



DETERMINACIÓN DE VOLÁTILES MAYORITARIOS EN VINOS TINTOS DE LAS ISLAS CANARIAS

**J.E. Conde González; M.A. Rodríguez Delgado;
J.J. Rodríguez Bencomo; H. Cabrera Valido; J.P. Pérez Trujillo.**

Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología.
Universidad de La Laguna.

C/ Transversal Francisco Sánchez, s/n. 38.201-La Laguna. Tenerife. España

INTRODUCCIÓN

El aroma es uno de los criterios más importantes de calidad de los vinos, de ahí que se haya realizado una considerable cantidad de investigación para el desarrollo de técnicas analíticas para caracterizar los compuestos que forman parte del aroma del vino. Para el estudio de estos compuestos se suele recurrir a la CG con detectores físicoquímicos.

Los compuestos aromáticos del vino se pueden generar en diferentes etapas pero el grupo más voluminoso de compuestos volátiles se produce durante la etapa de la fermentación alcohólica (ésteres, alcoholes, aldehidos, lactonas, ácidos, compuestos de azufre, etc). De estos compuestos, los alcoholes y los ésteres son los más importantes cuantitativamente. Los volátiles mayoritarios se encuentran en cantidades mínimas de 0.5-5.0 mg/l, los minoritarios en concentraciones inferiores.

Los volátiles mayoritarios, entre los que se encuentran el metanol, acetato de etilo y los alcoholes superiores, se determinan por inyección directa de la muestra previa adición de un estándar interno.

El origen de los alcoholes superiores (alcoholes con más de dos átomos de carbono, entre los que están el 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, isobutanol y alcoholes amílicos) en los vinos está ligado al metabolismo de los aminoácidos, y su biosíntesis puede tener lugar por dos vías diferentes: a) la vía catabólica a partir de los aminoácidos presentes en los mostos por descarboxilación después de la reducción de los α -cetoácidos obtenidos por transaminación (mecanismo de Ehrlich), y b) la vía anabólica de los aminoácidos a partir de α -cetoácidos correspondientes a partir de los azúcares (Dupuy *et al.*, 1967; Ayrapaa, 1971; Parfait y Jouret, 1975; Nykanen, 1986). Las proporciones relativas atribuidas a estas dos vías son del 25 % y 75 %, respectivamente (Bidan, 1975). La síntesis de alcoholes superiores depende de la cepa de levadura y es función de las concentraciones de nitrógeno amínico y de nitrógeno amoniacal. Para una cantidad fija de nitrógeno amoniacal, las concentraciones de alcoholes superiores aumentan al aumentar el contenido en azúcares.

La formación del propanol es más compleja porque está ligada al metabolismo azufrado de las levaduras y así su concentración está correlacionada negativamente con las del ácido sulfhídrico (Guidici y col., 1993; Large, 1996). A veces también puede formarse a partir del metabolismo de los azúcares (Henschke y Jiranek, 1992). El butanol proviene esencialmente de vías secundarias del metabolismo de los aminoácidos (Piendl, 1969). En general, los factores que favorecen el crecimiento celular de las levaduras estimulan la producción de alcoholes superiores.



Se sabe que el contenido de alcoholes superiores en los vinos es un condicionante de su calidad y depende de las técnicas de elaboración empleadas (Bertrand A., 1968). La cantidad media total en el vino es del orden de 400 – 500 mg/l, que se corresponde con la cantidad óptima para el aroma. Cantidades más elevadas implican defectos de aroma (Etievant, 1991; Dubois 1994). En general el olor de estos alcoholes se considera como desagradable, excepto el del 2-feniletanol (Simpson, 1979).

El metanol o alcohol metílico es tóxico, causando ceguera o incluso la muerte por las dificultades de eliminación de la sangre, ya que desaparece muy lentamente. Al ingerir dosis continuadas se alcanzan niveles de metanol tóxicos, con tropismo al nervio óptico y al cerebro. De ahí que el metanol sea un producto al que se le ha fijado un máximo de 500 mg/l en el vino. El metanol no se produce en la fermentación alcohólica, ya que no se encuentra fermentando un mosto artificial. Procede en su mayor parte de la actividad de la pectinasa que desmetila las pectinas naturales del hollejo y del raspón.

La mayor parte de los ésteres del vino se forman por acción de las levaduras y bacterias durante la fermentación del mosto, dependiendo de la especie de levadura, de la composición del medio, de la aireación y particularmente de la temperatura (Killiam y col, 1979). Los ésteres, en general, presentan olores considerados como agradables, principalmente afrutados (Ribereau-Gayon, 1978; Etievant, 1991)) a excepción del acetato de etilo cuyo olor, aunque no desagradable es mal percibido en el vino a cantidades superiores a los 200 mg/l (Amerine y Roessler, 1976; Ribereau-Gayon, 1978; Bertuccioli y col., 1983). Se constata un aumento de la concentración de acetato de etilo por fermentaciones en caliente y actividad microbiológica incontrolada.

Las concentraciones consideradas como normales, según la bibliografía, para estos compuestos en los vinos tintos son las siguientes: acetato de etilo, 41-180 mg/l; metanol, 43-320 mg/l; 1-propanol, 11-68 mg/l; 1-butanol, 0,5-2,3 mg/l; isobutanol, 9-148 mg/l y alcoholes amílicos, 67-640 mg/l

El objetivo del presente estudio es la puesta a punto de un método para determinar los volátiles mayoritarios del vino (acetaldehído, acetato de etilo, metanol y alcoholes superiores) mediante cromatografía de gases capilar y aplicarlo a la determinación de estos compuestos en vinos tintos de las diferentes denominaciones de origen de las Islas Canarias.

MATERIAL Y MÉTODOS

Instrumental. Para realizar el estudio se ha utilizado un cromatógrafo de gases Varian 3400 equipado con un muestreador automático Varian 8200 standalone, inyector split-splitless Varian 1075, columna SGL-20 y detector de ionización de llama.

I

Reactivos. Todos los productos químicos utilizados son de calidad analítica de la casa Fluka. Como patrones se usaron acetato de etilo, metanol, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, isobutanol, alcoholes amílicos y 4-metil-2-pentanol como estándar interno.

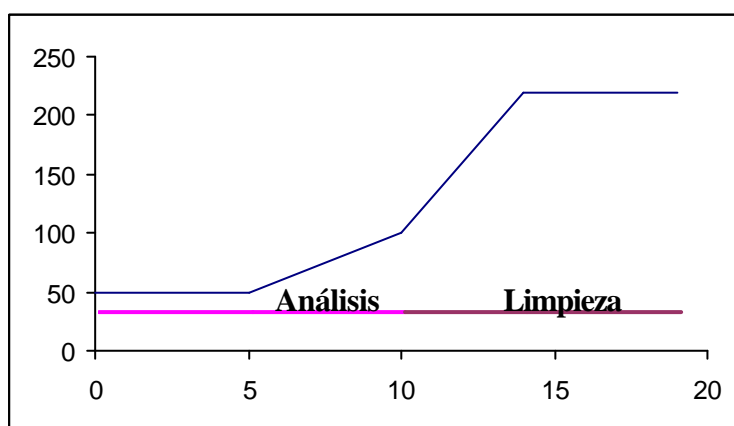


Como control de calidad se utilizó un vino de referencia con las siguientes cantidades certificadas:

MATERIAL DE REFERENCIA	
Compuesto	Certificado (mg/l)
Metanol	100
2-butanol	20
1-propanol	50
Isobutanol	50
Butanol	30
Amílicos	200

Columna capilar. La columna utilizada ha sido una SGL-20 que posee una fase estacionaria polietilenglicol, con una longitud de 30m, 0,25 de diámetro interno, y 0,25 µm de espesor.

Condiciones cromatográficas. La inyección se realizó en modo split con una relación de split 1:60 y a una temperatura de 250 °C. El programa de temperatura de columna consta de una isoterma inicial de 50°C durante 5 minutos y una rampa de 10°C/min hasta una temperatura final de 100°C. A continuación se inicia una nueva rampa de temperaturas a 30°C/min hasta 220 °C para eluir otros compuestos presentes en las muestras. El detector se mantiene a 300°C durante todo el análisis. Una representación gráfica de las condiciones cromatográficas se recoge en la siguiente figura.



A las muestras de vino a analizar se les intercalaban muestras del vino de referencia como control de calidad para asegurar un análisis cuantitativo exacto. Todos los análisis se realizaron por duplicado tomando como resultado la media de los dos análisis. Los picos cromatográficos se identificaron comparando los tiempos de retención con los de los compuestos estándares. El análisis cuantitativo se realizó mediante calibración interna.

Muestras. Se han analizado un total de 91 vinos tintos embotellados pertenecientes a la cosecha de 1.999, suministrados por los Consejos Reguladores de diferentes denominaciones de origen de las Islas Canarias. La distribución de muestras es la siguiente: Abona (5); Valle de Güímar (9); Valle de La Orotava (11); Tacoronte-Acentejo (18); Ycoden-Daute-Isora (11); Lanzarote (22); Monte Lentiscal (6) y Vinos de



la Tierra de Gran Canaria (9). Las muestras se inyectan sin ningún tipo de tratamiento previo excepto la adición de un patrón interno (4-metil-2-pentanol).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la figura 1 se muestra el cromatograma correspondiente a una muestra de vino tinto y en él puede apreciarse que la separación de todos los compuestos es buena excepto la de los alcoholes amílicos que sólo salen parcialmente resueltos. Este solapamiento no presenta mayor inconveniente dado que la gran mayoría de los métodos aplicados suelen cuantificar la mezcla conjunta de estos dos compuestos, ya que los mismos no tienen diferentes propiedades químicas o sensoriales. El orden de elución de los compuestos estudiados es el siguiente: acetato de etilo, metanol, 1-propanol, Isobutanol, 4-metil-2-pentanol (estándar interno), 2-metil-1-butanol y 3-metil-1-butanol. No se encontraron problemas con la estabilidad de la línea base en ningún cromatograma.

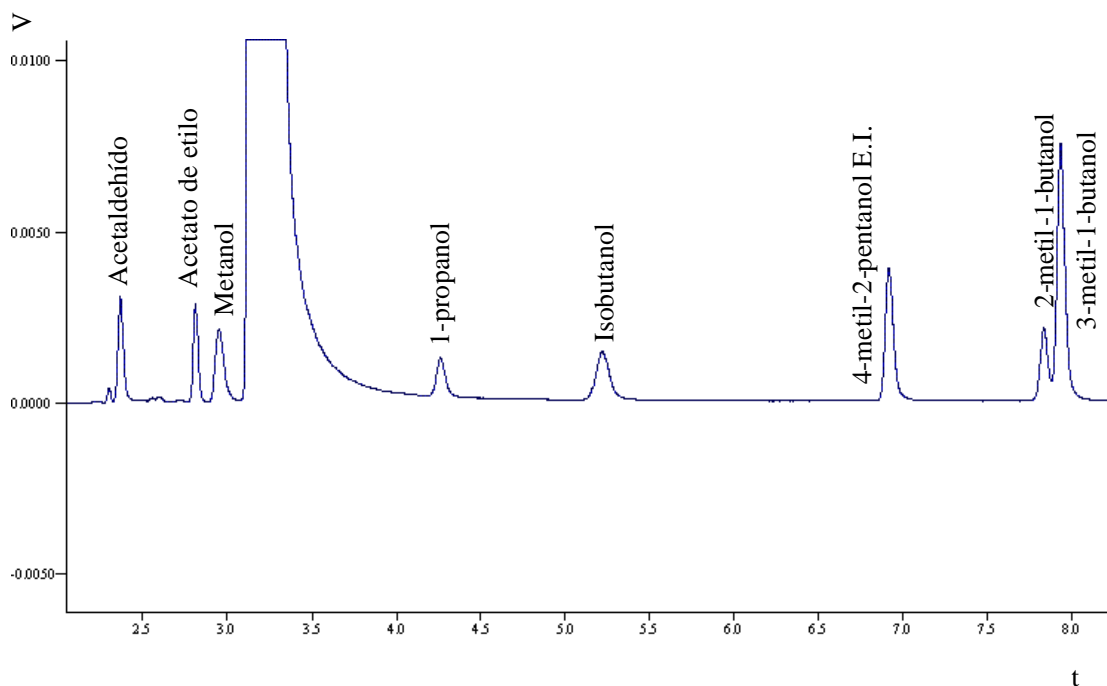


Figura 1. Cromatograma de una muestra de vino tinto.

Para la aplicación de este método se prepararon las correspondientes curvas de calibrado para cada uno de los compuestos utilizando el método del patrón interno. Las ecuaciones resultantes de dicho calibrado se muestran a continuación.



Parámetros básicos del calibrado		
Acetato de etilo	0.9971	$y = 6.48 e-3x - 5.28 e-3$
Metanol	0.9974	$y = 7.14 e-3x - 1.56 e-2$
2-butanol	0.9983	$y = 1.22 e-2x - 4.21 e-3$
1-propanol	0.9987	$y = 1.16 e-2x - 5.91 e-3$
Amilicos	0.9996	$y = 1.33 e-2x + 1.23 e-2$
Butanol	0.9957	$y = 1.31 e-2x - 2.35 e-4$
Isobutanol	0.9993	$y = 1.31 e-2x + 3.40 e-4$

Todos los calibrados presentan coeficientes de correlación superiores a 0.9950.

Para validar el método analítico se ha utilizado un material de referencia que tiene certificado los alcoholes superiores y el metanol. En la tabla 1 se recogen los valores certificados del material de referencia y las cantidades obtenidas por nosotros aplicando el método puesto a punto. Como puede observarse en dicha tabla los valores determinados coinciden con los certificados quedando, por tanto, validado el método puesto a punto en nuestro laboratorio.

Compuesto	Valor certificado	Valor hallado
Metanol	100±5	104±5
2-butanol	20±1	19±1
1-propanol	50±2,5	49±2
Isobutanol	50±2,5	50±2
Butanol	30±1,5	29±1
Amilicos	200±10	200±7

Tabla1. Valores certificados del material de referencia y valores determinados por el método puesto a punto por nosotros (mg/l).

Comprobada la validez del método puesto a punto se pasó a aplicarlo a las muestras de vino tinto de las diferentes denominaciones de origen.

En las tablas 2, 3 y 4 se presentan los resultados obtenidos. Así la tabla 2 recoge el valor medio, desviación estándar, valor mínimo y valor máximo para las muestras procedentes de las diferentes islas, y del conjunto de islas. En las tablas 3 y 4 se recogen los mismos parámetros para las diferentes denominaciones de origen de Tenerife y de Gran Canaria, respectivamente.

En general los resultados obtenidos pueden considerarse como normales al ser concordantes con los descritos en la bibliografía para vinos tintos.

Si analizamos los resultados obtenidos por islas (Tabla 2) se observa que los vinos de Lanzarote tienen un contenido medio más alto en acetato de etilo y un menor contenido en metanol y en alcoholes superiores. También se observa que los vinos de Tenerife tienen un contenido medio ligeramente superior en metanol y alcoholes superiores a los de Gran Canaria.

Analizando los contenidos de estos volátiles en las diferentes denominaciones de origen de Tenerife (Tabla 3) se observa que los vinos del Valle de La Orotava presentan un contenido medio en acetato de etilo algo inferior al resto de denominaciones de

origen. En metanol son los vinos del Valle de Güimar los que presentan un contenido ligeramente superior y los de Ycoden-Daute-Isora un contenido ligeramente inferior respecto a las otras denominaciones de origen. En relación con los alcoholes superiores las mayores cantidades se encuentran en los vinos del Valle de La Orotava.

Por último comparando los datos correspondientes a la isla de Gran Canaria (Tabla 4) se observa que la denominaciones de origen Monte Lentiscal tiene contenidos ligeramente inferiores en acetato de etilo y en metanol, y ligeramente superiores en alcoholes superiores a los vinos de la tierra de Gran Canaria. También se observa que estos últimos tienen un rango de variación más amplio que los primeros, lo cual podemos considerar como normal dadas las diferencias de ámbito geográfico de cada una de las denominaciones.



Tabla 2.- Parámetros estadísticos por islas (mg/l).

	Metanol	Acetato de etilo	Alcoholes Amílicos	1-butanol	Isobutanol	1-propanol	Alcoholes superiores
Isla de Tenerife							
Media	181,0	62,9	280,3	1,52	58,1	31,5	371,5
Desv. est.	30,6	21,3	57,1	1,18	13,6	12,1	59,2
Mínimo	112,0	37,9	183,5	0,00	33,1	12,1	257,9
Máximo	239,4	157,6	442,6	8,65	104,7	65,2	538,0
Isla de Lanzarote							
Media	135,2	82,2	202,2	1,11	44,1	31,4	278,8
Desv. est.	55,3	22,8	61,0	1,19	18,0	14,3	74,3
Mínimo	55,9	47,6	130,7	0,00	20,2	16,6	184,3
Máximo	247,7	143,8	376,0	5,31	92,5	72,4	485,1
Isla de Gran Canaria							
Media	151,2	64,2	253,6	1,69	59,5	25,9	340,9
Desv. est.	40,5	23,2	72,4	1,01	19,3	9,1	78,6
Mínimo	79,4	37,5	158,7	0,00	33,5	11,1	250,4
Máximo	224,4	124,9	426,6	4,28	102,2	41,6	512,6
Todas las islas conjuntamente							
Media	166,3	68,0	262,9	1,57	56,3	29,7	350,6
Desv. est.	38,8	22,7	64,1	1,05	15,8	12,7	69,9
Mínimo	74,0	37,8	132,2	0,70	27,1	11,1	204,5
Máximo	247,7	157,5	442,6	8,65	104,6	72,3	537,9



**Tabla 3.- Parámetros estadísticos por denominaciones
de origen en la isla de Tenerife (mg/l).**

	Metanol	Acetato de etilo	Alcoholes Amílicos	1-butanol	Isobutanol	1-propanol	Alcoholes superiores
Abona							
Media	175,1	63,5	242,0	1,29	53,0	42,5	338,8
Desv. est.	34,3	12,9	61,4	0,16	11,2	13,4	60,1
Mínimo	141,2	50,0	183,5	1,04	41,1	25,8	277,3
Máximo	232,2	77,3	336,8	1,45	68,5	62,4	432,5
Valle de Guimar							
Media	206,2	63,5	253,3	0,94	63,8	30,0	348,0
Desv. est.	23,3	30,2	48,4	0,45	18,1	4,7	62,0
Mínimo	179,5	43,9	190,7	0,00	52,1	21,6	267,7
Máximo	239,4	136,1	332,9	1,52	104,7	35,2	463,0
Valle de la Orotava							
Media	184,6	55,5	326,5	1,53	55,8	30,7	414,6
Desv. est.	26,5	10,1	53,9	0,72	6,8	12,4	57,9
Mínimo	145,3	37,9	264,0	0,00	44,6	19,2	347,3
Máximo	222,3	73,0	442,6	2,87	64,9	57,6	538,0
Tacoronte-Acentejo							
Media	181,2	67,5	290,5	1,95	61,7	25,7	379,9
Desv. est.	32,3	25,2	45,3	1,73	13,9	8,2	51,1
Mínimo	112,0	43,2	228,8	0,84	35,2	12,1	302,7
Máximo	234,1	157,6	374,2	8,65	93,4	46,1	463,2
Icoden-Daute-Isora							
Media	161,4	62,0	254,6	1,34	52,6	38,0	346,5
Desv. est.	24,2	19,6	52,8	0,93	14,5	15,3	49,3
Mínimo	137,8	42,5	195,8	0,00	33,1	22,4	257,9
Máximo	201,2	115,4	351,4	3,44	84,3	65,2	431,5



**Tabla 4.- Parámetros estadísticos
por denominaciones de origen en la isla de Gran Canaria (mg/l).**

	Metanol	Acetato de etilo	Alcoholes amílicos	1-butanol	Isobutanol	1-propanol	Alcoholes superiores
Monte del Lentiscal							
Media	136,2	61,0	272,5	1,17	65,0	19,1	357,7
Desv. est.	41,4	17,5	49,6	0,65	18,5	4,1	59,9
Mínimo	79,5	37,5	217,6	0,00	48,9	11,1	301,1
Máximo	174,0	85,1	343,5	1,84	98,6	21,9	461,8
Gran Canaria							
Media	161,3	66,3	241,1	2,04	56,0	30,5	329,7
Desv. est.	39,1	27,1	84,9	1,10	20,2	8,8	90,7
Mínimo	83,0	37,8	158,7	0,84	33,6	14,1	250,4
Máximo	224,5	124,9	426,7	4,28	102,3	41,7	512,6

Tabla 5.- Resumen de los parámetros estadísticos del conjunto de muestras.

	Metanol	Acetato de etilo	Alcoholes amílicos	1-butanol	Isobutanol	1-propanol	Alcoholes superiores
Media	166,3	68,0	262,9	1,57	56,3	29,7	350,6
Desv. est.	38,8	22,7	64,1	1,05	15,8	12,7	69,9
Mínimo	74,0	37,8	132,2	0,70	27,1	11,1	204,5
Máximo	247,7	157,5	442,6	8,65	104,6	72,3	537,9



AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la colaboración prestada por los Consejos Reguladores por el suministro de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

- Etievant, P. Wine, in H. Maarse. 1991. Volatile compounds in food and beverages. Marcel Dekker. New York
- Giudici, P. Zambonelli, C. Kunkee, RE. 1993. Am. J. Enol. Vitic., 44, 17-21.
- Henschke, PA., Jiranek, V. 1992. Wine, Microbiology and Biotechnology. Harwood Academic Publishers. Sydney
- Amerine, MA, Roessler, EB. 1976. Wines. Their sensory evaluation. Freeman. New York.
- Ayrapaa, T. 1971. On the formation of higher alcohols by yeast and its dependence on nitrogenous nutrients. Kem. Tidskr., 83, 79-90
- Bertrand A. Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour le dosage des constituants volatils du vin. Conn. Vin., 3, 179, (1968).
- Bertuccioli, M., Daddi, C., Sensidoni, A. 1983. Sensory quality in foods and beverages. Definition, measurement and control. Society Chemical Industry. London.
- Bidan, P. 1975. Bull. OIV, 48, 842-867
- Dupuy P., Morfaux J. N., Usciati M. Fermentations et vinifications. 2^o Symposium National des Recherches Agronomiques. Athenes, 98, (1973).
- Killiam, E. Y Ough, C.S. 1979, Am. J. Enol. Vitic., 30 (4), 301-5.
- Large, PJ. 1986. Yeast, 2, 1-34
- Nykanen, L. 1986. Am. J. Enol. Vitic., 37, 84-96.
- Parfait, A., Jouret, C. 1975. Ann. Technol. Agric. 24, 421-36
- Piendl, A. 1969. Brauwissenschaft, 22, 175
- Ribereau-Gayon, P. Wine Flavor, in: Charalambous G., Inglette, GE (1978) Flavor of foods and beverages. Chemistry and technology. Academic Press. New York.