

**“Nuevas aproximaciones científicas
analíticas y sensoriales para evaluar el
aroma retronasal durante el consumo
de vino”**

Dra. Miriam del Pozo Bayón

INSTITUTO DE INVESTIGACION EN CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN (CIAL)

Centro mixto (CSIC-UAM)



GRUPO DE BIOTECNOLOGÍA ENOLÓGICA APLICADA (BEA)



- Seguridad del vino** (aminas biógenas, BAL, métodos alternativos al empleo de SO_2 en vinos)
- Vino-salud** : Propiedades fisiológicas del vino y sus componentes (impacto de polifenoles en la microbiota intestinal).
- Calidad sensorial del vino** (aspectos relacionados con el aroma).

Aroma del vino



Calidad



Preferencias de consumo

<p>Rich/Nutty/Brany (cooking rxns)</p> <p>Baked Bread (Maillard Rxn)</p> <p>Maltol Malt Baked Bread (caramelization)</p> <p>Buttery</p> <p>Caramel/Maple (caramelization)</p>	<p>Putrid (thiols)</p> <p>body-odor</p> <p>Cat urine</p> <p>Garlic</p> <p>Onion</p> <p>Grapefruit</p> <p>Coffee</p>	<p>Fishy/Rotten (amines)</p> <p>Rotten</p> <p>Fecal</p> <p>Fishy</p>	<p>Pungent (isothiocyanates)</p> <p>mustards</p> <p>horseradish</p> <p>wasabi</p>		
<p>Fatty/Rich (lactones)</p>	<p>Fruity</p>	<p>Floral/Green</p>	<p>Fresh/Woody</p>	<p>Earthy/Dusty</p>	<p>Spicy/Warming</p>
<p>Coconut</p> <p>Peach</p>	<p>Pear</p> <p>Apple</p> <p>Strawberry</p> <p>Grape</p>	<p>Cucumber</p> <p>citrus / melon</p> <p>citrus / rose / green</p>	<p>jasmine/ginger/lemon-grass</p> <p>Rose</p>	<p>Cinnamaldehyde</p> <p>Piperine</p> <p>Capsaicin</p>	

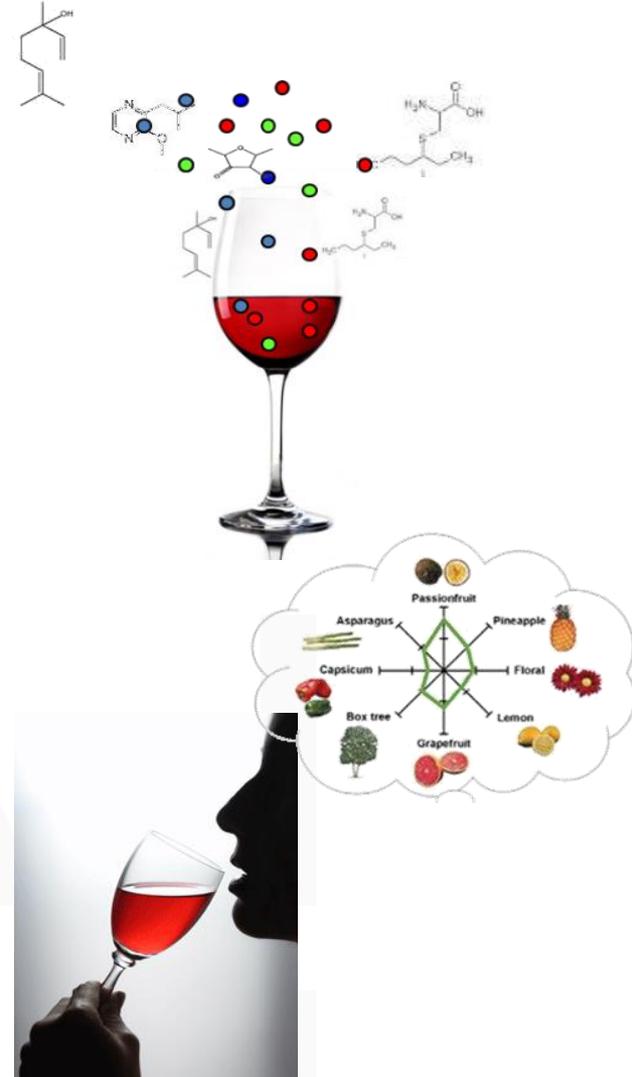
Gran número de trabajos científicos enfocados a la caracterización química de los compuestos (volátiles) con impacto en las características sensoriales

Sin embargo...

Caracterización de la **composición aromática**
de un vino

Razones?

No correlaciona directamente con la percepción
del aroma durante el **consumo**



Razones?

Caracterización de la **composición aromática** de un vino

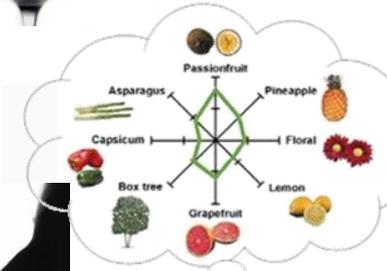
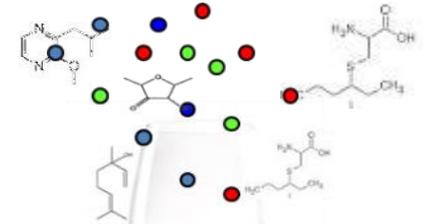
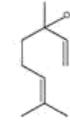
Interacciones perceptuales
(sinergismos/antagonismos)

Identificación compuestos impacto

Efecto matriz del vino
(partición volátiles)

Fisiología oral

No correlaciona directamente con la percepción del aroma durante el **consumo**



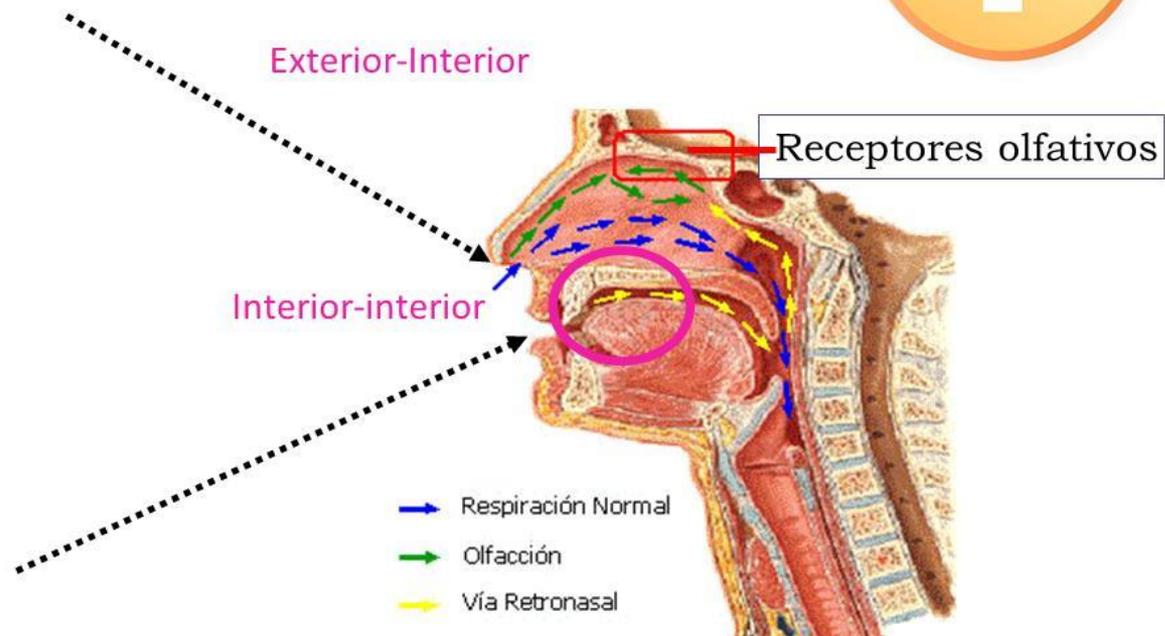
Vías de entrada de moléculas del aroma en el organismo



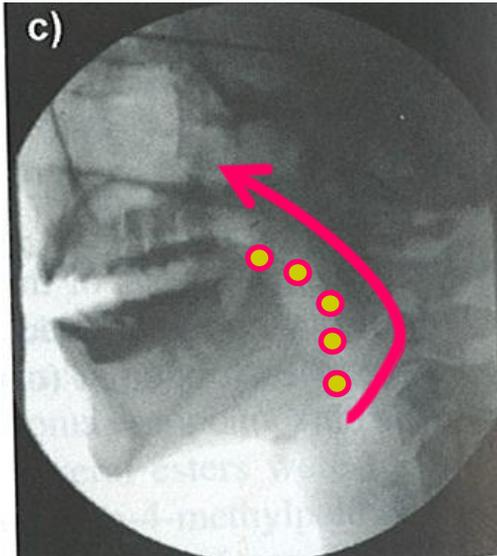
Vía ortonasal
(Respiración)



Vía retronasal
(Ingestión)



Percepción del aroma después de la deglución



Liberación de odorantes debido a los flujos de exhalación tras la deglución del líquido

Odorantes adsorbidos a la mucosa oral/faríngea

Odorantes incluidos en restos de matrices alimentarias (sólidas o líquidas) que recubren las mucosas

Percepción inmediata (“swallowing breath”)

Percepción prolongada (“after-odour, persistencia aromática”): sucesivas acciones de deglución

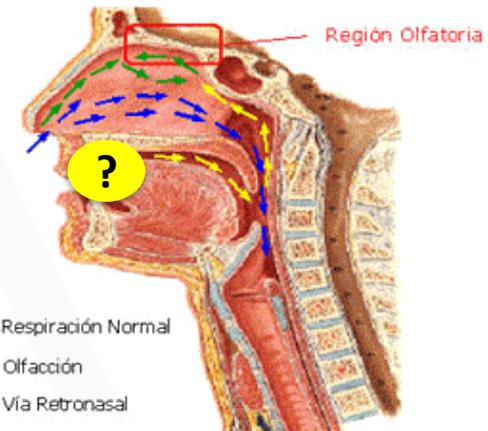
INVESTIGACIÓN



¿Qué ocurre con las moléculas del aroma durante el proceso de consumo de vino?



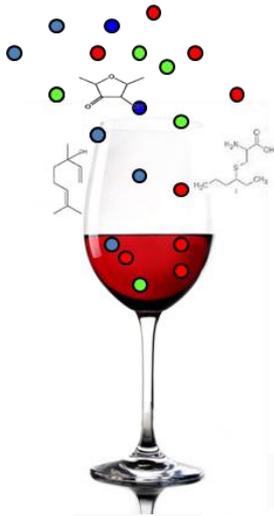
FACTORES COMPOSICIONALES



FACTORES FISIOLÓGICOS

Novedosa aproximación científica

Centrada en el producto



Caracterización química de las moléculas odorantes y su impacto ortonasal (olor)

Centrada en la interacción del producto en el individuo



Comprender la interacción entre componentes del vino y estructuras y componentes de la cavidad oral y su impacto retronal (durante el consumo)

Metodologías analíticas - *in vivo*:

Monitorización del aroma en la cavidad nasal u oral durante la ingesta de vino



RATD-CIS-GCMS

Retronasal aroma trapping device



SOOM-GCMS

Spit-off odorant measurement



Intra-oral SPME-GCMS

Intra-oral aroma monitoring using SPME



In vivo-PTRMS

In-nose aroma monitoring using PTRMS

Monitorización del aroma durante el consumo

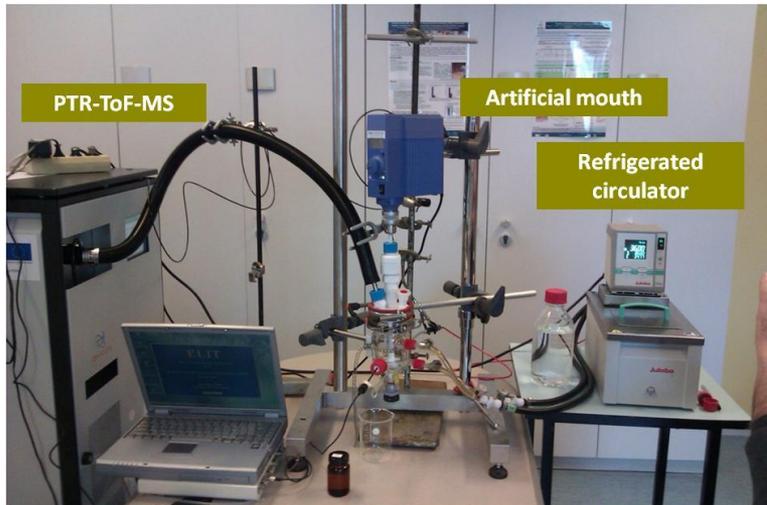
Metodologías analíticas *-in vitro* empleando bocas artificiales

Monitorización del aroma empleando dispositivos que simulan las condiciones de procesamiento oral del vino

Artificial Mouth

PTR-ToF-MS

On-line



(Muñoz-González et al., 2015, AJGWR)

Artificial Mouth

STATIC/DYNAMIC -HS-SPME-GC-MS

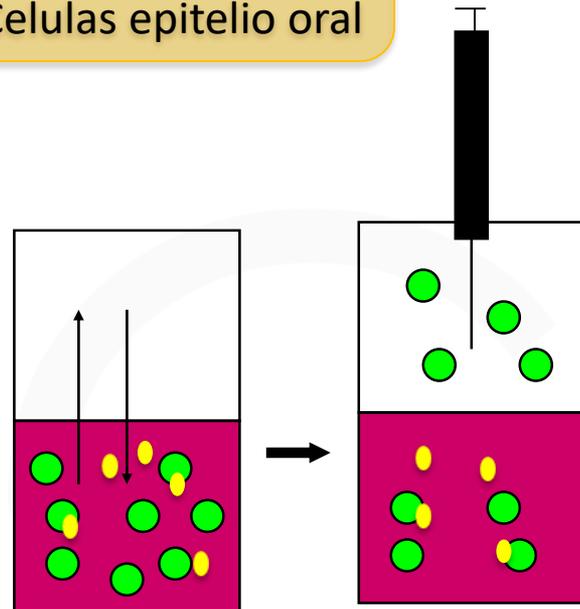
Off-line



(Muñoz-González et al., 2014b, JAFIC)

Metodologías analíticas –*ex vivo* en sistemas orales –*in vitro*

Evaluación de las interacciones entre compuestos del aroma, componentes del vino (polifenoles, manoproteínas y componentes de la cavidad oral (saliva, células epiteliales)



Vinos sintéticos

Monitorización del HS en condiciones de equilibrio HS-SPME (“true headspace”)



Metodologías sensoriales temporales

Permiten una mejor comprensión de la dinámica de liberación oral del aroma durante las fases orales y post-orales (persistencia aroma)

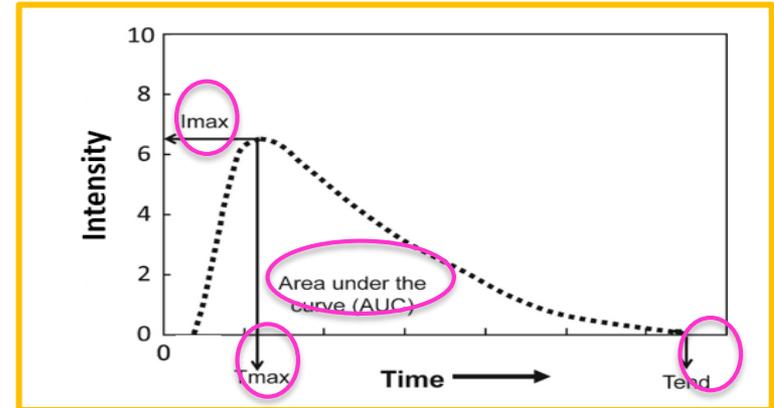
Progressive profiling

Evaluación de la intensidad a distintos tiempos tras el consumo



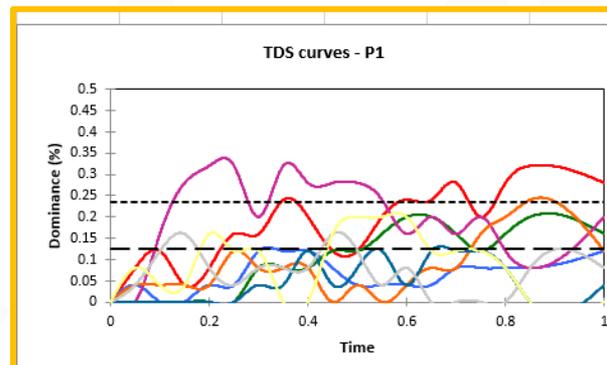
Time-Intensity

Evaluación de la intensidad de forma continua



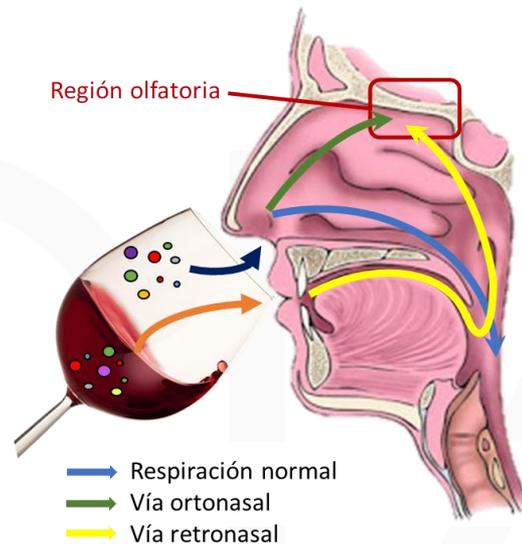
Temporal dominance sensation (TDS)

Evaluación de la dominancia de un atributo durante/tras el consumo



Aplicaciones

Evaluación del impacto de diferentes componentes o tratamientos al vino en el aroma retronasal



Capacidad de adsorción compuestos típicos del aroma del vino a la mucosa oral y cinéticas de liberación



VINO (15 mL) + 6 compuestos del aroma
 In mouth ≠ times (15 s, 30 s, 60 s)

Isoamyl acetate
Ethyl hexanoate
Linalool
Guaiacol
β-phenylethanol
β-Ionone

SOOM (spit off odorant measurement)



Aroma retenido a la mucosa oral

Buettner et al. 2002

LLE (CH₂Cl₂)

Vino expectorado

Intraoral-HS-SPME

A intervalos de tiempo definidos tras la expectoración (30, 60, 120, 300 s)



Aroma liberado de la cavidad oral

Monitorización de la cavidad oral (2 min)

GC/MS Analysis



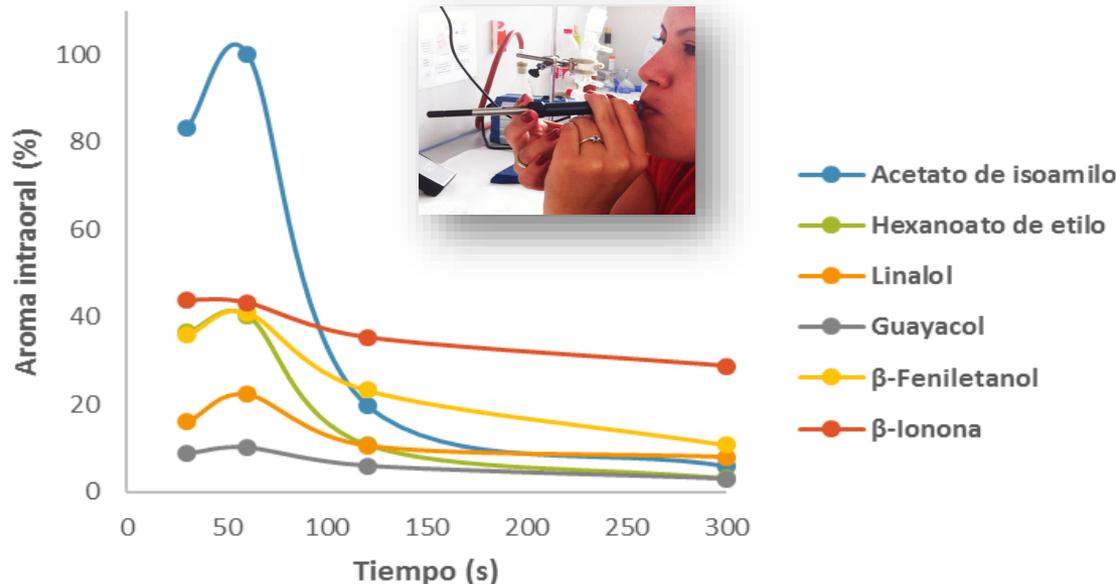
Adsorción de compuestos del aroma a la mucosa oral (SOOM)

	% adsorción		
	15 s	30 s	60 s
Isoamyl acetate	7.07	26.19	16.30
Ethyl hexanoate	33.26	45.47	41.32
Linalool	25.50	37.99	35.57
Guaiacol	33.36	45.41	44.31
β -phenylethanol	0.00	9.92	1.90
β -Ionone	36.38	46.89	44.62



Los compuestos de aroma más hidrofóbicos son más susceptibles para la adsorción a la mucosa (>40 % se queda retenido)

Liberación intraoral del aroma (intraoral-SPME)



Esteres se liberan rápidamente y desaparecen, mientras que la β -ionona se libera de forma lenta y gradual



Persistencia aromática depende de las propiedades fisicoquímicas de los compuestos del aroma

Relación entre la liberación del aroma intraoral y la percepción de la intensidad del aroma

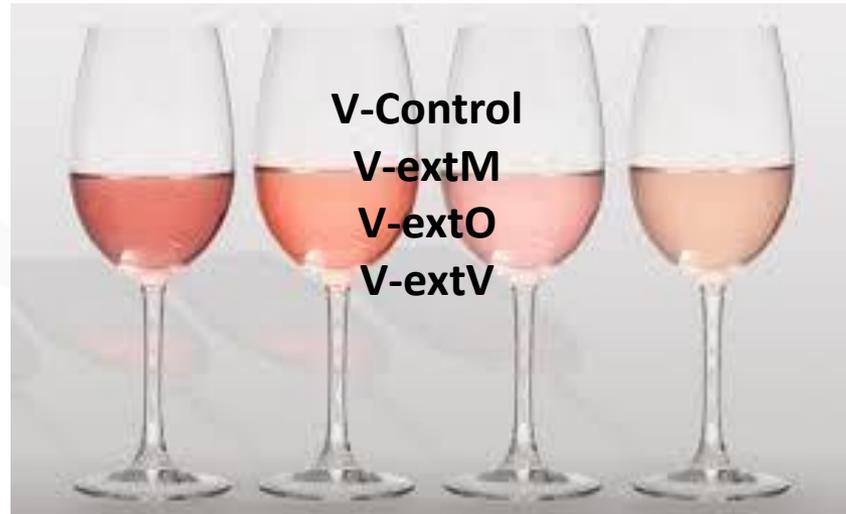
Extractos fenólicos

150 mg/L

2 mg/L

Aromas target

- extM**: Pepita de uva (70% monómeros de procianidina)
- extO**: Pepita de uva (78% oligómeros de procianidina)
- **extV**: vino tinto (antocianos)



Hexanoato de etilo,
acetato de isoamilo,
guayacol, β -feniletanol,
linalol, β -ionona

Manzana, plátano,
especiado, rosa-miel,
moscatel, violeta

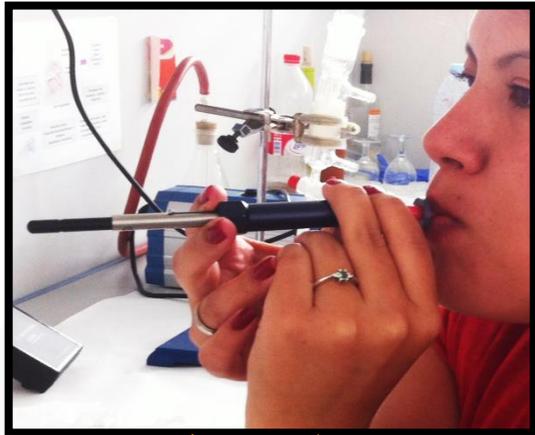
4 tipos de vinos

VINOS

Evaluación del aroma liberado en la cavidad oral en condiciones *-in vivo*

intra-oral SPME

n=8



T=0 min

T=4 min

4 vinos x 3 x 2 tiempos x 8 individuos

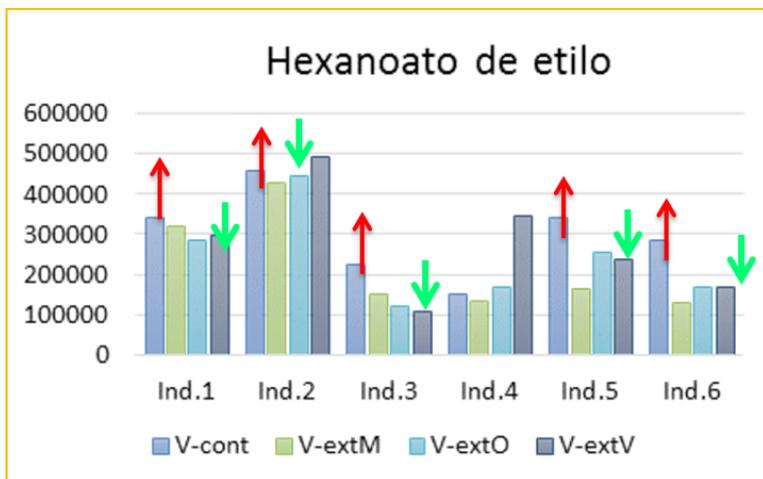
Evaluación de la intensidad del aroma de descriptores específicos asociados con aromas "target"

Análisis sensorial descriptivo

n=10

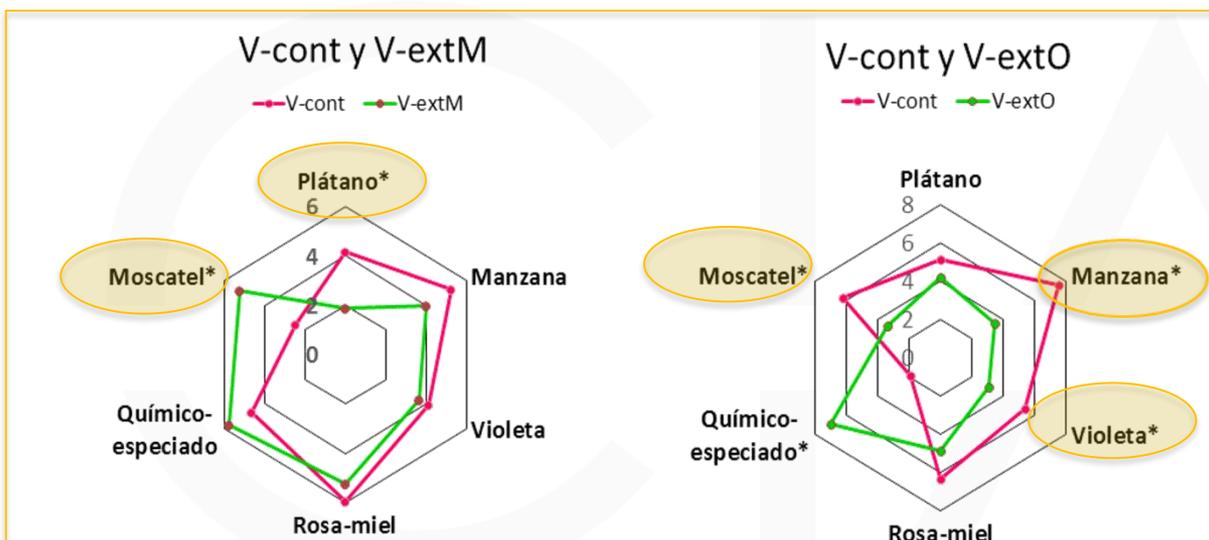


Liberación intraoral del aroma



Mayor liberación intraoral de aroma en los vinos control (V-Cont) a t=0 y a t=4
 Los vinos con extracto (Vext-O, VextM) liberan menor aroma intraoral

Análisis sensorial descriptivo



Hexanoato de etilo, acetato de isoamilo, β -ionona, linalol



Manzana, plátano, violeta y moscatel : \downarrow intensidad aromática en vino con extracto



Buena congruencia entre el análisis intra-oral SPME y el sensorial

Impacto del etanol en la liberación del aroma y en la persistencia aromática de ésteres frutales del vino

6 tipos de vinos

Vino	Etanol	GSE
V0C	0	No
V0P	0	Sí
V5C	5	No
V5P	5	Sí
V10C	10	No
V10P	10	Sí

Etanol: 0%, 5%, 10%

Extracto de pepita de uva (GSE)



Thinkstock

Compuesto de aroma	Fórmula química	Peso molecular (g/mol)	Log P*	Punto de ebullición (°C)	OT (mg/L)	Descriptor
Etil butirato	<chem>CCCC(=O)OCC</chem>	116,16	1,3	120	0,015	Gominola
Etil valerato	<chem>CCCCC(=O)OCC</chem>	130,18	1,9	145	0,027	Fruta
Etil hexanoato	<chem>CCCCCC(=O)OCC</chem>	144,21	2,4	168	0,076	Piña
Etil octanoato	<chem>CCCCC(=O)OCC</chem>	172,26	3,8	208,5	0,5 – 2	Melocotón, pera
Etil decanoato	<chem>CCCCCCCC(=O)OCC</chem>	200,32	4,9	241	0,5 – 1	Fruta madura
Acetato de isoamilo	<chem>CC(C)CC(=O)OC</chem>	130,19	2,3	142	0,23	Plátano

*Log P: log del coeficiente de partición de la mezcla octanol/agua. Corresponde a la hidrofobicidad de los compuestos del aroma



10 individuos

6 VINOS

Enjuagues, Expectorado

1. Aproximación *-in vivo*: Intra-oral SPME

Evaluación de la liberación intra-oral de aroma inmediata y prolongada (transcurridos 4 minutos desde la expectoración del vino)



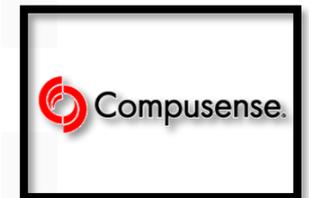
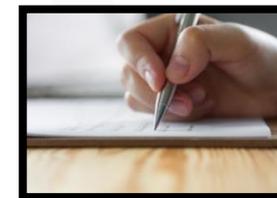
Monitorización a dos tiempos tras la expectoración del vino:

t=0 minutos (Liberación inmediata) t=4 minutos (Liberación prolongada)

2. Análisis sensorial dinámico

Evaluación de la intensidad aromática durante 3 minutos desde la expectoración del vino

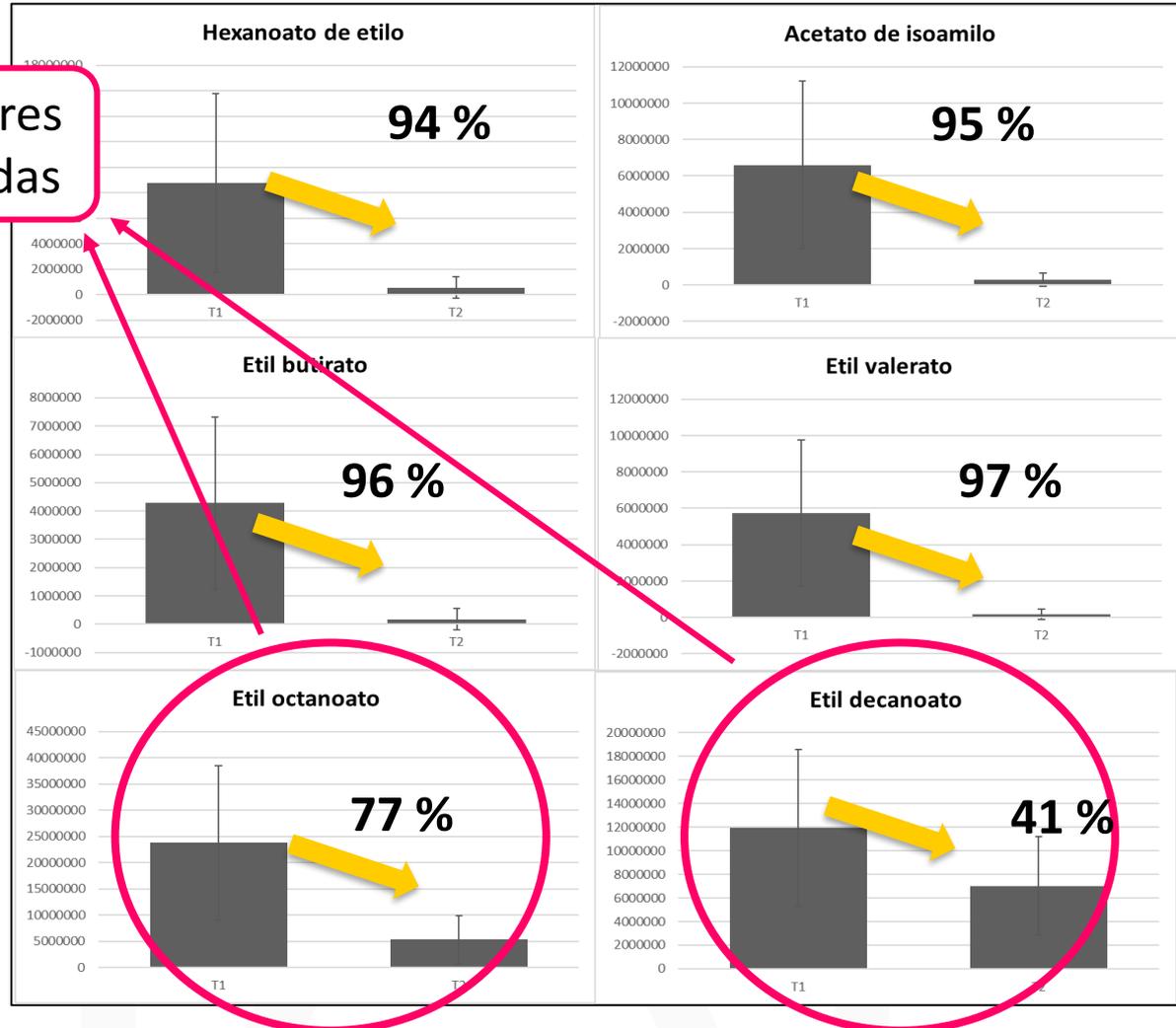
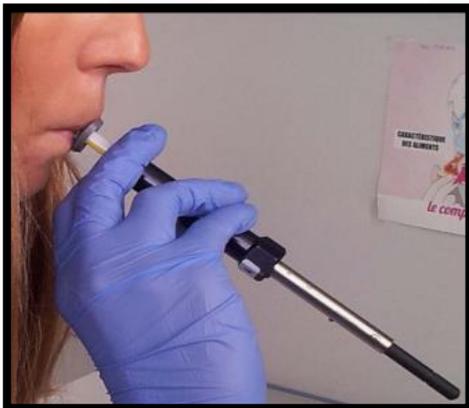
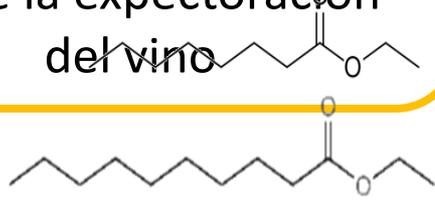
Perfil progresivo Tiempo-Intensidad



Efecto del tiempo de monitorización tras la expectoración y del tipo de compuesto:

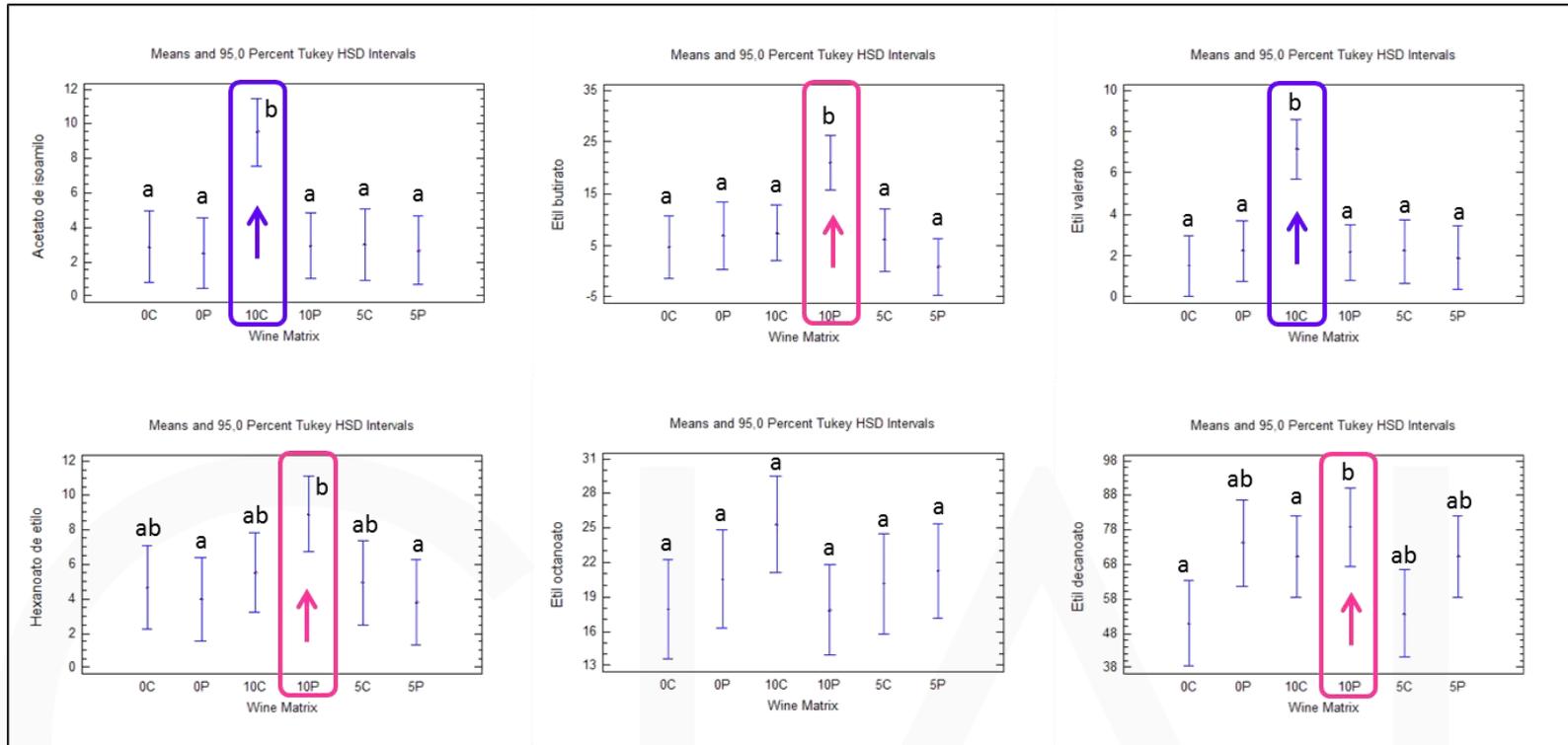
↑ **Pérdidas significativas** (90%) de estereoisómeros aromáticos tras 4 minutos desde la expectoración del vino

menores pérdidas



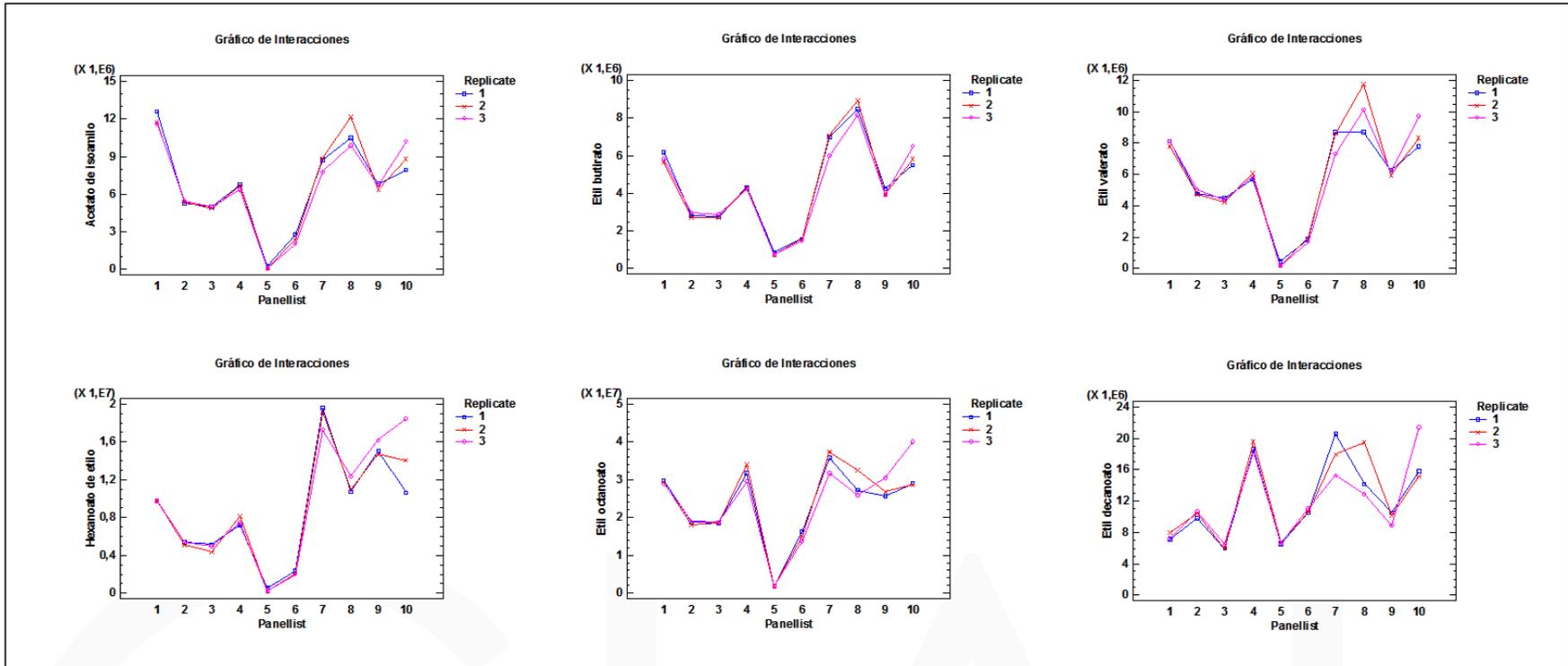
Efecto del tipo de vino en el aroma remanente en la cavidad oral (OAR) transcurridos 4 minutos desde la expectoración del vino

$$\% \text{ Aroma remanente en la cavidad oral OAR} = \frac{\text{Aroma liberado a } t=4 \text{ min}}{\text{Aroma liberado a } t=0 \text{ min}} \times 100$$



Tanto en vinos con GSE, como en vinos sin GSE, un 10% de **etanol**, ↑ el % de aroma remanente en la cavidad oral.

Efecto del individuo en la liberación intra-oral de aroma:

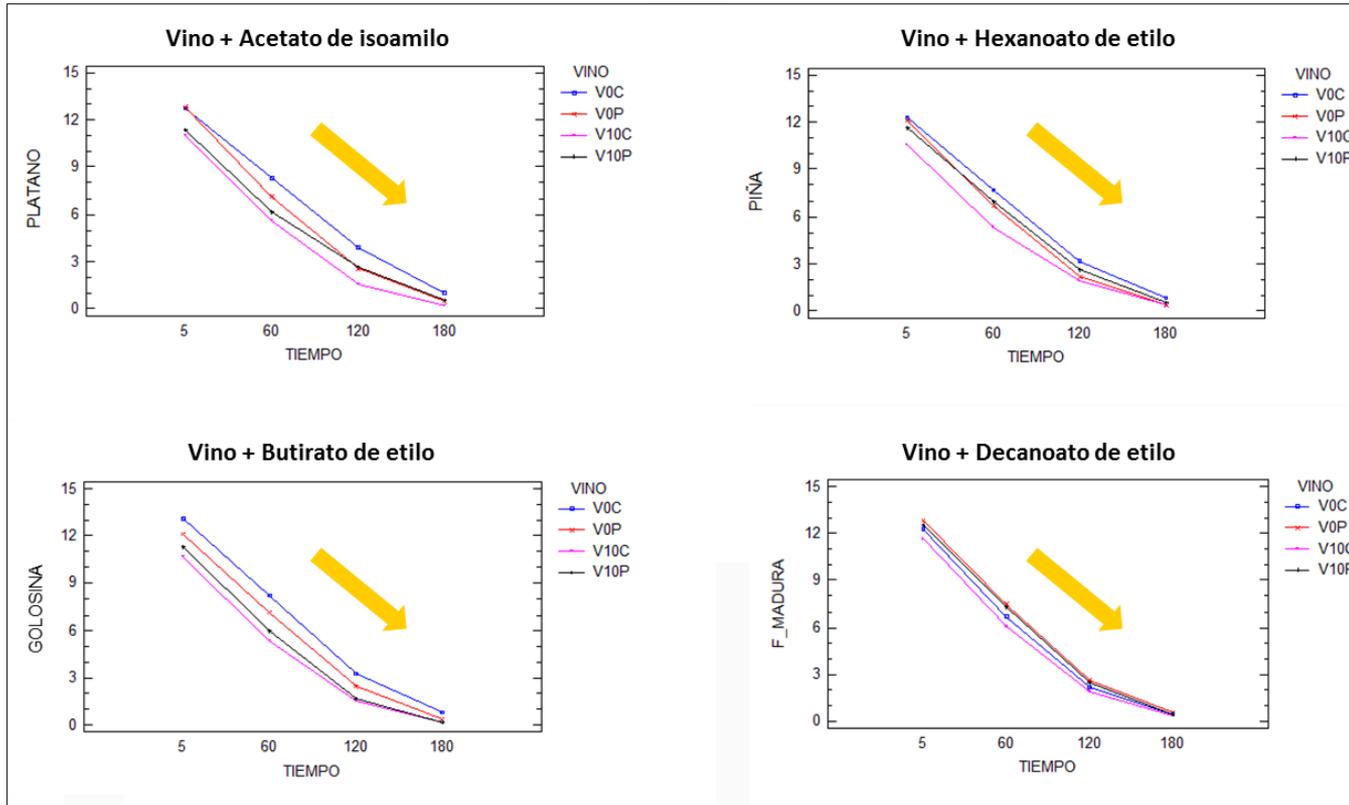


Diferencias interindividuales en la liberación intra-oral de los 6 aromas

Buena repetibilidad en los triplicados obtenidos para el mismo individuo

Análisis sensorial dinámico: Perfil progresivo

Efecto del transcurso del tiempo en la intensidad de los atributos.

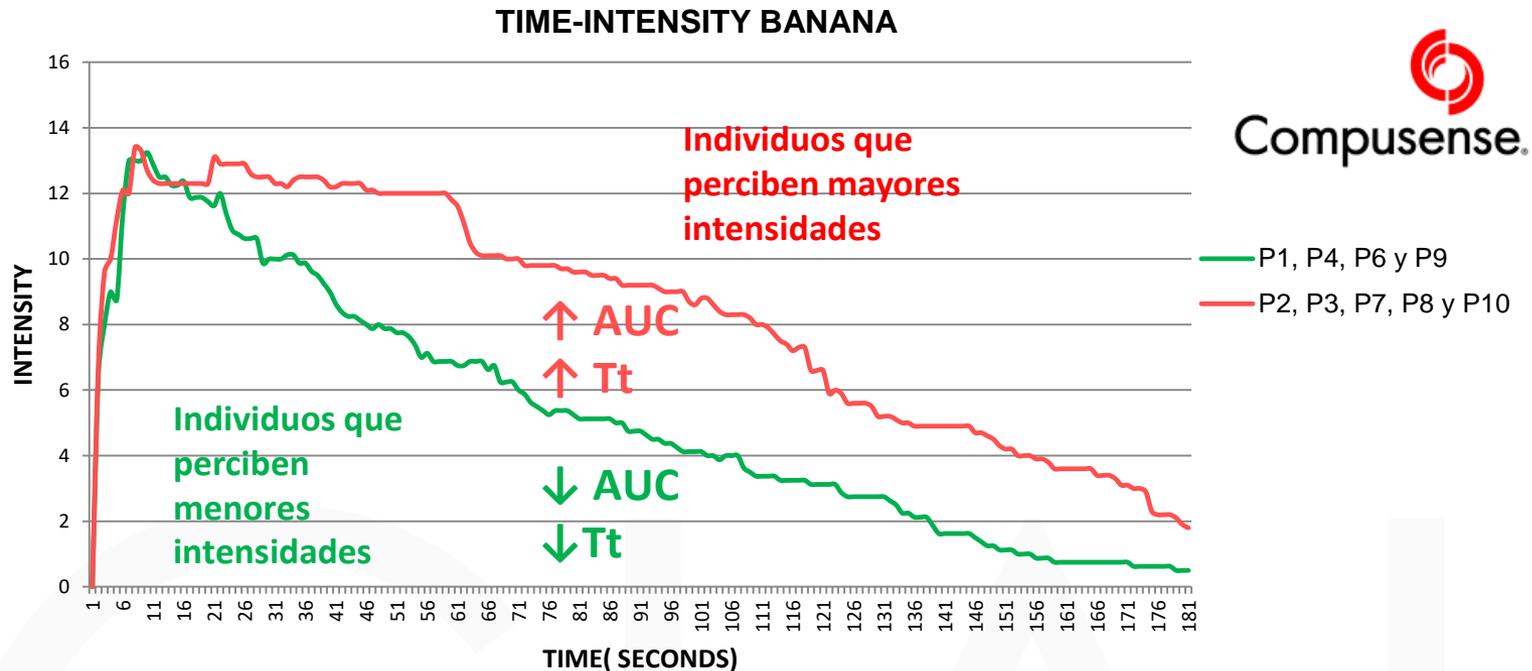


4 vinos empleados

Vino	Etanol	GSE
V0C	0	No
V0P	0	Sí
V10C	10	No
V10P	10	Sí

Al igual que ocurría en la metodología intra-oral SPME (↓ área de pico), se observó una ↓ intensidad de los atributos de interés pasados 3 minutos tras desde la expectoración del vino.

Análisis sensorial dinámico: perfil de tiempo-intensidad



Coincidencia de resultados entre T-I y progressive profiling



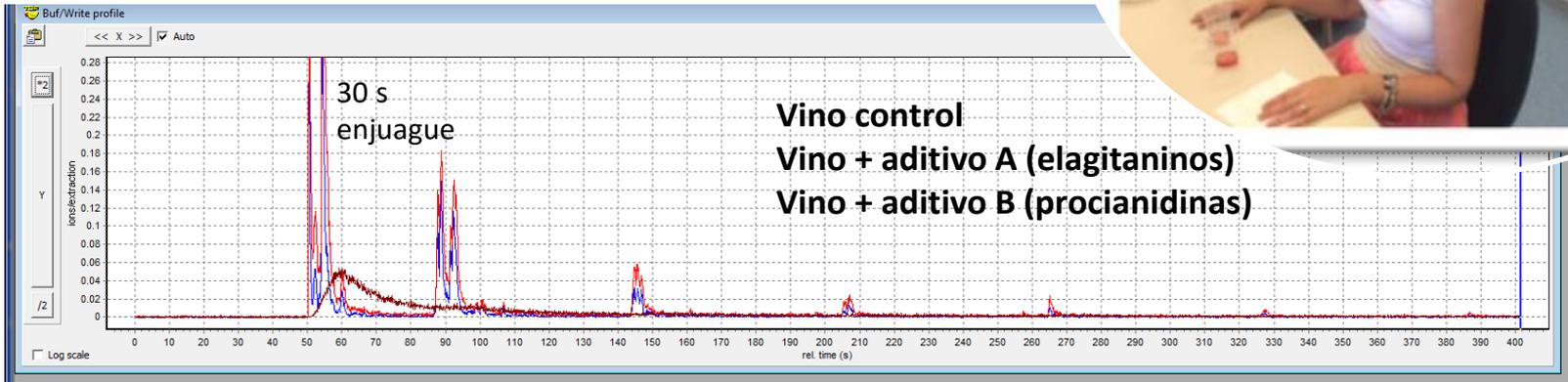
Los panelistas que califican las intensidades más altas y más bajas son los mismos

Evaluación del impacto de preparados enológicos a base de taninos en la liberación del aroma a tiempo real: PTR-ToF-MS

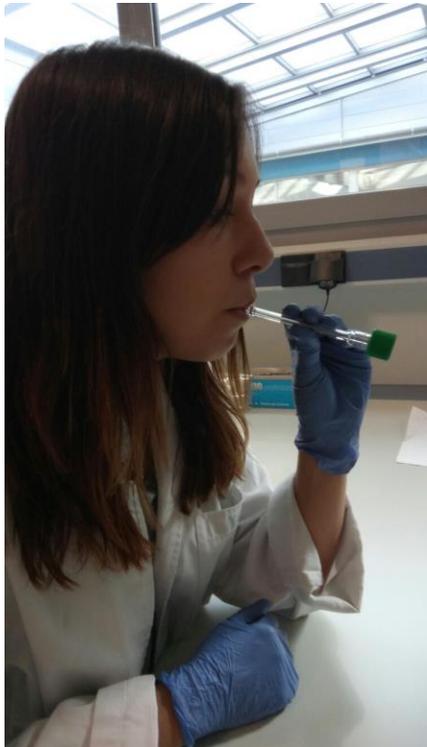


Proyecto colaboración internacional I-linkCSIC

Intensidad del ion 145 [ethyl hexanoate-H⁺]



Sistema de monitorización de aroma intraoral basado en SBSE (intra-oral stir bar sorptive extraction)



CIAL
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS DE LA ALIMENTACIÓN

UAM
SEGAINVEX

GERSTEL

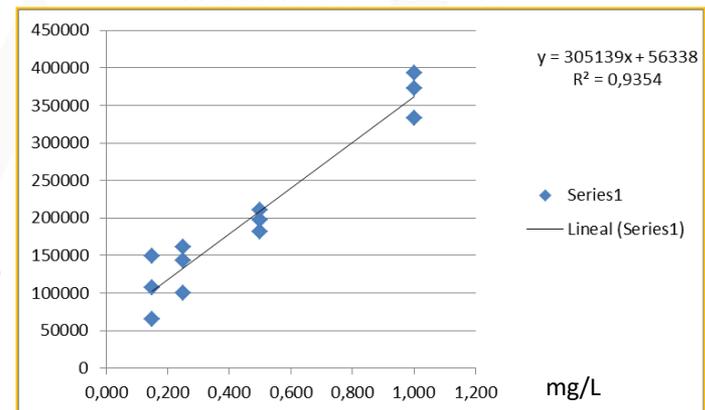


Twister® (barrita magnética cubierta de un polímero adsorbente, PDMS) insertada en un soporte de vidrio perforado

-Mayor **sensibilidad** (permite trabajar a la concentración de aroma real en vino)

-Metodología completamente **automatizable** (procesar un mayor número de muestras)

Hexanoato de etilo



CONVOCATORIA DEL PROGRAMA ESTATAL DE I+D+I ORIENTADA A LOS RETOS DE LA SOCIEDAD (BOE 8 MARZO 2016).



Diferencias interindividuales en la fisiología oral: impacto sobre la liberación del aroma durante el consumo de vino y en la respuesta hedónica y emocional del consumidor (WINE-FISIOAROMA)



Relación entre la **respuesta emocional** durante el consumo de un alimento y sus **características organolépticas y sensoriales** se ha puesto en evidencia en diferentes estudios:

Aroma

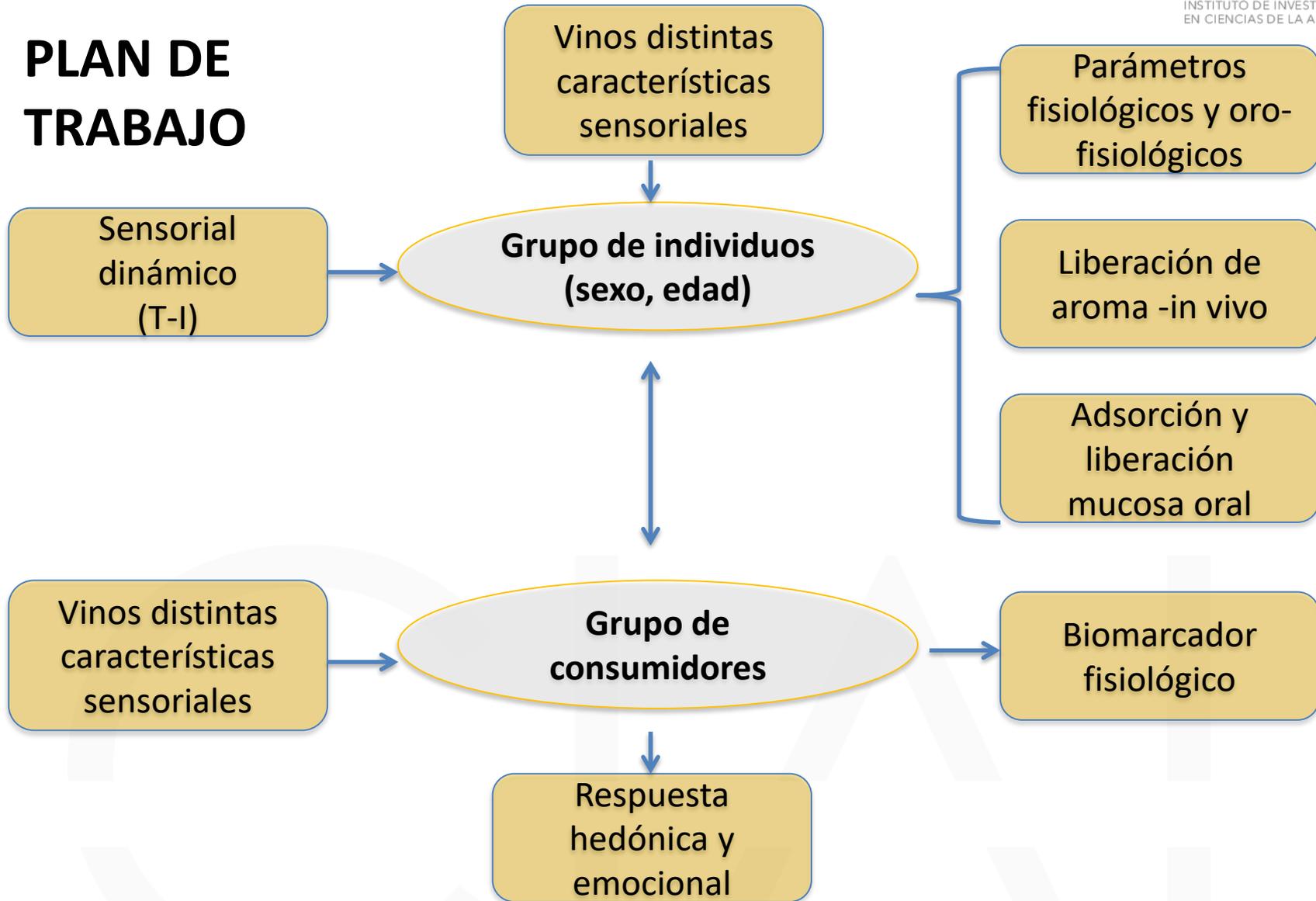


Estado emocional
del consumidor

(Chaya y col., 2015)



PLAN DE TRABAJO



¡MUCHAS GRACIAS !