

Análisis de los compuestos responsables del aroma de las especias

Resumen: Uno de los atributos más apreciados de las especias es su aroma, y para conocerlo es necesario estudiar la naturaleza de sus componentes volátiles. El análisis del aroma requiere el empleo de técnicas de separación como la cromatografía de gases, sin embargo, esta técnica no permite obtener información sobre los compuestos clave del aroma, y es bien conocido que dichos compuestos no tienen porque coincidir con aquellos de mayor concentración. La cromatografía de gases acoplada a la olfatometría permite evaluar la contribución de cada volátil en el aroma global de las especias, lo que ha hecho que dicha técnica se esté utilizando ampliamente en estudios relacionados con el aroma de los alimentos.

Introducción

Las especias o hierbas aromáticas son ampliamente usadas en los productos alimenticios influyendo en el aroma y sabor característico de las diferentes comidas. Crecen principalmente en los países tropicales aunque en la actualidad se pueden encontrar en cualquier país de clima templado, como son los países del Mediterráneo. En España existe una amplia variedad de especias, cultivadas o silvestres, entre las que destacan el laurel, el hinojo, el tomillo, el romero, la hierbabuena, el azafrán o el pimentón, que juegan un papel muy importante en la dieta mediterránea.

Las especias fueron seleccionadas por el hombre porque producen, en cantidades pequeñas, sabores y olores característicos cuando se añaden a los alimentos o a otros productos. Sin embargo, las especias no solo se usan por su aroma, ya que éstas poseen también características pungentes y colorantes, además de propiedades antioxidantes y antimicrobianas^[1]. La mayoría de los compuestos químicos responsables de los efectos que las especias producen en los alimentos se encuentran en los aceites esenciales. Estos aceites esenciales se conocen también como "aceites volátiles", y normalmente están compuestos por terpenoides y arilpropanoides, los cuáles son sintetizados en las glándulas secretoras de los tricomas, que permanecerán intactos a menos que la especia sea sometida a algún tratamiento, como el secado, el troceado o la molienda. En la Figura 1 se muestra en detalle la superficie celular de dos hojas de laurel, una fresca y otra secada por liofilización, obtenidas por microscopía electrónica de barrido. Se observa claramente el daño celular producido por la liofilización, lo que se traduce en una pérdida considerable de volátiles.

Generalmente, los compuestos responsables del aroma se encuentran en los aceites volátiles. Sin embargo, determinadas especias como la pimienta negra, el pimentón o el jengibre deben su olor a las sustancias contenidas en sus oleorresinas, en las cuales, además de los componentes volátiles se encuentran sustancias no volátiles, responsables de las distintas sensaciones olfato-gustativas producidas por estas especias. Así, la pungencia de la pimienta está contenida en la oleorresina^[2, 3]. Lo mismo ocurre con los gingeroles del jengibre^[4]. El pimentón no posee aceites volátiles y los compuestos responsables de su pungencia, denominados capsai-



M.ª Consuelo Díaz-Maroto

M.ª Soledad Pérez-Coello

cinas, se encuentran también en sus oleorresinas. El resto de las especias pueden sustituirse, en lo que a aroma se refiere, por sus aceites esenciales, aunque la calidad del aroma no será exactamente la misma, ya que en la especia hay otros compuestos que también contribuyen al mismo.

Composición volátil de las especias

Para conocer el aroma que las especias pueden impartir a los alimentos, es necesario estudiar la naturaleza de sus componentes volátiles. En la actualidad, las investigaciones están dirigidas a determinar los compuestos volátiles que dan lugar al característico aroma de cada especia, ya que dependiendo de la región en la que crezcan y del tratamiento al que hayan sido sometidas, la composición de una determinada especia puede variar ampliamente^[5-9].

Los compuestos volátiles de las especias pueden pertenecer a distintos grupos dependiendo de la ruta metabólica de la que deriven. Así los grupos más característicos encontrados en los aceites volátiles son terpenoides (derivan de la vía metabólica del ácido mevalónico), arilpropanoides (derivan de la vía metabólica del ácido shikímico), y en ocasiones podemos encontrarnos compuestos azufrados o glucosinolatos (derivados de la vía metabólica de los aminoácidos) y compuestos alifáticos lineales no ramificados que proceden de la biosíntesis de los ácidos grasos. Dependiendo de la familia botánica a la que pertenezca cada especia, predominará un grupo u otro, así por ejemplo, en familias como Apiaceae (Umbelliferae) y Lauraceae predominan los fenilpropanoides, mientras que en la Lamiaceae (Labiatae) los aceites esenciales están constituidos fundamentalmente por terpenoides.

Los terpenoides, también denominados isoprenoides, son un grupo de sustancias químicas naturales cuya unidad fun-

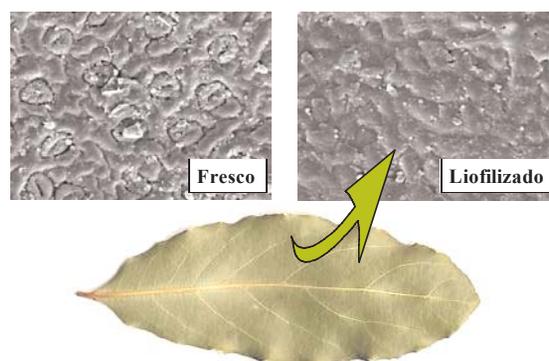


Figura 1. Detalle de la estructura celular del laurel. Imagen obtenida por microscopía electrónica de barrido.

Área de Tecnología de los Alimentos,
Facultad de CC. Químicas (UCLM),
Campus Universitario, 10, 13071 Ciudad Real.
C-e: mariaconsuelo.diaz@uclm.es

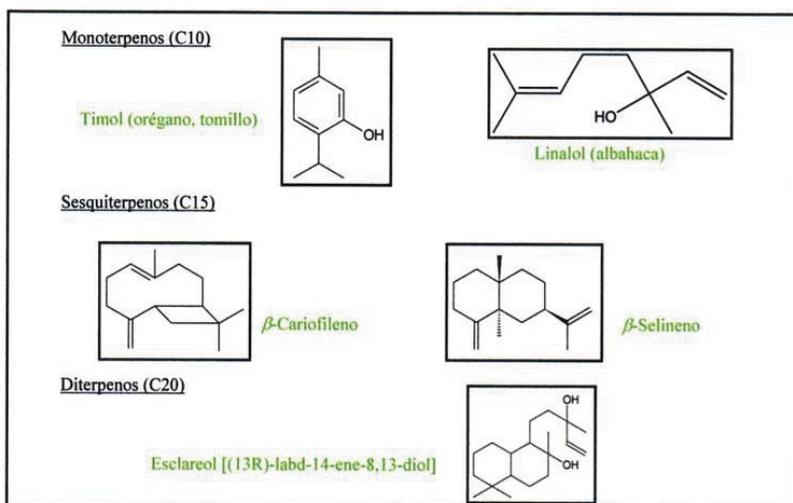


Figura 2. Principales tipos de terpenoides encontrados en las especias o hierbas aromáticas.

Tabla 1. Componentes volátiles mayoritarios de las principales especias o hierbas aromáticas del área Mediterránea.

Nombre común	Nombre científico	Componentes volátiles mayoritarios
Albahaca	<i>Ocimum basilicum</i> L.	Linalol, eugenol, estragol (metilcavicol) ^[9, 12]
Hierbabuena	<i>Mentha spicata</i> L.	(R)-(-)-Carvona, 1,8-cineol (eucaliptol), limoneno ^[8, 12, 13]
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	trans-Anetol, estragol, fenchona ^[14, 15]
Laurel	<i>Laurus nobilis</i> L.	1,8-Cineol, terpenil acetato, linalol ^[6, 16, 17]
Menta	<i>Mentha piperita</i> L.	L-(-)-Mentol, trans-p-mentona, trans-mentil acetato ^[13]
Orégano	<i>Origanum vulgare</i> L.	Timol, carvacrol, linalol ^[12, 17-19]
Perejil	<i>Petroselinum crispum</i>	p-Menta-1,3,8-trieno, β-felandreno, apiol, miristicina ^[7]
Poleo	<i>Mentha pulegium</i> L.	Pulegona, piperitona, piperitona, isopulegol ^[20]
Romero	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Alcanfor, verbenona, linalol, α-pineno, 1,8-cineol ^[21]
Salvia	<i>Salvia lavandulifolia</i> L.	1,8-Cineol, alcanfor, endo-borneol ^[21]
Tomillo	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Timol, p-cimeno, carvacrol, linalol ^[14]

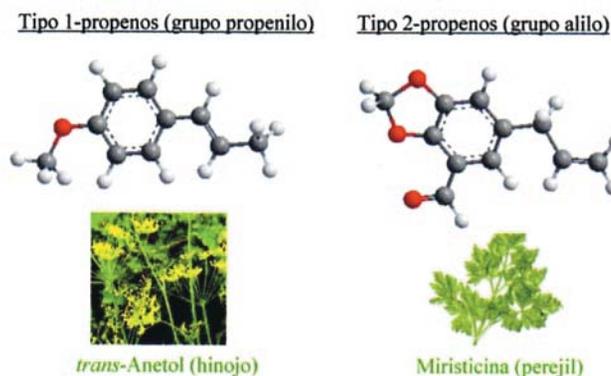


Figura 3. Principales tipos de arilpropanoides encontrados en las especias o hierbas aromáticas.

damental es el isopreno. Dependiendo del número de átomos de carbono o del número de isoprenos que los forman, los terpenoides pueden dividirse en varios grupos, de los cuáles los que principalmente encontramos en las especias son monoterpenos, con diez átomos de carbono, como por ejemplo el linalol o el timol, típicos de la albahaca y el tomillo, respectivamente, sesquiterpenos con quince átomos de carbono, como el β-selineno o el β-cariofileno, y diterpenos con 20 átomos de carbono (Figura 2).

El esqueleto base de los arilpropanoides está constituido por un anillo bencénico y un radical de tres átomos de carbono (fenilpropanoide). Dependiendo de la situación del doble enlace en la posición 1 o 2 del radical propano, los arilpropanoides se pueden clasificar en: tipo 1-propenos o grupo propenilo, como por ejemplo el trans-anetol que es típico del hinojo, y tipo 2-propenos o grupo alilo, como la miristicina que es característica del perejil (Figura 3).

Para obtener la máxima información sobre los compuestos responsables del aroma de las diferentes especias, se deben aplicar las técnicas de extracción y concentración más adecuadas, así como la mejor técnica analítica que nos permita la separación e identificación del mayor número de compuestos que forman parte de la fracción volátil de las especias. Estamos hablando, por supuesto, de la cromatografía de gases, acoplada a diferentes detectores según el objetivo de nuestra investigación.

La cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (GC-MS) es la técnica analítica más utilizada, sin embargo, no permite obtener información sobre los compuestos clave responsables del aroma de las especias, y es bien conocido que dichos compuestos no tienen porque coincidir con aquellos de mayor concentración. La cromatografía de gases acoplada a la olfatometría (GC-O) permite determinar la importancia de cada

uno de los compuestos volátiles de las especias en el aroma global de las mismas, lo que ha hecho que dicha técnica se esté utilizando ampliamente en estudios relacionados con el aroma de los alimentos.

En la Tabla 1 se muestra un resumen de los componentes volátiles mayoritarios de las principales especias o hierbas aromáticas que pueden encontrarse, bien cultivadas o silvestres, en el área Mediterránea. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la composición en volátiles de las especias puede variar considerablemente, tanto cualitativa como cuantitativamente, dependiendo de su origen geográfico, del quimiotipo al que pertenezcan, y del tratamiento al que hayan sido sometidas^[5-11].

El estudio de la composición volátil de las especias por GC-MS y GC-O, permite su diferenciación y caracterización, así como detectar cualquier tipo de adulteración o mezcla, principalmente en aquellas especias con mayor valor económico,

Análisis de los compuestos responsables del aroma de las especias

como el azafrán, la vainilla o el cardamomo, o en aquellas fácilmente reemplazables por especias semejantes de menor coste, como es el caso de la menta (*Mentha piperita L.*) y la hierbabuena (*Mentha spicata L.*)

Métodos de extracción previos al análisis cromatográfico

Como se ha dicho anteriormente, la GC-MS y la GC-O son las técnicas instrumentales más utilizadas para la caracterización de la fracción volátil de las especias, sin embargo requieren un paso previo de extracción y concentración. Entre los métodos más comúnmente utilizados para la extracción de los aceites volátiles de las especias podemos destacar la destilación por arrastre de vapor, la hidrodestilación, la extracción-destilación simultánea (SDE), la extracción con fluidos supercríticos (SFE), o la microextracción en fase sólida (SPME).

La destilación por arrastre de vapor y la hidrodestilación son dos de las técnicas más usadas, sin embargo requieren grandes cantidades de muestra y, en general, tiempos de extracción largos. Además, tienen el inconveniente de que la alta temperatura de trabajo puede producir la degradación de algunos compuestos volátiles. A pesar de ello, han sido ampliamente utilizados para aislar los aceites esenciales de diversas especias, como por ejemplo el laurel, la menta, el jengibre, el romero, el tomillo o la canela^[16, 22-24]. La SDE permite la extracción y concentración de la fracción volátil de las especias en un solo paso, obteniéndose además altas recuperaciones de compuestos con un intervalo de volatilidad muy amplio^[6-9, 25].

La SFE permite obtener extractos que representan fielmente el aroma de la especia natural^[12, 14, 26], esto hace que dicha técnica sea muy utilizada a nivel industrial para la obtención de aceites esenciales, en sustitución de técnicas convencionales como son la hidrodestilación y la destilación por arrastre de vapor. En general, los extractos obtenidos por SFE son ricos en terpenos oxigenados y sesquiterpenos, con una pequeña proporción de monoterpenos hidrocarbonados, los cuáles se extraen mejor con otras técnicas como la SDE, ya que durante la despresurización del CO₂ pueden producirse pérdidas de los compuestos más volátiles^[12, 14, 27].

Otra técnica de extracción de volátiles muy utilizada actualmente, es la microextracción en fase sólida (SPME). Es un método rápido y sencillo, y que al no utilizar disolventes evita la contaminación de las muestras, sin embargo la recuperación es sólo parcial y depende del compuesto^[17, 28]. Consiste básicamente en una jeringa modificada con un resorte que permite introducir una fibra en un vial en el cuál se encuentra la muestra a extraer. Una vez realizada la extracción, la fibra se retrae y se realiza la desorción térmica de los analitos en el inyector del cromatógrafo de gases.

Cromatografía de gases-olfatometría

La GC-O es una herramienta analítica muy importante en el análisis del aroma de los alimentos, ya que nos permite caracterizar el olor de un solo compuesto, o bien el olor de todos los compuestos presentes en una mezcla compleja de volátiles, que sería el caso de los alimentos. Con la cromatografía de gases logramos separar todos los compuestos

volátiles presentes en una mezcla, cada uno de los cuales eluye individualmente por el puerto del sniffing (Figura 4) y es percibido por un catador, el cuál tendrá que evaluar la intensidad y calidad de su olor. La nariz tiene un límite de detección mucho más bajo que cualquiera de los detectores usados en GC, pudiendo detectar sustancias en concentraciones tan bajas, que sería imposible o muy difícil detectarlas con cualquier otro detector. Debido a los bajos umbrales olfativos de detección que presentan algunos compuestos volátiles, esta técnica resulta muy útil para detectar o estudiar el olor de aquellos compuestos que no pueden ser detectados con un detector analítico, o que resulta muy difícil su detección. Además presenta la ventaja de que compuestos volátiles con índices de retención muy próximos, si presentan olores diferentes podrán ser detectados por olfatometría.

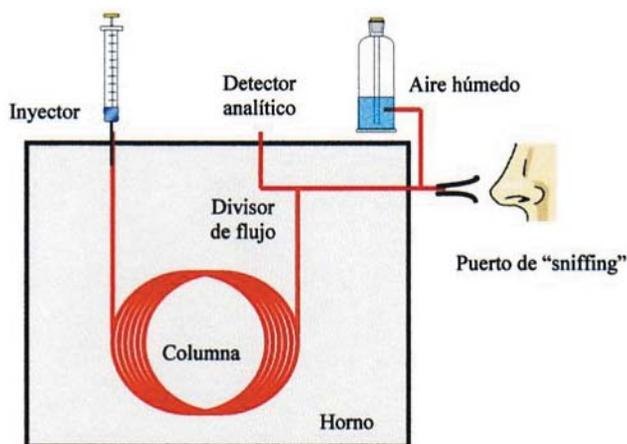


Figura 4. Esquema del acoplamiento entre la cromatografía de gases y la olfatometría.

Generalmente esta técnica se ha utilizado para detectar cantidades traza de compuestos clave responsables del aroma de determinados alimentos, o bien para la determinación de compuestos que no son propios de un alimento pero que aparecen en el mismo debido, entre otras causas, a su procesado.

La composición volátil de las especias o de sus aceites esenciales ha sido ampliamente estudiada, sin embargo en la actualidad los estudios se están centrando principalmente en aquellos compuestos que realmente juegan un papel importante en el aroma de las mismas. En la Figura 5 se muestran los compuestos volátiles responsables de las principales notas olfativas de la menta (*Mentha piperita L.*)^[13].

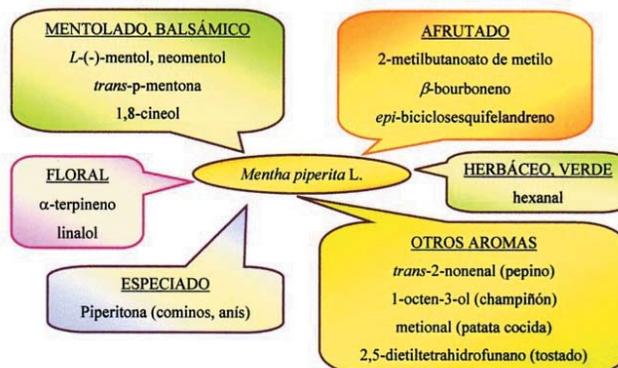


Figura 5. Compuestos volátiles responsables de las principales notas olfativas presentes en la *Mentha piperita L.*

El aroma herbáceo o "verde" puede ser debido a distintos compuestos dependiendo de la especie. Así, en el caso de la menta aparece el hexanal, al igual que en la hierbabuena o en el poleo^[13, 20], mientras que en el laurel el compuesto responsable es el (*Z*)-3-hexenal^[29]. Las notas florales vienen dadas por terpenos como el α -terpineno y su acetato, y el linalol y sus derivados^[13, 14, 20, 29].

Otra nota olfativa muy típica de las especias en el aroma afrutado. Este puede deberse a ésteres como el 2-metilbutanoato de metilo o el 2-metilbutanoato de etilo, a aldehídos como el (*E*)-2-hexenal, a sesquiterpenos, como el β -bourboneno y el *epi*-bicyclosesquifelandreno, o a C₁₃-norisoprenoídes como la β -damascenona^[13, 20, 25, 29].

Además de las notas herbáceas, florales y afrutadas que aparecen en la mayoría de las especias, cada una presenta un aroma característico, el cuál viene dado por diferentes compuestos. Por ejemplo, el *L*-(-)-mentol, el neomentol, la *trans-p*-mentona y el 1,8-cineol representan el típico aroma mentolado y balsámico de la menta^[13]; otros autores han detectado el mentofurano como el compuesto impacto de esta especie^[30]. La carvona existe en la naturaleza en dos formas enantioméricas, la (*R*)-(-)-carvona responsable del típico aroma mentolado y dulzón de la hierbabuena, y la (*S*)-(+)-carvona con un característico olor a alcaravea (Figura 6)^[31].

En el caso del perejil, su aroma es debido a una mezcla de siete compuestos, el *p*-menta-1,3,8-trieno, el mirceno, la 2-sec-butil-3-metoxipirazina, la miristicina, el linalol, el (*Z*)-6-decenal y el (*Z*)-3-hexenal^[32]; mientras que el *trans*-anetol, el

estragol y el *p*-anisaldehído presentan el aroma anisado típico del hinojo, y las notas especiadas características del tomillo están relacionadas con su contenido en timol y su isómero carvacrol^[14]. En la Figura 7 se muestra un cromatograma típico de un extracto de poleo obtenido por SDE, junto con la descripción del olor de los componentes volátiles más representativos de su aroma.

En general, independientemente de la especie estudiada, los compuestos menos volátiles (terpenos oxigenados y sesquiterpenos) presentan aromas típicos de este tipo de muestras, como afrutado, floral, especiado y notas a madera. Sin embargo, los compuestos más volátiles dan lugar a notas aromáticas que no son representativas del aroma global de las especias, entre ellas olor a patata cocida (mentional), a champiñón (1-octen-3-ol) ó a pepino (*trans*-2-nonenal). Esto debería tenerse en cuenta en la obtención de los aceites esenciales, para elegir aquellas técnicas de extracción que nos permitan obtener aceites esenciales ricos en terpenos oxigenados y sesquiterpenos, como por ejemplo la extracción con fluidos supercríticos.

Conclusiones

Debido a su complejidad, el análisis del aroma de las especias requiere técnicas tan potentes como la GC-MS, la cuál permite la caracterización química o estructural de sus componentes volátiles. Sin embargo, esta técnica no nos da información sobre los compuestos olfativamente activos. Para establecer una relación estructura-olor de cada compuesto individual es necesario recurrir a la GC-O, que combina la separación cromatográfica con la identificación de los olores mediante un olfatómetro o puerto de "sniffing".

Independientemente de la técnica analítica que elijamos, la elección del método de extracción y concentración previo a cualquier análisis cromatográfico ha de realizarse adecuadamente y, generalmente, en función de los objetivos de nuestra investigación.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia y Tecnología el apoyo económico a cargo del proyecto AGL 2003-00188, y a la Dra. M^a Dolores Cabezudo Ibáñez por su contribución científica.



Figura 6. Formas enantioméricas de la carvona presentes en la naturaleza y descripción de su olor.

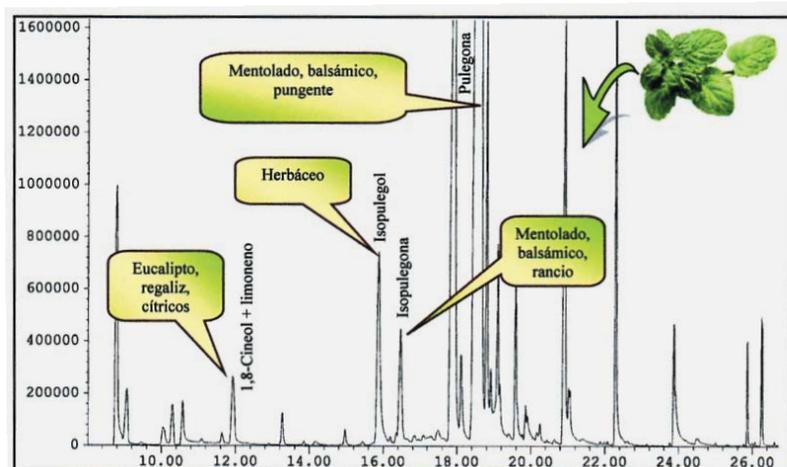


Figura 7. Cromatograma de un extracto de poleo obtenido por SDE. Componentes volátiles más representativos de su aroma.

Referencias

- [1] H. Lindberg Madsen, G. Bertelsen, L. H. Skibsted en *Spices, flavor chemistry and antioxidant properties*, (Eds.: S. J. Risch, Chi-Tang Ho), American Chemical Society, Washington, **1997**, pp. 176-187.
- [2] M. Rathnawathie, K. A. Buckle, *J. Chromatogr.* **1983**, *264*, 316-320.
- [3] D. E. Games, N. J. Alcock, J. Van der Greef, L. M. Nyssen, H. Maarse, M. C. Ten Noever de Brauw, *J. Chromatogr.* **1984**, *294*, 269-279.
- [4] J. P. Bartley, *J. Sci. Food Agric.* **1995**, *68*, 215-222.
- [5] B. Voirin, N. Brun, C. Bayet, *Phytochemistry* **1990**, *29*, 749-755.

Análisis de los compuestos responsables del aroma de las especias

- [6] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, M. D. Cabezudo, *J. Agric. Food Chem.* **2002**, *50*, 4520–4524.
- [7] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, M. D. Cabezudo, *Eur. Food Res. Technol.* **2002**, *215*, 227–230.
- [8] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, M. A. González-Viñas, M. D. Cabezudo, *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 1265–1269.
- [9] M. C. Díaz-Maroto, E. Sánchez-Palomo, L. Castro, M. A. González-Viñas, M. S. Pérez-Coello, *J. Sci. Food Agric.* **2004**, *84*, 2070–2076.
- [10] O. Baritoux, H. Richard, J. Touche, M. Derbesy, *Flavour Fragr. J.* **1992**, *7*, 267–271.
- [11] N. A. Shaath, N. R. Azzo en *Spices, herbs and edible fungi*, (Eds.: G. Charalambous), Elsevier, *Amsterdam*, **1994**, pp. 427–438.
- [12] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, M. D. Cabezudo, *J. Chromatogr. A* **2002**, *947*, 23–29.
- [13] M. C. Díaz-Maroto, N. Castillo, M. A. González-Viñas, M. S. Pérez-Coello, *Eur. Food Res. Technol.* **2006**, enviado para publicación.
- [14] M. C. Díaz-Maroto, I. J. Díaz-Maroto Hidalgo, E. Sánchez-Palomo, M. S. Pérez-Coello, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 5385–5389.
- [15] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, J. Esteban, J. Sanz, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, *54*, 6814–6818.
- [16] J. Pino, P. Borges, E. Roncal, *Die Nahrung*, **1993**, *37*, 592–595.
- [17] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, M. D. Cabezudo, *Chromatographia* **2002**, *55*, 723–728.
- [18] A. O. Tucker, M. J. Maciarello en *Spices, herbs and edible fungi*, (Eds.: G. Charalambous), Elsevier, *Amsterdam*, **1994**, pp. 439–456.
- [19] M. Russo, G. C. Galletti, P. Bocchini, A. Carnacini, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 3741–3746.
- [20] M. C. Díaz-Maroto, N. Castillo, M. A. González-Viñas, M. S. Pérez-Coello, *Flavour Fragr. J.* **2006**, aceptado.
- [21] M. D. Guillén, N. Cabo, J. Burillo, *J. Sci. Food Agric.* **1996**, *70*, 359–363.
- [22] J. C. Chalchat, A. Michet, B. Pasquier, *Perf. Flav.* **1997**, *22*, 15–21.
- [23] M. N. Dang, M. Takácsová, D. V. Nguyen, K. Kristiánová, *Nahrung / Food*, **2001**, *45*, 64–66.
- [24] S. Echeverrigaray, G. Agostini, L. Atti Serfini, N. Paroul, G. F. Pauletti, A. C. Atti dos Santos, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4220–4223.
- [25] H. Z. Cheng, H. K. Kyoung, H. K. Tae, J. L. Hyong, *J. Sci. Food Agric.* **2005**, *85*, 161–166.
- [26] D. A. Moyler en *Spices, herbs and edible fungi*, (Eds.: G. Charalambous), Elsevier, *Amsterdam*, **1994**, pp. 1–70.
- [27] E. E. Stashenko, N. Q. Prada, J. R. Martínez, *J. High Res. Chrom.* **1996**, *19*, 353–358.
- [28] J. Rohloff, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3782–3786.
- [29] A. Kilic, H. Hafizoglu, H. Kollmannsberger, S. Nitz, *J. Agric. Food Chem.* **2004**, *52*, 1601–1606.
- [30] S. Benn, *Perf. Flav.* **1998**, *23*, 5–16.
- [31] M. H. Boelens, H. Boelens, L. J. van Gemert, *Perf. Flav.* **1993**, *18*, 1–16.
- [32] C. Masanetz, W. Grosch, *Flavour Fragr. J.* **1998**, *13*, 115–124.



Barcelona, SPAIN. 19 – 21 OCTOBER, 2006

A BBVA Foundation and IRB conference that will focus on the rapidly growing field of NMR structure-based drug discovery

The NMR in Drug Discovery conference will address the current status of the rapidly growing field of structure-based drug discovery and development using NMR and its implications in fundamental molecular biology issues. NMR is a multifaceted technique that is sensitive to both structure and dynamics and can monitor the binding of low molecular weight ligands to biological macromolecules in the early stages of drug discovery. The same concepts can be extended to the study of other instances of molecular recognition such as the use of small molecular tools in fundamental molecular biology studies or to the study of weak protein-protein interactions.

The Barcelona BioMed Conferences will bring together leading researchers to present and discuss breakthroughs in several fields of

biomedicine. Each of these meetings will involve around 20 speakers, selected from among leading international researchers, and about 40 additional participants. IRB strives to create a highly focused think-tank atmosphere for a small and select group of attendees. Registration is free and the participants will be selected on the basis of their scientific experience (deadline: Friday, September 15, 2006). Registration is now closed.

Organizer:

IRB with the collaboration of the Banco Bilbao Vizcaya Argentaria Foundation (BBVA Foundation).