

- R.; and Trotman-Dickenson, A.F.; eds., "Comprehensive Inorganic Chemistry", Pergamon Press, Oxford, vol. 2, cap. 26 (1973).
- <sup>6</sup> Wiebenga, E.H.; Havinga, E.E.; Boswijk, K.H.; *Adv. Inorg. Chem. Radiochem.* (1961), 3, 133.
- <sup>7</sup> Popov, A.I.; Rygg, R.H.; Skelly, N.E.; *J. Am. Chem. Soc.*, (1956), 78, 5740.
- <sup>8</sup> Huheey, J.E.; "Inorganic Chemistry – Principles of Structure and Reactivity", 3<sup>rd</sup> ed., Harper & Row, N. York, pp. 340-341 (1983).
- <sup>9</sup> Havinga, E.E.; Wiebenga, E.H.; *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, (1959), 78, 724.

## EDUCAÇÃO

### ANÁLISE DE ALDEÍDOS EM BEBIDAS ALCOÓLICAS: UM EXPERIMENTO DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA CURSOS DE GRADUAÇÃO

Jailson Bittencourt de Andrade<sup>a</sup> e Ruiess Van Fossen Bravo<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Instituto de Química da Universidade Federal da Bahia. Campus Universitário de Ondina – Ondina; 40210 – Salvador (BA)

<sup>b</sup> Departamento de Química da Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rua Marquês de São Vicente, 225; Gávea; 22453 – Rio de Janeiro (RJ)

Recebido em 15/09/88

#### ABSTRACT

In this paper, we described a simple quantitative experiment using HPLC to determine formaldehyde and acetaldehyde in sugar cane brandy. The procedure involves the reaction of an aliquot of beverage with 2,4-dinitrophenylhydrazine, retention of the hydrazones formed on reverse phase microcolumns, and their elution with acetonitrile. The separation and quantitative determination of the hydrazones are performed by reverse phase HPLC using CH<sub>3</sub>CN : H<sub>2</sub>O (43:57 v/v) as the mobile phase at 1.2 mL/min and absorbance detection at 365 nm.

#### INTRODUÇÃO

A aguardente (cachaça), uma bebida muito popular no Brasil, é obtida através da destilação do suco de cana de açúcar fermentado. Durante o processo de fermentação alcoólica, são formados aldeídos, ácidos e ésteres como produtos secundários. Estes, embora presentes em quantidades mínimas, são importantes na determinação da qualidade do produto final<sup>1</sup>.

Aldeídos, como o formaldeído e o acetaldeído, também podem estar presentes, naturalmente, em nível de ppm, em outros alimentos. Na última década o formaldeído tem recebido grande atenção devido às suas propriedades carcinogênicas e vários métodos têm sido utilizados para determiná-lo em nível de ppm. Entre outros, destacam-se a

espectrofotometria, cromatografia em fase gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)<sup>2</sup>. O acetaldeído também pode ser determinado pelos mesmos métodos.

Nesse trabalho, descrevemos um experimento simples e quantitativo utilizando CLAE para determinar formaldeído e acetaldeído em aguardentes. O procedimento, o qual necessita de uma manipulação mínima da amostra, é simples, rápido e exato<sup>4</sup>. Deste modo, é bastante apropriado para a utilização em laboratórios de ensino.

#### PARTE EXPERIMENTAL

##### Reagentes e Materiais

Todos os solventes orgânicos utilizados foram adquiridos no Grupo Química, R.J., e destilados, antes do uso, em presença de 2,4-dinitrofenilidrazina.

A solução estoque de 2,4-dinitrofenilidrazina foi preparada dissolvendo-se 0,625 g do reagente em 4 mL de ácido clorídrico concentrado. Foi utilizada água desionizada para completar o volume a 250 mL. A solução foi filtrada 12 horas após a sua preparação.

As hidrazonas utilizadas na calibração foram precipitadas utilizando o procedimento usual<sup>3</sup> e dissolvidas em acetonitrila. As concentrações de hidrazonas de formaldeído e acetaldeído na solução padrão foram, respectivamente, 2,0 ppm e 4,27 ppm.

A microcoluna utilizada na pré-separação das amostras foi SEP PAK C18, 1,0 cm x 10 mm i.d. (Waters Associates).

A ativação foi feita passando-se 2,0 mL de metanol através da coluna, seguido de lavagem com água destilada.

As amostras analisadas foram aguardentes comerciais. Amostras abertas no dia do experimento foram comparadas com outras abertas dois meses antes.

### Equipamentos

Foi utilizado um cromatógrafo da Waters Associates (bomba modelo 6000A), equipado com um injetor U6K, detector U.V./VIS com comprimento de onda variável (modelo 240) e integrador (Data module, Waters Associates modelo 730). A coluna utilizada foi Spherical C18 5  $\mu\text{m}$ , 15 cm x 3.9 mm i.d. (Waters Associates). A fase móvel foi acetonitrila/água (43/57 v/v) com vazão de 1,2 mL/min. A detecção da absorbância foi em 365 nm.

### Procedimento

Cada estudante reagiu 1,0 mL de aguardente com 5,0 mL de solução estoque de 2,4-dinitrofenilidrazina durante 5 minutos em banho de ultra-som. O material foi então transferido, utilizando uma seringa, para a microcoluna, a qual foi lavada com água destilada. As hidrazonas retidas, quantitativamente, na microcoluna foram eluídas com acetonitrila para um balão volumétrico de 5,0 mL. Uma alíquota de 20,0  $\mu\text{L}$  da solução resultante foi injetada no sistema de CLAE. O tempo total de análise de cada amostra foi de aproximadamente 15 minutos.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia analítica utilizada é baseada no procedi-

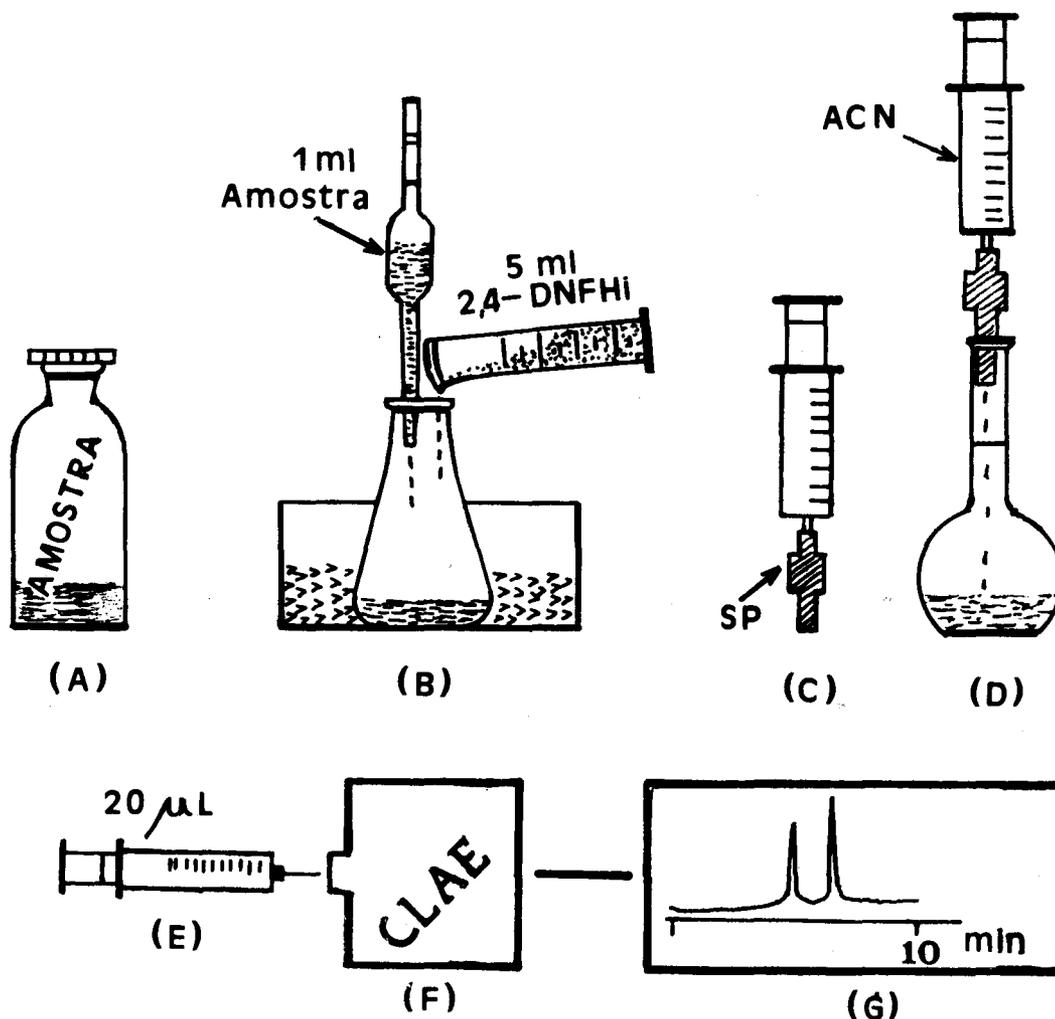


Figura 1. Representação esquemática da determinação de aldeídos em aguardente utilizando CLAE.

- Amostra de aguardente
- Reação de 1 mL de amostra com 5 mL de solução de 2,4-dinitrofenilidrazina, em banho de ultra-som.
- Retenção das 2,4-dinitrofenilidrazonas em microcolunas SEP PAK C18 (SP)
- Eluição das 2,4-dinitrofenilidrazonas com acetonitrila (ACN)
- Injeção de 20  $\mu\text{L}$ .
- Aparelho de CLAE.
- Registro dos picos das 2,4-dinitrofenilidrazonas de formaldeído e acetaldeído, respectivamente.

mento desenvolvido para a determinação de aldeídos em gases de exaustão de veículos a álcool<sup>4</sup>. Andrade e Miguel demonstraram que a retenção em microcolunas SEP PAK C18 é mais eficiente que a extração líquido-líquido na recuperação de formaldeído e acetaldeído na forma das respectivas 2,4-dinitrofenilidrazonas<sup>4</sup>. Esse procedimento é também o mais adequado para o ensino em laboratório de graduação devido à sua simplicidade.

O procedimento é mostrado esquematicamente na Figura 1. Os tempos de retenção das hidrazonas de formaldeído e acetaldeído são, respectivamente, 5,4 e 8,4 minutos. Isto permite a determinação de aproximadamente oito amostras em um período de laboratório de duas horas sob condições de operação otimizadas. Como os resultados obtidos são em ppm de hidrazona, o estudante deve convertê-los em ppm de aldeído. Os resultados obtidos para várias aguardentes são mostrados na Tabela I.

Tabela I. Resultados da determinação de formaldeído e acetaldeído em várias aguardentes comerciais.

Aguardente	formaldeído (ppm)	acetaldeído (ppm)
Murim*	0,64	28,17
Murim	0,31	28,00
Velho Barreiro*	0,59	62,98
Velho Barreiro	0,36	63,91
Praianinha*	0,69	28,39
Praianinha	0,27	24,30
51*	0,47	38,07
Caninha*	0,40	53,74

\* amostra aberta no dia do experimento.  
amostra envelhecida, aberta dois meses antes do experimento.

Esta proposta de experimento permite aos estudantes a oportunidade de trabalhar com CLAE no laboratório de química orgânica. Embora a análise quantitativa esteja envolvida, as discussões foram dirigidas para vários aspectos não-quantitativos do experimento. Entre os tópicos discutidos destacaram-se:

1. A utilização de ultra-som para acelerar a reação de formação das 2,4-dinitrofenilidrazonas.
2. Comparação da escala micro- e macro- na reação de derivatização. (Por que é necessário utilizar excesso de reagente? Por que o produto não precipita?)

3. Métodos de separação de hidrazonas (compostos orgânicos) de soluções aquosas. Comparação da separação utilizando microcolunas e extração líquido-líquido.

4. Necessidade de conversão dos aldeídos em hidrazonas. (Outras reações de derivatização podem ser utilizadas nesse tipo de análise?)

5. Comparação de CLAE com métodos mais familiares como cromatografia em papel, camada delgada e coluna.

6. Reações redox de álcool e aldeídos (Que reações podem levar a maior ou menor formação de aldeídos. Por que a quantidade de formaldeído, em todas as amostras analisadas, diminuiu com o envelhecimento da aguardente?)

## CONCLUSÕES

Além de oferecer a oportunidade de manipular um cromatógrafo, esse experimento motiva os estudantes no sentido de determinar se sua amostra de aguardente contém mais ou menos aldeídos que a dos outros e se isso realmente faz diferença na qualidade da bebida. Também os estudantes são motivados porque estão utilizando uma metodologia que foi desenvolvida por um grupo de pesquisa do departamento (PUC-RJ) para a análise de amostras ambientais reais.

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Antonio H. Miguel pela utilização dos equipamentos e reagentes do seu laboratório, a Wilson Silva Batista pela confecção da figura 1 e ao CNPq.

## REFERÊNCIAS

- 1 Lenia, U.A.; Aquarone, E.; Borzani, W.; "Tecnologia das Fermentações", Vol. 1. Editora Edgar Blucher Ltda., São Paulo, (1975) pp. 60-61.
- 2 Lawrence, J.F.; Iyengar, J.R.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, (1983), 15, 47.
- 3 Shriner, R.L.; Fuson, R.C.; Curtin, D.Y.; "The Systematic Identification of Organic Compounds", John Wiley and Sons, Inc., New York, (1964) p. 254.
- 4 de Andrade, J.B.; Miguel, A.H.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, (1985), 21, 229.