

ALCOOIS SUPERIORES EM AGUARDENTE DE CANA POR CROMATOGRAFIA EM FASE GASOSA (1)

HIGHER ALCOHOLS IN SUGAR CANE POTABLE SPIRITS BY DIRECT GAS CHROMATOGRAPHY

MARIA ELISA WOHLERS DE ALMEIDA (2)
HELOISA HELENA CORBE BARRETTO (2)

SUMMARY

Direct gas chromatography with flame ionization detector was applied for the determination of higher alcohols in sugar cane potable spirits.

All the 60 samples analysed contained n-propanol, isobutanol and isoamyl alcohol. Peak areas and responses relative to 2-pentanol as an internal standard were used to calculate concentrations of the individual alcohols.

The concentration of n-propanol, isobutanol and isoamyl alcohol varied from 7.00, 6.40 and 19.60 to 65.20, 36.60 and 98.50 mg/100 ml of the sample, respectively.

A large amount of n-propanol and n-butanol occurred in inferior quality spirits; in some of them 2-butanol and probably 2-methyl-2-butanol also occurred.

INTRODUÇÃO

O consumo de aguardente de cana é hábito amplamente difundido no país, principalmente entre a população de menor poder aquisitivo, visto ser a bebida de preço relativamente baixo.

Nos tempos coloniais, a aguardente era produzida nas fazendas, em pequenos engenhos; hoje em dia, entretanto, as destilarias se acham espalhadas por toda a parte, produzindo mais de mil litros de aguardente por hora.

As bebidas alcoólicas fermento-destiladas distinguem-se umas das outras pela presença de componentes secundários que formam um "bouquet" característico de cada tipo de bebida. Estes componentes secundários

se formam juntamente com álcool etílico durante o processo de fermentação do mosto, mudam de caráter e proporção durante a destilação e posterior maturação do produto. Assim, durante o processo de envelhecimento de bebidas fortemente alcoólicas, os aldeídos reagem com álcool etílico formando acetais, suavizando, dessa maneira, o odor pungente dos aldeídos.

Os compostos aromáticos responsáveis pelo flavor, isto é, pelo aroma e sabor das bebidas, são constituídos principalmente por álcoois, aldeídos, ácidos graxos e ésteres.

É prática normal entre os analistas de bebidas alcoólicas, e o mesmo consta de legislações específicas, avaliar somente grupo de componentes e não componentes individuais,

(1) Trabalho apresentado à 23.^a Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Curitiba, Paraná, de 4 a 10 de julho de 1971.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

devido à dificuldade de separação e ao tempo exigido para a execução de métodos clássicos.

Assim, os aldeídos são determinados em conjunto e expressos em aldeído acético; ácidos, em ácido acético; ésteres, em acetato de etila, e alcoois superiores, em isobutanol. Somente o furfural é comumente determinado individualmente.

Com o advento da técnica de cromatografia em fase gasosa, um novo e amplo campo surgiu na química analítica; entretanto, muitos anos decorreram desde a publicação dos trabalhos iniciais de MARTIN e JAMES¹ até o aparecimento dos primeiros trabalhos visando a determinação de componentes individuais constituintes de diferentes bebidas alcoólicas^{2, 4, 5, 6}.

MATERIAL E MÉTODOS

Com a finalidade de identificar e dosar os alcoois superiores, analisamos 60 amostras de aguardente de cana de marcas diferentes, provenientes de várias regiões do país, principalmente do Estado de São Paulo e do Estado do Rio de Janeiro.

A maioria das amostras foi adquirida no comércio e algumas colhidas nas próprias destilarias.

O aparelho usado para as análises foi um cromatógrafo a gás da marca Varian, modelo 2100, com detector de ionização de chama. Foi utilizada uma coluna de 15 pés de comprimento e 1/8 de polegada de diâmetro interno tendo como fase estacionária Halcomid M18, em Chromosorb W. As condições de operação foram as seguintes: 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 componentes

5 μ l foram injetados diretamente no cromatógrafo e os alcoois foram identificados por comparação dos tempos de retenção obtidos com os tempos de retenção de padrões

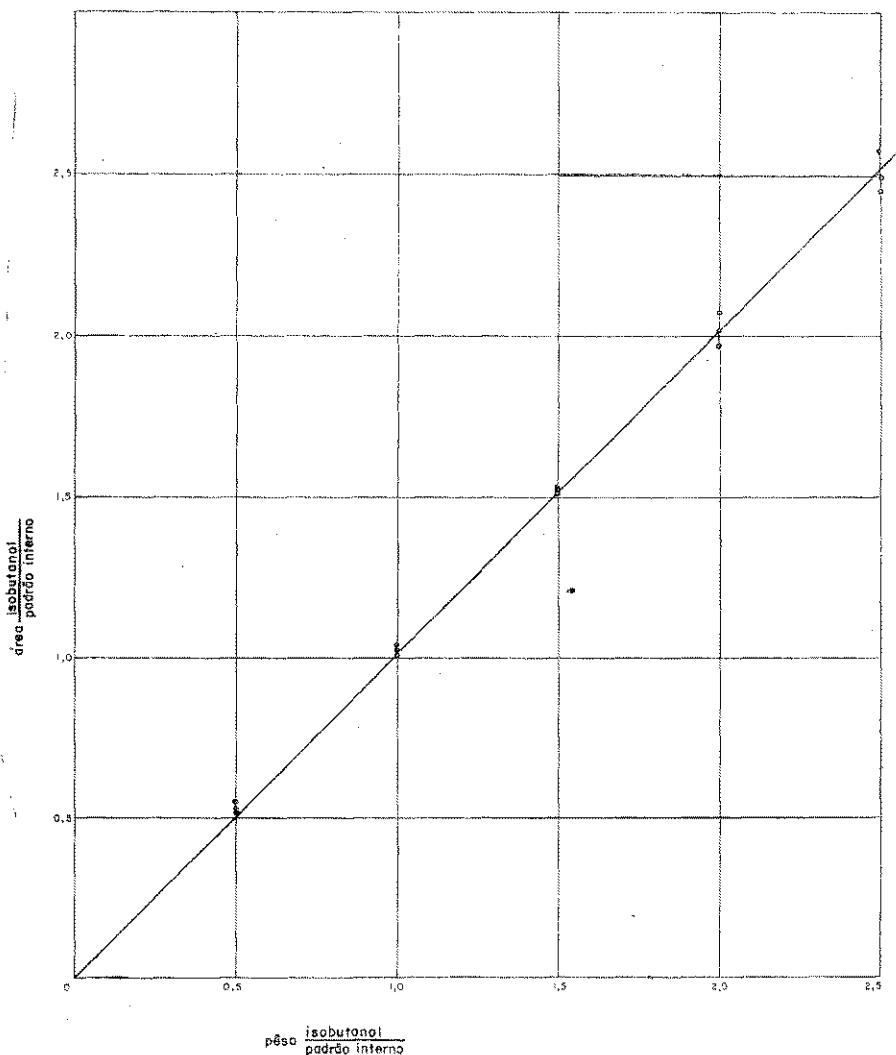
injetados e, ainda, pela adição às amostras de padrões do álcool suposto. A identificação dos alcoois também foi efetuada e confirmada pelo emprêgo de duas colunas diferentes: Carbowax 20M e F.F.A.P.

Dosagem dos componentes

Para a determinação quantitativa dos alcoois superiores o método empregado foi o da padronização interna². A escolha deste processo de calibração indireta foi baseada no fato de que os resultados obtidos não dependem da sensibilidade do detector, isto é, a resposta do detector pode variar sem alterar os resultados pois, na avaliação dos mesmos, trabalha-se com a relação da área do componente e do padrão interno e não com a área absoluta do pico do componente. Isto evita que se preparem curvas padrões diariamente ou constantemente, como é necessário quando se trabalha com o processo de calibração absoluta. Outra vantagem do emprêgo do método de padronização interna é que a quantidade da amostra injetada não precisa ser exatamente medida ou conhecida e, ainda, o método pode ser aplicado dentro de limites grandes de concentração. A dificuldade maior do processo consiste na escolha do padrão interno, que não deve interferir com qualquer componente da amostra; o padrão deve, no cromatograma, ficar separado dos outros picos, mas emergir próximo dos picos de interesse e, ainda, ter similaridade estrutural com os componentes que se deseja calcular.

SINGER⁷ usou n-pentanol como padrão interno na determinação de alcoois de C₃ a C₅ em whiskies e conhaques; entretanto, não achamos conveniente o emprêgo deste padrão porque ele emerge depois do álcool isoamílico, com um tempo de retenção muito grande e sob a forma de um pico de base larga, característico de substâncias com tempo de retenção elevado.

MARTIN³ na determinação de alcoois superiores em óleo de "fusel" e whiskies usou n-butanol como padrão interno; entretanto, várias amostras por nós analisadas continham n-butanol, o que impossibilitou o emprêgo desse padrão.



L.A.L. - 5 Dez. - VARA L.200-1971

Fig. 1 — Curva de calibração para Isobutanol.

Selecionamos, finalmente, 2-pentanol como padrão interno, por apresentar as condições ideais. Tanto o padrão interno como os álcoois usados no preparo da curva padrão foram fornecidos por "PolyScience Corporation-Analytical Standards".

Para o emprêgo do processo por meio de um padrão interno, deve-se previamente construir uma curva com soluções de concentrações conhecidas dos componentes, contendo sempre uma quantidade constante do padrão interno. No preparo da mistura dos componentes deve-se levar em consideração que

suas concentrações precisam abranger tôda a faixa de concentração do componente que se espera encontrar nas amostras a serem analisadas.

Preparadas as misturas, elas são cromatografadas e as áreas dos picos são calculadas. Constroi-se um gráfico colocando-se a relação entre os pesos do componente e do padrão interno contra a relação entre a área do pico do componente e a área do padrão.

Na prática, operamos da seguinte maneira; Foram preparadas misturas de diferentes

concentrações dos componentes n-propanol, isobutanol e álcool isoamílico usando como solvente álcool etílico a 43 por cento, em água, v/v. A escolha do álcool a 43% para o preparo das soluções foi baseada na determinação do grau alcoólico de aguardentes de cana, efetuada em análises de rotina no Instituto Adolfo Lutz, que demonstrou ser 43 o grau alcoólico encontrado com maior frequência. Trabalhando sempre com êsse teor alcoólico, procuramos reproduzir as mesmas condições de álcool etílico e água das aguardentes, evitando variações nas respostas do detector.

Para o preparo da curva de calibração, a concentração das soluções padrões foi de 0,1% p/v, para n-propanol e isobutanol e de 0,2% p/v, para álcool isoamílico. A partir destas soluções foram feitas diluições adequadas para o preparo das curvas. A concentração da solução do padrão interno, 2-pentanol, foi de 0,4% p/v, e a quantidade adicionada às soluções dos componentes foi calculada de maneira que 5 μ l da solução contivessem, sempre, 1 μ g de 2-pentanol.

A figura 1 mostra a curva de calibração para isobutanol.

Determinação dos álcoois superiores

A 10 ml da amostra foi adicionado 0,1 ml de uma solução de 2-pentanol a 2% p/v; 5 μ l desta solução, contendo 1 μ g do padrão interno, foram injetados no cromatógrafo. As áreas obtidas foram medidas e calculada 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 adicionado é conhecida, por simples cálculo determinou-se a quantidade do componente presente na amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em tôdas as amostras analisadas foram encontrados os álcoois n-propanol, isobutanol e isoamílico.

Os valores encontrados para n-propanol, reunidos no Quadro I, variaram de um mí-

QUADRO I

n-Propanol: Distribuição de frequência (fi) dos valores encontrados em aguardentes de cana. (Brasil — 1971)

n-Propanol mg/100 ml		
Intervalo		fi
0 --- 10,00		3
10,00 --- 20,00		17
20,00 --- 30,00		17
30,00 --- 40,00		10
40,00 --- 50,00		4
50,00 --- 60,00		2
60,00 --- 70,00		7
		60

nimo de 7,00 a um máximo de 65,20 mg por 100 ml da amostra, sendo a média aritmética (\bar{x}) igual a 29,83, o desvio padrão (s), 16,83 e a mediana, 24,00 mg/100 ml (fig. 2).

O aspecto irregular da curva construída com os valores obtidos para n-propanol, um desvio padrão grande e a mediana situada longe da média aritmética evidenciam uma grande variabilidade da quantidade de n-propanol encontrado nas amostras.

Na realidade, as amostras classificadas por seus caracteres organoléuticos como aguardentes de qualidade inferior apresentaram sempre um teor muito elevado de n-propanol. Isto explica a existência de dois agrupamentos de valores na distribuição, correspondendo a uma curva bimodal (fig. 2); o primeiro, devido a aguardentes de melhor qualidade, contendo um teor menor de n-propanol e o segundo, devido a um grupo de amostras de qualidade inferior.

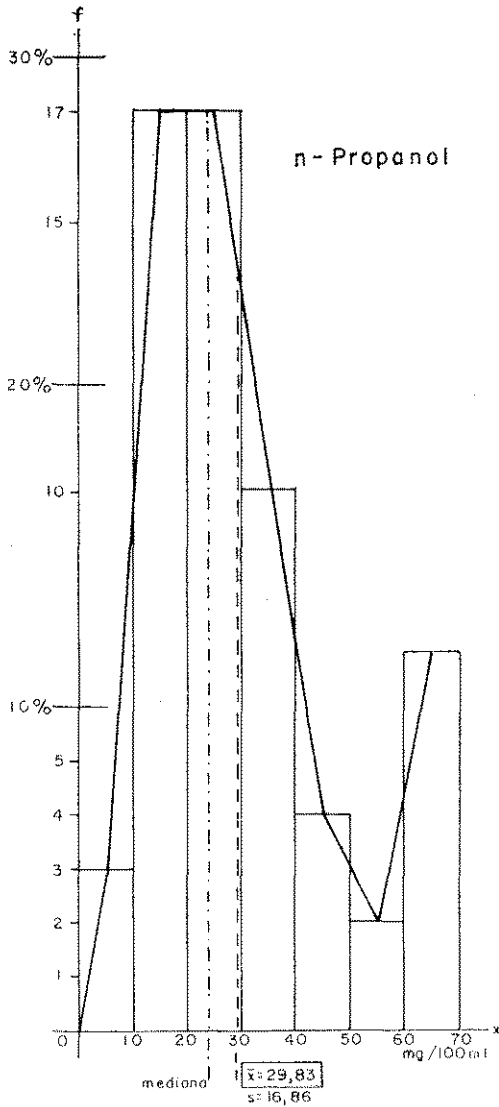


Fig. 2 — Gráfico do teor de n-Propanol em 60 amostras de aguardente de cana

Os valores encontrados para isobutanol, reunidos no quadro II, variaram de um mínimo de 6,40 a um máximo de 36,60 mg por 100 ml da amostra, sendo a média aritmética (\bar{x}) igual a 19,25, o desvio padrão (s), 6,69 e a mediana 19,00 mg/100 ml (fig. 3).

O aspecto da curva (fig. 3) construída com os valores obtidos para isobutanol e a média aritmética que praticamente se confunde com a mediana indicam uma distribuição normal do conteúdo de isobutanol encontrado nas amostras analisadas.

QUADRO II

Isobutanol: Distribuição de frequência (fi) dos valores encontrados em aguardentes de cana. (Brasil — 1971)

Isobutanol mg/100 ml		
Intervalo		fi
0	5,00	0
5,00	10,00	4
10,00	15,00	9
15,00	20,00	26
20,00	25,00	11
25,00	30,00	5
30,00	35,00	3
35,00	40,00	2
		60

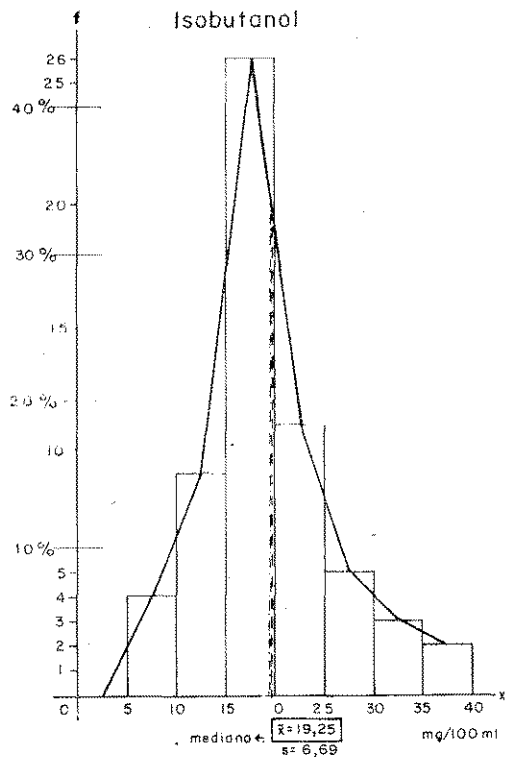


Fig. 3 Gráfico do teor de Isobutanol em 60 amostras de aguardente de cana.

Quanto ao álcool isoamílico, os valores encontrados, reunidos no quadro III, variaram de um mínimo de 19,60 a um máximo de 98,50 mg por 100 ml da amostra, sendo a média aritmética (\bar{x}) igual a 57,33, o desvio padrão (s), 17,83 e a mediana 56,00 mg/100 ml (fig. 4).

QUADRO III

Alcool Isoamílico: *Distribuição de freqüência (fi) dos valores encontrados em aguardentes de cana. (Brasil — 1971)*

Alcool Isoamílico mg/100 ml		fi
Intervalo		
0	10,00	0
10,00	20,00	1
20,00	30,00	2
30,00	40,00	4
40,00	50,00	13
50,00	60,00	17
60,00	70,00	11
70,00	80,00	5
80,00	90,00	4
90,00	100,00	3
		60

O aspecto das curvas de freqüência dos valores de isobutanol e de álcool amílico mostra uma distribuição aproximadamente normal destes dois componentes; o teor destes álcoois, portanto, parece não interferir na qualidade das aguardentes.

Nas amostras de aguardentes de cana consideradas de boa qualidade por seus caracteres organoléticos, foram encontrados somente os álcoois superiores n-propanol, isobu-

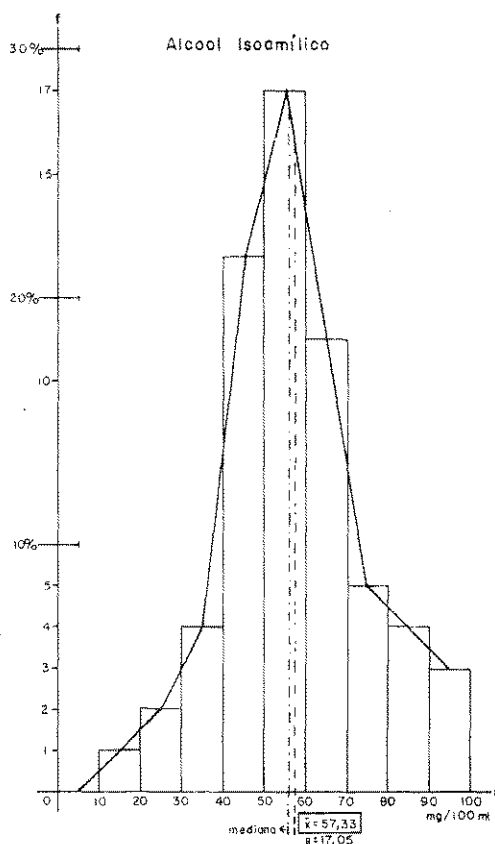


Fig. 4 — Gráfico do teor de álcool Isoamílico em 60 amostras de aguardente de cana.

tanol e isoamílico (fig. 5). Todas as amostras consideradas de qualidade inferior apresentaram um teor elevado de n-propanol e em muitas foi constatada a presença de n-butanol. No cromatograma de algumas amostras emergiram mais 2 picos sendo um deles identificado como 2-butanol e o outro, pelo seu tempo de retenção, parece corresponder a 2-metil-2-butanol; entretanto, sua confirmação depende de experiências complementares (Fig. 6).

Foi constatada, também, no cromatograma de todas as aguardentes analisadas, a presença de outros dois picos; o primeiro deles, pequeno, emergindo no cromatograma logo após o álcool etílico e o segundo, de tamanho variável, emergindo depois do álcool isoamílico. Estes componentes não foram identificados por não possuímos padrões correspondentes; entretanto, podemos afirmar não se tratar de álcool de C₃ a C₅ ou de l-hexanol.

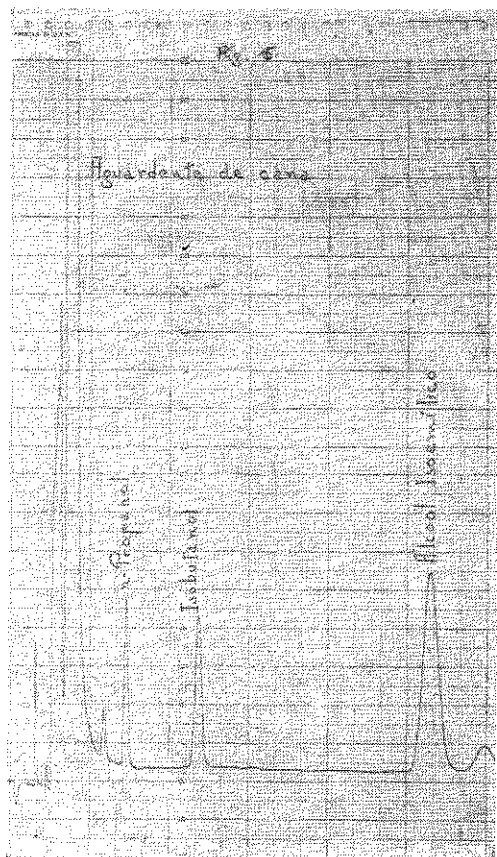


Fig. 5 — Cromatograma de uma aguardente de cana classificada de boa qualidade por seus caracteres organoléticos.

Não foram encontrados na literatura ao nosso alcance, dados referentes à dosagem isolada dos álcoois superiores em aguardentes de cana, porém, comparando os nossos dados, com os obtidos em análises de várias amostras de whisky escocês, por nós realizadas, constatamos nestes também, a presença dos mesmos álcoois superiores encontrados nas aguardentes de cana consideradas de boa qualidade e em teor dentro dos mesmos limites (fig. 7).

CONCLUSÃO

A determinação qualitativa e quantitativa dos álcoois superiores permitiu verificar que as aguardentes de cana consideradas de boa qualidade apresentam somente os álcoois n-propanol, isobutanol e isoamílico. As

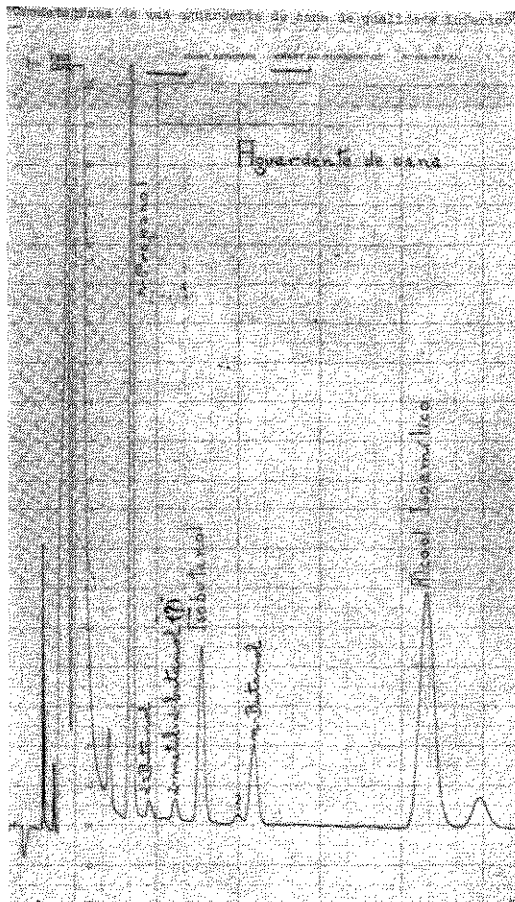


Fig. 6 — Cromatograma de uma aguardente de cana de qualidade inferior.

amostras de qualidade inferior apresentaram sempre um teor elevado de n-propanol; em muitas foi constatada a presença de n-butanol e, em algumas, foi identificado 2-butanol e, provavelmente, 2-metil-2-butanol.

Os resultados obtidos indicam que grande parte de nossa aguardente de cana não tem um padrão de qualidade definido quanto ao conteúdo de álcoois superiores. O fato de ser produto largamente consumido e a obtenção de lucros fáceis por parte de alguns industriais fazem com que os produtores não se interessem em introduzir uma tecnologia adequada de fermentação e de destilação e posterior envelhecimento do produto. Uma tecnologia adequada levaria à obtenção de um produto com características organoléticas agradáveis e demais características químicas definidas, com capacidade

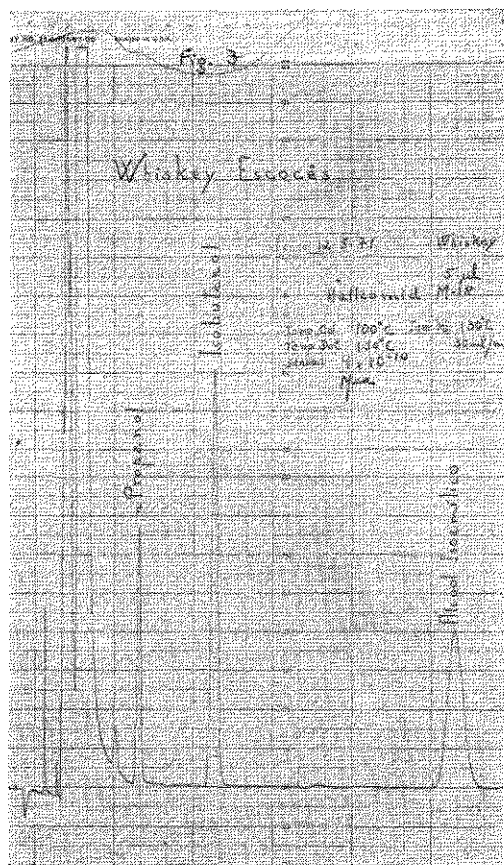


Fig. 7 — Cromatograma de whisky escocês.

de competir com outras bebidas fermento-destiladas e possibilidades de se transformar, ainda, em produto de exportação.

RESUMO

A cromatografia em fase gasosa com detector de ionização de chama foi aplicada para a pesquisa e dosagem de álcoois superiores em aguardentes de cana.

Em 60 amostras analisadas, provenientes de diferentes regiões do país, foram sempre identificados os álcoois n-propanol, isobuta-

nol e isoamílico; os teores variaram de um mínimo de 7,00, 6,40 e 19,60 a um máximo de 65,20, 36,60 e 98,50 mg/100 ml da amostra, respectivamente. Para a dosagem foi usado 2-pentanol como padrão interno. As aguardentes classificadas, por seus caracteres organoléticos como de boa qualidade, apresentaram somente os 3 álcoois superiores acima referidos. As amostras de qualidade inferior apresentaram um teor elevado de n-propanol; em muitas foi identificado n-butanol e em algumas foi verificada a presença de 2-butanol e provavelmente, de 2-metil-2-butanol.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. JAMES, A. T. & MARTIN, A. J. P. — Gas liquid partition chromatography — a technique for the analysis of volatile materials. *Analyst*, Lond., 77:915-32, 1952.
2. McNAIR, H. M. & BONELLI, E. J. — Basic gas chromatography. 5ed. Consolid. Printers, California, 1969. p. 150-1.
3. MARTIN, G. E.; CAGGIANO, G. & SCHLESINGER, H. C. — Fusel oil determination by gas-liquid chromatography. *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.*, 46:294-7, 1963.
4. MARTIN, G. E.; SCHOENEMAN, R. L. & SCHLESINGER, H. I. — Determination of esters in whisky by gas-liquid chromatography. *J. Assoc. Offic. Agric. Chem.*, 47:712-3, 1964.
5. MAUREL, A.; SANSOULET, O. & GIFFARD, Y. — Etude chimique et examen chromatographique en phase gazeuse des rhums. *Annls. Falsif. Expert. Chim.*, 58:291-301, 1965.
6. SINGER, D. D. & STILES, J. W. — The determination of higher alcohols in potable spirits: comparison of colorimetric and gas-chromatographic methods. *Analyst*, Lond., 90:290-6, 1965.
7. SINGER, D. D. — The analysis and composition of potable spirits: determination of C₄, C₅ and C₆ alcohols in whisky and brandy by direct gas chromatography. *Analyst*, Lond., 91:127-34, 1966.

Recebido para publicação em 6 de setembro de 1971.