

Istituto Sperimentale per l'Enologia, Asti, Italia

Identificazione degli esteri etilici degli acidi 2-ossi glutarico e 2-ossi glutarico γ -lattone nei vini

di

R. DI STEFANO

Identification of ethyl esters of 2-hydroxy-glutaric acid and 2-hydroxy-glutaric acid γ -lactone in vines

S u m m a r y . — The identification of ethyl esters of 2-hydroxy-glutaric acid and 2-hydroxy-glutaric acid γ -lactone, by means of the mass spectra of the volatile compounds and of the nonvolatile acids' methyl esters, is described.

The two compounds, present only in traces in young wines, can exceed the concentration of 1 mg/l in aged vines.

Introduzione

Lo sviluppo delle tecniche gascromatografiche e della spettrometria di massa hanno consentito negli ultimi anni di ampliare le conoscenze sulla natura dei composti volatili dei mosti e dei vini.

Notevole è tuttavia il numero delle sostanze ancora da identificare. Fra queste sono state segnalate in un precedente lavoro (DI STEFANO 1982) due composti aventi spettri di massa caratterizzati da picco base 85 e da poche altre masse ioniche di debole intensità.

Malgrado si fosse sospettata (per la presenza del picco base di massa 85) la natura di γ -lattoni, non era stato possibile tuttavia assegnare con certezza una struttura compatibile sia con lo spettro di massa che col tempo di ritenzione.

Una indagine sugli esteri metilici degli acidi fissi ha fornito la chiave per l'interpretazione dei due spettri incogniti.

Materiali e metodi

L'estrazione dei composti volatili, la gascromatografia e la gascromatografia-spettrometria di massa sono state condotte come indicato in un precedente lavoro (DI STEFANO e CIOLFI 1983). La preparazione degli esteri metilici degli acidi fissi per l'analisi quantitativa è stata effettuata secondo il metodo proposto da DI STEFANO e BRUNO (1983).

Gli esteri metilici e gli esteri etilici per l'analisi qualitativa GC-MS sono stati preparati nel modo seguente: 2 ml di campione, in soluzione metanolica o etanolica, vengono aggiunti di HCl conc. fino ad avere un titolo del 5% in HCl anidro e scaldati a riflusso per 10 min. Al termine si aggiungono 8 ml di acqua e si estrae rapidamente con 20 ml di CH_2Cl_2 in imbuto separatore. Dopo distillazione del solvente e riduzione a piccolo volume si effettua l'analisi GC-MS.

Risultati e discussione

I due composti presentano tempi di ritenzione compresi fra quelli degli acidi caprilico e caprico nelle colonne capillari di Carbowax 20 M in silice fusa utilizzate.

Il primo dei due si sovrappone inoltre al 4-etil fenolo.

Sono entrambi estraibili con la miscela $C_5H_{12} : CH_2Cl_2$ 60 : 40 ma solo in piccola quantità con C_5H_{12} .

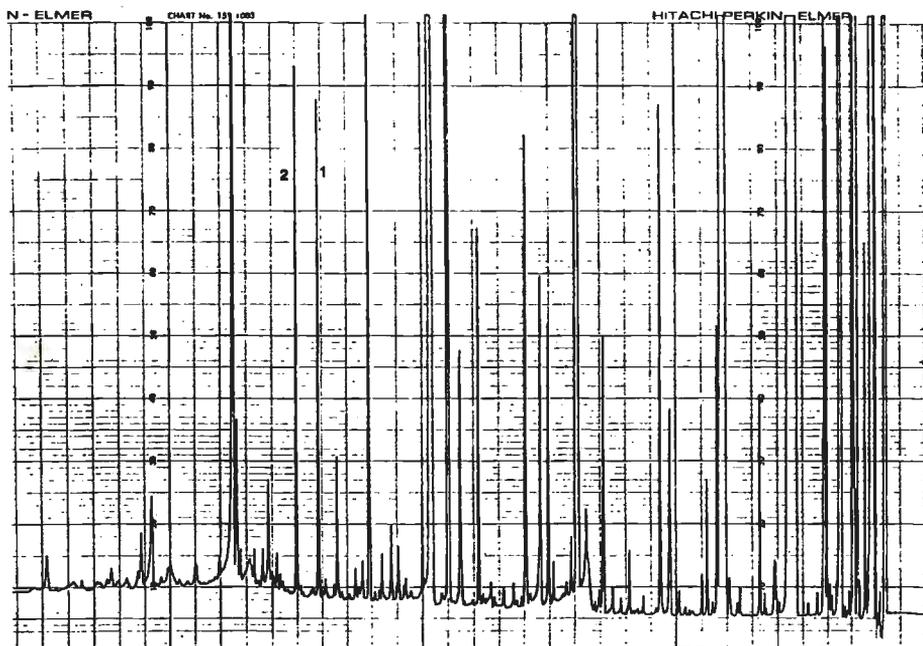


Fig. 1: Vino Dolcetto 1981: Composti estratti con $C_5H_{12} : CH_2Cl_2$ 60 : 40 dopo estrazione con C_5H_{12} .
1 = Acido 2-ossi glutarico dietil estere, 2 = acido 2-ossi glutarico γ -lattone etil estere.

Dolcetto wine 1981: Compounds extracted with $C_5H_{12} : CH_2Cl_2$ 60 : 40 after extraction with C_5H_{12} .
1 = 2-Hydroxy-glutaric acid diethyl ester, 2 = 2-hydroxy-glutaric acid γ -lactone ethyl ester.

In Fig. 1 è riportato il cromatogramma di un vino Dolcetto 1981 da cui è possibile intuire l'importanza quantitativa dei due composti.

Esaminando gli spettri di massa degli esteri metilici degli acidi fissi dei vini (DI STEFANO e BRUNO 1983) si è notata la presenza di due composti aventi 85 come picco base e molto simili come aspetto ai due precedentemente descritti, isolati dagli estratti $C_5H_{12} : CH_2Cl_2$ dei vini.

I tempi di ritenzione erano compresi fra quelli del dimetil tartrato e del dimetil malato.

Ipotizzando una relazione fra le due coppie di composti, si è passati all'esame delle masse superiori ad 85 negli spettri di massa riportati in Fig. 2.

Si hanno le seguenti masse:

Composto	Presente negli estratti $C_5H_{12} : CH_2Cl_2$ dei vini	Presente fra i metil derivati degli acidi fissi	Δ
1	159	145	14
	131	117	14
2	158	144	14

L'esame del composto n° 2, supposta valida la struttura di γ -lattone e considerando le masse 158 e 144 come PM porta a formulare l'ipotesi di un composto contenente un gruppo γ -lattionico e un gruppo acido: $85 = C_4H_5O_2^+$, $158 = 85 + COOC_2H_5$, $144 = 85 + COOCH_3$.

A questa struttura si adatta l'acido 2-ossi glutarico γ -lattone. Estendendo questi risultati al composto n° 1, si può formulare la struttura di acido 2-ossi glutarico dimetil o dietil estere. In questo caso lo ione 85 si formerebbe per perdita di un radicale $\cdot CH_3$ o $\cdot C_2H_5$, di una molecola neutra CO e successiva ciclizzazione con perdita di una molecola neutra CH_3OH o C_2H_5OH .

Alle ipotesi suddette si è giunti solo dopo aver intuito, dall'esame degli spettri di massa degli esteri metilici, che i due composti di picco base 85 non erano dei semplici lattoni ma degli esteri contenenti il gruppo lattionico o dei composti dai quali il gruppo lattionico poteva essere generato attraverso reazioni di eliminazione e ciclizzazione.

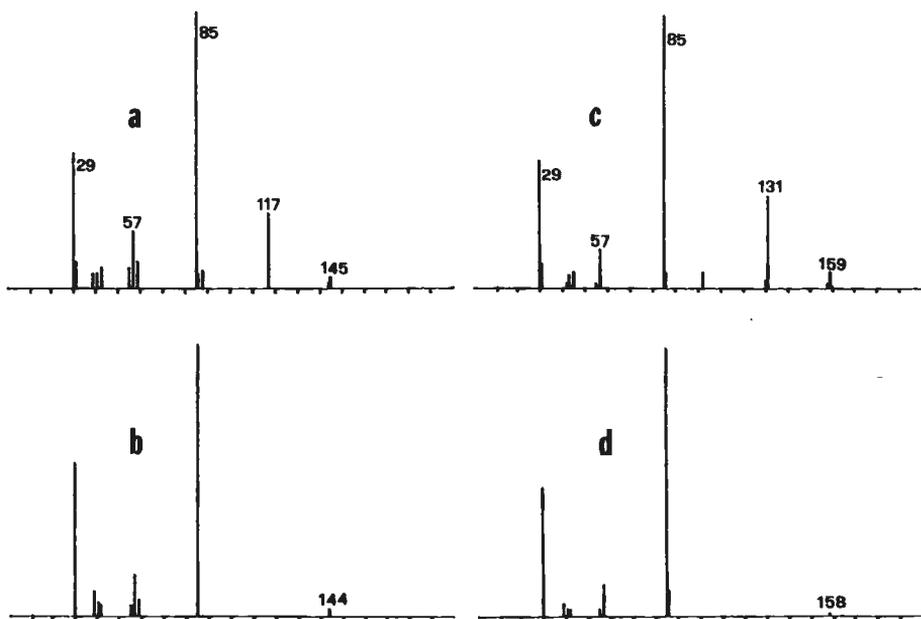


Fig. 2: Spettri di massa dei derivati dell'acido 2-ossi glutarico: a) Acido 2-ossi glutarico dimetil estere, b) acido 2-ossi glutarico γ -lattone metil estere, c) acido 2-ossi glutarico dietil estere, d) acido 2-ossi glutarico γ -lattone etil estere

Mass spectra of the 2-hydroxy-glutaric acid derivatives: a) 2-Hydroxy-glutaric acid dimethyl ester, b) 2-hydroxy-glutaric acid γ -lactone methyl ester, c) 2-hydroxy-glutaric acid diethyl ester, d) 2-hydroxy-glutaric acid γ -lactone ethyl ester.

Formulate le strutture suddette, sono stati preparati gli esteri metilici ed etilici dell'acido 2-ossi glutarico (sale di Zn Fluka). Questi hanno rivelato le stesse caratteristiche cromatografiche e hanno presentato gli stessi spettri di massa dei composti prima formulati.

Nel vino sono di conseguenza presenti gli esteri etilici dell'acido 2-ossi glutarico e dell'acido 2-ossi glutarico γ -lattone. Il loro tenore è pari a qualche decina di $\mu\text{g/l}$ nei vini appena prodotti e aumenta continuamente nel tempo fino a superare il mg/l (espressi come 1-eptanolo).

Dei due composti è più rappresentata la forma lattonica. Accertata la presenza dei due esteri, non è tuttavia possibile affermare se nel vino siano presenti, in equilibrio, le due forme dell'acido 2-ossi glutarico o soltanto la forma lattonica da cui deriverebbe prima il monoetil estere e poi l'estere dietilico.

Secondo una stima approssimata dei picchi degli esteri metilici il tenore dell'acido 2-ossi glutarico, considerando le due forme, è inferiore ai 50 mg/l nei vini esaminati.

L'etil estere dell'acido 2-ossi glutarico γ -lattone è già stato segnalato da WEBB *et al.* (1967) fra i composti volatili neutri del «flor sherry».

Successivamente gli stessi Autori (1969) identificavano l'estere lattone (da loro chiamato 4-carboetossi butirro lattone) fra i composti volatili neutri dei vini derivati da uve delle cultivar Cabernet Sauvignon e Ruby Cabernet.

Lo stesso composto è citato da SCHREIER e DRAWERT (1974) fra i lattoni presenti nei vini.

Anche se uno dei composti è già stato segnalato, tuttavia è sembrato utile riportare i risultati della indagine GC—MS sopra descritti.

Il metodo di identificazione può infatti essere interessante per l'analisi di altri gruppi di composti presenti nei vini e non ancora identificati.

È parso anche opportuno attirare l'attenzione sui due composti citati, quantitativamente importanti e trascurati dalla recente letteratura sui composti volatili.

Riassunto

È descritta l'identificazione degli esteri etilici degli acidi 2-ossi glutarico e 2-ossi glutarico γ -lattone attraverso lo studio degli spettri di massa dei composti volatili e degli esteri metilici degli acidi fissi del vino.

I due composti, presenti in tracce nei vini giovani, possono superare il mg/l nei vini invecchiati.

Bibliografia

- DI STEFANO, R., 1982: L'accoppiamento gascromatografia-spettrometria di massa nello studio dei composti volatili delle uve e dei vini. *Vini d'Italia* 24, 3—14.
- — e BRUNO, C., 1983: Applicazione della gascromatografia-spettrometria di massa all'analisi degli esteri metilici degli acidi fissi del vino. *Vignevini (Bologna)* (in corso di stampa).
- — e CIOLFI, G., 1983: Evoluzione dei composti di natura terpenica durante la produzione dell'Asti Spumante. *Riv. Viticolt. Enol. (Conegliano)* 36, 126—143.
- SCHREIER, P. und DRAWERT, F., 1974: Gaschromatographisch-massenspektrometrische Untersuchung flüchtiger Inhaltsstoffe des Weines. VI. Mitteilung: Alkohole, Hydroxy-Ester, Lactone und andere polare Komponenten des Weinaromas. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.* 3, 154—160.

- WEBB, A. D., KEPNER, R. E. and MAGGIORA, L., 1967: Sherry Aroma. VI. Some volatile components of Flor Sherry of Spanish origin. Neutral substances. *Amer. J. Enol. Viticult.* **18**, 190—199.
- — — and — — — 1969: Some volatile components of *Vitis vinifera* varieties Cabernet-Sauvignon and Ruby Cabernet. I. Neutral compounds. *Amer. J. Enol. Viticult.* **20**, 16—24.

Eingegangen am 6. 6. 1983

R. DI STEFANO
Istituto Sperimentale per l'Enologia
Via P. Micca n° 35
14100 Asti
Italia