

Determinación cromatográfica de componentes orgánicos volátiles en txakolí blanco de Bizkaia

(Determination of volatile organic compounds in white Txakoli from Bizkaia by gas chromatography)

Escobal, Ana; Iriondo, Carmen; Laborra, Concepción
Universidad del País Vasco
Fac. de Ciencias. Dpto. de Química Orgánica
Apdo. 644
48080 Bilbao

BIBLID [1137-4411 (1997), 4; 167-176]

En este trabajo se estudia la determinación, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, de los principales componentes volátiles mayoritarios en el Txakoli de Bizkaia. La determinación se ha llevado a cabo mediante cromatografía de gases. Se han elegido una serie de muestras representativas al objeto de contribuir a la caracterización aromática del mismo, realizándose el estudio sobre las variedades de uva utilizadas mayoritariamente en la elaboración de este vino. La cuantificación de los componentes volátiles presenta gran interés al contribuir estos compuestos en las características organolépticas del vino.

Palabras Clave: Txakolí. Compuestos orgánicos volátiles.

Lan honetan deskribatutako ikerlanak Bizkaiko Txakolinaren karakterizazio kimikoa du helburutzat. Ikerketa hau burutzeko 1992, 1993 eta 1994 uztaldiei dagozkien Bizkaiko Txakolinaren zuri bariatetako laginak erabili ditugu. Lagin hauek, bai Jatorrizko Izenduraren harautegiak lehenasuna duten bariatateekin, baita gauregun aztergai diren bariatateekin ere prestatuak izan dira. Osagai hegazkor analisiak egiteko, metodo kromatografiko desberdinak erabili dira, gaur egun azterketeta enologikoak burutzeko kromatografia teknikarik onena baita. Kasu batzutan literaturan aipatutako metodo oso ezagunak erabili ditugu, baina beste batzutan geuk garatutako metodo berriak erabiltzea egokiago iruditu zaigu.

Giltz Hitzak: Txakolina. Konposatu organiko hegazkorrak.

Nous avons analysé des échantillons de Txakoli de Bizkaia, vin élaboré au Pays Basque. Nous avons dosé les composants volatiles. On a utilisé pour la détermination la chromatographie gazeuse. L'arome participe aux caractères organoleptiques des vins et il est très important pour son acceptation. Il est indispensable de connaître la teneur en composants volatiles des vins.

Mots Clés: Txakoli. Composés organiques volatiles

INTRODUCCION

El aroma o bouquet de un vino está influenciado por la presencia de un gran número de compuestos (Suárez, 1995). Salvo el etanol que se encuentra en grandes cantidades, la suma total del resto oscila entre 0.8-1.2 g/l (Rapp, 1988). En el caso del txakoli su contenido puede ser algo inferior debido por un lado a que no es un vino que se deje envejecer y por otro porque su contenido en azúcares es bajo debido a la escasa maduración del fruto. Los azúcares determinan el contenido de muchos de los componentes volátiles, productos secundarios de la fermentación. Otros sustratos importantes para la biosíntesis de componentes volátiles son los aminoácidos (Palacios y col., 1995). En general el contenido en volátiles viene a ser aproximadamente el 1% del contenido de etanol (Rapp, 1981).

Para el estudio de los componentes volátiles ha sido decisivo el impulso y la evolución que ha ido experimentando la cromatografía de gases desde comienzos de los años sesenta. La gran variedad de rellenos cromatográficos así como las distintas dimensiones de las columnas cromatográficas, desde las tradicionales columnas empaquetadas a las columnas capilares, unido ésto a la sensibilidad de los detectores ha posibilitado la determinación de numerosos compuestos orgánicos presentes en esta matriz tan compleja.

Rapp en 1986 ya indicó la presencia de unos 600-800 compuestos orgánicos detectados en forma de trazas mediante la utilización de largas columnas capilares de alto poder resolutivo y con métodos de extracción adecuados (Bertrand, 1975)

Noble en 1982, descubrió la existencia de correlaciones importantes entre ciertos componentes determinados analíticamente y evaluaciones sensoriales del vino. Sin embargo, no se ha encontrado una correlación entre la concentración de determinadas sustancias y su contribución al aroma.

Algunos autores han atribuido relaciones entre los diferentes compuestos volátiles, las variedades de uva empleadas en la elaboración del vino y la calidad del mismo (Miranda-López y col., 1992).

Otros autores como Masuda y col. (1984), han asociado la presencia de determinados compuestos a la existencia de enfermedades en la uva durante su cultivo como es el caso de la *Botrytis Cinerea*.

Durante bastante tiempo los aromas constituyentes de un vino han sido agrupados en tres tipos:

- Aroma Primario
- Aroma Secundario
- Aroma Terciario

de los cuales hablaremos a continuación un poco más detalladamente.

Aroma Primario

El aroma primario es el que proviene del fruto y puede ser más o menos intenso según el tipo de variedad. Hay variedades de uva con aromas muy característicos y personales que pueden diferenciarlos del resto. La composición de estos aromas en el fruto no es uniforme,

de tal forma que en el hollejo y células contiguas y en toda la parte periférica del fruto presentan un mayor contenido disminuyendo la concentración en la pulpa.

Los componentes del aroma primario son los que aportan al vino unos aromas florales o afrutados y en ocasiones unas notas herbáceas, siendo éstas características de los vinos jóvenes.

Aroma Secundario

Los aromas secundarios son aquellos que provienen de la fase de fermentación. Se trata del aroma característico a vino que se desarrolla por la acción de las levaduras en el mosto.

Los procesos de formación de estos compuestos son muy variados y en muchos de los casos son complejos, existiendo una gran diversidad de precursores. Normalmente se forman a través de reacciones de tipo enzimático y los procesos más importantes son, como ya hemos indicado, las fermentaciones aunque también pueden formarse en reacciones de tipo Redox de distintos aminoácidos.

Aroma Terciario

Los aromas terciarios son los que se desarrollan durante la fase de envejecimiento del vino. Son aromas más complejos que los primeros y se notan acusadamente en los vinos más viejos.

Experimental

La determinación de los componentes volátiles, en este Proyecto, se ha realizado mediante el empleo de la cromatografía de gases. Se ha utilizado columnas tanto capilares como empacadas, así como el detector de ionización de llama y la espectrometría de masas.

A continuación se describen las condiciones cromatográficas empleadas, en los métodos utilizados, para la obtención de los resultados que se presentan, en la determinación de los componentes volátiles en el Txakoli de Bizkaia:

Método A-1

Cromatógrafo: Hewlett-Packard HP-5890

Columna Porapak Q 2 m x 1/8"

Gas portador: Nitrógeno

Caudal del gas portador: 30 ml/min

Temperatura del inyector: 200°C

Temperatura del horno: 210 °C

Análisis Isotermo

Temperatura del detector: 250°C

Detector: FID

Volumen de inyección: 1µl

En la tabla 1 se detallan los compuestos analizados mediante la aplicación del Método A-1, los tiempos de retención, absolutos y relativos, y la resolución para cada uno de los componentes identificados.

Tabla 1. Resultados del análisis mediante aplicación del método A-1.

Compuesto analizado	T_R (min)	T_R relativo	Resolución
Isoamílicos	6.70	0.44	1.94
2,3-Butanodiol	8.65	0.57	1.96
Lactato de etilo	10.61	0.70	3.75
Ciclohexanol (P.I.)	15.10	1.00	2.36
Glicerina	19.20	1.27	—

Para los métodos utilizados en la cuantificación de los componentes volátiles presentes se ha calculado, el grado de reproducibilidad así como la relación entre el área correspondiente al patrón interno respecto al área del componente (Sp/Si) que se obtiene para cada compuesto cuantificado. A continuación se detallan los resultados obtenidos para el método A-1.

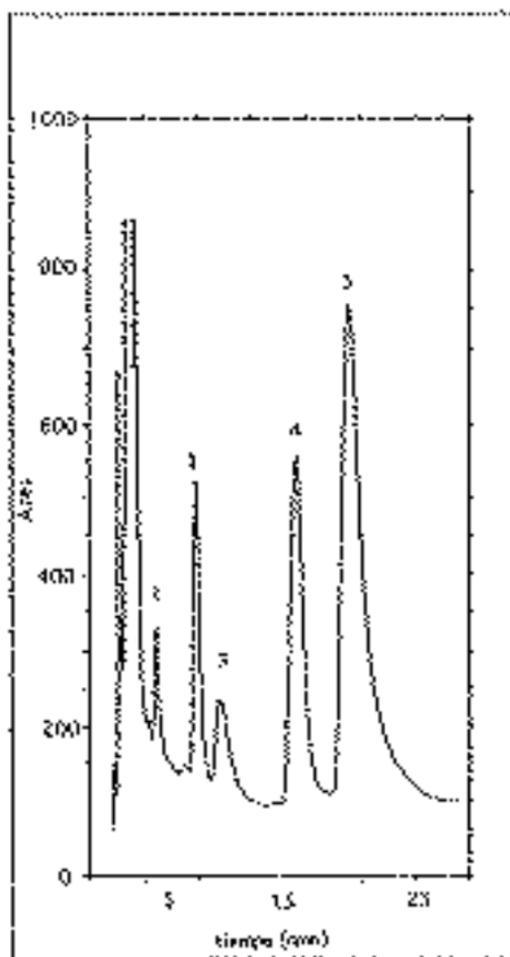
Tabla 2. Reproducibilidad en la relación de área Sp/Si , en el método A-1

Inyección n°	2,3-BuOH Sp/Si	Lact Etilo Sp/Si	Glicerina Sp/Si
1	1.9453	2.0312	0.2532
2	1.8939	2.0992	0.3647
3	1.7774	2.0787	0.2722
4	1.7979	2.1011	0.2380
5	1.8409	2.0850	0.2933

Se han calculado los coeficientes de variación, para los compuestos que se cuantificaron con este método

2,3-Butanodiol	CV %= 3.73
Lactato de Etilo	CV %= 1.36
Glicerina	CV %= 6.76

Figura 1. Cromatograma obtenido mediante el método A-1



Asignación de picos cromatográficos: **1.** alcoholes isoamílicos, **2.** 2,3-butanodiol, **3.** lactato de etilo, **4.** ciclohexanol (P.I.), **5.** glicerina.

Método B-1

Columna Carbowax 4 m x 1/8"

Gas portador: Nitrógeno

Caudal del gas portador: 30 ml/min

Temperatura inyector: 225 °C

Temperatura del horno: 77 °C

Análisis isoterma

Temperatura Detector: 250 °C

Detector FID

Volumen de inyección: 1µl

Esta metodología fue propuesta por Shinoara y Watanabe en 1979, para determinar los componentes volátiles mayoritarios en una serie de muestras de vino blanco, rosado y tinto de distintos países. Este método proporciona unos buenos resultados, así como unos tiempos de análisis razonables. Todo ello ha contribuido a que este método siga utilizándose actualmente (Del Campo, 1990).

Tabla 3. Resultados del análisis mediante aplicación del método B-1

Compuesto analizado	T _R (min)	T _R relativo	Resolución
Acetaldehído	2.03	0.13	3.52
Acetato de etilo	2.98	0.18	3.45
Metanol	3.96	0.24	3.80
Etanol	4.80	0.30	1.40
Propanol	8.23	0.51	8.65
Isobutanol	11.52	0.71	10.54
Butanol (P.I.)	16.16	1.00	12.62
Isoamílicos	23.23	1.44	—

El grado de reproducibilidad encontrado al aplicar este método en la determinación de los compuestos anteriormente indicados es el siguiente:

Tabla 4. Reproducibilidad para la relación de áreas Sp/Si, en el método B-1

Nº inyec Sp/Si	Acetald. Sp/Si	Acet Etilo Sp/Si	ProH Sp/Si	iBuOH Sp/Si	iAmílicos Sp/Si	EtOH
1	19.5619	12.6469	10.0385	8.4956	7.8952	0.0803
2	19.9321	12.0341	9.9743	8.4051	7.6125	0.0808
3	19.4620	12.7800	9.6538	8.2379	7.9247	0.0810
4	19.2300	12.9543	9.6281	8.1546	8.1277	0.0812
5	19.9756	12.0601	9.7012	8.2361	8.0342	0.0805

Se han obtenido los siguientes coeficientes de variación:

Acetaldehído CV %=1.94

Acetato de etilo CV %=3.38

Isopropanol CV %=1.68

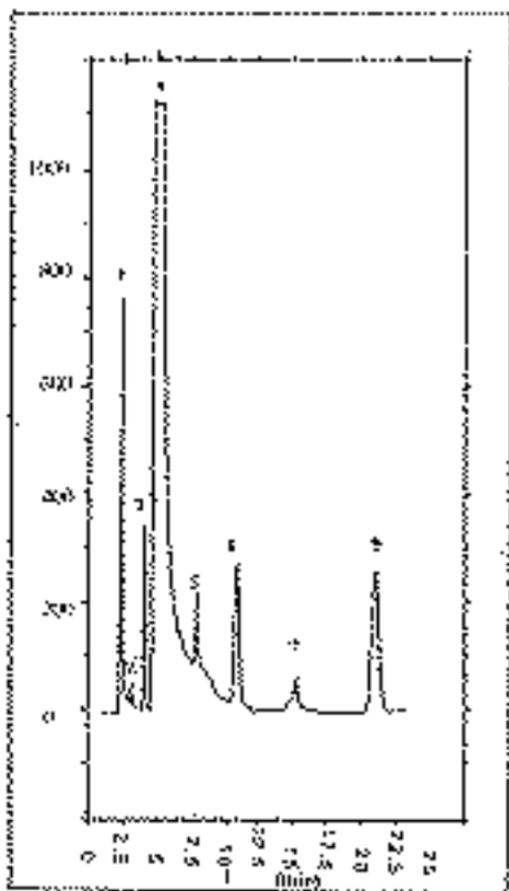
Propanol CV %=1.69

Alcoholes isoamílicos CV %= 2.45

Etanol CV %= 0.81

Esta reproducibilidad afectará no solamente al cálculo de los factores de integración sino también a la exactitud en la cuantificación de los compuestos de interés en las muestras.

Figura 2. Cromatograma obtenido mediante aplicación del método B-1



Asignación de picos cromatográficos: **1.** acetaldehído, **2.** acetato de etilo, **3.** metanol, **4.** propanol, **5.** isobutanol, **6.** butanol, **7.** alcoholes isoamílicos.

Resultados y discusión

A continuación se detallan los resultados obtenidos en una serie de muestras de Txakoli blanco de Bizkaia monovarietal. Los resultados se encuentran expresados en mg/l, salvo el contenido en etanol que se expresa en % vol.

Se ha calculado además de la concentración individual de cada uno de los componentes de interés (Tablas 5 y 6), una serie de relaciones tales como: relación entre el contenido

en etanol y el glicerol, relación entre el contenido de glicerol y 2,3-butanodiol (Tabla 7) y el contenido en alcoholes superiores (Tabla 8). Los valores obtenidos pueden dar información y diferencias significativas en algunos casos.

Tabla 5. Contenido de componentes volátiles en Txakoli blanco de Bizkaia monovarietal.

Variedad	AcOEt	Acetald	EtOH	PrOH	iBuOH	iAmilic
Albariño	36.50	43.34	11.25	25.31	66.20	216.37
Chadonnay	59.32	46.69	11.90	33.91	10.58	194.37
Pinot	61.96	48.90	10.19	34.89	69.40	104.52
Riesling	37.31	53.06	8.59	11.45	69.60	210.26
Sauvignon	71.70	62.25	11.25	25.17	75.58	152.44
Folle Blanche	28.67	69.66	10.67	39.18	64.86	131.18
Hondarrabi Z.	59.27	48.51	10.50	11.66	50.30	137.74

Tabla 6. Contenido en componentes volátiles (Cont.)

Variedad	2,3-BuOH	Lac. Etilo	Glicerol
Albariño	0.219	—	2.110
Chadonnay	0.215	—	3.423
Pinot	0.296	—	3.311
Riesling	0.134	—	4.210
Sauvignon	0.236	—	3.682
Folle Blanch	0.327	—	6.272
Hondar.Z.	0.117	—	2.092

Tabla 7. Relación entre el glicerol con el 2,3-butanodiol y el etanol

Variedad	Gli/2,3-BuOH	Gli/ etanol
Albariño	9.63	0.19
Chadonnay	15.91	0.29
Pinot	11.18	0.32
Riesling	31.42	0.49
Sauvignon	15.59	0.33
Folle B.	19.27	0.59
Hondar.Z.	17.86	0.18

Tabla 8. Contenido en alcoholes superiores

Nº de Muestra	Variedad	Alcoholes Superiores mg/l
1	Albariño	307.9
2	Chardonnay	239.2
3	Pinot	185.6
4	Riesling	291.3
5	Sauvignon Blanche	253.2
6	Folle Blanche	193.7
7	Hondarrabi Zuri	199.7
Valor medio	Σn	238.6

La determinación cualitativa y cuantitativa de los componentes volátiles mayoritarios se ha abordado mediante el empleo de la cromatografía de gases. La principal diferencia varietal que se ha observado hace referencia al contenido en alcoholes isoamílicos, encontrándose valores menores en las muestras de txakoli blanco elaboradas con la variedad Folle Blanche. Se ha observado un relación mayor entre el contenido en glicerol /etanol, así como entre glicerol/2,3-butanodiol.

Se han encontrado concentraciones mayores de alcoholes superiores en las muestras de txakoli blanco elaboradas con la variedad Albariño o mezclas en las que se encontraba presente esta variedad. El aumento en dichas son concentraciones se debe a la mayor presencia de alcoholes isoamílicos.

Se ha observado también una influencia del grado de sulfitado en la concentración de algunos componentes volátiles mediante el estudio de su matriz de correlación. Esto pone de manifiesto que el control de las técnicas de elaboración puede ser de gran importancia en las características organolépticas de un vino.

Agradecimientos

Las autoras desean expresar su agradecimiento a Eusko Ikaskuntza y al Servicio Agrícola del Departamento de Agricultura de la Diputación Foral de Bizkaia por la financiación del Proyecto y la aportación de las muestras necesarias para llevar a cabo el trabajo.

Bibliografía

- BERTRAND A. "Recherches sur l'analyse des vins par chromatographie en phase gazeuse", Tesis Doctoral, Universidad de Burdeos. 1975.
- DEL CAMPO G., IRASTORZA A., SANTACANA M. *Alimentaria*, 1990, Marzo, 69.
- MASUDA M., OKAWA E., NISHIMURA K., YUNOME H. *Agric. Biol. Chem.*, 1984, 48, 2707.
- MIRANDA-LOPEZ R., LIBBEY L.M., WATSON B. T., McDANIEL M. R. *Am. J. Enol. Vitic.*, 1992, 43(1), 90.

NOBLE A.C. *Vini d' Italia.* , **1982**, 11/12, 325.

PALACIOS A.T., VILA J., CALDERON F., CALLEJO M.J., COLOMO B., SUAREZ J.A. *Alimentaria*, **1995**, nº 264, 57.

RAPP A. y MANDERY H., *Experientia*, **1986**, 42, 857.

RAPP A. "Applications of glass capillary gas-chromatography", Ed. Academic Presss. New York. **1981**.

RAPP A. "Wine Analysis". Ed. Springer-Verlag. Berlin. **1988**.

RIBEREAU-GAYON J., PEYNAUD E., SUDRAUD P. Y RIBEREAU-GAYON R. "Sciences et techniques du vin". Ed. Dunod. Paris. **1976**.

SHINOARA T., WATANABE M. *Agr. Biol. Chem.* , **1979**, 40 (12), 2745.

SUAREZ J.A. *Alimentación equipos y tecnología*, **1995**,.nº2, 85.