

OCORRÊNCIA DO DIETILACETAL
EM AGUARDENTES

POR

M. C. CLÍMACO
A. P. BELCHIOR
M. VILLAS-BOAS (1)

Com a colaboração técnica de

R. M. BELCHIOR
E. C. DE CARVALHO

INTRODUÇÃO

O problema da ocorrência do dietilacetil em aguardentes, pôs-se-nos em 1973, quando verificámos, que o teor em acetato de etilo de algumas aguardentes bagaceiras, determinado por cromatografia em fase gasosa numa coluna de FFAP, era superior ao teor em esteres totais, determinado pelo método descrito por AMERINE e CRUESS (1960).

Depois de vários estudos chegámos à conclusão, de que esta anomalia era devido à formação nas aguardentes de dietilacetil, que na coluna referida, tem o mesmo tempo de retenção que o acetato de etilo.

O estudo nas nossas aguardentes da reacção de acetalização, bem como a valorização da sua influência na qualidade das mesmas, foram o objectivo deste trabalho.

(1) Endereço actual: Dep. of Psychiatry — Yale D. School of Medicine.
New Haven. CONNECTICUT. U. S. A.

Recebido para publicação em 29/6/77.

MATERIAL E MÉTODOS

- Cromatógrafo Perkin-Elmer mod. 990 com registador Hitachi-Perkin-Elmer mod. 159.
- Coluna SP1000 sobre chromosorb W AW 100-120 mesh de aço inoxidável com 1/8" de diâmetro externo e 4 m de comprimento.
- Coluna 2 % diglicerol + 2 % 1, 2, 6 — hexanotriol sobre chromosorb P 100-120 mesh de aço inoxidável com 1/8" de diâmetro externo e 3 m de comprimento.
- Aguardentes bagaceiras e vînicas produzidas no CNEV em 1975 e 1976.

Análise por cromatografia em fase gasosa de soluções hidroalcoólicas e de aguardentes por injeção directa. As determinações quantitativas foram feitas pelo método do padrão interno, tendo-se utilizado o pentanol-3 que tem um tempo de retenção inferior ao do metil-2-butanol-1 nas colunas referidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Soluções hidroalcoólicas

Fizeram-se ensaios em soluções hidroalcoólicas a 10 e a 50 % com a mesma concentração (Quadro I) e com concentrações crescentes de acetaldeido (Quadro II). Estudou-se a influência da temperatura (Quadro I e II) e do pH (Quadro III) na formação do dietilacetal.

Verificou-se assim que a quantidade de dietilacetal formado é função do teor em etanol (Quadro I), em actedaldeido (Quadro II) e que é superior à temperatura ambiente (Quadro I e II), o que não está de acordo com PEYNAUD (1938).

Por outro lado, observou-se, que a formação de dietilacetal é superior para pH mais baixos, o que confirma os resultados obtidos por MORRISSON (1962).

Aguardentes

Fizeram-se dois ensaios em aguardentes (uma vînica e uma bagaceira) acompanhando a evolução do teor em dietilacetal:

um ao longo de 30 dias (Quadro IV) e o outro no intervalo de 12 meses (Quadro V).

Verificou-se assim que: não existe dietilacetal logo após a destilação; que este composto se forma em teores muito mais

QUADRO I

Influência da concentração em etanol na formação do acetal

Dia	h/h'			
	Sol. hidroalc. 50 %		Sol. hidroalc. 10 %	
	T. A.	4° C	T. A.	4° C
1.º	—	—	—	—
2.º	0,10	—	0,05	—
4.º	0,35	0,06	0,17	0,04
7.º	0,75	0,14	0,27	0,07
8.º	0,94	0,15	0,30	0,09
10.º	1,18	0,20	0,33	0,13
11.º	1,33	0,19	0,29	0,11
13.º	1,93	0,29	0,36	0,18
14.º	1,84	0,33	0,34	0,20
15.º	2,12	0,37	0,36	0,18
19.º	2,73	0,50	0,34	0,22
20.º	2,50	0,44	0,38	0,22
21.º	3,65	0,61	0,30	0,22
25.º	4,07	0,53	0,29	0,21
32.º	5,86	0,87	0,33	0,36
33.º	5,00	0,86	0,29	0,27
34.º	5,77	0,97	0,29	0,28

h — altura do pico do dietilacetal.
 h' — altura do pico do acetaldeido.
 — — não foi detectada a presença de dietilacetal.
 T. A. — temperatura ambiente.

elevados na aguardente bagaceira do que na vînica; a influência da temperatura é bastante significativa durante o primeiro mês de armazenagem, mas é diminuta ao fim de 12 meses.

Observámos nos cromatogramas de aguardente bagaceira com 12 meses o aparecimento de dois picos, além do dietilacetal ($t_R = 29$ mm), respectivamente com $t_R = 21$ mm e $t_R = 26$ mm. Pusémos a hipótese de se tratar de acetais provenientes da reacção do actaldeido com o metanol e/ou da reacção do ace-

taldeido simultaneamente com o metanol e o etanol. Sintetizámos estes acetais adoptando o método descrito por GALETO (1966).

A análise cromatográfica mostrou que provavelmente o pico com $t_R = 21$ mm é o dimetilacetal, e não permitiu fazer qualquer aproximação à identificação do pico a $t_R = 26$ mm.

QUADRO II

Influência da concentração em acetaldeído na formação do acetal

Dia	h/h'					
	Acetaldeído 3100 mg/l		Acetaldeído 6200 mg/l		Acetaldeído 9200 mg/l	
	T. A.	40° C	T. A.	40° C	T. A.	40° C
1.º	—	—	—	—	—	—
3.º	—	—	0,68	0,14	0,75	0,11
4.º	—	—	0,90	0,18	0,83	0,24
6.º	—	—	1,36	0,33	1,61	0,39
10.º	0,07	—	2,87	0,68	3,52	0,70
12.º	0,13	—	3,40	0,76	3,81	0,83
14.º	0,12	—	3,66	0,92	3,82	1,03
18.º	0,17	0,04	4,33	1,04	5,05	1,24
19.º	0,15	0,02	4,89	1,15	5,67	1,21
20.º	0,19	0,03	5,68	1,31	5,29	1,51
24.º	0,17	0,03	5,81	1,04	5,29	1,11
26.º	0,22	0,07	6,78	1,94	6,54	1,68
31.º	0,32	0,07	8,10	1,82	7,30	1,78
33.º	0,31	0,08	7,41	2,10	7,50	1,85

h — altura do pico de dietilacetal.
 h' — altura do pico de acetaldeído.
 — — não foi detectada a presença de dietilacetal.
 T. A. — temperatura ambiente.

Foi realizada uma prova de aguardentes (vínica e bagaceira) tal e qual e adicionada de dietilacetal, que mostrou que a presença deste composto na bagaceira acentua muito ligeiramente o aroma pesado e de certo modo pungente desta, enquanto que na vínica há alteração nítida de aroma. A aguardente vínica adicionada de dietilacetal apresenta um aroma pesado (lembra bagaço) perdendo a finura e o frutado; na boca a diferença é idêntica.

QUADRO III

Influência do pH na formação do dietilacetal

Dia	Sol. hidroalc. 10% h Acetal/h P. I.						Sol. hidroalc. 50% h Acetal/h P. I.								
	Acetaldeído 390 mg/l		Acetaldeído 780 mg/l		Acetaldeído 1560 mg/l		Acetaldeído 390 mg/l		Acetaldeído 780 mg/l		Acetaldeído 1560 mg/l				
	pH 7	pH 6	pH 7	pH 6	pH 7	pH 6	pH 8	pH 6	pH 8	pH 6	pH 8				
19.º	—	0,02	—	—	0,03	—	—	—	—	—	—	0,06	—	—	0,27
20.º	—	—	—	—	0,03	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25.º	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26.º	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28.º	—	—	—	—	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
32.º	—	—	—	—	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
35.º	—	—	—	—	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
39.º	—	—	—	—	0,04	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
41.º	—	—	—	—	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
43.º	—	—	—	—	0,05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
45.º	—	—	—	—	0,06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
54.º	—	—	—	—	0,06	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

— não foi detectada a presença de dietilacetal.

QUADRO IV

Evolução do teor em acetal nas aguardentes ao longo de 30 dias

Dia	Bagaceira Conc. Acetal (mg/l)		Vínica Conc. Acetal (mg/l)	
	T. A.	4° C	T. A.	4° C
1.º	34,0		8,3	
2.º	108,5		13,7	7,3
5.º				
6.º	240,5	68,0	25,0	10,0
8.º	256,0			
9.º			28,7	9,0
13.º	319,0	120,0	38,1	16,7
14.º				
15.º	388,0	133,0		17,0
16.º				
21.º			50,0	27,0
22.º	489,4	190,0		
23.º				
28.º	576,5	230,5		
29.º				
30.º	544,0	226,0		

QUADRO V

Evolução do teor em acetal nas aguardentes num ano

Aguardente	Conc. Dietilacetal (mg/l)	
	Após destilação	12 meses
Vínica T. A.	—	598,8
Vínica 4° C	—	454,1
Bagaceira T. A.	—	757,0
Bagaceira 4° C	—	739,8

— Não foi detectada a presença de dietilacetal.

RESUMO

Estudo da formação do dietilacetal em aguardentes bagaceiras e vónicas. Verificou-se que este composto não existe nas aguardentes logo após a destilação, vai-se formando ao longo do tempo e que o seu teor aumenta com o grau alcoólico, com a concentração em acetaldeído na aguardente e é tanto maior quanto mais elevada for a temperatura a que a aguardente está armazenada, e quanto menor for o pH desta.

Observou-se a possível formação de outros acetais provenientes da reacção do actaldeído com outros álcoois.

RÉSUMÉ

Étude de la formation du diethylacetal dans les eaux-de-vie de marc et de vin.

On a vérifié que se composé est absent aussitôt distillation mais il se forme avec le temp et son teneur augmente avec le degré alcoolique, la concentration de l'acetaldehyde, l'elevation de temperature pendant le sejour en verre et aussi avec la baisse du pH.

On a observé la formation possible d'autres acetals par la reaction de l'acetaldehyde avec d'autres alcools.

SUMMARY

Research of the coming out of diethylacetal in brandies.

It has been verified that this compound does not exist in brandies immediately after distillation. Instead, it comes out in time.

The quantity increases with alcohol percent and diethylacetal concentration in the brandy. This will become as high as the temperature of the brandy in store be elevated and, as minor as will be its pH.

It has been observed the possible appearance of others acetals. This is the result of acetaldehyde's reaction with others alcohols.

BIBLIOGRAFIA

- PEYNAUD, E. and MAURIE, A.
1938 L'acetal dans les eaux-de-vie. Son dosage volumétrique. Réaction de acetalisation. *Bull. O. I. V.* 118: 42-46.
- AMERINE, M. A. and CRUESS, W. V.
1960 *Technology of wine Making.* pag. 641. The Avi Publishing Company, Inc. (1960).
- MORRISON, L.-L.
1962 The determination of acetaldehyde in high proof fortifying spirits beverage brandy and wine. *Am. Jour of En. and Vit.* 13 (4): 159-168.
- GALETO, W. G.; WEBB, A. D. and KEPNER, R. E.
1966 Identification of some acetals in an extract of submerged-culture flor sherry. *Am. Jour of En. and Vit.* 17 (1): 11-19.

TÉCNICA DE FRACCIONAMENTO DE AMOSTRAS
POR CROMATOGRAFIA PREPARATIVA
EM FASE GASOSA

POR

M. VILAS-BOAS (1)
M. C. CLÍMACO

INTRODUÇÃO

DEVIDO à grande complexidade dos extractos em solventes orgânicos que possuímos para o estudo de aromas de mostos e vinhos, tivemos necessidade de separar aquelas amostras em fracções, de modo a mais facilmente isolarmos e identificarmos os seus diversos componentes de interesse para esse mesmo aroma, evitando tanto quanto possível o recurso a tratamentos químicos e físicos dos extractos, o que levaria a uma possível alteração da sua composição qualitativa e quantitativa.

Ao procurarmos uma técnica que nos possibilitasse um fraccionamento das amostras nas condições desejadas, recorremos ao método para o efeito descrito no manual de instruções de cromatógrafo Perkin-Elmer — 881, Secção IV-C — 1, e à técnica directamente observada em execução no laboratório do Prof. TERRY ACREE, no Departamento de Food Science and Technology, em New York State Agricultural Experiment Station.

MATERIAL E MÉTODOS

- Cromatógrafo Perkin-Elmer 881.
- Splitter n.º 3 (separação de 80 % do fluxo à saída da coluna para o exterior e 20 % para o detector).

(1) Endereço actual: Dep. of Psychiatry — Yale D. School of Medicine. New Haven. CONNECTICUT. U. S. A.

Recebido para publicação em 26/6/75.

- Agulha hipodérmica Cr-Ni 40.08.
- Tubos capilares de 30 cm de comprimento e diâmetro externo 1,5 mm, dobrados do modo indicado na figura 1.
- Seringa Hamilton de 100 μ l.
- Seringa Hamilton de 10 μ l.

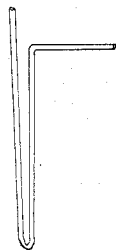


Fig. 1

Cromatografia preparativa

Colunas:

- Sens — 20 % carbowax 20 M s/ AW chromosorb W,
40-60 mes. Comprimento — 4 m
Diâmetro externo — 1/4"
- Ref. — 10 % Carbowax 20 M s/ AW chromosorb W
80-100 mesh. Comprimento — 2 m
Diâmetro externo — 1/8"
- Temperatura do injector — 220° C
- Temperatura do detector — 170° C
- Volume de injeção — 20-45 μ l
- Temperatura do forno — inicial — 90° C por 5 min.
programada até 200° C, à
velocidade de 2° C/min.
- Fluxo de gás arrastador (N₂) — sens — 70 ml/min.
ref. — 6,5 ml/min.

NOTA — Na altura em que este trabalho foi executado, não nos foi tecnicamente possível ter uma segunda coluna de 1/4"; tivemos por isso que utilizar como coluna de referência uma de 1/8" e, conseqüentemente o equilíbrio de fluxos de N₂ teve que ser estabelecido por tentativas, obtendo-se apesar disso linhas de base suficientemente estáveis.

Cromatografia analítica

Utilizámos vários tipos diferentes de colunas cromatográficas (todas de 1/8" de diâmetro externo) e, para cada uma delas, diferentes condições de fluxo de N₂ e temperaturas, na tentativa de separação e identificação de componentes das fracções separadas por cromatografia preparativa.

Técnica de recolha de fracções

A extremidade de tubo do Splitter N.º 3 destaca-se da superfície do cromatógrafo cerca de 0,5 cm; a esta extremidade adaptou-se a agulha hipodérmica.

Tendo sido previamente determinadas as zonas do cromatograma das quais se pretendia recolher fracções, introduziu-se a agulha no ramo horizontal do tubo capilar (o mais profundamente possível), no momento exacto em que o registador assinalou a chegada dessa fracção ao detector. Ao mesmo tempo, o ramo em U foi mergulhado numa mistura frigorífica constituída por acetona e neve carbónica (temperatura de cerca de -30° C). Retirou-se o tubo da agulha no momento em que a fracção acabava de sair, sendo ambas as extremidades do capilar fechadas com fita de «TEFLON».

Esta operação foi repetida por três vezes, para cada fracção sendo a recolha de cada uma delas feita sempre no mesmo tubo capilar, de modo a obter-se uma maior concentração da substância.

Cada tubo foi seguidamente armazenado no congelador frigorífico (temperatura cerca de -16° C).

Para a análise qualitativa das fracções recolhidas, cada um dos capilares foi lavado com 10-15 μ l do solvente da amostra inicial, introduzido no interior do tubo pelo ramo horizontal, com o auxílio de uma seringa Hamilton.

Através da extremidade oposta à da introdução do líquido, retiraram-se dos tubos fracções de cerca de 3 μ l, que foram injectadas nas diversas colunas analíticas.

CONCLUSÕES

Esta técnica mostrou-se satisfatória e de execução fácil, tendo-se com ela obtido recolhas em quantidade suficiente para a cromatografia analítica subsequente. Deste modo conseguem-se efectivamente fazer aproximações à identificação de componentes, através do seu tempo de retenção, obtendo-se uma boa economia de tempo de análise e de volumes de amostra inicial.

Uma das limitações desta técnica reside no facto de que os tubos capilares utilizados não se encontram à venda no mercado (foram-nos oferecidos) e, ainda há pouco tempo, tivemos indicação de que não existem condições técnicas nas fábricas vidreiras portuguesas para a sua fabricação. Estes tubos, embora recuperáveis com lavagem apropriada, são extremamente frágeis e portanto de manejo um pouco difícil.

TRABALHOS PUBLICADOS:

VOLUME VII

Série II — ENOLOGIA

- 1 . *Pato, Manuel Augusto da Silva, António Eugénio Mendonça e João Eduardo Viegas Fernandes* — Determinação da quantidade de bitartarato de potássio existente nos mostos e nos vinhos que não precipita a uma dada temperatura.
- 2 . *San Romão, M. V.* — Estudo do teor em aminoácidos das castas principais da região do oeste (Alicante Branco, Vital, Fernão Pires, Santarém e Tinta Miúda).
- 3 . *San Romão, M. V.* — Avaliação da evolução dos aminoácidos ao longo da fermentação do mosto.
- 4 . *Belchior, A. Pedro* — Qualidade e composição química de aguardentes de bagaço. I — Influência dos tempos de ensilagem dos bagaços. II — Influência dos alambiques de destilação: «Déroy» e «Caldeira Bagaceira».
- 5 . *Clímaco, M. C., A. P. Belchior, M. Villas-Boas, R. M. Belchior e E. C. de Carvalho* — Ocorrência do dietilacetil em aguardentes.