

DANIELE NAVIGLIO
RAFFAELE ROMANO

Dipartimento di Scienza degli Alimenti -
Università degli Studi di Napoli "Federico II"
Via Università 100 - 80055 Portici - Na - Italia

GERARDINA ATTANASIO

DICA - Dipartimento
di Ingegneria Chimica e Alimentare -
Università degli Studi di Salerno
Via Ponte Don Melillo 1 - 84084 Fisciano - Sa - Italia

Determinazione rapida del contenuto di etanolo in alcolici e birre con gascromatografia ad alta risoluzione

Rapid determination
of ethanol content
in spirits and in beer
by high resolution
gascromatography

SUMMARY

The study of the determination of ethanol content in spirits and beer by a HRGC method is carried out. The suggested method requires a short time of analysis and it is an alternative to the official methods of analysis both Italian and international which provide the determination of alcohol content by distillation of the sample under examination. The proposed procedure provides for the direct injection of the alcoholic solution into the gascromatographic system, after a correct dilution. A calibration curve has been prepared by employing aqueous solutions of ethanol. A straight line has been obtained in the range from 0 to 800 mg/L ethanol content.

SOMMARIO

È stato effettuato uno studio sulla determinazione del contenuto alcolico nelle acquaviti, liquori e birre, mediante gascromatografia ad alta risoluzione. Il metodo analitico adottato richiede un breve tempo di analisi ed è alternativo ai metodi ufficiali di analisi, sia italiani che internazionali, i quali prevedono la determinazione del grado alcolico previa distillazione del campione in esame. La procedura proposta prevede l'iniezione diretta della soluzione alcolica in analisi nel sistema gascromatografico, dopo opportuna diluizione. Per la determinazione quantitativa è stata preparata una curva di taratura, utilizzando soluzioni acquose di etanolo, lineare per concentrazioni di etanolo nell'intervallo 0-800 mg/L.

INTRODUZIONE

Questo studio mostra un'applicazione della gascromatografia su colonna capillare HRGC (gascromatografia ad alta risoluzione) nella determinazione analitica del contenuto di etanolo nelle acquaviti, nei liquori e nella birra. Il metodo suggerito richiede per la determinazione un tempo breve di analisi strumentale (2 min). Questa procedura viene proposta in alternativa ai metodi italiano ed internazionale di analisi (1,2), dove per la determinazione del contenuto di etanolo nei superalcolici viene indicata la distillazione del campione in esame e successiva misura di densità. Uno dei metodi ufficiali A.O.A.C. per la determinazione del contenuto di alcool nel vino prevede l'iniezione diretta del campione nel sistema gascromatografico dopo l'aggiunta di un opportuno standard interno (3). Questo metodo non è applicabile a campioni con alto contenuto di etanolo.

Questo studio rappresenta un miglioramento di un lavoro, riportato in letteratura (4), nel quale i presupposti della necessità dell'introduzione dell'analisi gascro-

matografica per l'etanolo contenuto nelle bevande alcoliche, in alternativa al metodo basato sulla distillazione del campione, sono bene evidenziati.

Noi suggeriamo di utilizzare una colonna capillare "widebore", con fase stazionaria 100% metilsilicone, al posto della colonna impaccata, e di eliminare lo standard interno, il n-propanolo, poiché i risultati dell'iniezione manuale sono soddisfacentemente riproducibili, così che due iniezioni del campione danno un valore medio sufficientemente accurato.

MATERIALI E METODI

Reattivi e solventi

Alcool etilico min. 99% (v/v), puro per analisi (Fluka, Buchs, Svizzera); acqua ultrapura prodotta con un sistema Milli-Q plus (Millipore Corporation, Bedford, MA, USA).

Apparecchiature e condizioni gascromatografiche

Le analisi gascromatografiche sono state condotte utilizzando un gascromatografo Dani mod. 86.10 HT, equipaggiato con una colonna capillare ricoperta di poliammide fusa, $l = 30 \text{ m} \times 0,545 \text{ mm i.d.}$, con spessore del film di $5 \mu\text{m}$ DB-1 (Megabore, J & W Scientific, Falsam, CA, USA).

Il campione è stato introdotto utilizzando un iniettore P.T.V.

La temperatura del P.T.V. andava da 125° a 180°C in 1 min con un incremento di $400^\circ\text{C}/\text{min}$.

La temperatura del FID è stata di 200°C e la temperatura della colonna andava da 100° a 130°C con un incremento di $20^\circ\text{C}/\text{min}$. Il flusso del gas di trasporto è stato di $5,0 \text{ mL}/\text{min}$; rapporto di parzialeizzazione 1:100; la valvola dello split è stata chiusa in fase iniziale e aperta un minuto dopo l'iniezione.

Per l'acquisizione del segnale è stato uti-

lizzato un integratore elettronico HP 3390A (Palo Alto, CA, USA).

Tecnica di iniezione e determinazione quantitativa

Le soluzioni alcoliche sono state iniettate nel gascromatografo utilizzando la tecnica di iniezione in "total": la valvola parzializzatrice è stata tenuta chiusa durante la programmata di temperatura. La determinazione quantitativa dell'etanolo è stata realizzata utilizzando una curva di calibrazione ottenuta iniettando per due volte lo stesso campione standard e riportando il valore medio.

Preparazione della curva di calibrazione

Pesare circa 1 g di etanolo puro in un matraccio da 100 mL e portare a volume con acqua. Trasferire 1, 2, 3 e 4 mL di questa soluzione in 4 matracci da 50 mL e portare a volume con acqua. In questo modo si otterranno soluzioni con concentrazioni di circa 200, 400, 600 e 800 mg/L.

Iniettare accuratamente $1 \mu\text{L}$ di ciascuna delle soluzioni standard nel gascromatografo. Costruire il grafico di calibrazione riportando l'area del picco dell'etanolo in funzione della sua concentrazione.

Analisi delle acquaviti e liquori

Trasferire 1 mL della bevanda alcolica da analizzare in un matraccio da 100 mL e portare a volume con acqua. Trasferire 10 mL di questa soluzione in un matraccio da 100 mL e portare a volume con acqua. Iniettare accuratamente $1 \mu\text{L}$ di questa soluzione nel gascromatografo. Risalire alla concentrazione di etanolo attraverso la retta di calibrazione.

Calcolo:

$$\text{Etanolo (\% vol.)} = C_e / (10 * D_e)$$

dove:

C_e = concentrazione di etanolo (mg/L);

D_e = densità dell'etanolo (g/mL).

Analisi della birra

Degasare 10 mL di birra in esame agitando vigorosamente per 1 min in una provetta. Trasferire 1 mL della birra da analizzare in un matraccio da 100 mL e portare a volume con acqua. Iniettare accuratamente $1 \mu\text{L}$ di questa soluzione nel gascromatografo. Risalire alla concentrazione di etanolo attraverso la retta di calibrazione.

Calcolo:

$$\text{Etanolo (\% vol.)} = C_e / (100 * D_e)$$

dove:

C_e = concentrazione di etanolo (mg/L);

D_e = densità dell'etanolo (g/mL).

RISULTATI E DISCUSSIONE

In **fig. 1** sono riportati i gascromatogrammi: (A) bevande alcoliche; (B) birra. L'iniezione finale per la determinazione del contenuto in alcool non richiede l'uso di standard interno, così l'analisi gascromatografica diventa come l'analisi HPLC in termini di riproducibilità. La precisione dell'iniezione è stata contenuta al di sotto del 2% (massima deviazione dal valore medio su 5 iniezioni).

In **fig. 2** è rappresentata la curva di calibrazione ottenuta. Ciascuno standard è stato iniettato due volte al gascromatografo e la media delle aree è stata riportata in grafico. I punti ottenuti sperimentalmente sono stati interpolati da una curva, risultante di andamento lineare, con un coefficiente di correlazione di 0,998. Due campioni di superalcolici e uno di birra sono stati esaminati per verificare l'accuratezza del metodo HRGC in confronto con il metodo ufficiale (1).

I risultati medi ottenuti con il metodo ufficiale derivanti da 3 determinazioni e quelli della procedura gascromatografica derivanti da 10 determinazioni effettuate su campioni commerciali sono riportati nella **tab. 1**.

I risultati ottenuti dal metodo HRGC su campioni commerciali sono stati più bassi

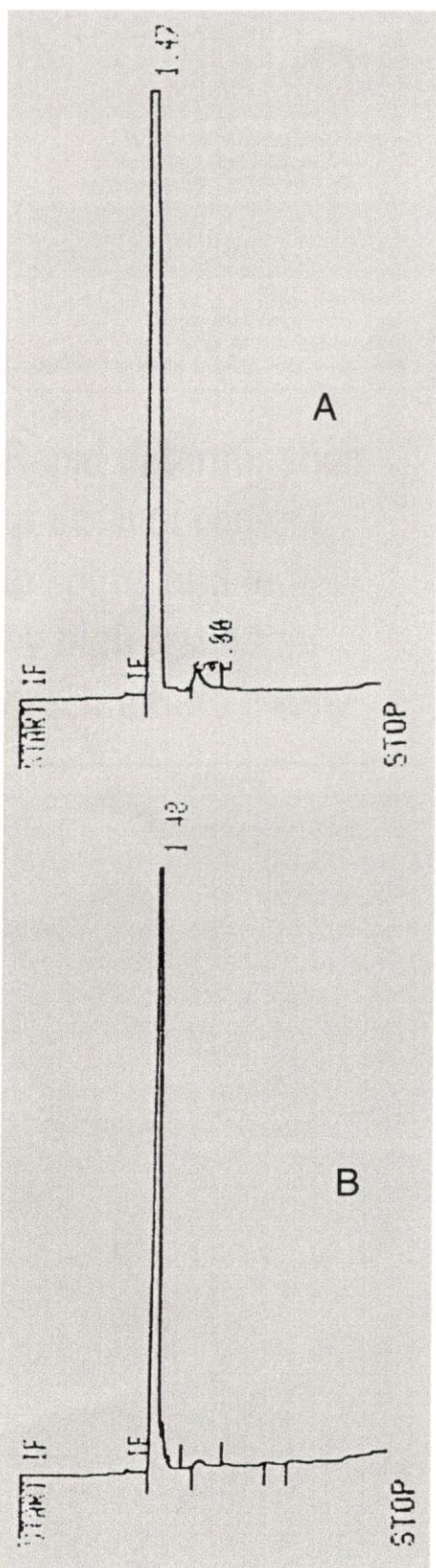


Fig. 1A - Gascromatogramma di un superalcolico (dil. 1:1000).

Fig. 1B - Gascromatogramma di una birra (dil. 1:100).

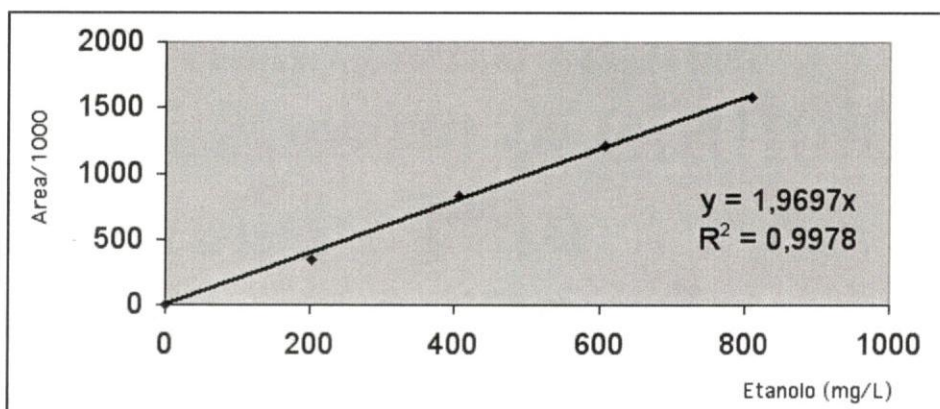


Fig. 2 - Retta di calibrazione dell'etanolo.

Tabella 1 - Confronto dei risultati ottenuti attraverso il metodo ufficiale e con il metodo HRGC proposto.

Campione	Etichetta	Metodo ufficiale	Metodo HRGC
Liquore 1	42	42,50±0,03	41,7±0,4
Liquore 2	40	40,40±0,03	39,7±0,4
Birra	4,7	4,80±0,08	4,67±0,07

di quelli ottenuti con il metodo ufficiale. Le differenze nei risultati sono giustificabili considerando che, durante la distillazione preliminare del campione, richiesto dal metodo ufficiale, è inevitabile un arricchimento della soluzione alcolica raccolta con altri componenti volatili (es. metanolo, esteri, ecc.) (4).

Al contrario, il metodo HRGC determina soltanto il contenuto di etanolo e vengono eliminate tutte le interferenze.

L'efficacia della colonna non viene alterata apprezzabilmente anche dopo più di 100 iniezioni, dal momento che i campioni per l'analisi sono stati diluiti 1.000 volte per i superalcolici e 100 volte per la birra.

CONCLUSIONI

Il metodo suggerito per la determinazione del contenuto di etanolo nei superalcolici e nella birra riduce al minimo le operazioni di preparazione dei campioni ed elimina la necessità di ricorrere all'aggiunta di uno standard interno e, allo stesso

tempo, fornisce un risultato con alta precisione ed accuratezza.

Anche la nostra procedura offre alcuni vantaggi se paragonata ai metodi ufficiali: è più rapida e semplice; elimina le possibili interferenze degli altri componenti volatili; permette l'uso di un minor volume di campione per la determinazione; infine permette di analizzare campioni di bevande alcoliche con un alto contenuto di etanolo.

BIBLIOGRAFIA

- Decreto 7 dicembre 1951, n. 1559. Disciplina della produzione e del commercio delle acqueviti. Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 12, datata 15/1/1952, p. 557, Roma, Italia.
- "Official Methods of Analysis". 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, sec. 942.06-945.07 p. 692.
- "Official Methods of Analysis". 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA, sec. 983.13, p.741.
- L. Ceccon, G. Procida, G. Pertoldi Marletta, L. Gabrielli Favretto "Determinazione gascromatografica del contenuto di etanolo in acqueviti e liquori per iniezione diretta del campione". Industrie delle Bevande, 22, 557-560, 1993.