

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LOS FACTORES DE TIPO QUIMICO, BIOQUIMICO Y FISIOLÓGICOS IMPLICADOS EN EL AROMA RETRONASAL DURANTE EL CONSUMO DEL VINO

Pozo-Bayón, María Ángeles*; Muñoz-González, Carolina; Esteban-Fernández, Adelaida; Pérez-Jiménez, María; Criado, Celia.

María Ángeles Pozo-Bayón; Carolina Muñoz-González; Adelaida Esteban-Fernández; María Pérez-Jiménez; Celia Criado

*Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) CSIC-UAM, C/Nicolás Cabrera, 9, 28049, Madrid, España. [*m.delpozo@csic.es](mailto:m.delpozo@csic.es)*

Resumen

El aroma es uno de los factores intrínsecos del vino que más influye en los gustos y preferencias de los consumidores. Esto ha propiciado una abundante investigación centrada en elucidar el papel que juegan las moléculas odorantes del vino en la percepción del aroma. Sin embargo, se desconoce qué ocurre con estos compuestos durante la ingesta del vino y los factores que influyen en el aroma retronasal que se experimenta durante el consumo. Una de las razones podría ser la dificultad de llevar a cabo estos estudios que requieren aproximaciones analíticas *-in vivo* empleando condiciones fisiológicas reales de consumo, para así poder evaluar la transformación que pueden experimentar estos compuestos en la cavidad oral. En los últimos años, la investigación que se desarrolla en el Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) acerca de los factores de tipo composicional y fisiológicos humanos implicados en el aroma retronasal, pretende dar respuesta a estas cuestiones, y está permitiendo comprender mejor el vínculo entre las diferencias en la fisiología oral individual y su relación con la percepción del aroma y las preferencias del consumidor.

Palabras clave:

Vino, aroma retronasal, fisiología oral, composición del vino, percepción sensorial, preferencias consumidor.

Abstract

Aroma is one of the intrinsic wine factors that most influences consumers liking and preferences. This has led to an abundant research focused on elucidating the role played by wine odorants in aroma perception. However, it is unknown what happens with these compounds during wine intake and the factors influencing retronasal aroma during consumption. One of the reasons could be the difficulty of carrying out these studies that require *-in vivo* analytical approaches using real physiological conditions to evaluate the transformation that these compounds can undergo in the oral cavity. In recent years, the research being carried out at the Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) about wine compositional and human physiological factors involved in the retronasal aroma experienced during wine tasting, is intended to answer these questions, and it is allowing us to better understand the link between the differences in individual oral physiology, aroma perception and consumer preferences.

Key words:

Wine, retronasal aroma, oral physiology, wine composition, sensory perception, consumer preference.

Uno de los aspectos que en los últimos años está suscitando mayor interés en la industria enológica es comprender las preferencias y los gustos del consumidor. Este conocimiento es necesario para entender la elección de compra, la fidelización a una determinada marca de vino, y debería ser un conocimiento previo para la innovación enológica y el lanzamiento de nuevos tipos de vinos y/o derivados.

El proceso de elección, compra y consumo, va a depender en gran medida de dos grandes grupos de atributos del vino, los denominados extrínsecos, que son los factores que rodean al producto capaces de crear una expectativa de compra (precio, envase, etiqueta, etc.); y los atributos intrínsecos, inherentes al producto y ligados principalmente a su composición, que va a determinar sus características sensoriales (Grunert, 2005). Aunque en un primer momento, los atributos extrínsecos pueden determinar nuestra opción de compra, serán los aspectos relacionados con las características sensoriales del vino, y sobre todo el sabor y el aroma que se perciben durante la ingesta, los aspectos clave para provocar en el consumidor el deseo de consumo y la compra repetida de un vino específico.

La importancia que tiene el aroma del vino en los gustos y preferencias de los consumidores ha propiciado una importante labor investigadora dirigida a conocer el impacto que los compuestos odorantes tienen en las características sensoriales del vino. Sin embargo, apenas hay estudios dirigidos a conocer la transformación que experimentan estos compuestos en la cavidad oral durante la etapa de consumo y su impacto en la percepción sensorial (Muñoz-González et al., 2011). Durante el consumo podemos distinguir tres fases relativas al modo en el que las moléculas del aroma entran en el organismo (**Figura 1**). Una primera fase corresponde a la etapa de pre-ingestión, en la que los compuestos volátiles liberados de la matriz hidroalcohólica entran con el aire de respiración por la vía orthonasal hacia los receptores olfativos, y que percibimos como un olor. A continuación le sigue una fase de ingestión del vino, que corresponde a la liberación de los compuestos volátiles (y semivolátiles) en la cavidad bucofaríngea y su transporte, gracias a los flujos de exhalación vía retronasal, a los receptores olfativos. Es precisamente la primera exhalación que se produce inmediatamente tras la deglución de un alimento o bebida, la que se ha comprobado produce la mayor intensidad aromática. Por último, se puede distinguir una etapa de post-ingestión una vez producida la deglución del vino y que corresponde con el barrido de compuestos aromáticos adsorbidos a las superficies de la mucosa oral o contenidos en restos de la propia matriz vínica que pueden quedar adheridos a esta mucosa, y que son liberados con los sucesivos episodios de deglución/exhalación (Pozo-Bayón et al., 2016). Este proceso es el responsable de la percepción prolongada del aroma o persistencia aromática.

En los últimos años en el grupo de investigación del CIAL estamos llevando a cabo una investigación centrada en evaluar el efecto de distintos factores que pueden influir en el aroma retronasal, y que hasta el momento son muy poco conocidos. Entre ellos, cabe destacar el estudio del efecto del tipo de compuesto del aroma (propiedades

fisicoquímicas, estructura química, etc.), la composición de la matriz del vino (contenido de etanol, polifenoles, etc.), así como factores relacionados con la fisiología oral individual (flujos respiratorios, composición de saliva, microbiota oral). Todos ellos podrían afectar el tipo, la cantidad y el modo en el que los compuestos aromáticos se liberan a los flujos respiratorios durante la ingesta de vino, y van a condicionar la percepción del aroma inmediata (tras la deglución) y prolongada (persistencia aromática). Este objetivo representa una novedosa aproximación científica relativa al estudio del aroma del vino, en la que pasamos de una visión exclusivamente centrada en el aroma en el producto (vino) a una aproximación en la que además se considera la interacción de las moléculas odorantes y la matriz del vino con los fluidos (saliva), estructuras (mucosa oral) y microorganismos que forman parte de la cavidad oral.

Este tipo de investigación requiere el desarrollo de metodología analítica *-in vivo* para evaluar el aroma retronasal en condiciones fisiológicas, o en su defecto, el desarrollo de métodos *-in vitro* que simulen el proceso de consumo (boca artificial). Entre los métodos analíticos que hemos desarrollado para monitorizar el aroma liberado durante el consumo de vino, cabe destacar el dispositivo RATD (Retronasal Aroma Trapping Device) (Muñoz-González et al., 2014). Este sistema permite atrapar el aliento de respiración (exhalación) de los panelistas tras el consumo de 100 mL de vino empleando trampas de un polímero adsorbente como es el Tenax. Todo el sistema está conectado a una bomba de vacío que favorece la extracción del aroma desde las fosas nasales al polímero. Posteriormente, el aroma retenido en la trampa es eluido con una mezcla de disolventes orgánicos y tras la concentración del extracto aromático del aliento, los volátiles son analizados empleando cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas (GC-MS). Esta técnica se ha aplicado por ejemplo, para evaluar las diferencias en la liberación de aroma entre vinos con distinta composición no volátil (Muñoz-González et al., 2013). Además, en este trabajo se constató la existencia de diferencias en la cantidad total de aroma liberado durante el consumo de vino según la capacidad respiratoria individual, que a su vez, depende de factores antropométricos como el peso y la altura, y otros, como los hábitos y estilo de vida (fumador, etc.).

Otro desarrollo analítico que nos ha permitido evaluar el aroma liberado de la mucosa oral tras la exposición al vino es la técnica intra-oral SPME (Solid Phase Micro extraction). Esta metodología se basa en la extracción del aroma liberado en la cavidad oral empleando una fibra de SPME tras la realización de un suave enjuague con el vino. La fibra con los compuestos aromáticos adsorbidos se puede desorber directamente en el inyector del cromatógrafo de gases. Con esta técnica, se ha podido determinar las diferencias en la persistencia oral de moléculas odorantes químicamente diferentes, como por ejemplo con distinta hidrofobicidad, puntos de ebullición y/o estructura química (Esteba-Fernandez et al., 2016). También más recientemente hemos empleado esta técnica para determinar el efecto de la composición de la matriz del vino en la persistencia oral del aroma tras el consumo de vinos aromatizados (Esteban-Fernández et al., 2018).

La adsorción de los odorantes a la mucosa oral en condiciones *-in vivo* también puede evaluarse calculando la diferencia entre la cantidad de aroma presente en el vino antes y después de su pasaje por la cavidad oral. Este método denominado SOOM (Spit Off Odorant Measurement) nos ha permitido comprobar diferencias importantes en la capacidad de adsorción de odorantes químicamente distintos y típicos del vino a la mucosa oral (Esteba-Fernandez et al., 2016). Así se ha podido corroborar una relación

lineal entre la hidrofobicidad del compuesto aromático y su grado de adsorción a la mucosa oral. Además, en este trabajo se observó una limitada capacidad de la mucosa oral para la adsorción de compuestos de aroma, que también depende del tipo de compuesto. Estos resultados son muy importantes, ya que la susceptibilidad para la adsorción a la mucosa oral, y el grado de adsorción pueden determinar la liberación del aroma a los flujos respiratorios y por tanto su llegada a los receptores olfativos.

No obstante, todas estas técnicas se basan en el atrapamiento de la cantidad total de compuestos volátiles liberados en la boca (*in-mouth*) o en las fosas nasales (*in-nose*) durante el consumo, pero no permiten captar la dimensión dinámica, o en otras palabras, en tiempo real, de la liberación del aroma que se experimenta durante el proceso de ingesta del vino. En este caso, y en el marco de un proyecto de colaboración internacional con el Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation (CSGA) desarrollamos un sistema basado en la monitorización en tiempo real del aroma liberado durante el consumo de vino mediante PTR-ToF-MS (Proton Transfer Reaction Time of Flight Mass Spectrometry) (Muñoz-González et al., 2017). Esta técnica se basa en la monitorización de los compuestos del aroma en las fosas nasales mediante el empleo de un espectrómetro de masas y proporciona un perfil temporal de la intensidad de la masa asociada a cada molécula aromática inmediatamente tras la deglución del vino y en la etapa de post-ingestión (persistencia aromática). La técnica ha resultado de utilidad para evaluar el efecto de distintos preparados enológicos a base de taninos en la liberación de moléculas aroma específicas en vinos rosados (Muñoz-González et al., 2017).

A veces, la tipología del estudio no permite realizar análisis *-in vivo* utilizando voluntarios y en este caso, habría que recurrir a aproximaciones analíticas que permitan simular los procesos fisiológicos que acontecen durante el consumo de vino, intentando simular en lo posible el proceso de liberación del aroma que ocurre *in vivo*. Estos sistemas son muy útiles, ya que permiten entender mejor la contribución de cada factor que afecta al proceso de consumo de manera individual, lo que sería muy difícil de evaluar en estudios *in vivo* (por ejemplo el efecto de la saliva). Además, proporcionan un estricto control de las variables de estudio y permiten llevar a cabo un gran número de experimentos evitando las posibles diferencias inter-individuales. Para ello, de nuevo en colaboración con el CSGA de Dijon, desarrollamos diferentes sistemas basados en el empleo de bocas artificiales. Todos estos sistemas se basan en el uso de un recipiente de vidrio (biorreactor) con control de temperatura y agitación, así como con la posibilidad de incorporar saliva y gas (nitrógeno), para simular el flujo de respiración. Este recipiente actuaría a modo de boca en la que se incorpora el vino. El flujo de gas que pasa a través del vino permite el arrastre de los compuestos aromáticos que se pueden monitorizar off-line empleando una fibra de SPME (Muñoz- Gonzalez et al., 2014b) y su posterior análisis por cromatografía de gases (GC) o bien, se puede realizar una monitorización en tiempo real (on-line) empleando PTR-MS (Muñoz et al., 2015a). Ambos sistemas se han aplicado para evaluar el efecto de la composición del vino, fundamentalmente de la matriz no volátil, en la liberación del aroma.

Además de aspectos ligados a la composición volátil y no volátil del vino, la percepción aromática puede estar estrechamente relacionada con diferencias interindividuales en la fisiología oral. Así, por ejemplo, el flujo de saliva y su composición (pH, proteínas, enzimas, etc.), pueden actuar sobre los compuestos del aroma a distintos niveles. Pueden por ejemplo, condicionar la capacidad de transferencia de las moléculas odorantes a los flujos respiratorios que los transportan a los receptores olfativos.

Recientemente diferencias individuales en la viscosidad de la saliva también se han relacionado con diferencias en la percepción de descriptores aromáticos asociados a esterres carboxílicos del vino empleando técnicas sensoriales dinámicas (Criado et al., 2018). Además, la interacción entre proteínas de la saliva y compuestos aromáticos puede determinar la cantidad y el tipo de moléculas odorantes disponibles para su percepción. Este tipo de interacciones de distinta naturaleza (hidrofóbicas, puentes de hidrogeno) depende de las características físico-químicas de las moléculas odorantes, y de la presencia de otros componentes no volátiles del vino. Recientemente hemos comprobado que las enzimas estererasas de la saliva, también pueden hidrolizar esterres aromáticos típicos del vino (Pérez-Jimenez et al., 2018a). Estas enzimas son activas en condiciones típicas de consumo de vino (presencia de alcohol, polifenoles, pH ácido, etc.) (Pérez-Jimenez et al., 2017, Pérez-Jimenez et al., 2018b). Además, esta capacidad metabólica es individuo-dependiente, ya que muchas de estas actividades enzimáticas se expresan de forma distinta en los individuos. Por otro lado, la microbiota oral también puede tener un efecto en el aroma. En uno de los primeros trabajos sobre este tema, empleando precursores glicosídicos de la uva y microbiota oral aislada de individuos sanos, comprobamos la capacidad de estos microorganismos de hidrolizar estos precursores no odorantes de la uva y de producir distintos tipos de moléculas odorantes, que dependían del individuo (Muñoz-Gonzalez et al., 2015b).

COCLUSIONES

Los resultados de los estudios anteriormente mencionados nos están permitiendo comenzar a entender cómo los compuestos integrantes de la fracción aromática del vino se comportan en la cavidad oral durante el consumo y como pueden estar afectados por factores composicionales del vino y de tipo fisiológico. No obstante, aún desconocemos la relación entre las diferencias interindividuales en la fisiología oral y la percepción del aroma retronasal. Este es el objetivo que pretendemos alcanzar en el proyecto WINE FISIO AROMA (AGL201678936-R), en el que además del CIAL colaboran investigadores de la UPM y de la UCM, y cuyo principal objetivo es comprender si las diferencias interindividuales en la fisiología oral tienen un impacto sobre la liberación del aroma durante el consumo de vino y en la respuesta hedónica y emocional del consumidor.

Además de contribuir a comprender mejor los detonantes implicados en el comportamiento del consumidor de vino, desde un punto de vista tecnológico, los resultados de estos trabajos permitirán implementar o modificar las técnicas de elaboración para mejorar el aroma del vino considerando su procesamiento oral y la interacción del aroma con otras modalidades sensoriales que también tienen su origen en la cavidad oral (sabor, astringencia, etc.). Por otro lado, las técnicas analíticas desarrolladas y el know-how generado acerca del comportamiento de los compuestos aromáticos en la cavidad oral, podrían ser determinantes en el desarrollo de nuevos aditivos enológicos que mejoren la liberación oral de compuestos del aroma de interés o reduzcan y/o amortigüen la liberación retronasal de compuestos con impacto negativo (“off-flavors”). Por último, el conocimiento generado también podría contribuir a un mejor diseño de vinos más dirigidos hacia grupos de consumidores target y con rasgos fisiológicos típicos (consumidores seniors, jóvenes, etc.).

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo recibió el premio Enoforum 2018 “Investigación española para el desarrollo”. Los autores agradecen a Excell Ibérica por el patrocinio del premio y a Vinidea por la organización del evento. Asimismo, expresan su agradecimiento al CSIC y al MINECO por la financiación recibida a través de los proyectos I-link1049-CSIC y AGL-2016-78936-R.

BIBLIOGRAFÍA

Criado, C., Chaya, C., Perez-Jiménez, M., Alvarez M.D., Herranz, B, Fernandez, V., Pozo-Bayón, M.A. (2018). Relationship between Interindividual differences on saliva composition and temporal perception of aromatic stimuli during wine intake. EUROSENSE 2018, Verone, Italy.

Esteban-Fernández, A., Muñoz-González, C., Jiménez-Girón, A., Pérez-Jiménez, M., & Pozo-Bayón, M. Á. (2018). Aroma release in the oral cavity after wine intake is influenced by wine matrix composition. *Food Chemistry*, 243, 125-133.

Esteban-Fernández, A., Rocha-Alcubilla, N., Muñoz-González, C., Moreno-Arribas, M. V., Pozo-Bayón, M. Á. (2016). Intra-oral adsorption and release of aroma compounds following in-mouth wine exposure. *Food Chemistry*, 205, 280-288.

Grunert, K. G. (2005). Food quality and safety: consumer perception and demand. *European review of agricultural economics*, 32(3), 369-391.

Muñoz González, C., Rodríguez-Bencomo, J.J., Martín-Alvarez, P.J., Moreno-Arribas, M. V., Pozo-Bayón, M.A. (2014). Feasibility and application of a retronasal aroma trapping device to study in vivo aroma release during the consumption of model wine derived beverages. *Food Science and Nutrition*, 2, 2014, 361-370.

Muñoz-González, C., Feron, G., Guichard, E., Rodríguez-Bencomo, J. J., Martín Álvarez, P. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayón, M. A. (2014b). Understanding the role of saliva in aroma release from wine by using static and dynamic headspace conditions. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 62(33), 8274-8288.

Muñoz-González, C., Cueva, C., Pozo-Bayón, M. A., Moreno-Arribas M. V. (2015b). Ability of human oral microbiota to produce wine odorant aglycones from odorless grape glycosidic aroma precursors. *Food Chemistry*, 187, 112-119

Muñoz-González, C.; Canon, F.Semon E., Berdeaux, O., Ferron G., Guichard, E., Pozo-Bayón, M.A. (2017). Application of an In vivo PTR-ToF-MS approach to determine differences in wine aroma release among wines spiked with different types of oenological tannins. WAC-2017, 29-31 March, 2017, Beaume, France.

Muñoz-Gonzalez, C., Rodriguez-Bencomo, J. J., Moreno-Arribas, M. V., & Pozo-Bayon, M. A. (2011). Beyond the characterization of wine aroma compounds: looking for analytical approaches in trying to understand aroma perception during wine consumption. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401 (5), 1497-1512.

Muñoz-González, C., Sémon, E., Martín-Álvarez, P. J., Guichard, E., Moreno-Arribas, M. V., Feron, G., & Pozo-Bayón, M. Á. (2015a). Wine matrix composition affects temporal aroma release as measured by proton transfer reaction–time-of-flight–mass spectrometry. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(3), 367-375.

Muñoz-González, C.; Martín-Álvarez, P.J.; Moreno-Arribas, M.V.; Pozo-Bayón, M.A. (2013) Impact of the Nonvolatile Wine Matrix Composition on the In Vivo Aroma Release from Wines). *Journal of Agricultural and Food Science*. 62 (1), 2014, 66-73

Pérez-Jiménez, M., Rocha-Alcubilla, N., & Pozo-Bayón, M. Á. (2018a). Effect of saliva esterase activity on ester solutions and possible consequences for the in-mouth ester release during wine intake. *Journal of texture studies*. <https://doi.org/10.1111/jtxs.12371>

Pérez-Jimenez, M.; Rocha-Alcubilla, N., Criado, C., Pozo-Bayón, M.A. (2018 b). Saliva esterase activity during wine oral processing: inter-individual differences, effect of wine composition and impact on wine aroma. Food Oral Processing 2018 (FOP2018), Nottingham, United Kingdom.

Pérez-Jiménez, M.A., Rocha-Alcubilla, N., Pozo-Bayón.M.A. (2017), Effect of ethanol on the oral aromatic persistence of typical wine fruity esters considering individual physiological differences. Wine Active Compounds Symposium (WAC2017), Beaune, France.

Pozo-Bayón, M.A.; Muñoz-González, C., Esteban-Fernández, A. (2016) Wine Preference and Wine aroma perception. *En: Wine, health and consumer preferences*. Springer Life Sciences Publisher, 2016, pp 139-162.

FIGURAS:



Figure 1. Etapas correspondientes a la liberación del aroma durante el consumo de vino