

DETERMINAÇÃO DE ALCÓOIS SUPERIORES EM AGUARDENTES DE FRUTAS POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA *

Maria Elisa Wohlers de ALMEIDA **
Heloisa Helena Corbe BARRETTO **

RIAL-A/388

ALMEIDA, M.E.W. & BARRETTO, H.H.C. — Determinação de álcoois superiores em aguardentes de frutas por cromatografia em fase gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33: 73-84, 1973.

RESUMO: Cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama foi aplicada para a pesquisa e dosagem de álcoois superiores em aguardentes de ameixa (*slivovitz*) provenientes da Iugoslávia, em aguardentes de uva (*pisco*) provenientes do Chile e em aguardentes de banana do Brasil.

Em todas as amostras foram encontrados os álcoois n-propanol, isobutanol e isoamílico. Nas amostras de *slivovitz* também foram identificados os álcoois n-butanol e 2-butanol, o mesmo ocorrendo em algumas amostras de *pisco*.

A determinação dos álcoois foi efetuada pelo processo de padronização interna, com o emprego de 2-pentanol. Os teores de n-propanol, isobutanol e álcool isoamílico nas amostras de *slivovitz* variaram de um mínimo de 31,64; 14,20 e 38,10 a um máximo de 56,80; 31,20 e 78,80 mg/100 ml, respectivamente; nas amostras de *pisco*, variaram de 5,50; 9,40 e 33,40 a 18,50; 40,70 e 108,80 mg/100 ml e, nas aguardentes de banana, variaram de 5,20; 14,00 e 45,60 a 7,00; 15,92 e 56,04 mg/100 ml.

Considerando os resultados obtidos, destacamos o alto teor de n-propanol em todas as amostras analisadas de *slivovitz* muito acima do encontrado nas aguardentes de uva e de banana por nós analisadas e dos teores referidos por diversos autores em outras bebidas fortemente alcoólicas.

DESCRITORES: álcoois superiores, determinação; cromatografia em fase gasosa, de álcoois superiores; aguardentes de frutas.

INTRODUÇÃO

A cromatografia em fase gasosa tem sido aplicada intensivamente, nos últimos anos, na investigação sistemática dos compostos voláteis responsáveis pelo aroma de bebidas alcoólicas.

Sob a ação de leveduras, estes compostos voláteis formam-se durante o processo de fermentação do mosto juntamente com álcool etílico; alguns sofrem transformações estruturais ou mudam de proporção durante a destilação e posterior envelhecimento da bebida.

* Realizado na Divisão de Bromatologia e Química do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P. Apresentado ao 11.º Congresso Latinoamericano de Química realizado em Santiago, Chile, de 5 a 11 de janeiro de 1972.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

Álcoois, ésteres, ácidos graxos e compostos carbonílicos são os principais componentes responsáveis pelo aroma e sabor de diferentes bebidas. Os compostos carbonílicos, especialmente os aldeídos, por serem muito voláteis, ocupam uma posição especial entre os componentes de um aroma. Entretanto, em bebidas fortemente alcoólicas cujo teor de álcool se mantém próximo a 50% durante o processo de envelhecimento, os aldeídos reagem com álcool etílico formando acetais, abrandando dessa maneira o odor pungente dos aldeídos.

Outro grupo de compostos que também desempenha um papel importante no *flavor* das bebidas, isto é, no seu aroma e sabor, são os álcoois superiores. Em uísques e conhaques o conteúdo de álcoois superiores é cerca de 10 vezes maior do que o de aldeídos.

Entretanto, o *flavor* final de uma bebida depende de toda uma gama de componentes que estão sendo pouco a pouco identificados com o auxílio da cromatografia em fase gasosa.

Para fins comerciais, o *bouquet* característico de bebidas alcoólicas é analisado principalmente por meio de provas sensoriais de gosto e de sabor. Indivíduos bem treinados são capazes de perceber nitidamente diferenças mínimas no *flavor* de uma bebida. Estes testes sensoriais têm uma grande importância na avaliação final do produto e parece que por muito tempo ainda não perderão o seu valor apesar do avanço progressivo de outros campos da química analítica.

Entretanto, ainda é difícil estabelecer uma correlação entre a degustação, que é um dado subjetivo, e um resultado analítico, que é um dado objetivo, obtido através de um cromatograma que detecta os mais diversos componentes de um aroma.

MATERIAL E MÉTODOS

Sete amostras de aguardente de ameixa (*slivovitz*) provenientes da Iugoslávia, 10 amostras de pisco — aguardente de uva cultivada no Valle de Elqui no Chile — e 3 amostras de aguardentes de banana provenientes do estado do Paraná, Brasil, foram analisadas com a finalidade de identificar e

determinar os álcoois superiores componentes do *flavor* destas bebidas alcoólicas.

Aparelho, coluna, condições e parâmetros

Foi usado um cromatógrafo a gás Varian, modelo 2.100, com detector de ionização de chama. Os componentes foram separados em uma coluna de 15 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno, tendo como fase estacionária Hallcomid M-18, em Cromosorb W como suporte sólido. Foram observadas as seguintes condições de operação: temperatura da coluna, 100°C; temperatura do injetor, 130°C; temperatura do detector, 150°C; gás de arraste, nitrogênio; fluxo, 30 ml/min; sensibilidade 4×10^{-10} .

Identificação dos álcoois superiores

5 μ l da amostra foram injetados diretamente no cromatógrafo; a identificação dos picos no cromatograma foi efetuada por comparação dos tempos de retenção obtidos com os tempos de retenção de padrões injetados e, ainda, pela adição às amostras de padrões do álcool suposto. Duas colunas diferentes, uma de Carbowax 20 M e outra de F.F.A.P., foram utilizadas para a confirmação da identidade dos álcoois.

Preparo dos padrões

A determinação quantitativa dos álcoois foi efetuada pelo processo de padronização interna, sendo empregado 2-pentanol como padrão interno.

MARTIN & CARESS³ e MARTIN *et alii*⁴, na determinação de álcoois superiores em uísque, rum e conhaque, usaram n-butanol como padrão interno; entretanto, várias amostras por nós analisadas continham esse componente, o que não permitiu o emprego desse padrão.

SINGER⁷ usou n-pentanol como padrão interno na determinação de álcoois de C₂ a C₅ em uísques e conhaques; porém, na coluna de Hallcomid M-18, n-pentanol emerge depois de álcool isoamílico com um tempo de retenção muito elevado.

Nas condições de nosso trabalho, 2-pentanol apresentou condições ideais para ser usado como padrão interno, pois emergia bem separado dos outros componentes, entre n-butanol e álcool isoamílico. Previamente, to-

das as amostras foram cromatografadas e não apresentaram o pico correspondente a 2-pentanol.

As curvas de calibração foram feitas a partir de soluções de concentração 0,1% p/v para n-propanol e isobutanol, de 0,2% p/v para álcool isoamílico e de 0,4% p/v para 2-pentanol, em álcool etílico a 43% v/v. Todos os padrões usados foram fornecidos por "PolyScience Corporation-Analytical Standards". Os detalhes para o preparo das curvas de calibração foram feitos de acordo com ALMEIDA & BARRETTO¹.

5 µl desta solução, contendo 1 µg do padrão interno, foram injetados no cromatógrafo. As áreas obtidas foram medidas e calculada a sua relação com a área do padrão interno; por meio das curvas de calibração, foi lida a relação entre o peso do componente desconhecido e o peso do padrão. Como a quantidade do padrão interno 2-pentanol é a mesma, tanto nas amostras como nas soluções usadas no preparo das curvas de calibração, por simples cálculo determina-se a quantidade do componente presente.

Dosagem dos álcoois superiores

A 10 ml da amostra foi adicionado 0,1 ml de uma solução de 2-pentanol (padrão interno) 2% p/v em álcool etílico a 43% v/v:

RESULTADO

Os resultados obtidos estão reunidos nas tabelas 1 a 3 e nas figuras 1 a 6.

TABELA I

Teor de álcoois superiores em piscos (aguardente de uva) provenientes do Chile

Amostra n.º	n-propanol mg/100 ml	Isobutanol mg/100 ml	Álcool isoamílico mg/100 ml
1	6,00	13,80	54,40
2	6,50	9,40	33,40
3	5,60	15,90	57,00
4	6,60	15,40	59,20
5	7,96	15,80	62,80
6	5,50	12,60	51,20
7	6,64	12,40	55,20
8	8,90	18,80	98,40
9	18,50	23,40	108,80
10	8,62	40,70	94,40
Teor			
Mínimo	5,50	9,40	33,40
Máximo	18,50	40,70	108,80

TABELA II

Teor de álcoois superiores em slivovitz (aguardente de ameixa) provenientes da Iugoslávia

Amostra n.º	n-propanol mg/100 ml	Isobutanol mg/100 ml	Álcool isoamílico mg/100 ml
1	56,80	25,08	78,80
2	52,80	16,60	56,00
3	34,20	14,20	38,10
4	39,20	18,40	45,20
5	31,64	15,90	42,40
6	42,20	17,20	43,80
7	45,28	31,20	63,60
Teor			
Mínimo	31,64	14,20	38,10
Máximo	56,80	31,20	78,80

TABELA III

Teor de álcoois superiores em aguardentes de banana provenientes do Brasil

Amostra n.º	n-propanol mg/100 ml	Isobutanol mg/100 ml	Álcool isoamílico mg/100 ml
1	7,00	15,92	51,60
2	6,10	14,00	56,04
3	5,20	14,62	45,60

Em todas as amostras de *pisco*, de *slivovitz* e de aguardente de banana, foram encontrados os álcoois n-propanol, isobutanol e isoamílico (fig. 1, 2 e 3).

2-butanol e n-butanol também foram identificados em todas as amostras analisadas de *slivovitz* (fig. 2). Em algumas amostras de *pisco* também foi detectada a presença de n-butanol (fig. 4) e em outras foi identificado 2-butanol além de n-butanol (fig. 5).

Ainda, no cromatograma de algumas amostras de *slivovitz* foi constatada a presença de um pequeno pico que pelo seu tempo de retenção parece corresponder a 2-metil-2-butanol (fig. 6); entretanto, sua confirmação depende de experiências complementares.

No cromatograma das três amostras de aguardente de banana sempre apareceu um pico, ainda não identificado, com um tempo de retenção relativo a 2-pentanol (padrão interno) de 1,071 (fig. 3).

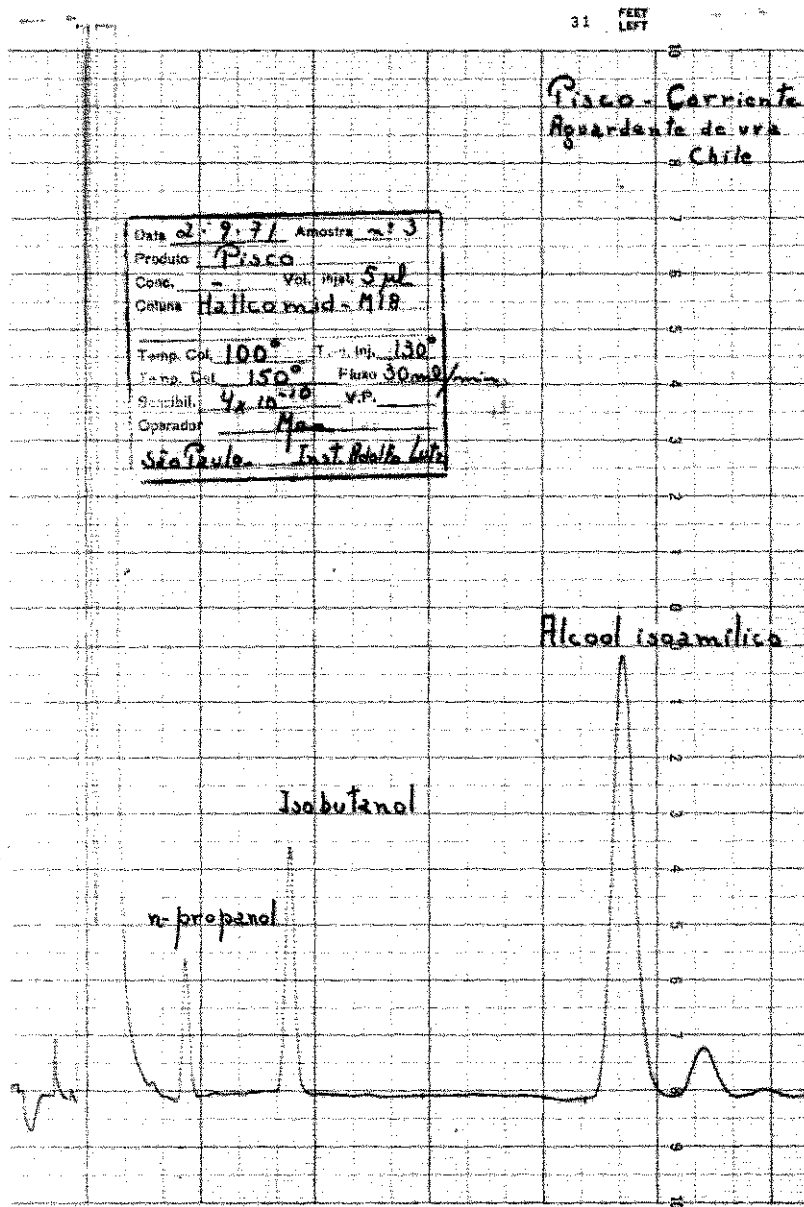


Fig. 1

Cromatograma de álcoois superiores em pisco (Chile).
Chromatogram of higher alcohols in pisco from Chile.

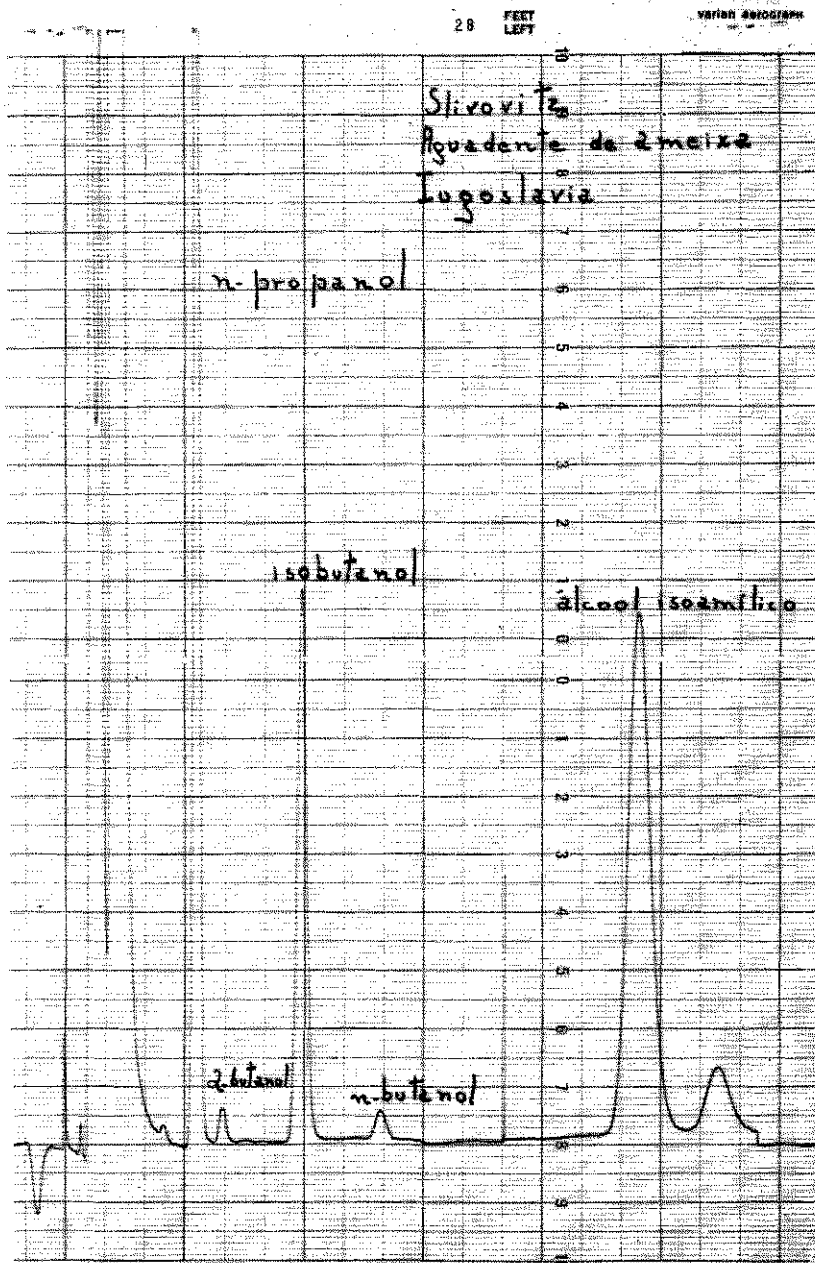


Fig. 2

Cromatograma de álcoois superiores em slivovitz (Iugoslávia).
Chromatogram of higher alcohols in slivovitz from Yugoslavia.

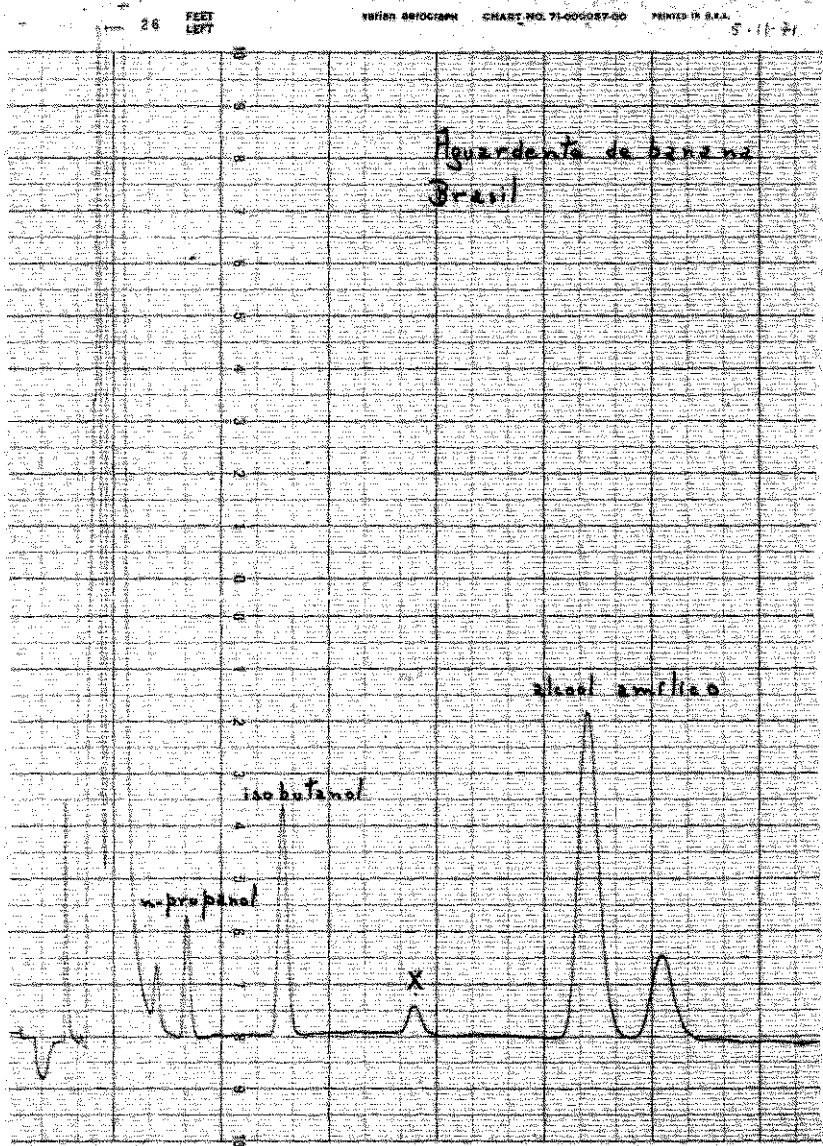


Fig. 3

Cromatograma de álcoois superiores em aguardente de banana (Brasil).
x — Pico com tempo de retenção relativo a 2-pentanol
(padrão interno) = 1,071.

Chromatogram of higher alcohols in banana distilled spirits from Brazil.
x — Peak with retention time relative to 2-pentanol
(internal standard) = 1.071.

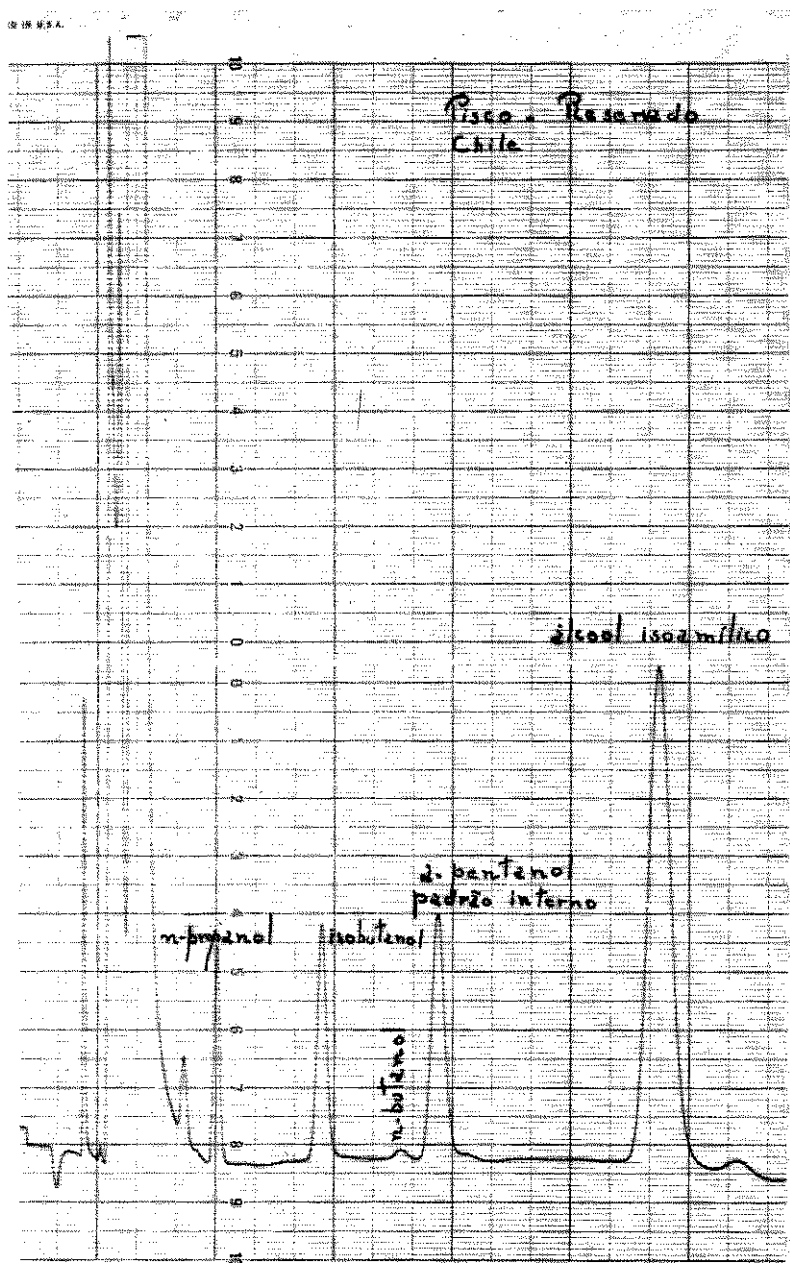


Fig. 4

Cromatograma de álcoois superiores de pisco (com padrão interno) contendo n-butanol.

Chromatogram of higher alcohols in pisco (with internal standard) containing n-butanol.

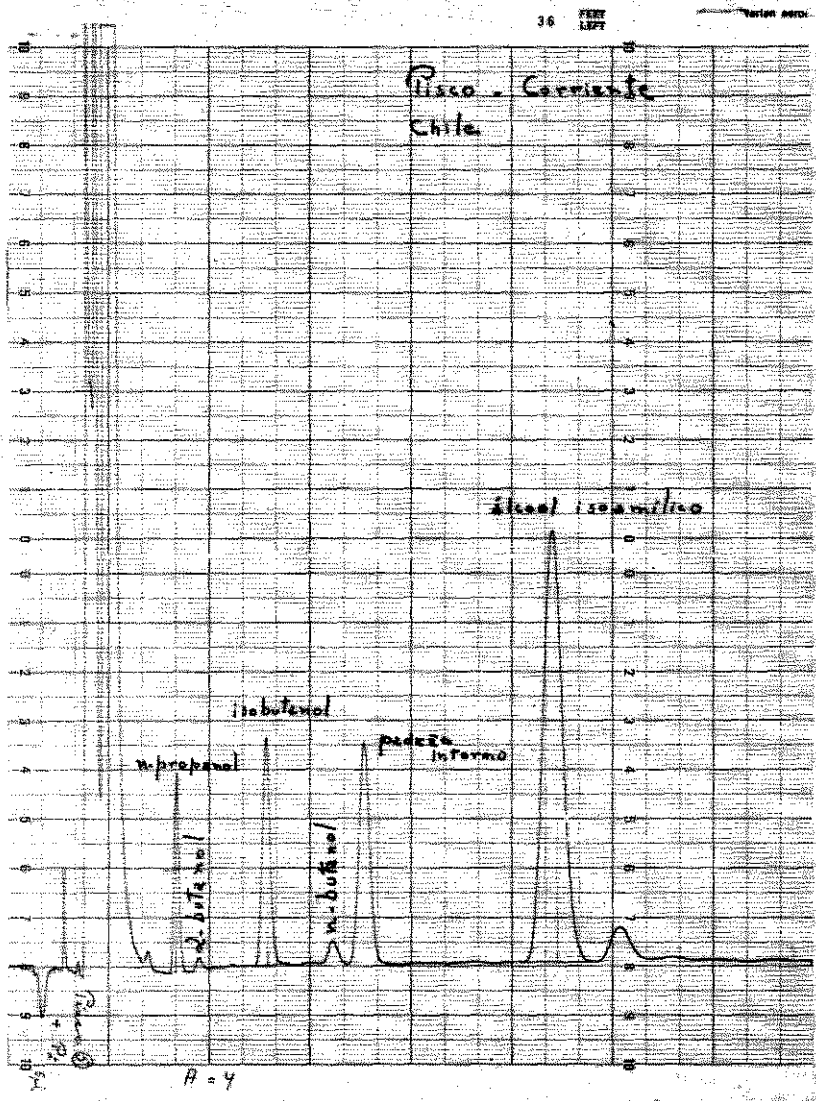


Fig. 5

Cromatograma de álcoois superiores de pisco (com padrão interno) contendo 2-butanol e n-butanol.

Chromatogram of higher alcohols in pisco (with internal standard) containing 2-butanol and n-butanol.

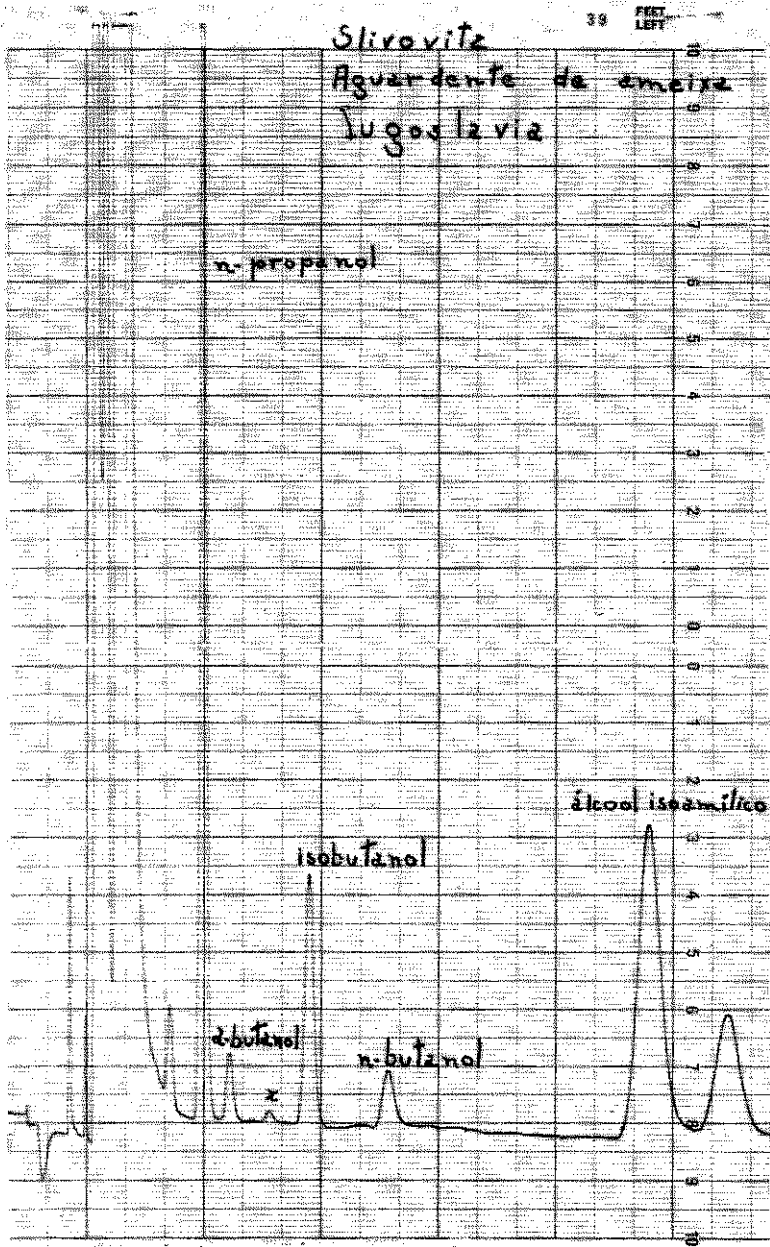


Fig. 3

Cromatograma de álcoois superiores de slivovitz apresentando pico (x), provavelmente de 2-metil-2-butanol.

Chromatogram of higher alcohols in slivovitz showing a peak (x), probably due to 2-metil-2-butanol.

Foi constatado, também, no cromatograma de todas as aguardentes analisadas (fig. 1 a 6), a presença de outros 2 picos; o primeiro deles, pequeno, emergindo logo após o álcool etílico e o segundo, de tamanho variável, aparecendo depois do álcool isoamílico. Tanto estes componentes como o pico de tempo de retenção relativo de 1,071 constatado no cromatograma das aguardentes de banana, não foram identificados por não possuímos padrões correspondentes; contudo, podemos afirmar que tais componentes não são álcoois de C₃ a C₅, nem 1-hexanol.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Na revisão bibliográfica efetuada não foram encontrados dados relativos à pesquisa isolada e à dosagem de álcoois superiores em aguardentes de uva, de ameixa e de banana.

Comparando os nossos resultados com os obtidos por diferentes autores^{1, 2, 3, 4, 5, 7} que analisaram outros tipos de bebidas fortemente alcoólicas, observamos que todos identificaram sempre os mesmos álcoois superiores: n-pro-

panol, isobutanol e isoamílico; apenas SINGER⁷ cita a presença 2-butanol em conhaques de qualidade inferior e ALMEIDA & BARRETTO¹ também fazem referência à presença de 2-butanol e ainda de n-butanol em aguardentes de cana de açúcar de qualidade inferior. Já SUOMALAINEN & NYCÄNEN⁸, na análise de diferentes tipos de uisques, assinalam a presença de traços de 2-butanol e de n-butanol. NYCÄNEN *et alii*⁶, analisando uma amostra de rum e separando os álcoois superiores em coluna de trietanolamina com 5 metros de comprimento, além dos álcoois normalmente encontrados, menciona a presença de 2-butanol e de traços de n-butanol e de 2-pentanol.

Quanto às quantidades dos álcoois isobutanol e isoamílico encontradas, elas caem dentro dos limites citados por diferentes autores para outras bebidas fortemente alcoólicas. Entretanto, o conteúdo de n-propanol encontrado nas amostras de *slivovitz* é bastante elevado, comparado com os teores obtidos nas amostras de *pingo* e de aguardente de banana, bem como os teores de n-propanol citados na literatura para outros tipos de bebidas fortemente alcoólicas.

RIAL-A/388

ALMEIDA, M.E.W. & BARRETTO, H.H.C. — Gas-liquid chromatographic determination of higher alcohols in fruit distilled spirits. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 33: 73-84, 1973.

SUMMARY: Direct gas chromatography with flame ionization detector was applied for the detection and determination of higher alcohols in plum distilled spirits (*slivovitz*) from Yugoslavia, in grape distilled spirits (*pingo*) from Chile and in banana distilled spirits from Brazil.

In all analysed samples n-propanol, isobutanol and isoamylic alcohols were found. In addition, n-butanol and 2-butanol were identified in all *slivovitz* samples and in some *pingo* samples. Peak areas and responses relative to 2-pentanol as an internal standard were used to calculate the concentration of the alcohols.

The contents of n-propanol, isobutanol and isoamylic alcohols in *slivovitz* samples varied from a minimum of 31.64; 14.20 and 38.10 to a maximum of 56.80; 31.20 and 78.80 mg/100 ml respectively. In *pingo* samples the contents of those alcohols varied from 5.50; 9.40 and 33.40 to 18.50; 40.70 and 108.80 mg/100 ml respectively and in banana spirits the variation was from 5.20; 14.00 and 45.60 to 7.00; 15.92 and 56.04 mg/100 ml. All those results considered, we emphasize that the contents of n-propanol found in all *slivovitz* samples was higher than those found in grape and banana spirits, being also higher than the results reported by several authors as to the contents of n-propanol in whisky, rum, brandy and cognac.

DESCRIPTORS: higher alcohols, determination; gas-liquid chromatography of higher alcohols; fruit distilled spirits.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, M.E.W. & BARRETTO, H. H.C. — Álcoois superiores em aguardente de cana por cromatografia em fase gasosa. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 31: 117-24, 1971.
2. deBECZE, G.I.; SMITH, H.F. & VAUGHN, T.E. — Use of gas chromatography in distillery research and control. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 50: 311-9, 1967.
3. MARTIN, G.E. & CARESS, E.A. — Ethyl acetate and fusel oil determination in distilled spirits by gas-liquid chromatography and confirmation by mass spectrometry. *J. Sci. Fd Agric.*, 22: 587-9, 1971.
4. MARTIN, G.E.; CAGGIANO, G. & SCHLESINGER, H.C. — Fusel oil determination by gas-liquid chromatography. *J. Ass. off. agric. Chem.*, 46: 294-7, 1963.
5. MAUREL, A.; SANSOULET, O. & GIFFARD, Y. — Étude chimique et examen chromatographique en phase gazeuse des rhums. *Annls Falsif. Expert. chim.*, 58: 291-301, 1965.
6. NYKANEN, L.; PUPUTTI, E. & SUOMALAINEN, H. — Composition of the aroma in some brands of whisky and rum analysed by customary methods and by gas chromatography. *Kemian Teollisuus*, 25(5): 399-404, 1968.
7. SINGER, D.D. — The analysis and composition of potable spirits: determination of C₃, C₄ and C₅ alcohols in whisky and brandy by direct gas chromatography. *Analyst*, 91: 127-34, 1966.
8. SUOMALAINEN, H. & NYKANEN, L. — The aroma composition of alcoholic beverages. [36^e Congrès International de Chimie Industrielle, Bruxelles, 1966. *Compt. Rend.*, vol. 3, 1967, p. 807-811].

Recebido para publicação em 25 de julho de 1973.