

THE CONTENT AND DISTRIBUTION OF TERPENE COMPOUNDS IN DIFFERENT PARTS OF BERRIES OF GRAPE VARIETIES SELECTED IN REPUBLIC OF MOLDOVA

Natalia FURTUNA¹

ABSTRACT:

THE CURRENT STUDY AIMS TO EXPLORE THE AROMATIC COMPOSITION OF THREE GRAPE VARIETIES OF LOCAL SELECTION FROM REPUBLIC OF MOLDOVA (STARTOVYI, VIORICA AND MUSCAT DE IALOVENI). THE GRAPES WERE SUBMITTED TO SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF FREE AND BOUND TERPENES AND TO GAS CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH MASS-SPECTROMETRY (GC/MS) FOR IDENTIFICATION OF COMPOUNDS. BY THE GC/MS ANALYSIS WERE DETERMINED 30 VOLATILE COMPOUNDS, INCLUDING: TERPENES, ALCOHOLS, ESTERS, ALDEHYDES AND CETONES. AFTER THE SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS IT WAS CONCLUDED THAT VIORICA IS THE VARIETY WITH THE LESS AROMATIC POTENTIAL. THE RATIO BETWEEN THE BOUND AND FREE TERPENES VARIES IN DEPENDENCE OF LOCATION IN THE GRAPE BERRY, THE HIGHEST VALUE WAS ATTEND IN THE BERRY SKINS. THIS RESULTS CONFIRMED THE IMPORTANCE OF MACERATION TO THE AROMA QUALITY OF WHITE WINES.

KEY WORDS: AROMA, TERPENES, GAS CHROMATOGRAPHY (GC), MASS-SPECTROMETRY (MS), SPECTROPHOTOMETRY.

INTRODUCTION

Le raisin de la plupart des cépages de *Vitis vinifera* est un fruit aux caractéristiques odorantes peu développées, mais qui contient déjà divers constituants qui donneront à l'arôme du futur vin des notes caractéristiques spécifiques du cépage².

La qualité du vin est directement liée à la composition du raisin qui ne peut pas être défini seulement par la richesse en sucre et l'acidité du moût, mais en même temps par leur composition en arômes et, pour les cépages non-aromatiques, en précurseurs d'arômes variétaux, intervenant d'une façon déterminant pendant les traitements technologiques appliqués. À ce titre, on peut dire que le potentiel aromatique des raisins est un paramètre important pour la qualité de futurs vins. Les composés constitutifs de l'arôme variétal

¹ PhD Candidate, senior lecturer, Technical University of Moldova, furtuna.utm@gmail.com

² Razungles A., Guerin-Schneider R. "Les arômes responsables du fruité des vins, nature et origine". *Les Entretiens Viti-Vinicoles Rhône-Méditerranée*, (2007): 6-10.

peuvent se rencontrer principalement sous deux formes: sous forme odorante – l'arôme variétal libre ou sous forme non odorante – les précurseurs d'arôme variétal³.

Dans la plupart des variétés de raisin, les monoterpénols se trouvent sous forme libre ou sous forme glycosylée. Les terpénols glycosylés peuvent être hydrolysés par les acides ou par les enzymes⁴ dans des conditions données et peuvent avoir lieu le réarrangement des monoterpénols, même si les conditions de distribution en mode naturel sont minimales⁵.

La famille des composés monoterpéniques se rencontre dans des nombreuses variétés de *Vitis vinifera*, dans les variétés avec des arômes florales. Ce sont essentiellement le linalool, le nérol et le géraniol qui sont responsables des notes olfactives florales des moûts de ces cépages, qui se retrouvent ensuite dans leurs vins. Bien qu'aucun de ces composés pris individuellement n'apporte pas une caractéristique aromatique de type muscat, le mélange de l'ensemble donne une note aromatique qui s'en rapproche. Il a été démontré⁶ que, si la somme du linalol avec la celle du géraniol et nérol était trop faible (jusqu'à 650 µg/L), l'arôme de muscat perdait sa typicité, à l'inverse – une trop forte concentration (jusqu'à 1400 µg/L) dénature la typicité, l'optimum se situant autour de 1000 µg/L.

L'analyse des cépages blancs de sélection moldave représente un intérêt spécifique pour la vinification de cette région, parce que de plus en plus les consommateurs sont à la recherche d'un vin caractérisé par la fraîcheur et la richesse de l'arôme riche.

EXPERIMENTAL

Les aromes terpéniques libres et glycosylés des raisins et du vin peuvent être déterminées par la méthode spectrophotométrique élaborée par Dimitriadis et Williams⁷. Le principe de la méthode est basé sur la séparation des arômes par l'entraînement à la vapeur d'eau (hydrodistillation) et la détermination colorimétrique des arômes terpéniques libres (TVL) en milieu neutre et liées sous forme des précurseurs (TVP) en milieu acide par la réaction de coloration de la vanilline sulfurique.

a) Les échantillons

Les raisins de trois cépages *Vitis vinifera* L. cv. Startovii, Viorica et Muscat de Ialoveni, sélectionnés dans le cadre de l'Institut de Horticulture et Technologie Alimentaire de Chişinău, ont été récoltés dans le vignoble du même établissement dans la campagne de vendanges de 2011. Les raisins frais ont été choisis au hasard à partir de grappes entières pour donner la masse totale de l'échantillon d'environ 1000 g. Les échantillons de raisin ont été congelés immédiatement après la récolte. Avant l'analyse, les raisins ont été décongelés, homogénéisés et filtrés à travers une étamine. Le jus obtenu a été centrifugé à 150 rpm pendant 15 min et ensuite préservé à 4 °C.

³ Razungles A., Guerin-Schneider R. "Les arômes responsables du fruité des vins, nature et origine". *Les Entretiens Viti-Vinicoles Rhône-Méditerranée*, (2007): 6-10.

⁴ Wilson et al., „Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing muscat grapes“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32 (1984): 919-924.

⁵ Cordonnier R., Bayonove C. „Mise en évidence dans la baie de raisin, variété Muscat d'Alexandrie, de monoterpènes liés révélables par une ou plusieurs enzymes de fruits“. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, D-278, 26 (1974): 3387-3390.

⁶ Boidron J.M., Torres P. „Étude et recherche d'un indicateur aromatique des VDN muscats“. *Bulletin technique des P.O.*, 105 (1982): 107-112.

⁷ Dimitriadis E., Williams P.J., "The development and use of a rapid analytical technique for estimation of free and potentially volatile monoterpene flavorants of grapes". *American Journal of Enology and Viticulture*, 35 (1984): 66-71.

b) *Les conditions expérimentales:*

La détermination des arômes terpéniques par la méthode spectrophotométrique a été menée dans le cadre du département d'Enologie de l'Université Technique de Moldova.

Premièrement il a été préparé les solutions de calibrage selon les étapes suivantes. Dans cinq ballons jaugés de 50 ml on introduit 0,2 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 3,0 ml de solution standard de linalool et on mène jusqu'à la jauge avec de l'eau distillée. La concentration du linalool dans les solutions obtenues est respectivement 0,4 ; 1,0 ; 2,0 ; 4,0 ; 6,0 mg/L. Dans le ballon de distillation à vapeur on a mis 50 ml de solution. La distillation s'arrêtait à l'accumulation de 20 ml du distillé. Dans une autre éprouvette à rodage de 10 ml, préalablement mis dans l'eau avec de la glace, à l'aide d'une pipette on a ajouté 5 ml du distillé de la solution étalon. Après, on a ajouté 2,5 ml de solution de vanilline sulfurique concentré, en mélangeant minutieusement et en évitant le chauffage de la solution obtenue. On a passé après l'éprouvette dans un bain-marie et la maintenait 20 minutes à la température de $60 \pm 1^\circ\text{C}$. L'éprouvette était refroidie sous un jet d'eau froide jusqu'à la température de chambre, on a mesuré la densité optique à la longueur d'ondes de 608 nm.

Après la construction du graphe de calibrage on a procédé à la détermination. La distillation se fait comme antérieurement expliqué, sauf que la solution de linalool a été remplacée par le jus ou les macérées des différentes parties des baies.

La concentration des alcools terpéniques libres et liés dans était déterminée à l'aide des courbes de calibrage. En tant que résultats finaux a été prise la moyenne arithmétique des résultats de deux mesures parallèles. La teneur en TVL et TVP était calculé selon la formule :

$$\text{TVL ou TVP} = a \times b / c \times d \text{ (mg/L) ;}$$

a – concentration du linalool pris de la courbe d'étalonnage, mg/L ;

b – volume du distillé, L ;

c – volume de la matière première utilisée (jus, mout), L ;

d – volume de l'aliquote utilisé pour les déterminations spectrophotométriques, L ;

À l'analyse chromatographique ont été soumis les jus de raisins étudiés. Le jus de raisin a été analysé en utilisant un système Shimadzu GC composée d'un seul spectromètre de masse quadripolaire GC/MS QP2010SE couplé à un système automatisé en trois dimensions pour l'injection d'échantillons AOC-5000.

La GC/MS a été équipé d'une colonne capillaire Rtx-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 μm épaisseur de film). Le spectrophotomètre de masse est utilisé en mode d'ions sélectif dans des conditions d'autorégulation et l'aire de chaque pic a été déterminée par un logiciel ChemStation (Agilent Technologies).

L'identification des pics a été réalisée à l'aide des spectres et des temps de rétention de la bibliothèque mass spectrale NIST-08⁸ et FFNSC 1.3⁹, une bibliothèque qui a été spécialement développée pour les saveurs et les parfums (disponible chez Shimadzu Europa GmbH).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

a) Le contenu des composés volatiles dans les raisins

Les cépages qui n'appartiennent pas au groupe des Muscats ont une quantité des terpènes volatiles d'environ dix fois moins que dans les cépages de type Muscat. Cependant, ces cépages contiennent des composés inodores, mais qui, après l'hydrolyse, seront une source des composés avec impact olfactif typique pour le cépage donné¹⁰.

⁸ NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08)

⁹ FFNSC 1.3 - Flavors and Fragrances of Natural and Synthetic Compounds Library - Mass Spectral Database

¹⁰ Mateo, J.J. and M. Jimenez, "Monoterpenes in grape juice and wines (review)", *Journal of Chromatography A*, 881(2000): 557–567.

La teneur en composés terpéniques dans les trois cépages étudiés (Startovyi, Viorica et Muscat de Ialoveni) a été établie par la méthode spectrophotométrique.

Les résultats obtenus ont été indiqués dans la figure 1, d'où on peut remarquer des différences significatives entre la teneur en terpènes volatiles libres (TVL) et précurseurs terpéniques (TVP) dans le jus de raisins.

La teneur des TVL et TVP a été plus haute dans les cépages Muscat de Ialoveni et Startovyi, ayant des valeurs entre 0,310 mg/L et 0,498 mg/L, respectivement. Les raisins du cépage Viorica contiennent une quantité plus faible de terpènes, cependant le contenu de TVP a été 1,78 fois plus grand que la forme libre. Le cépage Muscat de Ialoveni a la plus grande quantité de glycosides terpéniques, ce fait signifiant un potentiel élevé des terpènes libres.

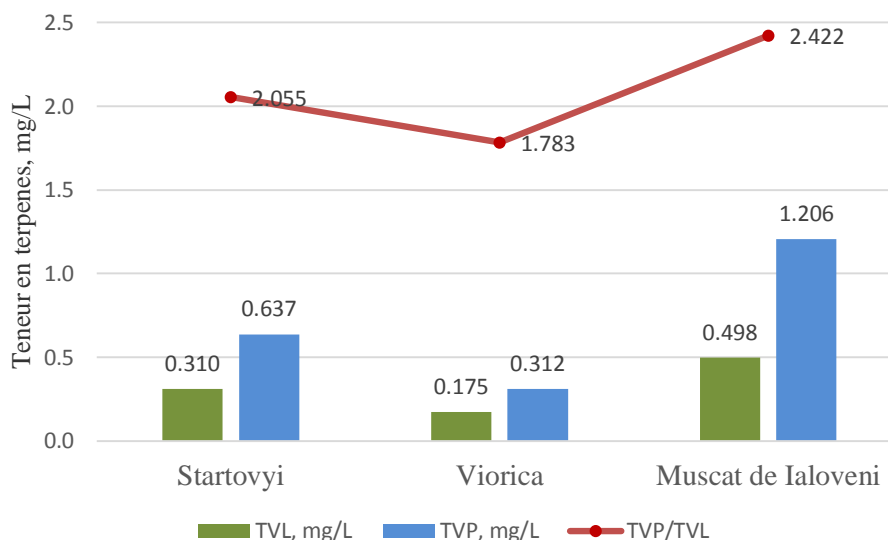


Fig. 1. La teneur des terpènes volatiles (TVL) et des précurseurs terpéniques (TVP)

Dans la figure 1 on peut observer que les cépages Startovyi et Muscat de Ialoveni ont le rapport TVP/TVL plus grande que Viorica (2,055 et 2,422 comparatif au 1,783), ainsi suggérant un potentiel aromatique plus élevé.

Pour une meilleure compréhension des composantes du complexe aromatique présent dans les raisins étudiés, les jus ont été analysés par voie chromatographique. Suite à l'analyse GC/MS, précédée par la micro extraction en phase solide, ont été identifiés environ 30 composés volatiles, y compris : terpènes, alcools, esters, aldéhydes et cétones. L'identification des pics a été réalisée à l'aide des spectres et des temps de rétention de la bibliothèque mass spectrale. Les résultats expérimentaux sont indiqués dans l'ordre d'élution dans la figure 2.

Comme on peut le remarquer de la figure 2, les profils volatils des cépages étudiés sont très distincts. De même, après l'analyse de la fraction libre de chaque cépage, on peut observer que les cépages Startovyi et Muscat de Ialoveni ont le plus grand nombre de composés volatils détectés en comparaison avec le cépage Viorica, respectivement 12 et 20.

Les monoterpènes les plus importantes identifiés dans les raisins de trois cépages (Viorica, Startovyi et Muscat de Ialoveni) sont: *géraniol*, *myrcène*, *d-limonène*, *eucalyptol*, *ocimène*, *γ-terpinène*, *linalool*, *oxyde de linalool*, *α-terpineol*, *DL-menthol*, *α-isomenthone*, *nérol*, *myrcénol* etc.

Les plus importants composés terpéniques du jus de cépage Viorica sont : *linalool*, *DL-menthol*, *α-terpineol*, *nerol*, *geraniol*, *β-damascenone* qui offrent au vin le caractère floral spécifique et des caractéristiques de fraîcheur.

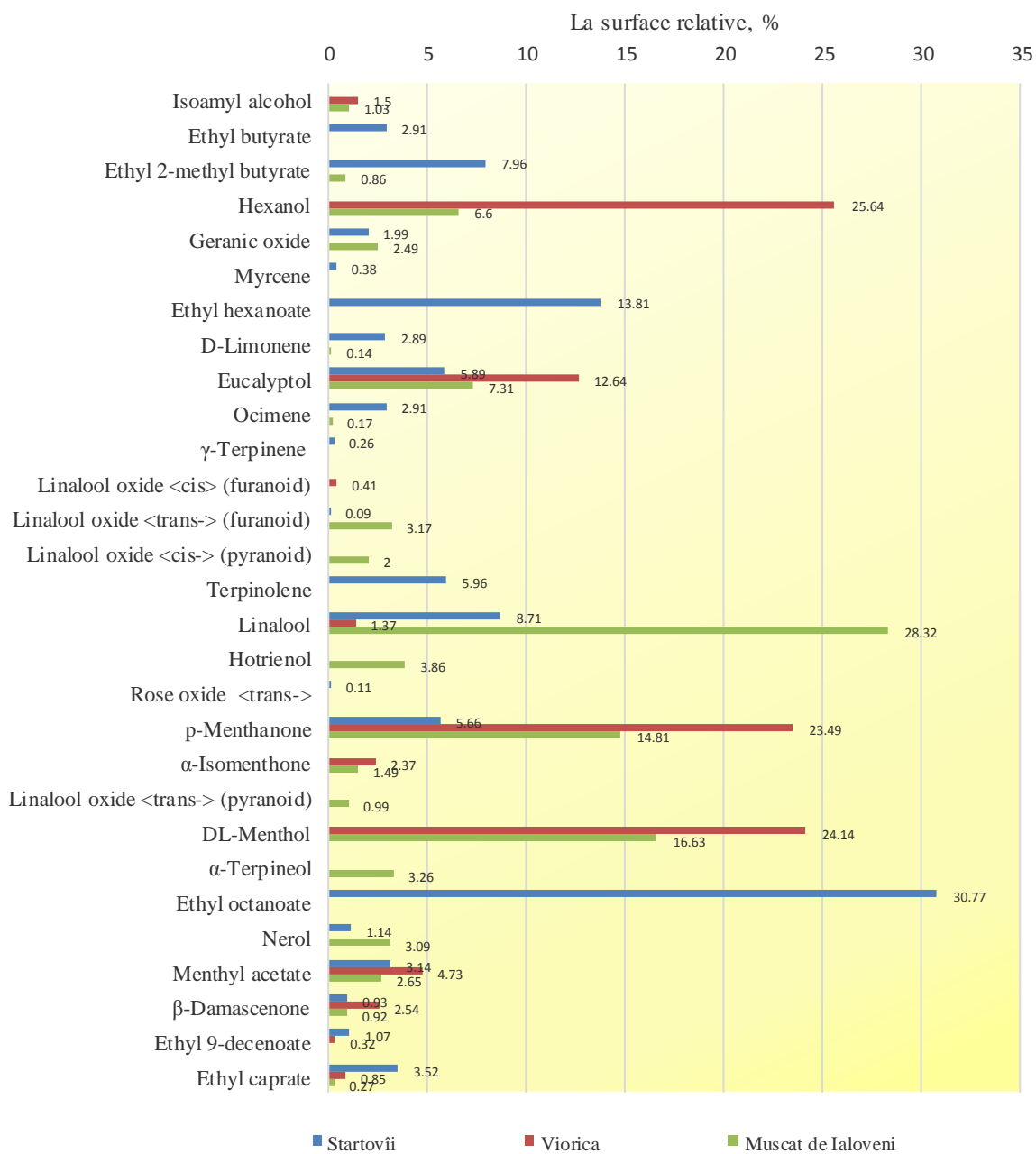


Fig. 2. Le pourcentage des composés volatils identifiés dans les raisins étudiés, %

Les terpènes sont les substances les plus importantes dans le potentiel aromatique des raisins et représentent environ 40-50 % de la quantité totale des composés volatils d'arômes avec un seuil de perception très faible (0,1-0,5 mg/L)¹¹.

Dans l'arôme du jus de raisin Startovii ont été identifiés plusieurs esters: *l'éthyle-méthyl butyrate*, *éthyle hexanoate*, *éthyle octanoate*, *éthyle-9-decenoate*, qui donnent au vin des nuances fruités, d'agrumes et tropicales caractéristiques pour ce cépage.

Les raisins du cépage Muscat de Ialoveni se distinguent par le contenu élevé du *linalool* (environ 28 %) qui est spécifique pour les variétés de type Muscat et une

¹¹ Rosillo et al., "Study of volatiles in grapes by dynamic headspace analysis - Application to the differentiation of some *Vitis vinifera* varieties". *Journal of Chromatography A*, 847 (1999): 155-159.

concentration assez haute de *p-menthanone* et *DL-menthol* qui confère au jus de raisin et au future vin de fraîcheur et nuances camphrées et balsamiques.

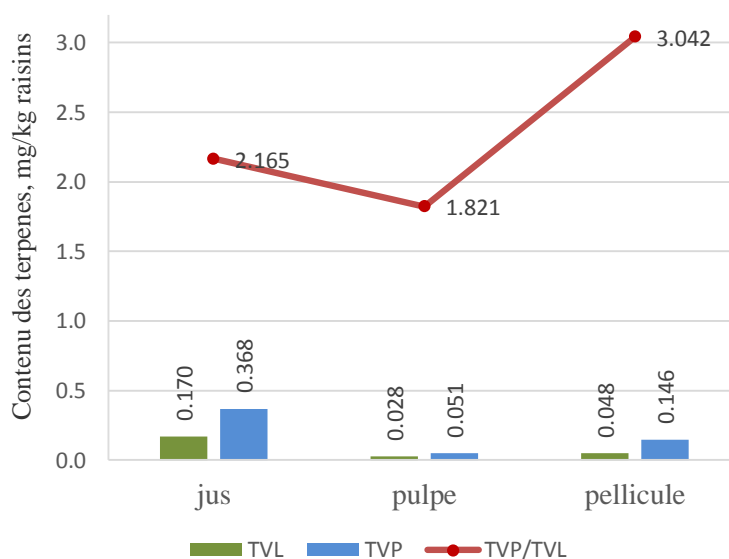
b) La distribution des terpènes dans les différentes parties des baies.

Mateo et Jimenez¹² ont démontré que le contenu des terpènes libres et sous forme de glycosides manifeste des changements dynamiques évidents au cours de l'évolution des baies des raisins du groupe Muscat. Les connaissances sur la distribution des terpènes entre les différentes parties composantes de la baie, de même que le rapport TVP/TVL, sont très importantes pour le choix du régime optimal de contact entre la phase solide et liquide afin d'améliorer la qualité aromatique des vins.

Dans la figure 3 est présenté la distribution des TVL et TVP entre le jus, la pulpe et la pellicule, qui sont rapportés au kg des baies entiers. Les valeurs du contenu en TVL (respectivement 0,048; 0,027 et 0,076 mg/kg), de même que celles des TVP (respectivement 0,146; 0,071 et 0,309 mg/kg) dans les pellicules ont été plus basses que dans les jus pour tous les trois cépages.

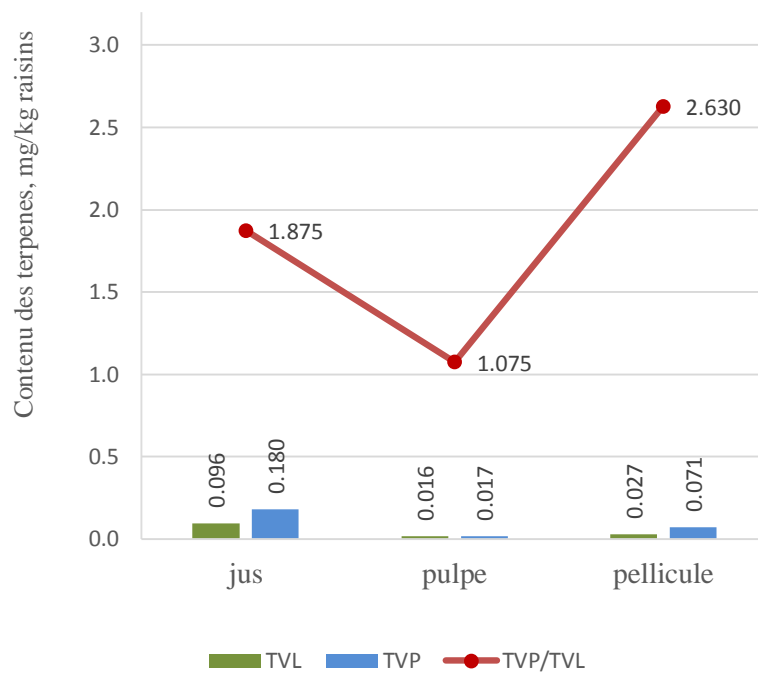
Parmi les trois cépages étudiés, Viorica se caractérise comme étant un cépage avec un potentiel aromatique plus faible, ayant les plus basses teneurs en TVL et TVP dans le jus (0,096 et 0,180 mg/kg baies) et dans la pulpe et les pellicules (0,016 et 0,017, respectivement 0,027 et 0,071 mg/kg baies).

Le cépage Muscat de Ialoveni fait partie du groupe des cépages aromatisés, ayant un arôme spécifique de muscat et des fleurs. Dans la figure 3 on peut remarquer que ce cépage se manifeste par les plus hautes valeurs de contenu des terpènes libres et des glycosides terpéniques, comparatif aux autres deux cépages étudiés.

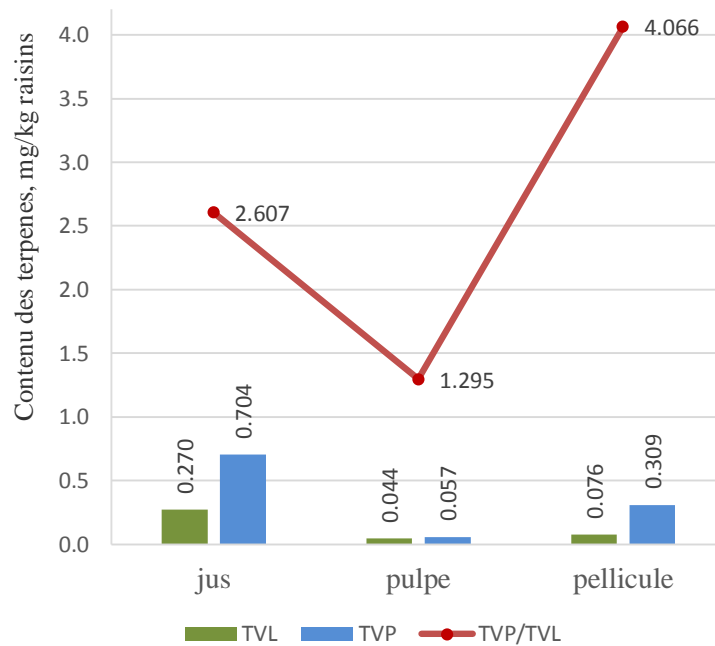


a

¹² Mateo, J.J. and M. Jimenez, "Monoterpenes in grape juice and wines (review)", *Journal of Chromatography A*, 881(2000): 557–567.



b



c

Fig. 3. Distribution des terpènes volatiles et des précurseurs terpéniques entre les différentes parties de la baie des raisins de cépages Startovyi (a), Viorica (b) et Muscat de Ialoveni (c)

L'analyse des données concernant le rapport TVL/TVP, présentés dans la figure 3, suggère le choix du régime de macération pelliculaire des trois cépages. Par conséquent, le cépage Muscat de Ialoveni représente le potentiel terpénique le plus élevé pour le jus et les pellicules, la pulpe du cépage Startovyi ayant un rapport TVP/TVL plus haute que les autres

deux cépages. Ainsi, on peut constater que la macération pelliculaire est très importante pour les trois cépages de sélection moldave.

CONCLUSION

Les résultats obtenus après l'évaluation initiale du contenu des terpènes volatiles libres et des précurseurs terpéniques (sous forme de glycosides), ainsi que la distribution entre les différentes parties composantes de la baie dans les trois cépages de sélection moldave sont d'un haut intérêt pour la production des vins blancs aromatiques dans la région.

Les connaissances sur la distribution des terpènes entre les différentes parties composantes de la baie, de même que le rapport TVP/TVL, sont très importantes pour le choix du régime optimal de contact entre la phase solide et liquide (macération pelliculaire).

Ainsi, par l'hydrolyse des glycosides terpéniques et la libération ultérieure des terpènes libres, devient indispensable l'amélioration de la qualité aromatique des vins par des divers processus technologiques.

REFERENCES

1. **Boidron, J.M.** and **P. Torres**, „Etude et recherche d'un indicateur aromatique des VDN muscats“, *Bulletin technique des P.O.*, 105 (1982): 107-112.
2. **Cordonnier, R.** and **C. Bayonove**, „Mise en évidence dans la baie de raisin, variété Muscat d'Alexandrie, de monoterpènes liés révélables par une ou plusieurs enzymes de fruits“. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences*, D-278, 26 (1974): 3387-3390.
3. **Dimitriadis, E.** and **P.J. Williams**, “The development and use of a rapid analytical technique for estimation of free and potentially volatile monoterpene flavorants of grapes”. *American Journal of Enology and Viticulture*, 35 (1984): 66–71.
4. **Mateo, J.J.** and **M. Jimenez**, “Monoterpenes in grape juice and wines (review)”, *Journal of Chromatography A*, 881(2000): 557–567.
5. **Razungles, A.** and **R. Guerin-Schneider**, “Les arômes responsables du fruité des vins, nature, origine”. *Les Entretiens Viti-Vinicoles Rhône-Méditerranée*, 2007: 6-10.
6. **Rosillo L.;** **M.R. Salinas;** **J. Garijo** and **G.L. Alonso**, “Study of volatiles in grapes by dynamic headspace analysis - Application to the differentiation of some *Vitis vinifera* varieties”. *Journal of Chromatography A*, 847 (1999): 155-159.
7. **Wilson, B. ;** **C. R. Strauss** and **P. J. Williams**, „Changes in free and glycosidically bound monoterpenes in developing muscat grapes“. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32 (1984): 919-924.