

DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FORMALDEÍDO, ACETALDEÍDO E OS RESPECTIVOS ÁCIDOS HIDROXIALQUILSULFÔNICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

Anselmo Elcana de Oliveira e Jailson Bittencourt de Andrade
 Instituto de Química-UFBA - Campus Universitário de Ondina - 40210-Salvador - BA

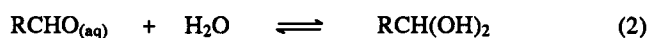
Recebido em 23/3/93; cópia revisada em 15/9/93

A new method to determine formaldehyde, acetaldehyde, hydroxymethanesulfonic acid (AHMS) and α -hydroxyethanesulfonic acid (α -AHES) was developed by measuring the total and free formaldehyde and acetaldehyde content of the sample. Total formaldehyde and acetaldehyde are measured by dissociating the AHMS and α -AHES into formaldehyde, acetaldehyde and bisulfite with a strong base and reacting the aldehydes with 2,4-dinitrophenylhydrazine (2,4-DNFH). The aldehyde-2,4-DNFH derivatives formed are then determined by high performance liquid chromatography. Free formaldehyde and acetaldehyde are similarly determined in another aliquot, but without the addition of the base. The difference between the total and free aldehydes gives the bound aldehydes or the respective AHMS and α -AHES contents of the sample. This method was tested with samples of white wine.

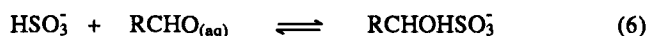
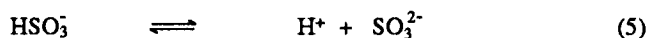
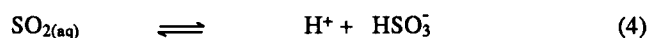
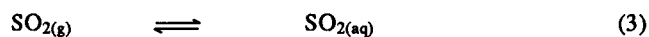
Keywords: formaldehyde; acetaldehyde; hydroxymethanesulfonic acid; α -hydroxyethanesulfonic acid; white wine.

INTRODUÇÃO

Os aldeídos são componentes conhecidos da atmosfera, especialmente nas áreas urbanas. O formaldeído, devidos às suas propriedades mutagênicas, tem sido o mais estudado, e já foi determinado em três fases (gás, líquido e aerossol). Detalhes sobre as concentrações ambientais dos aldeídos podem ser encontrados nas referências 1-5 e nos trabalhos citados nestas. A destruição dos aldeídos, na fase gasosa, ocorre via fotólise e reação com oxidantes⁶. Enquanto na fase aquosa os aldeídos hidratam via reações (1) e (2) para formar gem-dióis⁷.

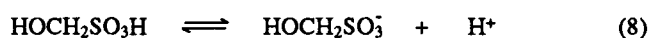


Na forma hidratada os aldeídos são pouco sensíveis à fotodecomposição³, e devido à formação do glicol e à limitada insolação, a neblina e as nuvens podem ser um ambiente ideal para a acumulação de aldeídos. É bem conhecido que os aldeídos reagem com íons sulfito e bissulfito para formar ácidos hidroxialquilsulfônicos, através da adição do S(IV) ao aldeído^{1,7}.



O aduto com formaldeído é o ácido hidroximetanosulfônico (AHMS) e o do acetaldeído é o ácido α -hidroxietanosulfônico (α -AHES). O AHMS, por exemplo, apresenta equilíbrio ácido-base, como nas reações (8) e (9). Segundo Roberts e

Casario⁸ os ácidos sulfônicos são ácidos fortes, comparáveis aos sulfúrico e perclórico.



O conhecimento das concentrações de AHMS e α -AHES é fundamental para estabelecer a contribuição destes compostos na acidez de chuvas, neblinas, nuvens, etc., bem como para estabelecer o balanço atmosférico do enxofre e dos aldeídos.

A determinação de aldeídos, através de métodos cromatográficos, nas fases líquida, gasosa e aerossol é bem conhecida^{1,9-12}, entretanto, a determinação dos ácidos hidroxialquilsulfônicos ainda apresenta dificuldades. O AHMS tem sido determinado por cromatografia de íons¹³⁻¹⁵. Entretanto, existem problemas associados com uma pobre resolução e a dissociação do aduto. Munger e cols.¹⁶ desenvolveram uma nova metodologia para a determinação de AHMS por cromatografia de par iônico e Ang e cols.¹⁷ determinaram esse composto através de CLAE. Em nenhum dos dois últimos trabalhos citados foi determinado o α -AHES.

Neste trabalho foi desenvolvida uma nova metodologia analítica que permite a determinação de formaldeído, acetaldeído, ácido hidroximetanosulfônico (AHMS) e ácido α -hidroxietanosulfônico (α -AHES) através de CLAE. A metodologia foi testada em amostras de vinhos brancos, pois na fabricação do vinho é adicionado ao *mosto* o ácido sulfuroso (podendo ser também metabissulfito de potássio ou de sódio, e/ou bissulfito de sódio) para obstar o crescimento de *leveduras selvagens*, já que estas não proliferam em condições ácidas¹⁷. O íon bissulfito presente nos compostos adicionados ao vinho reage com os aldeídos, formados durante o processo de fermentação alcoólica, originando adutos estáveis que são os ácidos hidroxialquilsulfônicos. Estes compostos, embora presentes em pequenas quantidades, são importantes na determinação da qualidade do produto final. Deste modo, as amostras de vinho foram de grande importância para o desenvolvimento dessa metodologia.

PARTE EXPERIMENTAL

Reagentes e Materiais

A acetonitrila (MERCK) utilizada para a preparação dos padrões e como eluente no Cromatógrafo a Líquido foi destilada em presença de 2,4-dinitrofenilidrazina (2,4-DNFHi) e ácido sulfúrico, para a eliminação de possíveis compostos carbonílicos.

A solução de 2,4-DNFHi 0,04% foi preparada dissolvendo-se 0,4 g do reagente em cerca de 200 mL de acetonitrila, adicionando-se 10,0 mL de H₃PO₄ concentrado, e completado o volume para um litro com água destilada.

Para a preparação dos padrões de calibração, de formaldeído-2,4-dinitrofenilidrazona (HCHO-2,4-DNFHo) e acetaldeído-2,4-dinitrofenilidrazona (CH₃CHO-2,4-DNFHo), as hidrazonas foram precipitadas pelo método usual¹⁸.

Equipamentos

O sistema de CLAE utilizado foi composto de: bomba INTRALAB (modelo 2510), válvula injetora RHEODYNE (loop de 10 µL); detector de UV/Vis (modelo 2550) com comprimento de onda variável, integrador processador INTRALAB (modelo 4290); coluna MicroPak MCH-10 C18 5 mm, 300 mm x 4,0 mm i.d. (ALLTECH); fase móvel acetonitrila/água (57:43 v/v) à vazão de 1,0 mL/min. A determinação das hidrazonas de formaldeído e acetaldeído foi realizada em 350 nm. Também foram utilizados um medidor de pH digital/portátil da CORNING (modelo 103) e um banho de ultra-som ARRUDA modelo SX-10 (20-60Hz).

Determinação de Aldeídos Livres

Uma alíquota de 1,0 mL da amostra foi transferida para um becker, sendo então adicionadas duas gotas de HCl 1M. O becker foi levado para uma placa de aquecimento a 50°C por aproximadamente 15 segundos. Em seguida, a solução foi transferida para um balão volumétrico de 10,0 mL, o qual já contém 5,0 mL da solução ácida 0,04% de 2,4-DNFHi. O volume foi completado com água destilada. A mistura reacional foi mantida sob sonicação por 10 minutos e, em seguida, 10 µL da solução foi injetada diretamente no sistema de CLAE.

Determinação de Aldeídos sob a Forma de Ácidos Hidroxialquilsulfônicos

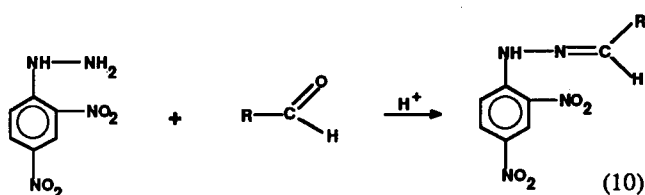
Uma alíquota de 1,0 mL da amostra foi transferida para um becker, sendo então adicionadas duas gotas de HCl 1M. O becker foi levado para uma placa de aquecimento a 50°C por

aproximadamente 15 segundos. Em seguida, são adicionadas quatro gotas de NaOH 1M. À partir deste ponto segue-se conforme o item anterior.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do Efeito da Sonicação na Reação de Derivatização

Pode ser observado na figura 1 que a reação (10) de derivatização para o acetaldeído completa-se no instante da mistura dos reagentes. Mas, para o formaldeído a reação necessita de cerca de 80 minutos para estabilizar. Entretanto, a reação pode ser acelerada com a utilização de ultra-som⁹ e, neste caso, os maiores valores de concentração foram obtidos com a reação sob sonicação, durante 15 minutos. Pode ser observado na figura 2 que a solução resultante da reação sob sonicação é estável, não ocorrendo alterações significativas nas concentrações de HCHO e CH₃CHO durante o período de observação (70 minutos).



Equilíbrio HMSNa \rightleftharpoons Aldeído-2,4-DNFHo

As figuras 3 e 4 demonstram a instabilidade das 2,4-DNFHo na presença de excesso de bissulfito. Na figura 3 pode ser observada a degradação das respectivas hidrazonas de formaldeído e acetaldeído de um padrão, quando a este é adicionada uma pequena porção de bissulfito de sódio (o padrão foi diluído a 50% em água destilada, num total de 2 mL de solução, e adicionado uma gota de HCl 1M). Já na figura 4, uma alíquota de uma solução de hidroximetanosulfonato de sódio (HMSNa) foi quantificada e, durante duas horas foram realizadas determinações, onde não foi observada alteração na altura do pico cromatográfico relativo a 2,4-DNFHo do formaldeído. À partir deste ponto, foi adicionado bissulfito de sódio (ca. 0,4 mg), o que provocou uma diminuição na altura do pico. A intensidade da degradação da 2,4-DNFHo depende da quantidade de NaHSO₃ adicionado. Esse efeito foi observa-

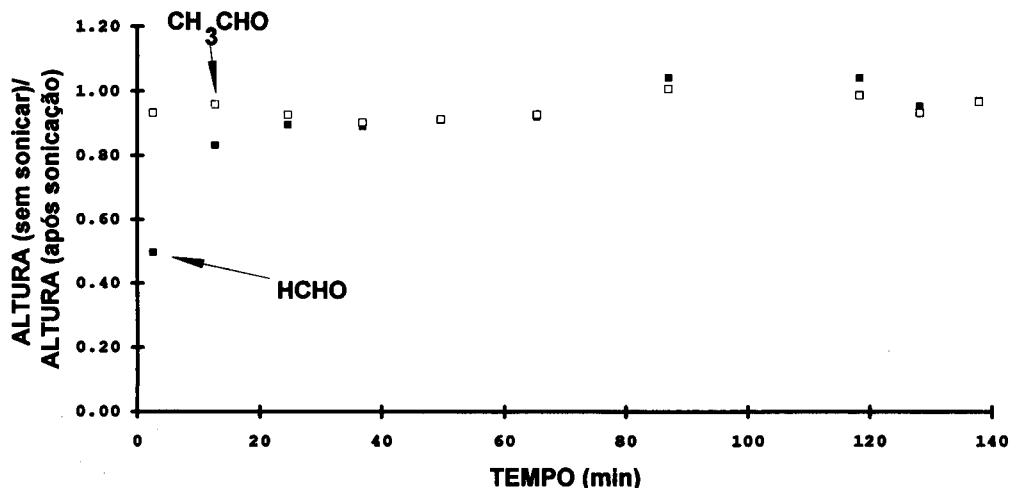


Figura 1. Estabilização da reação de derivatização sem o uso de sonicação.

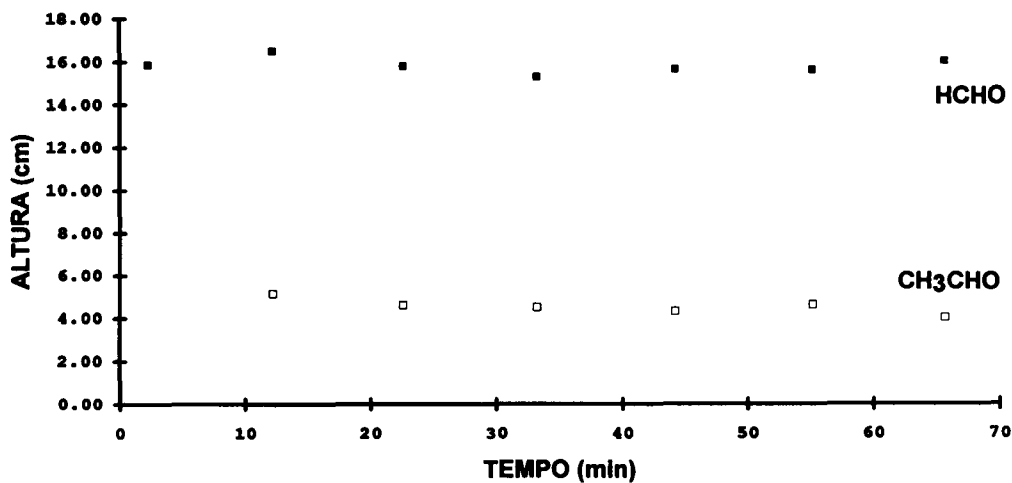


Figura 2. Estabilização da reação de derivatização utilizando sonicção.

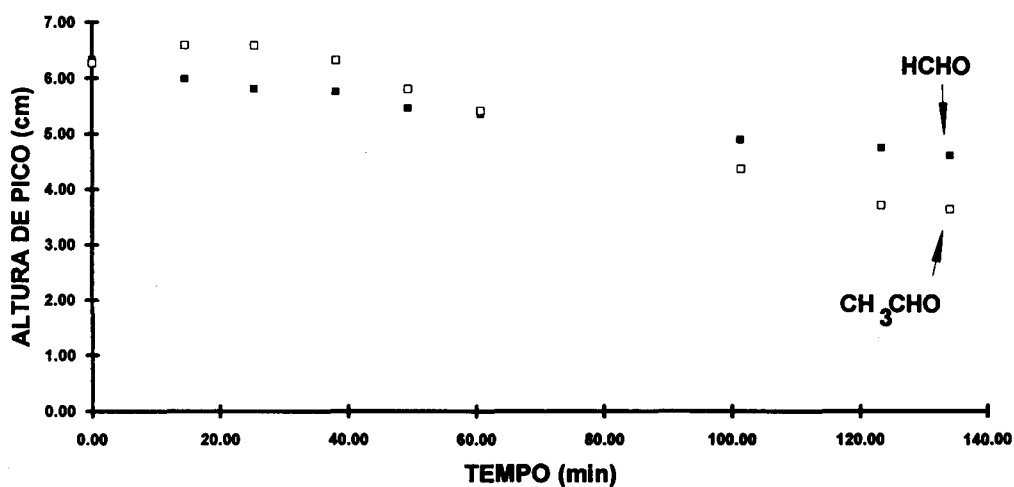


Figura 3. Efeito da adição de bissulfito de sódio a um padrão contendo 2,4-dinitrofenilidrazonas de formaldeído (HCHO) e acetaldeído CH_3CHO .

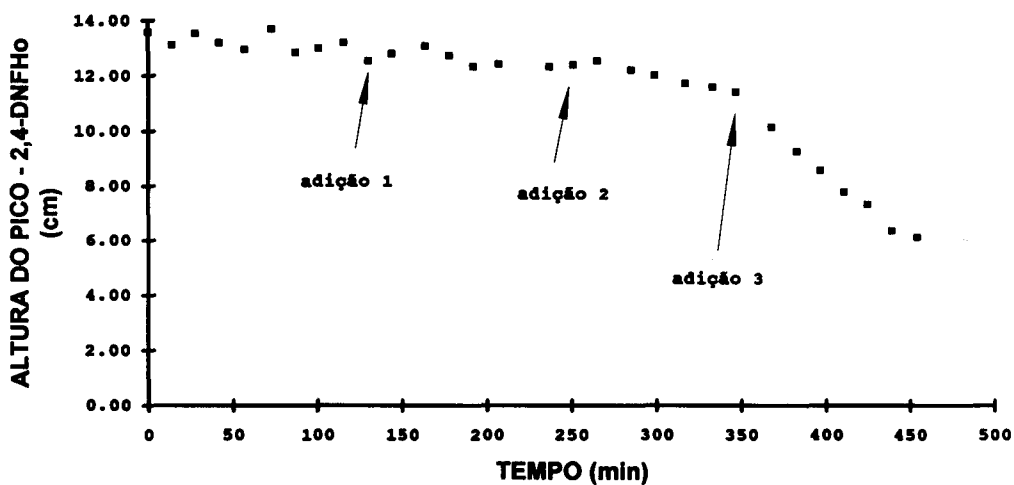


Figura 4. Efeito da adição de bissulfito de sódio a uma amostra contendo hidroximetanosulfonato de sódio.

do anteriormente por de Andrade e Tanner¹, Ang e cols.¹⁷ e Du Val e cols.²⁰, estes últimos estabeleceram que, quando a relação molar $\text{HSO}_3^-/\text{HCHO}$ é maior do que dois, ocorre uma formação parcial do aduto, interferindo na análise. Isto não se

configura um problema para esta metodologia pois inicialmente é adicionado HCl e a amostra é aquecida, o que irá liberar algum HSO_3^- que exista em solução. Deste modo, quando a reação de derivatização ocorre a concentração de 2,4-DNFHi é

Tabela I. Concentração (em mg/L) de formaldeído, acetaldeído e seus respectivos ácidos hidroxialquilsulfônicos em três diferentes marcas de vinho branco.

AMOSTRA	HCHO (Livre)	HCHO ^a (Total)	HMSNa	CH ₃ CHO (Livre)	CH ₃ CHO ^b (Total)	α-HESNa
Marca I	ND	0,88	0,88	1,59	17,1	15,5
Marca II	ND	0,81	0,81	8,81	50,2	41,4
Marca III	ND	0,22	0,22	7,76	18,1	10,3

ND = não detectado

^a soma de HCHO livre + sob a forma de HMSNa

^b soma de CH₃CHO livre + sob a forma de α-HESNa

muito maior do que a de HSO₃. Também, a solução de 2,4-DNFHi foi acidificada previamente, o que favorece a reação de derivatização.

Quantificação dos Aldeídos e Ácidos Hidroxialquilsulfônicos

Os aldeídos livres foram determinados diretamente após a reação de derivatização com 2,4-DNFHi. Os ácidos hidroxialquilsulfônicos foram determinados pela diferença entre os aldeídos totais e livres. Devido ao excesso de bissulfito adicionado às amostras de vinho, foi necessário (antes da reação de decomposição do aduto) juntar HCl 1M e aquecer levemente a amostra. O aduto formado entre HSO₃ e RCHO decompõe-se em meio básico, ao passo que a reação de derivatização ocorre em meio ácido. Deste modo, é fundamental que seja, então, adicionado NaOH (1M) à amostra para decompor o aduto. A ordem de mistura dos reagentes deve ser: a adição da solução básica à solução ácida de 2,4-DNFHi, lentamente.

Na tabela I encontram-se os valores de concentração de aldeídos e ácidos hidroxialquilsulfônicos obtidos para 3 marcas de vinho. Devido à maior estabilidade do aduto HCHO-S(IV) ser em pH entre 4 e 5¹³, as concentrações de formaldeído livre, em todas as amostras analisadas, esteve abaixo do limite de detecção do método. O que demonstra que em pH levemente ácido, quando da presença de SO₂, o AHMS é a forma mais estável do HCHO. Vale ressaltar que esta faixa de pH é típica das deposições húmidas. No caso do acetaldeído não existe na literatura dados relativos à constante de estabilidade do aduto CH₃CHO-S(IV). Entretanto, de Andrade e Tanner¹ observaram anteriormente que este aduto não é tão estável quanto o AHMS. Deste modo foi observado, nas amostras de vinho analisadas, concentrações de acetaldeído livre na faixa de 9,3 % a 43 % das concentrações de aldeídos totais.

CONCLUSÕES

Em meio aquoso, em pH 4-5, quando estão presentes formaldeído, acetaldeído e o íon bissulfito, as formas predominantes destes compostos são AHMS e α-AHES. Estes adutos podem ser decompostos pela adição de base (pH=11) e os aldeídos derivatizados com uma solução ácida de 2,4-DNFHi.

O protocolo analítico descrito para a determinação direta dos aldeídos e indireta dos ácidos hidroxialquilsulfônicos revelou-se rápido e preciso, e atualmente está sendo utilizado em outras amostras líquidas como, por exemplo, água natural e de chuva.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo suporte financeiro e pelas bolsas de iniciação científica (A.E.O.) e pesquisa (J.B.A.) e a André Alay Gomes Esteves pela ajuda na confecção do trabalho.

REFERÊNCIAS

- de Andrade, J.B.; Tanner, R.L.; *Atmos. Environ.*, (1992), **26A**, 819.
- Grosjean, D.; Miguel, A.H.; Tavares, T.M.; *Atmos. Environ.*, (1990), **24B**, 101.
- Formaldehyde and Other Aldehydes, National Research Council, Committee on Aldehydes, National Academy of Sciences Press, Washington, DC (1981).
- Grosjean, D.; *Environ. Sci. Technol.*, (1982), **16**, 154.
- Klippel, W.; Warneck, P.; *Atmos. Environ.*, (1980), **14**, 809.
- Grosjean, D.; Swanson, R.D.; Elis, C. *Sci. Of The Total Environ.*, (1983), **29**, 65.
- Munger, J.W.; Jacob, D.J.; Hoffmann, M.R.; *J. Atmos. Chem.*, (1984), **1**, 335.
- Roberts, D.J.; Caserio, M.C.; "Basic Principles of Organic Chemistry", W.A.; Benjamin Inc., New York, p. 762 (1965).
- de Andrade, J.B.; Bravo, R.V.F.; *Quím. Nova*, (1989), **12**, 196.
- de Andrade, J.B.; Miguel, A.H.; *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, (1985), **21**, 229.
- de Andrade, J.B.; Miguel, A.H. *Quím.Nova*, (1985), **8**, 356.
- de Andrade, J.B.; Pinheiro, H.L.C.; Andrade, M.V.; *Intern. J. Environ. Anal., Chem.*, (1993), **52**, 49.
- Dasgupta, P.K.; DeCesare, K.; Ullrey, J.C. *Anal. Chem.*, (1980), **52**, 1912
- Dasgupta, P.K. *Atmos. Environ.*, (1982), **16**, 1265.
- Lindgren, M.; Cedergren, A.; Lindgren, J.; *Anal. Chim. Acta* (1982), **141**, 279.
- Munger, J.W.; Tiller, C.; Hoffmann, M.R.; *Science*, (1986), **231**, 247.
- Ang, C.C.; Lipari, F.; Swarin, S.J.; *Environ. Sci. Technol.*, (1987) **21**, 102.
- Shreve, R.N.; Brink Jr., J.A., "Indústria de Processos Químicos", Editora Guanabara Dois S.A., Rio de Janeiro, 4ª edição, (1980).
- Shriner, R.L.; Fuson, R.C.; Curtin, D.Y.; "The Identification of Organic Compounds", John Wiley and Sons, Inc., New York, (1964).
- Du Val, D.L.; Rogers, M.; Fritz, J.S.; *Anal. Chem.*, (1985), **57**, 1583.