2007; Rothman y Parker, 2009).

Sobre la base del análisis de penalidades, se pudo determinar que para los consumidores el atributo cuerpo no solo contribuyó a discriminar mejor las formulaciones sino que también tuvo un significativo impacto sobre la aceptación de las mismas. La escala JAR permitió medir la forma en que percibían este atributo teniendo en cuenta su valor óptimo (Costell y col., 2010). El análisis de penalidades fue un buen instrumento para medir la opinión de los consumidores sobre el nivel del atributo cuerpo y conocer si un desvío del su punto óptimo hacia caer la aceptación media de manera significativa.

De la misma forma que los panelistas entrenados observaron un efecto de la cantidad de edulcorante sobre el cuerpo de la muestra (para el más alto nivel de PVE), los consumidores también percibieron esta particular relación entre estos dos atributos. La **Tabla 4.4.** evidencia que hubo una mayor cantidad de consumidores que calificaron el atributo cuerpo como óptimo cuando la muestra tenía una mayor cantidad de edulcorante (56.9 % vs 43.7%, para las muestras 40-5 y 40-4 respectivamente; y 48.3% vs 41.3%, para las muestras 35-5 y 35-4). Además, si se observan las dos muestras con mayor nivel de PVE (40-5 y 40-4) la primera tuvo un mayor porcentaje de

consumidores dentro de la categoría “*muy espesa*”. Este comportamiento podría dar a entender que a nivel hedónico los consumidores encontraron una influencia del edulcorante sobre la percepción del atributo cuerpo.

Conforme a los resultados observados, y al impacto que tiene el *cuerpo* sobre la aceptación, la muestra 40-5 fue percibida como la muestra con mayor nivel óptimo en este atributo.

4.6.2. Influencia del género y la información sobre la aceptación de la bebida

Los participantes evaluaron la aceptación global de las cuatro formulaciones mediante una escala hedónica de 9-puntos, observándose diferencias entre formulaciones ($p < 0,05$; **Tabla 4.5.**), pero no hubo diferencias en la aceptación debidas al género o al suministro de información. La muestra más aceptada fue la 40-5, esto podría ser explicado en parte por los resultados obtenidos del análisis de penalidades. Estos resultados mostraron que el *cuerpo* ejercía una influencia preponderante en la aceptación, siendo la muestra 40-5 la que presentó el mayor porcentaje de consumidores que percibieron el cuerpo en su nivel óptimo.

Tabla 4.5. Valores promedios de aceptación, intención de compra y de repetir el consumo. Influencia de la información y el género.

Atributo	Muestras	Medias	Estadístico F		
			Muestra	Información	Género
Aceptación	40-4	6.2 ± 1.7 ^a	2.564*	0.404	0.611
	35-5	6.1 ± 1.8 ^a			
	35-4	6.1 ± 1.7 ^a			
	40-5	6.6 ± 1.3 ^b			
Intención	Género		1.288	0.584	2.384
	Repetir el consumo	Mujeres			
Comprar	Mujeres	3.4 ± 1.1	0.854	1.983	3.298*
	Hombres	2.9 ± 0.9 ^a			
	Hombres	3.4 ± 1.0 ^b			

Los datos son presentados como medias (± Desviación estándar). Diferentes letras representan diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras de acuerdo al método de la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD); * indica una diferencia a $p < 0.05$.

En cuanto a la intención de repetir el consumo y la intención de compra (usando una escala de 5-puntos) sólo se observaron diferencias debidas al género en la intención de compra ($p < 0.05$; **Tabla 4.5.**), siendo los hombres quienes expresaron la mayor intención de compra comparado con las mujeres. La inspección de los datos individuales reveló que el 43% de los hombres, “probablemente o sin ninguna duda” compraría la bebida (valores 4 y 5 en la escala), pero sólo 35% de las mujeres dieron la misma opinión ($F_{1,207} = 4,12$; $P < 0.05$). Cabe destacar que los hombres dan la misma puntuación para las mediciones de “intención de repetir el consumo e intención de compra”, pero las mujeres tienden a disminuir las puntuaciones en la intención de compra. El segmento de consumidores con los valores más altos en ambas medidas (comprar y repetir el consumo), solamente mostraron una tendencia a comprar la muestra 40-5 ($F_{3,207} = 2,09$; $p = 0,100$).

Algunos estudios relacionados con bebidas enriquecidas con polifenoles, sugieren que el suministro de información acerca de los beneficios para la salud podría tener un gran impacto sobre la evaluación de los consumidores (Jaeger y col., 2009), y particularmente sobre la intención de compra (Tuorila y Cardello, 2002; Casati y col., 2012). Sin embargo, los resultados observados en el presente estudio, no reflejan ningún impacto de la información sobre la aceptación o la intención de compra. Probablemente, el rango de edad (19 a 35) de los participantes puede explicar la falta de preocupación por la elección de bebidas que tengan impacto sobre la salud. Estudios previos han demostrado que el efecto de la información en la aceptación del producto es más notable cuando se dirige hacia un grupo con características sociodemográficas, de edad y género definidos. Por ejemplo, Sabbe y col., (2009) encontraron que los consumidores de más edad y las mujeres eran más propensos a aceptar los zumos de fruta que tenían un beneficio adicional sobre la salud. Otros estudios (Niva, 2006; Siro y col., 2008; Urala, Ay col., 2003) mencionan que la información tiene más influencia en las mujeres que en los hombres. Sin embargo, algunos investigadores (Lyly y col., 2007; Mialon y col., 2002; Urala y Lahteenmaki, 2007; Verbeke, 2005) no encontraron efectos del género sobre la aceptación de los productos alimenticios que llevaban etiquetas de beneficios relacionadas con la salud.

4.7. Mapa de preferencia externo

Para verificar la influencia de los atributos sensoriales sobre la aceptación, además del análisis de penalidades (que solamente permite valorar un atributo por vez), los datos del análisis descriptivo QDA[®] fueron correlacionados con las puntuaciones de aceptación de los consumidores mediante un Mapa de preferencias externo (**Figura 4.6**). El análisis de componentes principales (PCA) realizado a partir de los datos descriptivos sensoriales, mostró que los primeros dos componentes explicaban el 88,2% del total de la varianza. Los consumidores fueron agrupados en cinco “clusters” basados en la similitud de las puntuaciones otorgadas en la calificación hedónica de las muestras (análisis de segmentación). Los cluster, las muestras y los atributos sensoriales fueron representados en el espacio multivariado de la **Figura 4.6**. Dentro del mapa, la mayor cercanía entre las muestras, vectores de atributos y vectores de cluster se interpreta como una mayor relación entre esas variables.

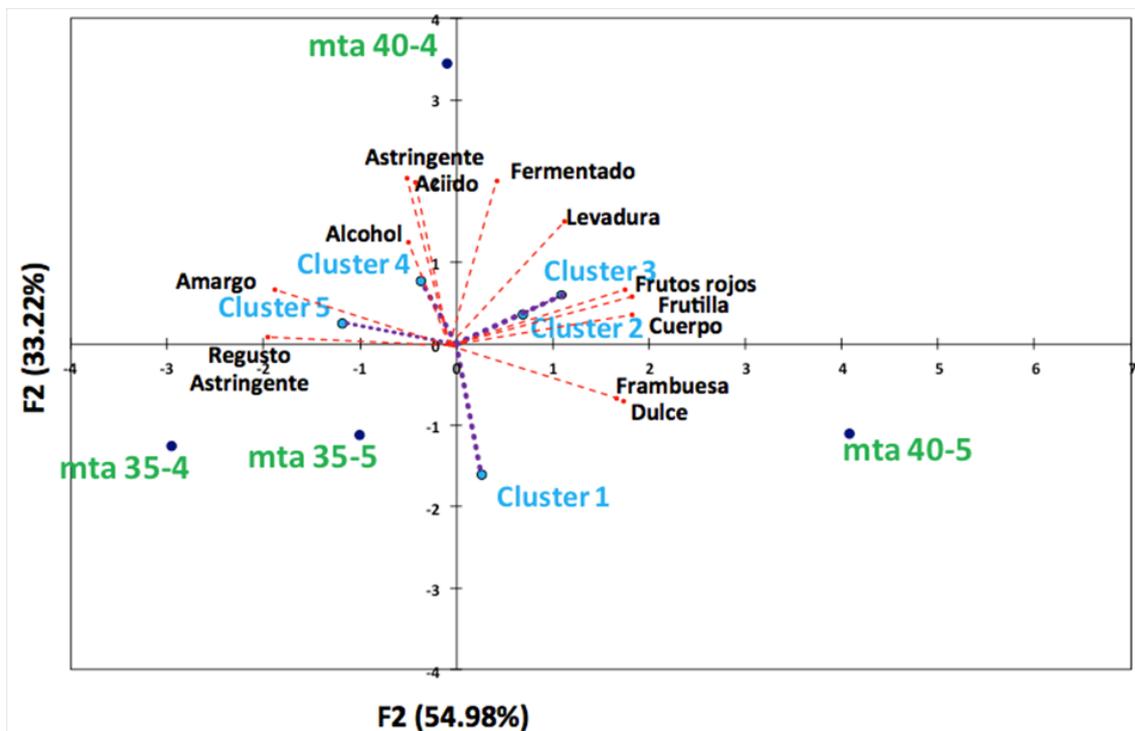


Figura 4.6. Mapa de preferencia externo

El cluster o grupo 1 (29,2% de los consumidores) queda definido como un conjunto de consumidores que aceptan en mayor medida las muestras 40-5 y 35-5. Sin embargo, de acuerdo a la ubicación del vector de este grupo la primera muestra (40-5) es más aceptada que la segunda (35-5), lo cual se explica por el dulzor y el aroma a frambuesa. Los cluster 2 (22,9% de los consumidores) y 3 (18,1% de los consumidores) están caracterizados por un conjunto de personas que prefieren la muestra 40-5 debido a su cuerpo y aromas a frutilla y frutos rojos. El cluster 4 (22,9% de los consumidores) se encuentra asociado a la muestra 40-4 y representa consumidores a los que les gusta el amargo. Finalmente, el grupo 5, al que pertenecen solamente el 6,9% de los consumidores, es el conjunto de aquellos consumidores que prefieren la muestra 35-4 caracterizada por su gusto astringente.

Algo que se destaca en el mapa de preferencias obtenido, es que el regusto astringente se encuentra en dirección opuesta al cuerpo, un comportamiento que se interpreta como una relación inversa entre ellos, es decir que si sube la percepción del primero cae la del segundo y viceversa. La mayor cantidad de consumidores se encuentran cerca de la muestra 40-5 (70,2%, suma de los clusters 1, 2 y 3) y los atributos sensoriales relacionados con la misma fueron principalmente dulzor y aroma a frambuesa, seguido del atributo cuerpo, y los aromas a frutos rojos y frutilla. Se puede observar, que el dulzor resalta la percepción de los aromas y por la ubicación del vector dentro del espacio puede ser considerado como uno de los principales atributos que define la preferencia de los participantes.

El resultado de análisis cluster (análisis por segmentación) empleado en el mapa de preferencia externo generó cinco grupos de consumidores claramente segmentados de acuerdo a su preferencia, junto con los atributos vinculados a las preferencias. Es importante destacar que algunos autores recomiendan este tipo de segmentación de la población, debido a que cuando se utilizan los valores promedios no se refleja bien el comportamiento individual inherente a cada consumidor (Bayarri y col., 2012).

4.8. Doble chequeo: Escala Análoga Visual (VAS)

La Escala Análoga Visual (VAS) fue solamente utilizada a modo de doble chequeo de las evaluaciones de los consumidores (medidas por escala hedónica de 9-puntos). De esta forma, se pretendió confirmar las percepciones de los participantes acerca de la nueva bebida. Esta es la razón por la cual el orden de las escalas en el estudio fue siempre igual, primero la escala hedónica y luego la escala VAS.

El suministro de información tuvo impacto en la percepción de los atributos sensoriales, cuando se evaluaron las respuestas obtenidas en las dos escalas (hedónica y VAS). Así pudo verse, que la información generó diferencias sobre la percepción del aroma ($F_{1,574} = 3,912$; $p < 0.05$) y dulzor ($F_{1,574} = 4,269$; $p < 0.05$) utilizando la escala hedónica; acidez empleando las dos escalas ($F_{1,574} = 8,413$ y $F_{1,574} = 6,899$; $p < 0.01$); y astringencia usando la escala VAS ($F_{1,574} = 5,039$; $p < 0,05$). Para todos los atributos que mostraron estas diferencias, la información siempre tuvo el efecto de aumentar las puntuaciones de intensidad obtenidas respecto al grupo control (sin información). Sin embargo, la información no impactó la totalidad de los atributos evaluados, solamente cuatro de los siete atributos calificados reflejaron esta diferencia. Los atributos en los que la información influyó fueron tanto hedónicamente positivos (dulzor y aroma) como hedónicamente negativos (acidez y astringencia). Si bien, con la entrega de información se esperaba que los consumidores más interesados en una bebida saludable reflejaran un aumento en las calificaciones de aceptación global, esto no fue observado ($F_{1,574} = 0,865$; $P = 0,353$).

La **Tabla 4.6.** compara los valores medios de la aceptación y los siete atributos, obtenidos por las dos escalas, (hedónica y VAS), tomando al género como factor de variación. La segunda escala o escala de doble chequeo (VAS) permitió ver las mayores diferencias debidas al género. Estas fueron encontradas en la aceptación global ($p < 0,001$), apariencia ($p < 0.01$), frescura ($p < 0,001$), sabor ($p < 0.01$), dulzor ($p < 0.01$), acidez ($p < 0.05$) y astringencia ($p < 0.05$). Si se comparan los valores medios obtenidos por VAS puede verse que los hombres dieron valores superiores o similares a los obtenidos con la

escala hedónica (9 puntos), mientras que por el contrario las mujeres dieron valores similares o inferiores en las mismas condiciones.

Tabla 4.6. Evaluaciones de las muestras con la escala de doble chequeo

Atributos	Medias		Estadístico F
	Mujeres	Hombres	Género
Aceptación	6.2	6.3	0.611
Aceptación VAS ¹	5.7	6.4	12.843***
Apariencia	6.3	6.2	1.048
Apariencia VAS	6.2	6.7	7.868**
Frescura	6.1	6.4	4.322*
Frescura VAS	5.8	6.5	17.269***
Aroma	6.0	6.0	0.009
Aroma VAS	6.0	6.2	0.357
Sabor	6.0	6.2	1.688
Sabor VAS	5.8	6.3	6.132**
Dulzor	6.2	6.4	1.374
Dulzor VAS	6.2	6.6	7.292**
Acidez	5.5	5.7	1.533
Acidez VAS	5.5	5.9	5.780*
Astringencia	5.6	5.7	0.888
Astringencia VAS	5.6	5.9	4.022*

*** (p < 0.001), ** (p < 0.01), * (p < 0.05), ¹Segunda Evaluación

Aunque la escala hedónica no reflejó diferencias en la aceptación global debidas al género, la confirmación con la escala VAS evidenció estas diferencias a un nivel altamente significativo (p<0,001). De esta forma, en lo que respecta a la aceptación global de las muestras, el uso de la segunda escala (VAS) permitió visualizar que los participantes masculinos aceptan más la nueva bebida respecto a su contraparte femenina. Además, no debe perderse de vista que cuando se usó la escala hedónica de 9-puntos para evaluar la intención de compra (ver **Tabla 4.5.**) las mujeres presentaron menor intención de compra que los hombres (p<0.05), resultado que sugiere algún tipo de diferencia debida al género que posiblemente este método de evaluación no deje ver con total claridad. En el último Capítulo (Capítulo 5) se presentan los resultados de la exploración de estas diferencias a través de la aplicación de otro enfoque metodológico.

A su vez, estas diferencias podrían ser interpretadas como una posible transferencia de las diferencias específicas en el consumo de vino tinto entre

hombres y mujeres. En términos generales, las mujeres beben menos vino tinto que los hombres (Bruwer y col., 2011).

4.9. Preguntas abiertas: qué gusta y qué no gusta de las muestras

Para entender con mayor claridad las razones que influían sobre la aceptación de las muestras, se pidió a los participantes expresarse libremente acerca de lo que les gustaba o no de las bebidas evaluadas. El análisis de frecuencia de citación de las palabras utilizadas para expresar los gustos sobre las muestras indicó que "dulce" (con una frecuencia de 28%) y "sabor" (27,5%) fueron las palabras más mencionadas por los consumidores. "Color" (10%), "cuerpo" (8%), "sabor suave" (6%) y "olor" (6%) les siguieron en el orden de mención. Las palabras menos citadas fueron "frescura" (4,4%), "sabor a frutas" (3,7%), "aroma" (2,1%), "acidez" (1,8%) ", "sabor a vino" (1,1%) y "sabor a uva" (0,7%). El análisis de citación por muestra indica que todas tenían una frecuencia similar para las dos palabras más mencionadas, sin embargo, la muestra 40-5 tuvo una frecuencia de citación de la palabra "sabor" del 31% diferenciándose a un nivel significativo del resto de muestras ($p < 0,05$). Probablemente, lo que les gustaba de esta muestra (la de mayor nivel de PVE y edulcorante) se expresó de una manera global acudiendo a la palabra "sabor".

En lo que respecta a los descriptores negativos usados por los consumidores para expresar lo que no les gustaba de las muestras, los participantes utilizaron más palabras (23) frente a 13 palabras usadas para expresar que lo que les gustaba. La palabra más frecuentemente mencionada para todas las muestras fue "diluida" (19%), siendo la muestra 35-4 la más asociada con esta palabra (36%), a continuación la 40-4 (31%), 35-5 (21%) y finalmente 40-5 con sólo el 12% ($p < 0,05$). Cabe resaltar que ambos ingredientes - las cantidades de PVE y edulcorante- fueron importantes para disminuir esta percepción. Este resultado guarda relación con la medida del atributo cuerpo usando la escala de punto justo JAR, donde la muestra 40-5 tuvo la proporción más alta de consumidores que la calificaron con cuerpo óptimo (56.9%; $p < 0.05$).

Siguiendo con el orden de citación de las palabras de disgusto para todas las muestras, podemos observar características como "sabor" (11,5%) y "dulzor" (11%), "olor" (6,2%), "regusto" (5,7%), "acidez" (5,7%), "consistencia" (5,1%) y "astringencia" (5,1%). La palabra consistencia podría ser interpretada como un atributo referente al cuerpo de la muestra, de esta forma si se le suma el 19 % de la palabra "diluida", los descriptores asociados al cuerpo fueron muy importantes para los participantes para evaluar negativamente de las muestras.

En relación con el impacto de la información y del género en la frecuencia de citación de palabras asociadas a las razones por las que gustó la muestra, se observó que "sabor" fue más mencionado por los hombres (8,6%) que por las mujeres (5,5%; $p < 0.05$). La información prácticamente no tuvo ningún efecto en este atributo. "Dulzor" fue más citado por las mujeres (7,2%) que en los hombres (5,5%; $p < 0.05$). La información en los dos grupos aumentó la mención de palabras positivas (8,6 % hombres y 6,9% mujeres) ($p < 0,05$). En las mujeres la información también aumentó la mención de la palabra "Color" y "Olor". En cuanto a las palabras asociadas al disgusto, "Diluido" fue más mencionado por los hombres (7,6%) que por las mujeres (4,1%; $p < 0,05$), y la información disminuía la mención de palabras negativas en el grupo masculino (2,5%; $p < 0,05$). La información aumentó la mención de "astringencia" y "consistencia" en el grupo femenino.

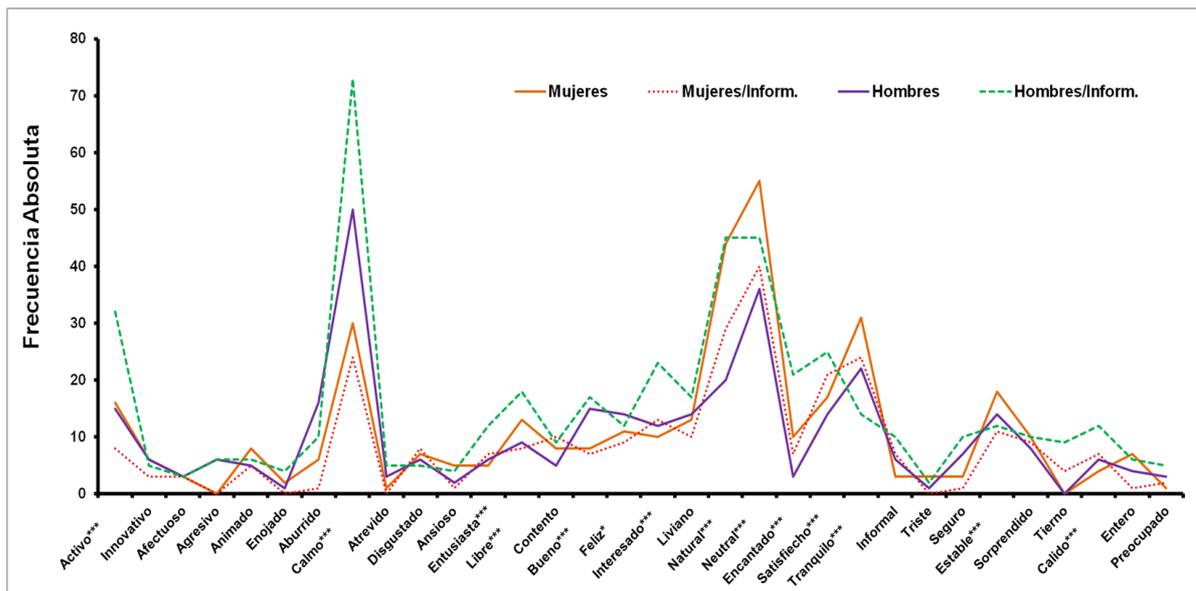
Las expresiones de los participantes acerca de los aspectos que gustaban y no gustaban en la bebida revelaron que, los consumidores tuvieron más certeza de lo que no les gustaba de lo que les gustaba. Esto se ve reflejado en que, mientras ellos expresaban sus gustos a través de términos holísticos como "sabor", podían al mismo tiempo expresar con términos específicos como "diluido", las características que les disgustaba. De esta manera, el uso del análisis de los comentarios permitió una mejor descripción de las muestras, ya que algunos términos empleados por el panel entrenado como "viscosidad", se pueden correlacionar a los términos usados por los consumidores como "diluido".

4.10. Estado emocional

La descripción del estado emocional mediante la selección de todas las palabras que aplican a partir de una lista adaptada (King y Meiselman, 2010), no mostró consenso entre los consumidores ya que la elección estuvo distribuida entre casi todas las palabras de la lista, pero con baja frecuencia por palabra. Los participantes de forma individual tendían a seleccionar, entre una a cinco palabras de la lista. Las palabras seleccionadas con mayor frecuencia fueron "neutral" (12,1%), "natural" (9,5%), "calmo" (7,1%) y "tranquilo" (6,2%). Los términos que les siguieron en frecuencia de elección son "satisfecho" (4,3%), "interesado" (4,0%), "estable" (3,8%), "bueno" (3,2%) y "libre" (3,3%). Emociones negativas, tales como "culpable", "triste", "enojado", "preocupado", "agresivo" e "ansioso" fueron seleccionadas con una frecuencia inferior a 0,8%.

Respecto a las palabras asociadas a las emociones elegidas por cada género, hubo una frecuencia similar de elección entre los hombres (23%) y mujeres (24%). Sin embargo, pudo verse que la información generó un mayor impacto sobre las emociones, porque los hombres aumentaron la frecuencia de emociones positivas (34%) y las mujeres la disminuyeron (19%).

Con el fin de mejorar la interpretación de los resultados, seis términos relacionados se sumaron a otros seis con los que se encontraban emparentados. De esta manera se fusionaron: "comprensivo con tierno", "enérgico con activo", "alegre con feliz", "pacífico con calmo", "placentero con encantado", "manso con calmo". La palabra "culpable" fue eliminada debido a que fue mencionada únicamente por tres participantes. Los perfiles de emociones que comparan hombres y mujeres con y sin información se muestran en la **Figura 4.7**.



***p<0.01, *p<0.05.

Figura 4.7. Perfil de emociones (frecuencia absoluta) segmentados por género e información.

Teniendo en cuenta las emociones mencionadas por muestra se aplicó un Análisis de Correspondencia Factorial (FCA) (**Figura 4.8**). De acuerdo a este mapa multidimensional, las emociones seleccionadas con mayor frecuencia ("neutral", "natural", "calmo" y "tranquilo") se situaron cerca del centro de coordenadas, lo que indica que fueron mencionadas con una frecuencia similar en todas las muestras.

Las muestras 40-4 y 40-5 aparecen cercanamente posicionadas en el diagrama, mostrando un acuerdo en las emociones provocadas. La muestra 40-5 se identificó con la más alta cantidad de palabras positivas como "encantado", "seguro", "energético", "satisfecho", "innovativo", "alegre" y "entero". La muestra 40-4 es reconocida con las mismas palabras de emoción de la 40-5, pero con menos frecuencia de citación, también está cerca de las palabras más mencionadas para todas las muestras (por ejemplo "tranquilo"). Las dos muestras con menor cantidad de PVE (35-4 y 35-5) provocaron en los consumidores algunas emociones negativas tales como "aburrido" (35-4) y "agresivo" (35-5). Por lo tanto, las emociones elegidas por los consumidores para describir los sentimientos generados por la nueva bebida, ayudan a explicar los datos de aceptación.

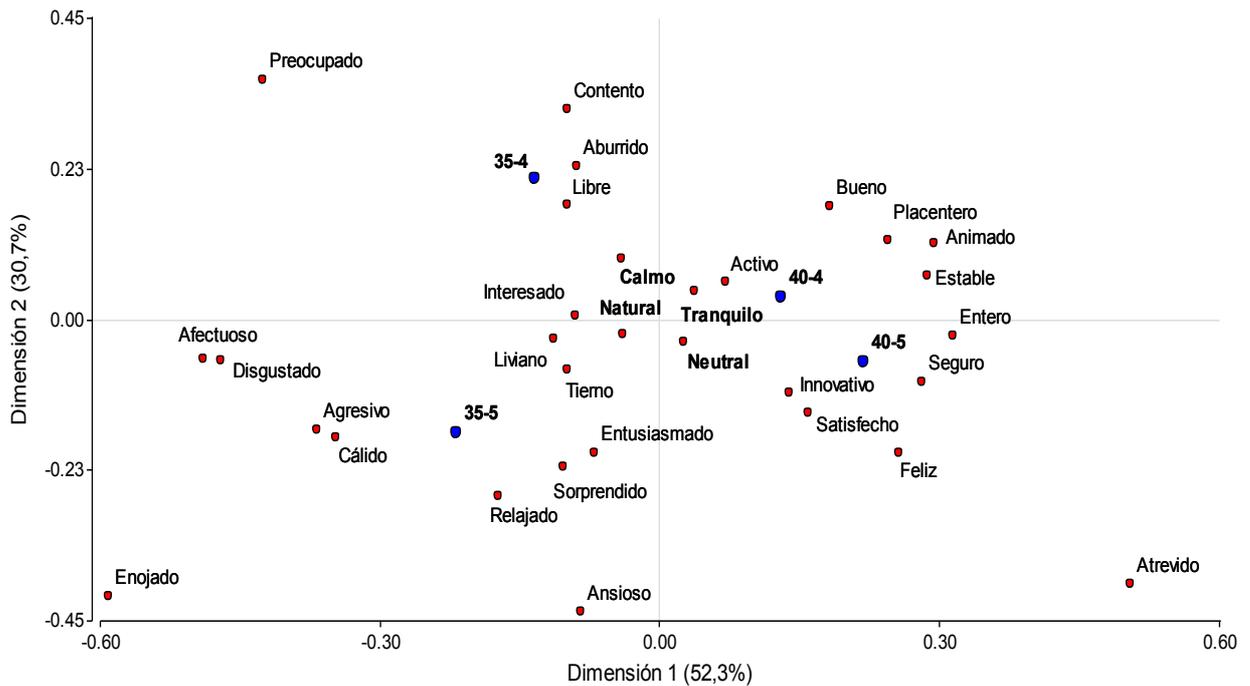


Figura 4.8. Análisis de correspondencia factorial de las palabras referidas a las emociones seleccionadas luego de probar las muestras.

Lo considerado anteriormente permite concluir que las muestras que más gustaron se relacionaron con emociones positivas y las que menos gustaron con palabras vinculadas a sentimientos negativos. Un resultado similar fue encontrado por Manzocco y col. (2013) quienes investigaron ensaladas de fruta a través de diferentes mediciones y encontraron que las de menor calidad visual para los consumidores se encontraban asociadas con emociones negativas como “agresivo”, “triste” y “disgustado”. King y Meiselman (2010) indicaron la necesidad de emplear un gran número de emociones para caracterizar completamente la respuesta emocional de los alimentos. Sin embargo, los actuales resultados mostraron que los participantes tendían a elegir sólo unas pocas palabras de la lista de 39 emociones. Probablemente, el orden de evaluación (1. Aceptación global – 2. ¿Qué le gustó /Que no le gusto de la bebida – 3. estado emocional) debería ser modificado de tal manera que los participantes evalúen el producto, en primer lugar, teniendo en cuenta sus emociones, y luego de una forma más analítica.

Conclusiones Parciales del Capítulo 4

La evaluación del concepto, en cuanto a la asociación del consumo del polvo de vino, a través de la aplicación de “*focus group*” permitió determinar que: el polvo fue percibido como para ser utilizado en la preparación de una bebida saludable, tipo jugo de uva, que se destaca por su aroma, color y dulzor, y para ser consumido acompañando alimentos dulces o salados.

Los ensayos preliminares con el polvo de vino mostraron que en la formulación el dulzor y el cuerpo eran atributos importantes para la aceptación final de la bebida. Los prototipos evaluados en la formulación de la bebida fueron cuatro, con dos niveles diferentes de edulcorante y de PVE e igual cantidades de espesante (goma guar) y aroma a frambuesa.

De los 12 atributos analizados mediante el Perfil Descriptivo Cuantitativo, solamente cuatro mostraron diferencias significativas entre los prototipos evaluados, a saber: dulzor, acidez, cuerpo y regusto astringente, siendo el cuerpo el que presentó la mayor diferencia. Los atributos aromáticos fueron percibidos con intensidades similares en todas las muestras, indicando que probablemente el aroma a frambuesa agregado haya enmascarado los aportes aromáticos propios de PVE.

La muestra preferida por los consumidores fue la que contenía mayor nivel de edulcorante y PVE. Su aceptación global arrojó un puntaje de 6,6 (medido en escala hedónica de 9-puntos). La Información provista a los consumidores sobre los beneficios saludables de la bebida no aumentó la aceptación de las muestras, atribuyendo este resultado al rango etario de los participantes (19 a 35 años) que eventualmente pueden tener una menor preocupación sobre una alimentación saludable.

Las diferencias de género en la aceptación de la bebida solamente fueron detectadas cuando se aplicó la segunda escala como una forma de chequear la preferencia del consumidor. Las diferencias fueron observadas porque los hombres dieron valores más altos y las mujeres bajaron el puntaje en esta escala segunda escala.

El mapa de preferencia externo permitió cruzar las respuestas del panel entrenado con la de los consumidores explicando que los descriptores responsables de la aceptación fueron dulzor y cuerpo. Respecto a este último

atributo, el análisis de penalidades corroboró que el cuerpo tiene un impacto significativo sobre la aceptación de la bebida. En palabras de los consumidores los términos *dulce* y *sabor* fueron los que mayoritariamente describieron la aceptación de las muestras analizadas. Por otra parte, el término *diluida* fue el de mayor frecuencia de mención para explicar lo que no gustó de las muestras.

La palabra “calmo” fue la más citada para describir el estado anímico de los consumidores luego de probar las muestras. La de mayor aceptación estuvo asociada a emociones positivas como “energético”, “satisfecho”, “alegre” y su contraparte (muestra con la menor cantidad de edulcorante y PVE) estuvo asociada a emociones negativas como “aburrido” y “preocupado”.

CAPITULO 5

Los aspectos temporales de la aceptación y/o preferencia de un alimento durante su consumo han ganado recientemente gran interés (Delarue y Blumenthal, 2015). Se han propuesto diferentes maneras de medir la respuesta hedónica empleando un único sorbo o bocado pero desde una perspectiva dinámica. (Delarue y Loescher, 2004; Methven y col., 2010; Kuesten y col., 2013). Sin embargo, el consumo de una bebida no es asunto de un solo sorbo, sino que la experiencia real de consumo se desarrolla a través de múltiples sorbos, situación que pone de manifiesto fenómenos físicos, fisiológicos, psicológicos y sensoriales que se modifican a través del tiempo (Dijksterhuis, y Piggott, 2000; Sudre y col., 2012; Delarue y Blumenthal, 2015; Galmarini y col., 2015). Los datos dinámicos tienen la posibilidad de ofrecer mayor información y ser más discriminativos que los datos hedónicos provenientes de un único registro o medida estática (Zorn y col., 2014). Sin embargo, las metodologías y los análisis basados en la evaluación de varios sorbos/bocados han recibido poca atención hasta el momento.

La experiencia sensorial es mucho más compleja de lo que parece, razón por la cual se deben tener en cuenta todas las asociaciones que los consumidores asignan a un producto basadas en su experiencia y aprendizaje. Una parte importante de estas asociaciones tienen un alto vínculo emocional (Köster, 2009). De esta manera, la aceptación de un nuevo alimento por parte del consumidor se puede estudiar teniendo en cuenta tanto las respuestas hedónicas explícitas (procesos cognitivos) como las implícitas (procesos emocionales). Esto es particularmente relevante en la medida que recientes hallazgos sugieren que la elección de las personas depende más de los procesos de bajo orden afectivos, que son aquellos independientes de las evaluaciones cognitivas de orden superior (Scarabis, Florack y Gosejohann, 2006). Entre las medidas implícitas, las reacciones faciales son consideradas medidas de alto valor por ser la fuente más rica de información no verbal, asociada a la emoción (Ekman y col., 2002; Ekman y Rosenberg, 2005). Estas medidas han sido destacadas por su menor sensibilidad a los efectos de deseabilidad social y una mayor exactitud en la exploración del afecto verdadero hacia un alimento, aislado de las propiedades motivacionales del

gusto (Berridge, 2000). Dentro del contexto anteriormente mencionado, en el presente Capítulo se exponen los resultados obtenidos mediante un enfoque innovador que permitió seguir los **cambios temporales** asociados a la percepción temporal de la bebida desarrollada a partir de PVE.

Este enfoque metodológico consistió en medir la respuesta dinámica de la percepción a nivel emocional (**Dominancia Temporal de Emociones**), a nivel descriptivo (**Dominancia Temporal de Sensaciones**), junto con los cambios temporales hedónicos mediante *medidas explícitas*, aplicando empleando registros de intensidad de la aceptación en función del tiempo por ingestión de múltiples sorbos (**Aceptación Temporal Múltiple Sorbo, ATMS**). Finalmente, esta última modalidad se combinó con una *medida implícita* de la **reacción al gusto vía expresiones faciales**. Estas metodologías permitieron una evaluación más cercana a una situación de consumo real.

5.1. Perfiles dinámicos: sensaciones y emociones

Los resultados expuestos en el capítulo anterior nos permitieron ver que la muestra más aceptada fue la 40-5; las otras tres muestras si bien tienen atributos individuales particulares, no registraron ningún tipo de diferencia en materia de aceptación. Partiendo de esta premisa, para realizar los perfiles dinámicos de las muestras (sensaciones y emociones) solamente se siguió la evaluación de dos muestras: la más aceptada (muestra 40-5) y su correspondiente extremo en el nivel de edulcorante y PVE (muestra 35-4)

5.1.1. Curvas DTS (Dominancia Temporal de Sensaciones)

La metodología DTS permitió generar el perfil temporal de cinco atributos evaluados (dulzor, acidez, cuerpo, aroma y regusto astringente). Las curvas generadas muestran el porcentaje de evaluadores que percibieron un atributo como dominante en un determinado momento (relación de dominancia). Las líneas de oportunidad (P_o) y de significancia (P_s) son representadas en las curvas y ayudan a interpretar las gráficas. Toda sección de la curva que se encuentre por encima de la línea de significancia es considerada como estadísticamente significativa ($\alpha=0.05$), quiere decir que ese atributo fue dominante para esa proporción de panelistas (relación de dominancia) durante dicho período de tiempo.

De forma individual las curvas DTS (Figura 5.1. y 5.2.) muestran diferencias en el perfil dinámico de los atributos dominantes de las muestras 40-5 y 35-4. Para la primera muestra (40-5) la secuencia de atributos significativamente dominantes fue determinada por el dulce, ácido y regusto astringente, mientras que para la segunda (35-4), solamente el regusto astringente y el ácido integraron la secuencia temporal del perfil.

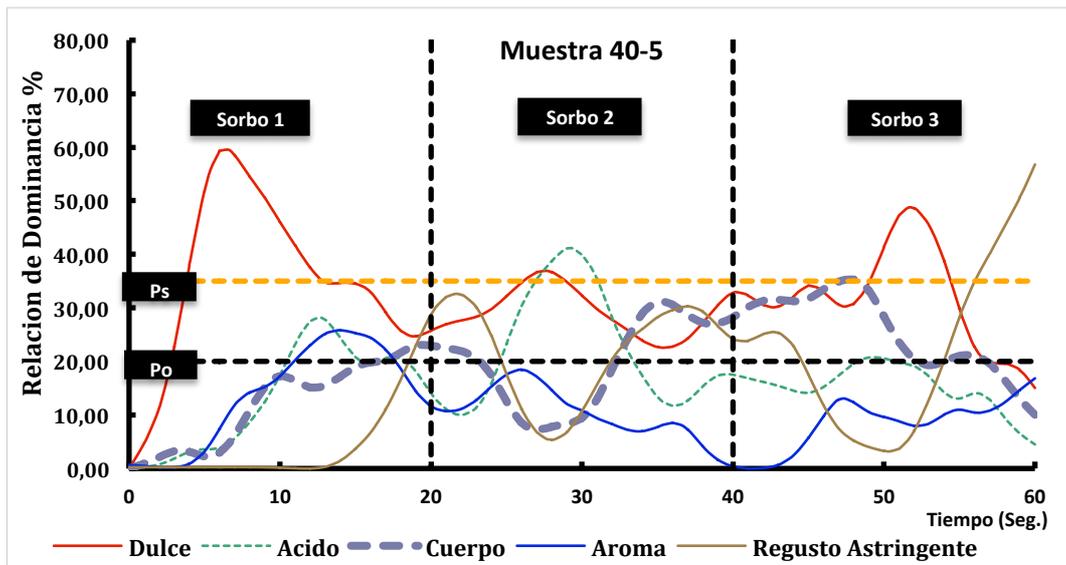


Figura 5.1. Perfil dominancia temporal de sensaciones muestra 40-5

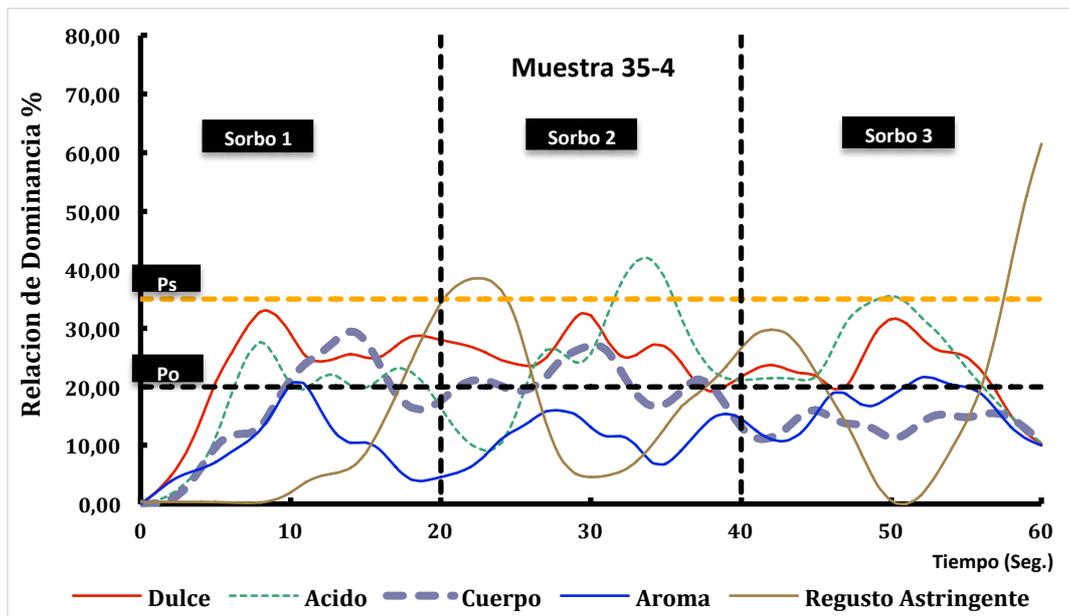


Figura 5.2. Perfil dominancia temporal de sensaciones muestra 35-4

La **Figura 5.1.** muestra los atributos dominantes de la muestra 40-5, a lo largo de los tres sorbos. En el caso del sorbo 1 (0-19 segundos) el dulzor fue el atributo dominante para el 60 % de los panelistas una vez transcurridos 6,6 segundos del ensayo. Esta relación de dominancia es mucho más alta que el nivel de significancia (20%) lo que demuestra que hubo un alto consenso entre el grupo de asesores para percibir este atributo como dominante al inicio de la prueba. En el siguiente sorbo (20-39 segundos) nuevamente el dulzor se presentó como dominante para un 37 % de los panelistas a los 27 segundos. Por último, en el tercer sorbo aumenta la proporción de dominancia de este atributo cuando el 49% de los asesores establecieron que a los 52 segundos el dulzor fue dominante. Otro atributo registrado como dominante para la muestra 40-5 fue el ácido, con una dominancia significativa desde los 27,6 segundos hasta los 30,6 segundos y una máxima relación de dominancia de 41% a los 29 segundos.

Finalmente el regusto astringente se muestra como dominante al final del período de evaluación, con una dominancia significativa a partir de los 56,40 segundos.

En la **Figura 5.2.** se puede ver el perfil sensorial dinámico de la muestra 35-4. Los atributos percibidos como dominantes en esta muestra se registran a partir del segundo sorbo, donde el 39% de los panelistas perciben el regusto astringente como dominante a los 22,8 segundos y un 41% de los participantes perciben el ácido como dominante a los 34 segundos. Finalmente, el regusto astringente nuevamente se registra como dominante en el tercer sorbo a partir de los 57,6 segundos.

Con respecto a la diferencia entre las dos muestras, en la **Figura 5.3.**, se pueden observar únicamente los atributos que son significativamente diferentes de acuerdo al test de comparación de dos proporciones binomiales (ver sección **2.3.1.10.**).

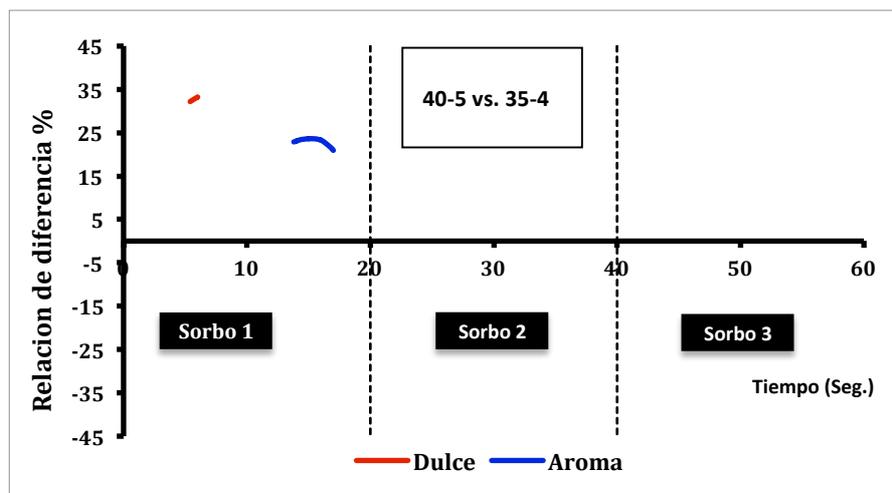


Figura 5.3. Diferencia de los perfiles de atributos de las dos muestras evaluadas.

En la figura se destaca que la muestra 40-5 se percibe diferente respecto de la muestra 35-4 en dos atributos, dulzor y aroma. Sin embargo, esta diferencia solo es encontrada durante el primer sorbo. De estos dos atributos el dulzor es el que primero marca la diferencia entre las dos muestras, a los 5.4 segundos, desapareciendo rápidamente a los 6 segundos. Este comportamiento puede ser explicado porque el edulcorante empleado para las muestras (Hileret, comercial) es una mezcla de ciclamato y sacarina, dos edulcorantes artificiales no-calóricos que tienen perfiles sensoriales dinámicos similares al de la sacarosa, con un rápido tiempo de aparición y al mismo tiempo un rápido tiempo de extinción explicando la corta percepción de la sensación (DuBois, 2012; DuBois y Prakash, 2012; DuBois y Lee, 1983). La diferencia de dulzor entre las muestras puede ser claramente atribuida a la mayor proporción de edulcorante en la muestra 40-5 (25% más respecto a la muestra 35-4). Esta diferencia de respuesta podría deberse a que la sacarina, particularmente, tiene una elevada pendiente en la curva respuesta/concentración, lo que significa que pequeños aumentos en la concentración de este compuesto inciden de manera sustancial e inmediata sobre la respuesta de este estímulo (DuBois, 2012).

Respecto al aroma, la diferencia a favor de la muestra 40-5 se mantiene por más tiempo (14 a 17 segundos), aunque ambas muestras contienen igual

cantidad de aroma a frambuesa, esta diferencia nuevamente puede ser atribuida a la mayor proporción de polvo de vino empleado en la preparación de la primera muestra. Una mayor cantidad de polvo no solo implica una mayor cantidad de fenoles por muestra, también significa una mayor proporción de materia seca; una mezcla de multi-componentes que puede contener algunos volátiles que no se hayan perdido durante la liofilización.

5.1.2. Curvas DTE (Dominancia Temporal de Emociones)

Las curvas DTE (Dominancia Temporal de Emociones) de las **Figuras 5.4. y 5.5.**, muestran diferencias en el perfil dinámico de las emociones de las dos muestras analizadas. Si bien de forma individual las curvas permiten observar dominancia para las mismas cuatro emociones, en las dos muestras (*placentero*, *natural*, *interesado*, *satisfecho*) hay una clara diferencia en la secuencia de aparición y el tiempo de mantenimiento de cada una de estas emociones. De esta forma, la muestra 40-5 tiene un perfil temporal de emociones claramente marcado por la emoción *placentero*, mientras que en la muestra 35-4 el perfil de emociones se encuentra marcado por la emoción *natural*.

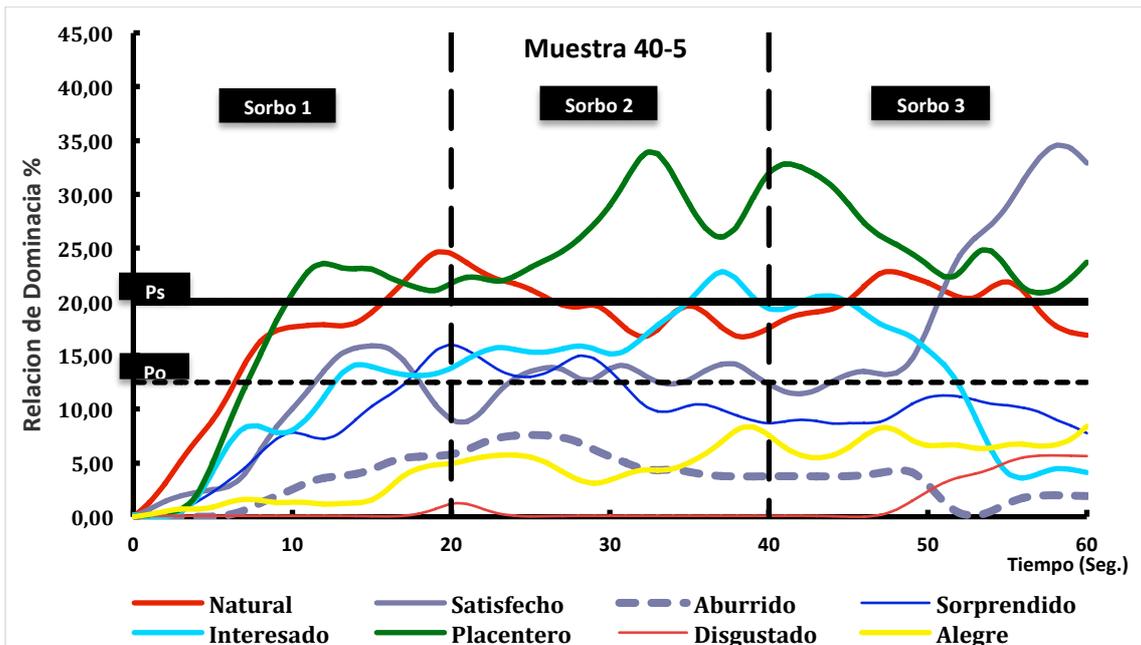


Figura 5.4. Perfil Dominancia Temporal de Emociones muestra 40-5

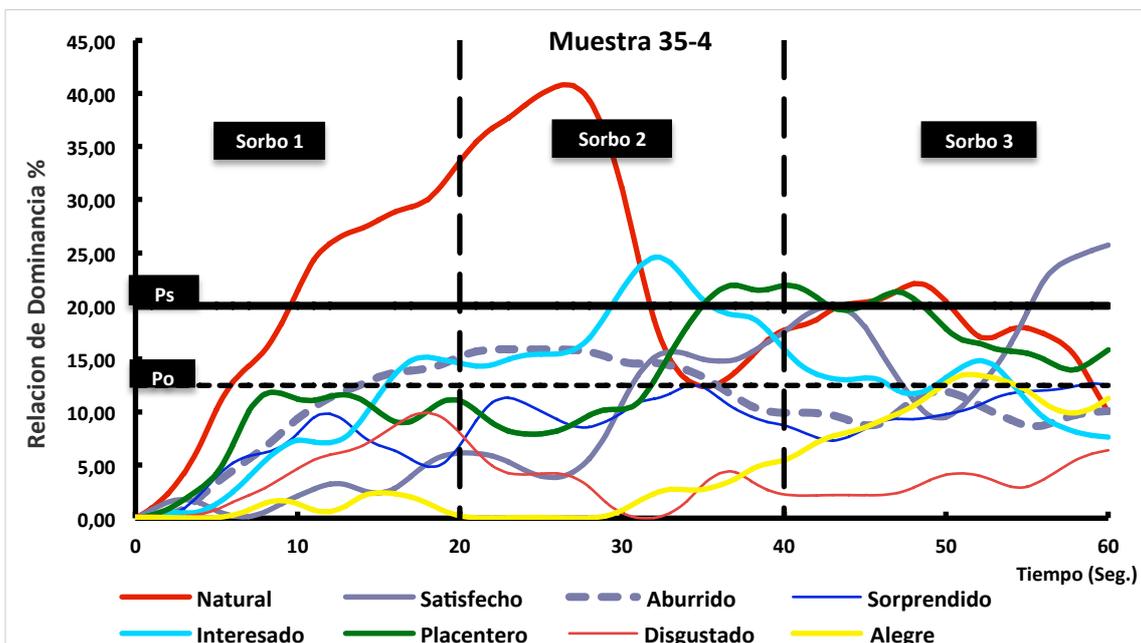


Figura 5.5. Perfil Dominancia Temporal de Emociones muestra 35-4

En cuanto a la diferencia entre las dos muestras se puede ver claramente que hay un perfil de emociones de bienestar que identifica y diferencia la muestra 40-5. La Figura 5.6. permite visualizar que desde el primer sorbo la

emoción *satisfecho* seguida de la emoción *placentero* se mantiene por un mayor período de tiempo en la muestra 40-5. Por su parte, la muestra 35-4 se encuentra diferenciada por tres emociones que emergen a lo largo de todo el perfil emocional, *disgustado*, *natural* y *aburrido*. Dos de estas emociones son emociones de no-bienestar (*disgustado*, *aburrido*). Estos resultados fueron similares a los encontrados por Jager y col. (2014) quienes evaluaron chocolates con alto contenido de cacao (70 y 85 %) frente a chocolates saborizados (arándano, naranja y menta). Los que tuvieron menor aceptación (menor puntaje en una escala de hedónica de 9-puntos) tuvieron un perfil emocional dinámico asociado a emociones negativas como aburrido y agresivo. Mientras que los chocolates que tuvieron mayor aceptación presentaron un perfil dinámico emocional marcado por emociones positivas (interesado, feliz, amoroso). Referente a la emoción *natural*, que puede ser considerada como una emoción neutra, se puede establecer que para una proporción de consumidores (41%) la muestra 35-4 está dentro de un rango de aceptación normal durante el segundo sorbo (25-27,6 segundos).

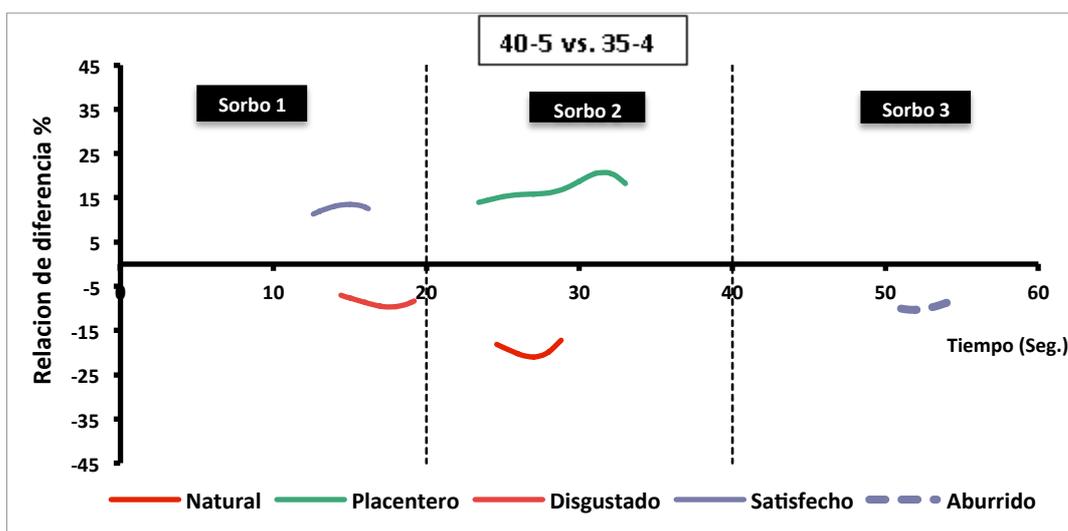


Figura 5.6. Diferencia de los perfiles de emociones de las dos muestras evaluadas.

5.2. Curvas de Aceptación Temporal Múltiple Sorbo (ATMS)

Ensayos Preliminares

Por la misma razón expuesta en la **sección 5.1.**, únicamente se trabajó con dos muestras (40-5 y 35-4). Los máximos niveles de aceptación fueron registrados entre los 20 a 30 segundos después de consumir la muestra. Los resultados mostraron que la muestra con menor cantidad de edulcorante y PVE, presenta una aceptación máxima (I_{max}) a los 9 segundos y luego disminuía lentamente. Por otra parte, la muestra con mayor cantidad de edulcorante y PVE presentó una aceptación máxima (I_{max}) cerca de los 13 segundos, valor que se mantenía hasta aproximadamente los 20 segundos y luego disminuía. En consecuencia, se seleccionó un tiempo de 20 segundos entre cada sorbo, considerado como suficiente para mantener el nivel de aceptación media de las muestras (calificaciones por ≥ 5).

Curvas Aceptación Temporal Múltiple Sorbo (ATMS)

El análisis visual de las curvas individuales con $I_{max} > 5$ (gusta) y $I_{max} \leq 5$ (disgusta o neutral) mostró para la muestra 40-5 que 32 mujeres (91,4%) y 34 hombres (89,5%) presentaron $I_{max} > 5$. En consecuencia, se descartaron los sujetos con el rango de $I_{max} \leq 5$, los cuales también mostraron los más bajos valores de aceptación para la muestra 35-4. Esta selección de curvas reduce la variabilidad y aumenta el consenso entre los participantes, ya que sólo se consideran aquellos consumidores que les gusta la bebida. En el caso de la muestra 35-4, el análisis visual de las curvas individuales mostró que la mayoría de las curvas se encontraban cercanas del punto neutral. Las curvas promedio de aceptación IT (intensidad-tiempo) para los hombres y las mujeres en las dos muestras, durante los tres sorbos, se muestran en la **Figura 5.7.** y los valores medios de I_{max} y AUC para los tres sorbos de acuerdo a género y muestras se presentan en la **Tabla 5.1.** Las diferencias de aceptación entre las muestras fueron evidentes durante los tres sorbos. Estas observaciones visuales fueron estadísticamente confirmadas a través del análisis de ANOVA de los parámetros de la curva.

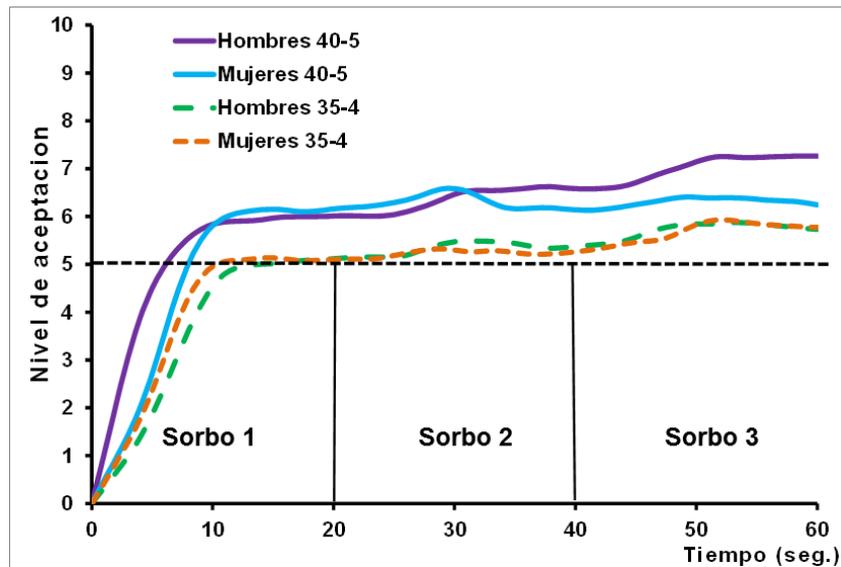


Figura 5.7. Curvas Aceptación Temporal Múltiple Sorbo (ATMS)

El análisis ANOVA sobre I_{max} mostró un efecto significativo de la muestra ($F [1, 386] = 101.39, p < 0,001, \eta^2 = 0,21$), y el sorbo ($F [2, 386] = 11,07, p < 0,001, \eta^2 = 0,06$). Ningún otro efecto o interacciones fueron significativos. El análisis del sorbo mostró menores calificaciones de aceptación en el primer sorbo comparado con los otros dos sorbos ($p_s < 0,05$; ver **Tabla 5.1.**), así como una aceptación más alta para la muestra 40-5 comparada con la 35-4.

El análisis de las AUC presentó un efecto significativo de género ($F [1, 386] = 12,33, p < 0,001, \eta^2 = 0,03$), muestra ($F [1, 386] = 113.66, p < 0,001, \eta^2 = 0,23$) y sorbo ($F [2, 386] = 109.86, p < 0,001, \eta^2 = 0,37$). Ningún otro efecto o interacciones fueron significativos. El efecto de género mostró la aceptación más alta de los hombres comparado con las mujeres; el análisis de la muestra mostró calificaciones más altas para la muestra 40-5 frente a la 35-4. Además, las diferencias entre los sorbos, mostraron una mayor aceptación desde el primero hasta el último sorbo ($p_s < 0,05$).

Tabla 5.1. Parámetros de la curva Aceptación Temporal Múltiple Sorbo (ATMS)

Género	Muestra	Sorbo	I_{max}	AUC
Hombres	40-5	1	6.0 ± 1.1	92.3 ± 19.3
		2	6.8 ± 1.1	125.3 ± 21.4
		3	7.3 ± 1.1	143.8 ± 19.8
Mujeres	40-5	1	6.1 ± 1.1	79.1 ± 17.8
		2	6.7 ± 1.3	119.2 ± 27.5
		3	6.5 ± 1.2	121.7 ± 21.3
Hombres	35-4	1	5.1 ± 1.0	66.7 ± 17.1
		2	5.5 ± 0.5	96.5 ± 15.2
		3	5.8 ± 0.9	105.2 ± 19.3
Mujeres	35-4	1	5.1 ± 1.3	60.3 ± 15.1
		2	5.3 ± 1.2	90.1 ± 20.7
		3	5.8 ± 1.6	104.3 ± 21.5

Los datos son presentados como medias (\pm Desviación estándar). El efecto significativo de género solo está presente en AUC.

5.3. Expresiones faciales: valencia, emociones básicas y unidades de acción

El software SDK FACET™ (imotions Inc., Centro de Innovación de Cambridge, Estados Unidos) permitió hacer el análisis facial de los consumidores, basado en el seguimiento de tres parámetros diferentes: Emociones básicas, Valencia y Unidades de Acción (UA-s), tal como se muestra en la **Figura 5.8**.

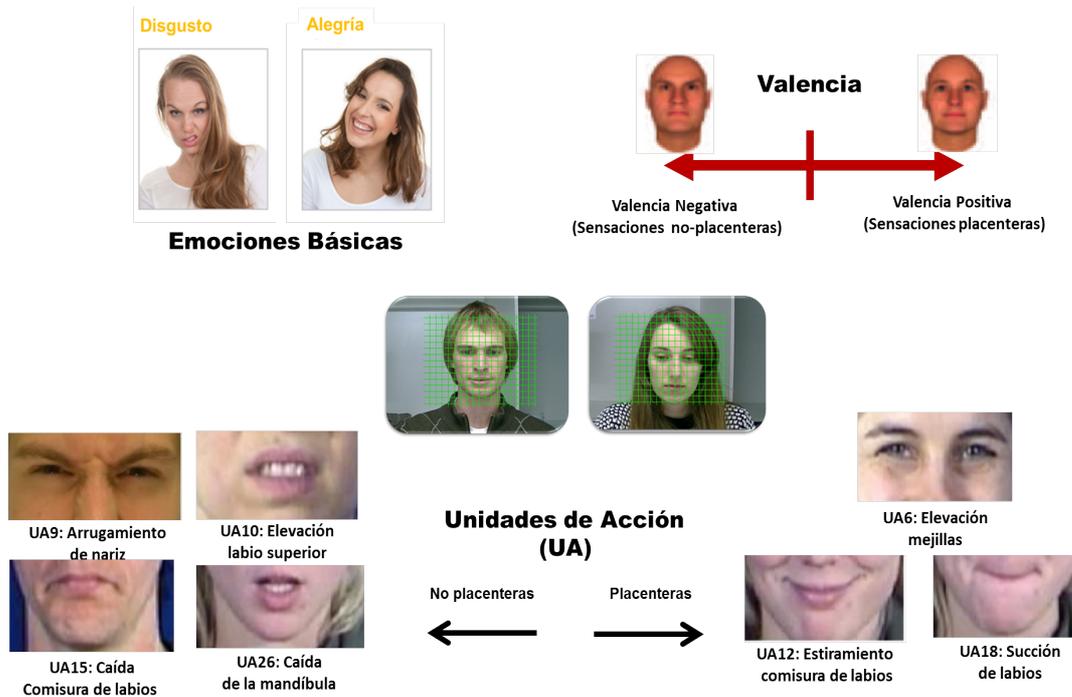


Figura 5.8. Parámetros analizados mediante el software SDK FACET™

En términos de la valencia positiva (**Figura 5.9.**), a diferencia del primer segundo ($F [2, 144] = 2,22, p = 0,11$), el análisis de los períodos 5 y 10 segundos presentó un efecto significativo debido al sorbo ($F [2, 144] = 13,32, p < 0,001, \eta^2 = 0,16$) con una mayor intensidad de la valencia positiva en el primer sorbo comparado con el tercero y una interacción género \times sorbo ($F [2, 144] = 3,06, p = 0,05, \eta^2 = 0,04$). La interacción mostró que la valencia positiva disminuye en las mujeres desde el primer hasta el tercer sorbo, así como también una menor valencia positiva en el tercer sorbo comparado con los hombres ($ps < 0,05$).

El análisis de la valencia negativa (**Figura 5.9.**) mostró un efecto significativo de género ($F [1, 72] = 5,01, p < 0,05, \eta^2 = 0,06$) en el primer intervalo de 1 segundo, con una mayor valencia negativa en las mujeres comparada con los hombres. Un efecto debido al sorbo ($F [2, 144] = 3,06, p = 0,05, \eta^2 = 0,04$) en el período de 5 segundos, con una reducción de esta valencia desde el primer y segundo sorbo hasta el tercero. Ningún otro efecto o interacciones fueron significativos en la valencia positiva y negativa ($F [2, 144] = 2,62, p = 0,08$).

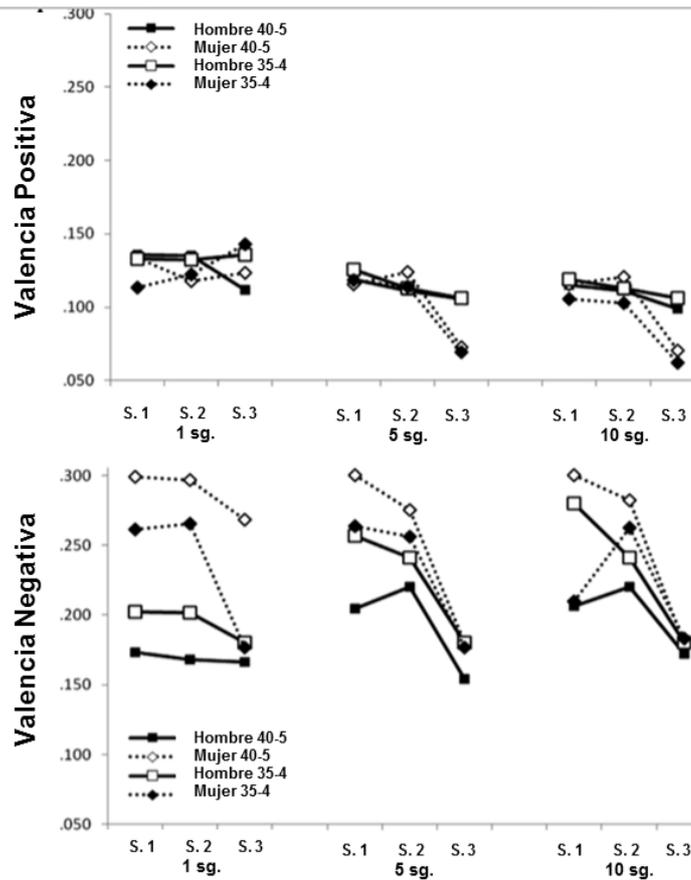


Figura 5.9. Evolución de la valencia positiva y negativa en los tres sorbos

En cuanto a las emociones básicas (ver **Tabla 5.2.**), el análisis de la alegría no reveló efectos significativos principales o interacciones ($F [2, 144] = 2,64, p = 0,08$). El análisis de disgusto reveló un efecto significativo de género durante el primer segundo ($F [1, 72] = 3,70, p = 0,05, \eta^2 = 0,05$), mostrando un mayor disgusto en las mujeres que en los hombres, y además un efecto del sorbo durante los períodos de 5 y 10 segundos ($F [2, 144] = 3,09, p < 0,05, \eta^2 = 0,04$), con mayor intensidad del disgusto en el primer sorbo frente al tercero ($p < 0,05$). Ningún otro efecto o interacciones fueron significativos.

Tabla 5.2. Emociones básicas de alegría y disgusto a lo largo de los tres sorbos

Emociones Básicas	Género	1 seg.			5 seg.			10 seg.		
		Sorbo 1	Sorbo 2	Sorbo 3	Sorbo 1	Sorbo 2	Sorbo 3	Sorbo 1	Sorbo 2	Sorbo 3
Alegría	Hombre	.014(.02)	.022(.02)	.019(.05)	.020(.05)	.018(.04)	.023(.05)	.021(.05)	.025(.04)	.019(.03)
	Mujer	.020(.02)	.018(.03)	.021(.07)	.021(.03)	.022(.04)	.016(.03)	.021(.04)	.023(.03)	.017(.03)
Disgusto	Hombre	.032(.03)	.037(.04)	.061(.09)	.055(.08)	.069(.10)	.052(.09)	.062(.10)	.069(.11)	.055(.09)
	Mujer	.066(.06)	.072(.10)	.067(.13)	.093(.12)	.075(.10)	.058(.11)	.093(.12)	.084(.11)	.061(.11)

Con respecto a las UA-s (Unidades de Acción) asociadas a estímulos agradables (**Tabla 5.3.**), el análisis de UA6 reveló un efecto significativo del sorbo en los períodos de 1, 5 y 10 segundos ($F [2, 144] = 3,52, p < 0,05, \eta^2 = 0,05$), mostrando un menor nivel de elevación de la mejilla (UA6) durante el último sorbo comparado con el segundo ($ps < 0,05$).

El análisis de UA12 mostró un efecto significativo debido al sorbo en los períodos de 5 y 10 segundos ($F [2, 144] = 4,71, p < 0,05, \eta^2 = 0,06$), con una disminución del estiramiento de la comisura del labio (UA12) en el tercer sorbo comparado con los dos primeros ($ps < 0,05$).

El análisis de UA28 sólo mostró un efecto marginalmente significativo de género en el período de 10 segundos ($F [1, 72] = 3,66, p = 0,07, \eta^2 = 0,04$), con una mayor succión de labios en los hombres en comparación con las mujeres. Ningún otro efecto o interacciones sobre las UA-s asociadas a estímulos agradables fueron significativos ($F [2, 144] = 3,18, p = 0,09, \eta^2 = 0,08$).

El análisis de las UA-s relacionadas con estímulos desagradables (**Tabla 5.3.**) mostró como UA9 y UA10 a través de los períodos 1, 5 y 10 segundos no presentaron ningún efecto o interacción significativa ($F [2, 144] = 3,20, p = 0,08, \eta^2 = 0,03$). Por el contrario, el análisis de UA26 reveló un efecto significativo debido al sorbo en el primer segundo ($F [2, 144] = 5,58, p < 0,01, \eta^2 = 0,07$), mostrando un incremento de esta unidad de acción desde el primer hasta el tercer sorbo.

Por otra parte el análisis de UA26 y UA15 en los períodos de 5 y 10 segundos exhibe un efecto significativo del sorbo ($F [2, 144] = 10,33, p < 0,001, \eta^2 = 0,12$) y una interacción de género \times sorbo ($F [2, 144] = 3,60, p = 0,05, \eta^2 = 0,05$). Esta interacción pudo verse como una menor depresión de la

comisura del labio (UA15) en las mujeres que en los hombres durante el tercer sorbo, además de una más alta intensidad de esta unidad en el segundo sorbo respecto al tercero. Ningún otro efecto o interacciones relacionados con las UA-s asociadas a estímulos desagradables fueron significativos ($F [2, 144] = 2,94, p = 0,09, \eta^2 = 0,04$).

Las asociaciones entre las emociones básicas, unidades de acción (Tablas 5.2. y 5.3.), y los registros de aceptación en las curvas de intensidad tiempo (Figura 5.1.) para los 3 sorbos en los períodos de 1, 5 y 10 segundos se analizaron de acuerdo al género. Los coeficientes de correlación de Pearson sólo mostraron una correlación significativa para los hombres entre la emoción alegría y los registros de aceptación en las curvas de intensidad-tiempo ($0.69, p = 0.039$).

Tabla 5.3. Unidades de acción a lo largo de los tres sorbos

Unidades de Acción (AU)	Género	1 seg.			5 seg.			10 seg.		
		Sorbo 1	Sorbo 2	Sorbo 3	Sorbo 1	Sorbo2	Sorbo 3	Sorbo 1	Sorbo 2	Sorbo 3
UA6 +	Hombre	.102 (.05)	.090 (.05)	.101 (.06)	.115 (.08)	.123 (.09)	.101 (.07)	.115 (.08)	.123 (.07)	.098 (.06)
	Mujer	.161 (.09)	.140 (.14)	.139 (.13)	.167 (.12)	.169 (.14)	.117 (.13)	.167 (.10)	.166 (.14)	.123 (.14)
UA12 +	Hombre	.142 (.15)	.134 (.18)	.144 (.20)	.135 (.15)	.132 (.16)	.117 (.17)	.115 (.12)	.118 (.14)	.101 (.16)
	Mujer	.184 (.22)	.155 (.20)	.160 (.17)	.156 (.18)	.154 (.20)	.106 (.16)	.155 (.18)	.155 (.19)	.114 (.19)
UA28 +	Hombre	.248 (.21)	.264 (.22)	.240 (.20)	.258 (.20)	.242 (.21)	.237 (.20)	.264 (.20)	.259 (.24)	.320 (.29)
	Mujer	.218 (.16)	.216 (.19)	.226 (.22)	.221 (.21)	.227 (.20)	.167 (.25)	.217 (.21)	.222 (.21)	.172 (.16)
UA9 -	Hombre	.259 (.23)	.281 (.25)	.292 (.26)	.280 (.27)	.274 (.27)	.240 (.23)	.276 (.27)	.260 (.27)	.229 (.22)
	Mujer	.252 (.26)	.270 (.28)	.275 (.29)	.247 (.25)	.266 (.27)	.142 (.14)	.250 (.24)	.277 (.27)	.145 (.14)
UA10 -	Hombre	.293 (.27)	.276 (.27)	.277 (.27)	.278 (.27)	.295 (.18)	.256 (.18)	.275 (.17)	.294 (.18)	.255 (.18)
	Mujer	.248 (.25)	.241 (.24)	.209 (.20)	.268 (.15)	.252 (.15)	.258 (.20)	.276 (.16)	.256 (.15)	.216 (.19)
UA15 -	Hombre	.393 (.22)	.413 (.24)	.457 (.25)	.385 (20)	.401 (.21)	.359 (.23)	.382 (.19)	.401 (.20)	.358 (23)
	Mujer	.385 (.21)	.401 (.21)	.401 (.22)	.342 (.18)	.375 (.19)	.223 (.24)	.343 (.18)	.374 (.18)	.218 (.21)
UA26 -	Hombre	.442 (.14)	.441 (.14)	.447 (.16)	.417 (.12)	.426 (.12)	.401 (.16)	.428 (.13)	.438 (.12)	.406 (.18)
	Mujer	.438 (.17)	.446 (.17)	.482 (.16)	.437 (.17)	.453 (.16)	.274 (.23)	.437 (.17)	.460 (.17)	.276 (.26)

Los resultados del presente estudio muestran que la modalidad ATMS permite ver los cambios temporales en la aceptación de la bebida. Los parámetros de las curvas ATMS analizados (Imax y AUC) presentan variación a través de los sucesivos sorbos.

De la misma forma, la medida implícita de la aceptación vía expresiones faciales también mostró cambios a través de los sucesivos sorbos. En este

caso la valencia negativa, emoción básica de disgusto y UA-s (UA 26 y UA 15) mostraron una significativa disminución desde el primer sorbo hasta el tercero. Además para valencia positiva y las UA-s relacionadas con sensaciones placenteras-(UA6 y UA12) se encontró el mismo comportamiento durante los 3 sorbos, pero con menor intensidad. Esto coincide con hallazgos de Horio (2003), Weilland y col. (2010), de Wijk y col. (2012), y Danner y col. (2014), que encontraron que las reacciones faciales negativas fueron significativamente más intensas que las positivas. Estos cambios en la aceptación pueden estar asociados con pequeñas diferencias en los perfiles sensoriales de diferentes productos, que sólo se hacen evidentes después de repetidas degustaciones (Köster y col. 2002; Stein y col. 2003; Zandstra y col. 2004; Zorn y col. 2014).

Por otro lado, la bebida a base de vino tinto reprodujo las diferencias en percepción debidas al género encontradas y documentadas en vino tinto regular, que muestran una mayor aceptación por parte de los hombres respecto a las mujeres (Atkin, y col., 2007; Bruwer y Li, 2007; Bruwer y col., 2011). Con la medida implícita, se detectaron interesantes patrones en la aceptación debidos al género; como por ejemplo que las mujeres mostraron una mayor intensidad de la valencia negativa y una mayor sensación de disgusto durante los tres sorbos, particularmente al primer contacto con la bebida (intervalo de tiempo de 1 segundo), además de una reducción en la valencia positiva durante el último sorbo (ver **Figura 5.9.**). Estos resultados apoyan la noción de la variación de la aceptabilidad a lo largo de la experiencia de consumo, y permiten destacar la metodología de múltiples sorbos como una herramienta adecuada destinada a observar la forma en que la aceptación varía con el tiempo de una manera más cercana a una situación de consumo habitual.

En el Capítulo 4 se estudió la aceptación de la bebida en polvo a base de vino tinto, usando solamente un sorbo, es decir un único punto de medición temporal. Cuando se hizo el análisis de resultados no se encontró diferencias en la aceptación debidas al género en la escala hedónica de 9-puntos (primera escala). Solamente después de usar una segunda escala (visual análoga, VAS) como estrategia de “confirmación” se encontraron diferencias en la aceptación debidas al género. En contraposición a este comportamiento, se notaron claras

diferencias en la aceptación debidas al género cuando la reacción hedónica se monitoreo dinámicamente usando medidas explícitas acumulativas (tales como el área bajo la curva ATMS), y medidas implícitas (reacciones faciales) en la modalidad de múltiples sorbos y con registros de intervalos de tiempo (ver valencia negativa, sensación de disgusto, valencia positiva y UA-s 26 y 15).

Diferentes metodologías se han adaptado para medir la aceptación en el tiempo. Kuesten y col. (2013) aplicaron el método intensidad-tiempo-múltiple- atributos (MATI) para evaluar tanto la intensidad de la aceptación como los atributos hedónicos a lo largo del tiempo. Delarue y Loescher (2004) estudiaron la dinámica de las preferencias de alimentos por medio de pruebas hedónicas con tiempos predefinidos (evaluación de la aceptación cada 1, 5 y 30 minutos), y Sudre y col. (2012) adaptaron la metodología –DTS- para investigar los aspectos temporales hedónicos. Sin embargo, estas adaptaciones metodológicas carecen de la naturaleza continua de los registros de intensidad -tiempo; además estas aproximaciones se realizaron usando un único evento para cada medida (un solo sorbo). Thomas y col. (2015) consiguieron modificar el método de Sudre y col. (2012) para capturar la naturaleza continua de la respuesta hedónica, pero también emplearon un único sorbo para realizar la evaluación. En cuanto a la metodología de múltiples sorbos, Methven y col. (2010) adaptaron el test de “aburrimento” para investigar la aceptación a lo largo del tiempo. Gracias a la naturaleza inherente de este método se hizo posible investigar la aceptación de los SNO’s (suplementos nutricionales orales) durante sorbos sucesivos.

El presente es el primer trabajo relacionado con alimentos que aborda la metodología múltiples sorbos aplicada al análisis facial. La evaluación hedónica temporal con múltiples sorbos ofrece mucha más información que la evaluación con un solo sorbo, ya que cada sorbo constituye un evento independiente. Además, el uso de los dos enfoques (medidas explícitas e implícitas) permitió observar diferentes respuestas dinámicas cuando se evaluaron tres estímulos de la bebida.

Conclusiones Parciales del Capítulo 5

La diferencia a nivel emocional entre estas dos muestras se vio mejor reflejada en los resultados del perfil emocional dinámico con ingestión de múltiples sorbos. Desde el primer sorbo, “satisfecho”, acompañada de “placentero” en el segundo sorbo marcaron el estado emocional generado en los consumidores por la muestra preferida. Durante el segundo sorbo la emoción negativa “disgustado” diferenció significativamente a la muestra de menor cantidad de edulcorante y PVE.

La evaluación de la Sensación Temporal Dominante mostró que los atributos dulzor y aroma fueron los que de manera inmediata (a los 5 segundos del primer sorbo) marcaron la diferencia entre las muestras, siendo el dulzor el atributo de mayor dominancia a lo largo de los tres sorbos.

La evaluación dinámica con la ingestión de múltiples sorbos permitió seguir la evolución de la aceptación de la bebida estudiada y detectar diferencias en la percepción debidas al género.

La medida explícita del perfil hedónico (registros de intensidad de la aceptación en función del tiempo), arrojó un perfil creciente de aceptación desde el primer hasta el tercer sorbo, siendo el primer sorbo el de mayor crecimiento, y corroborando además, la primer hipótesis en la que se suponía la preferencia de la bebida por parte de los hombres.

La medida implícita del perfil hedónico (reacciones faciales) permitió detectar diferencias entre los sorbos y el género, pero no entre las muestras. Las reacciones faciales negativas (valencia negativa y emoción de disgusto) fueron mayores en las mujeres comparadas con los hombres. Por el contrario, la reacción facial positiva (valencia positiva) fue mayor en los hombres, particularmente en el último sorbo. Estos resultados confirman la segunda hipótesis, donde se había planteado que si la bebida presentaba una preferencia superior entre los hombres, estos exhibirían emociones positivas de mayor intensidad que las mujeres. Las reacciones faciales negativas fueron siempre de mayor intensidad que las reacciones faciales positivas. El análisis individual de las Unidades de Acción (UA) proporcionó diferencias en las expresiones faciales entre los sorbos.

La valencia (positiva y negativa) y la emoción de disgusto fueron las medidas obtenidas a partir del registro de las microexpresiones faciales que permitieron encontrar diferencias debidas al género.

CONCLUSIONES

Conclusiones generales

La liofilización y la matriz encapsulante elegida permitieron obtener un polvo de vino tinto desalcoholizado fácilmente soluble en agua, con una concentración fenólica 7,1 veces mayor que su equivalente en peso de vino tinto líquido original.

El polvo de vino almacenado a 38°C no presentó apelmazamiento/caking luego de cinco meses de observación.

La composición de la matriz (maltodextrina + goma arábiga) ofreció una adecuada protección a la oxidación a la mayoría de los compuestos fenólicos estudiados durante el período de almacenaje. En efecto, el ácido gálico, catequina, epicatequina, ácido cafeico y resveratrol se mantuvieron aproximadamente constantes durante todo el período de almacenamiento a 38°C, con la actividad de agua a la salida del liofilizador (a_w 0.11). La malvidina 3-G en cambio registró una pérdida del 40% al cabo de dicho período.

El factor Q_{10} definido en la literatura como la velocidad de una reacción a una temperatura (T+10) dividido por la velocidad a la temperatura T, se utiliza mucho para indicar el efecto del aumento de temperatura en la aceleración de una reacción (Labuza, 1982). Asumiendo un moderado valor de $Q_{10} = 2$ para la degradación de los compuestos fenólicos del PVE, el período de cinco meses a 38°C sería prácticamente equivalente a un año a temperatura ambiente (25 °C).

El estudio mostró la fuerte importancia de la actividad de agua en la disminución del contenido fenólico, particularmente los antocianos. Por este motivo, el polvo de vino (o la bebida en polvo formulada) se deberá envasar con un material que sea muy buena barrera a la transmisión de la humedad ambiente.

La actividad antioxidante del PVE (medida por dos mecanismos diferentes, secuestro de radicales y oxidación lipídica) fue estable durante los 145 días de almacenamiento acelerado. La disminución de la concentración de algunos compuestos fenólicos del PVE (particularmente antocianos) durante el almacenamiento, a pesar de que la actividad antioxidante del PVE se mantenía casi constante, se puede explicar por reacciones que se dan entre los compuestos fenólicos oxidados dando lugar a la formación de nuevos

compuestos con capacidad antioxidante.

La evaluación de la aceptación de las cuatro formulaciones de la bebida, mediante medidas estáticas y dinámicas, permite concluir que el prototipo más aceptado fue el que contenía la mayor proporción de polvo de vino y edulcorante (40 gramos de polvo de vino, 5 gramos de edulcorante, 1 gramo de goma guar como espesante y 0.01 gramo de aroma a frambuesa, por cada litro de bebida).

Los métodos que permiten integrar las respuestas del panel entrenado con la de los consumidores (mapa de preferencia externo), junto con herramientas que analizan la influencia de un atributo sobre la aceptación (análisis de penalidades), además del perfil dinámico de las muestras permitieron observar que los dos atributos que más direccionan la aceptación de las muestras son el *cuerpo* y el *dulzor*.

El análisis del perfil emocional dinámico con múltiple sorbo arrojó una mejor diferenciación de las muestras estudiadas comparado con el análisis emocional estático.

El análisis del perfil de atributos dinámico con múltiple sorbo es una herramienta que permitió observar el peso temporal que tenían los atributos sobre la diferencia entre las muestras. De esta forma, se pudo establecer que el atributo *dulzor* marca una diferencia casi instantánea (aparece en un tiempo menor a 10 segundos) entre las muestras analizadas. Este tipo de información es valiosa en la medida que destaca que cualquier cambio posterior que se realice en la formulación de la bebida debe tener en cuenta el nivel y tipo de edulcorante, pues el perfil dinámico mostró la dominancia temporal del *dulzor* sobre los demás atributos.

El perfil hedónico dinámico de las muestras formuladas (mediante medidas explícitas e implícitas) proporcionó una interesante diferencia debida al género entre las muestras analizadas, que no pudo ser detectada cuando se utilizó la escala hedónica de 9-puntos.

La metodología con ingestión de múltiples sorbos que reproduce una situación más cercana al consumo habitual de una bebida, es una herramienta interesante que ofreció un tipo de información adicional que no fue detectada con las medidas estáticas. Una mejor discriminación de las muestras con el

perfil emocional dinámico, y la detección de diferencias debidas al género (auto-reportes de intensidad-tiempo y expresiones faciales) fueron dos de los principales hallazgos que ofrecen los métodos dinámicos respecto a las medidas estáticas. Esto podría explicarse posiblemente debido a que cada sorbo constituye un evento independiente.

La metodología utilizada proporcionó las herramientas suficientes para comprobar las dos hipótesis planteadas. La primera en la que se suponía la preferencia de la bebida por parte de los hombres y, la segunda que en virtud de esa preferencia los hombres exhibirían emociones positivas de mayor intensidad que las mujeres.

Es de hacer notar que hasta el momento este trabajo es el primero reportado en la literatura relacionado con alimentos y que aborda la metodología múltiples sorbos aplicada al análisis facial.

Perspectivas

A partir de los resultados obtenidos en la presente Tesis se proyecta realizar una profundización mediante la aplicación de otras técnicas complementarias. Por un lado, se observó que la evaluación de las propiedades benéficas de los compuestos fenólicos y sus metabolitos es, generalmente, realizada in vitro de forma acotada (únicamente teniendo en cuenta el mecanismo oxidante) pudiendo llevar en algunas ocasiones a conclusiones incompletas. En este contexto, se propone estudiar la actividad biológica del polvo de vino desarrollado por medio de las interacciones a nivel de absorción y utilizando modelos celulares. Esta parte se realizará en el Departamento de Metabolismo y Nutrición del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos y Nutrición (ICTAN) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid, España, a través de una beca del programa EMHE (Enhancing Mobility between Latin-America and Caribbean countries and Europe) para Estancias Posdoctorales.

Por otro lado, el análisis de las reacciones faciales mediante las filmaciones durante el consumo de la bebida a base del vino en polvo generó una extensa base de datos que requiere y amerita un análisis más detallado y

Conclusiones Generales

especializado, dada la potencialidad de la información (cruda o sin procesar) adquirida. En este sentido, en la bibliografía no se encuentra un tratamiento estandarizado respecto al análisis dinámico de expresiones faciales teniendo entonces un gran impacto el aporte que se podría generar con este estudio. Por lo tanto, se plantea un estudio integral dado que se toma en cuenta tanto la potencialidad saludable del producto como también la aceptación del consumidor.

BIBLIOGRAFIA

A

- Adolphs R. (2002). Neural systems for recognizing emotion. *Curr Opin Neurobiol.*12:169–177.
- Afaq, F., Adhami, V.M, Ahmad, N. (2003). Prevention of short-term ultraviolet B radiation-mediated damages by resveratrol in SKH-1 hairless mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 186:28-37.
- Ahn, H., Picard, R. (2014). Measuring Affective-Cognitive Experience and Predicting Market Success. *IEEE Transactions on Affective Computing*. <http://affect.media.mit.edu/pdfs/14.Ahn-Picard-TAC.pdf>
- Aitken, R. C. (1969). Measurement of feelings using visual analogue scales. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*, 62(10), 989-994.
- Albert, A., Salvador, A., Schlich, P., Fisman, S. (2012). Comparison between temporal dominance of sensations (TDS) and key-attribute sensory profiling for evaluating solid food with contrasting textural layers: Fish sticks. *Food Qual. Prefer.* 24, 111–118.
- AOAC. (1998). Official methods of analysis (16th ed.). Gaithersburg, EE.UU.
- Arnade, E.A. (2013). Measuring Consumer Emotional Response to Tastes and Foods through Facial Expression Analysis. Master Thesis. Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Arranz, S., Chiva-Blanch, G., Valderas-Martínez, P., Medina-Remón, A., Lamuela-Raventós, R. M., Estruch, R. (2012). Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients*, 4(7), 759-781.
- Atkin, T., Nowak, L., Garcia, R. (2007). Women wine consumers: information search and retailing implications. *International Journal of Wine Business Research*,19 (4):327 – 339.

- Avalos Llano, K.R., Sgroppo, S.C., Avanza, J. (2003). Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional. *FACENA*, 19: 11-19.
- Avellone, G., Di Garbo, V., Campisi, D., De Simone, R., Raneli, G., Scaglione, R., Licata, G. (2006). Effects of moderate Sicilian red wine consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis. *Eur. J. Clin. Nutr.* 60:41-47.
- Aviram, M., Fuhrman, B. (2002). Wine flavonoids protect against LDL oxidation and atherosclerosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 957:146-161.

B

- Badarinath A.V., RAo K.M., Chetty C.M.S., Ramkanth V., Rajan T.V.S., Gnanaprakash K. (2010). A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *Int. J. PharmTech* 2(2):1276–1285.
- Baltrušaitis, T. (2014). Automatic facial expression analysis. Doctoral Thesis. University of Cambridge.
- Barnard, H., Dooley, A. N., Areshian, G., Gasparyan, B. Faull, K. F. (2011). "Chemical evidence for wine production around 4000 BCE in the Late Chalcolithic Near Eastern highlands." *Journal of Archaeological Science*, 38(5): 977-84.
- Bayarri, S., Martí, M., Carbonell, I., Costell, E. (2012). Identifying Drivers of Liking for Commercial Spreadable Cheeses with Different Fat Content. *Journal of Sensory Studies*, 27: 1–11. doi: 10.1111/j.1745-459X.2011.00362.x
- Bellisle, F., Blundell, J. E., Dye, L., Fantino, M., Fern, E., Fletcher, R. J., Westerterp-Plantenga, M. S. (1998). Functional food science and behaviour and psychological functions. *The British Journal of Nutrition*, 80 Suppl 1, S173–S193.

- Berridge, K. C. (2000). Measuring hedonic impact in animals and infants. Microstructure of affective taste reactivity patterns. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24, 173–198.
- Bhandari, B. R., Howes, T. (2002). Glass transition relation to stickiness during spray drying. In: V.K. Jindal, Proceedings of the International Conference on Innovations in Food Processing Technology and Engineering of the International Conference on Innovations in *Food Processing Tech & Eng*, AIT, Bangkok, 405–418.
- Bonazzi, C., Dumoulin, E. (2011). Quality Changes in Food Materials as Influenced by Drying Processes. In: Modern Drying Technology, Volume 3: Product Quality and Formulation. *Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA*, Weinheim, Germany.
- Boushell, A. (2014). Comparing Generic Descriptive Analysis and Temporal Dominance of Sensations of Milk and Dark Chocolates and Effect of Training in Temporal Dominance of Sensations of Chocolates. Master Thesis. University of California Davis.
- Boveris, A., Valdez, L., Alvarez, S. (2002). Inhibition by wine polyphenols of peroxynitrite-initiated chemiluminescence and NADH oxidation. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 957:90-102.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., Berset, C.(1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.-Wiss. u.-Technology*, 28(1):25-30.
- Brownmiller, C., Howard, L. R., Prior, R. L. (2008). Processing and Storage Effects on Monomeric Anthocyanins, Percent Polymeric Color, and Antioxidant Capacity of Processed Blueberry Products. *Journal of Food Science*, 73(5), H72–H79.
- Bruwer, J., Li, E. (2007). Wine-Related Lifestyle (WRL) Market Segmentation: Demographic and Behavioural Factors. *Journal of Wine Research*, 18 (1):19-34.

- Bruwer, J., Saliba, A., Miller, B.F. (2011). Consumer Behaviour and Sensory Preference Differences: Implications for Wine Product Marketing. *Journal of Consumer Marketing*, 28, 5-18.
- Buera, M. P., Welti-Chanes, J., Lillford, P., Corti, H. R. (2006). Water properties of food, pharmaceutical and biological materials. *CRC, Taylor & Francis*. United States of America.
- Buera, M.P., Roos, Y., Levine, H., Slade, L., Corti, H.R., Reid, D.S., Auffret, T., Austen, C. (2011). State diagrams for improving processing and storage of foods, biological materials, and pharmaceuticals (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.*, 83(8):1567–1617.
- Büyüktuncel, E., Porgalı, E., Çolak, C. (2014). Comparison of Total Phenolic Content and Total Antioxidant Activity in Local Red Wines Determined by Spectrophotometric Methods. *Food and Nutrition Sciences*, 5(5), 1660–1667.

C

- Camussoni, G., Carnevali, E. (2004). Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino. *Invenio*, 7(013), 151-159.
- Cardello, A.V., Meiselman, H.L., Schutz, H.G., Craig, C., Given, Z., Leshner, L., Eicher, E. (2012). Measuring emotional responses to foods and food names using questionnaires. *Food Qual Prefer* 24:243–250
- Carollo, C., Presti, R., Caimi, G.. (2007). Wine, diet, and arterial hypertension. *Angiology* 58:92-96.
- Casati, C. B., Sánchez V., Baeza R., Magnani N., Evelson P., Zamora M.C. (2012). Relationships between colour parameters, phenolic content and sensory changes of processed blueberry, elderberry and blackcurrant commercial juices. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 1728-1736.

- Castilla, P., Davalos, A., Teruel, J.L., Cerrato, F., Fernandez-Lucas, M., Merino, J.L., Sanchez–Martin, C.C., Ortuno, J., Lasuncion, M.A. (2008). Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 87:1053-1061.
- Castilla, P., Echarri, R., Davalos, A., Cerrato, F., Ortega, H., Teruel, J.L., Lucas, M.F., Gomez-Coronado, D., Ortuno, J., Lasuncion, M.A. (2006). Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 84:252-262.
- Chao, C. (2007). Associations between beer, wine, and liquor consumption and lung cancer risk: A meta-analysis. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 16:2436-2447.
- Chirife, J., Fontana, A. (2007). 1. Introduction: Historical Highlights of Water Activity Research, in : "Water Activity in Foods : Fundamentals and Applications, Editors G.V. Barbosa-Cánovas, A.J. Fontana, S.J. Schmidt and T.P. Labuza
- Chopra, M., Fitzsimons, P.E., Strain, J.J., Thurnham, D.I., Howard, A.N. (2000). Nonalcoholic red wine extract and quercetin inhibit LDL oxidation without affecting plasma antioxidant vitamin and carotenoid concentrations. *Clin. Chem.* 46:1162-1170.
- Christian, J.H.B. (1981). Specific solute effect on microbial water relations. In : Water Activity : Influences on Food Quality, eds. Rockland, L.B. and Stewart, G.F., Academic Press, New York, 825-854.
- Chollet, S, Valentin, D., Abdi, H. (2014). Chapter 8: Free Sorting Task. In: Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling. *Taylor and Francis. CRC Press.*
- Cioroi, M., Musat, C. L. (2007). Investigations on the correlations between polyphenol content from red wines and their antioxidant capacity. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 4, 35–41.

- Cohn, J.F. (2006). Chapter 1: Foundations of Human Computing: Facial Expression and Emotion. *Artificial Intelligence for Human Computing*. ICMI 2006 and IJCAI 2007 International Workshops.
- Cordova, A.C., Jackson, L.S., Berke-Schlessel, D.W., Sumpio, B.E. (2005). The cardiovascular protective effect of red wine. *J. Am. Coll. Surg.* 200:428-439.
- Corrêa, S.C., Ribeiro, M.N., Pinto, J.P., Vichi, T.M., Souza, V.R., Pinheiro, A.C.M. (2015). Multiple-sip TDS correlated with acceptance test: A study about special beers. *Poster In: 11th Pangborn Sensory Science Symposium*. Gothenburg, Sweden.
- Costell, E., Tárreaga, A., Bayarri, S. (2010). Food Acceptance: The Role of Consumer Perception and Attitudes. *Chemosensory Perception*, 3(1):42-50.

D

- Danner, L., Sidorkina, L., Joechl, M., Duerrschmid, K. (2014). Make a face! Implicit and explicit measurement of facial expressions elicited by orange juices using face reading technology. *Food Quality and Preference*, 32, 167-172.
- Das, D.K., Sato, M., Ray, P.S., Maulik, G., Engelman, R.M., Bertelli, A.A., Bertelli, A. (1999). Cardioprotection of red wine: Role of polyphenolic antioxidants. *Drugs Exp. Clin. Res.* 25:115-120.
- de Gaetano, G., Di Castelnuovo, A., Donati, M.B., Iacoviello, L. (2003). The Mediterranean lecture: Wine and thrombosis—From epidemiology to physiology and back. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 33:466-471.
- de Souza, V.B., Thomazini, M., de Carvalho, J.C., Fávaro-Tindade, C.S. (2014). Effect of spray drying on the physicochemical properties and color stability of the powdered pigment obtained from vinification byproducts of the Bordo grape (*Vitis labrusca*). *Food and Bioproducts Processing*. 93, 39 – 50.
- de Wijk, R. A., Kooijman, V., Verhoeven, R. H. G., Holthuysen, N. T. E., de Graaf, C. (2012). Autonomic nervous system responses on and facial

- expressions to the sight, smell, and taste of liked and disliked foods. *Food Quality and Preference*, 26(2), 196–203.
- Delarue, J., Loescher E (2004) Dynamics of food preferences: a case study with chewing gums. *Food Quality and Preference*, 15, 771–779.
- Delarue, J., Blumenthal, D. (2015). Temporal aspects of consumer preferences. *Current Opinion in Food Science*, 3, 41-46.
- Dell’Agli, M., Busciala, A., Bosisio, E. (2004). Vascular effects of wine polyphenols. *Cardiovasc. Res.* 63:593-602.
- Desmet, P. M. A., Schifferstein, H. N. J. (2008). Sources of positive and negative emotions in food experience. *Appetite*, 50(2-3), 290–301.
- Deyse Gurak, P., Correa, M. L., Rocha-Leão, M. H. (2013). Production of Grape Juice Powder Obtained by Freeze-drying after Concentration by Reverse Osmosis. *Arch. Biol. Technol.* v, 56656(6), 1011–1017.
- Di Majo, D., La Guardia, M., Giammanco, S., La Neve, L., Giammanco, M. (2008). The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. *Food Chemistry*, 111(1), 45–49.
- Di Monaco, R., Su, Ch., Masi, P., Cavella, S. (2014). Temporal Dominance of Sensations: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 38(2). DOI: 10.1016/j.tifs.2014.04.007
- Di Monaco, R., Su, Ch., Masi, P., Cavella, S. (2014). Temporal Dominance of Sensations: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 38(2). DOI: 10.1016/j.tifs.2014.04.007.
- Diaz, B., Gomes, A., Freitas, M., Fernandes, E., Nogueira, D. R., Gonzalez, J., Parajo, J. C. (2012). Valuable Polyphenolic Antioxidants from Wine Vinasses. *Food and Bioprocess Technology*, 5(7), 2708–2716.
- Dijksterhuis, G.B., Piggott, J.R. (2000). Dynamic methods of sensory analysis. *Trends Food Sc. Techno.* 11: 284-290.

Dohadwala, M.M., Vita, J.A. (2009). Grapes and cardiovascular disease. *J. Nutr.* 139:1788S-1793S.

Dubois, G.E. (2012). Chapter 7: Saccharin and Cyclamate. In: Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology, Second Edition.

Dubois, G.E., Prakash, I. (1983). A simple technique for the evaluation of temporal taste properties. *Chemical Senses*, 7(3-4).

Dubois, G.E., Prakash, I. (2012). Non-Caloric Sweeteners, Sweetness Modulators, and Sweetener Enhancers. Review of Food Science and Technology, 3(1):353-380.

E

EFSA, European Food Safety Authority. (2010). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. http://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/scientific_output/files/main_documents/1459.pdf.

Ekman, P., Friesen, W. V. (1978). *Facial action coding system: A technique for measurement of facial movement*. Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press.

Ekman, P., Friesen, W. V., Hager, J.C. (Eds.), (2002). Facial Action Coding System [E-book]. Salt Lake City, UT: Research Nexus.

Ekman, P., Friesen, W. V., O'Sullivan, M. (1988). Smiles when lying. *Journal of Personality and Social Psychology*, 54, 414-420.

Ekman, P., Rosenberg, E. (Eds.). (2005). What the face reveals (2nd ed.). New York: Oxford University Press.

El Darra, N. (2011). Les composés phénoliques des raisins: étude du potentiel qualitatif et des procédés émergents d'extraction. Thèse du grade de Docteur. Université de Technologie de Compiègne (UTC).

Estruch, R., Sacanella, E., Badia, E., Antunez, E., Nicolas, J.M., Fernandez-Sola, J., Rotilio, D., de Gaetano, G., Rubin, E., Urbano-Marquez, A. (2004). Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: A prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers. *Atherosclerosis* 175:117-123.

F

Fang, Z., Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510–523.

Fanzone, M., Peña-Neira, A., Jofré, V., Assof, M., Zamora, F. (2010). Phenolic characterization of Malbec wines from Mendoza Province (Argentina). *J. Agr. Food Chem.*, 58(4), 2388-2397.

Fernández-Pachon, M.S., Villano, D., Troncoso, A.M., Garcia-Parrilla, M.C. (2006). Review of the different methods for the evaluation of the *in vitro* antioxidant activity of wine and study of *in vivo* effects. *Arch. Latinoam. Nutr.* 56:110-122.

Ferrari, C. C., Marconi Germer, S. P., Alvim, I. D., de Aguirre, J. M. (2013). Storage Stability of Spray-Dried Blackberry Powder Produced with Maltodextrin or Gum Arabic. *Drying Technology*, 31(4), 470-478.

Fischer, R. (2004). Automatic Facial Expression Analysis and Emotional Classification. Thesis for the degree of a Diplom Engineer. University of Applied Science Darmstadt (FHD).

Folts, J. (1998). Antithrombotic potential of grape juice and red wine for preventing heart attacks. *Pharm. Biol.* 36:21-27.

Fondo Vitivinicola Mendoza. (2009). Capitulo 8. Anexo 1. Vino y calidad de vida. http://www.fondovitivinicola.com.ar/upload_file/ca3943b189fdabc788db081e99f372e7.pdf.

Foppa, M., Fuchs, F.D., Preissler, L., Andrighetto, A., Rosito, G.A., Duncan, B.B. (2002). Red wine with the noon meal lowers post-meal blood pressure:

A randomized trial in centrally obese, hypertensive patients. *J. Stud. Alcohol* 63:247-251.

Fox, E. (2008). *Emotion Science: An Integration of Cognitive and Neuroscientific Approaches*. Palgrave MacMillan.

Frankel, E. N., Kanner, J., German, J. B., Parks, E., Kinsella, J. E. (1993) Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 341: 454–457.

Frankel, E.N., Meyer, A.S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *J. Scie. of Food and Agric.* 80: 1925-1941.

G

Galmarini, M. V., Symoneaux, R., Visalli, M., Zamora, M. C., Schlich, P. (2015). Static vs. dynamic liking in chewing gum: A new approach using a background task and a natural setting. *Food Quality and Preference*, 40, 381-386.

Galmarini, M.V., Maury, C., Mehinagic, E., Sanchez, V., Baeza, R.I, Mignot, S., Zamora, M.C., Chirife, J. (2013). Stability of Individual Phenolic Compounds and Antioxidant Activity During Storage of a Red Wine Powder. *Food Bioprocess Technol*, 6 (2), 3585-3595.

Galmarini, M.V., van Baren, C.M., Zamora, M.C., Chirife, J. (2010). Trehalose as a drying aid of fruit products : Influence on physical properties, sensory characteristics and volatile retention. In: Rosana Filip (Ed.) *Multidisciplinary Approaches on Food Science and Nutrition for the XXI Century*, Transworld Research Network, Kerala, India (in press).

Galmarini, M.V. (2009). *Estudios Sensoriales Y Físico-Químicos de Disacárido Trealosa en Relación a su uso como Ingrediente Funcional en Alimentos*. Tesis de Doctorado. Universidad de Buenos Aires.

- Garcia-Burgos, D., Zamora, M.C. (2013). Facial affective reactions to bitter-tasting foods and body mass index in adults. *Appetite*, 71 (1), 178–186.
- Giurgiulescu, L. (2008). Researches regarding the chemical and color composition of Cabernet Sauvignon wine obtaining from main world vineyard areas. *Bulletin UASVM, Agriculture*, 65, 245– 248.
- Goldberg, D.M., Garovic-Kocic, V., Diamandis, E.P., Pace-Asciak, C.R. (1996). Wine: Does the colour count? *Clin. Chim. Acta*. 246:183-193.
- González-Neves, G., Charamelo, D., Balado, J., Barreiro, L., Bochicchio, R., Gatto, G., Gil, G., Tessore, A., Carbonneau, A., Moutounet, M. (2004) Phenolic potential of Tannat, Cabernet-Sauvignon and Merlot grapes and their correspondence with wine composition. *Anal. Chim. Acta* , 513, 191-196.
- Guilford, J., Pezzuto, J. (2011). Wine and health: a review. *Am. J. Enol. Vitic.* 62 (4), 471–486.

H

- Han, X., Zheng, T., Foss, F.M., Ma, S., Holford, T.R., Boyle, P., Leaderer, B., Zhao, P., Dai, M., Zhang, Y. (2010). Alcohol consumption and non-Hodgkin lymphoma survival. *J. Cancer Surviv.* 4:101-109.
- Hanoch, Y., Wood, S., Rice, T. (2007). Bounded rationality, emotions and older adult decision making: Not so fast and yet so frugal. *Human Development*, 50(6), 333–358.
- He, S., Sun, C., Pan, Y. (2008). Review: Red Wine Polyphenols for Cancer Prevention. *Int. J. Mol. Sci.* 9, 842-853.
- Horio, T. (2003). EMG activities of facial and chewing muscles of human adults in response to taste stimuli. *Perceptual and Motor Skills*, 97(1), 289–298.
- Hukkanen, T., Pölönen, S., Kärenlampi, O., Kokko, H. (2006). Antioxidant capacity and phenolic content of sweet rowanberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 112–119.

I

Iglesias, H.A., Chirife, J. (1982). Handbook of Food Isotherms. *Academic Press, New York, USA*.

Imhof, A., Plamper, I., Maier, S., Trischler, G., Koenig, W. (2009). Effect of drinking on adiponectin in healthy men and women: A randomized intervention study of water, ethanol, red wine, and beer with or without alcohol. *Diabet. Care* 32:1101-1103.

Imhof, A., Woodward, M., Doering, A., Helbecque, N., Loewel, H., Amouyel, P., Lowe, G.D., Koenig, W. (2004). Overall alcohol intake, beer, wine, and systemic markers of inflammation in western Europe: Results from three MONICA samples (Augsburg, Glasgow, Lille). *Eur. Heart J.* 25:2092-2100.

J

Jaeger, S. R., Axten, L.G., Wohlers, M.W., Sun-Waterhouse, D. (2009). Polyphenol-rich beverages: insights from sensory and consumer science. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 2356-2363.

Jager, G., Schlich, P., Tijssen, I., Yao, J., Visalli, M., de Graaf, C., Stieger, M. (2014). Temporal dominance of emotions: Measuring dynamics of food-related emotions during consumption. *Food Quality and Preference*, 37, 87–99.

Jang, M., Cai, L., Udeani, G.O., Slowing, K.V., Thomas, C.F., Beecher, C.W., Fong, H.H., Farnsworth, N.R., Kinghorn, A.D., Mehta, R.G., Moon, R.C., Pezzuto, J.M. (1997). Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* 275:218-220.

Jiang Y., King J.M., Prinyawiwatkul W. (2014). A review of measurement and relationships between food, eating behavior and emotion. *Trends Food Sci Technol*: 1–14.doi:10.1016/j.tifs.2013.12.005.

Jimenez, J.P., Serrano, J., Taberbero, M., Arranz, S., Diaz-Rubio, M.E., Garcia-Diz, L., Goni, I., Saura-Calixto, F. (2008). Effects of grape antioxidant dietary fiber in cardiovascular disease risk factors. *Nutrition* 24:646-653.

Joosten, M.M., Beulens, J.W., Kersten, S., Hendriks, H.F. (2008). Moderate alcohol consumption increases insulin sensitivity and ADIPOQ expression in postmenopausal women: A randomised, crossover trial. *Diabetologia* 51:1375-1381.

K

Kallithraka, S., Salacha, M. I., Tzourou, I. (2009). Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, 113(2), 500–505.

Keevil, J.G., Osman, H.E., Reed, J.D., Folts, J.D. (2000). Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. *J. Nutr.* 130:53-56.

Kemp, S.E., Hollowood, T., Hort, J. (2009). Sensory Evaluation – A practical handbook. Oxford, United Kingdom. *Willey-Blackway*.

Khalloufi, S. (2001). La Température de Transition Vitreuse: Une Nouvelle Approche pour Prédire et Optimiser la Qualité des Produits Lyophilisés. Thèse du grade de Docteur. Université Laval Québec, Canada.

Khan, R.A. (2013). Détection des émotions à partir de vidéos dans un environnement non contrôlé. Thèse du grade de Docteur. Université de Lyon.

Kiemele, J., Schmidt, S., Berdine, R. (1995). Basic statistics, tools for continuous improvement (4th ed.). Colorado Springs, USA: *Air Academy Press*.

- King, S. C., Meiselman, H. L. (2010). Development of a method to measure consumer emotions associated with foods. *Food Quality and Preference*, 21 (2), 168-177
- King, S. C., Meiselman, H. L. (2010). Development of a method to measure consumer emotions associated with foods. *Food Quality and Preference*, 21, 168-177.
- Klatsky, A. L. (2015). Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today?. *J. of Int. Med.* 278: 238–250.
- Klopotek, Y., Otto, K., Bohm, V. (2005). Processing strawberries to different products alters content of vitamin C, total phenolics, total anthocyanins and antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 5640–5646.
- Knorr, D. (1998). Technology aspects related to microorganisms in functional foods. *Trends in Food Science and Technology*, 9(8-9), 295–306.
- Köster, E. P. (2007). Diversity in the determinants of food choice: A psychological perspective. *Food Quality and Preference*. 20:70–82
- Köster, E. P. (2009). Diversity in the determinants of food choice: A psychological perspective. *Food Quality and Preference*, 20(2), 70–82.
- Köster, E. P., Mojet, J. (2015). From Mood to Food and From Food to Mood: A Psychological Perspective on The Measurement of Food-Related Emotions in Consumer Research. *Food Research International*. 76 (2),180–191.
- Köster, E.P. (2003).The psychology of food choice: some often encountered fallacies. *Food Quality and Preference*, 14, 359- 373.
- Köster, E.P., Couronne, T., Léon, F., Lévy, C., Marcelino, A. S. (2002). Repeatability in hedonic sensory measurement: A conceptual exploration. *Food Quality and Preference*, 14(2), 165–176.
- Kotseridis, Y., Kallithraka, S., Kyraleou, M., Proxenina, N. Makris, D.P. (2013). Browning rate of white wines: Dependence on antioxidant activity kinetics

and changes in phenolic composition. *3rd International Symposium Ampelos 2013, Trends in world vitiviniculture development.*

Kruma, Z., Karklina, D., Cinkmanis, I., Rutkovska, O. (2010). Polyphenolic composition and free radical scavenging activity of red wines available in the Latvian market. *Chemine Technologija*, 54, 56–61.

Kubo, A., Levin, T.R., Block, G., Rumore, G.J., Quesenberry, C.P., Buffler, Jr., P., Corley, D.A. (2009). Alcohol types and sociodemographic characteristics as risk factors for Barrett's esophagus. *Gastroenterology* 136:806-815.

Kuesten, C., Bi, J., Feng, Y. (2013). Exploring taffy product consumption experiences using a multi-attribute time–intensity (MATI) method *Food Quality and Preference*, 30 (2): 260-273.

L

Labbe, D., Schlich, P., Pineau, N., Gilbert, F. Martin, N. (2009). Temporal dominance of sensations and sensory profiling: A comparative study. *Food Qual. Prefer.* 20, 216–221.

Labuza, T. P. (1982). Shelf-life dating of foods. Westport (Connecticut): *Food and Nutrition Press.*

Laguer-Lak-Hal, A.H., Andriantsitohaina, R. (2006). Red wine and cardiovascular risks. *Arch. Mal. Coeur Vaiss.* 99:1230-1235.

Langfried, A. (2013). Sensory Perception of Selected Phenolic Acids Found in Whole Grains. Master Thesis in Food Science. University of Guelph.

Lavy, A., Fuhrman, B., Markel, A., Dankner, G., Ben-Amotz, A., Presser, D., Aviram, M. (1994). Effect of dietary supplementation of red or white wine on human blood chemistry, hematology and coagulation: Favorable effect of red wine on plasma high-density lipoprotein. *Ann. Nutr. Metab.* 38:287-294.

Lawless, H. T., Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food – Principles and Practices.* (2th Ed.). London -New York: *Springer Dordrecht Heidelberg.*

- Leitch, K. A., Duncan, S. E., O'Keefe, S., Rudd, R., Gallagher, D. L. (2015). Characterizing consumer emotional response to sweeteners using an emotion terminology questionnaire and facial expression analysis. *Food Research International* 76, 283-292.
- Lenfant, F., Loret, C., Pineau, N., Hartmann, C., Martin, N. (2009). Perception of oral food breakdown. The concept of sensory trajectory. *Appetite* 52, 659–667.
- Li, N., Taylor, L.S., Mauer, L.J. (2011). Degradation Kinetics of Catechins in Green Tea Powder: Effects of Temperature and Relative Humidity. *J. Agric. Food Chem.* 59, 6082-6090.
- Lopez -Velez, M., Martinez-Martinez, F., Del Valle-Ribes, C. (2003). The study of phenolic compounds as natural antioxidants in wine. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 43:233-244.
- Lovely C, Meullenet J.F. (2009). Comparison of Preference Mapping Techniques for the Optimization of Strawberry Yogurt. *Journal of Sensory Studies.* 24(4):457–478.
- Lu, Y., Foo, L. Y. (2000). Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chemistry*, 68, 81-84.
- Lyly, M., Roininen, K., Honkapaa, K., Poutanen, K., Lahteenmaki, L. (2007). Factors influencing consumers' willingness to use beverages and ready-to-eat frozen soups containing oat β -glucan in Finland, France and Sweden. *Food Quality and Preference*, 18, 242-255.

M

- Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K., Vallis, L. V. (1989). Designs to Balance the Effect of Order of Presentation and first-order carry-over Effects in Hall Tests. *Journal of Sensory Studies*, 4: 129–148.

- Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release – a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 41: 1–21.
- Magrone, T., Candore, G., Caruso, C., Jirillo, E., Covelli, V. (2008). Polyphenols from red wine modulate immune responsiveness: Biological and clinical significance. *Curr. Pharm. Des.* 14:2733-2748.
- Mahdavi, S.A., Jafari, S.M., Ghorbani, M., Assadpoor, E. (2014). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: A review. *Dry Technol.* 32, 509–518.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Reemesy, C., Jimenez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727-747.
- Manzocco, L., Rumignani, A., Lagazio, C. (2013). Emotional response to fruit salads with different visual quality. *Food Quality and Preference*, 28, 17-22.
- Marc, F., Davin, A., Deglene-Benbrahim, L., Ferrand, C., Baccaunaud, M., Fritsch, P. (2004). Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *Médecine Sciences*, 20, 458–463.
- Mazué, F. (2011). Effets des polyphénols de vin rouge sur la prolifération cellulaire et sur le métabolisme du resvératrol. Thèse du grade de Docteur. Sciences agricoles. Université de Bourgogne.
- Mazza, G., Francis, F. J. (1995). Anthocyanins in grapes and grape products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 35(4), 341–371. <http://doi.org/10.1097/NT.0b013e31823db374>.
- Meilgaard, M., Civille, G.V., Carr, B. T. (1999). Sensory Evaluation Techniques. Third Edition. New York. *CRC Press*.
- Methven, L., Rahelu, K., Economou, N., Kinneavy, L., Ladbrooke-Davis, L., Kennedy, O., Mottram, D. S. and Gosney, M. (2010). The effect of consumption volume on profile and liking of oral nutritional supplements of

varied sweetness: sequential profiling and boredom tests. *Food Quality and Preference*, 21 (8): 948-955.

Mialon, V.S., Clark, M.R., Leppard, P. I., Cox, D.N. (2002). The effect of dietary fiber information on consumer responses to breads and “English” muffins: a cross-cultural study. *Food Quality and Preference*, 13, 1-12.

Minussi, R., Rossi, M., Bologna, L., Cordi, L., Rotilio, D., Pastore, G.; Durán, N. (2003). Phenolic compounds and total antioxidant potential of commercial wines. *Food Chem.*, 82, 409–416.

Modun, D., Music, I., Vukovic, J., Brizic, I., Katalinic, V., Obad, A., Palada, I., Dujic, Z., Boban, M. (2008). The increase in human plasma antioxidant capacity after red wine consumption is due to both plasma urate and wine polyphenols. *Atherosclerosis* 197:250-256.

Mojet, J., Dürrschmid, K., Danner, L., Jöchl, M., Heiniö, R.-L., Holthuysen, N., Köster, E. (2015). Are implicit emotion measurements evoked by food unrelated to liking?. *Food Research International*, (76), 224-232

Moon, J.K., Shibamoto, T. (2009). Antioxidant assays for plant and food components. *J. of Agric. and Food Chem.* 57:1655-1666.

Morgan, D.L., Spanish, M.T. (1984). Focus Groups: A New Tool for Qualitative Research. *Qualitative Sociology*, 7(3): 253-267.

Munin, A., Edwards-Lévy, F. (2011). Encapsulation of Natural Polyphenolic Compounds; a Review. *Pharmaceutics* (Vol. 3).

N

Naes, T., Brockhoff, P.B., Tomic, O. (2010). Statistics for Sensory and Consumer Science. Chichester-United Kingdom. *John Wiley & Sons Ltd.*

Naissides, M., Mamo, J.C., James, A.P., Pal, S. (2006). The effect of chronic consumption of red wine on cardiovascular disease risk factors in postmenopausal women. *Atherosclerosis* 185:438-445.

Nedovic, V., Kalusevica, A., Manojlovicb, V., Levica, S., Bugarskib, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia Food Science*, 1, 1806–1815.

Ng, M. L. (2013). An emotional journey: from sensory attributes to packaging and back again!. Doctoral Thesis. University of Nottingham.

Niva, M. (2006). Can we predict who adopts health-promoting foods? Users of functional foods in Finland. *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*, 50 (1), 13-24.

Njajou, O.T., Kanaya, A.M., Holvoet, P., Connelly, S., Strotmeyer, E.S., Harris, T.B., Cummings, S.R., Hsueh, W.C. (2009). Association between oxidized LDL, obesity and type 2 diabetes in a population-based cohort, the Health, Aging and Body Composition Study. *Diabet. Metab. Res. Rev.* 25:733-739.

Nurhadi, B., Andoyo, R., Indiarto, R. (2012). Study the properties of honey powder produced from spray drying and vacuum drying method. *International Food Research Journal* 19 (3): 907-912.

O

Opie, L.H., Lecour, S. (2007). The red wine hypothesis: From concepts to protective signalling molecules. *Eur. Heart J.* 28:1683-1693.

P

Pace-Asciak, C.R., Rounova, O., Hahn, S.E., Diamandis, E.P., Goldberg, D.M. (1996). Wines and grape juices as modulators of platelet aggregation in healthy human subjects. *Clin. Chim. Acta* 246:163-182.

Papamichael, C.M., Karatzi, K.N., Papaioannou, T.G., Karatzis, E.N., Katsichti, P., Sideris, V., Zakopoulos, N., Zampelas, A., Lekakis, J.P. (2008). Acute combined effects of olive oil and wine on pressure wave reflections: Another beneficial influence of the Mediterranean diet antioxidants? *J. Hypertens.* 26:223-229.

- Park, Y.K., Kim, J.S., Kang, M.H. (2004). Concord grape juice supplementation reduces blood pressure in Korean hypertensive men: Double-blind, placebo controlled intervention trial. *Biofactors* 22:145-147.
- Pellegrini, N., Pareti, F.I., Stabile, F., Brusamolino, A., Simonetti, P. (1996). Effects of moderate consumption of red wine on platelet aggregation and haemostatic variables in healthy volunteers. *Eur. J. Clin. Nutr.* 50:209-213.
- Percival, S.S. (2009). Grape consumption supports immunity in animals and humans. *J. Nutr.* 139:1801S-1805S.
- Pignatelli, P., Ghiselli, A., Buchetti, B., Carnevale, R., Natella, F., Germano G., Fimognari, F., Di Santo, S., Lenti, L., Violi, F. (2006). Polyphenols synergistically inhibit oxidative stress in subjects given red and white wine. *Atherosclerosis* 188:77-83.
- Pineau, N., de Bouillé, A. G., Lepage, M., Lenfant, F., Schlich, P., Martin, N., Rytz, A. (2012). Temporal Dominance of Sensations: What is a good attribute list? *Food Quality and Preference*, 26(2), 159-165.
1. Pineau, N., Schlich, P., Cordelle, S., Mathonnière, C., Issanchou, S., Imbert, A., Rogeaux, M., Etiévant, P., Köster, E. (2009). Temporal Dominance of Sensations: Construction of the TDS curves and comparison with time–intensity. *Food Quality and Preference*, 20(6), pp.450-455.
- Presti, R.L., Carollo, C., Caimi, G. (2007). Wine consumption and renal diseases: New perspectives. *Nutrition* 23:598-602.

R

- Radovanovic, B., Radovanovic, A. (2010). Free radical scavenging activity and anthocyanin profile of Cabernet Sauvignon wines from the Balkan region. *Molecules*, 15(6), 4213–4226.
- Rakotovao, A., Berthonneche, C., Guiraud, A., de Lorgeril, M., Salen, P., de Leiris, J., Boucher, F. (2004). Ethanol, wine, and experimental

- cardioprotection in ischemia/reperfusion: Role of the prooxidant/ antioxidant balance. *Antioxid. Redox. Signal.* 6:431-438.
- Renaud, S., de Lorgeril, M. (1992). Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *The Lancet*, 339 (8808), 1523 - 1526.
- Rizzon, L. A., Miele, A. (1997). Características analíticas dos vinhos do Brasil. In : *Analytica Scientia*, 1, Bordeaux. Livre des Resumes. Bordeaux: Federation Européenne des Sociétés Chimiques : Société Française de Chimie : *Organization Internationale de la Vigne et du Vin*, 478–481.
- Rizzon, L. A., Miele, A. (2001). Concentração de ácido tartárico dos vinhos da serra gaúcha. *Ciência Rural*, 31(5).
- Rodrigues, J.F., Junqueira, G., Gonçalves, C. S. Carneiro, J. D. S., Pinheiro, A. C. M., Nunes, C. A. (2014). Elaboration of garlic and salt spice with reduced sodium intake. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86, núm. 4: 2065-2075.
- Rolls, R.T. (2000). Précis of The Brain and Emotion. *Behav Brain Sci.* 23(2):177-234.
- Roos, Y. H. (1995). *Phase Transitions in Foods. Phase Transitions in Foods.* Elsevier. <http://doi.org/10.1016/B978-012595340-5/50000-6>.
- Roos, Y., Karel, M. (1991). Phase-Transitions of Mixtures of Amorphous Polysaccharides and Sugars. *Biotechnol. Progr.*, 7(1), 49–53.
- Roos, Y. (2009). Glass Transition Temperature and Its Relevance in Food Processing. *Annual Review of Food Science and Technology*.1: 469-496.
- Roos, Y. (2006). Chapter 3: Phase Transitions and Transformations in Food Systems. In: *Handbook of Food Engineering, Second Edition.* CRC Press.
- Rothman, L. (2007). Chapter 17: The use of just-about-right (JAR) scales in food product development and reformulation, In: *Consumer-Led Food Product Development. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition.*

Rothman, L., Parker, J. M. (2009). Just-About-Right (JAR) Scales: Design, Usage, Benefits, and Risks. ASTM Stock Number: MNL63. *ASTM International, Standards Worldwide*.

Russell, J.A., Fernández-Dols, J.M. Eds. (1997). The Psychology of Facial Expression. New York: *Cambridge Univ. Press*.

S

Sabbe, S., Verbeke, W., Deliza, R., Matta, V., Van Damm, P. (2009). Effect of a health claim and personal characteristics on consumer acceptance of fruit juices with different concentrations of açai (*Euterpe oleracea* Mart.). *Appetite*, 53(1), 84-92.

Sanchez, V., Baeza, R., Galmarini, M. V., Zamora, M. C., Chirife, J. (2011). Freeze-Drying Encapsulation of Red Wine Polyphenols in an Amorphous Matrix of Maltodextrin. *Food and Bioprocess Technology*, 6(5), 1350–1354.

Sander, D., Grandjean, D., Scherer, K.R. (2005). A systems approach to appraisal mechanisms in emotion. *Neural Networks*, 18, 317–352.

Sano, A., Uchida, R., Saito, M., Shioya, N., Komori, Y., Tho, Y., Hashizume, N. (2007). Beneficial effects of grape seed extract on malondialdehyde-modified LDL. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 53:174-182.

Scarabis, M., Florack, A., Gosejohann, S. (2006). When consumers follow their feelings: the impact of affective or cognitive focus on the basis of consumers' choice. *Psychology & Marketing*, 23(12), 1015–1034.

Schlich, P. (2007). DE LA SENSOMETRIE A L'ETUDE DES PREFERENCES ET DES COMPORTEMENTS ALIMENTAIRES. *Université de Bourgogne*.https://tel.archives_ouvertes.fr/file/index/docid/165528/fileName/HDR_Schlich.pdf.

Schlich, P., McEwan, J. A. (1992). Preference mapping – A statistical tool for the food-industry. *Sciences Des Aliments*, 12(3), 339–355.

- Schrooyen P.M.M., van der Meer R., De Kruif C.G. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60, pp 475-479.
- Scott,W.J. (1953). *Water relations of Staphylococcus aureus at 30 °C. Austr. J. Biol. Sci.*, 6 : 549-556
- Sharpe, P.C., McGrath, L.T., McClean, E., Young, I.S., Archbold, G.P. (1995). Effect of red wine consumption on lipoprotein (a) and other risk factors for atherosclerosis. *QJM* 88:101-108.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna B., Lugasi, A. (2008). Functional Food. Product Development, Marketing and Consumer Acceptance- a Review. *Appetite*, 51, 456-467.
- Soleas, G.J., Diamandis, E.P., Goldberg, D.M.. (1997). Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention. *J. Clin. Lab. Anal.* 11:287-313.
- Somoza, V., Molyneux, R.J., Chen Z.Y., Tomás-Barberán, F., Hofmann, T. (2015). Guidelines for Research on Bioactive Constituents - A Journal of Agricultural and Food Chemistry Perspective. *J Agric Food Chem.* 63(37):8103-5.
- Souquet, J. -M., Veran, F., Mané, C., Cheynier, V. (2006). Optimization of extraction conditions on phenolic yields from the different parts of grape clusters. Quantitative distribution of their proanthocyanidins. *XXIII International Conference on Polyphenols Winnipeg (Manitoba, Canada)*, 245–246.
- Stein, L. J., Nagai, H., Nakagawa, M., Beauchamp, G. K. (2003). Effects of repeated exposure and health-related information on hedonic evaluation and acceptance of a bitter beverage. *Appetite*, 40(2), 119–129.
- Stone, H., Sidel, J.L. (1993). *Sensory Evaluation Practices*. 2nd ed. *Academic Press*: San Diego.

- Stratil, P., Klejdus, B., Kuban, V. (2006). Determination of Total Content of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activity in Vegetables s Evaluation of Spectrophotometric Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 607–616.
- Stratil, P., Kubáň, V., Fojtová, J. (2008). Comparison of the phenolic content and total antioxidant activity in wines as determined by spectrophotometric methods. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(4), 242–253.
- Sudre, J., Pineau, N., Loret, C., Martin, N. (2012). Comparison of methods to monitor liking of food during consumption. *Food Quality and Preference*, 24(1), 179-189.
- Szmitko, P.E., Verma, S. (2005). Antiatherogenic potential of red wine: Clinician update. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 288:H2023-2030.

T

- Talja R. A., Roos Y.H., Jouppila K. (2003). Glass transition behaviour of binary polyols mixtures. 2003 IFT Annual Meeting, Chicago, Paper 60A-27.
- Tandale, S. R. (2007). Microencapsulation of vitamin c and gallic acid in whey protein concentrate by spray and freeze drying characterization and degradation kinetics. PhD thesis, University of Georgia, Athens, GA.
- Tang, C., Hsieh, F. Heymann, H., Huff, H.F.(1999). Analyzing and correlating instrumental and sensory data: A multivariate study of physical properties of cooked wheat noodles. *Journal of Food Quality*, 22: 193–211.
- Taylor, D.E., Pangborn, R.M. (1990). Temporal aspects of hedonics responses. *Journal of Sensory Studies* 4, 241-247.
- Temporal Dominance of Sensations: A review, Trends in Food Science & Technology (2014),<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.04.007>
- Tonon, R. V., Brabet, C., Hubinger, M. D. (2010). Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice

produced with different carrier agents. *Food Research International*, 43(3), 907–914.

Troller, J.A., Christian, J.H.B. (1978). "Water Activity and Food", Academic Press, New York.

Tsang, C., Higgins, S., Duthie, G.G., Duthie, S.J., Howie, M., Mullen, W., Lean, M.E., Crozier, A. (2005). The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers. *Br. J. Nutr.* 93:233-240.

Tuorila. H., Cardello, A.V. (2002). Consumer responses to an off-flavor in juice in the presence of specific health claims. *Food Quality and Preference*, 13, 561-569

U

Urala, N., Arvola, A., Lahteenmaki, L. (2003). Strength of health-related claims and their perceived advantage. *International Journal of Food Science and Technology*, 38, 815–826.

Urala, N., Lahteenmaki, L. (2007). Consumers' changing attitudes towards functional foods. *Food Quality and Preference*, 18, 1–12.

Ursini, F., Sevanian, A. (2002). Wine polyphenols and optimal nutrition. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 957:200-209.

V

van Golde, P.H., van der Westelaken, M., Bouma, B.N., van de Wiel, A. (2003). Characteristics of piraltin, a polyphenol concentrate, produced by freeze-drying of red wine. *Life Sciences* 74:1159 – 1166

Van Leeuw, R., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O., Dommes, J. (2014). Antioxidant capacity and phenolic composition of red wines from various grape varieties: Specificity of Pinot Noir. *Journal of Food Composition and Analysis*, 36, 40–50.

Vartanian L.R., Schwartz M.B., Brownell K.D. (2007). Effects of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Public Health*. 97(4):667–675.

Vazquez-Agell, M. (2007). Inflammatory markers of atherosclerosis are decreased after moderate consumption of cava (sparkling wine) in men with low cardiovascular risk. *J. Nutr.* 137:2279-2284.

Verbeke, W. (2005). Consumer Acceptance of Functional Foods: Socio-demographic, Cognitive and Attitudinal Determinants. *Food Quality and Preference*, 16, 45-57.

Villanueva, N. D. M., Da Silva, M. A. A. P. (2009). Performance of the nine-point hedonic, hybrid and self-adjusting scales in the generation of internal preference maps. *Food Quality and Preference*, 20, 1–12.

W

Weiland, R., Ellgring, H., Macht, M. (2010). Gustofacial and olfactofacial responses in human adults. *Chemical Senses*, 35 (9), 841-853.

Wettasinghe, M., Shahidi, F. (1999). Evening Primrose Meal: A Source of Natural Antioxidants and Scavenger of Hydrogen Peroxide and Oxygen-Derived Free Radicals. *J. of Agric. and Food Chem.*47:1801-1812.

Whelan, A.P., Sutherland, W.H., McCormick, M.P., Yeoman, D.J., de Jong, S.A., Williams, M.J. (2004). Effects of white and red wine on endothelial function in subjects with coronary artery disease. *Intern. Med. J.* 34:224-228.

Z

- Zamora, M. C., Guirao, M. (2004). Performance comparison between trained assessors and wine experts using specific sensory attributes. *J. Sens. Studies*. 19, 530-545.
- Zandstra, E. H., Weegels, M. F., Van Spronsen, A. A., Klerk, M. (2004). Scoring or boring? Predicting boredom through repeated in-home consumption. *Food Quality and Preference*, 15(6), 549–557.
- Zern, T.L., Wood, R.J., Greene, C., West, K.L., Liu, Y., Aggarwal, D., Shachter, N.S., Fernandez, M.L. (2005). Grape polyphenols exert a cardioprotective effect in pre - and postmenopausal women by lowering plasma lipids and reducing oxidative stress. *J. Nutr.* 135:1911-1917.
- Zorn, S., Alcaire, F., Vidal, L., Giménez, A., Ares, G. (2014). Application of multiple-sip temporal dominance of sensations to the evaluation of sweeteners. *Food Quality and Preference*, 36, 135–143.

ANEXOS

Anexo I

Desarrollo de una nueva bebida

Nombre: _____	Edad: _____
email: _____	Teléfono: _____

Indique el número de la muestra que está probando:

Muestra: _____

Por Favor pruebe el producto, y responda las siguientes preguntas, asegúrese de tomar al menos la mitad del producto, para que sea capaz de formarse una opinión.

1. a.) Indique cuánto le gusta o le disgusta esta bebida en general

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

|

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta

Poco _____ mucho

2. a. Que fue lo que le gustó del producto?

2. b. Que fue lo que no le gustó del producto?

Seleccione las palabras que describen cómo se siente luego de probar la bebida

Activo	Contento	Placentero
Innovativo	Bueno	Sorprendido
Afectuoso	Natural	Tranquilo
Agresivo	Culpable	Satisfecho
Aburrido	Feliz	Seguro
Calmo	Interesado	Estable
Atrevido	Alegre	Manso
Disgustado	Informal	Tierno
Ansioso	Liviano	Comprensivo
Enérgico	Triste	Cálido
Entusiasta	Animado	Entero
Libre	Pacífico	Enojado
Neutral	Encantado	Preocupado

Evalúe el Producto sobre las siguientes características, usando la escala que se encuentra debajo de cada pregunta.

Piense específicamente acerca del aspecto que presenta la bebida

3. a) Indique cuánto le gusta o le disgusta la **APARIENCIA GLOBAL** de este producto?

Me gusta extremadamente.....	<input type="checkbox"/>
Me gusta mucho.....	<input type="checkbox"/>
Me gusta moderadamente.....	<input type="checkbox"/>
Me gusta solamente un poco.....	<input type="checkbox"/>
Ni me gusta ni me disgusta.....	<input type="checkbox"/>
Me disgusta solamente un poco.....	<input type="checkbox"/>
Me disgusta moderadamente.....	<input type="checkbox"/>
Me disgusta mucho.....	<input type="checkbox"/>
Me disgusta extremadamente.....	<input type="checkbox"/>

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta la **APARIENCIA GLOBAL**

Poco mucho

4. El **COLOR** de esta bebida es tal cual como a mí me gusta?

Totalmente de acuerdo	<input type="checkbox"/>
Un poco de acuerdo.....	<input type="checkbox"/>
Ni de acuerdo ni en desacuerdo	<input type="checkbox"/>
Un poco en desacuerdo.....	<input type="checkbox"/>
Totalmente en desacuerdo	<input type="checkbox"/>

5. Como **DESCRIBE** el **CUERPO/ VISCOSIDAD** de la bebida que consumió?
(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

- | | |
|----------------------------|--------------------------|
| Excesivamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Demasiado viscosa..... | <input type="checkbox"/> |
| CUERPO OPTIMO | <input type="checkbox"/> |
| Un poco diluida..... | <input type="checkbox"/> |
| Demasiado diluida..... | <input type="checkbox"/> |

Plense específicamente acerca de la frescura de la bebida que consumió.....

6. a) Cuanto le **GUSTA** o le **DISGUSTA** la **FRESCURA** de este producto

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

b) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta la **FRESCURA**

_____ Poco mucho

7. a) Cuanto le **GUSTA** o le **DISGUSTA** el **AROMA** de este producto

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta el **AROMA**

_____ Poco mucho

8. Que tan Natural/Artificial le parece el **AROMA** de la bebida
(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| Muy Natural..... | <input type="checkbox"/> |
| Algo Natural..... | <input type="checkbox"/> |
| Poco Natural..... | <input type="checkbox"/> |
| Un poco Artificial..... | <input type="checkbox"/> |
| Demasiado Artificial..... | <input type="checkbox"/> |

Piense específicamente acerca del sabor de la bebida que consumió.....

9. a) Cuanto le **GUSTA** o le **DISGUSTA** el **SABOR** de este producto

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta el **SABOR**

Poco mucho

10. Que tan Natural/Artificial **DESCRIBE** el **SABOR** de la bebida?
(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| Muy Natural..... | <input type="checkbox"/> |
| Algo Natural..... | <input type="checkbox"/> |
| Poco Natural..... | <input type="checkbox"/> |
| Un poco Artificial..... | <input type="checkbox"/> |
| Demasiado Artificial..... | <input type="checkbox"/> |

11. a) Cuanto le **GUSTA** o le **DISGUSTA** el **DULZOR** de este producto

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta el **DULZOR**

Poco _____ mucho

12. a) Cuanto le **GUSTA** o le **DISGUSTA** el **ACIDEZ** de este producto

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta la **ACIDEZ**

Poco _____ mucho

13. a) Cuanto le **GUSTA** o le **DISGUSTA** la **ASTRINGENCIA** (Sequedad/ lengua de gato) de este producto

- | | |
|------------------------------------|--------------------------|
| Me gusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me gusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Ni me gusta ni me disgusta..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta solamente un poco..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta moderadamente..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta mucho..... | <input type="checkbox"/> |
| Me disgusta extremadamente..... | <input type="checkbox"/> |

b.) Marque sobre la escala cuánto cree que le gusta la **ASTRINGENCIA**

Poco _____ mucho

14. Percibió algún tipo **REGUSTO** después que probó la bebida?
(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

- | | |
|---------|--------------------------|
| Si..... | <input type="checkbox"/> |
| No..... | <input type="checkbox"/> |

15. Como PERCIBIO el REGUSTO?

(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

Agradable.....
 Desagradable.....

16. Volvería a CONSUMIR esta bebida?

(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

Si la volvería a consumir.....
 Probablemente la consumiría
 No lo sé.....
 Probablemente NO la consumiría
 NO la consumiría

17. COMPRARIA esta bebida?

(Marque solamente una X sobre el que usted considere)

Si la compraría.....
 Probablemente la compraría
 No lo sé.....
 Probablemente NO la compraría
 NO la compraría

ENJUÁGUESE BIEN LA BOCA, espere unos minutos para continuar con la próxima muestra.