

TODO LO QUE SIEMPRE QUISO SABER, PERO NUNCA LE CONTARON, SOBRE EL TCA

Antonio Palacios García¹ y José Ignacio San Román²

¹Laboratorios Excell Ibérica; C/ Planillo Nº 12, Pabellón B; 26006 Logroño. Tel. 941 445106; www.labexcell.com.

²Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Salamanca. Edificio Departamental, Campus Miguel de Unamuno. 37007 Salamanca

La génesis del problema:

El origen exacto del 2,3,4,5,6-pentaclorofenol (PCP) es bien conocido y, de alguna forma, vergonzante para el ser humano. Se trata de la fuente más conocida de los denostados triclorofenoles (TCP) y tricloroanisoles (TCA). Es un compuesto de origen humano, producido mediante síntesis química a mediados del siglo XIX, por cloración de un fenol. Ya en 1936 se producía a escala industrial y se estima que en el año 1970 se producían anualmente 100000 toneladas a nivel mundial, un 25% de las cuales se manufacturaban en USA, país en el que era uno de los plaguicidas más utilizados. Por su efectiva acción tóxica se empleó como biocida de amplio espectro, y fue muy utilizado para la preservación de la madera y sus derivados; además del uso agrícola, se utilizó como aditivo en pinturas, solventes y barnices (Figura 1).

Figura 1. Publicidad del 2,3,4,5,6-pentaclorofenol (PCP) recomendando su uso para la preservación de la madera.



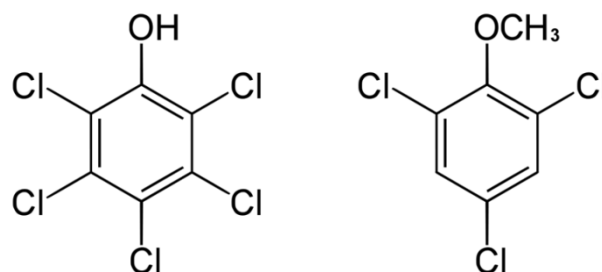
Posteriormente a su utilización masiva se descubrió su toxicidad sistémica al alcanzar concentraciones en sangre y orina de humanos por encima de 1 ppm, niveles que se podían superar principalmente a través de la ingestión de alimentos contaminados y por exposición. Desde el año 1984, la adquisición y el uso del PCP se limitó a personas autorizadas, pero, debido a su uso generalizado durante los años anteriores, el pentaclorofenol es hoy un contaminante ubicuo, que se encuentra muy repartido en tierra, agua y aire, y en todo tipo de organismos vivos, ya que se trata de un compuesto sumamente estable por su elevada resistencia a la biodegradación, de forma que se acumula en todos los ecosistemas donde se

investiga. Por suerte, en la actualidad el uso de PCP se encuentra sumamente restringido, estando prohibida su utilización como plaguicida o biocida en todas sus formulaciones, debido, claro está, a su efecto nocivo en humanos, animales, plantas y para el medio ambiente en general. Su uso sigue estando autorizado en instalaciones industriales (no permitiéndose sus emisiones en cantidades superiores a las prescritas por la legislación vigente), para el tratamiento de maderas que no vayan a ser utilizadas en edificios o contenedores de uso alimentario, como impregnante de fibras y textiles resistentes (no prendas de vestir), y en excepciones especiales.

Después de causado el mal, los gobiernos de diferentes países, y muy especialmente el norteamericano, se llenan la boca con recomendaciones y reglamentos regulatorios de sustancias tóxicas en pos de la protección de la salud pública, ajustando los niveles liberados para no exceder lo que se considera peligroso por exposición en el medio ambiente, principalmente para los humanos. Pero el gran daño medioambiental ya está consumado y el vino es uno de los principales paganos debido a la merma de su calidad cuando en su seno se encuentra el TCA.

Es cierto que en la actualidad se conocen microorganismos que son capaces por sí mismos de llevar a cabo una biosíntesis de compuestos organoclorados *de novo*. Algunos organismos son conocidos por su capacidad para producir derivados organohalogenados, particularmente clorofenoles, ya que poseen una actividad enzimática del tipo cloro-peroxidasa (CPO). Los cloruros no pueden ser oxidados directamente por los perácidos o los peróxidos clásicos (ácido peracético, peróxido de hidrógeno); la reacción debe ser catalizada por el sistema enzimático del microorganismo en cuestión, pudiendo ser intra o extracelular según los casos. Pero no se piensa que esta fuente de los anisoles sea relevante en el problema causado sobre el vino y otros alimentos en general.

Figura 2. Moléculas que representan al precursor 2,3,4,5,6-pentaclorofenol (PCP) y al producto final, el 2,4,6-tricloroanisol (TCA).



¿Es un problema exclusivamente del vino y las bodegas?:

A lo largo de la historia culinaria, los consumidores han visto alteradas las propiedades positivas de ciertos alimentos por la presencia de sustancias que generan mal sabor y que pueden reducir drásticamente la palatabilidad de los alimentos y bebidas. Debido a que algunos de estos contaminantes aparecen en concentraciones muy bajas, la identificación de las sustancias responsables se ha visto muy limitada a nivel científico. Uno de los compuestos más potentes identificado hasta la fecha como responsable de mal sabor es el 2,4,6-tricloroanisol (TCA), conocido específicamente por la inducción del llamado defecto de “olor a moho” en vinos.

Pero no, con seguridad el vino no es la única víctima. Curiosamente, el TCA también se encuentra en manzanas, pasas, pollo, camarones, cacahuetes, nueces, sake, té verde, cerveza y el whisky, entre otros, además de en diversos productos envasados. Por ello, la industria alimentaria debería prestar especial cuidado para evitar esta contaminación. Sin embargo, esto no ha sucedido por el momento, ni se toma en consideración el deterioro organoléptico que sufren los alimentos contaminados que, por lo tanto, se ven privados de sus cualidades sensoriales características.

También son muchos los lugares públicos, como hoteles, restaurantes, hospitales, almacenes de ropa y otros establecimientos de diversos negocios, que deberían plantearse si uno de los elementos que pueden determinar un fracaso empresarial es ese aroma a “húmedo” y a “serrín mojado” que invade de forma permanente el local, y al que terminas acostumbrándote e incluso acaba “desapareciendo” cuando sufres exposiciones continuadas, pero que rompe el bienestar sensorial de quien de repente llega al establecimiento y nota algo extraño, sin prestar mucha atención, pero que incomoda por el recuerdo a moho.

Figura 3. Típica caja de madera de fruta con manzanas como potencial fuente contaminante de anisoles.



El problema del “sabor a moho” en el vino; el eterno debate sobre su origen:

Entre los cloroansoles identificados como fuente de defectos de carácter "enmohecido", el TCA es uno de los contaminantes más importantes. En el campo del vino y los espírituosos, la presencia de TCA se ha asociado la mayoría de las veces a problemas de contaminación de los tapones de corcho, lo que habitualmente se conoce como "sabor a corcho", cuya denominación más correcta es “sabor a moho”, como reza el título del apartado. El origen del TCA en el corcho ha sido objeto de un gran número de investigaciones y existen numerosas publicaciones acerca de los posibles orígenes del TCP, el precursor directo del TCA, en las planchas y en los tapones de corcho. Las condiciones de transformación del TCP en TCA por la microflora del corcho son bastante bien conocidas. También se han elucidado con bastante precisión las condiciones de formación de estos contaminantes organohalogenados en el entorno forestal o durante el ciclo de fabricación de los corchos. Además, las condiciones de migración del TCA en el vino se conocen a la perfección y se han desarrollado técnicas analíticas de TCA como instrumentos rutinarios de control de calidad en la compra y uso de corchos en bodega.

Por otra parte, los casos de contaminación de vinos y espírituosos por TCA, sin contacto con corcho contaminado, son menos frecuentes, pero relativamente fáciles de encontrar. En este artículo se podrían poner en evidencia cientos de casos en la industria vitivinícola mundial, en los que se han presentado defectos olfativos en diferentes vinos de carácter "enmohecido", que han sido comunicados por la madera de roble de las barricas durante la crianza, o por materiales intrínsecos o extrínsecos de bodega que actúan como vectores indirectos, a través del ambiente, o directos, cuando actúan por contacto. Incluso podríamos relatar casos donde el vehículo del contaminante es la propia agua utilizada para la limpieza de la bodega, bien sea procedente de pozos o fuentes naturales o, en algunos casos, del agua municipal contaminada por halofenoles y haloansoles.

Los problemas ambientales se concentran principalmente en las salas de crianza y maduración del vino. Ello se debe a que estas cuentan, generalmente, con menor ventilación, humedad y con estructuras de soporte de barricas y botellas de madera. Esta situación es especialmente preocupante, ya que en estas salas se guardan aquellos vinos que requieren mayor inversión, que se dirigen a mercados más exigentes y de los que se espera obtener mayores beneficios económicos. Existe una seria condición de riesgo para estos vinos, ya que la contaminación ambiental se adsorbe y concentra en materiales porosos y plásticos de uso corriente en bodega, tales como maderas de construcción, muros, pisos, maderas de roble (barricas, duelas, chips), bentonita, tierras de filtración, tapones de corcho y de silicona, cartones, ladrillos, mangueras, etc., que al estar en contacto directo o indirecto con el vino lo alteran.

A veces no se trata solo de TCA o TeCA, sino también, o alternativamente, de TBA (tribromoanisol), que es más propio de contaminación ambiental.

Es un problema microbiológico; la “culpa” no la tiene el corcho ni la madera:

Hoy en día está demostrado que los hongos filamentosos naturales solo sintetizan cloroanisoles cuando entran en contacto con clorofenoles. Los clorofenoles se encuentran actualmente como contaminantes de aguas, suelos, material vegetal (como hojarasca de bosques) e incluso en la atmósfera.

Cuando un hongo filamentosos queda expuesto a clorofenoles, muy tóxicos para él, intenta por todos los medios su inactivación (detoxificación o eliminación de su toxicidad), ya que en caso contrario podría morir o sufrir daños importantes que afecten a su fisiología. Para ello, los hongos han desarrollado dos estrategias diferentes:

- I) Cuando un hongo filamentosos entra en contacto con el TCP produce enzimas tipo laccasa, como mecanismo de defensa, que son secretadas al exterior de la célula para degradar allí los clorofenoles, evitando que entren en la célula y ejerzan allí su efecto dañino.
- II) Sin embargo, los clorofenoles son compuestos liposolubles, que pueden atravesar con facilidad la pared y la membrana celular del hongo y alcanzar su interior (citoplasma y núcleo), donde pueden dañar irreversiblemente proteínas importantes, o incluso su material genético (ADN). Ante esta amenaza, el hongo se defiende produciendo inmediatamente la enzima CPOMT (clorofenol *O*-metiltransferasa), que es la responsable de transformar el TCP tóxico en un compuesto inofensivo, el TCA, que se expulsa de la célula y se adhiere al corcho, la madera o cualquier otro material sobre el que el hongo esté creciendo, siendo este mecanismo el mismo en todos los casos. Esta estrategia de defensa es muy común entre los hongos filamentosos, de manera que la mayoría de ellos, presentes tanto en el corcho como en bodegas, pueden sintetizar anisoles cuando las condiciones de temperatura y humedad relativa así lo permiten; estas condiciones ambientales están presentes con frecuencia en bodega.

Figura 4. Microfotografía del hongo filamentososo de la especie *Aspergillus niger*.



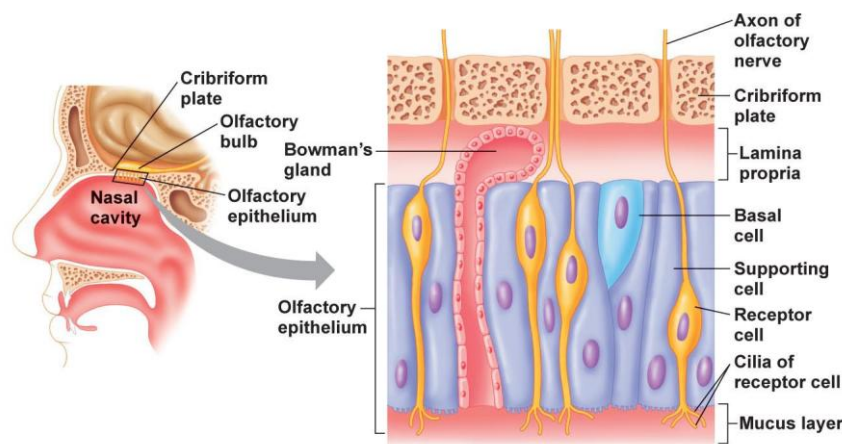
Fisiología del impacto sensorial del TCA en humanos:

A lo largo de la historia de la humanidad, se han propuesto numerosas clasificaciones de los diferentes olores, todas las cuales tienen algo en común: ninguna es convincente. Tal vez el intento más acertado, a pesar de su simplicidad, se lo debemos al filósofo Platón, quien clasificó los olores en agradables y desagradables. Si nos atenemos a esta clasificación, es evidente que el TCA es una sustancia con olor, y que este olor es desagradable. Así, el TCA disuelto en agua pura (incolora, insabora e inodora) es fácilmente reconocible por su olor mohoso, a partir de una determinada concentración umbral, típicamente más alta en la población en general (8-9 ng/L) que en catadores entrenados (3-4 ng/L). De acuerdo con esto, la presencia de concentraciones elevadas (por encima del umbral) de TCA en un vino arruinará sus características organolépticas, como consecuencia de su mal olor característico. Este escenario relativamente simple, según el cual el vino se echa a perder por el mal olor del TCA, podría en realidad ser mucho más complejo, tal y como ha publicado muy recientemente un grupo de investigación japonés en la prestigiosa revista científica *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. Pero para comprender bien cuál podría ser el efecto completo del TCA sobre el vino, merece la pena que empecemos haciendo un breve repaso del funcionamiento del sentido del olfato.

Todo receptor sensorial debe ser considerado, desde el punto de vista físicoquímico, como un transductor de energía, es decir, son estructuras que captan un determinado estímulo y convierten su energía natural en cambios de potencial eléctrico en la membrana plasmática de la célula receptora, el único “lenguaje” que utiliza nuestro sistema nervioso. Los receptores olfatorios pertenecen al gran grupo de los quimiorreceptores, que informan al sistema nervioso central acerca de la presencia en el medio de determinadas sustancias químicas. Así, el olfato es un sistema de detección química de sustancias volátiles, presentes en el aire respirado y que, a diferencia de otros quimiorreceptores (por ejemplo, los que controlan la cantidad de glucosa en la sangre), da lugar a una serie de sensaciones conscientes.

Los receptores olfatorios son neuronas diferenciadas, localizadas en la parte superior de la cavidad nasal, en concreto en el denominado epitelio olfatorio, en cuya superficie, típicamente cubierta de mucus, estas células tienen una serie de cilios, que son el lugar en el que se lleva a cabo la interacción entre las moléculas de la sustancia odorífera y la neurona receptora. Estas mismas neuronas tienen un axón, relativamente corto, que asciende y penetra en el interior del cráneo a través de la lámina cribosa del hueso etmoides, y hace sinapsis con neuronas secundarias de la vía olfatoria en los denominados bulbos olfatorios, parte ya del encéfalo (Figura 5). El conjunto de axones de estas neuronas forman el denominado nervio olfatorio.

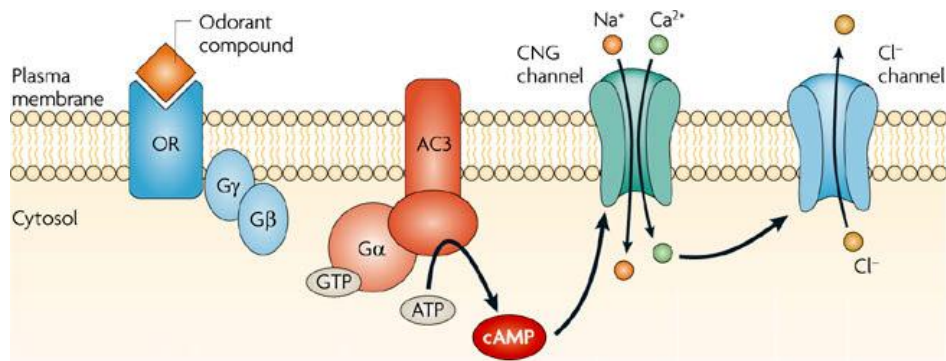
Figura 5. Esquema de la localización y ultra estructura del epitelio olfatorio en humanos.



En la membrana de los cilios, estas neuronas poseen una gran variedad de receptores de membrana, proteínas que reconocen de manera específica las diferentes sustancias odoríferas. Tras la unión de la molécula con su receptor, se desencadenan fenómenos de señalización intracelular, que típicamente se inician por activación de una proteína G heterotrimérica, que a su vez es responsable de la activación de la adenilil ciclasa, una enzima ligada a la membrana, que cataliza la síntesis del mensajero intracelular AMP cíclico (cAMP) a partir de ATP (Figura 6). El siguiente acontecimiento en el proceso de transducción consiste en la unión de este cAMP a la porción intracelular de canales catiónicos inespecíficos, conocidos como CNG (*Cyclic Nucleotides-Gated channels*), promoviendo su apertura. Aunque hay muchas dudas acerca de las concentraciones extracelulares de cationes en el mucus que recubre los cilios (muy probablemente sean muy variables), la apertura de estos canales CNG implica necesariamente la entrada a la célula de cargas positivas, en forma de iones Na^+ , Ca^{2+} y, probablemente, algo de K^+ que, en su conjunto, van a provocar la despolarización de la membrana plasmática. Secundariamente, la entrada de Ca^{2+} provoca un incremento de la concentración citosólica de este catión, que será ahora capaz de unirse y activar a otro tipo de canales, en este caso aniónicos, los CACC (*Calcium-Activated Chloride Channels*), por los cuales saldrá Cl^- ; esta salida de cargas negativas contribuye también a la

despolarización de la membrana (Figura 6). Si la despolarización de la membrana de los cilios es lo suficientemente intensa, la neurona olfatoria producirá potenciales de acción, que se propagarán sin decremento a través de toda la membrana plasmática, incluyendo por supuesto la del axón, enviando así el correspondiente mensaje al sistema nervioso central e informándole de la presencia de esa sustancia odorífera en la cavidad nasal.

Figura 6. Esquema del proceso de transducción sensorial en receptores olfatorios.



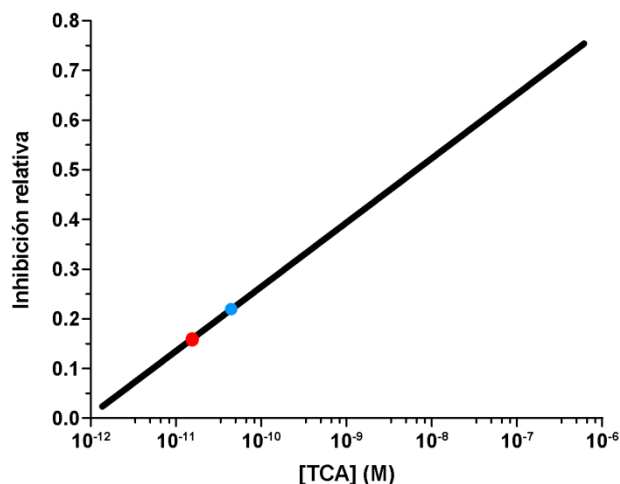
Como apuntábamos antes, el grupo de investigación del Prof. Kurahashi, de la Universidad de Osaka, ha publicado recientemente unos resultados experimentales que supondrían, de confirmarse, un cambio radical en la forma en la que debemos considerar las acciones del TCA sobre el sentido del olfato. Utilizando como modelo experimental neuronas olfatorias de salamandra, cuyo tamaño es muy superior a las de mamífero, lo que facilita su manejo en el laboratorio, y métodos electrofisiológicos, en concreto la técnica de *patch-clamp* o “pinzamiento de membrana”, estos autores han puesto de manifiesto un potente efecto inhibitor del TCA sobre el flujo de cationes a través de los canales CNG, que se mantendría durante cerca de 1 minuto tras la exposición a esta sustancia. Este efecto del TCA implicaría, por lo tanto, que esta molécula no solo daría lugar a sensaciones olfatorias desagradables al interaccionar con algunas de las neuronas olfatorias, sino que ejercería un efecto general de inhibición de la transducción olfatoria en todos los demás receptores. Estaríamos hablando, en definitiva, de que el TCA dificultaría, de forma transitoria, nuestra capacidad para detectar, por medio del olfato, la presencia de otras sustancias volátiles en la cavidad nasal. En presencia de TCA estas moléculas se unirían a sus receptores específicos en las neuronas olfatorias, pero esta unión no traería como consecuencia un flujo de cationes a través de los CNG lo suficientemente intenso como para convertirse en señales nerviosas. Nuestro sistema nervioso central no recibiría, en consecuencia, ninguna información acerca de la presencia de esa sustancia si al mismo tiempo está actuando el TCA sobre los CNG. Dicho en términos menos fisiológicos, el TCA induciría un estado transitorio de “ceguera olfatoria”.

Los fenómenos de “inhibición cruzada” son frecuentes en muchos sistemas sensoriales, y están muy bien caracterizados, por ejemplo, en el caso del tacto o de la visión. Su existencia

en el sentido del olfato no se había descrito hasta muy recientemente: aunque había datos anteriores que apuntaban a esta posibilidad, la demostración definitiva de la existencia de este tipo de mecanismo en neuronas olfatorias vino nuevamente de la mano del grupo del Prof. Kurahashi, quienes demostraron en el año 2006 que varias moléculas odoríferas, de diferente naturaleza química, eran capaces de inhibir la actividad de los canales CNG en neuronas olfatorias de salamandra.

Si pensamos en las consecuencias que puede tener este efecto inhibitor del TCA sobre el disfrute hedónico del vino, la primera pregunta que surge es evidente: ¿a qué concentración lleva a cabo el TCA ese tipo de efecto? Hay una serie de problemas metodológicos, e incluso de evidentes contradicciones, en el trabajo del grupo japonés, que dificultan enormemente la respuesta a esta pregunta. Takeuchi y cols. (2013) llegan a la conclusión de que este efecto del TCA se puede ejercer a concentraciones tan bajas como 1 attomolar (10^{-18}M), si bien utilizando otro método de aplicación del TCA no observan respuestas inhibitoras significativas sobre las corrientes eléctricas mediadas por los CNG en ese rango tan bajo de concentraciones. Que una sustancia tenga efectos biológicos a la concentración de 1 aM se acerca peligrosamente al territorio de lo absurdo, si no está ya de lleno dentro de él. Ninguna otra sustancia tiene efecto de ningún tipo a esas concentraciones, y tendríamos que multiplicarlas al menos por un millón para acercarnos a aquellas a las que actúan los más potentes agentes biológicos conocidos. En cualquier caso, el artículo de Takeuchi y cols. pone de manifiesto que, sin ninguna duda, las acciones inhibitoras del TCA sobre los CNG se ejercen de manera significativa a concentraciones bastante inferiores a los límites de detección de esta sustancia, no solo en la población general (alrededor de $4 \cdot 10^{-11}\text{M}$), sino también en los expertos entrenados (alrededor de $1,5 \cdot 10^{-11}\text{M}$). Además, el efecto del TCA es dependiente de su concentración, logrando inhibiciones muy marcadas de la actividad de los CNG a concentraciones elevadas (Figura 7). Esto puede explicar, al menos de forma parcial, por qué los vinos contaminados con anisoles, aparte de parecer tremendamente neutros en cuanto a aromas, no huelen más que a humedad o a moho, desapareciendo por completo cualquier otro aroma positivo, como los recuerdos a fruta o a madera tostada. Además, esto implica que el TCA, a concentraciones a las que su presencia no resulta detectable por el olfato humano, es capaz ya de inhibir la sensibilidad olfatoria a otras sustancias diferentes y, por lo tanto, no es difícil imaginar las consecuencias que esto puede tener a la hora del consumo hedónico de un vino contaminado con pequeñas concentraciones de TCA. Existen ya referencias bibliográficas y testimonios en las que se describe este efecto negativo de bajas concentraciones de anisoles en vinos, en los que gran parte de sus aromas característicos parecen haber desaparecido.

Figura 7. Medidas de intensidad de corriente eléctrica y efecto supresor por la molécula de TCA sobre receptores olfatorios de salamandra. Los datos han sido elaborados a partir de los publicados por Takeuchi y cols. (2013). El punto rojo indica el umbral de detección olfatoria típico en catadores entrenados, y el punto azul el de la población en general.



Sorprendentemente, el TCA ejerció un efecto supresor mucho más potente sobre los canales CNG (100-1000 veces más) que otros agentes que funcionan como enmascarantes olfativos muy conocidos y ampliamente utilizados en perfumería, como el cis-diltazem, que actúa como bloqueante, y el geraniol, un potente agente enmascarante usualmente utilizado en perfumes. Esto puede explicar el aroma potente y embriagador que desprenden algunos vinos de la variedad Moscatel, ricos en geraniol. Takeuchi y cols. también investigaron los mecanismos de la acción del TCA sobre los CNG y, a la vista de su carácter lipofílico (cuantificado por su coeficiente de reparto en octanol/agua a pH 7,4) y a que la cinética de su efecto inhibitor no se ajusta a una ecuación de Michaelis-Menten, sino a una regresión logarítmica, sugieren que el efecto sobre los CNG estaría mediado por la inclusión del TCA en la bicapa lipídica de las membranas plasmáticas de las células receptoras, desde donde, de alguna forma, alteraría la conductancia y/o el mecanismo de compuerta de los CNG.

Por otra parte, Takeuchi y cols. analizaron la potencia relativa de diferentes anisoles y moléculas relacionadas, encontrando efectos muy similares del TCA y del TCB, moléculas que resultaron muchísimo más eficaces, en la anulación de las corrientes catiónicas a través de los CNG, que el TCP, precursor del TCA.

Finalmente, como biólogos de formación, los autores de este artículo no podemos por menos que plantear una cuestión final: son demasiadas las diferencias interespecíficas que podemos encontrar en cualquier función biológica, muy a menudo en especies animales muy relacionadas evolutivamente entre sí, como para asumir sin más que los efectos del TCA observados en neuronas olfatorias de un anfibio son directamente extrapolables a la especie humana. Es obvio que serán necesarias más investigaciones para clarificar la eventual

implicación de este fenómeno en el olfato humano, así como, en su caso, su importancia cuantitativa.

Consecuencias del impacto del TCA en bodega y durante el consumo de vino:

De todos los órganos de los sentidos, el olfato se distingue por la eficacia con la que se adapta al estímulo. Ello se debe a que, cuando las células olfatorias se “han acostumbrado” (fenómeno de adaptación de los receptores sensoriales) a la presencia de una determinada molécula odorífera, disminuyen paulatinamente su respuesta, hasta que cesan de transmitir al cerebro la información sobre su presencia. Esta capacidad para dejar de percibir un olor no constituye ningún problema serio para la vida del hombre, pero sí puede constituir una limitación muy importante para el descubrimiento de una eventual contaminación en bodega y, por supuesto, para un correcto disfrute del vino en el momento de su consumo hedónico. Se estima, por otra parte, y volviendo a Platón, que de todos los olores percibidos, el 75% son desagradables, por lo que la adaptación del sentido del olfato es de agradecer en la mayoría de los casos.

-. Contaminación ambiental de bodega: en el caso de estar sometidos de forma continua al impacto de una atmósfera contaminada por TCA, dicha molécula va a conseguir con su constante presencia una adaptación del sentido del olfato, no emitiéndose señales que avisen de su presencia, por lo que pasará desapercibida sin levantar señales de alarma que nos obliguen a corregir el grave problema que sufre el ambiente de la bodega. Esto se debe a que la percepción olfativa de ciertos agentes químicos puede estar alterada por contactos previos a los mismos, desarrollándose tolerancia cuando la exposición a un producto hace que disminuya la respuesta a exposiciones posteriores. En resumen, el TCA consigue que nos acostumbremos a su presencia sin molestarnos, lo que nos hace pensar que realmente el problema no existe y solo es fruto de la imaginación de los demás. Un problema añadido a la contaminación ambiental es que el vino ya nace desde su origen con una ligera contaminación por anisoles, por lo que cualquier fuente externa adicional, como pueda ser un lote de corchos con problemas de contaminación, va a aumentar significativamente la frecuencia de botellas afectadas por un contenido de TCA que sea superior a los umbrales de detección, pues partimos ya de un ruido base constante en todas ellas. De ahí la importancia de realizar controles atmosféricos periódicos de posibles contaminaciones ambientales mediante trampas de fibras específicas a los anisoles y sus precursores.

-. Control de calidad de corchos o barricas contaminadas: es una práctica habitual de bodega diagnosticar la presencia de TCA en vino, en materiales de corcho y en madera mediante la cata y análisis sensorial. En el caso particular de los anisoles tenemos un claro problema de supresión temporal cuando nuestro epitelio olfatorio entra en contacto con la molécula,

dejándonos inhabilitados hasta su recuperación, para lo que se necesita un tiempo de reposo después recibir el estímulo. La adaptación olfativa se produce cuando un estímulo es constante o se repite con rapidez, lo que provoca que se acompañe de una respuesta cada vez menor. Por ejemplo, la exposición breve a disolventes disminuye de forma notable, pero pasajera, la capacidad de detección de los mismos. La adaptación también tiene lugar cuando se ha producido una exposición prolongada a concentraciones bajas o rápidamente, con algunos agentes químicos, en presencia de concentraciones muy elevadas. Esto último puede provocar una “parálisis” olfatoria rápida y reversible. Por esta razón siempre se deben acompañar la evaluación sensorial de vinos, y en su caso, los controles sensoriales de tapones, con análisis químicos realizados mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas, tecnologías que no sufren estos fenómenos de adaptación y supresión sensorial.

-. Venta y consumo del vino: el mal llamado “sabor a corcho”, que deberíamos denominar “sabor a moho”, es el único defecto negociable a priori para devolver un vino en la mesa de un restaurante o en una tienda especializada. Se trata además de un grave problema que afecta a la distribución, causando conflictos entre productores y distribuidores en el mundo entero. Existe por otra parte un consenso sobre las concentraciones de TCA que dañan las propiedades sensoriales del vino, con unos umbrales mínimos definidos mediante catas triangulares con paneles formados con amplias poblaciones de catadores y consumidores. Umbral de detección sensorial significa la concentración a la que no solo percibimos algo diferente en relación a un testigo, sino también a la que somos capaces de definir a qué se debe la diferencia. Sin embargo, en el caso del TCA y moléculas equivalentes, el daño organoléptico se produce desde concentraciones inferiores al umbral, como hemos podido comprobar, debido a su acción supresora sobre las células receptoras olfativas. Por lo tanto, para disfrutar del vino en su máxima expresión no se trata de superar o no unas concentraciones determinadas, sino de su total ausencia. No obstante, los umbrales definen concentraciones de riesgo comercial y siguen siendo válidos de cara a los controles cualitativos, tanto de tapones como de vinos. No debemos confundir experiencia hedónica en el consumo del vino con los conceptos técnicos que definen el problema de forma profesional.

Conclusiones:

- El principal responsable de la presencia de anisoles en los vinos y en otras bebidas y alimentos no es otro que el propio ser humano. No se debe culpabilizar a la industria del corcho, ni siquiera al apasionante mundo de los hongos, pues la fuente del TCA, el PCP, nació en los laboratorios.
- La presencia de contaminantes en bodega constituye un serio problema que puede afectar a la calidad de los vinos: debido a su condición hidroalcohólica, el vino absorbe muy

fácilmente cualquier contaminante capaz de volatilizarse a bajas temperaturas y viajar por la humedad relativa. La concentración de materiales albergados en una atmósfera contaminada puede aumentar con el tiempo. Nuestro sistema sensorial olfativo no nos permite detectar el problema de la presencia de TCA por nosotros mismos, por lo que se hace necesario un estricto control ambiental de los lugares sensibles de la bodega. Hoy en día existen sistemas específicos de muestreo de última generación, a base de polímeros absorbentes (fibras), mucho más selectivas que las trampas de bentonita.

- El control sistemático de los materiales de construcción utilizados en las bodegas, así como el control de los insumos enológicos es imprescindible para eliminar potenciales fuentes de contaminación y asegurarse de la posterior ausencia de anisoles en el vino. Existen técnicas que permiten medir el riesgo de contaminación de las barricas nuevas y corchos en general y por TCA en particular. En caso de exportación de materiales a larga distancia, particularmente cuando se utilizan contenedores marítimos, es también indispensable proceder al control ambiental antes de su carga.
- Los límites de consenso para definir a partir de qué concentración el TCA o el TBA perjudican las características sensoriales del producto pueden no ser del todo correctos, ya que, aunque para definir su presencia sí son válidos los umbrales de detección publicados en la bibliografía, según los resultados científicos aquí mostrados, el fenómeno de bloqueo de los canales CNG en los receptores olfatorios y, por lo tanto, de inhibición olfativa, pueden alterar la percepción de los aromas positivos de un vino a partir de concentraciones extremadamente bajas, aunque seguramente no tanto como se muestra en el trabajo publicado recientemente por el grupo japonés.

Bibliografía:

Álvarez-Rodríguez ML. Análisis de la producción de 2,4,6-tricloroanisol por hongos filamentosos aislados de corcho. *Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, Universidad de Extremadura*. 2003.

Amon JM, Vandeeper JM, Simpson RF. Compounds responsible for cork taint. *Aust Ans New Zeal Wine Ind J* 1989; 4: 62-9.

Buser HR, Zanier C, Tanner H. Identification of 2,4,6-trichloroanisole as a potent compound causing cork taint in wine. *J Agr Food Chem* 1982; 30: 359-63.

Chatonnet P, Guimberteau G, Dubourdieu D, Boidron JN. Nature et origen des odeurs de moisi dans les caves. Incidence sur la contamination des vins. *J Int Sci Vigne Vin* 1994; 28: 131-51.

Chatonnet P. Índole, origen y consecuencia de la presencia de anisoles en el mundo vinícola. En: Informe técnico: anisoles y *Brettanomyces*. Causas, efectos y mecanismos de control. Pags. 9-19. *Fundación para la Cultura del Vino (ed.)*. Madrid. 2004.

Chen TY, Takeuchi H, Kurahashi T. Odorant inhibition of the olfactory cyclic nucleotide-gated channel with a native molecular assembly. *J Gen Physiol* 2006; 128: 365-71.

Francis L, Field J, Gishen M, Valente P, Lattey K, Hoj P, Robinson E, Godden P. The AWRI closure trial: sensory evaluation data 36 months after bottling. *Aust NZ Grapegrower Winemaker* 2003; 475: 59-64.

Howland PR, Pollnitz AP, Liacopoulos D, McLean HJ, Sefton MA. (1997). The location of 2,4,6-trichloroanisole in a batch of contaminated wine corks. *Aust J Grape Wine Res* 1997; 3: 141-5.

Kleene SJ. The electrochemical basis of odor transduction in vertebrate olfactory cilia. *Chem Senses* 2008; 33: 839-59.

Takeuchi H, Kato H, Kurahashi T. 2,4,6-Trichloroanisole is a potent supressor of olfactory signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 16235-40.