

УДК 663.2

И. М. ПОЧИЦКАЯ, В. П. СУБАЧ, В. Л. РОСЛИК

ОЦЕНКА КАЧЕСТВЕННОГО СОСТАВА ВИНОГРАДНЫХ ВИН И ВИНМАТЕРИАЛОВ ПО КОМПОНЕНТНОМУ ПРОФИЛЮ АРОМАТООБРАЗУЮЩИХ СОЕДИНЕНИЙ

*Научно-практический центр НАН Беларуси по продовольствию, Минск, Республика Беларусь,
e-mail: irynapt@yandex.ru*

(Поступила в редакцию 28.06.2012)

Введение. Идентификация продуктов питания неразрывно связана с определением их качества. Качество пищевых продуктов характеризуется такими показателями, как их запах, вкус, цвет, которые в настоящее время определяются органолептически опытными экспертами-дегустаторами. Органолептические показатели зависят от химического состава пищевых продуктов, от наличия в них тех или иных аромато-, вкусо- и цветообразующих соединений, создающих определенные букеты. Оценку качества продуктов и идентификацию их подлинности можно свести таким образом к идентификации и определению содержания химических соединений. Однако идентификация и количественное определение содержания всех компонентов запаха, вкуса и цвета практически невозможны из-за их большого качественного разнообразия и количественного содержания. В научной литературе описываются два способа решения этой проблемы. Один из способов состоит в том, чтобы среди всего многообразия компонентов запаха, вкуса и цвета найти такие специфичные для определенных продуктов соединения (так называемые маркеры качества), которые можно определять количественно, и по ним делать заключение о качестве продукции и ее подлинности [1]. Другой способ заключается в создании и использовании данных по какому-либо суммарному, не обязательно идентифицированному набору химических показателей (по спектральному или хроматографическому образу или профилю), характерному только для определенного вида продукции [2]. Сравнение такого профиля качественного продукта с аналогичным профилем исследуемого продукта дает возможность оценить степень соответствия их качества.

Вина относятся к особенно часто фальсифицируемым алкогольным напиткам. Одним из способов подделки является добавление ароматизаторов с целью улучшения аромата. В качестве ароматизаторов могут быть использованы различные искусственные смеси или синтетические вещества, например, «энантовый эфир» (смесь этиловых эфиров средних кислот), ароматизаторы «Изабелла», «Виноград», «Мускат», а также многие другие винные и фруктовые ароматизаторы. Этот способ фальсификации может быть установлен анализом состава летучих соединений вин методом ГХ и ГХ/МС.

Большое значение при анализе летучих соединений виноградных вин имеет пробоподготовка. Авторы работ [1, 2] проводили исследование компонентного состава вин с использованием парофазного пробоотборника или предварительной отгонки летучей фракции. Однако метод статического парофазного пробоотбора не обеспечивает необходимую чувствительность метода для низких концентраций (мкг/л) компонентов, а способ отгонки летучих фракций трудоемок и плохо воспроизводим.

В работе [3] проведено сравнение трех методов экстракции летучих ароматообразующих компонентов из образцов игристого вина для последующего анализа экстрактов методом хрома-

то-масс-спектрометрии. При анализе использовались как неполярные, так и полярные колонки. Было показано, что для экстракции полярных соединений (спирты, кислоты) предпочтительнее метод отгонки, для неполярных соединений наиболее удобным, скоростным и не требующим расхода растворителей оказался метод твердофазной микроэкстракции, при этом авторами этим методом было выделено около 30 соединений различной полярности. В работах [4–9] также для анализа компонентов в продуктах питания применяли метод твердофазной микроэкстракции, в том числе и для изучения соединений, обуславливающих аромат вин.

Нами на практике были опробованы такие методы выделения летучих компонентов, как жидкостная экстракция, статическая газофазная экстракция, динамическая газофазная экстракция, микротвердофазная экстракция. По результатам работы сделан вывод, что для качественной и количественной оценки содержания ароматообразующих компонентов больше подходит метод твердофазной микроэкстракции, который не требует большого расхода растворителей, затрат времени и обеспечивает многокомпонентность анализа. Для точных воспроизводимых анализов отдельных компонентов и разработки аттестованных методик лучше подходит метод статической газофазной экстракции.

В наших исследованиях для изучения ароматообразующих компонентов вин использовалась неполярная колонка. Выбор обусловлен тем, что летучими ароматообразующими соединениями являются неполярные или малополярные соединения, которые хорошо разделяются на неполярной колонке. Кроме того, содержание неполярных соединений в газовой фазе над водноспиртовой жидкостью значительно большее, чем полярных соединений, что обеспечивает лучшую чувствительность определения неполярных соединений.

Цель настоящей работы – исследование компонентного состава ароматообразующих веществ некоторых виноградных вин и виноматериалов методом хромато-масс-спектрометрии для выявления таких наборов компонентов (компонентных профилей), которые могут быть использованы для определения качества этих продуктов и идентификации их подлинности.

Объекты и методы исследований. Исследования проводили в Республиканском контрольно-испытательном комплексе по качеству и безопасности продуктов питания РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по продовольствию».

Объектами исследований служили следующие образцы: виноградные вина и виноматериалы «Изабелла» (Молдова), виноградное ароматизованное вино «Кадарка Рубин» (Республика Беларусь), игристые вина «Brut» и «Moscato» (Италия).

Компонентный состав виноградных вин и виноматериалов исследовали методом газовой хроматографии с масс-селективным детектированием с использованием системы Agilent Technologies, разделение компонентов проводили на капиллярной колонке.

Пробоподготовку образцов к газохроматографическому анализу выполняли с помощью твердофазного микроэкстрактора фирмы Supelco™, который представляет собой шприц, внутри которого помещается волокно с адсорбентом. Пробу вина или виноматериала помещали во флакон и закрывали крышкой с резиновой мембраной. Затем флакон с образцом помещали в термостат, нагретый до 40 °С, и выдерживали 15 мин. для установления постоянной температуры и равновесного состояния между водно-спиртовой и паровоздушной фазой.

Для десорбции компонентов шприц твердофазного микроэкстрактора вводили через мембрану в систему ввода хромато-масс-спектрометра, выдерживали в системе ввода 5 мин. до окончания десорбции компонентов. Регистрацию хроматограммы в режиме полного ионного тока¹ начинали после окончания десорбции и 2-минутной задержки для исключения из хроматограммы пика этанола и некоторых других легколетучих компонентов. После регистрации хроматограмму интегрировали для определения времен удерживания и площадей пиков. Рассчитывали сум-

¹ Хроматограмма в режиме полного ионного тока – это график зависимости величины сигнала масс-детектора, который представляет собой сумму интенсивностей всех пиков масс-спектра, от времени его регистрации, отсчитываемого от старта хроматограммы, при этом все полные масс-спектры записываются отдельно в файл данных и доступны для их обработки.

марную площадь всех идентифицированных пиков и для каждого компонента относительную площадь пика (относительно суммы площадей идентифицированных пиков). По времени удерживания выбирали точки на хроматограмме, по которым восстанавливали экспериментальные масс-спектры из файла данных для данной хроматограммы. Экспериментальные масс-спектры использовали для поиска и их сравнения со спектрами библиотеки масс-спектров и их структурных формул NIST05a. L. По совпадению экспериментальных спектров с библиотечными (в пределах 5–10 %) осуществляли идентификацию соединений в паровоздушном пространстве анализируемой пробы, а по относительным площадям пиков хроматограммы оценивали относительное содержание идентифицированных соединений.

Результаты и их обсуждение. Результаты идентификации и определения относительного содержания компонентов для исследованных вин и виноматериалов приведены в таблице. В таблицу не включены алифатические углеводороды (от декана до гексадекана), содержание которых плохо воспроизводится, а также соединения, идентификация которых по их масс-спектру не однозначна из-за отсутствия таких соединений в библиотеке или же при наличии нескольких соединений с близкими масс-спектрами. Не определяли также легколетучие соединения вплоть до 3-метилбутилацетата, которые элюировали до начала старта хроматограммы. При идентификации учитывали также относительный порядок элюирования соединений из колонки и результаты аналогичных работ других авторов, опубликованных в литературе. Структурные формулы идентифицированных соединений приведены на рис. 1. Соединения в таблице и на рис. 1 расположены в порядке их выхода на хроматограмме, номера соединений совпадают.

По содержанию компонентов аромата образцы вин и виноматериалов можно условно разделить на две группы: I – образцы с высоким содержанием сложных эфиров (**Изб1**, **Bru** и **Mos**) и II – образцы с большим содержанием фенилэтанола (**Кад**, **Изб2**, **Изб3**, **Изб4**).

Т а б л и ц а 1. Результаты идентификации и определения относительного содержания ароматообразующих компонентов виноградных вин и виноматериалов, %

№ п/п	Название соединения	RT	Кад	Изб1	Изб2	Изб3	Изб4	Bru	Mos
1	Изо-амилацетат	5,79	1,05	–	–	2,68	6,28	0,94	0,96
2	Этилкапроат	8,86	4,52	0,66	26,42	8,62	11,18	8,10	8,46
3	Гексилацетат	9,11	0,45	–	–	–	1,80	0,75	2,60
4	Этилэнантат	10,71	0,07	–	–	–	1,22	–	–
5	Фенилэтанол	11,07	38,55	7,74	10,26	49,53	52,22	0,82	0,86
6	2,3-гидрокси-4Н-пиран -4-он	11,58	–	–	3,04	–	7,59	–	–
7	Диэтилсукцинат	12,11	1,80	7,45	5,91	14,43	2,83	0,50	0,15
8	Этилкаприлат	12,37	43,39	28,01	18,18	11,58	6,66	52,90	42,71
9	5-гидрокси-2-фурфурол	12,88	–	–	24,65	–	6,45	–	–
10	Этилат фенил-уксусной кислоты	13,18	0,21	0,56	0,30	–	0,26	0,01	0,02
11	Ацетат 2-фенил этанола	13,37	1,18	–	–	0,79	0,81	0,36	0,77
12	Диэтилмалат	13,46	–	–	–	0,16	–	0,03	0,02
13	Ионон	13,81	0,43	1,47	2,02	1,04	1,09	0,06	0,49
14	Метилантранилат	14,66	–	1,96	0,16	1,43	–	–	0,03
15	1,2-дигидро 1,1,6-триметилнафталин	14,86	0,05	0,85	0,09	–	0,03	0,06	0,04
16	Этил-9-деценоат	15,12	0,17	0,84	0,84	–	–	1,26	–
17	Этилкапринат	15,22	7,90	40,69	4,30	5,68	1,48	33,98	42,35
18	Этиллауринат	17,71	0,16	2,81	–	0,64	–	0,11	0,45
19	Этилмиристат	19,94	–	0,93	–	0,80	–	0,02	0,03
20	Этилпальмитат	21,98	0,06	2,87	–	–	0,07	0,09	0,10
	Сумма эфиров	–	57,61	75,96	48,90	32,62	28,71	96,90	97,65

П р и м е ч а н и е: **RT** – время удерживания пиков соединений, **Кад** – вино «Кадарка рубин» (Республика Беларусь), **Изб1** – виноматериал виноградный обработанный «Изабелла» (Молдова), **Изб2** – виноматериал «Изабелла» (крепкое) (Молдова), **Изб3** – виноматериал «Изабелла десерт» (Молдова), **Изб4** – вино «Изабелла» (Молдова), **Bru** и **Mos** – игристые вина «Brut» и «Moscato» (Италия).

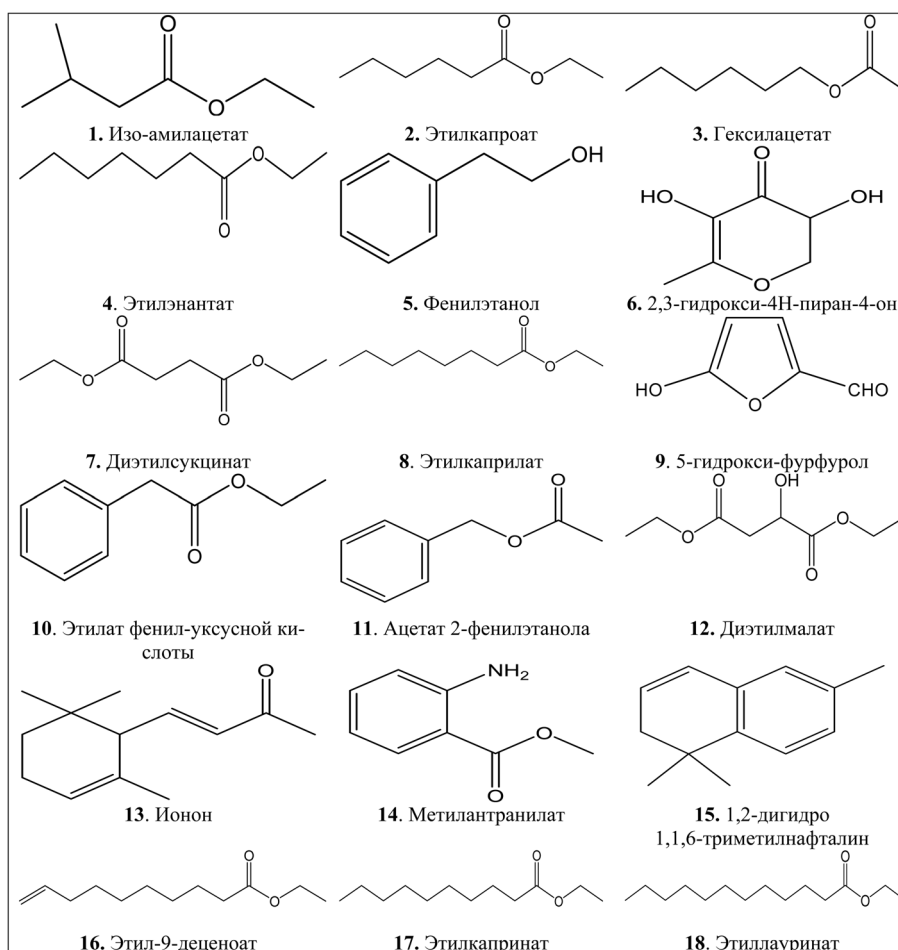


Рис 1. Структурные формулы основных соединений, идентифицированных в наджидкостной паровоздушной фазе виноградных вин и виноматериалов

Наиболее интенсивными пиками в хроматограммах образцов I группы вин и виноматериалов являются пики этиловых эфиров алифатических кислот, особенно пики этилcapрилата (8) и этилcapрината (17). Так, в хроматограмме образца **Изб1** пик этилcapрилата составляет 28 %, а пик этилcapрината – почти 41 %. В хроматограмме образца **Bru** пик этилcapрилата составляет 52 %, пик этилcapрината – 34 %, а в хроматограмме образца **Mos** – почти 43 и 42 % соответственно. Эти соединения придают винам фруктовый запах с ананасным оттенком. В образцах II группы вин относительное содержание этиловых эфиров алифатических кислот значительно меньше (см. таблицу). Важным показателем в этом отношении может быть суммарное содержание этиловых эфиров алифатических кислот. Для II группы вин этот показатель составляет менее 50 %, а для образцов I группы он находится в пределах 76 % (**Изб1**) – 97 % (**Mos**). Суммарное содержание этиловых эфиров алифатических кислот может быть критерием для оценки качества аромата виноградных вин. В работах [1, 2] такой критерий рекомендован для оценки качества других спиртных напитков.

В хроматограммах всех образцов наблюдался пик 2-фенилэтанола, который имеет цветочный запах с розовым оттенком. Пик этого соединения наблюдался также и другими авторами [1–3]. При этом в образцах I группы вин его содержание незначительно (менее 1 % в **Bru** и **Mos**, около 8 % в хроматограмме **Изб1**). В хроматограммах II группы вин содержание этого компонента достигает 50 % и более (образцы **Изб3** и **Изб4**). По-видимому, относительное содержание этого компонента можно считать критерием цветочного оттенка запаха виноградного вина.

Содержание других эфирных компонентов во всех образцах вин незначительно, особенно это касается высокомолекулярных эфиров (18–20). На практике эти компоненты могут быть исполь-

зованы для подтверждения подлинности вин, поскольку при искусственном приготовлении или разбавлении вина водой (наиболее распространенный способ фальсификации алкогольных напитков в странах СНГ) пики этих соединений могут оказаться ниже порога их детектирования и свидетельствовать о низком качестве продуктов.

Этиловый эфир ненасыщенной кислоты этил-9-деценоат (16) был обнаружен в игристых винах, что подтверждается данными других исследователей [3, 10]. В наибольшем количестве это соединение было обнаружено в игристом вине **Bru**.

Из этиловых эфиров двухосновных кислот во всех хроматограммах были обнаружены пики диэтилсукцината (7), а в хроматограммах **Изб1**, **Bru** и **Mos** были пики диэтилового эфира яблочной кислоты – диэтилмалата (12). По мнению авторов публикаций [3, 11], диэтилсукцинат образуется в постферментативный период в процессе старения вина при контакте с остатком от второй ферментации. Концентрация диэтилсукцината увеличивается при выдерживании, и это соединение может служить маркером эволюции вина в процессе хранения. Для вина **Изб3** содержание этого соединения составляет более 14 %, что является аномально высоким для маркера возраста. В то же время в хроматограммах вин (**Bru** и **Mos**) его содержание не превышает 0,5 %.

Другим маркером возраста вина, по мнению авторов работ [3, 10, 11], является 1,2-дигидро 1,1,6-триметилнафталин (ТМН). Это соединение было обнаружено во всех исследованных образцах, кроме **Изб3**, при этом его содержание в вине **Изб1** было относительно большим (0,85 %) в то время как в других винах (**Bru** и **Mos**) I группы содержание ТМН было менее 0,1 %.

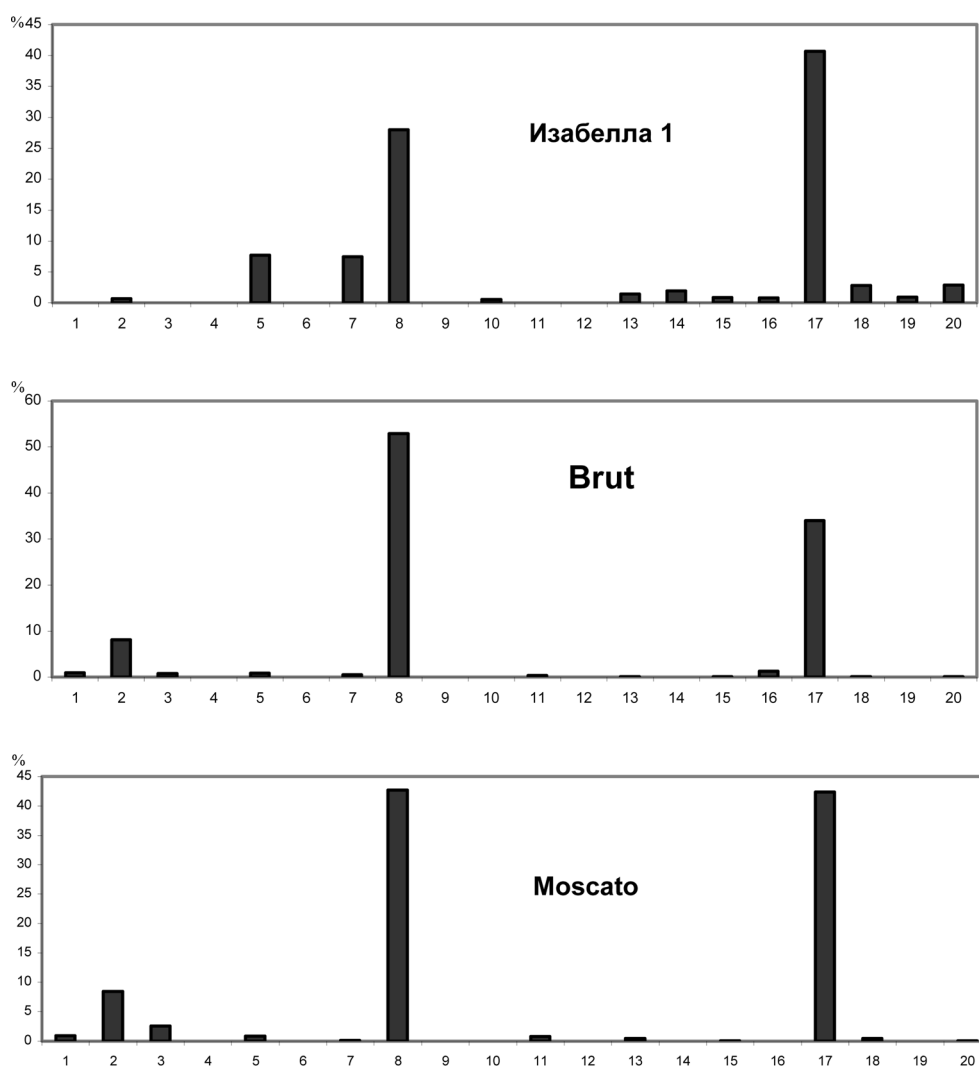


Рис. 2. Компонентные профили ароматообразующих соединений образцов **Изб1**, **Bru** и **Mos** (группа I)

В хроматограммах некоторых образцов вина, особенно сорта Изабелла, наблюдались пики метилантранилата (**14**, соединения, придающего винограду «Изабелла» специфический земляничный аромат) и иона (13). Метилантранилат часто используют в качестве искусственной добавки для усиления натурального аромата. Ион образуется в процессе ферментации вина из каротиноидов, обладает запахом кедровой хвои.

В некоторых образцах вина «Изабелла» наблюдались пики фурановых соединений, в частности гидроксифурфуrolа (**9**). Р. Шнайдером [12] показано, что фурфуролы образуются в процессе биологического старения сладкого вина из сахара по реакции Майларда. По-видимому, аналогично образуется и соединение класса пиранов (**6**).

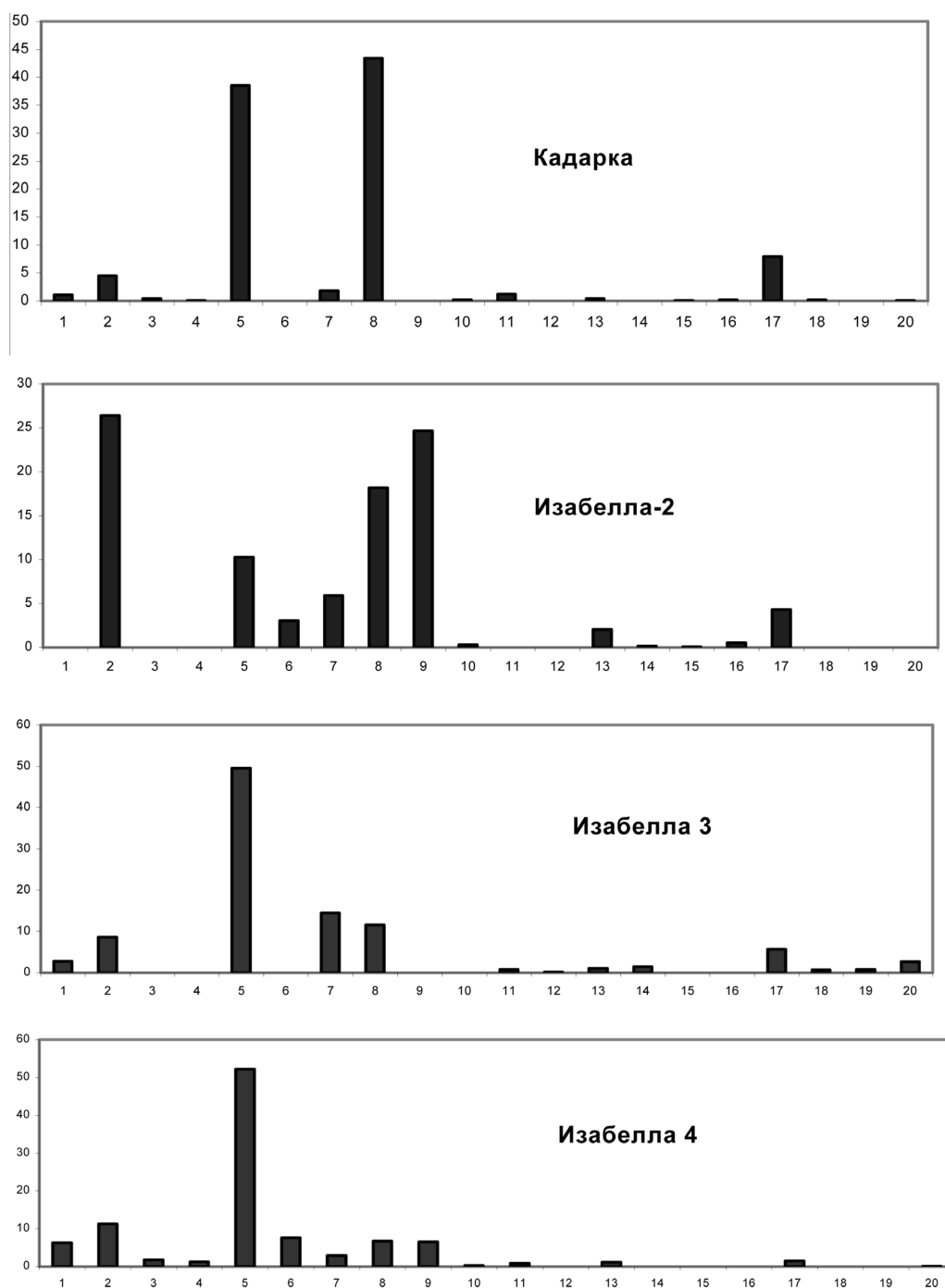


Рис. 3. Компонентные профили ароматообразующих соединений образцов Кад, Изб2, Изб3 и Изб4 (группа II)

Таким образом, применение метода твердофазной микроэкстракции в сочетании с методом хромато-масс-спектрометрии позволяет идентифицировать и оценить относительное содержание соединений в образцах вин и виноматериалов. Относительные содержания компонентов могут быть использованы для идентификации качества и подлинности вин и виноматериалов.

Компонентный состав ароматообразующих соединений для сравнения разных продуктов удобно представлять в виде компонентного профиля, на котором изображаются графически относительные содержания (или, более правильно, относительные площади пиков) компонентов относительно порядкового номера элюирования пиков на хроматограммах образцов. На рис. 2 приведены компонентные профили ароматообразующих веществ вин и виноматериалов с высоким содержанием сложных эфиров I группа, а на рис. 3 – компонентные профили образцов вин с относительно высоким содержанием фенолэтанола (группа II).

Визуально можно легко сравнивать относительные содержания компонентов в разных образцах. Использование для таких целей экспериментальных хроматограмм, как это предлагается в работе [3], практически не возможно без дополнительной обработки данных. Точное количественное определение каждого компонента нецелесообразно, так как требует больших материальных затрат.

Заключение. Таким образом, с целью оценки качества некоторых виноградных вин и виноматериалов исследован состав ароматообразующих соединений, выделенных из паровоздушной фазы образцов вин методом твердофазной микроэкстракции и идентифицированных методом хромато-масс-спектрометрии. Состав идентифицированных компонентов предлагается представлять графически в виде компонентных профилей образцов, которые могут служить паспортом качества аромата или его «отпечатком пальцев». При наличии такого паспорта можно по компонентному профилю определить соответствие предъявленного образца заявленному качеству. С помощью компонентных профилей можно определить наличие всех характерных для продукции данного наименования ароматообразующих соединений и обнаружить соединения, присутствующие в аномальных высоких концентрациях, что показывают отклонение от стандартного качества продукта и возможной его фальсификации добавлением ароматизаторов.

Литература

1. Савчук, С. А. Идентификация винодельческой продукции методами высокоэффективной хроматографии и спектрометрии / С. А. Савчук, В. Н. Власов // Виноград и вино России. – 2000. – № 5. – С. 5–13.
2. Применение хроматографии и спектрометрии для идентификации подлинности спиртных напитков / С. А. Савчук [и др.] // Журнал аналит. химии. – 2001. – Т. 56, № 3. – С. 246–264.
3. Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography/mass-spectrometry (GC–MS) analysis / Joan Bosch-Fuste [et al.] // J. Food Chem. – 2007. – Vol. 105. – P. 428–435.
4. Elimination of matrix effects for headspace solid-phase microextraction of important volatile compounds in red wine using a novel coating / M. Liu [et al.] // J. Analytica Chimica Acta. – 2004. – N 540. – P. 341–353.
5. Optimization of wine headspace analysis by solid-phase microextraction capillary gas chromatography with mass spectrometric and flame ionization detection / L. Tat [et al.] // J. Food Chemistry. – 2005. – Vol. 93. – P. 361–369.
6. Volatile compounds of red and white wines by headspace-solidphase microextraction using different fibers / J. Torrens [et al.] // J. of Chromatographic Science. – 2004. – Vol. 42. – P. 110–116.
7. Aroma compounds of an Italian wine (Rucher) by HS-SPME analysis coupled with GC-ITMS / M. Bonino [et al.] // J. Food Chemistry. – 2003. – Vol. 80. – P. 125–133.
8. Investigations on wine bouquet components by solid-phase microextraction-capillary gas chromatography (SPME-CGC) using different fibers / D. De la Calle-Garcira [et al.] // J. of High Resolution Chromatography. – 1997. – Vol. 20. – P. 665–668.
9. Determination of volatile aroma compounds of Blaufrankisch wines extracted by solid-phase microextraction / G. Y. Vas [et al.] // J. of Chromatographic Science. – 1998. – Vol. 36. – P. 505–510.
10. Development of volatile compounds of cava (Spanish sparkling wine) during long ageing time in contact with lees / M. Riu-Aumatell [et al.] // J. Food Chemistry. – 2006. – Vol. 95. – P. 237–242.
11. Aroma of sparkling wines by headspace solid phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry / S. Francioli [et al.] // American Journal of Enology and Viticulture. – 1999. – Vol. 50. – P. 404–408.
12. Volatile compounds involved in the aroma of sweet fortified wines (vins oux naturels) from Grenache noir / R. Schneider [et al.] // J. Agricultural Food Chemistry. – 1998. – N 6. – P. 3230–3237.

I. M. POCHITSKAYA, V. P. SUBACH, V. L. ROSLIK

**WINE AND WINE RAW MATERIAL QUALITY EVALUATION ON THE BASIS
OF FLAVOR FORMING COMPOUND PROFILES**

Summary

GC/MS and solid phase microextraction methods were used for investigation of wine and wine raw material samples. To characterize food product quality it is proposed to use flavor forming compound profiles which are graphic display of relative content of each component. On the basis of component profiles it is possible to identify the presence and absence of flavor forming compounds that are typical of definite products.