

POTENȚIALUL AROMATIC AL STRUGURILOR ȘI METODE DE DETERMINARE A LUI

Autor: Natalia FURTUNA

Conducător științific: dr., conf. univ. Grigore MUSTEAȚĂ

Universitatea Tehnică a Moldovei

Rezumat: Profilul aromatic al vinurilor se datorează aromelor primare varietale care dau tipicitatea vinului. De aceea, prin toate tehnologiile de vinificare a strugurilor se urmărește păstrarea aromelor varietale, care să se regăsească în vin. La formarea aromelor varietale participă mai multe familii de compuși chimici, care se formează în procesele metabolice ale viței de vie, ca produși secundari. Ținând cont de complexitatea aromelor din struguri și vin, faptul că se găsesc în cantități foarte mici, s-au stabilit metodele adecvate de extracție și de analiză a aromelor. Cele mai folosite sunt metodele de extracție cu solvenți organici. Din extractul obținut, aromele se separă prin cromatografie cu faza gazoasă (GC).
Cuvinte cheie: Vin, struguri, profil aromatic, aroma varietală, extracție, GC.

Introducere

Aroma vinurilor este mult mai complexă decât cea a strugurilor. Au fost identificați numeroși compuși volatili care participă la formarea aromei și buchetului de învechire a vinurilor: peste 90 esteri, 30 alcooli, 25 aldehide și cetone, 10 terpene și 25 compuși chimici diverși, printre care acizi grași liberi, lactone și fenoli volatili. Pentru a putea fi percepuți olfactiv, concentrația lor în vin trebuie să reprezinte $1,9 \cdot 10^{-3}$ mg/l.

Multitudinea compușilor chimici susceptibili de a contribui la formarea aromei și buchetului vinurilor, se grupează în funcție de originea lor astfel:

- arome primare sau *varietale* care provin din struguri și se formează în urma proceselor metabolice ale viței de vie, ca produși secundari, ele sunt responsabile de tipicitatea aromei vinului;
- arome secundare sau *de fermentație*, datorate activității levurilor și bacteriilor care participă la formarea vinului, dau în general caracterul de vînzitate, dar și nuanțe aromate specifice;
- arome de *maturare și învechire* a vinurilor, rezultate în urma proceselor fizico-chimice de oxidare și esterificare ce se petrec în vin, cu formarea esterilor, aldehydelor și cetonelelor ce contribuie la formarea buchetului vinului [5].

1. Potențialul aromatic al strugurilor

Fiecare soi aduce în vin arome cu nuanțe diferite, care pot rămâne nemodificate sau din contra se modifica în cursul fermentației alcoolice. La formarea aromelor varietale participă mai multe familii de compuși chimici: terpene și sesquiterpene, norisoprenoide, pirazine, compuși fenolici volatili și altele.

Potențialul aromatic al soiurilor este dat de existența în struguri a două categorii de arome:

1. arome aflate în stare liberă, odorante, direct accesibile mucoasei olfactive și căilor retronazale. Includ mai ales monoterpenoide dintre care cele mai reprezentative sunt: linaloolul, geraniolul, nerolul și formele lor oxigenate, hotrienolul, citronerolul și α -terpineol. Sunt cunoscute, de asemenea, pirazinele cu miros puternic de verdeață care se pot recunoaște la strugurii soiurilor nearomate (Cabernet Sauvignon sau Merlot). Aroma soiului Merlot se datorează prezenței a cca. 70 de terpene, peste 4000 de terpenoide și 1000 de sesquiterpenoide care provin din hidrolaza glicozidelor. [1], [5]

2. arome legate de zaharuri, neodorante, care nu sunt percepute direct de mucoasa olfactivă. Compușii nevolatili sunt cunoscuți sub numele de “precursori de arome” pentru că au posibilitatea de a se transforma în compuși volatili, participând la aroma vinurilor după prelucrarea strugurilor. Ei alcătuiesc “aroma ascunsă”. Compușii nespecifici sunt responsabili de “vînzitatea vinului”. Proporția dintre aceste forme, diferențiază soiurile între ele și anume soiurile aromate de cele cu aromă neutrală. [4], [5]

Recent, s-au evidențiat în cazul tiolilor volatili precursori ce constau dintr-o moleculă volatilă legată de cisteină, și s-a identificat un precursor al dimetil sulfurei. La formarea aromelor primare din struguri participă mai multe familii de compuși chimici: terpene și sesquiterpene, norisoprenoide, pirazine, compuși fenolici volatili și altele. [6]

În tabelul 1 sunt redate toate clasele de substanțe care participă la realizarea aromelor din struguri. [1]

Tabelul.1

Compuși aromatici varietali și pragul de percepție în vin

Clasa de substanțe	Reprezentanți	Aroma	Pragul de percepție, μg/l
1. Monoterpenoide (C₁₀)			
- monoterpene ciclici	- limonen	- lămâie	5
- alcooli	- ho-trienol	- trandafir, piersică	110
	- geraniol	- trandafir	130
	- nerol	- trandafir	400
	- linalool	- coriandru, levănțică	50
	- α-terpineol	- liliac	400
- aldehide	- citronelal	- florală, de romaniță	0,5
	- geranial (cital a)	- lămâie	5
	- neral (cital b)	- lămâie	20
- esteri	- acetat de linolil	- levănțică, salvie	20
2. Norizoprenoide (C₁₃)			
	- β-ionona	- toporași	15
	- β-damascenona	- trandafir, fructe exotice	5
3. Pirazine			
	- metoxipirazine	- piper verde	~ 10 ⁻²
4. Tioli (compuși sulfurati)			
	- 4-mercapto-4-metilpentan-2-ona	- grapefruit, coajă de citrice	8·10 ⁻⁴
5. Arome specifice de HPD			
	- furani	- fragi	20
	- antranilat de metil	- foxat	100

1.1. Compuși varietali liberi

Compuși terpenici. Aromele de natură terpenică sunt cele care predomină în struguri. Moleculele acestor compuși reprezintă multiplii unei hidrocarburi volatile numită izoprenă (2-metil-1,3-butadiena), și au formula brută (C₅H₈)_n și formează monoterpene (C₁₀H₁₆) și sesquiterpene (C₁₅H₂₄). În struguri au fost identificați circa 70 compuși terpenici; cea mai mare parte o reprezintă monoterpenele și câteva sesquiterpene, alcooli terpenici, aldehide terpenice, glicozide terpenice.

Alcoolii terpenici monohidroxilici volatili (terpineolii) sunt cei mai importanți din punct de vedere olfactiv, fiind reprezentați prin: linalool, geraniol, nerol, citronelol, α-terpineol și ho-trienol, datorită concentrația lor cu mult superioară pragului de percepție:

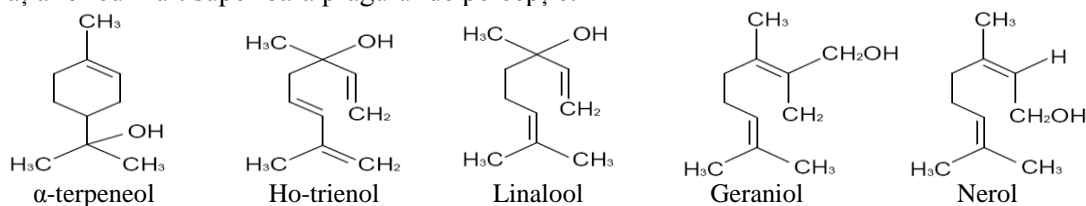


Figura 1 : Principalii monoterpeneoli din boabele strugurilor

Acești compuși sunt sintetizați în bobitele strugurilor, fiind localizați preferențial în părțile solide (piele și pulpă). Toate procedurile care ar putea să sporească schimbul dintre părțile solide și lichide sunt, din acest punct de vedere, interesante pentru amplificarea notelor aromatice corespunzătoare. [6]

Aldehidele terpenice sunt reprezentate prin: neral, geranial și citronelal. Ele sunt foarte odorante, dar mai puțin olfactive în comparație cu terpenolii corespondenți. Se formează în strugurii soiurilor aromatice în cantități foarte mici, astfel încât contribuția lor la aromele varietale este slabă. [3]

Pirazinele constituie o familie de compuși aromatici destul de numeroasă, dar numai 3-izobutil-2-metoxipirazine (3-IBMP) a fost detectată la niveluri de percepție olfactivă. Aceasta din urmă este foarte scăzută, de aproximativ 8 ng/l în vinurile albe și 10 - 15 ng/l în vinurile roșii.

3-IBMP are un miros puternic caracteristic de piper verde și poate avea un efect de mascare al aromei fructate sau florale, în special la vinul roșu. De asemenea, poate oferi o complexitate a aromei, cum este cazul unor vinuri de Sauvignon din Noua Zeelandă. [7]

1.2. Precursorii aromatici

Cu excepția unor soiuri de struguri cunoscute ca fiind aromate, boabele celor mai multe soiuri de *Vitis vinifera* au arome nespecifice, în timp ce vinurile obținute din acestea au o diversitate aromatică foarte mare. Motivul pentru această schimbare radicală poate fi atribuit aromelor formate în decursul fermentării, dar, mai ales, datorită anumitor molecule din precursorii nearomatici prezenți în bobite. Printre acestea se numără compușii glicozilați. Acești compuși combina un compus volatil numit aglicon și o parte ozidică (zaharuri) printr-o legătură β -glucozidică.

Agliconii pot fi de natură chimică diferită, dar trebuie să includă o grupare hidroxil (alcool, fenol, acid) care să permită legătura glicozidică. Deosebim, în special, principalele clase de compuși volatili: alcoolii cu C6 și mai mult, fenoli volatili, alcoolii terpenici (monoterpenoli) și C13-norisoprenoide.[2]

Mai multe studii confirmă ipoteza biosintezei *in situ* în boabe, independent de procesele asociate cu maturarea strugurilor. S-a demonstrat că prezența glicozidelor în boabe este mai mult determinată de genotipul strugurelui, decât cel al viței de vie.[6]

Glicozidele terpenice reprezintă aromele din struguri legate de zaharuri. Componenta glucidică este reprezentată de glucoza, arabinoză, ramnoză și apioză. Componenta aromatică (agliconul) o constituie de regulă terpenolii, sau oxizii piranici ai linaloolului (cis și trans). Sub această formă de glicozide, terpenele nu sunt odorante. Ca și terpeniolii, glicozidele terpenice se acumulează în pielețele boabelor, de unde sunt extrase prin macerarea peliculară. [5]

Norizoprenoidele sunt compuși aromați cu 13 atomi de carbon în moleculă, care se formează în plante prin degradarea carotenoidelor. În timpul prelucrării strugurilor, prin acțiunea enzimelor din grupa lipogenazelor (caroten-oxidaze) are loc degradarea carotenoidelor din pielețe, cu formarea compușilor norisoprenoidici. Acestea sunt: cetone-norisoprenoide de tipul α -iononă și β -iononă cu aromă de toporași, β -damascenona cu aromă de trandafir. Norisoprenoidele fiind mai puțin lipofile decât carotenoidele, trec cu ușurință în must. Cantitățile pot să ajungă până la 20 mg iononă/l de must. Aromele norisoprenoidice sunt foarte puternice și tipice, pragul olfactiv de percepție fiind extrem de mic. [2]

Aromele de hibridi sunt arome cu miros și gust foxat (de naftalină sau de fenol), specifice hibridilor producători direcți care provin din speciile de vițe roditoare americane (*Vitis labrusca*).

Gustul și mirosul foxat de naftalină la strugurii și vinul de hibridi este atribuit în principal antranilatului de metil. Acesta este un compus azolic din grupa benzoxazolilor, având un nucleu benzenic condensat cu un nucleu izoxazolic. Se formează în strugurii de hibridi în cantități de 0,2-3,5 mg/l de must, și se regăsește în vin în concentrații egale cu un alt compus aromat volatil – acetatul de izoamil. [1].

Precursorii cisteinei sau S-conjugații ai L-cisteinei, sunt precursori inodori ai compușilor cu funcție de tioli foarte aromați, au fost recent evidențiate și identificate direct în struguri. Din cauza dificultăților analitice, au fost publicate puține date cantitative privind S-conjugații cisteinei. În boabe, P4MMP (S-(4-metil-2-oxopent-4-il)-L-cisteina) este împărțită în mod egal în pieleță și pulpă, în timp ce P3MH (S-(1-hidroxihex-3-il)-L-cisteina) este predominant prezent în pieleță. [6]

Precursorii dimetil sulfurați ai aromei varietale au fost identificați în struguri de curând, deși sulfura de dimetil (DMS) este cunoscută ca fiind un constituent aromatic al vinului de mult timp, cât și formarea sa în timpul diferitor etape ale procesului de vinificare și de stocare a vinurilor. DMS, având un prag de percepție de 27 $\mu\text{g/L}$ în vinul roșu, este un constituent important al aromei de trufe, notă olfactivă deseori menționată în buchetul de reducere a vinurilor roșii de calitate superioară și vinurilor din struguri recoltați târziu.[6]

2. Metode de determinare a substanțelor odorante din vinuri

Componentele responsabile pentru aroma din mustul de struguri soiurilor aromatice, pot fi extrase cu solvenți organici. După concentrarea a volumului mic de extract, vom proceda la analiza prin cromatografie de gaz, de preferință, cu ajutorul coloanei capilare și un etalon intern, care permite o evaluare cantitativă foarte precisă, chiar dacă acestea sunt în cantități foarte mici. Este preferabil să se prezinte o probă cu dubla extracție, prima dată cu pentan, a doua oară cu amestec azeotrop pentan : clorură de metilen (60: 40 V/V). Reziduu de la dubla extracție este supus distilării cu abur, prin colectarea un volum egal de distilat care este extras cu un solvent.

Ținând seamă de complexitatea aromelor din struguri și vin, faptul că se găsesc în cantități foarte mici, trebuie să se stabilească metodele adecvate de extracție și determinare a aromelor. Metodele/procedeele de extracție care se folosesc sunt următoarele: antrenarea aromelor din vin cu vapori de apă (distilare) adsorbția pe rășini de copolimeri sintetici, extracția cu solvenți organici.

Cele mai folosite sunt metodele de extracție cu solvenți organici (tabelul 2). [8]

Tabelul 2

Proprietățile fizico-chimice ale solvenților organici utilizați pentru extracția aromelor

Solventul	Punctul de fierbere (°C)	Constanta dielectrică (ϵ)	Momentul dipolar (μ)
Acetatul de etil	77	6,08 la 25°C	1,78
Metanolul	65	32,63 la 25°C	-
Cloroformul	62	4,81 la 20°C	1,04
Diclorometanul	40	8,93 la 20°C	1,60
Pentanul	36	1,84 la 20°C	0
Eterul etilic	34,5	4,27 la 20°C	1,15

Din extractul obținut, aromele se separă prin cromatografie cu faza gazoasă (GC). La ieșirea din coloană, eluentul este dirijat către un spectrofotometru de masă, care dă „amprenta” moleculei de aromă.

Cercetările mai recente fac apel la diluția izotropică pentru determinarea compușilor aromați volatili în concentrații foarte mici, cum sunt pirazinele. Se utilizează etaloanele interne specifice pentru fiecare compus aromat, la care 3-5 atomi de hidrogen sunt înlocuiți cu atomii de deuterium. Picurile etaloanelor se compară cu cele ale aromelor din proba de vin și se calculează cantități de arome.

Extracția aromelor cu solvenți organici poate fi utilizată pentru dozarea cantitativă a aromelor, dacă este asociată cu folosirea unor etaloane interne. Atunci când metoda este urmată de o concentrare a extractului, ceea ce se impune de obicei, apare inconvenientul formării artefactelor, datorita impurităților prezente în solvenți. Riscul poate fi limitat prin distilarea solventului înainte de folosire. Altă dificultate rezidă în alegerea solventului, pentru determinarea cantitativa a unui amestec eterogen de compuși aromatici.

Determinarea aromelor terpenice:

A. Metoda spectrofotometrică (Metodă uzuală)

Prin metoda spectrofotometrică se determină aromele terpenice libere și cele legate de zaharuri, din must și vin. Metoda a fost elaborată de Dimitriadis Williams (1984) și modificată de Elena Heroiu (1989). Metoda se bazează pe separarea aromelor prin antrenare cu vapori de apă (distilare) și determinarea monoterpenelor prin reacția de culoare cu vanilina. Se formează compuși de culoare albastră sau verde-albăstrui. Intensitatea culorii se măsoară cu ajutorul spectrofotometrului, la lungimea de undă de 608 nm. Este necesar etalonul intern de linalool.

B. Metoda cromatografică cu fază gazoasă (Metodă de referință)

Se utilizează cromatografia cu fază gazoasă cuplată cu spectrometria de masă (GC-SM), prin care se pot determina aromele terpenice individuale (linalool, geraniol, nerol, citronelol) din must și vin. Metoda se bazează pe extracția terpenolilor prin adsorbție pe o rășină de tipul Amberlite XAD-2, urmată de eluție cu un amestec azeotrop de solvenți, pentan-diclorometan (raportul 2 : 1 în volume). Extractul organic este concentrat la jumătate și injectat într-o coloană cromatografică capilară din silice topită, pentru separarea terpenolilor. La ieșirea din coloană terpenolii pătrund în spectrometru de masă, pentru a fi detectați. Sunt necesare etaloanele interne de terpenoli (linalool, geraniol, nerol, citronelol). [8]

Bibliografie

1. Antocea Oana Arina. *Oenologie, Chimie și analiză senzorială*. Editura Universitaria, Craiova, 2007, 808p.
2. Flanzy Claude. *Oenologie: fondements scientifiques et technologiques*. Editura Tech. & Doc./Lavoisier, Paris, 1998, 1311 p.
3. Pomohaci N., Sârghi C., Stoian V., Cotea V., Gheorghită M., Nămoșanu I. *Oenologie, vol.1, Prelucrarea strugurilor și producerea vinurilor*. Editura Ceres, București, 2000, 368 p.
4. Sîrghi Constantin, Zironi Roberto. *Aspecte inovative ale enologiei moderne*. Editura Sigma, Chișinău, 1994, 260 p.
5. Țârdea C., Sârbu Gh., Țârdea Angela. *Tratat de vinificație*. Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași, 2000, 728 p.
6. Alain Razungles, Remi Guerin-Schneider. *Les arômes responsables du fruité des vins, nature et origine*. Les Entrepreneurs Viti-Vinicoles Rhône-Méditerranée (ENTAV-ITV France), 2007, p.6-10.
7. Dubourdieu D., Tominaga T., Masneuf I., Murat M.L. *The role of yeast in grape flavour development during fermentation: Sauvignon Blanc*. American Journal of Enology & Viticulture, 2006, 57, p.81 - 88.
8. Țârdea C. *Chimia și analiza vinului*. Editura „Ion Ionescu de la Brad”, Iași, 2007, 1400 p