



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Facultad de Farmacia

**TRABAJO FIN DE GRADO EN GRADO EN FARMACIA
DE CARÁCTER BIBLIOGRÁFICO**

Título del trabajo: La Cromatografía de Gases-Olfatometría
como herramienta en la evaluación del
aroma de los alimentos

Autor: **María del Carmen Bascón Suárez**

Grado en Farmacia

Tutor: **María Teresa Morales Millán**

Departamento Química Analítica

Fecha: Sevilla, Diciembre 2016

RESUMEN

El creciente interés por mejorar y optimizar los productos alimenticios ha aumentado los estudios que tienen como objetivo asegurar su calidad y promocionar su venta, mejorando la aceptación de los alimentos por parte del consumidor. Uno de los atributos que más influye en la aceptación de un alimento es el aroma, por ello cada vez son más los estudios encaminados a conocer la naturaleza de los componentes volátiles que lo producen. La cromatografía de gases acoplada a la olfatometría (GCO) es una de las técnicas más utilizadas que permiten el estudio de los componentes volátiles responsables del aroma de los alimentos.

La GCO es una técnica cromatográfica que incorpora la nariz humana como detector cromatográfico, esto permite asignar descriptores olfativos a los picos cromatográficos, y detectar olores con la nariz humana que el detector instrumental no puede registrar, ya que la nariz tiene un límite de detección mucho más bajo que el de los detectores químicos. La GCO permite separar los compuestos volátiles y además evaluar la contribución de cada volátil en el aroma global del alimento. En este trabajo se muestran las distintas técnicas olfatométricas que se utilizan para recopilar la información obtenida en la GCO con el objetivo de determinar cuáles son los compuestos de impacto.

Con el fin de evaluar la frecuencia de utilización y la importancia de esta técnica, se ha llevado a cabo un estudio bibliográfico de las aplicaciones de la GCO en alimentos. Este estudio revela un aumento considerable, en los últimos años, de la aplicación de la GCO como técnica para la evaluación del aroma de los alimentos, con el objetivo mayoritario de conocer los compuestos de impacto. Las bebidas alcohólicas son el objeto de estudio mayoritario y el método de preparación de muestra más utilizado es la microextracción en fase sólida (SPME).

PALABRAS CLAVE:

Cromatografía de gases-olfatometría, volátiles, aroma, alimentos, análisis.

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN	4
1.1. El análisis sensorial	4
1.2. Los sentidos	5
1.2.1. <i>El olfato</i>	6
1.2.2. <i>El gusto</i>	7
1.3. El flavor	8
1.4. El aroma	8
1.4.1. <i>Clasificación de los aromas</i>	9
1.4.2. <i>Relación estructura-olor</i>	10
1.4.3. <i>Compuestos de impacto (Key odorants) y olores anómalos (Off-flavors)</i>	11
2. OBJETIVOS	12
3. METODOLOGÍA	12
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
4.1. La cromatografía de gases-olfatometría (GCO)	13
4.1.1. <i>Cromatografía de gases</i>	13
4.1.2. <i>Cromatografía de gases-Olfatometría (GCO)</i>	16
4.1.3. <i>Técnicas olfatométricas</i>	19
4.1.4. <i>Técnicas de preparación de muestra</i>	24
4.2. Aplicaciones	26
5. CONCLUSIONES	32
6. BIBLIOGRAFÍA	33

1. INTRODUCCIÓN

1.1 El análisis sensorial

La evaluación sensorial es una disciplina que tiene como objetivo medir la calidad de los alimentos, conocer la opinión y mejorar la aceptación de los productos por parte del consumidor. La evaluación sensorial se tiene en cuenta para el mejoramiento y optimización de los productos alimenticios, así como para realizar investigaciones encaminadas a la elaboración e innovación de nuevos productos, en el aseguramiento de la calidad y para su promoción y venta (Hernández, 2005).

El Instituto de Alimentos de EEUU (IFT), define la evaluación sensorial como “la disciplina científica utilizada para evocar, medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características de alimentos y otras sustancias, que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto y oído” (Schutz, 1971).

La evaluación sensorial se utiliza para el análisis de aceptación o rechazo de un alimento por parte del catador o consumidor, de acuerdo a las sensaciones experimentadas. Esas percepciones dependen del individuo, del espacio y del tiempo principalmente (Hernández, 2005).

De esta forma se establecen unos criterios para la selección de los alimentos, criterios que inciden sobre una de las facetas de la calidad global del alimento, la calidad sensorial. La evaluación de la calidad se lleva a cabo mediante una disciplina científica, el análisis sensorial, cuyo instrumento de medida son los sentidos humanos (Ibáñez y Barcina, 2001).

Las características o indicadores de la calidad son “propiedades o parámetros generales que definen la calidad de un alimento como son la composición, estabilidad, pureza, estado, color, aroma, etc. También se les llama atributos de calidad. Estos atributos pueden ser positivos (como; el color, olor, aroma, sabor, textura, origen e inocuidad) o negativos (como; el estado de descomposición, contaminación, decoloración o presencia de olores desagradables). Los atributos de calidad pueden evaluarse mediante métodos subjetivos (con paneles de degustación) o por métodos objetivos (con ensayos físico- químicos)”. La Tabla 1 muestra los atributos de calidad según Schroder.

Tabla 1. Atributos de calidad de los alimentos (Fuente: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream>).

Pureza o seguridad	Control o exclusión	- Microorganismos - Toxinas - Sustancias extrañas (sólidos insectos) - Material en contacto con el alimento (envases)	Sensoriales	- Apariencia - Textura - Aroma - Gusto y sabor
		Aceptabilidad		Frescura
Identidad	Origen geográfico		Precio	- Relación calidad/precio
	Especie	- Carne de conejo - Carne de ternera	Cantidad	- Peso/volumen - Calibre - N° unidades
	Sistema de producción	- Convencional o ecológico - Transgénicos		Fuentes básicas de energía
		Composición	Nutrientes funcionales	- Minerales - Vitaminas
Otros aspectos	Accesibilidad	- Pequeño comercio - Gran superficie	Compuestos bioactivos	- Probióticos - Flavonoides
	Versatilidad	- Fácil sustitución y complementariedad	Factores dietéticos	-Fibra, prebióticos
	Atención al cliente	- Sugerencias, servicios, ayudas	Complementos	- Aditivos (aspectos sensoriales) - Suplementos nutritivos
	Presentación	- Comodidad para abrir el paquete - Distribuido en porciones		

Es de especial interés para la industria alimentaria obtener información mediante análisis sensorial y asociarla con los resultados obtenidos mediante instrumentos y métodos analíticos. Para ello es imprescindible la selección y entrenamiento de un panel sensorial, así como el desarrollo de una terminología descriptiva, técnicas de evaluación sensorial y ensayos fisicoquímicos que ayuden a caracterizar las cualidades sensoriales del alimento, sin olvidar que el consumidor determina en último término la evolución de un producto (Ibáñez y Barcina, 2001).

Este trabajo se va a centrar en una parte del análisis sensorial, concretamente en el análisis del aroma mediante Cromatografía de Gases-Olfatometría (GCO).

1.2 Los sentidos

Los sentidos son los medios con los que el ser humano percibe y detecta el mundo que lo rodea, como lo es la vista, el olfato, el gusto, el tacto y el oído. El gusto y el olfato son los sentidos llamados químicos o quimiorreceptores, porque a diferencia de los otros sentidos, dependen principalmente de receptores que son estimulados por sustancias químicas, (principalmente compuestos volátiles en el caso del olfato).

Para poder saborear un determinado alimento, debe existir una información doble de los dos sentidos químicos: el olfato y el gusto. Ambos se interrelacionan reforzando la información y conjuntando la codificación cognitiva (Ibáñez y Barcina, 2001).

1.2.1 El olfato

El olfato es el sentido que antes se desarrolla en el seno materno, además es el más evolucionado en el momento del nacimiento. Sin embargo, a medida que el ser humano crece y que sus otros sentidos se perfeccionan, el olfato pasa a un segundo plano.

A lo largo de la evolución humana el olfato ha ido perdiendo funciones y capacidades en comparación con el de los demás mamíferos. Aun así, el olfato sigue siendo imprescindible, sin él, la comida no tiene ningún sabor. Además, es el único sentido capaz de modificar el comportamiento, el estado de ánimo o de provocar reacciones fisiológicas inmediatas. También, se encuentra muy relacionado con las zonas cerebrales que controlan y regulan la memoria y las emociones, por lo que permite traer a la mente recuerdos y sensaciones instantánea e incontroladamente al detectar un determinado olor (Aceña, 2011).

El sentido del olfato permite detectar sustancias en estado gaseoso, este sentido se encuentra situado en la nariz. Los quimiorreceptores del olfato se hallan en la pituitaria amarilla (Figura 1), situada en la parte superior de las fosas nasales. La parte inferior se halla recubierta por la pituitaria roja, una mucosa con numerosos vasos sanguíneos que calientan el aire inspirado. En la pituitaria amarilla hay tres tipos de células: las células de sostén, las células olfatorias (células nerviosas receptoras de los estímulos químicos provocados por compuestos volátiles) y las células basales.

En la pituitaria amarilla también se hallan las glándulas mucosas de Bowman, que segregan un líquido que mantiene húmedo y limpio el epitelio olfatorio. Las sustancias volátiles deben ser lo suficientemente solubles en agua para que puedan penetrar por las fosas nasales y lleguen a las células olfatorias. Estas transmiten un impulso nervioso al bulbo olfatorio y, de este, a los centros olfatorios de la corteza cerebral, que es donde se aprecia e interpreta la sensación. Se han estudiado siete tipos de células olfatorias, cada una de las cuales es capaz de detectar un tipo de molécula. Estos olores primarios son: alcanforado (olor a alcanfor), almizclado (olor a almizcle), floral, mentolado, etéreo (olor a éter), picante y pútrido (olor a podrido) (Hernández, 2005).

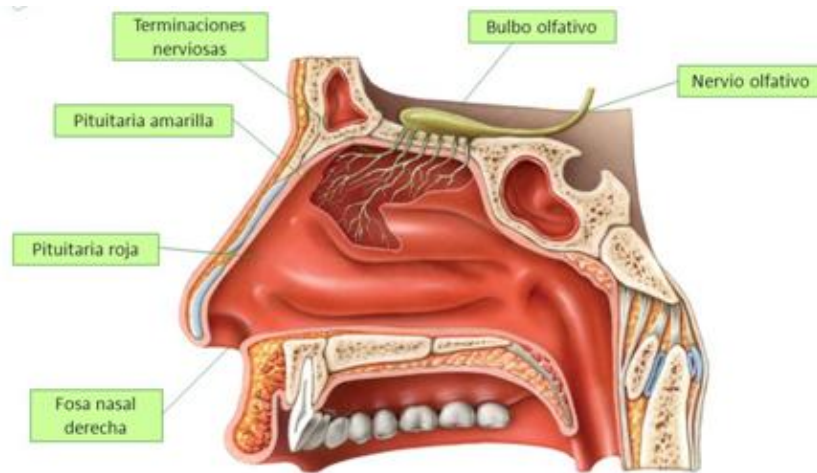


Figura 1. Cavidad nasal (Fuente: <https://www.emaze.com/@ACOILQQO>).

Las células olfatorias llegan a fatigarse tras un largo periodo percibiendo una misma sustancia, dejan de emitir impulsos nerviosos respecto a ella, pero siguen detectando todos los demás olores. Los atributos que se perciben con el sentido del olfato son el olor y el aroma, el primer atributo tiene que ver con el producido por los alimentos por la volatilización de sustancias que se esparcen por el aire llegando hasta la nariz y el segundo consiste en la percepción de sustancias aromáticas de un alimento por vía retronasal que se origina después de colocarlo en la boca. Las sensaciones percibidas pueden ser agradables o desagradables de acuerdo a las experiencias del individuo (Hernández, 2005).

1.2.2 El gusto

La superficie de la lengua (a excepción de la base) está recubierta por una mucosa, que contiene los receptores gustativos; las papilas gustativas. Las papilas se clasifican según su forma; caliciformes, que se disponen en V, las fungiformes, que se sitúan en la punta, los bordes y el dorso de la lengua, las filiformes y las coroliformes. Las caliciformes y fungiformes son las que tienen función gustativa, ya que son las únicas que poseen botones o corpúsculos gustativos. Y las filiformes y coroliformes actúan por el tacto y por su sensibilidad a los cambios de temperatura. Las papilas reconocen cinco sabores fundamentales: dulce, salado, ácido, amargo y umami (Figura 2), cuya proporción e intensidad sirven al cerebro para reconocer el alimento al que corresponden.

Las sustancias percibidas (que son solubles en agua) penetran por el poro gustativo, de esta manera, las diferentes células gustativas generan un impulso nervioso que llega, por separado, al bulbo raquídeo, y de aquí al área gustativa de la corteza cerebral, la información llega gracias al nervio vago y al glossofaríngeo (Hernández, 2005).

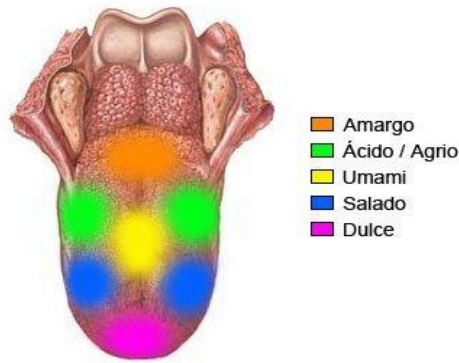


Figura 2. La lengua y los atributos de sabor (Fuente: <http://www.xatakaciencia.com/biologia>).

1.3 El flavor

El flavor, de acuerdo al British Standard Institution, se define como la suma de todas aquellas características detectadas al emplazar un alimento en la boca, sensaciones percibidas principalmente a través de los sentidos del gusto y el olfato, pero también por los receptores táctiles y dolorosos alojados en la boca, que son recibidas e interpretadas por el cerebro. Según Carpenter Roland. La percepción del flavor se divide en tres etapas (Hernández, 2005):

- Evaluación del olor: el aroma del producto alimenticio antes de que penetre en la boca.
- Evaluación del sabor: cuando el producto alimenticio está en la boca.
- Evaluación del regusto: sensaciones percibidas una vez deglutido el alimento.

1.4 El aroma

Como ya se ha expuesto, los sentidos del olfato y el gusto están muy relacionados; los alimentos tienen olor, producido por compuestos volátiles que son percibidos cuando llegan al epitelio olfatorio (vía nasal directa). Una vez en la cavidad bucal, dichos alimentos presentan más olor si cabe, ya que la masticación libera muchas moléculas volátiles, las cuales llegan a la cavidad nasal por vía retronasal. Al olor generado por estas moléculas que llegan hasta la mucosa olfativa, se le denomina aroma (Holley, 2006). El aroma tiene tres dimensiones:

La intensidad de un aroma depende de la cantidad de odorante que se necesita en el entorno de las células receptoras de la mucosa olfatoria para que se produzca la activación del olfato. Cuando se trata de la concentración de odorante más baja en la que éste es detectado, se denomina umbral de percepción. Este valor depende, en gran medida, de la matriz en la que se encuentre y de las interacciones entre odorantes de la misma matriz (Holley, 2006). Por otro lado la cualidad de un aroma es la identidad sensorial y se define mediante los descriptores sensoriales que se asignan a dicho olor.

Para algunos compuestos, la cualidad de su olor varía con la concentración, es el caso del (E)-2-nonenal que por encima de su umbral de detección (0,1 µg/L) presenta olor a madera, mientras que por encima de los 8 µg/L, huele a grasa (Fisher y Scott, 2000).

En cuanto al valor hedónico, o tonalidad afectiva, es la sensación que produce el olor percibido, es decir, si resulta agradable o desagradable (Holley, 2006).

1.4.1 Clasificación de los aromas

La falta de educación olfativa del ser humano lo ha llevado a tener una gran dificultad a la hora de clasificar los olores de forma objetiva. Puede ser que esta dificultad se deba a que el ser humano no es capaz de abstraer los términos para definir un olor con un lenguaje verbal bien codificado, más bien los olores se refieren a cosas, objetos (afrutado, acaramelado, lavanda...), a la condición que informan (quemado o podrido), o a las sensaciones de aceptación o rechazo que producen. Aun así, se han podido clasificar seis olores básicos o primarios: picante, fragante, pútrido, etéreo, resinoso y quemado, aunque los humanos son capaces de diferenciar y discriminar miles de olores diferentes, pero no son capaces de describirlos de forma concreta y objetiva (Ibáñez y Barcina, 2001).

A lo largo de la historia el hombre ha tratado de clasificar los olores. En el siglo XVIII, Linneo establecía 7 categorías para ellos: aromáticos (los del laurel), fragantes (de la tila, el lis y el jazmín), ambrosianos (del ámbar y el almizcle), aliáceos (del ajo), caprílicos u olor de macho cabrío (los olores de algunos ácidos grasos de cadena corta), narcóticos (de las solanáceas) y fétidos (de las plantas pútridas) (Holley, 2006). En el siglo XIX, H. Zwaardemaker añadió dos nuevas categorías a las seis anteriores; los olores etéreos (de las frutas muy maduras) y los empireumáticos (del café, pan tostado y el tabaco) (Gorelik, 2008).

Eleanor Rosch (Rosch, 1978) desarrolló la “teoría de los prototipos”; esta teoría pretendía clasificar los olores. Los olores se ordenaban por categorías y cada categoría tenía un “prototipo”, es decir, un olor considerado el más representativo de dicha categoría. Por ejemplo, el aroma de manzana representaría un nivel base (prototipo), por el encima del cual estaría el nivel superior de aroma de fruta y, en un nivel subordinado, el olor de la manzana golden (Holley, 2006).

En determinados sectores, como en el de la cerveza y el vino, en los que es muy importante el análisis del aroma, se ha conseguido establecer categorías y términos objetivos y específicos acerca de los olores.

Un ejemplo es La Rueda del Flavor de la Cerveza, creada en la década de los 70 por Morten Meilgaard (Meilgaard, 1979), en ella se utilizan catorce categorías y cuarenta y cuatro términos sensoriales para describir el olor y el sabor de todos los estilos de cerveza. En 1984 Noble y sus colaboradores crearon la Rueda de los Aromas del Vino, (Noble y cols., 1984) en la que aparecen doce categorías y noventa y cuatro descriptores.

1.4.2 Relación estructura-olor

El sistema olfatorio presenta un gran poder de discriminación capaz de detectar un amplio espectro de odorantes gracias a la selectividad de sus receptores (Holley, 2006). Las moléculas olorosas deben tener un grupo osmóforo (grupo funcional activo) y presentar una geometría adecuada que les permita activar a un receptor, uniéndose a él a través de una región determinada y mediante enlaces de baja energía.

Algunos estudios han evidenciado la alta selectividad de la unión ligando-receptor; se ha demostrado que un solo receptor es capaz de diferenciar compuestos químicos que solo difieran en la disposición de sus átomos, como en el caso del butanoato de 2-pentilo, cuyos enantiómeros se perciben como "frutal y dulce" y "ahumado y especiado" (Kraft y Swift, 2007) o entre compuestos que presentan la misma cadena, pero que se diferencian en el grupo funcional (Hatt, 2004), como en el caso del amoníaco (NH₃) y del sulfuro de hidrógeno (H₂S), ambos presentan olores muy intensos, pero muy diferentes.

Dependiendo del odorante de que se trate, será su grupo osmóforo o su geometría quien influya mayoritariamente en el aroma finalmente percibido (Ohloff, 1994). Se designa por grupo osmóforo a la parte de la molécula responsable del olor. La mayoría de las sustancias olorosas son de naturaleza orgánica, formadas por H, C, N, O y S; por ejemplo, los hidrocarburos derivados del benceno y naftaleno; Henning describió la posición "para" como característica de los olores a especias, la "meta" para los florales, etc. (Figura 3).

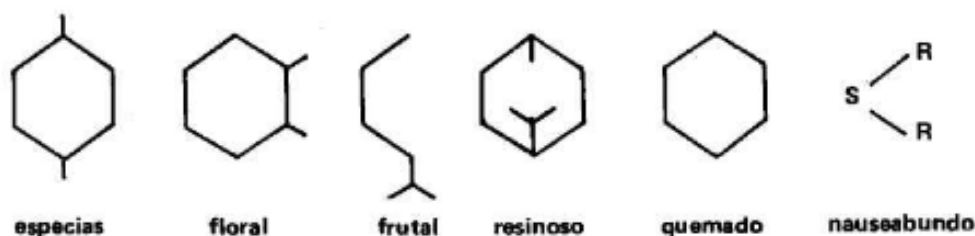


Figura 3. Compuestos orgánicos olorosos (Fuente:<http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio>).

Dentro de los compuestos inorgánicos, son odoríferos los halógenos cloro, bromo y yodo y algunos derivados fosforados; también tienen olor los derivados de arsénico, selenio, boro, antimonio y silicio. En general, el olor característico de un compuesto disminuye con el peso molecular en una serie homóloga. A continuación, se muestran algunos ejemplos de cómo la estructura puede emplearse para predecir el aroma (Herrera y cols., 2010):

Almendras amargas: el ácido cianhídrico y el benzaldehído, tienen el típico olor a almendras. Al compararlos, se deduce que son muy diferentes estructuralmente, por lo que, tras varios estudios se ha llegado a la conclusión de que el aroma se debe a un núcleo aromático que contiene dobles enlaces conjugados con los grupos funcionales, lo que intensifica el aroma.

Frutal: el éster tiene el clásico olor a frutas. La intensidad del olor depende considerablemente de la naturaleza de la porción ácida y alcohólica; los ésteres alifáticos con más de ocho átomos de carbono tienen aromas frutales intensos, las insaturaciones en la proximidad de la función éster reducen el peculiar tono frutal y agregan sensaciones herbales. Por otro lado, los olores a uva, frutas rojas y melón se producen cuando aparecen en su estructura ciertos compuestos azufrados.

1.4.3 Compuestos de impacto (Key odorants) y olores anómalos (Off-flavours)

El aroma de un alimento está constituido por muchos compuestos volátiles, cada uno contribuirá en mayor o menor medida al aroma final. Sin embargo, hay determinados compuestos volátiles que son capaces de proporcionar, por ellos mismos, el olor característico al alimento que lo contiene, a estos compuestos volátiles se les denomina compuestos de impacto o “Key odorants” (Fisher y Scott, 2000), cuyo olor es el que da la identidad sensorial al propio producto. En la Tabla 2 aparecen algunos ejemplos de key odorants, el alimento en el que se encuentran y el descriptor empleado para describir el olor del odorante.

Tabla 2. Compuestos aromáticos con carácter de impacto.

Alimento	Odorante	Descriptor
Almendras	Benzaldehído	Almendras amargas
Col	Sulfuro de dimetilo	Col
Limón	Neral/geranial	Limón
Pepino	2-(E)-6-(Z)-nonadienal	Pepino
Pimiento verde	3-isobutil-2-metoxipirazina	Pimiento verde
Remolacha	Geosmina	Terroso
Setas	1-octen-3-ona	Champiñón
Vainilla	Vainillina	Vainilla

Por otro lado, también hay que considerar la aparición de olores extraños o anómalos, a los que se les denomina “*off-flavours*”, estos no suelen asociarse con el aroma típico del propio alimento y van a repercutir negativamente en su calidad. Los *off-flavours* pueden aparecer por diversas razones, por contaminación (a través del aire, del agua, por interacción con los materiales del envasado), por reacciones químicas y microbiológicas que tienen lugar en el propio alimento (oxidaciones, reacciones inducidas por la luz, etc.), o por el mismo proceso natural de deterioro del producto (McGorin, 2011).

La cromatografía de gases con detección olfatométrica (GCO) se utiliza para el estudio de dichos aromas, en esta técnica se emplea la nariz humana como detector cromatográfico en paralelo con otro detector. De esta manera se combinan respuesta instrumental y sensorial, lo que permite identificar los compuestos volátiles que presentan olor de entre la totalidad de la fracción volátil de una muestra. Además se han desarrollado técnicas olfatométricas con el objetivo de evaluar la contribución de cada odorante en el aroma global del producto estudiado (Aceña, 2011).

2. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es evaluar las diferentes técnicas y metodologías analíticas, basadas en GCO, empleadas para analizar el aroma de los alimentos.

Para alcanzar este objetivo será necesario alcanzar varios objetivos parciales:

- Conocer los principales aspectos sensoriales relacionados con la percepción del aroma de los alimentos.
- Conocer las características operacionales de la técnica cromatografía de gases acoplada a la olfatometría.
- Realizar una amplia revisión bibliográfica sobre la utilización de la GCO como herramienta para la evaluación del aroma de los alimentos, con el fin de evaluar tanto la importancia como la frecuencia de utilización de esta técnica que tiene gran interés debido a la alta influencia del aroma en la aceptación de determinados alimentos.

3. METODOLOGÍA

Para la elaboración de esta revisión bibliográfica, se ha realizado una búsqueda de información en diferentes bases de datos, libros, artículos científicos y otros trabajos publicados como tesis doctorales o informes científicos. Para recopilar todos los textos consultados, se ha usado el gestor de referencias y citas bibliográficas Mendeley.

La revisión consta principalmente de tres partes. La primera parte trata sobre la importancia del análisis sensorial, el sentido del olfato, el flavor y el aroma. Para la elaboración de esta parte introductoria se ha realizado una búsqueda de artículos en bases de datos como Dialnet, pero sobre todo, se ha obtenido la información de libros como el “Análisis sensorial de los Alimentos” de Ibáñez y Barcina, “Evaluación Sensorial” de Hernández y “El cerebro goloso” de Holley. También se ha obtenido información de tesis doctorales como la de Aceña.

La segunda parte trata sobre la técnica de la cromatografía de gases-olfatometría (GCO), que se ha elaborado a partir del libro “Composición y análisis de alimentos de Pearson” y de artículos científicos buscados en Scopus, PubMed o ScienceDirect, como por ejemplo, el de Van Ruth “Methods for gas chromatography-olfactometry” y el de Alpendurada “Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis”, en esta parte también se han consultado tesis doctorales.

La tercera parte, se centra en las aplicaciones de la GCO. Para su elaboración se hizo una búsqueda general en PubMed y Scopus. La búsqueda se centró en torno a las palabras clave: “Gas chromatography olfactometry”. Se encontró una gran cantidad de artículos científicos relacionados con el tema en los últimos 21 años, con ellos se elaboró la “Línea de tiempo”. Para elaborar la “Tabla bibliográfica” de las aplicaciones se acotó la búsqueda a las publicaciones de los últimos 4 años. Tras la lectura del título de los artículos encontrados en los últimos 4 años, se hizo una primera selección descartando los que no estaban relacionados con el análisis de alimentos. Para la siguiente selección se procedió a la lectura del resumen de los mismos, hasta recopilar una serie de artículos con información interesante para el desarrollo de los objetivos. Y, por último, se profundizó en el estudio de los artículos para completar los datos más específicos de la “Tabla bibliográfica” como la técnica de extracción o la técnica olfatométrica utilizada.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 La cromatografía de gases-olfatometría (GCO)

4.1.1 Cromatografía de gases

La cromatografía de gases es una técnica analítica de separación que proporciona una información cualitativa y cuantitativa de los componentes presentes en una mezcla. Se trata de un proceso mediante el cual una mezcla es separada en sus componentes por medio de una fase móvil gaseosa que pasa a través de una fase estacionaria (Kirk, 1996).

Para que una sustancia pueda ser arrastrada por la fase gaseosa, debe poder disolverse parcialmente en dicha fase.

Los componentes son separados debido a las diferencias en las constantes de distribución de los componentes de la mezcla entre la fase móvil gaseosa y la fase estacionaria, permitiendo que sean separados en tiempo y espacio. La identificación de las sustancias volátiles se logra por referencia con el tiempo transcurrido entre la inyección y la elución; éste se compara con el de sustancias patrón conocidas (tiempo de retención relativo).

A la distribución final de los componentes en función del tiempo en el que eluyen se le denomina cromatograma. La forma más usual de hacer cromatografía de gases es utilizando un líquido como fase estacionaria; recibe entonces el nombre de cromatografía gas-líquido (CGL). También se utilizan absorbentes, dando lugar a la cromatografía gas-sólido (CGS), pero en mucho menor proporción (Olguín y cols., 2004). De forma general la CG es aplicable para la separación y el análisis de mezclas cuyos componentes tengan puntos de ebullición de hasta 300 °C y que sean térmicamente estables (Kirk, 1996). También puede aplicarse a componentes no volátiles previamente transformándolos en derivados volátiles mediante reacciones de derivatización.

La GLC permanece como una de las técnicas más importantes en el análisis de alimentos como grasas y aceites, colorantes, aromas, pesticidas y otras mezclas complejas de componentes volátiles.

Partes del cromatógrafo: el cromatógrafo de gases se compone de la fase móvil, el sistema de inyección, la columna cromatográfica, el detector y el sistema de registro y tratamiento de datos, como se muestra en la Figura 4.

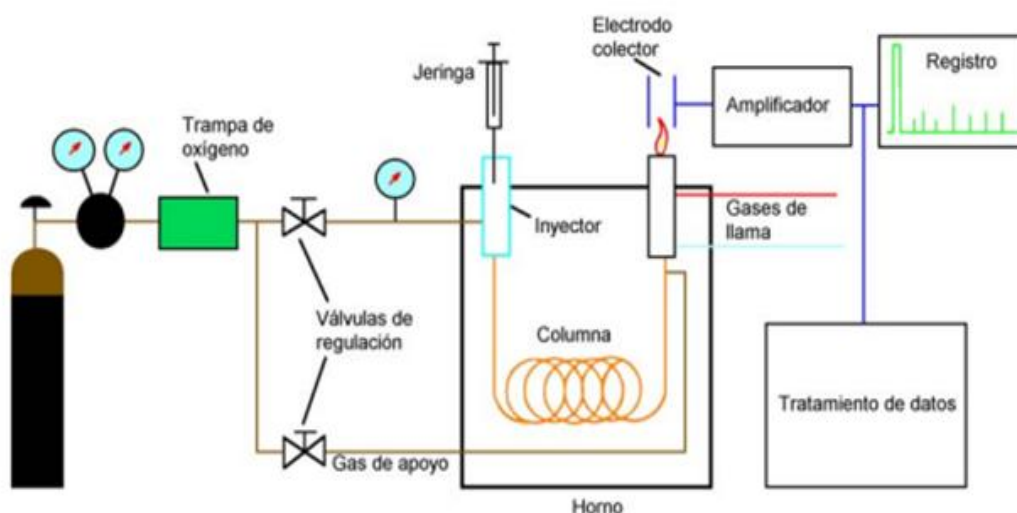


Figura 4. Esquema de un cromatógrafo de gases (Fuente: <http://www.monografias.com/trabajos95/estudio-del-arte-equipos-laboratorio-clinico>).

Fase móvil (o gas portador): es suministrado mediante tanques de alta presión. Las características que debe tener el gas portador son inercia, pureza y además debe ser compatible con el detector (por ejemplo, para el detector FID se suele usar el nitrógeno y el hidrógeno) (Kirk, 1996).

Sistema de inyección: va a permitir la introducción de la muestra en la columna de forma instantánea. La muestra debe aplicarse en la parte superior de la columna en el menor volumen posible y en forma de vapor.

Columnas: Hay dos tipos (Figura 5) las columnas de relleno o empacadas (la fase estacionaria líquida está retenida en un sólido inerte, llamado soporte) y las capilares (la fase estacionaria se fija sobre las paredes interiores del capilar) que difieren en longitud y diámetro. Siendo las columnas capilares las más utilizadas ya que presentan una gran capacidad para separar mezclas complejas de compuestos volátiles.

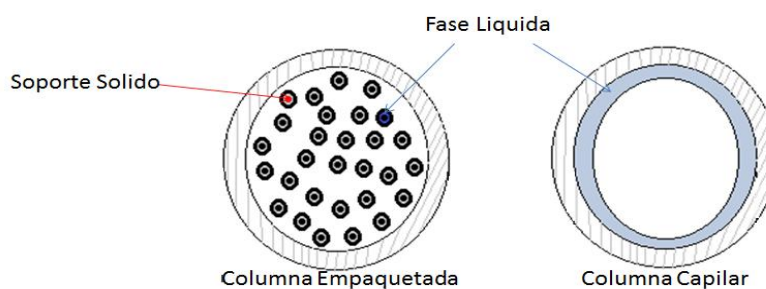


Figura 5. Tipos de columnas (Fuente: <http://gcailin.blogspot.com.es>).

Las fases estacionarias líquidas son muy variadas, se clasifican según su facilidad para formar puentes de hidrógeno (Kirk, 1996). Se seleccionará una fase estacionaria u otra en función de la naturaleza del analito, por ejemplo, si es polar, se utilizará una fase estacionaria polar. Una serie homóloga eluye según orden creciente del número de átomos de carbono. Si la fase es no polar, los solutos no polares eluyen según orden creciente de punto de ebullición. En una fase polar se retendrán más los solutos polares que los no polares a igualdad de puntos de ebullición (Kirk, 1996).

Las fases estacionarias sólidas también son muy variadas. Existen tres tipos básicos como son: adsorbentes inorgánicos basados en alúmina y gel de sílice, tamices moleculares basados en zeolitas y perlas rígidas de polímero (Cowper y Derose, 2013).

Para conseguir una óptima separación de los componentes de la muestra es necesario controlar con precisión la temperatura, de tal manera que, en muestras cuyos componentes tienen puntos de ebullición similares, se buscará una temperatura ligeramente mayor al punto de ebullición medio de los componentes.

Trabajando en isoterma, y en muestras con puntos de ebullición muy diferentes, se irá aumentando la temperatura a medida que los componentes se van separando, trabajando a Tª programada.

Horno de la columna (horno): Las columnas se encuentran a altas temperaturas dentro de un horno que va a controlar su temperatura mediante un termostato. La temperatura del horno se programa para obtener una separación óptima.

Detectores: su función es reconocer las sustancias que van saliendo de la columna. Van a producir una señal eléctrica como resultado de un efecto físico causado por la sustancia que está siendo eluída. Esta señal eléctrica es amplificada y registrada, dando como resultado un cromatograma (Kirk, 1996). En el análisis de los alimentos se utilizan diferentes tipos de detectores, uno de los más utilizados es el detector de ionización en llama (FID), debido a su alta sensibilidad. El efluente al salir de la columna se mezcla con oxígeno e hidrógeno y se quema, fruto de la combustión se forman iones que permiten la circulación de la corriente eléctrica cuya intensidad es proporcional al número de átomos de carbono en el componente de la muestra. Existen otros tipos de detectores como el detector de captura de electrones (ECD) y el detector de conductividad térmica (TCD).

Tras la elución de los componentes volátiles se obtiene el cromatograma, se trata de una representación gráfica de una serie de picos que aparecen a determinados tiempos de retención, cada pico corresponde a un tipo de componente volátil, el área bajo el pico es proporcional a la cantidad de un determinado componente.

El uso de un estándar interno elimina las variaciones de la inyección y los cambios en la respuesta del detector. Permite calcular la concentración de un determinado componente en la muestra al hacer referencia a la curva de calibración (previamente elaborada tras cromatografiar diferentes disoluciones con el compuesto de interés y una cantidad fija de estándar interno) (Message, 1984).

4.1.2 Cromatografía de gases-Olfatometría (GCO)

En la década de los cincuenta, Martin y James (1952) descubrieron la cromatografía de gases, y no fue hasta 1964 cuando Fuller, Steltenkamp y Tisserand desarrollaron la técnica de la Olfatometría (Aceña, 2011), que consistía en un “cromatógrafo de gases modificado” que incorporaba la nariz humana como detector cromatográfico, esto permitía asignar descriptores olfativos a los picos cromatográficos (del cromatograma), y además detectar olores con la nariz humana que el detector instrumental no podía registrar, ya que la nariz tiene un límite de

detección mucho más bajo que el detector usado en cromatografía de gases (Fuller y cols., 1964).

Hay indicios de que sólo una pequeña fracción de la gran cantidad de compuestos volátiles presentes en los alimentos contribuye realmente al olor y aroma. Muchos de los detectores químicos no son tan sensibles como la nariz humana. La experiencia demuestra que muchos compuestos aromáticamente activos se producen en concentraciones muy bajas. Por lo tanto, el perfil del pico obtenido por los detectores químicos no refleja necesariamente el perfil de aroma de un alimento (Van Ruth, 2001).

La cromatografía de gases-olfatometría es una técnica analítica muy importante en el análisis del aroma de los alimentos, con ella se logran separar todos los compuestos volátiles presentes en una mezcla, cada uno de los cuales, eluye individualmente por el puerto olfatométrico y es percibido por un catador que evaluará el aroma (será capaz de percibir, describir y cuantificar la intensidad aromática de los compuestos que eluyen, separados, de la columna cromatográfica) y asignará a cada pico cromatográfico un descriptor olfativo (Figura 6). El detector instrumental proporciona un cromatograma y el analista podrá asignar olores a los picos y/o determinarse a qué tiempos de retención se detectan olores (Díaz y Pérez, 2006).

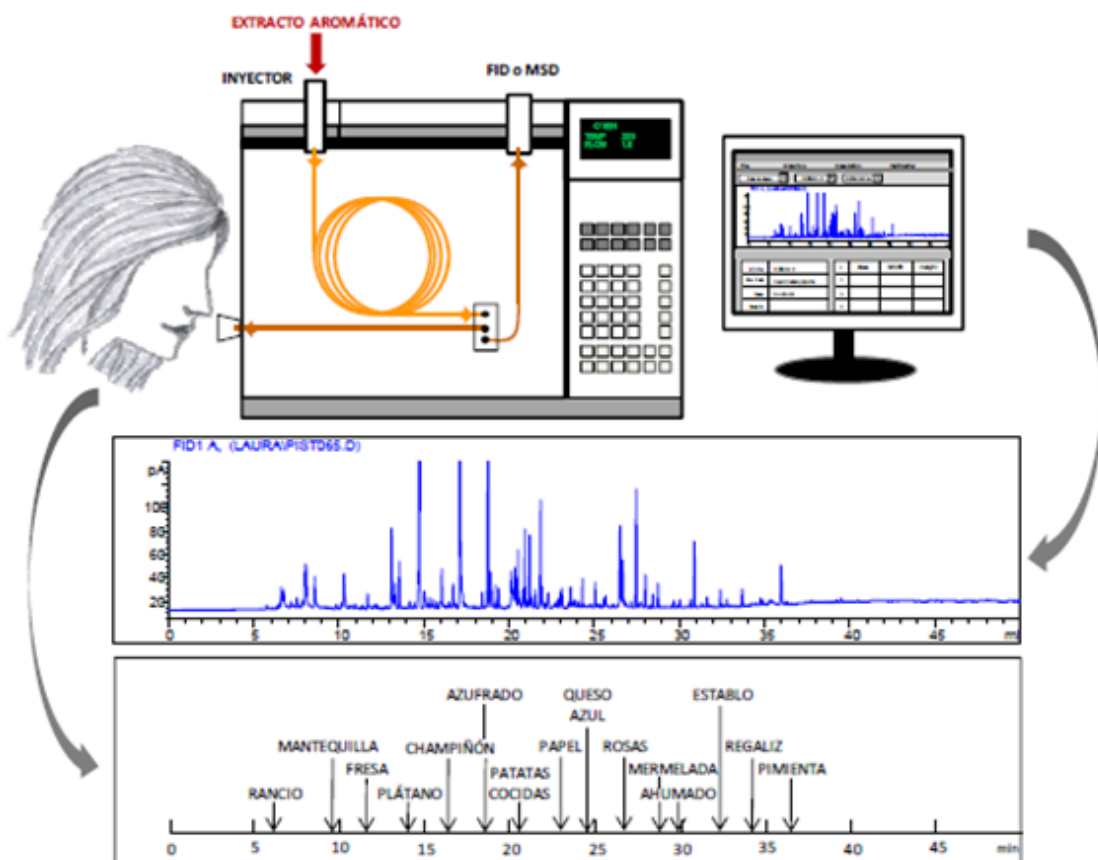


Figura 6. Esquema del análisis cromatográfico-olfatométrico (Aceña, 2011).

La GCO tiene dos detectores, un detector químico (generalmente un detector de ionización de llama FID o un espectrómetro de masas MS) y un detector olfatométrico (puerto olfatométrico, donde se sitúa la nariz del analista), ambos están conectados en paralelo.

Se introduce un extracto aromático representativo de la muestra a través del puerto de inyección, de manera que los componentes de la mezcla se van a separar en la columna. A la salida de la columna, el flujo se divide en dos, una parte va al detector químico y otra va hacia el puerto olfatométrico (situado fuera del cromatógrafo) donde se sitúa la nariz del analista.

Al dividirse en dos el eluato, puede alcanzar ambos detectores, permitiendo relacionar la información química que aportan los detectores químicos con la información sensorial que aporta la nariz humana, pudiéndose detectar los compuestos volátiles aromáticamente activos.

Inicialmente el gas que salía por el puerto olfatométrico era seco y caliente, lo que provocaba la deshidratación de las fosas nasales, disminuyendo la capacidad olfativa del analista, por este motivo en 1971 Dravnieks y O'Donnell diseñaron el primer cromatógrafo de gases con detector olfatométrico, en el que se mezclaba el efluente caliente que salía de la columna con aire humidificado (Figura 7) (Dravnieks, 1971). La Tabla 3 muestra las ventajas y las limitaciones de la CGO.

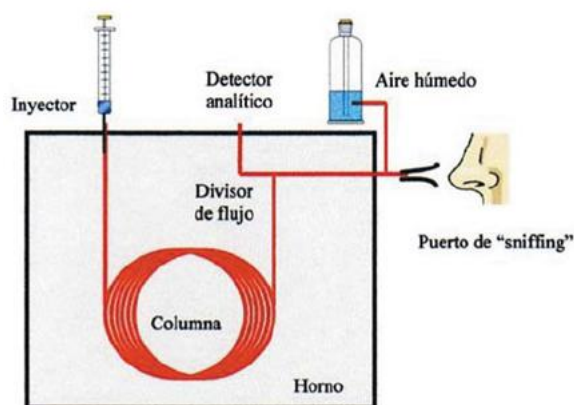


Figura 7. Esquema del acoplamiento entre la cromatografía de gases y la olfatometría (Diaz y Perez, 2006).

Tabla 3. Ventajas e inconvenientes de GCO (Blank, 2002).

VENTAJAS DE GCO	LIMITACIONES DE GCO
La nariz tiene un límite de detección mucho más bajo que el detector químico usado en la GC.	El análisis cromatográfico se debe realizar dentro de una semana para reducir la variabilidad en el análisis y la percepción sensorial.
Permite relacionar la información química que aportan los detectores químicos con la información sensorial que aporta la nariz humana.	El número de sustancias odoríferas detectables por GCO depende del método de extracción, del umbral de detección de los volátiles y de parámetros que se seleccionan arbitrariamente.
Útil para detectar cantidades traza de compuestos de impacto.	Humidificar el aire para evitar la fatiga sensorial causada por la deshidratación nasal.
Compuestos volátiles con índices de retención muy próximos, si presentan olores diferentes, podrán ser detectados por olfatometría.	Los umbrales olfativos de detección de olores varían dependiendo de las condiciones experimentales.
Útil para estudiar el olor de compuestos que no pueden ser detectados por un detector analítico (debido a bajos umbrales olfativos de detección).	La concentración no se correlaciona necesariamente con la intensidad de aroma; compuestos con baja concentración en el extracto original pueden tener factores de intensidad altos y viceversa.
Útil para determinar compuestos que no son propios de un alimento pero que aparecen en el debido, entre otras causas, a su procesado.	No tiene en cuenta las interacciones que surgen en el sistema olfativo o entre el gusto y el olfato.

4.1.3 Técnicas olfatométricas

En 1963 Rothe y Thomas introdujeron el concepto de “valor de actividad de olor” (Odor Activity value) (AOV), éste se calcula dividiendo la concentración del volátil en su matriz por su umbral de percepción en dicha matriz. Cuando el valor es superior a 1, se considera que el compuesto tiene una alta influencia en el aroma del alimento (Aceña, 2011).

Este método, tenía algunos inconvenientes; no tenía en cuenta los efectos sinérgicos entre odorantes, ni tampoco contaba con que la relación entre concentración e intensidad fuera exponencial.

Para solventar estos inconvenientes se desarrollaron las técnicas olfatométricas, que recopilan la información obtenida en la GCO y permiten calcular la medida en la que influye un determinado compuesto en el aroma global, con el objetivo de determinar cuáles son los compuestos de impacto. Estas técnicas olfatométricas son las siguientes (Van Ruth, 2001): técnicas de dilución, técnicas de frecuencia de detección, técnicas de tiempo intensidad y técnicas de intensidad posterior.

Técnicas de dilución

Estas técnicas se llevan a cabo mediante el análisis de un extracto del aroma de la muestra donde se encuentra la sustancia a analizar, con el objetivo de calcular su tiempo de retención. Después de esto, se preparan diluciones sucesivas del extracto de interés con un disolvente.

Mientras más diluido el extracto menor será el olor percibido, hasta que se llega a la última dilución donde se percibe olor, calculándose el factor de dilución. Mientras mayor es el factor de dilución, más contribuirá ese compuesto en el aroma global. Con esta técnica se consigue ordenar los compuestos olorosos según su importancia aromática (Van Ruth, 2001). Las dos técnicas de dilución más utilizadas son la técnica CHARM (Combined Hedonic Aroma Response Measurements), desarrollada por Acree y colaboradores y la técnica AEDA (Aroma Extract Dilution Analysis) desarrollada por Grosch y colaboradores (Aceña, 2011).

Técnica AEDA: El objetivo de esta técnica es detectar los olores y describirlos. Los resultados se representan como el logaritmo del factor de dilución frente al tiempo de retención, a esta representación se le denomina “aromagrama” (Figura 8) (Van Ruth, 2001).

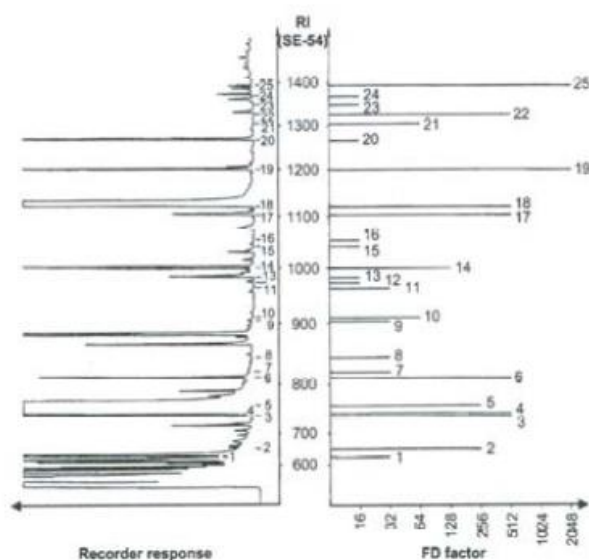


Figura 8. Cromatograma (izquierda) y aromagrama (derecha) obtenido al aplicar la técnica AEDA a un extracto del aroma de una cerveza Pilsner (Aceña, 2011).

En el aromagrama se puede ver como una alta señal cromatográfica (lo que implica una alta concentración del compuesto volátil) no tiene por qué corresponderse con un factor de dilución elevado (lo que se traduce en una mayor importancia aromática).

Técnica CHARM: esta técnica tiene en cuenta la duración de la percepción del olor, a diferencia con la técnica AEDA. El evaluador señala cuando empieza y cuando termina el olor, es decir, señala la duración del olor en el tiempo y asocia ese olor a un descriptor sensorial (Figura 9). La duración del olor se registra a través de un programa informático (Van Ruth, 2001).

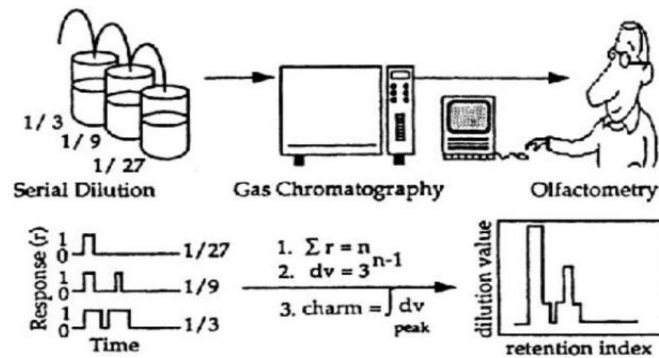


Figura 9. Esquema de la técnica CHARM (Blank, 2002).

Las duraciones de cada olor se combinan mediante un tratamiento matemático y se representan dando lugar a un cromatograma cuyos picos y áreas de los picos representan los valores de CHARM, estos valores van a dar información acerca de la potencia del olor y la altura del pico indica el factor de dilución (Aceña, 2011).

La potencia del olor o CHARM se puede calcular según la siguiente fórmula: $c = dn-1$ (Donde “n” es el número de respuestas coincidentes y “d” es el factor de dilución).

Los inconvenientes de las técnicas de dilución son los siguientes: necesitan mucho tiempo y además no cumplen las Leyes de Stevens, en las que se afirma que la relación entre la intensidad aromática y la concentración es exponencial; $I = k (C - T)^n$ (I: intensidad aromática. C: concentración. T: umbral de percepción sensorial. K, n: constantes de proporcionalidad). Según esta ley, “dos compuestos que se encuentren a la misma concentración y que tengan unos umbrales de percepción sensorial muy parecidos, pero que presenten exponentes (n) diferentes, presentarán intensidades de olor muy distintas y por lo tanto no contribuirán de la misma forma al aroma global de la sustancia” (Aceña, 2011).

Técnicas de frecuencia de detección

Estas técnicas fueron empleadas por primera vez en 1993 por Linssen y colaboradores (1993). Un panel de 6-12 evaluadores lleva a cabo cada uno una GC-O con el mismo extracto. Los compuestos que se detectan con más frecuencia son los que van a tener una mayor importancia, la frecuencia de detección va a medir la intensidad de olor de un compuesto en la muestra (Delahunty y cols., 2006). El panel de analistas va a recoger el tiempo de retención al que se detecta cada olor y la duración de ese olor. Los datos recogidos por los analistas se combinan y se realiza el aromagrama.

En el aromagrama (Figura 10) la altura de pico o NIF (Nasal Impact Frequency) representa al número de analistas que han detectado un olor a ese tiempo de retención, es decir, la frecuencia de detección, mientras que el área o SNIF (Surface of Nasal Impact Frequency), indica el tiempo de duración de los olores (Aceña, 2011).

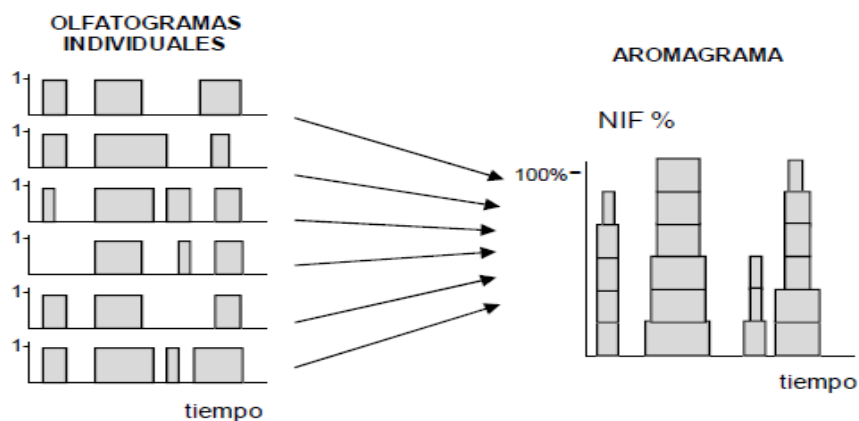


Figura 10. Técnicas de frecuencia de detección. Esquema de la construcción de un aromagrama NIF a partir de los olfotogramas de cada analista (Aceña, 2011).

Las ventajas que presenta esta técnica son que cumple las leyes psicofísicas de Stevens y va a permitir aplicar tests estadísticos a los datos obtenidos, debido a que este análisis lo realizan un número considerable de analistas (Aceña, 2011). También tiene algunos inconvenientes como que requiere un gran número de análisis olfatométricos (Aceña, 2011) y además el método se basa en las intensidades percibidas por los evaluadores y no por intensidades reales (Van Ruth, 2001).

Técnicas de tiempo-intensidad

Las dos técnicas de tiempo-intensidad más utilizadas son el método OSME y el Método Finger Span Cross Modality Matching (FSCM).

Método OSME: McDaniel y colaboradores fueron los que desarrollaron este método (Sanchez y cols., 1992). Esta técnica se basa en determinar la intensidad del olor. El analista va registrar la intensidad del aroma y su duración, además de describir el olor percibido (Van Ruth, 2001). El analista utiliza un cursor que se mueve 150 mm longitudinalmente. Este cursor está conectado a un sistema informático que registra la información de intensidad de olor (dándole valores de intensidad de 0 a 15), el tiempo de retención y la descripción del olor percibido (Aceña, 2011). La representación de las intensidades de los olores frente el tiempo de retención se denomina osmeograma (Aceña, 2011) (Figura 11). El osmeograma va a dar una idea de la importancia sensorial de una sustancia determinada en el aroma global.

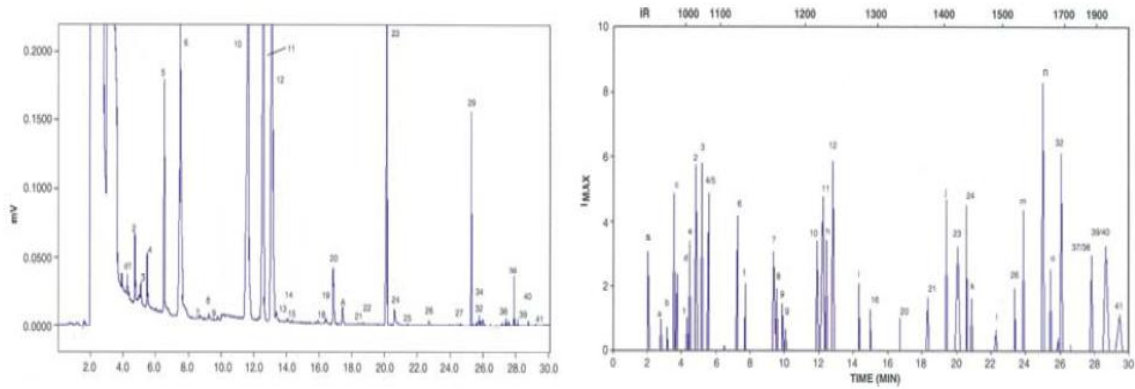


Figura 11. Perfiles aromáticos de una bebida alcohólica procedente de la fermentación de anacardos utilizando la GC-FID (izquierda) y la GCO con la técnica OSME (derecha) (Aceña, 2011).

Método Finger Span Cross Modality Matching (FSCM): Desarrollado por un grupo de investigadores del Institut National de la Recherche Agronomique (Aceña, 2011). En este método, el analista separa el dedo pulgar y el índice, mediante un dispositivo, según la intensidad de olor que perciba (a más intensidad, mayor distancia entre los dedos).

Mediante un diagrama se representan las intensidades frente al tiempo de retención, observándose una relación logarítmica entre los valores de altura de pico y la concentración del compuesto oloroso (Aceña, 2011). Este método tiene como ventajas que es más rápido que el método OSME, además, sus principios no están en desacuerdo con las leyes psicofísicas de Stevens. Por otro lado, esta técnica tiene algunos inconvenientes como la subjetividad por parte del analista a la hora de medir las intensidades de los olores.

Técnicas de intensidad posterior

Tienen como objetivo medir la intensidad del olor. Una vez que el compuesto eluye, el analista evalúa la intensidad del olor percibido, puntuando la intensidad en una escala previamente fijada. Posteriormente se hace la media de las intensidades de olor percibida por cada analista del compuesto de interés (Figura 12) (Aceña, 2011).

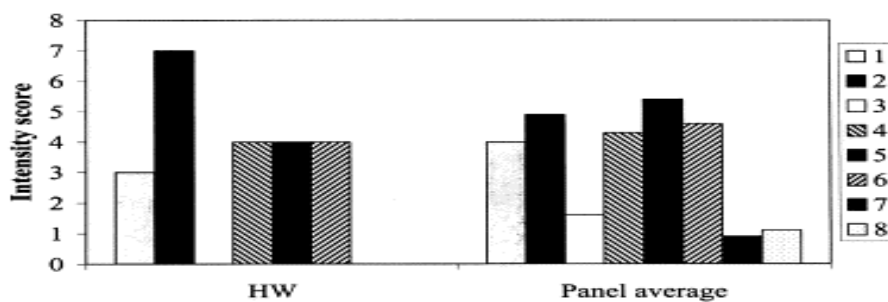


Figura 12. Ejemplo de las puntuaciones de intensidad de ocho compuestos volátiles en una mezcla de referencia (para un panel de ocho asesores) (Van Ruth, 2001).

En esta técnica, las intensidades evaluadas presentan una buena correlación con la concentración de los compuestos responsables de los olores, lo cual es muy ventajoso. Sin embargo, tiene una gran variabilidad entre los evaluadores.

Los cuatro métodos olfatométricos han demostrado ser útiles para la determinación de compuestos de impacto. Sin embargo, la metodología sigue siendo objeto de estudio para su perfeccionamiento (Van Ruth, 2001).

4.1.4 Técnicas de preparación de muestra

Son etapas previas a la cromatografía de gases-olfatometría, que repercuten en la exactitud y precisión del método y cuyo fin es extraer y preconcentrar los volátiles responsables del aroma. Inicialmente la extracción de los aromas de los alimentos se realizaba por medio de métodos tediosos, como la extracción líquido-líquido, este tipo de técnicas requieren de una fase posterior de concentración para eliminar el exceso de disolvente. Con el fin de evitar estos problemas se desarrolló la Microextracción en Fase Sólida (SPME). Otras técnicas de pretratamiento utilizadas en el análisis de los alimentos son la destilación, la destilación-extracción simultánea, la extracción con disolventes, la microextracción líquido-líquido (LLME), la sonicación y la extracción con fluidos supercríticos. Las técnicas de destilación y la extracción con disolventes han sido muy utilizadas. En la destilación la separación se lleva a cabo mediante la vaporización de los compuestos aromáticos (que tienen una volatilidad mucho mayor que el resto de los componentes de los alimentos) y su posterior condensación. Una variante de esta técnica es la destilación-extracción simultánea en la que se concentran los analitos antes de la inyección de la muestra (Aceña, 2011), (Piñero, 2013).

Microextracción en Fase Sólida (SPME)

Esta técnica fue desarrollada por Pawliszyn y colaboradores (Junting y cols., 1998). Consiste en extraer y concentrar los analitos directamente en una fibra que incluye un tipo o más de polímeros extractantes (Riu, 2005). Esta técnica de preparación de muestra se suele combinar con la cromatografía de gases (GC). La Tabla 4 recoge sus ventajas e inconvenientes.

Tabla 4. Ventajas e inconvenientes de SPME (Alpendurada, 2000).

VENTAJAS	INCONVENIENTES
Gran simplicidad y bajo coste.	Limitada capacidad de las fibras.
Utiliza pequeños volúmenes de muestra. Útil para todo tipo de muestras gaseosas. Permite la concentración de compuestos volátiles y semivolátiles.	La presencia de materia suspendida en la muestra puede estropear el recubrimiento de la fibra durante la agitación. Compuestos de elevado peso molecular pueden adsorberse irreversiblemente en la fibra cambiando sus propiedades.
Alta sensibilidad: El límite de detección puede ser muy bajo (del orden de ppt).	Formación de burbujas de gas en la superficie de la fibra.
No necesita disolventes orgánicos.	Fibras frágiles.

La SPME tiene dos etapas principales (Tabla 5) (Figura 13), en la primera etapa, llamada la etapa de extracción, la fibra revestida se expone a la muestra o su espacio de cabeza y los analitos migran hacia la fibra hasta que se alcanza el estado de equilibrio. En la segunda etapa, o etapa de desorción, la fibra que lleva los analitos concentrados se transfiere al instrumento analítico, como es el cromatógrafo de gases, donde tiene lugar la desorción (gracias a la colocación de la fibra en el inyector que se encuentra a altas temperaturas), la separación y cuantificación de los analitos. La cantidad de analito extraído es directamente proporcional a la concentración de analito en la muestra y es independiente de la ubicación de la fibra (Alpendurada, 2000).

Tabla 5. Formas de realizar la extracción y la desorción en SPME (Riu, 2005).

EXTRACCIÓN	DESORCIÓN
Extracción por inmersión directa de la fibra dentro de la muestra (DIS-PME).	Por desorción térmica: Se utiliza cuando el SPME se acopla a un cromatógrafo de gases. La fibra se inserta en el inyector del cromatógrafo de gases que se encuentra a temperatura suficientemente elevada. Es la forma de desorción más utilizada.
Extracción con protección de membrana: la membrana recubre la fibra e impide que se absorban compuestos de elevado peso molecular.	Por adición de un disolvente orgánico: se utiliza para compuestos que son térmicamente inestables o poco volátiles. Se lleva a cabo con HPLC.
Extracción de espacio de cabeza o <i>headspace</i> (HS/SPME): los analitos pasan al espacio de cabeza según su presión de vapor y la fibra se expone a esta fase gaseosa que queda por encima de la muestra (llamada espacio de cabeza).	

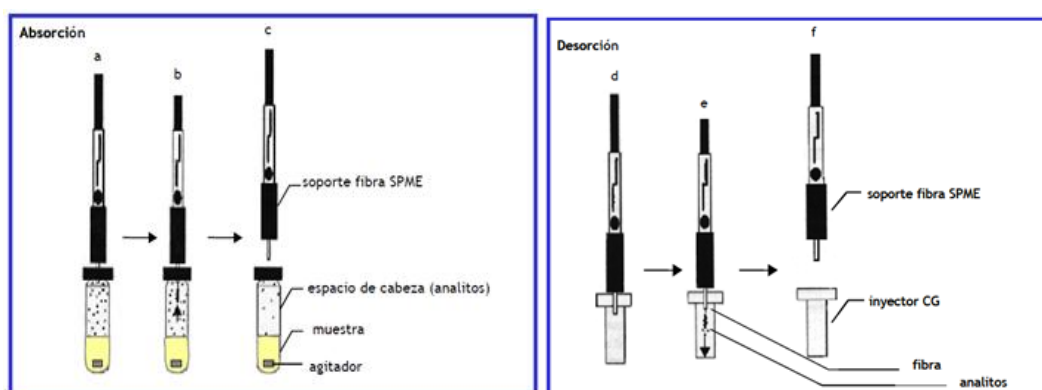


Figura 13. Etapa de absorción de los analitos en la fibra de HS/SPME (izquierda) y etapa de desorción térmica de los analitos en la fibra de SPME (derecha) (Riu, 2005).

Las variables que afectan al proceso de SPME son (Kataoka y cols., 2000) el tiempo y temperatura de extracción y desorción, la presencia de sales en la muestra, el pH y el volumen de la muestra, la presencia de disolventes orgánicos, la agitación de la muestra y el tipo de fase.

4.2 Aplicaciones

Con el fin de evaluar la frecuencia de utilización de esta técnica y sus aplicaciones al análisis de alimentos, se ha llevado a cabo una exhaustiva búsqueda bibliográfica sobre las aplicaciones de la GCO en alimentos en los últimos años (Figura 14) (Tabla 6).

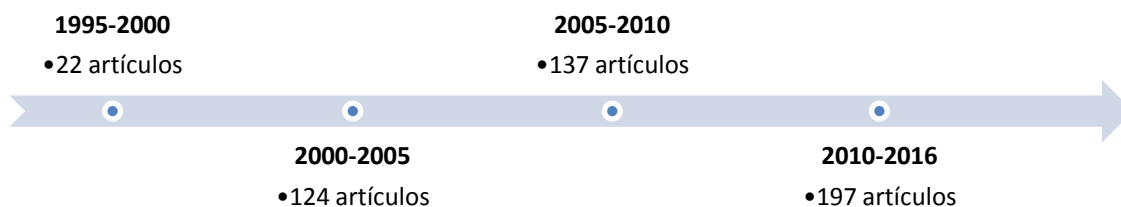


Figura 14. Línea de tiempo que recoge las publicaciones de los últimos 21 años.

La Figura 14 muestra la línea de tiempo de los últimos 21 años. Puede observarse que el número de artículos publicados, que aplican esta técnica al análisis de alimentos, ha ido aumentando de forma progresiva, siendo de destacar el notable aumento que se produce entre el primer quinquenio (1995-2000) y el siguiente (2000-2005) en el que aumenta el número en más de un 400%, en parte debido, probablemente, al desarrollo de equipos de olfatometría comerciales. En los siguientes quinquenios el aumento es menor, aumentando solo en 13 artículos en el quinquenio siguiente y mostrándose un aumento del 45% en el último periodo estudiado.

La Tabla 6 muestra las publicaciones encontradas en los últimos 4 años donde se incluyen aplicaciones de la GCO al análisis del aroma de distintos alimentos. La tabla recoge el alimento analizado, la técnica usada para la preparación de la muestra, la técnica olfatométrica aplicada, el objeto del estudio y la referencia bibliográfica. El alimento más estudiado es el vino en distintas modalidades, seguido de diferentes tipos de frutos. También se ha aplicado a algunos alimentos grasos como aceite y jamón, a pescados, condimentos, distintos tipos de bebidas como té o café, y leche materna.

La técnica de preparación de muestra más utilizada es SPME, que se ha aplicado a diferentes alimentos. Las ventajas de esta técnica la han hecho convertirse en una de las más empleadas para el aislamiento y preconcentración de compuestos volátiles. En cuanto a las técnicas olfatométricas, la más empleada es AEDA, utilizándose también el cálculo del OAV en varios trabajos.

En cuanto a las aplicaciones, se centran principalmente en la caracterización de los perfiles aromáticos de los alimentos analizados y en la evaluación de los compuestos de impacto.

Tabla 6. Tabla que recoge las publicaciones de los últimos 4 años.

ALIMENTOS	TÉCNICA DE EXTRACCIÓN	TÉCNICA OLFATOMÉTRICA	APLICACIÓN	CITA
Regaliz (Glycyrrhiza glabra L)	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Caracterización de los compuestos de impacto	(Wagner y cols., 2016)
Almendras	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Caracterización de los compuestos de impacto	(Erten y Cadwallader, 2016)
Vinagre Shanxi; vinagre chino de cereales	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Caracterización del aroma del vinagre antes y después de ser envejecido	(Liang y cols., 2016)
Tomillo (Thymus serpyllum)	Técnica de Purga y Trampa	AEDA	Caracterización de los compuestos de impacto	(Sonmezdag y cols., 2016)
Arrayán chino (Myrica rubra)	Microextracción en fase sólida (SPME)	Comparative aroma profile analysis (APA)	Caracterización de los compuestos de impacto	(Cheng y cols., 2016)
Leche materna humana	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	Comparative aroma profile analysis (APA) y AEDA	Detección de metabolitos volátiles del ajo (tras su ingesta) en la leche materna humana	(Scheffler y cols., 2016)
Miso de soja; pasta de soja japonesa	Destilación-extracción simultánea	AEDA	Identificación de los componentes clave en el aroma que contribuyen al sabor umami	(Inoue y cols., 2016)
Arándanos	Microextracción en fase sólida (SPME)	Valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de los compuestos de impacto	(Zhu y cols., 2016)
Baijiu; licor chino	Extracción líquido-líquido (LLE)	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de los compuestos de impacto	(Zheng y cols., 2016)
Té Oolong o té azul	Destilación-extracción simultánea (SDE) y SPME	AEDA	Cambios en la composición volátil del té Oolong durante el procesado	(Sheibani y cols., 2016)
Trucha arcoíris (Oncorhynchus mykiss)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto y de olores anómalos	(Mahmoud y Buettner, 2016)
Vinos rosados de Australia	Extracción líquido-líquido (LLE), SAFE, Headspace Solid-Phase Extraction (HS-SPE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Wang y cols., 2016)
Mosto de uva	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Efecto de los hongos Botrytis cinerea y Erysiphe necator en el aroma	(Lopez Pinar y cols., 2016)
Vino tinto (Vitis vinífera)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Evaluación del impacto sensorial de los tioles	(Pavez y cols., 2016)
Leche en polvo	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Influencia de las proteínas de la leche en el aroma	(Smith y cols., 2016)
Vino tinto	Extracción con disolvente	Umbral de detección	Análisis del aroma de la piperitona	(Pons y cols., 2016)
Vino Verdejo y Tempranillo	Extracción en fase sólida (SPE) y Espacio de cabeza dinámico	Técnica de frecuencia de detección modificada (MF)	Selección de vinos de alta calidad de aroma	(Sáenz-Navajas y cols., 2016)

Aceites esenciales del crisantemo	Inyección directa del aceite esencial	Técnica de frecuencia de detección	Caracterización de compuestos de impacto	(Xiao y cols., 2016)
Jamón	Destilación-extracción simultánea (SDE)	Técnica de frecuencia de detección	La influencia del contenido de grasa intramuscular en el aroma del jamón	(Benet y cols., 2016)
Aceite de colza virgen	Microextracción en fase sólida (SPME) y Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	Valor de actividad de aroma (OAV)	Influencia del grado de tostado de las semillas en el perfil aromático del aceite de colza virgen	(Gracka y cols., 2016)
Vinagre de fresa	Espacio de cabeza dinámico (DHS)	Técnica de frecuencia de detección (MF)	Estudio de los perfiles aromáticos durante el proceso de producción	(Ubeda y cols., 2016)
Vino tinto añejo de Burdeos	Microextracción en fase sólida (SPME)	Total aromatic reconstitution (TAR)	Identificación de piperitona como contribuidor a los matices de aroma a menta	(Picard y cols., 2016)
Uvas negras	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto de uvas con diferente grado de maduración	(Yuan y Qian, 2016)
Embutidos	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Determinación de compuestos de azufre y nitrógeno durante el procesado	(Corral y cols., 2016)
Vino jerez Amontillado	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Franitza y cols., 2016)
Licor chixiang chino	Extracción con disolvente	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Fan y cols., 2015)
Hojas de Magnolia	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Miyazawa y cols., 2015)
Infusiones de té Oolong	Microextracción en fase sólida (SPME)	Método de intensidad de aroma (AI)	Caracterización de compuestos de impacto en las infusiones	(Zhu y cols., 2015)
Queso suizo	Microextracción en fase sólida (SPME)	Valor de actividad de aroma (OAV)	Cuantificación de compuestos volátiles de azufre y su influencia en el perfil aromático	(Fuchsmann y cols., 2015)
Salsa de pescado tailandesa	DSE-SAFE y Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Lapsongphon y cols., 2015)
Licor de banana	Microextracción en fase sólida (SPME)	Frecuencia de detección (DF)	Caracterización de compuestos de impacto	(Capobiango y cols., 2015)
Trufa blanca (Tuber borchii)	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnica de frecuencia de detección modificada (MF) y AEDA	Influencia de volátiles de azufre de origen microbiano para determinar su influencia en el aroma	(Splivallo y Ebeler, 2015)
Bebidas gaseosas con sabor a cola	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Lorjaroenphon y Cadwallader, 2015)
Bebidas gaseosas sabor lima-limón	Extracción líquido-líquido continua, SAFE y SPME	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Hausch y cols., 2015)

Miel de flores	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnica de frecuencia de detección (DF)	Caracterización de los perfiles aromáticos de mieles con diferente origen botánico	(Seisonen y cols., 2015)
Té negro	Extracción simultánea de destilación (SDE) y extracción con fluidos supercríticos (SFE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Joshi y Gulati, 2015)
Chocolate negro y chocolate con leche	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Diferencias en la composición volátil entre el chocolate negro y chocolate con leche	(Liu y cols., 2015)
Salchichas	Microextracción en fase sólida (SPME)	Frecuencia de detección (DF)	Caracterización de compuestos de impacto de salchichas fermentadas	(Olivares y cols., 2015)
Papa de la India (Apios americana)	Hidrodestilación (HD) y Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de compuestos de impacto	(Nakahashi y cols., 2015)
Vino y café	Microextracción en fase sólida (SPME)	Frecuencia de detección	Caracterización de compuestos de impacto	(Chin y cols., 2015)
Planta comestible (Ranunculus nipponicus)	Hidrodestilación (HD)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Nakaya y cols., 2015)
Azafrán iraní (Crocus sativu)	SAFE, LLE, SPE, SDE	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Amanpour y cols., 2015)
Coñac	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	Método de dilución	Caracterización de compuestos de impacto	(Uselmann y Schieberle, 2015)
Tomate de la Florida	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnicas de tiempo-intensidad	Caracterización de volátiles de azufre en dos variedades de tomate.	(Du y cols., 2015)
Tamarindo negro (Dialium)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Lasekan y See, 2015)
Puré de Guayaba	Microextracción en fase sólida (SPME)	Tiempo-intensidad	Caracterización de compuestos de impacto	(Plaza y cols., 2015)
Jamón jinhua	Espacio de cabeza dinámica (DHS) y Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA	Análisis de los compuestos aromáticos activos del jamón con diferentes periodos de fermentación	(Liu y cols., 2014)
Aceites marinos de algas.	SPME, y espacio de cabeza sobre barras magnéticas de extracción (HSSE)	Valor de actividad de aroma (OAV)	Estudio de la sinergia de adosantes que producen mal olor a pescado en los aceites marinos de algas	(Marsili y Laskonis, 2014)
Guayaba fresca y limón	Microextracción en fase sólida (SPME)	Frecuencia de detección (DF)	Análisis comparativo de los compuestos aromáticos	(Egea y cols., 2014)
Setas comestibles: (P.eryngii y P. cystidiosus)	Hidrodestilación	AEDA	Caracterización del aroma de los aceites volátiles de las setas	(Usami y cols., 2014)
Licor Chino	Extracción con disolvente	OAV	Caracterización de compuestos de impacto	(Gao y cols., 2014)
Setas comestibles: (Boletopsis leucomelas)	Hidrodestilación con éter dietílico	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización del aroma de los aceites volátiles de las setas	(Nosaka y Miyazawa, 2014)
Arándano	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnicas de tiempo-intensidad	Caracterización de compuestos de impacto	(Du y Rouseff, 2014)

Queso de oveja Bryndza	Microextracción en fase sólida (SPME)	Frecuencia de detección (DF)	Caracterización de los odorantes principales y la dinámica de su formación durante la producción	(Sádecká y cols., 2014)
Sidra Asturiana	Espacio de cabeza (HS)	AEDA	Estudio del perfil aromático de la Sidra	(Antón y cols., 2014)
Melón (Cucumis melo L.)	Espacio de cabeza dinámico (DH) y extracción en fase sólida (SPE)	AEDA	Comparación de los diferentes odorantes en melones con distinto grado de maduración.	(Lignou y cols., 2014)
Papaya	SPME y destilación-extracción simultánea	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Pino, 2014)
Pasta de pimiento rojo (gochujang)	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Evaluación de la calidad del aroma	(Baek, 2014)
Salsa de soja fermentada	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Caracterización y comparación de compuestos de impacto de diferentes salsas	(Feng y cols., 2014)
Fresas blancas (Fragaria chiloensis)	Extracción líquido-líquido (LLE), SPME y SAFE	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Prat y cols., 2014)
Setas comestibles (Pleurotus)	Hidrodestilación (HD) y SAFE	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Usami y cols., 2014)
Tomate cherry	Extracción líquido-líquido (LLE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Selli y cols., 2014)
Cangrejo chino (Eriocheir sinensis)	Espacio de cabeza (HS)	Método directo de intensidad y OAV	Caracterización de compuestos de impacto	(Wu y cols., 2014)
Vino de Shiraz	Espacio de cabeza dinámico (DH/S)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Mayr y cols., 2014)
Bebida no alcohólica producida por la fermentación del mosto	Extracción líquido-líquido (LLE) y Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Zhang y cols., 2014)
Jamón cocido	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnicas de tiempo-intensidad	La identificación y el origen de los compuestos de azufre olorosos	(Thomas y cols., 2014)
Arroz	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	La identificación de los compuestos de azufre olorosos en tres variedades de arroz	(Mahattanata wee y Rouseff, 2014)
Aceite de oliva	Destilación simultánea y extracción (SDE) con diclorometano	AEDA	Caracterización de los compuestos aromáticos clave en los aceites de oliva de Turquía de diferentes orígenes geográficos	(Kesen y cols., 2014)
Setas comestibles (Pleurotus)	Hidrodestilación (HD) y Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de compuestos de impacto	(Usami y cols., 2014)
Arroz Africano (Oryza glaberrima Steud) y arroz Asiático (Oryza sativa L)	Espacio de cabeza (HS)	Técnica de intensidad de aroma	Análisis del aroma de estas variedades de arroz para la obtención de un híbrido con mejores atributos de calidad, con el fin de mejorar el arroz africano	(Cho y cols., 2014)

Vino de arroz chino	SPE, SPME y Espacio de cabeza (HS)	OAV	Caracterización de compuestos de impacto	(Chen y cols., 2013)
Especia Hinojo	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnica de frecuencia de detección	Evaluación de la calidad del aroma	(Maikhunthod y Marriott, 2013)
Tempeh (soja fermentada y frita)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de compuestos de impacto	(Jeleń y cols., 2013)
Tuber indicum (trufa china) y Tuber melanosporum (trufa negra)	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnica de frecuencia modificada (MF (%))	Análisis comparativo de ambas especies de trufa para la detección de fraudes de trufa negra	(Culleré y cols., 2013)
Grosellas espinosas (Ribes uva cripsa L.)	Espacio de cabeza (HS)	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de compuestos de impacto	(Hempfling y cols., 2013)
Makgeolli (vino de arroz tradicional coreano)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	Valor de umbral de aroma (ATV)	Caracterización de compuestos de impacto del Makgeolli fermentado y no fermentado y sus variaciones con el tiempo de almacenamiento	(Park y cols., 2013)
Jamón Ibérico curado	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnica de frecuencia de detección	Caracterización de compuestos de impacto y olores anómalos	(Sánchez del Pulgar y cols., 2013)
Avellana (Corylus avellana L.)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA y Límite del valor de la actividad de olor (LOAV)	Caracterización de compuestos de impacto	(Kiefl y cols., 2013)
Baya de Aronia melanocarpa	Destilación y extracción simultánea (SDE) y SPME	Técnica de frecuencia de detección	Caracterización de compuestos de impacto	(Kraujalytė y cols., 2013)
Melón (Cucumis melo)	DHE, SPME y SPE	AEDA	Perfiles aromáticos de tres variedades ácidas	(Lignou y cols., 2013)
Guayaba (Psidium guajava L.)	SPME y la destilación-extracción simultánea (SDE)	AEDA	Caracterización de compuestos de impacto	(Pino and L., 2013)
Carne cocida	Microextracción en fase sólida (SPME)	AEDA	Efectos de la adición de extractos de romero en el aroma de la carne	(Kim y cols., 2013)
Café tostado	SDE y extracción en fase sólida (SPE)	AEDA	Identificación del olor acre en una variedad de café	(Miyazato y cols., 2013)
Café de cereales (cebada o centeno)	Solvent-assisted flavor evaporation (SAFE)	AEDA y valor de actividad de aroma (OAV)	Caracterización de compuestos de impacto	(Majcher y cols., 2013)
Vino de uva moscatel (Vitis rotundifolia)	Microextracción en fase sólida (SPME)	Técnicas de tiempo-intensidad	La identificación de los compuestos volátiles de azufre en el vino moscatel	(Gürbüz y cols., 2013)
Kiwis	SDE, Extracción dinámica de espacio de cabeza (DHE) y SPME.	Técnicas de frecuencia de detección	Caracterización de compuestos de impacto durante la maduración de diferentes variedades	(García y cols., 2013)

5. CONCLUSIONES

- Las propiedades sensoriales de los alimentos tienen una gran importancia en la aceptación por parte del consumidor, teniendo la evaluación del aroma gran interés para el estudio de la calidad sensorial de los alimentos.
- La GGO es una técnica analítica que acopla un instrumento de medida a un sentido humano para evaluar el aroma producido por los compuestos volátiles presentes en el alimento, y establecer su incidencia en el aroma.
- Se han desarrollado diversas técnicas olfatómicas cuyo objetivo es recopilar la información obtenida en la GCO y calcular la medida en la que influye un determinado compuesto en el aroma global del alimento.
- La aplicación de la GCO como técnica para la evaluación del aroma de los alimentos ha sufrido un aumento en los últimos años. El método de extracción más utilizado es SPME y, entre las técnicas olfatómicas, las de dilución, concretamente la técnica AEDA.
- El objetivo de la mayoría de los estudios es la caracterización de los compuestos de impacto del alimento, siendo las bebidas alcohólicas el objeto de estudio mayoritario.

6. BIBLIOGRAFÍA

Aceña L. Aplicación de la cromatografía de gases-olfatometría en la caracterización del aroma del vinagre de vino, de los pistachos y del aceite de oliva. Universitat Rovira I Virgili; 2011.

Alpendurada MF. Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis. *J. Chromatogr. A.* 2000;889(1–2):3–14.

Amanpour A, Sonmezdag AS, Kelebek H, Selli S. GC-MS-olfactometric characterization of the most aroma-active components in a representative aromatic extract from Iranian saffron (*Crocus sativus* L.). *Food Chem.* 2015;182:251–6.

Antón MJ, Suárez Valles B, García Hevia A, Picinelli Lobo A. Aromatic profile of ciders by chemical quantitative, gas chromatography-olfactometry, and sensory analysis. *J. Food Sci.* 2014;79(1):92-9.

Baek HH. Aroma quality assessment of Korean fermented red pepper paste (gochujang) by aroma extract dilution analysis and headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-olfactometry. *Food Chem.* 2014;145:488–95.

Benet I, Guàrdia MD, Ibañez C, Solà J, Arnau J, Roura E. Low intramuscular fat (but high in PUFA) content in cooked cured pork ham decreased Maillard reaction volatiles and pleasing aroma attributes. *Food Chem.* 2016;196:76–82.

Blank I. Gas chromatography-olfactometry in food aroma analysis. 1^a ed. New York: Marcel Dekker; 2002.

Capobianco M, Mastello RB, Chin S-T, Oliveira E de S, Cardeal Z de L, Marriott PJ. Identification of aroma-active volatiles in banana Terra spirit using multidimensional gas chromatography with simultaneous mass spectrometry and olfactometry detection. *J. Chromatogr. A.* 2015;1388:227–35.

Chen S, Xu Y, Qian MC. Aroma characterization of chinese rice wine by gas chromatography-olfactometry, chemical quantitative analysis, and aroma reconstitution. *J. Agric. Food Chem.* 2013;61(47):11295–302.

Cheng H, Chen J, Chen S, Xia Q, Liu D. Sensory evaluation, physicochemical properties and aroma-active profiles in a diverse collection of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) cultivars. *Food Chem.* 2016;212:374–85.

Chin ST, Eyres GT, Marriott PJ. Application of integrated comprehensive/multidimensional gas chromatography with mass spectrometry and olfactometry for aroma analysis in wine and coffee. *Food Chem.* 2015;185:355–61.

Cho S, Nuijten E, Shewfelt RL, Kays SJ. Aroma chemistry of African *Oryza glaberrima* and *Oryza sativa* rice and their interspecific hybrids. *J. Sci. Food Agric.* 2014;94(4):727–35.

Corral S, Leitner E, Siegmund B, Flores M. Determination of sulfur and nitrogen compounds during the processing of dry fermented sausages and their relation to amino acid generation. *Food Chem.* 2016;190:657–64.

Cowper CJ, Derose AJ. *The Analysis of Gases by Chromatography*. Reimpresia. New York: Elsevier; 2013.

- Culleré L, Ferreira V, Venturini ME, Marco P, Blanco D. Potential aromatic compounds as markers to differentiate between *Tuber melanosporum* and *Tuber indicum* truffles. *Food Chem.* 2013;141(1):105–10.
- Delahunty CM, Eyres G, Dufour JP. Gas chromatography-olfactometry. *J. Sep. Sci.* 2006;29(14):2107–25.
- Diaz MC, Perez MS. Análisis de los compuestos responsables del aroma de las especias. *An. Quim.* 2006;102(3):31–5.
- Dravnieks A. Principles and some techniques of high-resolution headspace analysis. *J. Agr. Food Chem.* 1971;19(6):1049–56.
- Du X, Rouseff R. Aroma active volatiles in four southern highbush blueberry cultivars determined by gas chromatography-olfactometry (GC-O) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(20):4537–43.
- Du X, Song M, Baldwin E, Rouseff R. Identification of sulphur volatiles and GC-olfactometry aroma profiling in two fresh tomato cultivars. *Food Chem.* 2015;171:306–14.
- Egea MB, Pereira-Netto AB, Cacho J, Ferreira V, Lopez R. Comparative analysis of aroma compounds and sensorial features of strawberry and lemon guavas (*Psidium cattleianum* Sabine). *Food Chem.* 2014;164:272–7.
- Erten ES, Cadwallader KR. Identification of predominant aroma components of raw, dry roasted and oil roasted almonds. *Food Chem.* 2017;217:244–53.
- Fan H, Fan W, Xu Y. Characterization of key odorants in Chinese chixiang aroma-type liquor by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(14):3660–8.
- Feng Y, Cai Y, Su G, Zhao H, Wang C, Zhao M. Evaluation of aroma differences between high-salt liquid-state fermentation and low-salt solid-state fermentation soy sauces from China. *Food Chem.* 2014;145:126–34.
- Fisher C, Scott T. *Flavores de los Alimentos: Biología y química.* 1^a ed. Zaragoza: Acribia, S. A; 2000.
- Franitza L, Granvogl M, Schieberle P. Characterization of the Key Aroma Compounds in Two Commercial Rums by Means of the Sensomics Approach. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(3):637–45.
- Fuchsmann P, Stern MT, Brügger Y-A, Breme K. Olfactometry Profiles and Quantitation of Volatile Sulfur Compounds of Swiss Tilsit Cheeses. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(34):7511–21.
- Fuller GH, Steltenkamp R, Tisserand GA. The gas chromatograph with human sensor: perfumer model. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1964;116:711–24.
- Gao W, Fan W, Xu Y. Characterization of the key odorants in light aroma type chinese liquor by gas chromatography-olfactometry, quantitative measurements, aroma recombination, and omission studies. *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(25):5796–804.
- Garcia C V, Stevenson RJ, Atkinson RG, Winz RA, Quek S-Y. Changes in the bound aroma profiles of “Hayward” and “Hort16A” kiwifruit (*Actinidia* spp.) during ripening and GC-olfactometry analysis. *Food Chem.* 2013;137(1–4):45–54.

- Gorelik P. L'expression de l'odeur dans l'interaction du verbal et du visuel. Limoges: Universidad de Limoges; 2008.
- Gracka A, Jeleń HH, Majcher M, Siger A, Kaczmarek A. Flavoromics approach in monitoring changes in volatile compounds of virgin rapeseed oil caused by seed roasting. *J. Chromatogr. A.* 2016;1428:292–304.
- Gürbüz O, Rouseff J, Talcott ST, Rouseff R. Identification of muscadine wine sulfur volatiles: pectinase versus skin-contact maceration. *J. Agric. Food Chem.* 2013;61(3):532–9.
- Hatt H. Molecular and Cellular Basis of Human Olfaction. *Chem. Biodivers.* 2004;1:1857–69.
- Hausch BJ, Lorjaroenphon Y, Cadwallader KR. Flavor chemistry of lemon-lime carbonated beverages. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(1):112–9.
- Hempfling K, Fastowski O, Kopp M, Pour Nikfardjam M, Engel KH. Analysis and sensory evaluation of gooseberry (*Ribes uva crispa* L.) volatiles. *J. Agric. Food Chem.* 2013;61(26):6240–9.
- Hernández E. Evaluación Sensorial. 1ª ed. Bogota: Universidad Nacional Abierta y a Distancia; 2005.
- Herrera Y, Mendoza López R, García Barradas Ó, Cruz Sánchez S, Muñoz Muñiz O. El Fascinante mundo de los olores. *Rev. Divulg. Científica y Tecnológica la Univ. Veracruzana.* 2010;23(1).
- Holley A. El cerebro goloso. 1ª ed. Barcelona. Rubes; 2006.
- Ibáñez F, Barcina Y. Análisis sensorial de los Alimentos. 1ª ed. Barcelona: Springer; 2001.
- Inoue Y, Kato S, Saikusa M, Suzuki C, Otsubo Y, Tanaka Y, et al. Analysis of the cooked aroma and odorants that contribute to umami aftertaste of soy miso (Japanese soybean paste). *Food Chem.* 2016;213:521–8.
- Jeleń H, Majcher M, Ginja A, Kuligowski M. Determination of compounds responsible for tempeh aroma. *Food Chem.* 2013;141(1):459–65.
- Joshi R, Gulati A. Fractionation and identification of minor and aroma-active constituents in Kangra orthodox black tea. *Food Chem.* 2015;167:290–8.
- Junting L, Peng C, Suzuki O. Solid-phase microextraction (SPME) of drugs and poisons from biological samples. *Forensic Sci. Int.* 1998;97(2–3):93–100.
- Kataoka H, Lord HL, Pawliszyn J. Applications of solid-phase microextraction in food analysis. *J. Chromatogr. A.* 2000;880(1–2):35–62.
- Kesen S, Kelebek H, Selli S. Characterization of the key aroma compounds in turkish olive oils from different geographic origins by application of aroma extract dilution analysis (AEDA). *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(2):391–401.
- Kiefl J, Pollner G, Schieberle P. Sensomics analysis of key hazelnut odorants (*Corylus avellana* L. "Tonda Gentile") using comprehensive two-dimensional gas chromatography in combination with time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOF-MS). *J. Agric. Food Chem.* 2013;61(22):5226–35.
- Kim H, Cadwallader KR, Kido H, Watanabe Y. Effect of addition of commercial rosemary extracts on potent odorants in cooked beef. *Meat Sci.* 2013;94(2):170–6.

- Kirk RS. Composición y análisis de alimentos de Pearson. 2^a ed. Madrid: Grupo Editorial Patria; 1996.
- Kraft P, Swift K. Perspectives in Flavor and Fragrance Research. 1^a ed. Suiza: Helvitica Chimica Acta Verlag; 2007.
- Kraujalytė V, Leitner E, Venskutonis PR. Characterization of Aronia melanocarpa volatiles by headspace-solid-phase microextraction (HS-SPME), simultaneous distillation/extraction (SDE), and gas chromatography-olfactometry (GC-O) methods. *J. Agric. Food Chem.* 2013;61(20):4728–36.
- Lapsongphon N, Yongsawatdigul J, Cadwallader KR. Identification and characterization of the aroma-impact components of Thai fish sauce. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(10):2628–38.
- Lasekan O, See N. Key volatile aroma compounds of three black velvet tamarind (*Dialium*) fruit species. *Food Chem.* 2015;168:561–5.
- Liang J, Xie J, Hou L, Zhao M, Zhao J, Cheng J, et al. Aroma Constituents in Shanxi Aged Vinegar before and after Aging. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(40):7597–605.
- Lignou S, Parker JK, Baxter C, Mottram DS. Sensory and instrumental analysis of medium and long shelf-life Charentais cantaloupe melons (*Cucumis melo* L.) harvested at different maturities. *Food Chem.* 2014;148:218–29.
- Lignou S, Parker JK, Oruna-Concha MJ, Mottram DS. Flavour profiles of three novel acidic varieties of muskmelon (*Cucumis melo* L.). *Food Chem.* 2013;139(1–4):1152–60.
- Linssen JPH, Janssens JLGM, Roozen JP, Posthumus MA. Combined gas chromatography and sniffing port analysis of volatile compounds of mineral water packed in polyethylene laminated packages. *Food Chem.* 1993;46(4):367–71.
- Liu J, M L, He C, Song H, Guo J. A comparative study of aroma-active compounds between dark and milk chocolate: relationship to sensory perception. *J. Sci. Food Agric.* 2015;95(6):1362–72.
- Liu X-S, Liu J-B, Yang Z-M, Song H-L, Liu Y, Zou T-T. Aroma-active compounds in jinhua ham produced with different fermentation periods. *Molecules.* 2014;19(11):19097–113.
- Lopez Pinar A, Rauhut D, Ruehl E, Buettner A. Effects of *Botrytis cinerea* and *Erysiphe necator* fungi on the aroma character of grape must: A comparative approach. *Food Chem.* 2016;207:251–60.
- Lorjaroenphon Y, Cadwallader KR. Characterization of typical potent odorants in cola-flavored carbonated beverages by aroma extract dilution analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(3):769–75.
- Mahattanatawee K, Rouseff RL. Comparison of aroma active and sulfur volatiles in three fragrant rice cultivars using GC-Olfactometry and GC-PFPD. *Food Chem.* 2014;154:1–6.
- Mahmoud MAA, Buettner A. Characterisation of aroma-active and off-odour compounds in German rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Part I: Case of aquaculture water from earthen-ponds farming. *Food Chem.* 2016;210:623–30.
- Maikhunthod B, Marriott PJ. Aroma-impact compounds in dried spice as a quality index using solid phase microextraction with olfactometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Food Chem.* 2013;141(4):4324–32.

- Majcher MA, Klensporf-Pawlik D, Dziadas M, Jeleń HH. Identification of aroma active compounds of cereal coffee brew and its roasted ingredients. *J. Agric. Food Chem.* 2013;61(11):2648–54.
- Marsili RT, Laskonis CR. Odorant synergy effects as the cause of fishy malodors in algal marine oils. *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(40):9676–82.
- Mayr CM, Geue JP, Holt HE, Pearson WP, Jeffery DW, Francis IL. Characterization of the key aroma compounds in shiraz wine by quantitation, aroma reconstitution, and omission studies. *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(20):4528–36.
- McGorin RJ. *Flavor, Fragrance, and Odor Analysis*. 2^a ed. Broken Sound Parkway NW: CRC Press; 2011.
- Meilgaard MC. Beer Flavour Terminology. *J. Inst. Brew.* 1979;85:38–42.
- Message GM. *Practical Aspects of Gas Chromatography/Mass Spectrometry*. 1^a ed. New York: Wiley; 1984.
- Miyazato H, Nakamura M, Hashimoto S, Hayashi S. Identification of the odour-active cyclic diketone cis-2,6-dimethyl-1,4-cyclohexanedione in roasted Arabica coffee brew. *Food Chem.* 2013;138(4):2346–55.
- Miyazawa M, Nakashima Y, Nakahashi H, Hara N, Nakagawa H, Usami A, et al. Volatile Compounds with Characteristic Odor of Essential Oil from *Magnolia obovata* Leaves by Hydrodistillation and Solvent-assisted Flavor Evaporation. *J. Oleo Sci.* 2015;64(9):999–1007.
- Nakahashi H, Nishino Y, Nakagawa H, Hara N, Usami A. Evaluation of the Key Odorants in Volatile Oils from Tubers of *Apios americana* Medikus. *J. Oleo Sci.* 2015;1242(11):1235–42.
- Nakaya S, Usami A, Yorimoto T, Miyazawa M. Characteristic Chemical Components and Aroma-active Compounds of the Essential Oils from *Ranunculus nipponicus* var. *submersus* Used in Japanese Traditional Food. *J. Oleo Sci.* 2015;64(6):595–601.
- Noble AC, Arnold RA, Masuda BM, Pecore SD, Schmidt JOS, Stern PM. Progress Towards a Standardized System of Wine Aroma Terminology. *Am. J. Enol. Vitic.* 1984;35(2):4–6.
- Nosaka S, Miyazawa M. Characterization of volatile components and odor-active compounds in the oil of edible mushroom *Boletopsis leucomelas*. *J. Oleo. Sci.* 2014;63(1347–3352):577–83.
- Ohloff G. *Scent and Fragrances: The Fascination of Odors and their Chemical Perspectives*. 1^a ed. Berlín: Springer; 1994.
- Olguín LP, Magadán H, Rodríguez M. *Métodos en biotecnología: Cromatografía de gases*. México. Univ. Nac. Autónoma México. México; 2004.
- Olivares A, Navarro JL, Flores M. Characterization of volatile compounds responsible for the aroma in naturally fermented sausages by gas chromatography-olfactometry. *Food Sci. Technol. Int.* 2016;21(2):110–23.
- Park HJ, Lee SM, Song SH, Kim YS. Characterization of Volatile components in Makgeolli, a traditional Korean rice wine, with or without pasteurization, during storage. *Molecules.* 2013;18(5):5317–25.

- Pavez C, Agosin E, Steinhaus M. Odorant Screening and Quantitation of Thiols in Carmenere Red Wine by Gas Chromatography-Olfactometry and Stable Isotope Dilution Assays. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(17):3417–21.
- Picard M, Lytra G, Tempere S, Barbe JC, De Revel G, Marchand S. Identification of Piperitone as an Aroma Compound Contributing to the Positive Mint Nuances Perceived in Aged Red Bordeaux Wines. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(2):451–60.
- Pino JA. Odour-active compounds in papaya fruit cv. Red Maradol. *Food Chem.* 2014;146:120–6.
- Pino J, L B. Odour-active compounds in guava (*Psidium guajava* L. cv. Red Suprema). *J. Sci. food Agric.* 2013;93(12):3114–20.
- Piñero Méndez Z. Desarrollo de nuevos métodos de extracción para el análisis de compuestos de interés enológico. Cádiz. Universidad de Cádiz; 2013.
- Plaza ML, Marshall MR, Rouseff RL. Volatile Composition and Aroma Activity of Guava Puree Before and After Thermal and Dense Phase Carbon Dioxide Treatments. *J. Food Sci.* 2015;80(2):218–27.
- Pons A, Lavigne V, Darriet P, Dubourdieu D. Identification and analysis of piperitone in red wines. *Food Chem.* 2016;206:191–6.
- Prat L, Espinoza MI, Agosin E, Silva H. Identification of volatile compounds associated with the aroma of white strawberries (*Fragaria chiloensis*). *J. Sci. Food Agric.* 2014;94(4):752–9.
- Publicación digital de la Universidad de Chile. Ciencias químicas y farmacéuticas. [Consultado en octubre 2016]. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/wittinge01/capitulo01/03.html.
- Riu Aumatell M. Caracterización de compuestos volátiles en bebidas derivadas de fruta. Barcelona. Universidad de Barcelona; 2005.
- Rosch E. Principles of Categorization. En: Roach E, Lloyd BB, editors. *Cogn. Categ.* 1ª ed. Hillsdale, New Jersey: Lawrence Erlbaum; 1978. 27–48.
- Van Ruth SM. Methods for gas chromatography-olfactometry. *Biomol. Eng.* 2001;17(4–5):121–8.
- Sádecká J, Kolek E, Pangallo D, Valík L, Kuchta T. Principal volatile odorants and dynamics of their formation during the production of May Bryndza cheese. *Food Chem.* 2014;150:301–6.
- Sáenz-Navajas M-P, Alegre Y, De-la-Fuente A, Ferreira V, García D, Eizaguirre S, et al. Rapid sensory-directed methodology for the selection of high-quality aroma wines. *J. Sci. Food Agric.* 2016;96(12):4250–62.
- Sanchez NB, Lederer CL, Nickerson GB, Libbey LM, McDaniel MR. Sensory and Analytical Evaluation of Beers Brewed With Three Varieties of Hops and an Unhopped Beer. En: Charalambous G, editor. *Food Sci. Hum. Nutr.* 1ª ed. United States: Elsevier; 1992. 403–26.
- Sánchez del Pulgar J, García C, Reina R, Carrapiso AI. Study of the volatile compounds and odor-active compounds of dry-cured Iberian ham extracted by SPME. *Food Sci. Technol. Int.* 2013;19(3):225–33.

- Scheffler L, Sauermann Y, Zeh G, Hauf K, Heinlein A, Sharapa C, et al. Detection of Volatile Metabolites of Garlic in Human Breast Milk. *Metabolites*. 2016;6(2).
- Schutz HG. Sources of invalidity in the sensory evaluation of foods. *J. Food Technol.* 1971;25(3):53, 56–7.
- Seisonen S, Kivima E, Vene K. Characterisation of the aroma profiles of different honeys and corresponding flowers using solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry/olfactometry. *Food Chem.* 2015;169:34–40.
- Selli S, Kelebek H, Ayseli MT, Tokbas H. Characterization of the most aroma-active compounds in cherry tomato by application of the aroma extract dilution analysis. *Food Chem.* 2014;165:540–6.
- Sheibani E, Duncan SE, Kuhn DD, Dietrich AM, Newkirk JJ, O’Keefe SF. Changes in flavor volatile composition of oolong tea after panning during tea processing. *Food Sci. Nutr.* 2016;4(3):456–68.
- Smith TJ, Campbell RE, Jo Y, Drake MA. Flavor and stability of milk proteins. *J. Dairy Sci.* 2016;99(6):4325–46.
- Sonmezdag AS, Kelebek H, Selli S. Characterization of aroma-active and phenolic profiles of wild thyme (*Thymus serpyllum*) by GC-MS-Olfactometry and LC-ESI-MS/MS. *J. Food Sci. Technol.* 2016;53(4):1957–65.
- Splivallo R, Ebeler SE. Sulfur volatiles of microbial origin are key contributors to human-sensed truffle aroma. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2015;99(6):2583–92.
- Thomas C, Mercier F, Tournayre P, Martin JL, Berdagué JL. Identification and origin of odorous sulfur compounds in cooked ham. *Food Chem.* 2014;155:207–13.
- Ubeda C, Callejón RM, Troncoso AM, Moreno-Rojas JM, Peña F, Morales ML. A comparative study on aromatic profiles of strawberry vinegars obtained using different conditions in the production process. *Food Chem.* 2016;192:1051–9.
- Usami A, Motooka R, Nakahashi H, Okuno Y, Miyazawa M. Characteristic odorants from bailingu oyster mushroom (*Pleurotus eryngii* var. *tuoliensis*) and summer oyster mushroom (*Pleurotus cystidiosus*). *J. Oleo Sci.* 2014;63(7):731–9.
- Usami A, Nakaya S, Nakahashi H, Miyazawa M. Chemical Composition and Aroma Evaluation of Volatile oils from Edible Mushrooms (*Pleurotus salmoneostramineus* and *Pleurotus sajor-caju*). *J. Oleo Sci.* 2014;1332(12):1323–32.
- Usami A, Ono T, Kashima Y, Nakahashi H, Marumoto S, Nosaka S, et al. Comparison of agitake (*Pleurotus eryngii* var. *ferulae*) volatile components with characteristic odors extracted by hydrodistillation and solvent-assisted flavor evaporation. *J. Oleo Sci.* 2014;63(1):83–92.
- Uselmann V, Schieberle P. Decoding the combinatorial aroma code of a commercial cognac by application of the sensomics concept and first insights into differences from a german brandy. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(7):1948–56.
- Wagner J, Granvogl M, Schieberle P. Characterization of the Key Aroma Compounds in Raw Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) by Means of Molecular Sensory Science. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(44):8388–8396.

Wang J, Gambetta JM, Jeffery DW. Comprehensive Study of Volatile Compounds in Two Australian Ros?? Wines: Aroma Extract Dilution Analysis (AEDA) of Extracts Prepared Using Solvent-Assisted Flavor Evaporation (SAFE) or Headspace Solid-Phase Extraction (HS-SPE). *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(19):3838–48.

Wu N, Gu S, Tao N, Wang X, Ji S. Characterization of Important Odorants in Steamed Male Chinese Mitten Crab (*Eriocheir sinensis*) using Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Olfactometry. *J. Food Sci.* 2014;79(7):1250-9.

Xiao Z, Fan B, Niu Y, Wu M, Liu J, Ma S. Characterization of odor-active compounds of various *Chrysanthemum* essential oils by gas chromatography-olfactometry, gas chromatography-mass spectrometry and their correlation with sensory attributes. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2016;1009–1010:152–62.

Yuan F, Qian MC. Aroma Potential in Early- and Late-Maturity Pinot noir Grapes Evaluated by Aroma Extract Dilution Analysis. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(2):443–50.

Zhang Y, Fraatz MA, Horlamus F, Quitmann H, Zorn H. Identification of potent odorants in a novel nonalcoholic beverage produced by fermentation of wort with shiitake (*Lentinula edodes*). *J. Agric. Food Chem.* 2014;62(18):4195–203.

Zheng Y, Sun B, Zhao M, Zheng F, Huang M, Sun J, et al. Characterization of the Key Odorants in Chinese Zhima Aroma-Type Baijiu by Gas Chromatography-Olfactometry, Quantitative Measurements, Aroma Recombination, and Omission Studies. *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(26):5367–74.

Zhu J, Chen F, Wang L, Niu Y, Chen H, Wang H, et al. Characterization of the Key Aroma Volatile Compounds in Cranberry (*Vaccinium macrocarpon* Ait.) Using Gas Chromatography-Olfactometry (GC-O) and Odor Activity Value (OAV). *J. Agric. Food Chem.* 2016;64(24):4990–9.

Zhu J, Chen F, Wang L, Niu Y, Yu D, Shu C, et al. Comparison of Aroma-Active Volatiles in Oolong Tea Infusions Using GC-Olfactometry, GC-FPD, and GC-MS. *J. Agric. Food Chem.* 2015;63(34):7499–510.