



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de máster en Calidad, Seguridad y Tecnología de los Alimentos

Explotación del aroma potencial de frutas autóctonas aragonesas mediante evaluación
químico-sensorial

Exploitation of the potential aroma of autochthonous Aragonese fruits through
sensochemical evaluation

Autor/es
Blanca Torres Callejero

Director/es
Mónica Bueno Fernández, Arancha de la Fuente Blanco

Facultad de Veterinaria
2022-2023

Dedicatorias

A mis tutoras, Mónica y Arancha, por su paciencia, apoyo y trabajo durante todo el proceso, y, sobre todo, por todo lo que he aprendido de ellas en esta etapa, tanto a nivel profesional como personal.

A todos mis compañeros y compañeras del LAAE, por su amabilidad y disponibilidad para ayudar cada vez que lo necesité.

RESUMEN

El sabor de las manzanas (gusto y aroma) es una característica distintiva de esta fruta y su aroma está asociado a moléculas volátiles odorantes y a precursores del aroma. Al someter estos precursores a un tratamiento de hidrólisis ácida, se consiguen romper los enlaces glicosídicos, permitiendo la liberación de las agliconas volátiles y, por tanto, consiguiendo más aroma. En este trabajo se estudian los tiempos óptimos de hidrólisis y los perfiles de aroma potencial de 10 variedades de manzanas, tanto comerciales (Esperiega, Galaxy y Golden Smothe), como autóctonas aragonesas (MA-056, MA-109, MA-178, MA-184, MA-230, MA-263, MA-296). Este estudio revela que existen precursores del aroma en la pulpa de manzana. Asimismo, se pueden observar diferencias en el perfil del aroma potencial de las manzanas autóctonas y comerciales. Todas las variedades comerciales destacan por los atributos “especiado” y “fruta compotada”, en cambio, las variedades autóctonas destacan por diferentes atributos, lo cual demuestra la diversidad aromática de estas variedades de manzana y podría suponer una revalorización tecnológica de su pulpa. Se ha observado como las variedades MA-056 y MA-178 destacan por tener mayor intensidad en el atributo “fruta compotada”, la variedad MA-263 en el atributo “fruta blanca” y las variedades MA-184 y MA-230 en el atributo “miel”.

ABSTRACT

The flavor of apples (taste and aroma) is a distinctive characteristic of this fruit and its aroma is associated with volatile odorant molecules and aroma precursors. By subjecting these precursors to an acid hydrolysis treatment, the glycosidic bonds are broken, allowing the release of volatile aglycones and, therefore, achieving more aroma. In this research, the optimal hydrolysis times and potential aroma profiles of 10 varieties of apples are studied, both commercial (Esperiega, Galaxy and Golden Smothe) and autochthonous Aragonese varieties (MA-056, MA-109, MA-178, MA -184, MA-230, MA-263, MA-296). This study reveals that aroma precursors could be find in apple pulp. Furthermore, differences can be observed in the potential aroma profile of autochthonous and commercial apples. All the commercial varieties stand out for their "spiced" and "dried fruit" attributes, instead, the autochthonous varieties stand out for different

attributes, which demonstrates the aromatic diversity of these apple varieties and could mean a technological re-valorization of its pulp. It has been observed how MA-056 and MA-178 varieties stand out for having greater intensity in "dried fruit " attribute, MA-263 variety in "white fruit" attribute and MA-184 and MA-230 varieties in the attribute "honey".

ÍNDICE

1.	Introducción	5
2.	Objetivos	7
3.	Materiales y métodos	8
3.1.	Materiales y reactivos.....	8
3.2.	Muestras	9
3.2.1.	Obtención del extracto acuoso de precursores	10
3.2.2.	Preparación de reconstituidos.....	11
3.2.3.	Condiciones de hidrólisis ácida de los reconstituidos	12
3.2.4.	Optimización de las condiciones del proceso.....	12
3.2.5.	Preparación de los hidrolizados del estudio de las diferentes variedades	13
3.3.	Análisis sensorial.....	14
3.3.1.	Panelistas	14
3.3.2.	Entrenamiento del panel.....	14
3.3.3.	Elección de descriptores.....	16
3.3.4.	Evaluación sensorial de la concentración óptima del extracto acuoso de precursores en el reconstituido	16
3.3.5.	Evaluación del tiempo óptimo de hidrólisis	17
3.3.6.	Análisis descriptivo de las diferentes variedades	18
4.	Resultados y discusión	19
4.1.	Elección de descriptores.....	19
4.2.	Optimización concentración del extracto acuoso de precursores en el reconstituido ..	20
4.3.	Optimización del tiempo de hidrólisis.....	21
4.4.	Análisis descriptivo de las diferentes variedades	27
5.	Conclusiones	34
6.	Bibliografía	35
7.	ANEXOS.....	37

1. Introducción

La manzana es la tercera fruta más producida y consumida en todo el mundo, siendo China el mayor productor actual. España ocupa el décimo lugar a nivel europeo y sus principales áreas productoras se encuentran en las regiones de Cataluña y Aragón. La variedad más cultivada en nuestro país es “Golden Delicious”, ya que supone el 45% de la producción a nivel nacional (Martínez et al, 2020).

A pesar de que la cuenca del Ebro (Noreste de España) sea la mejor zona productora de manzanas en España (con un 64% de la producción total de manzanas), en las tres últimas décadas la producción nacional ha disminuido un 50%. Entre las principales razones de este descenso se encuentran el cambio climático y la actual baja demanda del mercado. A esto hay que añadir que los agricultores españoles optaron por trabajar con cultivos que no son autóctonos (con variedades como: “Golden”, “Gala”, “Fuji”, “Red Delicious”, “Reinette” y “Granny Smith”), en lugar de otras variedades locales que están mejor adaptadas al medio (Reig et al, 2015).

El sabor es una de las características más importantes y distintivas de las manzanas, y está determinado tanto por el gusto como por el aroma (Espino-Díaz et al, 2016). El aroma, en frutas en general, está asociado a dos tipos de compuestos (si nos referimos al estado en el que se encuentran en la fruta): moléculas libres volátiles u odorantes y precursores del aroma. Por un lado, las moléculas libres y odorantes se perciben directamente al oler el fruto. Dentro de este grupo se han encontrado más de 300 compuestos volátiles en manzanas frescas, incluidos ésteres, alcoholes, aldehídos y ácidos, aunque solo 15-20 de ellos contribuyen significativamente a formar el aroma típico de la manzana (Yang et al, 2021). Por otro lado, los precursores del aroma inicialmente no son odorantes, pero bajo ciertas condiciones pueden dar lugar a moléculas odorantes, es decir, necesitan un cambio químico para que se liberen los compuestos aromáticos. Concretamente, estos precursores están formados por una glicona (fracción de azúcar) unida a una aglicona (molécula volátil) mediante un enlace O-glicosídico. Este enlace se puede romper por acción de enzimas glucosidasas o en un medio con pH ácido (Salinas et al., 2012). A veces, la aglicona es directamente un compuesto aromático (aroma), pero en muchos otros casos, es una molécula relacionada que solo después de diferentes reordenamientos químicos espontáneos pero lentos formará el compuesto aromático (Waterhouse et al. 2016).

La mayoría de los precursores del aroma que han sido identificados, sobre todo en frutas como la uva, son precursores glicosídicos de monoterpenos o norisoprenoides C13, donde las formas libres de la aglicona están relacionadas con el aroma de ciertas variedades de uva, como por ejemplo la Gewürztraminer. En algunas variedades existe una transformación de los monoterpenos glicosídicos a agliconas volátiles, lo que ocurre durante la fermentación alcohólica, donde una parte de los precursores son degradados por las levaduras y transformados en aroma libre (Tominaga et al, 1989). Además, podemos encontrar otros compuestos como los tioles, que también son liberados de precursores no volátiles durante la fermentación alcohólica a causa de la actividad enzimática de la beta-liasa en las levaduras (Ronald et al, 2010).

La hidrólisis producida por la actividad enzimática puede ser muy interesante ya que es selectiva y específica a algunas agliconas (de la Hoz et al, 2014), sin embargo, la hidrólisis ácida permite liberar todas las agliconas volátiles, por lo que si lo único que se busca es potenciar el aroma de ciertas frutas, este tipo de hidrólisis sería la mejor opción (Salinas et al, 2012). Esta hidrólisis ácida requiere de un pH bajo, temperaturas elevadas y condiciones de anoxia estricta para que se hidrolicen estos precursores glicosídicos (Alegre et al, 2020) y, por tanto, se liberen las agliconas volátiles y se obtenga más aroma. Sin embargo, las altas temperaturas también podrían producir la pérdida de una parte de las moléculas inicialmente volátiles, como por ejemplo el geraniol o el linalol (de la Hoz et al, 2014).

Estudios anteriores han demostrado la presencia de estos precursores del aroma en el zumo de manzana (De Torres Frago, 2021), sin embargo, no se ha estudiado la presencia de este aroma potencial en la pulpa de la manzana, ni se sabe si estos precursores son iguales o distintos, pudiendo existir una localización preferente para algunos de ellos. Hasta el momento se han propuesto muchas posibilidades para el uso de la pulpa de manzana, principal subproducto en la elaboración de zumos. Entre ellas está su utilización como alimento para animales, como ingrediente alimentario, bioproducción de enzimas, ácidos grasos o ácido cítrico y como medio nutritivo en la elaboración de sidra, entre otros (Coelho et al, 2021). Dada la importancia de la producción de manzanas en España, y más concretamente en Aragón, el presente trabajo tiene como objetivo el estudio del aroma potencial de la pulpa de la manzana en distintas variedades, tanto comerciales como autóctonas aragonesas, y la posible revalorización tecnológica de este subproducto.

2. Objetivos

Los objetivos generales son:

- Evaluación de la existencia de precursores aromáticos en la pulpa de manzana
- Evaluación de la cantidad de aroma que se puede generar del extracto reconstituido e hidrolizado de la pulpa de manzana
- Caracterización y valorización tecnológica de variedades autóctonas aragonesas

Para llevar a cabo estos objetivos generales, se han de llevar a cabo las siguientes actividades:

- Preparación de macerados y extractos de precursores de pulpa de 10 variedades de manzana
- Hidrólisis ácida de los extractos de precursores obtenidos
- Optimización de concentraciones a hidrolizar mediante análisis sensorial de las muestras hidrolizadas.
- Optimización de los tiempos de hidrólisis mediante análisis sensorial de las muestras hidrolizadas.
- Evaluación sensorial de los extractos de precursores de diferentes variedades de manzana

Además, este trabajo lleva asociados los siguientes objetivos docentes o formativos:

- Búsqueda bibliográfica
- Diseño y planificación de experimentos
- Ejecución de tareas experimentales
- Obtención y evaluación de datos sensoriales
- Realización de análisis estadísticos
- Interpretación de resultados experimentales

3. Materiales y métodos

3.1. Materiales y reactivos

Instrumentación

- Balanza analítica HR-200 (A&D Weighing Co., EE.UU.)
- Granatario W Electronic Scale WT30001K (Want Balance Instrument Co., China)
- pHmetro: MicropH 2002 (Crison, España)

Equipos

- Centrífuga, Allegra X-22R (Beckman Coulter, Alemania)
- Cámara de anoxia AnaeroGen™ (Thermo Scientific Waltham, Massachusetts, EE.UU.).
- Rotavapor, Buchi R-215 equipado con una bomba de vacío V-700 (Buchi Labortechnik AG, Suiza)
- Envasadora al vacío (Vail 330abs)
- Estufa Memmert 10-800 (Mettler GmbH & Co., Alemania)

Materiales

- Embudo büchner de porcelana (Thermo Fisher Scientific Inc., EE.UU.)
- Papel de filtro para embudo büchner MN 640 WE, diámetro 150 mm y poro 12-15 µm (Macherey-Nagel, Alemania)
- Frascos de vidrio de borosilicato con tapa roscada 5000 mL (Borosil, India)
- Recipientes de vidrio ámbar (60 mL) con tapa
- Kitasato 1000 mL (vidraFOC, Barcelona, España)
- Matraz aforado de 20, 50, 100, 250 y 500 mL (Fisher Scientific Inc., EE.UU.)

- Matraz esférico 500 y 1000 mL (Fisher Scientific Inc., EE.UU.)
- Pipeta Pasteur de plástico (Deltalab S.L., España)
- Vaso de precipitados 25, 50, 100 mL (Duran®, Alemania)
- Viales de 20 mL, con cuello y tapón roscados (Thermo Fisher Scientific Inc., EE.UU.)
- Copas negras de vidrio y placa Petri como tapa (Norma ISO 3591)
- Carbón activo AnaeroGen™ (Thermo Scientific Inc., EE.UU.)
- Bolsas transparentes (Coimbra Pack S.L., España)
- Zapatilla de pesada (Scharlab S.L., España)

Reactivos

- Etanol absoluto pureza 99,98% (VWR Chemicals, EE.UU.)
- Metanol ACS (Scharlab S.L., España)
- Agua purificada, Milli-Q purification system (Millipore, Massachusetts, EE.UU.)
- BHA, hidroxibutilanisol pureza 98,5% (SAFC Supply Solutions, Merck KGaA, Alemania)
- Fluoruro de sodio USP puro grado farma (PanReac AppliChem, Alemania)
- Ácido málico pureza del 99%, (Panreac AppliChem, Alemania)
- Disolución de NaOH 4M
- Disolución ácido clorhídrico 0,37% (m/v)

3.2. Muestras

Se trabajó con manzanas de distintas variedades, tanto comerciales (Esperiega, Galaxy y Golden Smothe) como autóctonas (MA-056, MA-109, MA-178, MA-184, MA-230, MA-

263, MA-296), proporcionadas por el CITA (Centro de Investigación Tecnológico de Aragón), procedentes de las zonas de Garcipollera y Teruel.

Además, para pruebas preliminares se compraron manzanas de la variedad Golden Delicious en una frutería local de Zaragoza.

3.2.1. Obtención del extracto acuoso de precursores

Las manzanas se descorazonaron, pelaron y se partieron en trozos utilizando un cuchillo cerámico. Estos trozos de manzana se licuaron y se separó la pulpa del zumo. El zumo se purgó con nitrógeno y se congeló (no será empleado en este estudio). La pulpa se maceró (en proporción 1:1) con metanol:agua 50:50 (v/v) que contenía 0,02% de BHA (antioxidante) y 0,004% de NaF (antienzimático) en peso. La maceración se llevó a cabo durante 24 h a temperatura ambiente y protegido con nitrógeno. Esta mezcla se agitó cada cierto tiempo para asegurar un buen mezclado. Posteriormente, la mezcla se centrifugó y se eliminó la pulpa restante del sobrenadante mediante filtración a vacío. Finalmente, este macerado se guardó protegido con nitrógeno y congelado hasta su uso.

Esta parte del procedimiento de licuado y macerado fue realizada por el CITA para todas las muestras del estudio (excepto para la muestra Golden Delicious comprada, que se realizó en el laboratorio), ya que pertenecen a la cosecha de 2021 y el fruto no se puede almacenar sin que se pudra u oxide.

El metanol de los macerados se destiló utilizando un rotavapor (Rotavapor R-215 Buchi) y una bomba de vacío (Vacuum controller V-850), a una presión de 18 bar en un baño de agua termostático a 24°C (Figura 1). El proceso se consideró finalizado cuando se destiló la mitad del volumen del macerado. Los diferentes extractos acuosos de precursores se mantuvieron congelados hasta su utilización.



Figura 1. Rotaevaporación de los macerados de pulpa de manzana

3.2.2. Preparación de reconstituidos

De manera general, para la obtención de los reconstituidos, se llevó a cabo la dilución del extracto acuoso de precursores con agua Milli-Q al 2% de etanol (v/v), 5 g/L de ácido málico y el pH ajustado a 3,8.

El volumen de extracto acuoso de precursores utilizado para la concentración 1 (C1) se calculó en función del volumen del macerado inicial (metanol:agua, equivalente al peso de pulpa) y el volumen de reconstituido que se quiere preparar, como se detalla en la ecuación 1:

$$C1 = \frac{(\text{Volumen reconstituido} \times \text{Volumen extracto acuoso de precursores})}{\text{Volumen de macerado inicial Metanol: H}_2\text{O}} \quad (\text{Ec. 1})$$

La concentración de extracto de precursores en el reconstituido así obtenida se denomina C1, puesto que equivale a la concentración de precursores que habría en el macerado inicial. Sin embargo, la concentración de extracto acuoso de precursores empleada en la preparación de los reconstituidos fue una etapa que se tuvo que comprobar, como se comentará posteriormente.

3.2.3. Condiciones de hidrólisis ácida de los reconstituidos

Los reconstituidos obtenidos se introdujeron en la cámara de anoxia y se dividieron en viales de taponado de 20 mL (el número de viales dependió del estudio realizado). Una vez cerrados, los viales se envasaron a vacío con dos bolsas termoselladas: la primera contenía los viales y la segunda contenía la primera bolsa más carbón activo AnaeroGen™ (Figura 2).



Figura 2. Cámara de anoxia y viales en bolsas termoselladas con carbón activo

Las muestras embolsadas en anoxia que no se iban a someter al proceso de hidrólisis se llevaron directamente a la nevera y se mantuvieron a 5°C hasta el momento del análisis sensorial.

Las muestras embolsadas en anoxia que iban a ser sometidas al proceso de hidrólisis se almacenaron en una estufa a 75°C durante un tiempo determinado. El tiempo de hidrólisis fue un parámetro que se optimizó durante este estudio, como se explicará posteriormente. Tras el periodo de hidrólisis en estufa, las muestras fueron almacenadas en nevera a 5°C hasta el momento de su uso.

3.2.4. Optimización de las condiciones del proceso

De manera general, se ha explicado el proceso de extracción de precursores, de preparación de reconstituidos y de hidrólisis de éstos de manera genérica. Sin embargo, algunas de las etapas tuvieron que ser optimizadas, como se detalla a continuación.

Optimización de la concentración de extracto en el reconstituido: Como se ha comentado anteriormente, se comprobó si la concentración de extracto de precursores en el reconstituido era la correcta para este estudio. Para ello se partió del extracto acuoso de precursores de la variedad Golden Delicious realizada en el laboratorio (al no disponer de mucho excedente de las muestras del estudio). Con este extracto se prepararon disoluciones de reconstituido de 25 mL a dos niveles de concentración. El primero de ellos corresponde al nivel C1 (calculado como se mencionó en la ecuación 1). El segundo de ellos corresponde a una segunda concentración (C2), donde la cantidad de extracto acuoso de precursores a diluir fue el doble de la que habría en el macerado inicial, como se detalla en la ecuación 2:

$$C2 = 2 \times C1 \quad (\text{Ec. 2})$$

Los cuatro viales se embolsaron individualmente como se ha comentado anteriormente. Un vial de cada concentración se guardó sin hidrolizar y su pareja se hidrolizó en una estufa a 75°C durante 24 h. Tras el periodo de hidrólisis, las muestras fueron almacenadas en nevera a 5°C hasta el momento de su uso.

Optimización del tiempo de hidrólisis: Se prepararon reconstituidos para tres variedades de manzana (Golden Smothe, MA-109 y MA-263) con el objetivo de comprobar cuál es el tiempo óptimo de hidrólisis necesario para obtener el mayor potencial aromático de la manzana. Para ello, se prepararon 240 mL de reconstituido por variedad y se introdujeron en la cámara de anoxia, donde se dividieron en 12 viales de 20 mL por variedad. Los viales se embolsaron por parejas, como se describe en el punto 3.2.3, obteniendo 6 bolsas por variedad (correspondiente a los 6 tiempos de hidrólisis que se emplearon). Posteriormente, las muestras se metieron en la estufa y se hidrolizaron a 75°C durante 8, 24, 48, 96, 144 y 192 horas. Las muestras se metieron a la estufa en diferentes tiempos con el objetivo de que todas terminasen de hidrolizarse el mismo día. Las muestras se guardaron en nevera a 5°C hasta el día siguiente, cuando se realizó la evaluación sensorial.

3.2.5. Preparación de los hidrolizados del estudio de las diferentes variedades

Para preparar los hidrolizados de las 10 variedades de manzana, se trabajó a concentración C1 y los reconstituidos se prepararon igual que se ha explicado anteriormente en la sección 3.2.2. El volumen de reconstituido se calculó en función del futuro análisis

sensorial, de manera que se necesitaron preparar 100 mL por variedad, excepto para las variedades MA-056 y MA-296, las cuales se evaluaron por duplicado (200 mL).

Los reconstituidos se dividieron en 5 viales por variedad (10 viales para los duplicados) dentro de la cámara de anoxia. Las muestras embolsadas se almacenaron en una a estufa a 75°C durante 192 horas (tiempo óptimo de hidrólisis).

Tras el periodo de hidrólisis en estufa, las muestras fueron almacenadas en nevera a 5°C (Figura 3) hasta el día siguiente, cuando se realizó la evaluación sensorial.



Figura 3. Viales hidrolizados de las 10 variedades de manzana

3.3. Análisis sensorial

3.3.1. Panelistas

Se utilizó el análisis sensorial para estudiar el aroma de las muestras obtenidas tras la hidrólisis ácida. Para ello se contó con un panel formado por 12 personas (6 mujeres y 6 hombres, con un rango de edad de 25-57 años). Los panelistas pertenecían al Laboratorio de Análisis de Aroma y Enología (LAAE), por lo que ya contaban con experiencia a la hora de realizar análisis sensoriales.

3.3.2. Entrenamiento del panel

Se realizó un entrenamiento sensorial libre, para ello se prepararon referencias de aroma en recipientes de vidrio ámbar con tapa. En todos ellos se vertieron 20 mL de agua

destilada como base y a cada uno se le añadieron distintos tipos de sustancias que producían aromas similares a los atributos que se esperaban encontrar en las futuras muestras. Se utilizaron tanto productos naturales como sintéticos, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Referencias de aroma

Atributos	Sustancia añadida	Casa comercial
Miel	Miel de flores	Carrefour
Especiado	Clavo	Carmencita
Especiado	Nuez moscada	Carmencita
Especiado	Canela	Carmencita
Fruta compotada	Manzana asada Golden Delicious	Asada en el laboratorio
Floral	Caramelos de violetas	El Rincón
Floral	Aroma a azahar	Vahiné
Fruta blanca	Aroma a pera	Wine aroma training set (Universidad de Zaragoza)
Fruta blanca	Aroma a manzana	Wine aroma training set (Universidad de Zaragoza)

Estos recipientes se taparon con papel de aluminio en su exterior y con papel de aluminio perforado en la parte superior, para permitir el paso del aroma que contenían, pero evitar que se observara su contenido (Figura 4). Las mezclas se numeraron con un código individual de tres dígitos.



Figura 4. Ejemplo de referencia empleada para el entrenamiento sensorial de descriptores

Se pidió a los panelistas que identificaran con uno o varios descriptores las referencias presentadas (Anexo 1: Plantilla de entrenamiento sensorial). Posteriormente, se les proporcionaron las soluciones de cada referencia para que pudieran volver a olerlos e identificasen, relacionasen y memorizasen esos aromas y sus descriptores.

3.3.3. Elección de descriptores

Los reconstituidos hidrolizados obtenidos de la manzana Golden Delicious, Golden Smothe, MA-109 y MA-263 se utilizaron para realizar una sesión sensorial de generación de descriptores con los 12 catadores entrenados. Se pidió a los panelistas que generaran descriptores libres que definieran las muestras. En esta sesión se seleccionaron los atributos que se utilizarían para estudiar el perfil aromático del resto de variedades.

3.3.4. Evaluación sensorial de la concentración óptima del extracto acuoso de precursores en el reconstituido

Para evaluar cual era la concentración óptima del extracto acuoso de precursores en el reconstituido, se prepararon las muestras hidrolizadas y sin hidrolizar para las concentraciones C1 y C2 de la variedad Golden Delicious.

Las muestras se atemperaron y posteriormente, se sirvieron en copas de tipo tulipa negra (8 mL, 20 °C), cubiertas de una placa Petri, codificadas por un código de tres cifras aleatorio y con un orden de presentación diferente para cada participante.

Posteriormente, se llevó a cabo un análisis sensorial informal con 4 catadores. A los panelistas se les pidió que evaluaran ortonasalmente las muestras y las ordenasen en función de la intensidad de olor (Anexo 2: Ficha de análisis sensorial para la optimización de la concentración del extracto acuoso de precursores en el reconstituido).

3.3.5. Evaluación del tiempo óptimo de hidrólisis

Procedimiento: Se realizó un análisis sensorial con tres variedades de manzana (Golden Smothe, MA-109 y MA-263) previamente reconstituidas e hidrolizadas durante 8, 24, 48, 96, 144 y 192 horas.

Para cada variedad, las muestras se atemperaron y posteriormente, se mezclaron los dos viales correspondientes a cada tiempo para homogeneizar los hidrolizados. Las muestras se sirvieron en copas de tipo tulipa negra (8 mL, 20 °C), cubiertas de una placa Petri, codificadas por un código de tres cifras aleatorio y con un orden de presentación diferente para cada participante.

Las copas se dispusieron sobre un mantel etiquetado con: Serie 1, Serie 2 y Serie 3, una serie por variedad de manzana. Cada serie estaba formada por 6 copas, una copa por cada tiempo de hidrólisis. A cada panelista le fueron presentadas las series en orden aleatorio.

Se les pidió a los panelistas que valoraran la intensidad de los atributos (“fruta compotada”, “fruta blanca”, “floral”, “miel” y “especiado”) en una escala lineal de 10 puntos para cada una de las tres variedades de manzana (Anexo 3: Ficha de análisis sensorial con las series 1, 2, 3). Se añadió en la ficha de cata un espacio reservado para “otros” en caso de que algún panelista encontrara otro atributo que considerara relevante y que no estuviera siendo valorado. Los panelistas debían situar en la misma escala las 6 copas de una misma serie en función de la intensidad del atributo estudiado.

Tratamiento de datos: Con las puntuaciones obtenidas para cada variedad, se evaluó el consenso del panel mediante análisis de componentes principales (ACP o PCA según sus siglas en inglés) y se eliminaron a aquellos catadores que no evaluaron de forma consistente las muestras. Con las puntuaciones de los panelistas consensuadas para cada una de las variedades, se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores (muestras como factor fijo y jueces como factor aleatorio), seguido de una prueba de

comparación por pares o test de Fisher, con un intervalo de confianza del 95%. Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el programa XLSTAT 2018 (Premium).

Con los valores medios procedentes del ANOVA, se realizaron gráficos de barras representando la intensidad de cada atributo en una escala del 0-10 para cada tiempo de hidrólisis. Estos gráficos se realizaron de manera independiente para cada una de las variedades.

3.3.6. Análisis descriptivo de las diferentes variedades

Procedimiento: Se realizó un análisis sensorial con las muestras hidrolizadas de las 10 variedades de manzanas (Esperiega, Galaxy, Golden Smothe, MA-056, MA-109, MA-178, MA-184, MA-230, MA-263 y MA-296) tras 192 horas de hidrólisis.

Las muestras se atemperaron y posteriormente, se mezclaron los 5 viales de cada variedad para homogeneizar los hidrolizados (10 viales en caso de las variedades MA-056 y MA-296 que se evaluaron de forma duplicada). Las muestras se sirvieron en copas de tipo tulipa negra (8 mL, 20 °C), cubiertas de una placa Petri, codificadas por un código de tres cifras aleatorio y con un orden de presentación diferente para cada participante.

Se presentó una única serie de 12 copas, consistente en las 10 variedades de manzana hidrolizadas y los dos duplicados realizados (Figura 5).



Figura 5. Puesto de cata y panelista realizando el análisis descriptivo

Se les pidió a los panelistas que, para cada copa, valoraran la intensidad de los atributos (“fruta compotada”, “fruta blanca”, “floral”, “miel” y “especiado”) en una escala lineal de 10 puntos (Anexo 4: Ficha de análisis sensorial de todas las variedades). De nuevo, se añadió en la ficha de cata un espacio reservado para “otros”.

Tratamiento de datos: Con las puntuaciones obtenidas para las 12 muestras, se evaluó el consenso del panel mediante PCA para cada uno de los atributos. También se evaluó la repetibilidad del panel con el programa PanelCheck. Se eliminaron aquellos jueces que no fueran consistentes con el resto del panel, y con las puntuaciones de los panelistas consensuadas y las medias de las réplicas, se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) de dos factores (muestras como factor fijo y jueces como factor aleatorio), seguido de una prueba de comparación por pares o test de Fisher, con un intervalo de confianza del 95%. Para aquellos atributos que presentaran diferencias significativas entre las muestras, se realizó un PCA con las puntuaciones medias de las muestras para cada variedad.

Con los valores medios procedentes del ANOVA, se realizaron gráficos de barras representando la intensidad de cada atributo en una escala del 0-10 para las variedades estudiadas. También se realizaron gráficos de araña o radar representando las puntuaciones medias de los descriptores en cada variedad de manzana. Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el programa XLSTAT 2018 (Premium).

4. Resultados y discusión

4.1. Elección de descriptores

Durante la etapa previa de generación de descriptores, se seleccionaron los términos más citados por los panelistas y se agruparon, de forma consensuada, en los atributos genéricos correspondientes, que fueron los siguientes: “fruta compotada”, “fruta blanca” (manzana, pera), “floral”, “miel” y “especiado” (canela, clavo). Dado que esta etapa de generación de descriptores se realizó únicamente con 4 variedades de manzana, se incluyó un apartado denominado “otros” en la ficha de cata, donde los panelistas podían escribir otros olores que considerasen relevantes (olores desagradables u otros atributos distintos a los citados anteriormente), que podían no haberse considerado para el resto de variedades. La mayoría de estos atributos también fueron escogidos en el estudio de

García Calvo (2020), ya que se encuentran entre los descriptores con mayor frecuencia de detección acumulada en muestras de zumo de manzana. Además, se ha observado la presencia de descriptores como la “miel” en vinos, que surgen tras la hidrólisis a temperaturas de 45-50°C (Ferreira y López, 2019), esto podría indicar que se tratan de las mismas agliconas o incluso de los mismos precursores, pero para ello se necesitan llevar a cabo más estudios, utilizando técnicas instrumentales como Cromatografía de Gases-Olfatometría (GC-O) o Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (GC-MS).

Sin embargo, el término “otros”, a pesar de ser empleado en diferentes ocasiones durante las distintas evaluaciones sensoriales, no ha generado términos que pudieran ser considerados similares ya que o no se repetían los mismos atributos entre los distintos jueces y/o no estaban evaluando la misma muestra.

4.2. Optimización concentración del extracto acuoso de precursores en el reconstituido

Para evaluar la concentración óptima del extracto acuoso de precursores en el reconstituido se prepararon hidrolizados y no hidrolizados a distintas concentraciones (C1 y C2) para la variedad Golden Delicious. Se escogió un tiempo de hidrólisis de 24 h a 75°C ya que ha sido el tiempo empleado en otros estudios de este tipo en zumo de manzana o mistela de uvas (De Torres Frago 2021, Alegre et al. 2020).

En primer lugar, se observó que las muestras sin hidrolizar, tanto C1 como C2 apenas tenían olor, en todo caso se percibía un olor a polvo. Esto indica que las muestras sin hidrolizar no tienen aromas libres, esto puede deberse a que el método de extracción utilizado no los extrae o más seguramente que los aromas libres extraídos se hayan eliminado junto con el metanol en la destilación. Se decide no trabajar con muestras sin hidrolizar, ya que en éstas no se perciben aromas a ninguna de las concentraciones estudiadas.

En segundo lugar, se observó que las muestras hidrolizadas de ambas concentraciones presentaban descriptores intensos y fácilmente detectables que recordaban a la compota de manzana. Estos aromas generados aumentaban su intensidad al aumentar la concentración de extracto acuoso de precursores (de C1 a C2). Sin embargo, el aumento de la intensidad encontrada no era lo suficientemente grande como para que se

considerara necesario gastar el doble de concentración del extracto acuoso de precursores dada la limitación de muestra existente. Por ello se decidió trabajar a concentración C1.

Además, puesto que en las muestras hidrolizadas se percibe aroma y en las no hidrolizadas no, se puede afirmar que también existen precursores del aroma en la pulpa de manzana. Este hecho es novedoso ya que García Calvo (2020) empleó el triturado útil de manzana (zumo + pulpa) observándose la presencia de precursores, mientras que De Torres Frago (2021) confirmó su presencia en zumo. Por ello, hasta ahora no se sabía con certeza si los precursores detectados por García Calvo (2020) provenían exclusivamente del zumo.

4.3. Optimización del tiempo de hidrólisis

Para encontrar el tiempo de hidrólisis óptimo y comprobar si existen diferencias en este parámetro dependiendo de la variedad se estudiaron los hidrolizados a distintos tiempos (8, 24, 48, 96, 144 y 192 horas) de las variedades Golden Smothe, MA-109 y MA-263.

Evaluación del consenso del panel: Con los datos obtenidos de cada variedad se realizó un PCA para cada uno de los atributos (“fruta compotada”, “fruta blanca”, “floral”, “miel” y “especiado”). A través del análisis de componentes principales se puede estudiar la consistencia del panel, ya que muestra la desviación que hay entre los jueces a la hora de valorar cada atributo. Por ejemplo, en el caso del atributo “floral” en la variedad MA-109 (Figura 6), se considera que los jueces situados en la parte positiva del eje x valoran de forma similar, sin embargo, los jueces 4 y 10 estarían valorando de forma distinta al resto del panel (se sitúan en la parte negativa). Para conseguir una evaluación homogénea, se eliminan los jueces 4 y 10 para el atributo “floral” de la variedad MA-109. Este proceso se repite con todos los atributos de las tres variedades estudiadas y se eliminan los jueces que no valoran de forma similar en los casos que sea necesario.

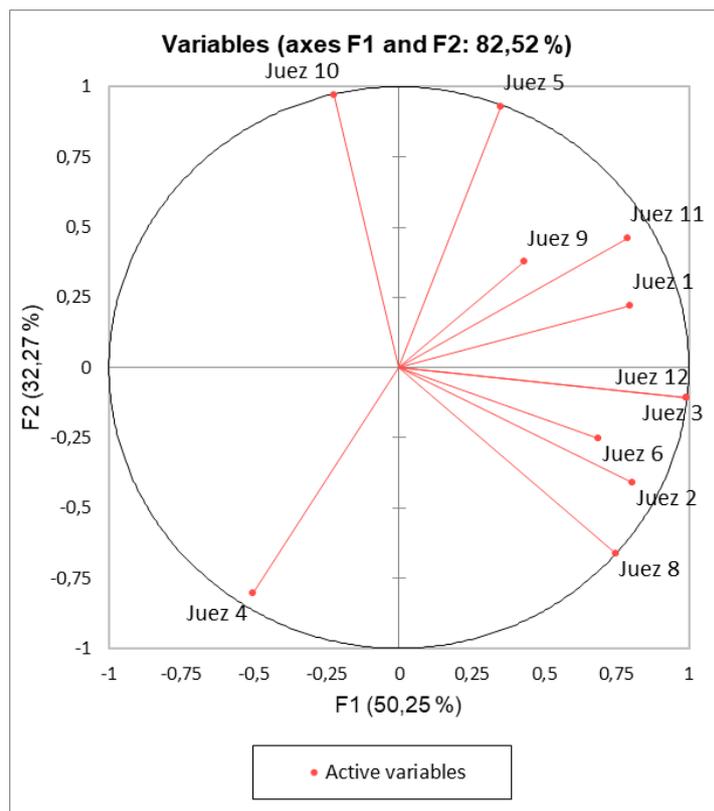


Figura 6. PCA del atributo “floral” en MA-109 antes de retirar los jueces 4 y 10

Optimización del tiempo de hidrólisis: Con el objetivo de evaluar si existen diferencias significativas debidas al tiempo de hidrólisis para cada descriptor y obtener su tiempo óptimo, se realiza un ANOVA de dos factores (muestras como factor fijo y jueces como aleatorio) para cada variedad. Para ello, se utilizaron los datos de los catadores consistentes para cada atributo y variedad. Con las puntuaciones medias para cada tiempo de hidrólisis y variedad, se obtiene una gráfica donde se observa cómo se comporta la intensidad de cada atributo según aumenta el tiempo de hidrólisis.

En estas gráficas ordenadas por variedad en los Anexos 5-7 se han encontrado cuatro comportamientos distintos para los atributos estudiados en estas tres variedades:

- A) Incremento de la intensidad del descriptor al inicio del tiempo de hidrólisis que luego tiende a mantenerse hasta las 192 horas. Un ejemplo, de este tipo de comportamiento se representa en la Figura 7.

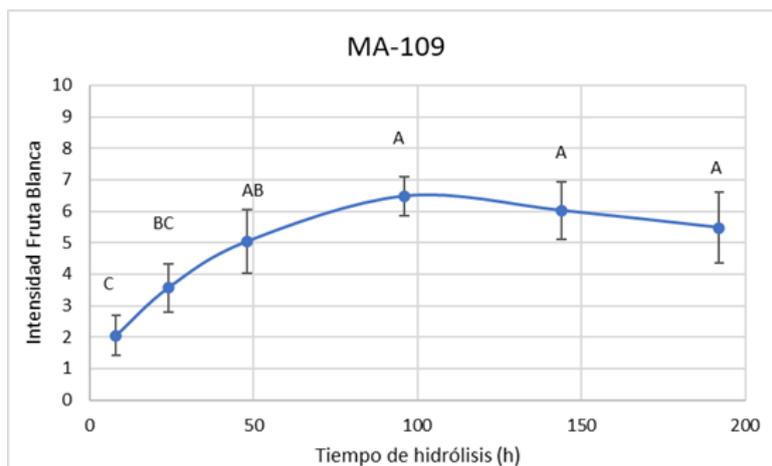


Figura 7. Gráfica intensidad frente a tiempo de hidrólisis del atributo “fruta blanca” en la variedad MA-109

Las letras procedentes del test Fisher (A, B, C...) indican si hay o no diferencias significativas entre las medias de cada tiempo de hidrólisis. En el caso de la Figura 7, se observa un aumento significativo de la intensidad del atributo “fruta blanca” de 8 h hasta las 96 h de hidrólisis. A partir de las 96 h de hidrólisis no se muestran diferencias significativas, y por tanto el aroma formado no desaparece.

B) Aumento progresivo de la intensidad hasta las 192 horas de hidrólisis, donde tendría su máximo, aunque no difiere significativamente de la intensidad a 96 h (Figura 8).

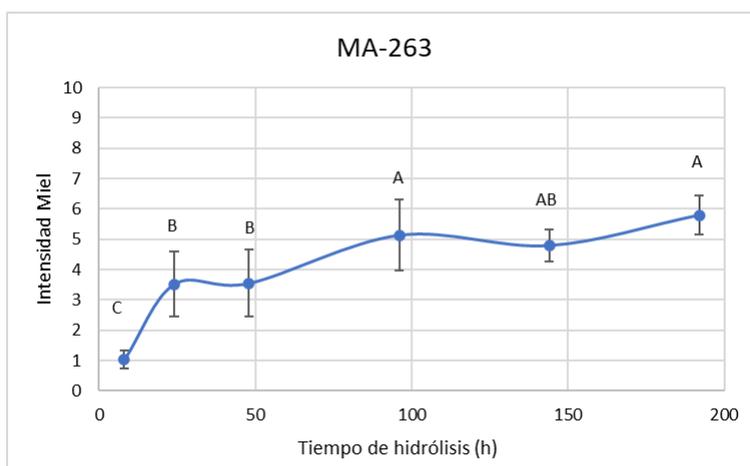


Figura 8. Gráfica intensidad frente a tiempo de hidrólisis del atributo “miel” en la variedad MA-263

C) Aumento inicial de la intensidad con una posterior disminución de ésta conforme aumenta el tiempo de hidrólisis. Un ejemplo de este comportamiento lo podemos encontrar en la Figura 9.

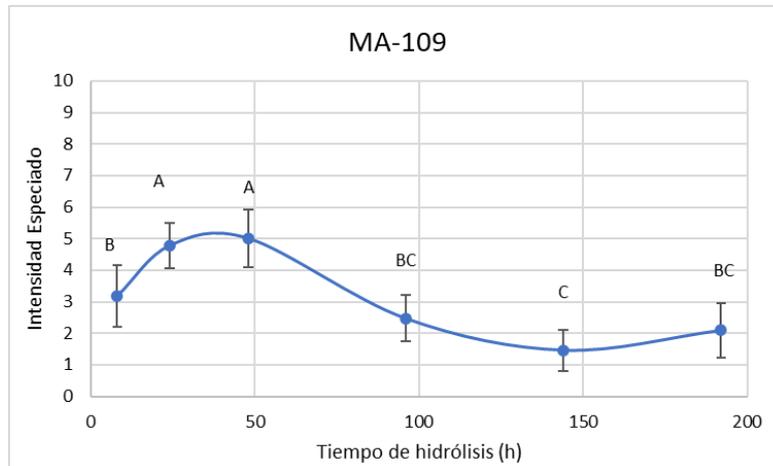


Figura 9. Gráfica intensidad frente a tiempo de hidrólisis del atributo “especiado” en la variedad MA-109

D) La intensidad del atributo no varía con el tiempo de hidrólisis. La Figura 10 ejemplifica este comportamiento, donde se observa como a lo largo de todos los tiempos de hidrólisis estudiados no existen diferencias significativas y la intensidad se mantiene estable.

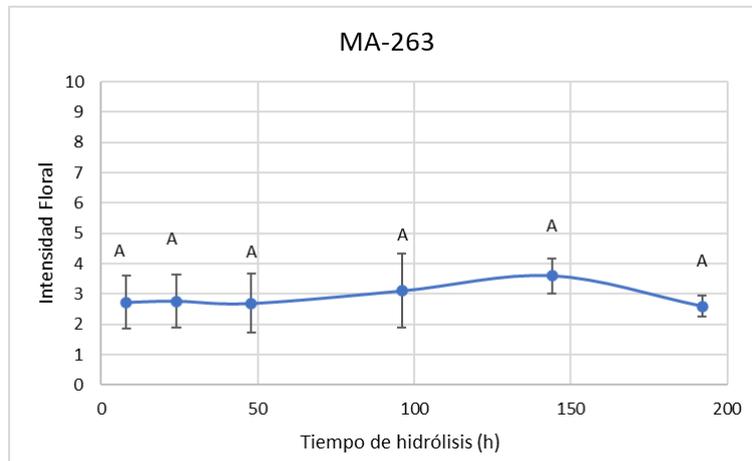


Figura 10. Gráfica intensidad frente a tiempo de hidrólisis del atributo “floral” en la variedad MA-263

En la Tabla 2 se encuentran clasificados los atributos de todas las variedades según los distintos comportamientos.

Tabla 2. Comportamiento de las gráficas de intensidad frente a tiempo de hidrólisis de los diferentes atributos para las variedades Golden Smothe, MA-109 y MA-263

Comportamiento	Variedad	Atributo
A	Golden Smothe	Fruta compotada, especiado
	MA-109	Floral, miel, fruta blanca
	MA-263	Fruta compotada
B	Golden Smothe	Miel, floral
	MA-109	Fruta compotada
	MA-263	Miel
C	Golden Smothe	Fruta blanca
	MA-109	Especiado
	MA-263	Fruta blanca
D	Golden Smothe	
	MA-109	
	MA-263	Floral, Especiada

Como se observa en la Tabla 2, el comportamiento de las intensidades es distinto entre los atributos de una misma variedad. Mientras que para una misma variedad MA-109, el atributo “fruta blanca” (Figura 7) presenta un comportamiento del tipo A, el atributo “especiada” para esta misma variedad (Figura 9), presenta un comportamiento del tipo C. Además, para el mismo atributo en distintas variedades, las intensidades de éste también pueden presentar comportamientos diferentes, como se puede observar en la Figura 11. En ella se pueden observar comportamientos del tipo A, C y D para el atributo “especiada” en las variedades Golden Smothe, MA-109 y MA-263, respectivamente.

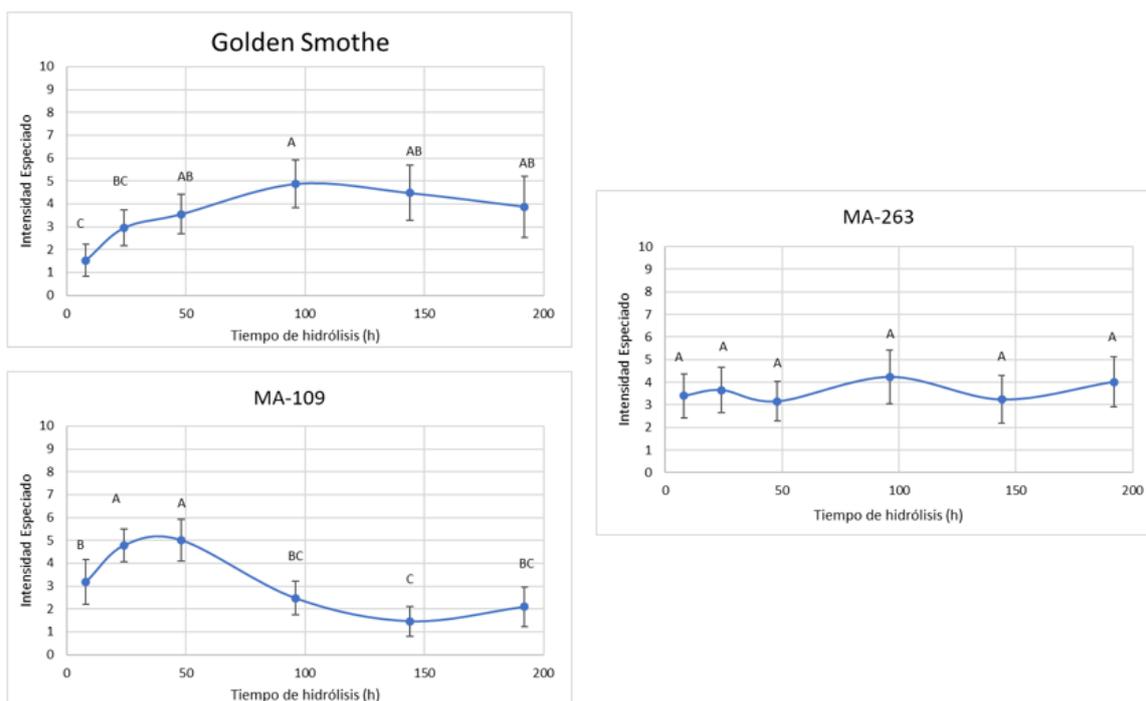


Figura 11. Gráficas intensidad frente a tiempo de hidrólisis del atributo “especiado” en las variedades Golden Smothe, MA-109 y MA-263

Cabe destacar que el hecho de que existan patrones iguales de un mismo atributo para variedades diferentes, lo que podría indicar una misma aglicona liberada y seguramente un mismo precursor. Ejemplos de este hecho serían el atributo “fruta blanca”, donde las variedades Golden Smothe y MA-263 presentan ambas un comportamiento tipo C, “fruta comotada” donde las mismas dos variedades presentan un comportamiento tipo A y “miel” donde de nuevo estas dos variedades presentan el mismo comportamiento tipo B. Sin embargo, que tengan un comportamiento diferente para el mismo atributo (Figura 11-“especiado”), podría indicar que las agliconas liberadas son diferentes (y también su precursor), y por tanto el tiempo de hidrólisis necesario para su liberación es diferente. Para comprobarlo se necesitaría estudiar estas muestras mediante técnicas como Cromatografía de Gases-Olfatometría (GC-O) o Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (GC-MS).

En resumen, para la mayoría de los atributos de las tres variedades estudiadas existe un aumento de la intensidad de aroma con el tiempo de hidrólisis, como se puede ver en la Tabla 2, donde la mayoría de los atributos siguen el comportamiento “A” o “B”. Los que más tardan en alcanzar su máximo, lo hacen a 192 h sin diferenciarse significativamente de los de 96 h, y aquellos aromas que se forman antes no se pierden significativamente a

las 192 h. Por estas razones se decide utilizar como tiempo de hidrólisis óptimo 192 horas para el estudio de las 10 variedades de manzana.

4.4. Análisis descriptivo de las diferentes variedades

Para caracterizar el perfil aromático de cada una de las 10 variedades se realizó un análisis sensorial de las muestras tras 192 h de hidrólisis.

Evaluación del consenso y la repetibilidad del panel: Se realizó un PCA de cada uno de los atributos (“fruta compotada”, “fruta blanca”, “floral”, “miel” y “especiado”) con las medias de cada variedad, para estudiar el consenso del panel. Se obtuvo un panel consistente para todos los atributos excepto para el atributo “floral”. En el caso de este atributo, se observa mucha dispersión de los jueces (Figura 12). Esto quiere decir, que, a pesar de encontrar este atributo en las muestras, los jueces lo valoran de forma muy distinta, no encontrándose consistencia en el panel para este atributo. Además, en el ANOVA se obtiene un valor $P = 0,857$ (para que sea un valor estadísticamente significativo $P < 0,05$).

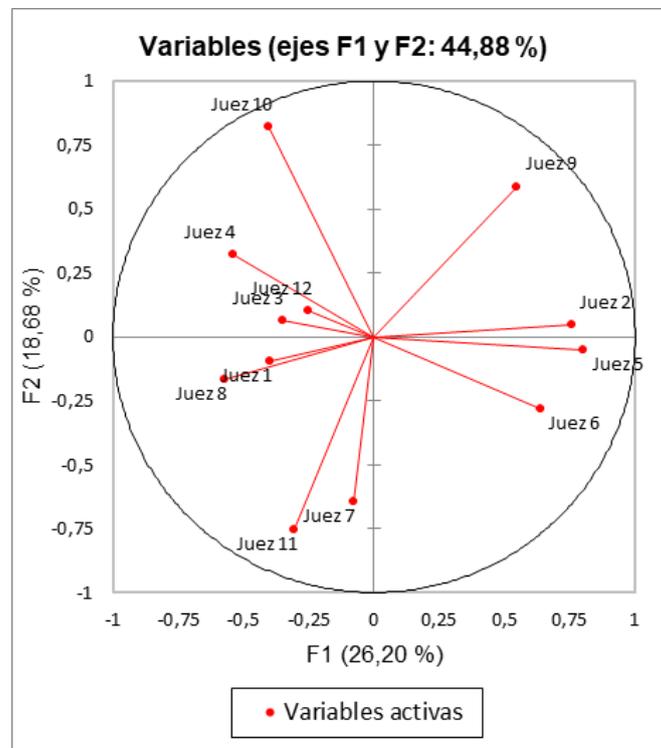


Figura 12. PCA del atributo “floral” para las 10 variedades de manzana

La razón de esta dispersión la podemos observar estudiando las medias de las intensidades (Tabla 3) de este atributo, donde todos los valores obtenidos para las muestras son bajos ($< 3,2$). Esto explica que no haya consenso entre los jueces, ya que lo que puede estar ocurriendo es que este atributo no tenga suficiente intensidad de aroma. Por todo ello, este atributo no se tuvo en cuenta en el tratamiento de datos posterior.

Tabla 3. Medias para el atributo “floral” en las variedades de manzana estudiadas

Categoría	Medias LS	Grupos
Esperiega	2,32 ± 0,82	A
Galaxy	2,41 ± 0,82	A
Golden Smothe	2,06 ± 0,68	A
MA-056	2,31 ± 0,51	A
MA-109	2,72 ± 0,89	A
MA-178	2,73 ± 0,83	A
MA-184	3,20 ± 0,88	A
MA-230	2,13 ± 0,83	A
MA-263	2,58 ± 0,68	A
MA-296	2,63 ± 0,72	A

Para el estudio de la repetibilidad, durante la evaluación sensorial se incluyeron las réplicas de dos de las variedades (MA-056 y MA-296). Con las puntuaciones de los panelistas para estas muestras se realizó un ANOVA de 3 factores en PanelCheck. Se estudió juez, réplica y muestra como factores fijos y sus interacciones de segundo nivel. En la Figura 13 se puede observar como el efecto réplica no es significativo (valor $P > 0,05$). Dado que no hubo efecto réplica, se pudo trabajar con las puntuaciones medias de estas variedades para cada panelista.

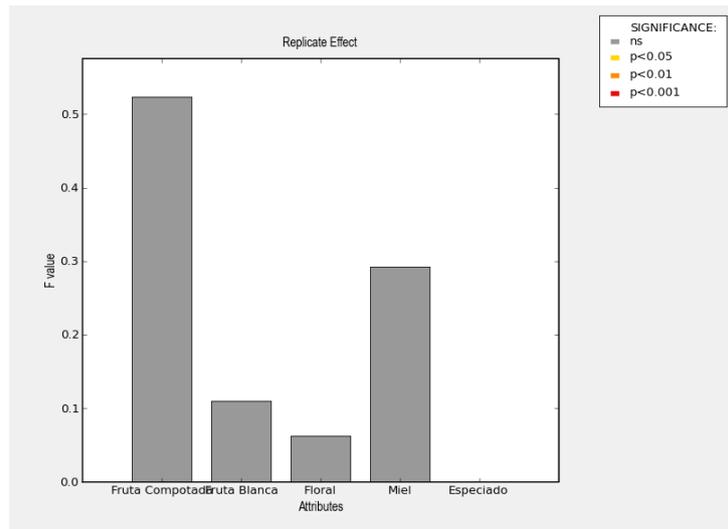


Figura 13. Efecto réplica MA-056 y MA-296

Además, en la Figura 14 se puede observar cómo los valores para ambas réplicas de las variedades MA-056 y MA-296 se encuentran en la misma zona del PCA, lo que significa que el panel efectivamente valora en condiciones repetibles.

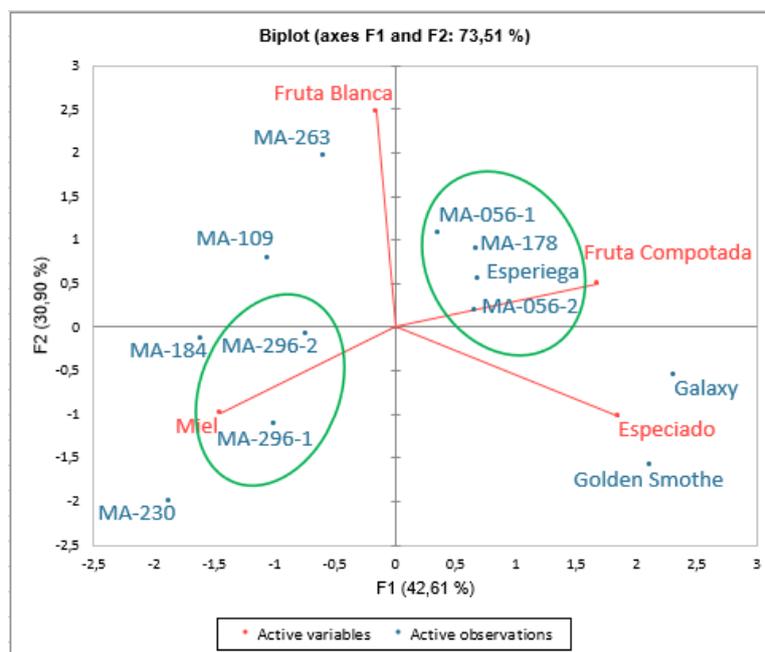


Figura 14. PCA global para todas las variedades incluyendo réplicas

Análisis descriptivo de las distintas variedades: En primer lugar, se representaron mediante gráficos de barras las intensidades medias de los reconstituidos hidrolizados para cada uno de los atributos.

En el atributo “fruta compotada” (Figura 15) se puede observar cómo los valores más altos de intensidad se encuentran en las variedades Golden Smothe y MA-178, con puntuaciones de 6,8 y 6,3 respectivamente. También tienen valores altos igual de significativos las variedades Esperiega, Galaxy y MA-056. En cambio, la variedad MA-109 destaca por ser la menos intensa para este atributo, con una puntuación de 3,2.

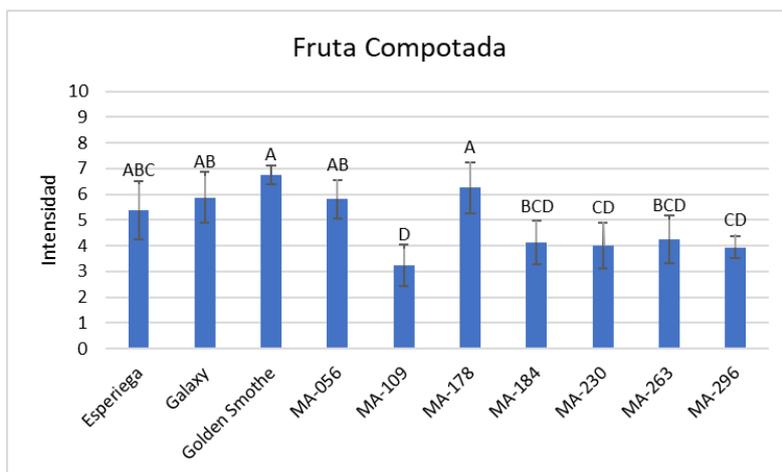


Figura 15. Gráfica intensidad de “fruta compotada” para las 10 variedades

En el caso del atributo “fruta blanca” (Figura 16), se puede observar cómo los valores más altos de intensidad se encuentran, sobre todo, en variedades autóctonas, destacando la MA-263, ya que posee una puntuación media de 5,4. Sin embargo, los valores más bajos se encuentran para las variedades Golden Smothe y MA-230, con valores de 2,6 y 2,3 respectivamente.

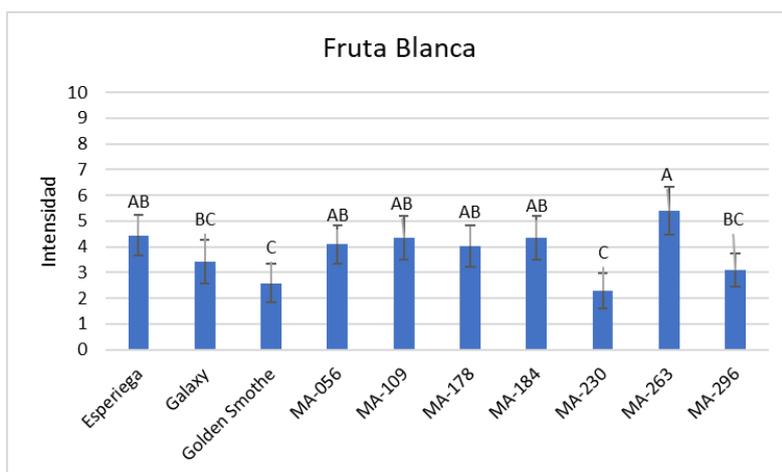


Figura 16. Gráfica intensidad de “fruta blanca” para las 10 variedades

Para el atributo “miel” (Figura 17) se puede observar cómo hay dos variedades autóctonas que destacan con los valores de intensidad más elevados, las variedades MA-184 y MA-230. El resto de variedades tienen intensidades más bajas y similares entre ellas, excepto la variedad Galaxy, que es la que tiene menor intensidad de este atributo. Los valores de mayor intensidad son de 6,4 (MA-184) y 6,2 (MA-230), siendo mucho más elevados que para la variedad Galaxy que tiene una puntuación de 1,3.

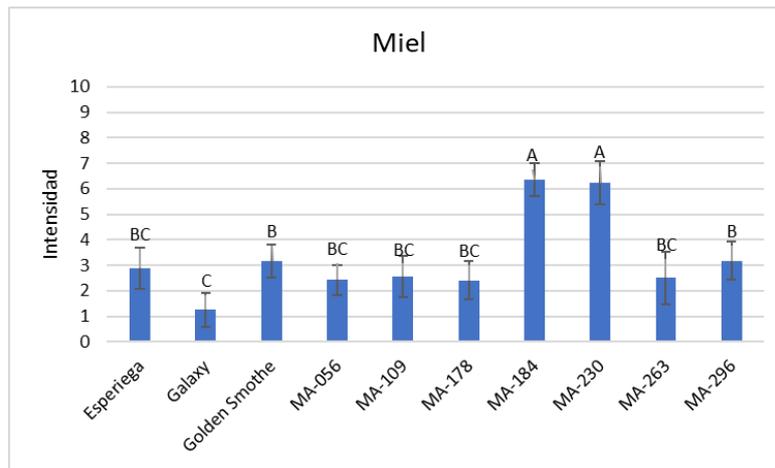


Figura 17. Gráfica intensidad de “miel” para las 10 variedades

En cuanto al atributo “especiado” (Figura 18), presenta los mayores valores en las variedades comerciales (Esperiega, Galaxy y Golden Smothe), destacando la variedad Galaxy (6,5 puntos en intensidad) y Golden Smothe (6,3 puntos). Estas variedades no presentan diferencias significativas entre ellas y se caracterizan por ser más especiadas que las autóctonas.

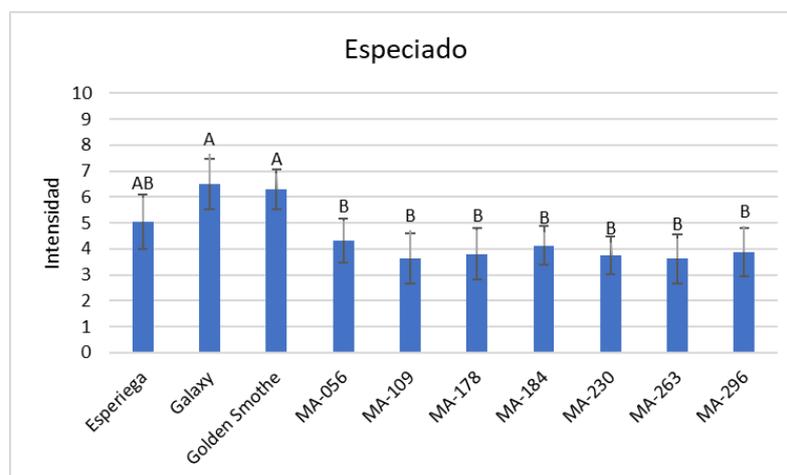


Figura 18. Gráfica intensidad de “especiado” para las 10 variedades

Con las puntuaciones medias de los atributos significativos, se realizó un análisis de componentes principales. Este PCA (Figura 19) explica el 83,30% de la varianza explicada. El PC1 explica el 51,03%, y viene determinado por los atributos “fruta compotada” y “especiado”, que se encuentran en el I y IV cuadrante respectivamente. El PC2, explica el 32,27% y separa los atributos “fruta blanca” y “miel”, el primero en el II cuadrante y el segundo en el III cuadrante.

En este gráfico muestra cómo se agrupan las distintas variedades según los atributos, donde se diferencian cuatro grupos de muestras. El primer grupo de manzanas tiene un perfil más neutro, formado por las variedades Esperiega, MA-056, MA-178 y MA-296 (en el centro). El segundo grupo está caracterizado por los atributos “fruta compotada” y “especiado”, formado por las variedades comerciales Galaxy y Golden Smothe (I y IV cuadrante). En el tercer grupo se caracteriza por el descriptor “fruta blanca”, con las variedades MA-109 y MA-263 (II cuadrante). Por último, el cuarto grupo viene definido por el atributo “miel” con las variedades MA-184 y MA-230 (III cuadrante).

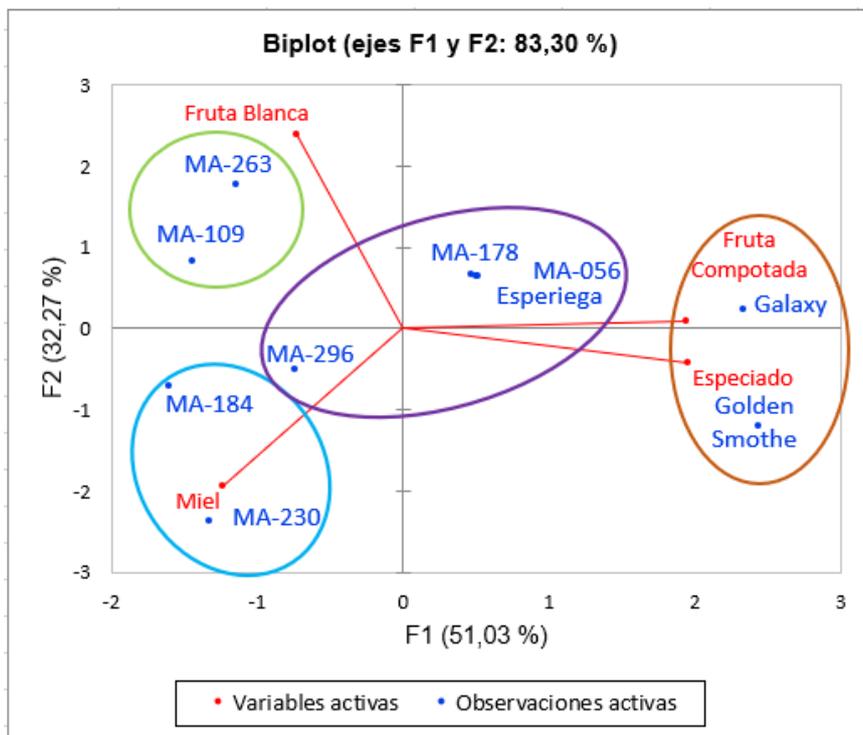


Figura 19. PCA con todas las variedades

Esta representación de los datos nos permite ver, teniendo en cuenta todos los atributos, como se distribuyen las distintas variedades según su perfil aromático promedio. Por ejemplo, la variedad MA-178 presenta las puntuaciones más altas para el atributo “fruta

compotada” (Figura 15), junto con las variedades Golden Smothe y Galaxy. Sin embargo, en la Figura 19, la variedad MA-178, se encuentra situada en una zona más alejada de este atributo (centro). Esto se debe a que en las puntuaciones para el atributo “especiado” (Figura 18), esta variedad presenta valores mucho más bajos en este atributo con respecto a las variedades comerciales (Golden Smothe y Galaxy).

En segundo lugar, se realizaron gráficos de araña o radar representando las puntuaciones medias de los descriptores en cada variedad de manzana. En las siguientes figuras se muestra el espacio sensorial según el tipo de variedad de manzana. Como podemos observar en la Figura 20 (A), las variedades comerciales presentan un perfil en el que predominan los atributos “especiado” y “fruta compotada” con pocos cambios entre ellas. En cambio, en las variedades autóctonas (Figura 20 (B)) encontramos más diversidad, como se ha explicado anteriormente.

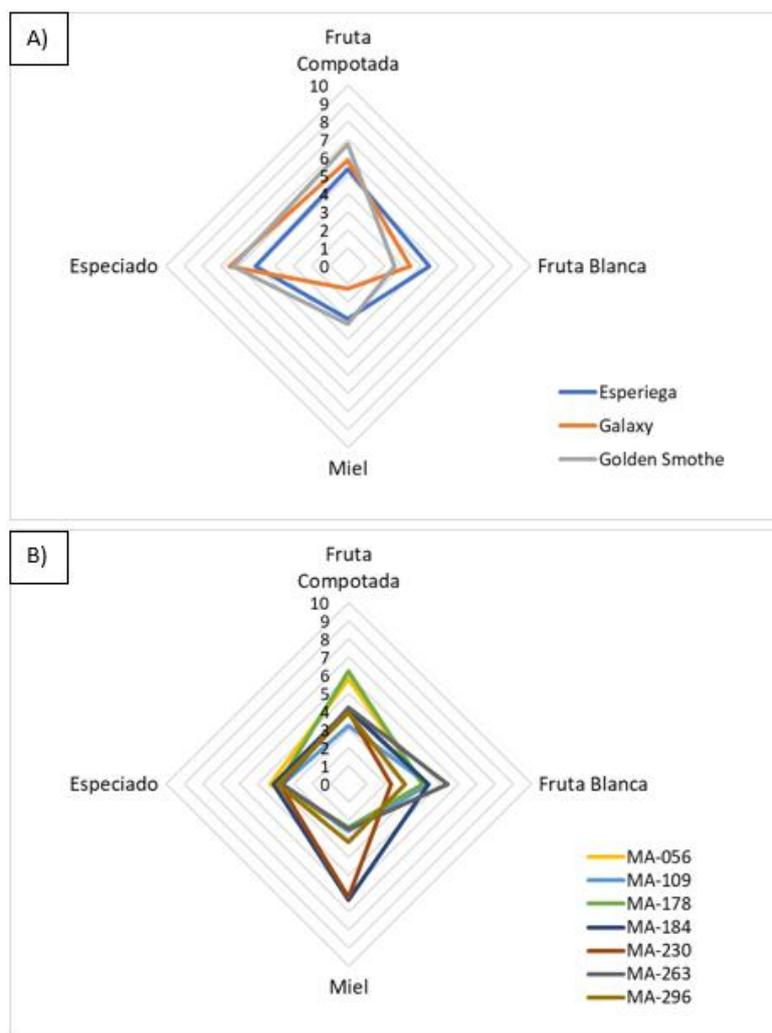


Figura 20. Gráfico radar para las variedades comerciales (A) y autóctonas (B)

5. Conclusiones

En este estudio se ha comprobado que las muestras sin hidrolizar no poseían aroma, mientras que las hidrolizadas presentaban un aroma que recordaba a manzana asada. Por tanto, existen precursores en la pulpa de manzana y el método utilizado es efectivo para su extracción y revelación.

Además, se ha observado que en el proceso de hidrólisis no es necesario utilizar concentraciones mayores a C1, ya que esta concentración es suficiente para detectar el aroma de las muestras tras su hidrólisis.

En cuanto a la optimización del tiempo de hidrólisis, se observa que para la mayoría de los atributos de las variedades estudiadas existe un aumento de la intensidad de aroma con el tiempo de hidrólisis. Los atributos que más tardan en alcanzar su máximo, lo hacen a 192 h sin diferenciarse significativamente de los valores obtenidos a 96 h, y aquellos aromas que se forman antes no se pierden significativamente a tiempo mayores. Por lo tanto, se puede establecer que son necesarios tiempos largos de hidrólisis (192 horas).

Los perfiles aromáticos de las variedades comerciales (Esperiega, Galaxy y Golden Smothe) son claramente distintos a los perfiles aromáticos de las variedades autóctonas (MA-056, MA-109, MA-178, MA-184, MA-230, MA-263, MA-296). Las variedades comerciales presentan un perfil en el que predominan los atributos “especiado” y “fruta compotada”. En cambio, en las variedades autóctonas encontramos más diversidad. La variedad MA-263 destaca por tener mayor intensidad de “fruta blanca”, las variedades MA-056 y MA-178 destacan por el atributo “fruta compotada” y las variedades MA-184 y MA-230 por el atributo “miel”.

Gracias a la liberación del aroma procedente de precursores de la pulpa de manzana mediante la hidrólisis ácida, podemos observar las diferencias que presenta el perfil aromático de cada variedad de manzana y con ello, además de caracterizar estas variedades. Esto hace posible poner en valor las variedades autóctonas aragonesas y, en un futuro, su posible explotación tecnológica. Pero para ello, se debe seguir completando esta investigación jerarquizando e identificando los compuestos responsables de su aroma utilizando otras técnicas instrumentales como Cromatografía de Gases-Olfatometría (GC-O) o Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas (GC-MS).

6. Bibliografía

Alegre, Y., Arias-Pérez, I., Hernández-Orte, P., y Ferreira, V. (2020). “Development of a new strategy for studying the aroma potential of winemaking grapes through the accelerated hydrolysis of phenolic and aromatic fractions (PAFs)”. *Food Research International*, 127(108728), pp. 1-13. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108728

Coelho, E., Pinto, M., Bastos, R., Cruz, M., Nunes, C., Rocha, S.M., y Coimbra, M.A. (2021). “Concentrate Apple Juice Industry: Aroma and Pomace Valuation as Food Ingredients”. *Applied Sciences*, 11(5), pp. 2443. DOI: 10.3390/app11052443

De Torres Frago, C. (2021). *Caracterización del potencial aromático de manzanas autóctonas aragonesas*. Trabajo fin de Grado. Universidad de Zaragoza.

Espino-Díaz, M., Sepúlveda, DR., González-Aguilar, G., Olivas. GI. (2016). “Biochemistry of Apple Aroma: A Review”. *Food Technology and Biotechnology*, 54(4), pp 375–394. DOI: 10.17113/ftb.54.04.16.4248

Ferreira, V. y López, R. (2019). “The Actual and Potential Aroma of Winemaking Grapes”. *Biomolecules*, 9, pp. 818. DOI: 10.3390/biom9120818

García Calvo, M. J. (2020). *Investigación sobre la Potencialidad Aromática de las Manzanas*. Trabajo fin de Máster. Universidad de Zaragoza.

Martínez, R., Legua, P., Hernández, F., Carbonell-Barrachina, A., Gogorcena, Y., Martínez-Nicolás, J.J., y Melgarejo, P. “Molecular, Physico-Chemical, and Sensory Characterization of the Traditional Spanish Apple Variety “Pero de Cehegín””. *Agronomy*, 10, pp. 1093. DOI:10.3390/agronomy10081093

Reig, G., Blanco, B., Castillo, A.M., Gogorcena, Y., y Moreno, M.A. (2015). “Phenotypic diversity of Spanish apple (*Malus x domestica* Borkh) accessions grown at the vulnerable climatic conditions of the Ebro Valley, Spain”. *Scientia Horticulturae*, 185, pp. 200-210. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.01.024

Ronald, A., Schneider, R., Razungles, A., Le Guernevé, C., y Cavelier, F. (2010). “Straightforward Synthesis of Deuterated Precursors to Demonstrate the Biogenesis of

Aromatic Thiols in Wine”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, pp. 10684–10689. DOI:10.1021/jf101996p

Salinas, M.R., Serrano de la Hoz, K., Zalacain, A., Lara, J.F., y Garde-Cerdán, T. (2012). “Analysis of red grape glycosidic aroma precursors by glycosyl glucose quantification”. *Talanta*, 89, pp. 396-400. DOI: 10.1016/j.talanta.2011.12.050

Serrano de la Hoz, K. (2014). *Determinación de precursores aromáticos glicosídicos de uvas, mostos y vinos, blancos y tintos. Aplicación en bodega*. Tesis Doctoral. Universidad de Castilla - La Mancha.

Tominaga, T., Peyrot des Gachons, C., y Dubourdieu, D. (1998). “A New Type of Flavor Precursors in *Vitis vinifera* L. cv. Sauvignon Blanc: S-Cysteine Conjugates”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, pp. 5215–5219. DOI: 10.1021/jf980481u

Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., Jeffery, D. W., Waterhouse, A. L., Sacks, G. L., & Jeffery, D. W. (2016). *Understanding Wine Chemistry*. West Sussex: Wiley.

Yang, S., Meng, Z., Fan, J., Yan, L., Yang, Y., y Zhao, Z. (2021). “Evaluation of the volatile profiles in pulp of 85 apple cultivars (*Malus domestica*) by HS–SPME combined with GC–MS”. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, pp. 4215–4225. DOI: 10.1007/s11694-021-01003-8

7. ANEXOS

Anexo 1: Plantilla del entrenamiento sensorial

Entrenamiento

Sesión 1

Juez: _____

Fecha: 09/11/2022

A continuación, se le presentan una serie de **recipientes codificados**. Se pide que **huela cada uno** y anote el descriptor que considere en cada código:

<u>Código</u>	<u>Descriptor</u>
1. _____	_____
2. _____	_____
3. _____	_____
4. _____	_____
5. _____	_____
6. _____	_____
7. _____	_____
8. _____	_____
9. _____	_____

Anexo 2: Ficha de análisis sensorial para la optimización de la concentración del extracto acuoso de precursores en el reconstituido

NOMBRE:

FECHA:

Delante de vosotros tenéis cuatro copas numeradas. Debéis oler y ordenar de menor a mayor intensidad de aroma.

Si resulta imposible diferenciar algunas muestras podéis indicarlo con el signo igual (=) entre las posiciones correspondientes.

Se recomienda que hagáis en primer lugar una ordenación provisional y posteriormente la verifiquéis siguiendo el orden de intensidad creciente.

También se recomienda esperar unos segundos entre copa y copa.

Intensidad MÍNIMA

Intensidad MÁXIMA

Puesto 1:

GRACIAS

Anexo 3: Ficha de análisis sensorial con las series 1,2,3.

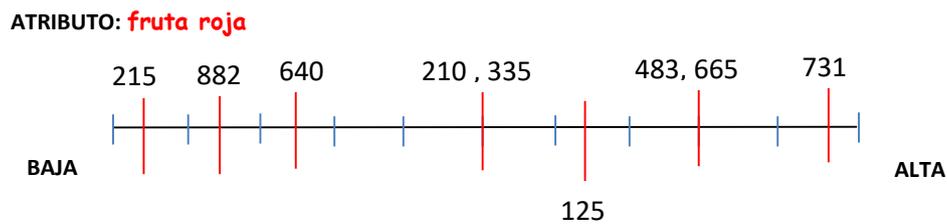
SENSORIAL

Se presentan TRES series de muestras, para cada serie se valorarán los siguientes atributos: "FLORAL", "FRUTA COMPOTADA", "FRUTA BLANCA/AMARILLA", "MIEL", "ESPECIADO" Y "OTROS" (el cual se rellenará cuando se encuentren otros atributos distintos a los mencionados en las muestras).

Dentro de cada serie, para cada atributo anotado, **SELECCIONE DOS (o más) muestras de mayor y menor INTENSIDADES** y sitúelas en la escala (marcando con una "raya (|)" y escribiendo sus códigos).

A continuación, le pedimos que evalué la **INTENSIDAD PARA LAS OTRAS MUESTRAS**, comparándolas con las anteriores y marque una "raya (|)" y el código de la muestra en la escala tal y como se muestra en el ejemplo siguiente.

Ejemplo:

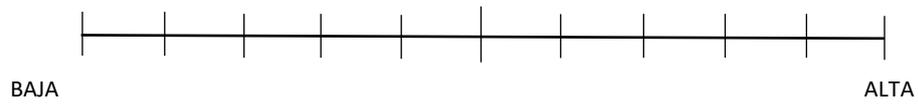


CÓDIGO SUJETO.....

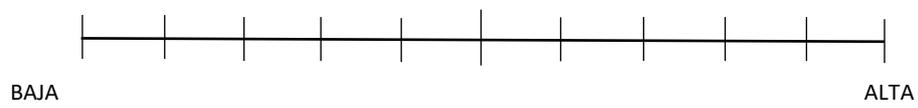
FECHA.....

SERIE 1

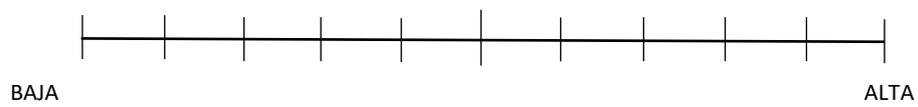
ATRIBUTO: Fruta compotada



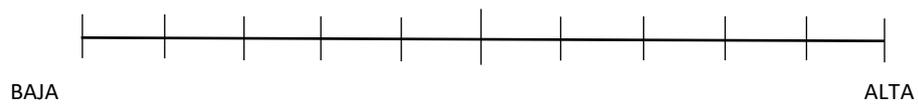
ATRIBUTO: Fruta blanca



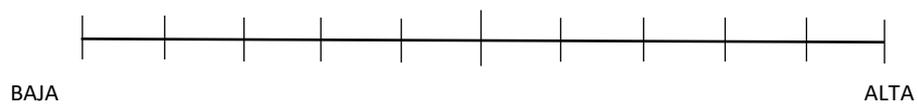
ATRIBUTO: Floral



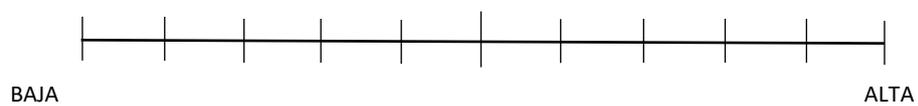
ATRIBUTO: Miel



ATRIBUTO: Especiado



ATRIBUTO: Otros:.....

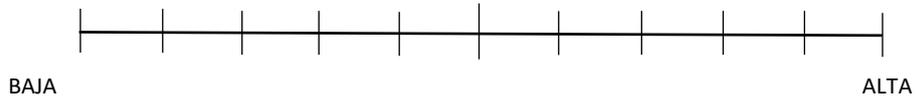


CÓDIGO SUJETO.....

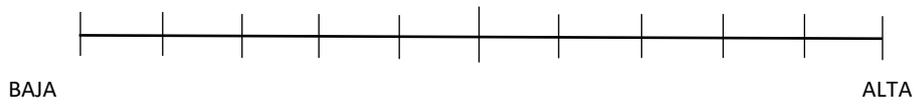
FECHA.....

SERIE 2

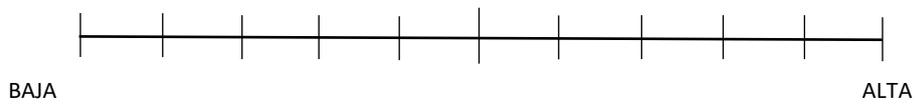
ATRIBUTO: Fruta compotada



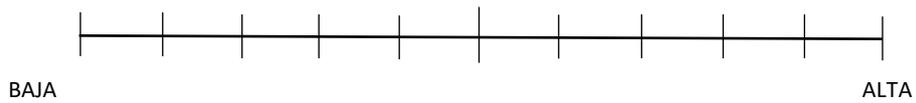
ATRIBUTO: Fruta blanca



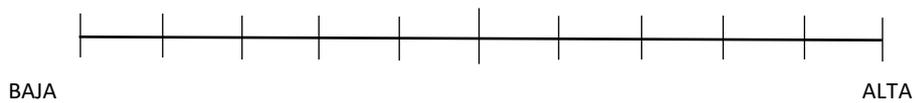
ATRIBUTO: Floral



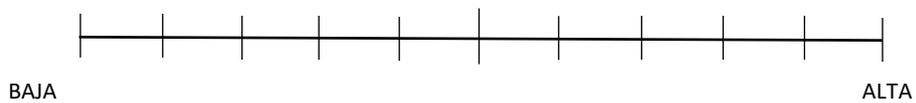
ATRIBUTO: Miel



ATRIBUTO: Especiado



ATRIBUTO: Otros:.....

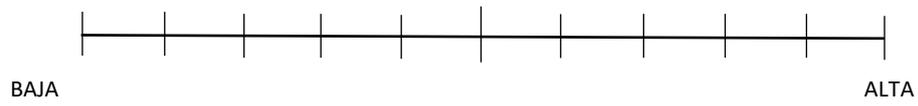


CÓDIGO SUJETO.....

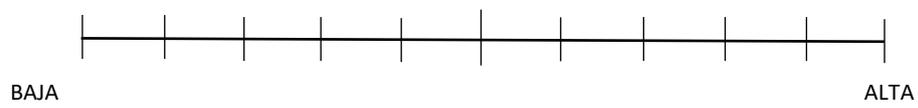
FECHA.....

SERIE 3

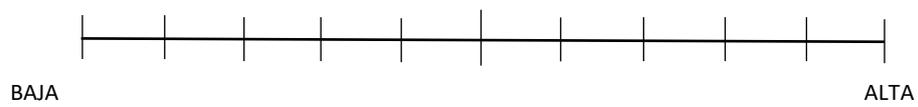
ATRIBUTO: Fruta compotada



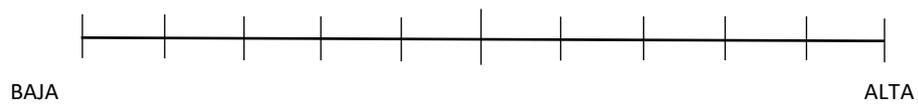
ATRIBUTO: Fruta blanca



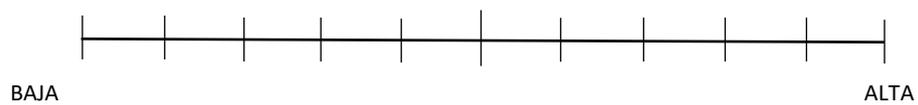
ATRIBUTO: Floral



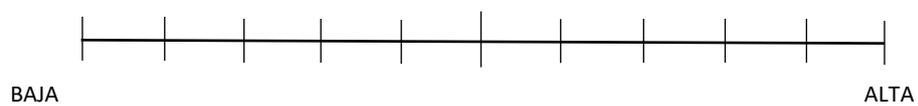
ATRIBUTO: Miel



ATRIBUTO: Especiado



ATRIBUTO: Otros:.....



Anexo 4: Ficha de análisis sensorial para todas las variedades



¡Bienvenido a esta sesión de análisis sensorial!

Delante de vosotros tenéis unas copas codificadas cada una por un número de tres cifras.

Os pedimos que **empecéis oliendo** las copas **por la izquierda**.

Para cada una de ellas, vais a **evaluar la intensidad** de cada uno de los atributos mediante el **uso de la escala**.

Cuando terminéis con la primera copa **pasaréis a la siguiente** y os pedimos que **no volváis** a probar la muestra anterior.

No existe una respuesta correcta ni ninguna incorrecta.

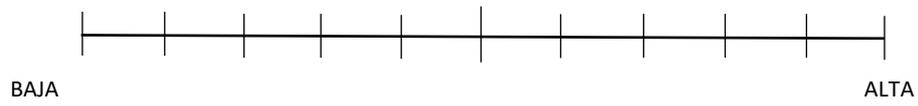
¡Simplemente sigue tu intuición!

CÓDIGO SUJETO:

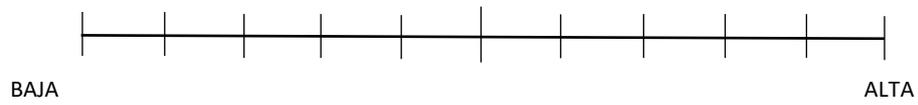
FECHA.....

CÓDIGO MUESTRA:

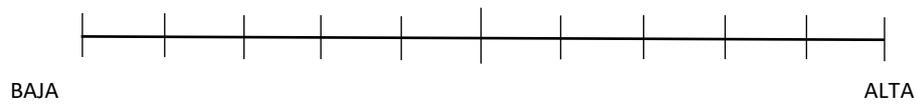
ATRIBUTO: Especiado



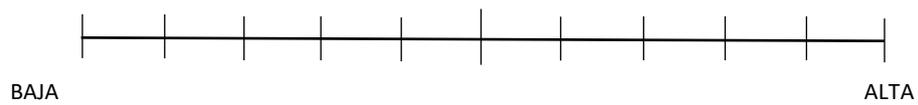
ATRIBUTO: Floral



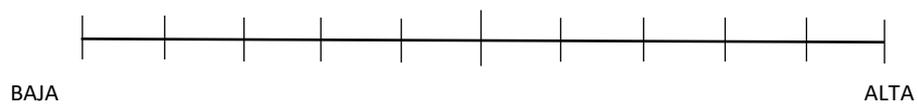
ATRIBUTO: Fruta blanca



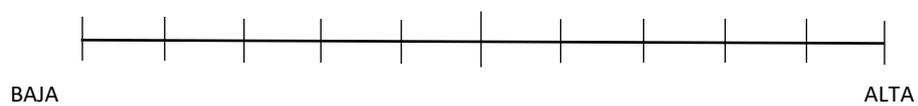
ATRIBUTO: Miel



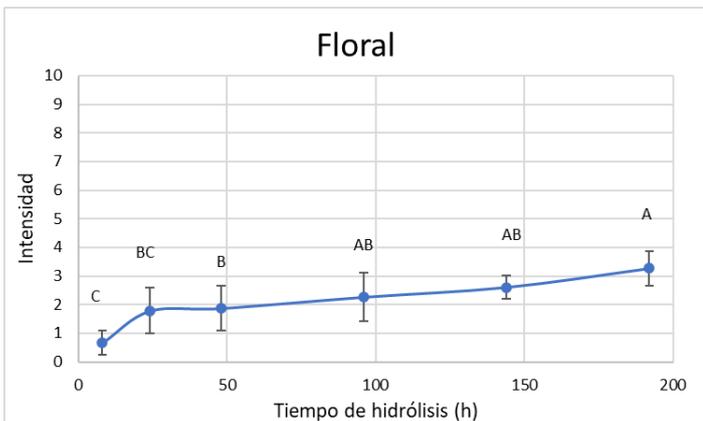
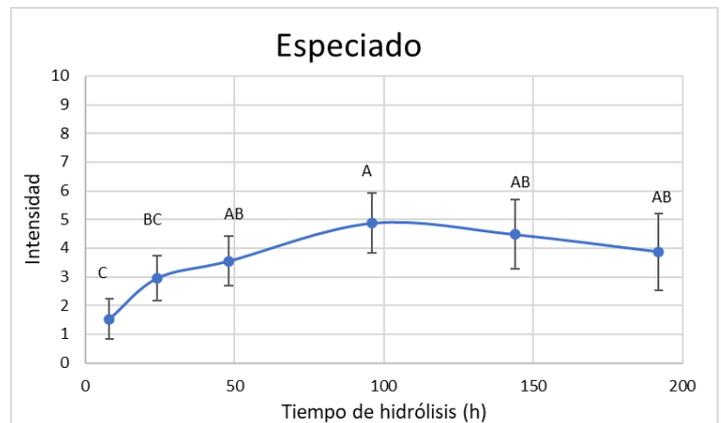
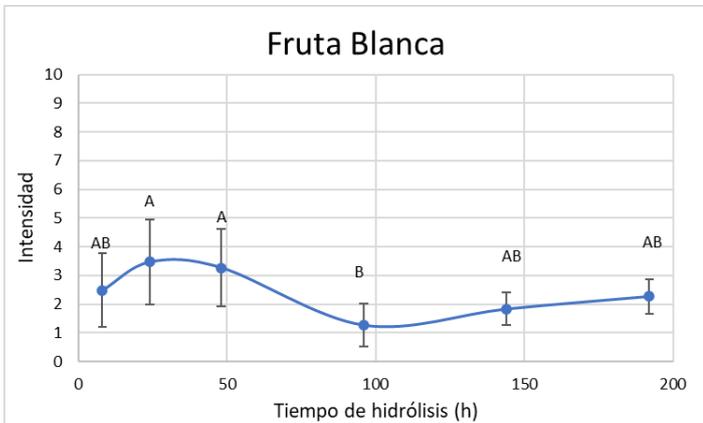
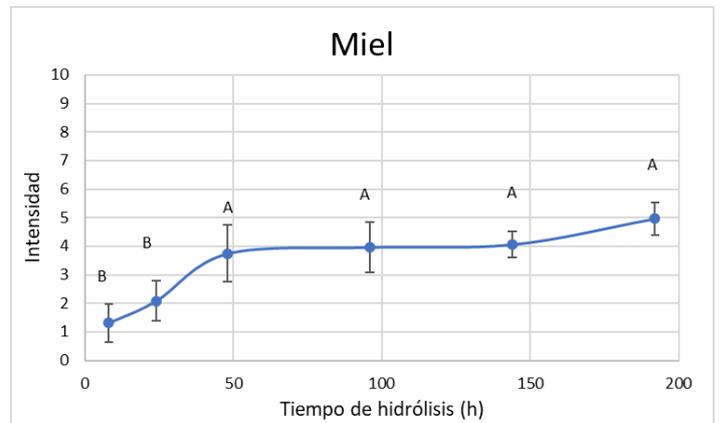
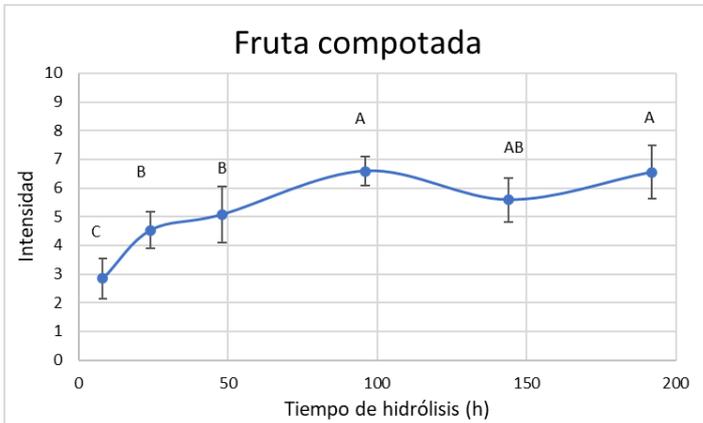
ATRIBUTO: Fruta compotada



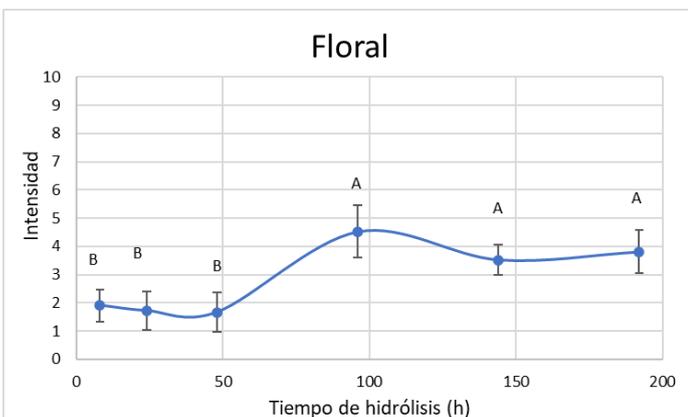
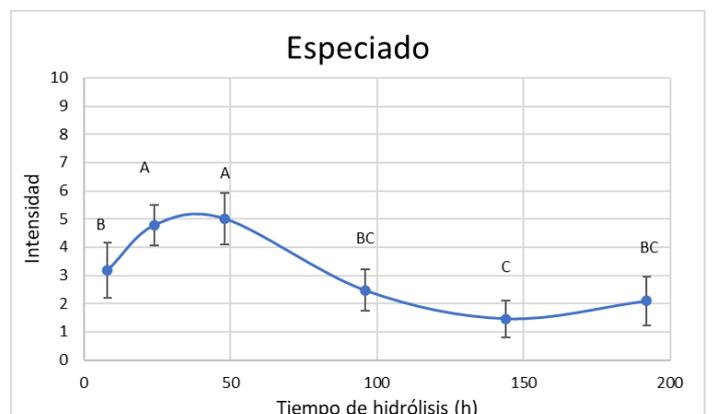
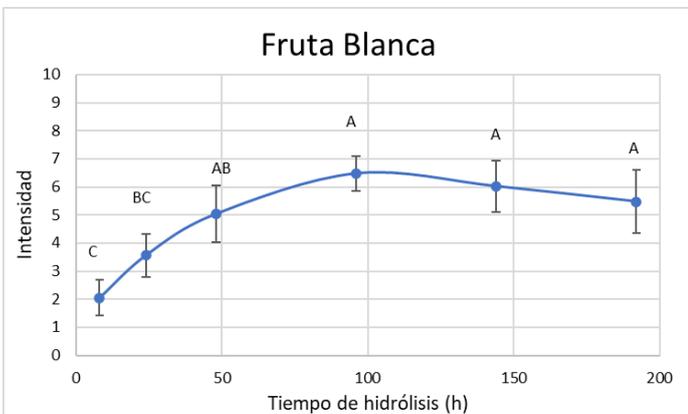
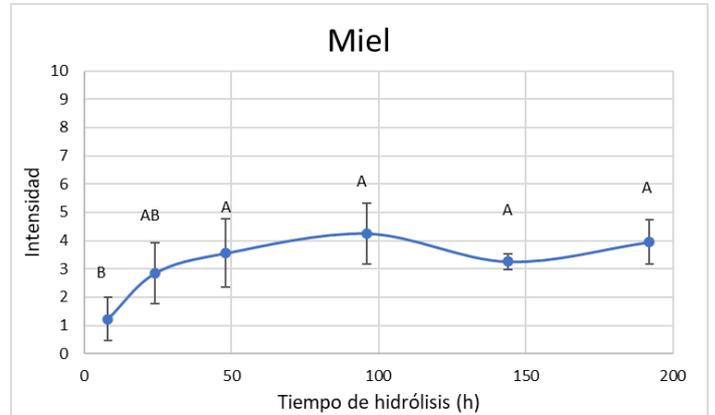
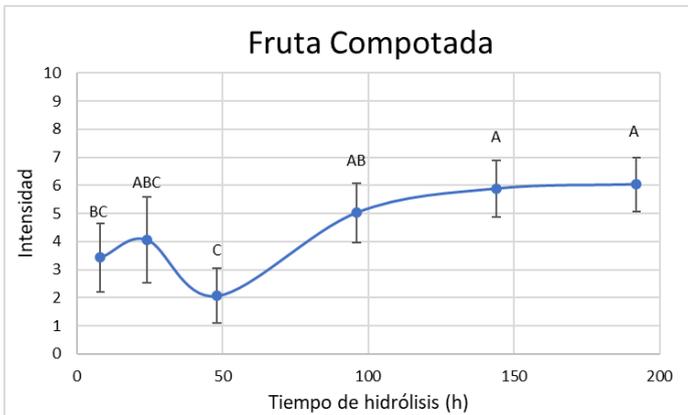
ATRIBUTO: Otros:



Anexo 5: Gráficas para cada atributo de intensidad frente a tiempo de hidrólisis en la variedad Golden Smothe



Anexo 6: Gráficas para cada atributo de intensidad frente a tiempo de hidrólisis en la variedad MA-109



Anexo 7: Gráficas para cada atributo de intensidad frente a tiempo de hidrólisis en la variedad MA-263

