

NOTA DE LABORATÓRIO

UTILIZAÇÃO DA MISTURA AZEOTRÓPICA PENTANO-DICLOROMETANO NO DOSEAMENTO DE CONSTITUINTES VOLÁTEIS DOS VINHOS

F. LUZ DUARTE e M. C. CLÍMACO

Estação Vitivinícola Nacional. Dois Portos, 2575 Runa, Portugal.

RESUMO

Optimização das condições de extracção de compostos do aroma do vinho por um método de extracção em contínuo com a mistura azeotrópica pentano/diclorometano 2:1 (v/v). Estudo da reprodutibilidade do método e percentagens de recuperação.

INTRODUÇÃO

A extracção por solventes é um dos processos que permite a separação prévia do vinho, de compostos que não podem ser analisados directamente por cromatografia em fase gasosa, dado existirem em teores diminutos.

Diversos autores (Drawert *et al.*, 1969; Baumes *et al.*, 1986) referem a extracção em contínuo com os solventes pentano e diclorometano, os quais na proporção de 2:1 (v/v) formam uma mistura azeotrópica de baixo ponto de ebulição (31° C), que permite uma extracção e concentração do extracto a baixas temperaturas.

Nesta nota damos conta do estudo e adaptação desse método às nossas condições de trabalho.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *Método de extracção*

1.1. *Extracção e concentração*

As condições por nós utilizadas resultaram de uma adaptação à mistura azeotrópica pentano/diclorometano 2:1 (v/v), das

em uso na EVN para a extracção em contínuo com freon 11 (Clímaco, 1987).

Para cada extracção foram colocados no extractor 290 ml de vinho adicionado de 2 ml de uma solução hidroalcoólica de 2-octanol (81.9 mg/l), padrão interno, e 30 ml da mistura azeotrópica. No balão colector, o qual foi mergulhado num banho a 45° C, foram colocados 30 ml da mistura azeotrópica, à qual se adicionou um regulador de ebulição (pedra-pomes). Na parte superior do extractor foi colocado um condensador, à temperatura constante de 10° C.

Os extractos foram secos com sulfato de sódio anidro e concentrados por destilação com uma coluna Vigreux de 30 cm até cerca de 1 ml.

1.2. *Optimização do tempo de extracção*

Um mesmo vinho foi extraído nas condições referidas em 1.1., durante respectivamente 3, 5, 7 e 9 horas.

Antes da concentração do extracto procedeu-se à adição de 1 ml de uma solução hidroalcoólica de octanoato de metilo (179.4 mg/l), padrão interno da análise cromatográfica.

1.3. *Estudo da reprodutibilidade do método*

Foram efectuadas 10 extracções de um mesmo vinho, nas condições referidas em 1.1.

A duração de cada extracção foi de 5 horas.

1.4. *Determinação de quantidades crescentes de alguns compostos adicionados ao vinho*

Efectuaram-se extracções nas condições referidas em 1.1. e durante 5 horas: de um vinho e do mesmo adicionado de 0.1, 0.2 e 0.3 ml de uma solução de padrões (Quadro 4).

2. *Condições cromatográficas*

Utilizou-se um cromatógrafo Carlo Erba, modelo 5160, equipado com um detector de ionização de chama, um repartidor de fluxo e uma coluna capilar de sílica de Superox II, 25 m, 0.25 mm DI, 0.2 μ m de espessura de filme.

O fluxo de hidrogénio, gás vector, foi de 1 ml.min⁻¹.

Utilizou-se a seguinte programação de temperatura: isotérmica 45° C durante 5 minutos, programação linear a 4° C.min⁻¹ até 200° C, isotérmica a 200° C durante 20 minutos.

Os resultados cromatográficos foram obtidos por um integrador Perkin-Elmer, modelo LCI-100.

Para a determinação de quantidades crescentes de alguns compostos adicionados ao vinho, foram previamente calculados os factores de resposta desses compostos relativamente ao 2-octanol, utilizando o extracto de uma solução sintética de padrões desses compostos.

RESULTADOS

Optimização do tempo de extracção

Foram analisados 13 compostos, incluindo o padrão interno 2-octanol, para os quais foram calculados os quocientes entre a área de cada composto (A) e a do padrão octanoato de metilo (A_i). Os resultados obtidos encontram-se no Quadro 1 e representam a média de 3 análises cromatográficas do mesmo extracto.

Da representação gráfica desses resultados, Fig. 1, observa-se que o teor dos compostos aumenta com o tempo de extracção, durante as primeiras 5 horas, a partir daí para a maioria o aumento não é significativo, havendo mesmo casos de diminuição.

No Quadro 2 estão representados os quocientes dos teores dos compostos (expressos relativamente à área do padrão) entre as diferentes extracções, onde se observa que de 3 para 5, 7 e 9 horas esse valor é superior a 1 para todos os compostos, sendo o valor médio também superior a 1 e aproximadamente igual para todos eles. De 5 para 7 e 9 horas existem compostos cujo teor aumenta e outros que diminuem sendo o valor médio para ambos de aproximadamente 1. De 7 para 9 horas também não há variação significativa, sendo a média também aproximadamente 1.

Para os compostos analisados e nas condições referidas verificamos que a extracção durante 5 horas é a mais adequada. Um tempo inferior de extracção mostrou-se insuficiente e o

QUADRO 1

Influência do tempo de extracção nos teores dos compostos extraídos
Influence du temp d'extraction dans le teneur des composés extraits

	Tempo de extracção (h)			
	3	5	7	9
Acetato de isoamilo	0.109	0.135	0.122	0.131
Hexanoato de etilo	0.042	0.052	0.049	0.063
Lactato de etilo	42.801	60.464	53.960	56.965
1-Hexanol	0.885	1.029	0.904	0.991
2-Octanol	0.368	0.408	0.405	0.432
Octanoato de etilo	0.063	0.080	0.066	0.073
γ -Butirolactona	2.834	3.859	3.924	4.071
Succinato de dietilo	3.015	3.416	3.484	3.399
Acetato 2-fenil-etilo	0.223	0.311	0.349	0.358
2-Fenil-etanol	19.584	22.041	22.216	22.078
trans γ -lactona do ácido				
4-hidroxi-3-metil-octanóico	0.032	0.032	0.043	0.028
Malato de dietilo	0.366	0.445	0.508	0.478
Succinato de monoetilo	9.945	15.732	17.448	18.170

Os resultados representam o quociente entre a área do composto e a do padrão interno.

QUADRO 2

Relação entre tempos de extracção
Relation entre les temps d'extraction

	5/3	7/3	9/3	7/5	9/5	9/7
Acetato de isoamilo	1.25	1.13	1.20	0.90	0.97	1.07
Hexanoato de etilo	1.23	1.16	1.49	0.95	1.22	1.28
Lactato de etilo	1.41	1.26	1.33	0.89	0.94	1.06
1-Hexanol	1.16	1.02	1.12	0.88	0.96	1.10
2-Octanol	1.11	1.10	1.17	0.99	1.06	1.07
Octanoato de etilo	1.26	1.04	1.14	0.82	0.90	1.10
γ -Butirolactona	1.36	1.38	1.44	1.02	1.05	1.04
Succinato de dietilo	1.13	1.16	1.13	1.02	0.99	0.98
Acetato 2-fenil-etilo	1.39	1.56	1.60	1.12	1.15	1.02
2-Fenil-etanol	1.13	1.13	1.13	1.01	1.00	0.99
trans γ -lactona do ácido						
4-hidroxi-3-metil-octanóico	1.00	1.34	0.89	1.34	0.89	0.66
Malato de dietilo	1.22	1.39	1.31	1.14	1.07	0.94
Succinato de monoetilo	1.58	1.75	1.83	1.11	1.15	1.04
Média	1.25	1.26	1.29	1.02	1.03	1.03

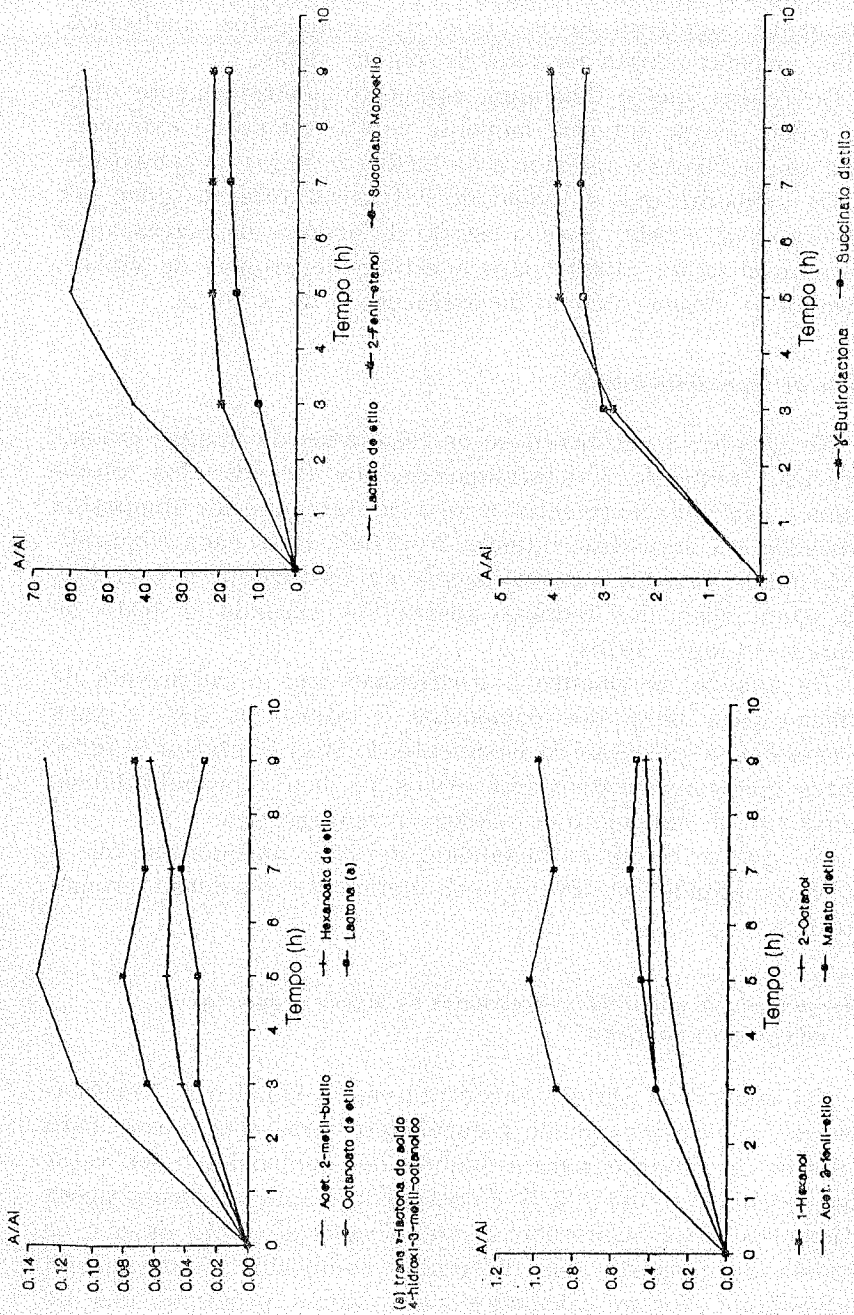


Fig. 1 — Influência do tempo de extração nos teores dos compostos extraídos.
Influence du temp d'extraction dans les teneurs des composés extraits.

prolongamento da extracção para além das 5 horas, não levando a aumento significativo no teor dos compostos analisados, implica mesmo perdas no teor de alguns deles.

De referir que o 2-octanol, composto posteriormente utilizado como padrão interno, aumenta com o tempo de extracção mas a sua variação é inferior à da média de todos os compostos.

De salientar que o tempo de extracção referido quer por Drawert *et al.* (1969) para o estudo de aromas de maçãs, quer por Baumes *et al.* (1986) para o estudo de aromas de vinhos, utilizando o mesmo método de extracção é de 8 horas.

Estudo de reprodutibilidade

No Quadro 3 encontram-se os resultados da análise cromatográfica, média de 3 determinações, dos 10 extractos, representados pelo quociente entre a área de cada um dos compostos analisados e a do padrão interno, 2-octanol. Para cada composto foi calculada a média, o desvio padrão e o coeficiente de variação, após eliminação dos valores aberrantes segundo o teste de Namilov (Junge, 1976).

Da análise do Quadro 3 verificamos que o coeficiente de variação para 60 % dos compostos é inferior a 5 % e para os restantes, à excepção do hexanoato de etilo é inferior a 10 %, valores que consideramos indicativos da boa reprodutibilidade do método de extracção e análise cromatográfica.

No que se refere ao hexanoato de etilo considera-se que a sua variabilidade se deve a uma deficiente resolução cromatográfica.

Determinação de quantidades crescentes de alguns compostos adicionados ao vinho

Os resultados obtidos encontram-se no Quadro 4. Verificamos que a percentagem de recuperação varia com o composto analisado, no entanto, para a maioria dos compostos o seu valor situa-se entre os 100 ± 5 %. Consideramos que as recuperações obtidas são boas, sobretudo se atendermos ao facto de que os factores de resposta dos diferentes compostos relativamente ao 2-octanol, foram calculados para teores próximos dos do vinho inicial.

QUADRO 4
 Percentagens de recuperação dos diferentes compostos adicionados
 a um vinho
*Pourcentages de recuperation des differents composés additionés
 dans un vin*

	Concentração inicial (mg/l)	Quantidade adicionada (mg/l)	Após adição		Porcentagem de recupera- ção
			Concentração teórica (mg/l)	Concentração encontrada (mg/l)	
Butirato de etilo	1.229	0.707	1.936	2.287	118.1
		1.414	2.643	2.861	108.2
		2.121	3.350	3.293	98.3
Acetato de isoamilo	0.285	0.162	0.447	0.426	95.3
		0.324	0.609	0.588	96.6
		0.486	0.771	0.692	89.8
Hexanoato de etilo	0.211	0.080	0.291	0.283	97.3
		0.160	0.371	0.359	96.8
		0.240	0.451	0.423	93.8
Lactato de etilo	194.668	49.991	244.659	240.781	98.4
		99.982	294.650	309.586	105.1
		149.973	344.641	329.833	95.7
1-Hexanol	1.576	0.500	2.076	2.065	99.5
		1.000	2.576	2.494	96.8
		1.500	3.076	2.855	92.8
Octanoato de etilo	0.265	0.086	0.351	0.342	97.4
		0.172	0.437	0.366	83.8
		0.258	0.523	0.444	84.9
3-Hidroxi- -butirato de etilo	0.320	0.133	0.453	0.457	100.8
		0.266	0.586	0.601	102.6
		0.399	0.719	0.732	101.8
γ -Butirolactona	16.388	3.314	19.702	18.354	93.2
		6.628	23.016	23.441	101.8
		9.942	26.330	24.422	92.8
Succinato de dietilo	12.906	3.336	16.242	16.646	102.5
		6.672	19.578	19.236	98.3
		10.008	22.914	22.027	96.1
Acetato de 2-fenil-etilo	0.707	0.827	1.534	1.589	103.6
		1.654	2.361	2.369	101.4
		2.481	3.188	3.189	100.0
2-Fenil-etanol	39.106	16.669	55.775	57.208	102.6
		33.338	72.444	72.451	100.0
		50.007	89.113	87.942	98.7

QUADRO 3

Reprodutibilidade do método de extracção
Reproductibilité du méthode d'extraction

	Amostras										N.º Aberrantes	Média	Desv. pad.	Coef. var.
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
Acetato de iscamilo	0.273	0.266	0.306	0.308	0.283	0.263	0.261	0.268	0.281	0.292	0	0.280	0.016	5.83
Hexanoato de etilo	0.086	0.100	0.116	0.100	0.091	0.124	0.115	0.110	0.107	0.140	0	0.109	0.015	13.83
Lactato de etilo	93.607	100.283	115.804	108.799	116.161	98.985	109.203	112.383	115.492	116.765	3	113.515	3.136	2.76
1-Hexanol	0.939	0.989	1.051	1.085	1.010	0.984	1.081	1.041	1.073	1.030	0	1.033	0.037	3.60
Octanoato de etilo	0.178	0.129	0.144	0.155	0.145	0.137	0.158	0.136	0.136	0.135	4	0.139	0.004	2.88
γ -Butirolactona	6.238	6.712	7.513	7.962	7.768	6.506	7.469	7.570	7.834	7.925	3	7.720	0.187	2.42
Succinato de dietilo	9.573	10.571	12.294	11.895	12.933	12.045	12.161	11.787	11.957	12.310	3	12.064	0.185	1.53
Acetato de 2-fenil-etilo	0.520	0.714	0.664	0.689	0.805	0.556	0.733	0.614	0.657	0.641	3	0.673	0.039	5.80
2-Fenil-etanol	35.888	40.088	47.156	45.240	49.392	45.549	46.063	45.277	45.988	46.388	4	45.751	0.426	0.93
trans γ -lactona do ácido														
4-hidroxi-3-metil-octanóico	0.423	0.515	0.708	0.651	0.763	0.700	0.663	0.669	0.670	0.727	3	0.684	0.026	3.80
Malato de dietilo	0.956	1.152	1.431	1.285	1.421	1.262	1.248	1.247	1.276	1.364	1	1.299	0.085	6.54
Succinato de monoetilo	35.293	43.127	58.804	49.351	64.288	48.863	57.579	57.653	63.160	62.882	2	57.822	5.579	9.65

CONCLUSÕES

Os ensaios efectuados permitiram concluir que, nas condições utilizadas, o tempo adequado de extracção é de 5 horas.

Quanto à reprodutibilidade do método de extracção e análise cromatográfica dos extractos, os resultados obtidos permitiram concluir da boa reprodutibilidade dos mesmos.

De referir ainda as boas percentagens de recuperação obtidas através deste método, para os compostos estudados.

RÉSUMÉ

Utilisation de la mélange azéotrope pentane-dichloromethane pour le dosage des composés volatiles des vins

Optimization des conditions d'extraction des composés de l'arôme des vins par une méthode d'extraction en continue avec une mélange azeotropic pentane-dichloromethane 2:1 (v/v). Étude de la reproductibilité du méthode et des pourcentages de récupération.

SUMMARY

The use of pentane dichloromethane's azeotropic mixture for wine volatile compounds determination

Optimization of the extraction conditions of wine aroma components with a method of continuous extraction with the azeotropic mixture of pentane dichloromethane 2:1 (v/v). Study of the method's reproductibility and recovery percentages.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baumes, R.; R. Cordonnier; S. Nitz e F. Drawert
1986 Identification and determination of volatile constituents in wines from different vine cultivars. *J. Sci. Food Agric.* **37**: 927-943.
- Clímaco, M. C.
1987 *Efeitos do envelhecimento na composição aromática e na qualidade de vinhos tintos*. Dissertação apresentada às provas de acesso à categoria de Investigador Auxiliar, INIA-EVN, Dois Portos.
- Drawert, F.; W. Heimann; R. Emberger e R. Tressl
1969 Gas-Chromatographische Untersuchung pflanzlicher Aromen. II. Anreicherung, Trennung und Identifizierung von Apfelaromastoffen. *Chromatographia* **2**: 57-66.
- Junge, Ch.
1976 Test pour écarter les valeurs aberrantes dans une série de mesures, d'après Nalimov. *Feuillets Verts OIV* 498/598.

