

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUIMICA

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Maria José de Sousa Ferreira da Silva e aprovada pela comissão julgadora.

Maria José de Sousa Ferreira da Silva

ESTUDO POLAROGRAFICO E AMPEROMÉTRICO
DO FORMALDEIDO E DO ACETALDEIDO E
SUAS APLICAÇÕES ANALITICAS

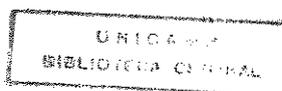
TESE DE DOUTORADO

MARIA JOSÉ DE SOUSA FERREIRA DA SILVA

ORIENTADOR: PROF. Dr. LUIZ MANOEL ALEIXO

CAMPINAS

1993



Curriculum Vitae

Nome: Maria José de Sousa Ferreira da Silva

Formação Acadêmica:

1. Graduação
Curso: Química
Entidade: Universidade Federal de Minas Gerais
Período: 1974-1977
2. Especialização
Curso: Ciências e Técnicas Nucleares
Entidade: CDTN- UFMG
Período: 1978-1980
Título da Monografia: Determinação de tório, nitrato e urânio em nitrato de tório
3. Mestrado
Curso: Ciências e Técnicas Nucleares
Entidade: CDTN-UFMG
Período: 1978-1983
Título da Dissertação: Uso da Espectrofotometria de Absorção Atômica para determinação de impurezas metálicas no carvão
4. Doutorado
Curso: Química - Area de Concentração: Química Analítica
Entidade: Universidade Estadual de Campinas
Período: 1989-1993
Título da Tese: Estudo polarográfico e amperométrico do formaldeído e acetaldeído e suas aplicações analíticas

Participação em Encontros Científicos nos últimos 4 anos

1. Evento: 14ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química
Atividade: Apresentação oral em sessão coordenada
Data: maio de 1991
Local: Caxambú - MG
Título do trabalho: Determinação Polarográfica e Amperométrica do Acetaldeído como Imina

2. Evento: VI Encontro Nacional de Química Analítica
Atividade: Apresentação em painel
Data: setembro de 1991
Local: Araraquara - SP
Título do trabalho: Estudo de Interferentes na
Determinação Polarográfica do
Acetaldeído

3. Evento: 15ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de
Química
Atividade: Apresentação em painel
Data: maio de 1992
Local: Caxambú - MG
Título do trabalho: Determinação de Formaldeído por
Polarografia de Pulso Diferencial

*Aos meus pais, que com muito amor
e carinho suportaram a distância e
me estimularam sempre a continuar.*

*As ciências têm raízes amargas,
porém seus frutos são muito doces.*

Aristóteles

*Compreender bem o que já se fez antes de nós
aumenta o nosso respeito àqueles cujos pensamentos
originais nos capacita à nossa atividade presente.*

Keith Eaton

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Luiz M. Aleixo, pela orientação.

Aos Professores Drs. Oswaldo E.S. Godinho e Graciliano O. Neto, pelas discussões e sugestões.

Aos colegas do laboratório: Helena, Fátima, Zilda, Graziella, Tereza, Sandra, João, Roberto, Benjamim e Júlio, pela ajuda e pelo incentivo.

À todos esses um agradecimento especial pelo carinho e amizade a mim dedicados durante esses anos de convivência. Minha eterna gratidão e minhas saudades de muitos e felizes momentos passados juntos.

Às amigas mineiras Lila, Rosária, Paula e Andrea pela amizade e incentivo em todos os momentos.

À Andréa, pela disponibilidade para a revisão do texto e por suas valiosas sugestões.

À Rô, por todo o carinho dedicado à digitação deste trabalho.

Aos colegas do Setor de Química Analítica da UFMG, por assumirem minha carga didática durante o período de afastamento.

À UFMG, por ter permitido meu afastamento da instituição.

À UNICAMP, por ter possibilitado a realização do trabalho nas suas instalações.

À CAPES-PICD, pelo apoio financeiro.

Ao pessoal do xerox, pelas cópias e composição deste trabalho.

À todos os parentes e amigos que, cada um a seu modo, contribuíram, enormemente, para a realização deste trabalho.

RESUMO

Um método polarográfico, usando a polarografia de pulso diferencial, foi desenvolvido para a determinação de formaldeído e acetaldeído em soluções aquosas. Os aldeídos foram convertidos em iminas por reação com aminas primárias (monoetanolamina (MEA) e hexametilenodiamina (HMDA)) e o grupo imino reduzido em um eletrodo de mercúrio de gota estática.

Uma solução de cloreto de lítio 0,10 mol/l foi usada como eletrólito de suporte e os polarogramas registrados na faixa de -1.10 V a -1.50 V vs Ag/AgCl para os derivados do formaldeído e de -1.30 V a -1.70 V vs Ag/AgCl para os derivados do acetaldeído, com uma velocidade de varredura de 5 mV/s e altura de pulso de 50 mV. O tempo de gota foi de 1 segundo e a solução teste foi desaerada com nitrogênio por 2 minutos. Nessas condições, a corrente de difusão obtida foi diretamente proporcional à concentração do formaldeído presente na solução na faixa de 0,10 µg/ml a 160 µg/ml (coeficiente de correlação = 0,9993) com a MEA e de 0,60 µg/ml a 85 µg/ml (coeficiente de correlação = 0,9995) com a HMDA. Para o acetaldeído esses valores foram de 0,08 µg/ml a 40 µg/ml (coeficiente de correlação = 0,9999) e de 0,09 µg/ml a 90 µg/ml (coeficiente de

correlação = 0,9995), respectivamente. Os aldeídos foram determinados em solução aquosa com um erro relativo médio de $\pm 1,5 \%$ e um coeficiente de variação médio de $0,2 \%$. Os iminoderivados não foram isolados e o tempo requerido para a análise foi de cerca de 15 minutos.

O método foi aplicado na determinação de acetaldeído em álcool e bebidas alcoólicas com uma recuperação média de $98,6 \%$ e na determinação de formaldeído em leite e shampoos com uma recuperação média de $100,6 \%$.

Tendo em vista o comportamento polarográfico das iminas, foi desenvolvido um método para a determinação dos aldeídos por titulação amperométrica, usando como titulante as aminas padronizadas. As condições experimentais foram idênticas às do método polarográfico. Soluções aquosas dos aldeídos na faixa de $20 \mu\text{g/ml}$ a $300 \mu\text{g/ml}$ foram tituladas com um erro relativo médio menor que $1,5 \%$ para o acetaldeído e menor que 3% para o formaldeído.

ABSTRACT

A differential pulse polarographic method was developed for quantitative determination of formaldehyde and acetaldehyde in aqueous solutions. The aldehydes were converted to imines by reaction with primary amines (monoethanolamine (MEA) and Hexamethylenediamine (HMDA)) and the imino group was reduced at the static mercury drop electrode.

A 0,10 mol/l lithium chloride solution was used as supporting electrolyte. The polarograms were recorded from - 1.10 V to - 1.50 V vs Ag/AgCl for formaldehyde derivated and from - 1.30 V to - 1.70 V vs Ag/AgCl for acetaldehyde derivated with scan rate of 5 mV/s and 50 mV pulse height. The drop-time was 1 s and the test solution was de-gassed with nitrogen for 2 minutes. The diffusion current obtained was directly proportional to the concentration of formaldehyde in the range from 0.10 µg/ml to 160 µg/ml (correlation coefficient = 0.9993) with MEA and from 0.60 µg/ml to 85 µg/ml (correlation coefficient = 0.9995) with HMDA. These values for acetaldehyde were from 0.08 µg/ml to 40 µg/ml (correlation coefficient = 0.9999) and 0.09 µg/ml to 90 µg/ml (correlation coefficient = 0.9995), respectively.

The aldehydes in aqueous solutions were determined with an average relative error of 1.5 % and an average variation coefficient of 0.2 %. The imine compounds did not have to be isolated for analysis. The time required per analysis is approximately 15 minutes.

The method was applied to determine acetaldehyde in alcohol and alcoholic beverages with an average recovery of 98.6 % and to determine formaldehyde in milk and shampoo with an average recovery of 100.6 %.

Based in the polarographic behaviour of the imines a method was developed for amperometric titration of the aldehydes. The standardized amines were used as titrant. The experimental conditions were the same as used in polarographic method. Aqueous solutions of the aldehydes in the 20 $\mu\text{g/ml}$ to 300 $\mu\text{g/ml}$ concentration range were titrated with an average relative error of 1.5 % for acetaldehyde and 3 % for formaldehyde.

INDICE

CAPÍTULO I . INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
CAPÍTULO II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
II.1. Formaldeído e Acetaldeído: Usos e Danos à Saúde ..	5
II.1.1. Introdução	5
II.1.2. Formaldeído	6
II.1.3. Acetaldeído	11
II.2. Métodos Analíticos para a Determinação dos Aldeídos	15
II.2.1. Métodos Titulométricos	16
II.2.2. Métodos Gravimétricos	19
II.2.3. Métodos Espectrofotométricos	20
II.2.4. Métodos Fluorimétricos	25
II.2.5. Métodos Cromatográficos	26
II.2.6. Métodos Espectroscópicos	29
II.2.6.1. Quimiluminescência	29
II.2.6.2. Fluorescência Induzida por Laser	30
II.2.6.3. Espectroscopia de Infra Vermelho	31
II.2.7. Métodos Radiométricos	31
II.2.8. Métodos Eletroquímicos	32

CAPÍTULO III. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A POLAROGRAFIA.	39
III.1. Introdução	39
III.2. Aspectos Teóricos	41
III.3. Características Analíticas da Polarografia Moderna	52
III.3.1. Aplicação	52
III.3.2. Sensibilidade	53
III.3.3. Tempo de Análise	53
III.3.4. Seletividade e Especificidade	54
 CAPÍTULO IV . TRABALHO EXPERIMENTAL	 56
IV.1. Equipamentos	56
IV.2. Reagentes	58
IV.3. Procedimento	59
IV.3.1. Padronização dos Aldeídos	59
IV.3.2. Padronização das Aminas	63
IV.3.3. Curva de Calibração	64
IV.3.4. Titulação Amperométrica	66
IV.3.5. Aplicação em Amostras Reais	67
 CAPÍTULO V. DISCUSSÃO E RESULTADOS	 69
V.1. Efeito do Eletrólito de Suporte	75
V.2. Efeito do Tempo de Desaeração	75
V.3. Efeito do Tempo de Gota e Altura do Pulso	77
V.4. Efeito do pH	78
V.5. Efeito da Concentração das Aminas	86
V.6. Determinação Quantitativa dos Aldeídos	88

V.7. Interferências	94
V.8. Titulação Amperométrica	97
V.9. Aplicação em Amostras Reais	102
CAPÍTULO VI. CONCLUSÕES	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Efeito do tempo de desaeração na corrente de pico dos derivados azometinos dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l.....	76
TABELA 2. Características polarográficas dos derivados azometinos dos aldeídos	86
TABELA 3. Relação entre a concentração das aminas e dos aldeídos na célula que resulta na melhor corrente de pico	87
TABELA 4. Condições experimentais para a análise de soluções aquosas de acetaldeído e formaldeído.	91
TABELA 5. Análise de soluções aquosas de acetaldeído por polarografia de pulso diferencial, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	92
TABELA 6. Análise de soluções aquosas de formaldeído por polarografia de pulso diferencial, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	93
TABELA 7. Efeito dos interferentes na determinação do acetaldeído por PPD em LiCl 0,10 mol/l	95
TABELA 8. Efeito dos interferentes na determinação do formaldeído por PPD, em LiCl 0,10 mol/l	96

TABELA 9. Análise amperométrica de soluções aquosas de acetaldeído por PPD, em LiCl 0,10 mol/l	99
TABELA 10. Análise amperométrica de soluções aquosas de formaldeído por PPD, em LiCl 0,10 mol/l	100
TABELA 11. Determinação de acetaldeído em amostras reais por PPD, em cloreto de lítio 0,10 mol/l (método da adição de padrão)	107
TABELA 12. Determinação de formaldeído em amostras reais por PPD, em cloreto de lítio 0,10 mol/l (método da adição de padrão)	108

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Diagrama esquemático de um polarograma <i>dc</i>	42
FIGURA 2. Diagrama esquemático de um polarograma de pulso diferencial	49
FIGURA 3. Sensibilidade de alguns métodos analíticos ...	54
FIGURA 4. Curva de calibração típica para os derivados azometinos dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	65
FIGURA 5. Curva de titulação amperométrica típica para os aldeídos com aminas primárias, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	66
FIGURA 6. Curva de adição de padrão típica para a determinação de aldeídos em amostras reais ...	68
FIGURA 7. Polarogramas de pulso diferencial típicos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	72
FIGURA 8. Polarogramas de pulso diferencial dos derivados azometinos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	73
FIGURA 9. Voltamogramas cíclicos para os derivados azometinos dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	74

FIGURA 10. Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o acetaldeído e a MEA	81
FIGURA 11. Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o acetaldeído e a HMDA	82
FIGURA 12. Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o formaldeído e a MEA	83
FIGURA 13. Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o formaldeído e a HMDA	84
FIGURA 14. Efeito do pH no potencial de pico dos derivados dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	85
FIGURA 15. Polarogramas de pulso diferencial típicos de uma curva de calibração para os derivados azometinos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l ..	90
FIGURA 16. Polarogramas de pulso diferencial típicos para a titulação amperométrica dos aldeídos com aminas primárias, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	101
FIGURA 17. Polarograma de pulso diferencial da titulação do formaldeído (50 µg/ml) com HMDA, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	102
FIGURA 18. Polarogramas de pulso diferencial típicos para análise de uma amostra real pelo método da adição de padrão, em cloreto de lítio 0,10 mol/l	106

CAPÍTULO I . INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O acetaldeído e o formaldeído são amplamente usados na indústria para manufatura e tratamento químico de uma grande variedade de produtos tais como resinas, fertilizantes, explosivos, borracha, algodão e na síntese de muitos compostos orgânicos. Esses aldeídos são também usados como conservantes em alimentos, cosméticos e têxteis. Na atmosfera são formados como intermediários na degradação fotoquímica de hidrocarbonetos e são emitidos pelas mais diversas fontes como combustão incompleta da madeira e de combustíveis, incineração de rejeitos, fumaça de cigarro, entre outras¹.

Os aldeídos causam irritação à pele, olhos, nariz e garganta. Sua toxicidade tem sido bastante estudada e há fortes suspeitas de serem cancerígenos e mutagênicos.

Conseqüentemente, o desenvolvimento de novos métodos para a determinação desses aldeídos, e/ou a otimização dos já existentes, é de grande interesse do ponto de vista analítico e toxicológico.

Várias técnicas são usadas para este fim, entre elas espectrofotometria², cromatografia³, polarografia⁴, quimiluminescência⁵, fluorimetria⁶ e algumas técnicas espectroscópicas como infra-vermelho⁷ e espectrometria de massa⁸.

Os métodos espectrofotométricos são amplamente usados mas têm como principais inconvenientes a falta de seletividade, a estabilidade da cor e, freqüentemente, as condições experimentais como pH, temperatura e tempo de reação são críticas.

A cromatografia, especialmente a cromatografia líquida de alta eficiência dos derivados da 2,4-dinitrofenilhidrazina, também é muito usada. Sendo uma técnica baseada na separação dos compostos é bastante seletiva, mas requer etapas lentas de preparação da amostra. De um modo geral, após a reação de derivatização é necessário uma etapa de extração e a subsequente concentração dos derivados, aumentando o tempo de análise e podendo ser o responsável por baixas recuperações.

As técnicas espectroscópicas são rápidas, sensíveis e seletivas, mas requerem instrumentação sofisticada, nem sempre disponível nos laboratórios de análise.

A aplicação da polarografia à determinação dos aldeídos tem sido ampla. No entanto, a redução direta desses compostos é difícil e problemática, uma vez que ocorre em

potenciais muito próximos do potencial de descarga dos eletrólitos de suporte mais comuns.

O emprego de métodos indiretos, baseados na condensação dos aldeídos com aminas primárias⁹, semicarbazidas¹⁰, hidrazinas¹¹ e hidroxilaminas¹², o melhoramento nos projetos dos eletrodos e a introdução no mercado dos polarógrafos de pulso diferencial com microprocessadores automatizados têm contribuído para o crescente uso da técnica polarográfica. Os derivados azometinos se reduzem em potenciais menos negativos do que os aldeídos de partida e a polarografia de pulso diferencial permite trabalhar com concentrações na faixa de até 10^{-9} mol/l e com eletrólitos de suporte até dez vezes mais diluídos que a polarografia *dc* clássica. Além disso, normalmente a separação dos derivados não é necessária. Esses fatores tornam as determinações polarográficas sensíveis, seletivas e relativamente rápidas.

Este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de um novo método polarográfico para a determinação do formaldeído e do acetaldeído buscando melhor sensibilidade, maiores exatidão, simplicidade e rapidez e um menor efeito de interferentes, em relação aos métodos já existentes. Os aldeídos foram determinados como iminas (bases de Schiff) usando a polarografia de pulso diferencial. As aminas estudadas foram a monoetanolamina e a hexametilenodiamina.

Foram investigados os principais fatores que afetam as características polarográficas dos derivados

azometinos como tipo e concentração do eletrólito de suporte, concentração das aminas, pH do meio, tempo de desaeração e interferentes.

Após otimização, o método foi aplicado na determinação de acetaldeído em álcool combustível, álcool comercial e bebidas alcoólicas e de formaldeído em leite e shampoos.

A titulação visual e potenciométrica dos aldeídos em solução aquosa também tem sido registrada na literatura. No entanto, esses métodos são, geralmente, demorados e nem sempre muito sensíveis e seletivos. Assim, tendo em vista o comportamento polarográfico das iminas, foi desenvolvido um método para a determinação dos aldeídos por titulação amperométrica, usando como titulante as soluções padrão das aminas estudadas. O método também foi aplicado a amostras reais.

CAPÍTULO II . REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. FORMALDEÍDO E ACETALDEÍDO: USOS E DANOS A SAÚDE

II.1.1. INTRODUÇÃO

Os aldeídos fazem parte de uma das principais classes de produtos químicos industriais e, entre eles, o formaldeído ocupa o primeiro lugar.

Os aldeídos são intermediários nas rotas de síntese de produtos importantes nas indústrias de construção, agricultura, têxtil, farmacêutica e de borracha. O mais recente consumidor de aldeídos é a indústria de construção, que usa resinas à base de formaldeído em madeiras e adesivos. Nos próximos anos é esperado um crescimento de 6 a 7 % ao ano no consumo dos aldeídos; crescimento esse já observado nas décadas passadas¹.

Além dos aldeídos emitidos pelas atividades industriais, na atmosfera esses compostos são formados como intermediários na degradação fotoquímica de

hidrocarbonetos¹³; emitidos por fontes naturais como a vegetação¹⁴, queimadas na floresta¹³, pela combustão incompleta da madeira e combustíveis¹⁵ e pela incineração de rejeitos¹⁶.

Em geral, os aldeídos estão isentos de ações que levam a danos orgânicos cumulativos e definitivos nos tecidos (exceto aqueles que devem ser associados à irritação primária ou à sensibilização). No entanto, as questões de mutagenicidade, carcinogenicidade e teratogenicidade estão relacionadas com muitos compostos orgânicos de amplo uso comercial, e os aldeídos não são uma exceção. Vários aldeídos, entre eles o formaldeído e o acetaldeído, têm sido bastante estudados e seu efeito mutagênico comprovado em várias bactérias, fungos e em sistemas de plantas. Contudo, até o momento, os autores não puderam afirmar se esses aldeídos seriam cancerígenos em animais mais evoluídos¹⁷.

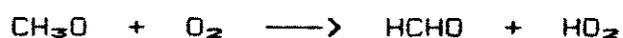
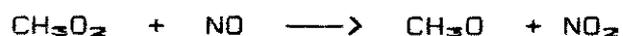
Estudos sobre a intoxicação pelo etanol e metanol têm proposto possíveis mecanismos da toxicidade dos aldeídos. Alguma, mas não toda, toxicidade do álcool tem sido atribuída aos aldeídos¹⁸.

II.1.2. FORMALDEÍDO

À temperatura ambiente, o formaldeído é um gás incolor que tem um forte odor penetrante. Comercialmente, é

encontrado em solução aquosa 37 %, conhecida como formalina. O formaldeído gasoso forma combinações explosivas com o ar na faixa de mistura contendo 7-72 % em volume; em soluções aquosas esse efeito é reduzido pela presença da água¹⁹.

O formaldeído é formado na atmosfera como produto de todas as oxidações fotoquímicas de hidrocarbonetos com um grupo metílico como substituinte, envolvendo óxidos de nitrogênio. A reação acontece porque, sob condições atmosféricas com presença de NO_x, os radicais metila formados se oxidam, levando ao aldeído.



A reação do ozônio com olefinas que têm a dupla ligação no carbono terminal também leva à formação de formaldeído⁷.

A importância do formaldeído na chuva ácida se deve à sua reação com os íons sulfito e bissulfito e à conseqüente produção do ácido hidroximetanosulfônico²⁰. O formaldeído é também um precursor importante para a formação do peróxido de hidrogênio, suspeito de ser um componente atmosférico de interesse na conversão dos compostos de enxofre (IV) a enxofre (VI)²¹.

A imensa utilidade industrial do formaldeído se deve à sua alta reatividade, natureza incolor, pureza na forma comercial, estabilidade e baixo custo.

As resinas sintéticas (fenol-formaldeído, uréia-formaldeído e melamina-formaldeído) são as responsáveis por

metade da demanda total do aldeído. Os concentrados industriais de uréia-formaldeído encontram uso em adesivos, composição de revestimentos, modificação de produtos têxteis e de papel. Na agricultura esses compostos são empregados na produção de fertilizantes que liberam nitrogênio gradualmente para o solo. Além disso, o formaldeído é usado na preparação de outras resinas por reação com a anilina, hidrocarbonetos aromáticos, cetonas, uretanas, amônia (hexametenotetramina), acetaldeído (pentaeritritol) e outras substâncias químicas. Também é empregado como agente de ligação na produção de resinas de proteínas (tais como caseína, cola, proteína do feijão de soja), de lignina e de poliacrilamidas.

Na indústria têxtil, o formaldeído é usado sozinho ou na forma de seus derivados N-metilol para a produção de tecidos resistentes ao amarrotamento, ao fogo e ao encolhimento. Fibras têxteis sintéticas são produzidas pela ação da insolubilização ou estabilização do formaldeído em álcool polivinílico e filamentos de proteínas.

Na indústria de papel, o aldeído confere resistência ao mesmo e serve como fixador de pigmentos.

O couro e a pele podem ser curtidos pela ação do formaldeído na presença de sais tampão para manter a neutralidade do meio.

A ação do formaldeído em proteínas também encontra uso na indústria fotográfica devido ao seu poder de endurecimento e insolubilização na superfície das gelatinas

dos filmes e papéis sensibilizados. As composições de formaldeído-bissulfito encontram uso especial em reveladores fotográficos.

Produtos de síntese envolvendo o formaldeído como um reagente chave incluem antioxidantes, corantes, agentes de adição para galvanoplastia, aceleradores de borracha, surfactantes, drogas e outros, bastante numerosos para serem mencionados.

O uso do formaldeído como bactericida, desinfetante, fungicida, conservante e desodorizante, embora tenha sido sua principal aplicação originalmente, agora consome apenas uma pequena percentagem do volume produzido. Sua ação bactericida acoplada à ação endurecedora sobre as proteínas torna-o útil como conservante em materiais embalados que incluem alimentos, produtos de higiene pessoal e cosméticos.

O formaldeído é tóxico por ingestão e inalação e pode causar lesões na pele, em função de sua metabolização em ácido fórmico²².

Quantidades relativamente grandes de formaldeído ingerido podem ser toleradas pelo homem: um consumo de 22-200 mg/dia durante 13 semanas consecutivas não causou nenhum efeito tóxico significativo. Doses mais altas causam irritação do sistema digestivo com vômitos e tontura. Ingestão de grandes quantidades pode causar convulsões e até morte.

Exposição a concentrações atmosféricas baixas causa irritação, especialmente nos olhos e trato respiratório. Uma concentração de 2-3 ppm causa leve formigamento nos olhos, nariz e faringe; à 4-5 ppm o desconforto aumenta rapidamente; entre 10-20 ppm há séria dificuldade para respirar, ardência nos olhos, nariz e traquéia, intensa lacrimejação e tosse forte. Exposição de 50-100 ppm produz sensação de aperto no peito, palpitação e, em casos extremos, morte devido a edema ou espasmos da glote. Sintomas asmáticos podem ocorrer devido à sensibilidade alérgica ao formaldeído, mesmo em baixas concentrações, bem como urticária. Exposições excessivas e repetidas podem provocar danos aos rins.

O formaldeído reage com o ácido clorídrico e foi observado que em ar úmido tal reação pode levar a quantidades não negligenciáveis de éter bis(clorometílico), um perigoso cancerígeno. Estudos têm mostrado que à temperatura e umidade ambientes, mesmo em concentrações muito altas dos reagentes, o éter não é formado a limites de detecção de 0,1 ppb^{23,24}. No entanto, o NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) tem recomendado que o formaldeído seja tratado como um cancerígeno ocupacional em potencial, uma vez que ele tem mostrado atividade mutagênica em vários sistemas de teste e tem induzido câncer nasal em ratos e camundongos, particularmente na presença de ácido clorídrico.

Têm sido registrados casos de dermatites inflamatórias e alérgicas, incluindo distrofia das unhas, devido ao contato direto com soluções, sólidos ou resinas contendo formaldeído livre. A forma inflamatória acontece com pequeno contato e grandes quantidades do aldeído; a forma alérgica pode acontecer com o contato de pequenas quantidades²².

O padrão atual para exposição é de 3 ppm de formaldeído em média, com um limite máximo de 5 ppm. Essa concentração foi definida como sendo aquela que não provoca qualquer distúrbio físico em um indivíduo saudável¹. Alguns autores e órgãos internacionais de saúde questionaram esses valores e propuseram 0,1 a 0,3 ppm como valor limite²³.

II.1.3. ACETALDEÍDO

O acetaldeído é um líquido volátil, incolor, com um penetrante odor sufocante que é, algumas vezes, agradável e frugal em concentrações diluídas. Misturas de vapor de acetaldeído com ar são inflamáveis e explosivas se as concentrações do aldeído e do oxigênio aumentarem acima de 4 e 9 %, respectivamente²⁴.

O acetaldeído é um produto intermediário presente na respiração das plantas mais altas. Ocorre, a nível de traços, como um flavorizante volátil natural em todas as frutas maduras que têm sabor ácido antes do amadurecimento e o seu teor é usado como índice químico de amadurecimento durante a estocagem a frio de frutas²⁷.

O acetaldeído também é um produto intermediário da fermentação alcoólica, mas é reduzido quase que imediatamente a álcool. Pode ser formado em vinhos e em outras bebidas alcoólicas após exposição ao ar, conferindo às mesmas um sabor desagradável. O aldeído é produzido no sangue pelo metabolismo do álcool etílico dando origem a rubor facial, palpitações e outros sintomas desagradáveis. Sua concentração em fluidos biológicos é baixa mas de grande importância uma vez que pode representar uma marca para discriminar alcoólicos de não-alcoólicos e, possivelmente, indicar predisposição inerente para o desenvolvimento do alcoolismo²⁸⁻³⁰.

A oxidação fotoquímica da maioria dos hidrocarbonetos leva à formação do acetaldeído que, por sua vez, participa, como precursor, em reações atmosféricas levando à formação de importantes componentes tais como ácido nítrico (HONO_2), nitrato de peroxiacetil (PAN) e vários outros³¹. A crescente formação do PAN, resultante de veículos que usam etanol como combustível, pode proceder via as seguintes reações:

resinas termofixas (produtos de condensação com fenol ou uréia); resinas acetal polivinílicas; prateamento de espelhos (através da redução do nitrato de prata amoniacal); conservante para frutas e peixes; agente endurecedor de gelatina, cola e produtos da caseína; prevenção de crescimento de mofo em couro; produção do butadieno (reação com álcool etílico), usado como substituinte sintético da borracha e o uso como flavorizante.

O acetaldeído é um irritante das membranas das mucosas e tem ação narcótica sobre o sistema nervoso central. Baixas concentrações causam irritação nos olhos, nariz, passagens respiratórias superiores, bem como catarro nos brônquios. Altas concentrações provocam dor de cabeça, letargia, bronquite e edema pulmonar. A ingestão causa náuseas, vômitos, diarreia, narcose e falha respiratória; a morte pode resultar de danos nos rins e degeneração graxa do fígado e músculos do coração. Exposição prolongada causa um decréscimo das células brancas, células vermelhas e hemoglobinas; há também um aumento sistemático na pressão sanguínea^{33,34}. A exposição repetida aos vapores de acetaldeído causa dermatite e conjuntivite. Em intoxicação crônica, os sintomas se assemelham aos do alcoolismo crônico: perda de peso e de inteligência, anemia, delírios, alucinações de visão e audição e distúrbios físicos³⁵.

Devido ao seu poder explosivo, o acetaldeído é manuseado na indústria em sistema fechado e as exposições não são contínuas, nem em altos níveis¹. O ser humano pode

prontamente detectar níveis de 50 ppm. Alguns indivíduos podem percebê-lo abaixo de 25 ppm. À uma exposição de 50 ppm por 15 minutos a maioria dos voluntários mostraram alguns sinais de irritação nos olhos e à uma exposição de 200 ppm todos tinham os olhos vermelhos e conjuntivites transitórias. Irritação nos olhos e, em menor extensão, no nariz e garganta são os únicos sinais notados durante a exposição industrial usual.

Embora a exposição industrial para o acetaldeído não tenha sido intensivamente examinada, o possível papel etiológico desse aldeído na toxicidade do etanol tem recebido considerável atenção³⁰.

Testes feitos com o objetivo de estudar a atividade mutagênica e cancerígena em homens e animais mais evoluídos têm sido negativos, embora o acetaldeído tenha produzido aberrações cromossômicas em plantas e animais menos evoluídos¹.

O limite máximo recomendado para o acetaldeído é de 100 ppm, com uma tentativa de aumentar esse limite para 150 ppm para exposições em curto período de tempo.

II.2. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA A DETERMINAÇÃO DOS ALDEÍDOS

Devido à grande reatividade do grupo carbonila, à ampla distribuição dos compostos carbonílicos em materiais

naturais e manufaturados e aos efeitos adversos provocados à saúde, principalmente pelo formaldeído e pelo acetaldeído, é bastante extensa a literatura analítica para esses compostos.

Os aldeídos têm sido determinados por diferentes procedimentos que incluem desde os métodos volumétricos clássicos³⁷ até as mais modernas técnicas instrumentais como a espectroscopia ótica diferencial de varredura rápida³⁸ e o sensor de cristal piezoelétrico³⁹.

Não raro, métodos já bastante estudados e aplicados são modificados para adequá-los às exigências de uma análise específica com relação à, por exemplo, tipo de matriz, interferências, limite de detecção, exatidão, tempo de análise, entre outras.

Para maior simplicidade, os métodos serão agrupados de acordo com as técnicas empregadas.

II.2.1. MÉTODOS TITULOMÉTRICOS

As reações de oximação entre os compostos carbonílicos e a hidroxilamina ou seus sais têm sido minuciosamente estudadas e métodos quantitativos baseados nessas reações foram durante um longo período extensivamente usados para a determinação de aldeídos^{40,41}. O cloreto de hidroxilamina é usado como reagente e o ácido clorídrico

liberado na reação é titulado com uma solução padronizada de uma base.

Determinações baseadas na formação dos produtos de adição do bissulfito com aldeídos podem ser divididas em dois métodos gerais. Em um deles, após a reação do composto carbonílico com um excesso conhecido de bissulfito, o bissulfito residual é determinado por titulação com solução padrão de iodo⁴². O outro é baseado no aumento da alcalinidade do sistema quando sulfito de sódio é usado como reagente. A titulação direta com ácido padronizado é usada para determinar o aumento da alcalinidade⁴³.

Alguns procedimentos têm sido propostos usando compostos derivados da hidrazina para a determinação volumétrica de aldeídos. Entre eles, os mais comumente usados são a fenilhidrazina⁴⁴ e a dimetilhidrazina assimétrica⁴⁵. Um excesso do reagente é adicionado à amostra e, após a reação, o excesso que não reagiu é titulado com ácido padronizado. Mais recentemente, Bark e Prachuabpaibul⁴⁶ propuseram o uso da dimetilhidrazina assimétrica para a determinação de acetaldeído por titulação termométrica com uma recuperação média de 98,2 %.

A reação característica dos compostos carbonílicos com aminas para formar iminas, comumente chamadas de bases de Schiff, também tem sido usada para a determinação de aldeídos⁴⁷.

A oxidação dos compostos carbonílicos por agentes oxidantes como os hipocloritos, reagente de Tollens (nitrato

de prata amoniacal) ou solução alcalina de iodeto de potássio e mercúrio, é a base para outro tipo de determinação volumétrica desses compostos. Hashmi e Ayez⁴⁰ determinaram pequenas quantidades de acetaldeído por titulação direta com solução de hipobromito. Siggia e Segal⁴⁷ usaram o reagente de Tollens e os íons prata residuais foram determinados por titulação potenciométrica com iodeto de potássio. Dos métodos mercurimétricos o mais eficiente é o de Ruch e Johnson⁵⁰, onde o mercúrio livre produzido, mantido em estado coloidal, reage com solução de iodo. O excesso de iodo é titulado com tiosulfato de sódio.

Outras reações podem ser usadas para a determinação volumétrica de aldeídos. Beg e colaboradores⁵¹ propuseram um método que se baseia na reação com excesso de hexanitratocerato de amônio (IV) catalisada por nitrato de prata; o excesso de cério (IV) que não reage é titulado com solução padrão de ferro (II) utilizando ferroína como indicador.

Os métodos volumétricos não são específicos. Aqueles que usam o sulfito de sódio, a hidroxilamina e a hidrazina são dependentes das reações características do grupo carbonila de aldeídos e cetonas, enquanto que os baseados na oxidação sofrem interferência de outros compostos que possam ser oxidados sob as condições de análise. Além disso, esses procedimentos têm a sensibilidade limitada associada à maioria dos métodos volumétricos.

Apesar dessas limitações, alguns métodos, como, por exemplo, o do bissulfito-iodo e o da hidroxilamina, ainda são recomendados por órgãos internacionais como o NIOSH e o AOAC (Association of Official Analytical Chemists) e usados pela grande maioria dos autores para a avaliação de padrões aquosos primários^{52,53}.

II.2.2. MÉTODOS GRAVIMÉTRICOS

A 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4-DNPH) é o reagente mais comumente usado para a determinação gravimétrica de compostos carbonílicos. A reação é específica e as 2,4-dinitrofenilhidrazonas resultantes podem ser quantitativamente separadas. No entanto, para aldeídos de baixa massa molar, como o formaldeído e o acetaldeído, a recuperação é ligeiramente baixa devido à uma pequena solubilidade de suas hidrazonas⁵⁴.

A dimedona (5,5-dimetilciclohexano-1-3-diona) também tem sido usada como reagente específico para aldeídos⁵⁵.

Recentemente, Al-Tamrah⁵⁶ propôs um método para a determinação gravimétrica indireta do formaldeído, baseado na reação do aldeído com tetracianoniquelato de potássio (II). O níquel liberado é precipitado com dimetilglioxima e determinado gravimetricamente.

Esses métodos são, geralmente, demorados e não apresentam boa exatidão e precisão para concentrações a nível de traços.

II.2.3. MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS

Um dos mais antigos e talvez também um dos mais usados desde a sua publicação em 1937 por Eegriwe⁵⁷, o método do ácido cromotrópico é praticamente específico para o formaldeído. Na presença de ácido sulfúrico concentrado, o ácido 1,8-dihidroxi-naftaleno-3,6-dissulfônico forma com o formaldeído um composto de cor violeta-arroxeadada forte que pode ser quantificado espectrofotometricamente à 578 nm. O método tem sido usado para a determinação de formaldeído em ar^{58,59}, em ambientes de trabalho^{4,60} e em fertilizantes à base de uréia-formaldeído⁶¹. O uso do ácido sulfúrico concentrado na análise é potencialmente perigoso, mas tem a vantagem do calor gerado na mistura com a solução aquosa facilitar a formação completa da cor. O limite de detecção do método é de 0,05 µg/ml para formaldeído em ar⁶².

Em meio de ácido sulfúrico concentrado, o ácido J (ácido 6-amino-1-naftol-3-sulfônico) forma com o formaldeído um cátion amarelo estável. O reagente pode ser usado em amostras aquosas de maneira análoga à do ácido cromotrópico, com um ligeiro aumento da sensibilidade⁶³.

Também em ácido sulfúrico concentrado, o ácido fenil J (ácido 6-anilino-1-naftol-3-sulfônico) pode ser usado para a determinação de formaldeído com uma sensibilidade 2,5 vezes maior que a do ácido cromotrópico; no entanto, a temperatura deve ser cuidadosamente controlada⁶⁴.

A reação dos aldeídos com hidrazinas aromáticas e hidrazonas na presença de agentes oxidantes também leva à formação de um produto colorido, que pode ser usado para a determinação espectrofotométrica desses compostos carbonílicos. A fenilhidrazina^{65,66}, a (2,4-DNFH)⁶⁷ e o 2-hidrazinobenzotiazol⁶⁸ foram os primeiros reagentes a serem estudados. O procedimento é mais sensível que o do ácido cromotrópico, mas o tempo de oxidação é crítico e a cor não é estável por um longo período. Além disso, o excesso de reagente, como no caso da 2,4-DNPH, pode absorver na mesma região do derivado, sendo necessário uma extração dos derivados, com solvente adequado, antes da medida da absorbância⁶⁹. Um limite de detecção de 0,1 µg/ml foi conseguido com uma pré-concentração das hidrazonas em colunas de adsorção cromatográficas.

Desde 1961, o cloreto de 3-metil-2-benzotiazol hidrazona (MBTH) na presença de cloreto de ferro (III) foi introduzido para a análise quantitativa dos aldeídos⁷⁰. Recentemente, o MBTH tem sido usado para a determinação de traços de aldeídos alifáticos em epoxipropano de alta

pureza, água do mar, roupas, ar e como impurezas em álcoois com limites de detecção de 10 ng/ml^{2,71}. Este reagente é considerado um dos mais sensíveis reagentes espectrofotométricos disponíveis para a determinação de aldeídos⁷².

Um outro método para determinar formaldeído baseia-se na sua reação com o 4-amino-3-hidrazino-1,2,4-triazol-5-tiol, seguida por oxidação para formar o composto violeta escuro detectado à 549 nm, após separação em coluna de resina de troca iônica. O aldeído foi determinado em soluções aquosas na faixa de 50-1000 ng/ml com um desvio padrão de $\pm 7\%$ ⁷³. Esse método também foi aplicado à determinação de formaldeído em plantas⁷⁴.

A formação de uma hidrazona é sugerida como a primeira etapa de um procedimento que usa oxalildihidrazida como reagente. A hidrazona forma um complexo azul com o cobre (II) em solução aquosa ($\lambda_{max} = 620$ nm). O procedimento é simples, mas o pH deve ser cuidadosamente controlado com acetato de amônio como tampão⁷⁵.

A reação de Hantzsch entre a acetilacetona (2,4-pentanodiona) e os aldeídos na presença de sais de amônio forma a base para um outro método espectrofotométrico⁷⁶. Para completar a reação é necessário um ajuste de pH com acetato de amônio e leve aquecimento. Embora não tão sensível como alguns outros métodos, esse tem sido bastante usado devido, principalmente, às brandas condições empregadas^{77,78}.

Um dos mais antigos e mais sensíveis reagentes analíticos para os aldeídos é o reagente de Schiff, preparado pelo tratamento da pararrosanilina (fucsina) com dióxido de enxofre aquoso⁷⁹. Uma atenção especial deve ser dada à razão dióxido de enxofre : pararrosanilina e a solução final deve ser tratada por adsorventes para remoção da cor residual. Além disso, é necessário um controle preciso das condições de reação e o uso de padrões preparados sob condições idênticas e ao mesmo tempo que as amostras. A temperatura e o tempo afetam a velocidade do desenvolvimento da cor e o reagente tem pouca estabilidade. O método modificado proposto por Miksch e colaboradores⁸⁰ é um dos mais sensíveis e foi usado para a determinação de acetaldeído em bebidas alcoólicas⁸¹. O método também foi aplicado à determinação de formaldeído em ar urbano e foram conseguidos limites de detecção tão baixos quanto 0,05 µg/ml⁸².

A mistura de acetaldeído, uma amina secundária e nitroprussiato de sódio leva a um produto de cor azul, detectado a 560 nm, que serve de base para a determinação quantitativa do aldeído. A piperazina (dietilenodiamina) foi usada por Pieper e colaboradores⁸³ para determinar o teor de acetaldeído em pastas de frutas e seus destilados; foram analisadas amostras contendo de 100 a 800 µg/ml do aldeído. Mofidi e co-autores⁸⁴ descreveram um método usando a piperidina (pentametilenoamina) para determinar acetaldeído

em bebidas alcoólicas com um limite de detecção de 2 µg/ml e uma exatidão de $\pm 6\%$.

Vários métodos enzimáticos têm sido sugeridos para a determinação espectrofotométrica dos aldeídos. Os mais adequados são aqueles baseados na oxidação do formaldeído e do acetaldeído pela nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidada (NAD⁺) catalisada pela enzima correspondente (formaldeído dehidrogenase e aldeído dehidrogenase) para formar o dinucleotídeo reduzido (NADH) e os ácidos fórmico e acético, respectivamente. O NADH produzido é, então, medido à 340 nm⁶⁶.

A análise por injeção em fluxo (FIA) tem sido aplicada aos métodos já descritos para a determinação de aldeídos, levando a um menor tempo de análise e a resultados mais exatos e precisos. O formaldeído foi determinado em amostras de ar por FIA usando o método da pararrosanilina com um limite de detecção de 0,1 µg/ml⁶⁶. Acetaldeído foi determinado em vinho e águas pelo método FIA-enzimático⁶⁷. Huber associou a análise por injeção em fluxo com a reação da acetilacetona em acetato de amônio para a determinação de formaldeído em soluções aquosas na faixa de 0,1 a 200 µg/ml⁷⁷.

Os métodos cinético-espectrofotométricos são muito sensíveis, mas requerem um rígido controle de tempo e temperatura para as determinações exatas^{66,67}. A análise por injeção em fluxo pode satisfazer esses requerimentos e a combinação das duas técnicas tem mostrado ser útil.

Recentemente, foi proposto um método FIA-cinético-espectrofotométrico para a determinação de traços de formaldeído baseado no efeito da inibição do aldeído na reação do verde brilhante-sulfito; o formaldeído foi determinado na faixa de concentração de 40-3000 ng/ml⁷⁰.

A determinação direta de aldeídos usando a espectroscopia do ultra-violeta tem sido muito limitada. Belkin e colaboradores⁷¹ usaram a técnica para determinar acetaldeído em soluções aquosas na faixa de concentração de 0,5 a 11,5 %. A análise direta é, também, usada para detectar impurezas (acetaldeído) em etanol e vodca⁷².

II.2.4. MÉTODOS FLUORIMÉTRICOS

Alguns dos reagentes espectrofotométricos podem também ser utilizados para a determinação fluorimétrica dos aldeídos. Esses métodos são mais difíceis de serem usados e tendem a mostrar baixas reprodutibilidade e estabilidade de fluorescência; no entanto, são mais sensíveis⁷³.

Os reagentes mais comumente usados para a determinação fluorimétrica dos aldeídos têm sido o ácido J⁷⁴, a acetilacetona⁷⁵, a dimedona⁷⁶ e a co-enzima NAD⁺ (forma oxidada)⁷⁷.

II.2.5. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

A separação, identificação e determinação de aldeídos por cromatografia não é, normalmente, complicada. Devido, principalmente, à grande variedade de substratos para as colunas, há um grande número de publicações sobre o assunto.

A cromatografia gasosa (CG) pode ser usada tanto para a determinação direta dos aldeídos como de alguns de seus derivados.

A determinação direta do formaldeído é problemática, uma vez que o detector de ionização da chama (FID), o mais comumente usado em CG, não tem boa resposta para esse aldeído. Além disso, o formaldeído é eluído como um pico distorcido, devido às interações e polimerizações nas colunas⁷³. No entanto, a CG tem sido usada para a determinação de formaldeído livre em solução⁷⁷, vapores⁷⁸, fontes de poluição⁷⁹ e ar ambiente¹⁰⁰.

O acetaldeído também tem sido determinado por CG em bebidas alcoólicas^{101,102}, sangue e urina¹⁰³, suco de frutas e ar²⁷. Tipicamente polímeros porosos têm sido usados como fase estacionária com vários detectores, sendo que os melhores resultados foram obtidos quando usadas programação de temperatura e colunas de vidro.

Para aumentar a sensibilidade da detecção com o FID, um microrredutor pode ser adaptado entre a coluna e o

detector. Os aldeídos são, então, reduzidos a metano ou ao álcool correspondente, para os quais o FID é mais sensível. Kashihira e colaboradores¹⁰⁴ determinaram acetaldeído em gases de exaustão de automóveis e em ar ambiente por CG, após conversão do aldeído em metano sobre cobre em fluxo de hidrogênio, com um limite de detecção de 16 ng/ml. Kucherenko e co-autores¹⁰⁵ descreveram um método para determinação de formaldeído em solução com detecção pelo FID do metanol originário da redução do aldeído com borohidreto de sódio.

O uso de um novo detector para CG baseado na medida do vapor de mercúrio resultante da redução do óxido de mercúrio por alguns compostos orgânicos permitiu a determinação de acetaldeído e formaldeído a níveis de 0,01 e 0,10 ng/ml, respectivamente¹⁰⁶.

A CG acoplada à espectrometria de massa (EM) permite determinações de aldeídos de forma mais sensível e seletiva, mas o equipamento requerido limita o seu uso. Mangani e Ninfali¹⁰⁷ determinaram o teor de acetaldeído em sangue por CG-EM com programação de temperatura e coluna de vidro, com um limite de detecção de 18 ng/ml e uma recuperação média de 93 %. O formaldeído liberado durante o tratamento de madeira também foi determinado por CG-EM usando padrão interno deuterado¹⁰⁸.

Os problemas apresentados, principalmente com o formaldeído, levaram ao uso da derivatização para as análises por CG. Os reagentes mais comuns são as

2,4-DNFH^{109,110}, a pentafluorofenilhidrazina¹¹¹, a dimedona¹¹² e algumas aminas como a cisteamina¹¹³, n-hexilamina¹¹⁴ e N-benziletanolamina¹¹⁵. A 2,4-DNFH é o reagente mais usado devido à sua seletividade e eficiência de reação à temperatura ambiente. O uso de colunas capilares e programação de temperatura facilita a separação dos derivados e leva a melhores resultados. Frequentemente, é necessário uma extração dos derivados, com solvente adequado, antes da injeção no cromatógrafo.

A determinação de aldeídos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) tem sido baseada, quase que exclusivamente, nos derivados da 2,4-DNFH com detecção espectrofotométrica no UV. As técnicas mais antigas usavam a cromatografia líquida de fase normal, que é adequada para o formaldeído, mas alguns aldeídos maiores não são totalmente resolvidos¹¹⁶. A separação é melhorada pelo uso da fase reversa¹¹⁷ e da programação do solvente¹¹⁸. Os solventes mais comumente usados para a eluição são a mistura metanol-água, acetonitrila e hexano.

Formaldeído e acetaldeído têm sido determinados por essa técnica em uma grande variedade de amostras como alimentos produzidos por fermentação¹¹⁷, doces¹²⁰, gases de exaustão¹⁸, bebidas alcoólicas¹²¹, fumaça de cigarro²², ar atmosférico¹²²⁻¹²⁴, surfactantes industriais¹²⁵ e cosméticos¹²⁶, com limites de detecção que variam de 0,1 ng/ml para os aldeídos em ar até 0,1 µg/ml para o acetaldeído em alimentos.

De um modo geral, esses métodos envolvem uma etapa de extração e a subsequente concentração das hidrazonas antes da separação e medida pela CLAE. Várias tentativas têm sido feitas no sentido de eliminar essas etapas, que aumentam o tempo da análise e, em alguns casos, são as responsáveis pelas baixas recuperações obtidas^{3,32}.

A separação cromatográfica dos aldeídos antes de sua derivatização permite a determinação de traços de um aldeído específico em amostras onde outros aldeídos estejam presentes em grandes quantidades. Mc Lure¹²⁷ comprovou isto determinando formaldeído (5 ng/ml) em mistura de aldeídos, usando uma coluna de troca iônica para a separação, derivatização com acetilacetona e detecção fotométrica. Summers¹²⁸ usou técnica semelhante para determinar formaldeído em produtos que usam conservantes que liberam o aldeído. O limite de detecção foi de 0,4 µg/ml.

II.2.6. MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS

II.2.6.1. Quimiluminescência

A reação entre o formaldeído, o peróxido de hidrogênio alcalino e o ácido 3,4,5-trihidroxibenzóico resulta em uma forte luminescência, que pode ser monitorada

por um fotomultiplicador. Essa é a base para a determinação do aldeído pelo método da quimiluminescência. Limites de detecção de até 3 ng/ml têm sido registrados¹²⁷.

Em meio básico, o álcool isopropílico reage com perclorato ou peróxido de hidrogênio e produz uma emissão quimiluminescente; traços de acetaldeído presentes no meio aumentam a intensidade desta emissão. Xiaohu e colaboradores⁸ usaram esse efeito para a determinação de acetaldeído em águas residuais à nível de 0,08 ng/ml.

A técnica da quimiluminescência associada a uma reação enzimática permite a determinação dos aldeídos, em solução aquosa, com concentrações de até 18 ng/ml. O método é baseado na oxidação quantitativa dos aldeídos pela enzima xantina-oxidase. O peróxido de hidrogênio produzido é, então, medido, usando o sistema quimiluminescente luminol-hexacianoferrato (III)¹²⁸.

As análises são rápidas, mas estão sujeitas a várias interferências como a de alguns ions inorgânicos. Além disto, a intensidade da luminescência depende da temperatura e da pressão do sistema.

II.2.6.2. Fluorescência induzida por laser

O método envolve a análise direta de amostras gasosas. Formaldeído pode ser determinado em amostras de ar

não poluído usando um diodo laser sintonizável de frequência pulsada cobrindo a região de 320-345 nm. O feixe laser passa por uma célula contendo a amostra gasosa à pressão reduzida. O limite de detecção foi de $1 \mu\text{g}/\text{ml}^{21}$.

II.2.6.3. Espectroscopia de infra vermelho

Essa técnica tem sido usada principalmente para monitorar poluentes atmosféricos. Associada à técnica da transformada de Fourier, o método torna-se altamente sensível e seletivo. A análise é rápida e são conseguidos limites de detecção de $1 \text{ ng}/\text{ml}$, mas o equipamento é altamente especializado^{7,131}.

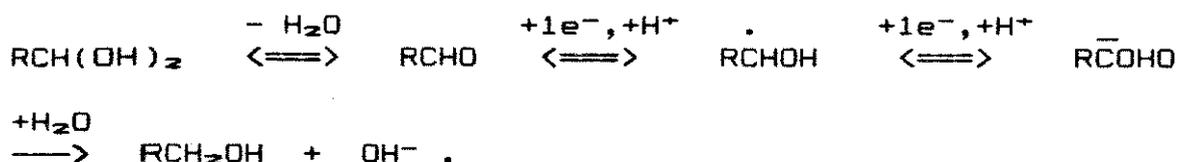
II.2.7. MÉTODOS RADIOMÉTRICOS

A medida da radioatividade, com um contador de cintilação líquida, do produto da reação do formaldeído com a dimedona- ^{14}C (radioativa) é a base de um método radiométrico usado para determinar o aldeído em sangue e urina. O limite de detecção encontra-se em $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$, com um erro menor que $8,5 \%$ ¹³².

II.2.8. MÉTODOS ELETROQUÍMICOS

Muitos aldeídos são eletroativos no eletrodo de mercúrio gotejante (EMG) em soluções básicas, o que permite que a polarografia seja usada como técnica analítica para a sua determinação¹³³.

Os aldeídos são reduzidos à álcool na superfície do eletrodo segundo a reação:



O formaldeído predomina em solução aquosa na forma hidratada, eletroativa. Portanto, a etapa limitante do processo é a da desidratação gerando, assim, uma corrente cinética¹³⁴. O acetaldeído apresenta um grau de hidratação bem menor, originando uma onda polarográfica controlada por difusão¹³⁵.

A redução do formaldeído acontece facilmente em um potencial de meia onda ($E_{1/2}$) em torno de $-1,6 \text{ V}$ vs ECS, enquanto que o acetaldeído, por ter um dos átomos de hidrogênio substituído por um grupo doador de elétrons, se reduz em um potencial mais negativo ($E_{1/2}$ em torno de $-1,8 \text{ V}$ vs ECS). Esses valores de potencial estão um pouco abaixo do potencial de redução dos eletrólitos de suporte mais comuns

e a técnica polarográfica pode ser usada para a determinação quantitativa desses aldeídos.

Desde que Jahoda¹³⁶ e Shikata¹³⁷ publicaram os primeiros trabalhos sobre a redução do formaldeído e do acetaldeído, respectivamente, no EMG, em solução básica, muitos pesquisadores têm investigado o uso da polarografia clássica *dc* para a análise direta dos aldeídos. Pequenas quantidades de acetaldeído (0,5 µg/ml) foram detectadas em bebidas alcoólicas e vinagres na presença de uma mistura de cloreto de lítio e hidróxido de lítio como eletrólito de suporte¹³⁸. Uma solução de cloreto de potássio e hidróxido de potássio foi usada para a determinação de formaldeído em material biológico¹³⁹. Elving e Rutner¹⁴⁰ mediram acetaldeído em presença de formaldeído, em solução de cloreto e hidróxido de lítio, baseado na diferença das correntes de difusão. Esse mesmo eletrólito de suporte foi usado para a determinação simultânea dos dois aldeídos resultantes da oxidação do etileno e 1,2-propileno-glicol¹⁴¹.

Mais recentemente, acetaldeído em bebidas alcoólicas¹⁴² e formaldeído em ar¹⁴³ foram determinados em solução de hidróxido de lítio 0,1 mol/l com limites de detecção de 1 µg/ml e 0,5 µg/ml, respectivamente. Soluções de hidróxido de potássio 0,2 mol/l¹⁴⁴ e misturas de hidróxido de lítio 0,03 mol/l e cloreto de lítio 1 mol/l^{144,145} também foram usadas como eletrólitos de suporte.

Zaitseva e co-autores¹⁴⁶ descreveram um método para medir formaldeído em ar industrial usando a polarografia ac trapezoidal com um limite de detecção de 0,1 µg/ml.

A polarografia de pulso diferencial tem sido aplicada em diversas matrizes com detecção de até 0,2 µg/ml dos aldeídos¹⁴⁷⁻¹⁵⁰.

Estudos da redução polarográfica dos compostos azometinos $>C=N-$ (produtos da condensação dos aldeídos com grupos amino), primeiramente registrados por Zuman¹⁵¹, mostraram que a dupla ligação carbono-nitrogênio é, geralmente, reduzida a um potencial menos negativo que a dupla ligação carbono-oxigênio dos aldeídos correspondentes. Isso permite que os compostos carbonílicos sejam determinados polarograficamente, com alguma vantagem, através de seus derivados azometinos.

Os compostos amino usados para a derivatização são as hidrazinas, semicarbazidas, hidroxilaminas e as amins primárias, para formar, respectivamente, as hidrazonas, semicarbazonas, oximas e iminas ou bases de Schiff. As condições de reação dependem do tipo de reagente; os três primeiros derivados se formam em meio neutro ou ligeiramente ácido, o que impõe a necessidade do uso de um tampão. As iminas, por sua vez, formam-se em meio básico e o excesso da amina pode atuar como eletrólito de suporte.

O reagente mais amplamente estudado tem sido a hidrazina na forma de seu sal cloreto de

hidrazina^{4,11,152,153}, mas tem sido registrado na literatura o uso da 2,4-DNFH¹⁵⁴ e das betainilhidrazinas (reagentes de Girard)¹⁵⁵. Teores de aldeído de até 1 ng/ml puderam ser detectados pela determinação da hidrazona correspondente por polarografia de pulso diferencial¹⁵⁶.

O cloreto de semicarbazida também é bastante usado^{10,157,158} e aldeídos a níveis de 0,4 µg/ml podem ser detectados usando a polarografia *dc*¹⁵⁹.

As oximas são formadas principalmente a partir do cloreto de hidroxilamina^{12,160}, mas as N-alkilhidroxilaminas também foram estudadas¹⁶¹.

Para a determinação polarográfica dos aldeídos como iminas tem sido mais freqüentemente usado a etilenodiamina¹⁶² e o adipato de 1,6-hexametilenodiamina¹⁶³. Ignat'ev e colaboradores determinaram acetaldeído e formaldeído, através de suas bases de Schiff, a nível de 0,2 ng/ml em etilenoglicol comercial⁷.

A titulação amperométrica, baseada no comportamento polarográfico dos derivados azometinos, tem sido aplicada à determinação de aldeídos. Van Atta e colaboradores¹⁶⁴ usaram o cloreto de hidroxilamina como titulante e determinaram acetaldeído na faixa de 4 a 400 mg/ml em solução aquosa com EMG. Bork e co-autores descreveram um método para a titulação amperométrica dos aldeídos individualmente¹⁶⁵ e em misturas¹⁶⁶ com cloreto de hidroxilamina e dois eletrodos de cobre polarizados. A medida do decréscimo da corrente anódica do cloreto de

hidroxilamina após a adição dos aldeídos foi usada para a determinação desses compostos por Al-Hajjaji e Al-Zamil¹⁶⁷. Por outro lado, o descréscimo na corrente de redução do formaldeído com a adição da dietilenotriamina em solução alcalina foi a base para a titulação do aldeído na faixa de concentração de 2 a 4 mg/ml¹⁶⁸. O formaldeído também pode ser titulado amperometricamente, em eletrodo de platina rotatório, com solução de iodato de potássio, após sua reação com o cloreto de hidroxilamina; o excesso de reagente não interfere na titulação¹⁶⁹.

A titulação amperométrica indireta com eletrodo de platina rotatório foi usada por Ikeda¹⁷⁰ e Usvyatsov¹⁷¹ para a determinação de formaldeído. O primeiro tratou a amostra com cianeto de potássio e o excesso de reagente foi titulado com solução padronizada de nitrato de prata. No segundo caso, o formaldeído foi oxidado por solução de prata amoniacal e o excesso de íons prata foi titulado com ferrocianeto de potássio.

Outras técnicas voltamétricas têm sido usadas para a determinação de aldeídos, entre elas a voltametria cíclica com eletrodos de disco de ouro rotatórios^{172,173}, a voltametria de onda quadrada¹⁷⁴ e a voltametria com varredura de potencial e células gêmeas¹⁷⁵.

A titulação coulométrica também tem sido usada para a determinação de aldeídos. Mitev e colaboradores¹⁷⁶ determinaram acetaldeído através de sua oxidação com dicromato de potássio; o excesso do reagente foi titulado

com Fe^{+2} gerado eletroliticamente a 2 mA/cm^2 . O erro foi de $\pm 0,5 \%$ para $0,6-7,3 \text{ mg}$ do aldeido. Oganesyán e Svirshchevskaya¹⁷⁷ determinaram formaldeido em soluções de cobre para galvanização por titulação com iodo gerado eletroliticamente, após reação com tiosulfato de sódio. A corrente de eletrólise foi de 3 a 5 mA e um fio de platina foi usado como eletrodo de trabalho.

Recentemente, foi proposto um método condutométrico-enzimático para a determinação do acetaldeido baseado na variação da condutância durante a sua oxidação pelo co-fator NAD^+ em meio tamponado. A validade do método foi testada com a determinação do acetaldeido em vinhos e comparação com um método espectrofotométrico. Ambos os métodos levaram a resultados similares, mas a condutometria evita o tratamento prévio da amostra se as soluções forem coloridas ou turvas¹⁷⁸.

Há, portanto, um grande número de técnicas disponíveis para a determinação do formaldeido e do acetaldeido. Todas apresentam vantagens, desvantagens e limitações tanto inerentes à própria técnica como específicas de uma determinada situação.

A espectrofotometria, por exemplo, tem como principal desvantagem a instabilidade dos reagentes e a dificuldade em purificá-los, embora métodos selecionados possam ser muito adequados para casos particulares.

A cromatografia oferece alta resolução para compostos relacionados estruturalmente e sensibilidades

comparadas ou até melhores do que aquelas da moderna polarografia. No entanto, o isolamento dos derivados carbonílicos é, freqüentemente, tedioso e demorado. Varias tentativas têm sido feitas no sentido de eliminar essa etapa e os resultados obtidos têm sido satisfatórios.

A sensibilidade e a reprodutibilidade da polarografia são similares às de outros métodos comumente usados, mas a sua grande vantagem é a seletividade que, freqüentemente, permite a determinação de um composto em uma mistura sem separação prévia. Além disso, na grande maioria dos casos, não é necessário o isolamento dos derivados, já que os reagentes são eletroinativos nas condições de análise, podendo estar presentes, em excesso, na solução.

CAPÍTULO III. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A POLAROGRAFIA

III.1. INTRODUÇÃO

Desde a sua descoberta por Heyrovsky em 1922, a polarografia tem-se tornado uma das mais importantes técnicas na química analítica. No entanto, a polarografia em geral, e a polarografia orgânica em particular, têm tido uma trajetória irregular. Durante o primeiro período (1922-1950), cerca de 3.000 artigos foram publicados comprovando a sua aceitação como método instrumental para a análise de traços e houve um grande desenvolvimento da polarografia orgânica pelo prof. Shikata, no Japão, seguido por alguns trabalhos pioneiros de Brdicka, Mueller, Semerano e colaboradores¹⁷⁹.

No fim da década de 50 e nos anos 60, a técnica praticamente desapareceu dos laboratórios de análise. Todavia, foram publicados durante esse período alguns clássicos na literatura da polarografia¹⁸⁰⁻¹⁸². Foi durante esse período que Barker e colaboradores desenvolveram os

métodos eletroanalíticos de pulso, que são a base da polarografia analítica moderna.

Os anos 70 foram considerados o período do renascimento da análise polarográfica. A principal razão para o renascimento da polarografia como técnica analítica de rotina foi o avanço na eletrônica instrumental, permitindo que instrumentos relativamente simples, bastante confiáveis e não muito caros se tornassem comercialmente disponíveis.

A década de 80, de acordo com Bond¹⁰³, seria a "década da maturidade para a análise polarográfica em sua forma moderna". A possibilidade de trocar o eletrodo de mercúrio gotejante (EMG) por um eletrodo de mercúrio de gota estática e a introdução da tecnologia dos microprocessadores em muitas áreas da instrumentação e da aquisição de dados são as responsáveis pelo impacto substancial no futuro da técnica. Isso tem sido confirmado pelo grande número de publicações recentes sobre a aplicação da polarografia na identificação e determinação de concentrações à nível de traços (ppm e ppb) de muitas moléculas orgânicas, organometálicas e inorgânicas. Além disso, a polarografia tem sido aplicada para a determinação de parâmetros físico-químicos, termodinâmicos e cinéticos e para a elucidação dos mecanismos das reações de eletrodo.

III.2. ASPECTOS TEÓRICOS¹⁸⁴⁻¹⁸⁷

A polarografia é um método eletroquímico baseado na eletrólise de uma espécie eletroativa sobre um eletrodo de mercúrio gotejante. A técnica clássica da polarografia de corrente contínua (*dc*) envolve a medida da corrente que flui durante o processo eletrolítico em função de um potencial linear lento (cerca de 100 mV/min) aplicado à célula. As aplicações analíticas da polarografia *dc* estão fundamentadas na medida e interpretação das curvas corrente-potencial ($i \times E$), conhecidas como polarogramas *dc* (Figura 1). O eixo do potencial é definido com relação a um eletrodo de referência, tradicionalmente o eletrodo de calomelano saturado (ECS), mas que pode ser qualquer outro que tenha um potencial estável e reprodutível nas condições da medida. Na presença de substâncias que se reduzem ou oxidam no EMG observa-se um aumento na corrente catódica (positiva) ou anódica (negativa) em uma determinada faixa de potencial da curva $i \times E$. Acima desta faixa a corrente passa a ser independente do potencial aplicado e alcança um valor limite. A curva $i \times E$ em forma de S (sigmóide) é chamada de onda polarografica.

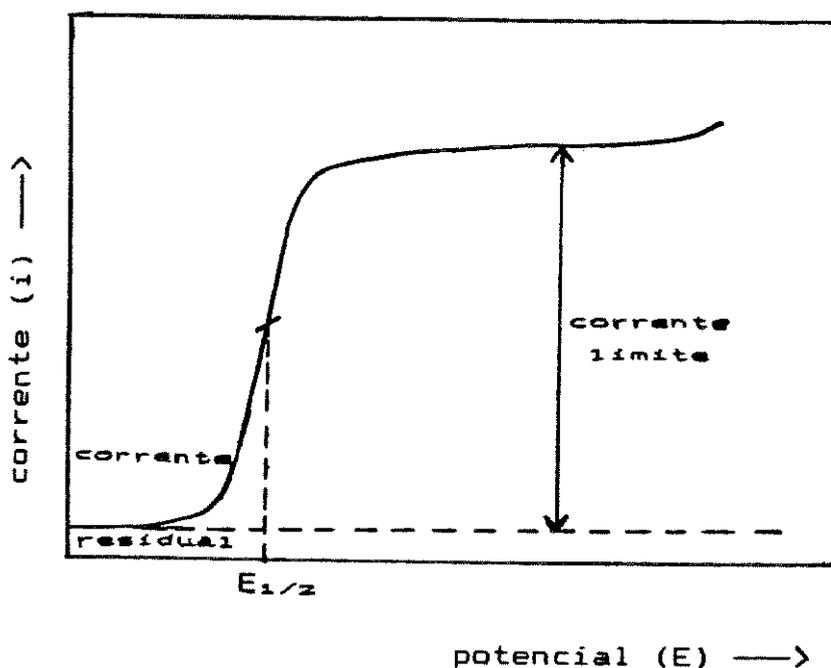


Figura 1. Diagrama esquemático de um polarograma *dc*

A diferença entre a corrente limite e a corrente anterior ao início da onda polarográfica (corrente residual), chamada de altura da onda, usualmente depende da concentração da espécie eletroativa na solução. A corrente limite pode ser controlada por difusão, quando a etapa determinante da velocidade do processo é a difusão da espécie eletroativa causada por um gradiente de concentração entre a superfície do eletrodo e o seio da solução; cineticamente controlada, quando uma reação química que antecede a reação do eletrodo é a etapa lenta; controlada por adsorção, quando a forma reduzida ou oxidada da espécie de interesse é adsorvida na superfície do eletrodo e

cataliticamente controlada, quando um catalisador polarograficamente inativo está presente no meio.

Outro parâmetro importante é o potencial de meia-onda, $E_{1/2}$, potencial no qual a corrente alcança a metade de seu valor limite. O $E_{1/2}$ depende da natureza da espécie eletroativa e da composição da solução na qual está presente, mas é, praticamente, independente da sua concentração. Se a composição da solução for mantida constante é possível comparar os $E_{1/2}$ de várias substâncias, como base para a sua caracterização qualitativa.

A maioria das aplicações da polarografia *dc* são baseadas em processos de eletrodo controlados por difusão. No entanto, deve ser usado um excesso de eletrólito de suporte e a solução mantida sem agitação durante a eletrólise, para evitar a contribuição das correntes de migração e de convecção na corrente limite.

A corrente limite controlada por difusão (i_d), isto é, a corrente máxima no fim do tempo de vida da gota, está linearmente relacionada com a concentração da espécie eletroativa pela equação de Ilkovic:

$$i_d = 0,732 n F C D^{1/2} m^{2/3} t^{1/6} \quad (\text{Eq. 1})$$

onde n = número de elétrons envolvidos no processo de transferência de carga;

F = constante de Faraday;

C = concentração da espécie eletroativa no seio da solução (mol/cm^3);

D = coeficiente de difusão (cm^2/s);

m = taxa de escoamento do mercúrio (g/s);

t = tempo de gota (s).

A Equação 1 representa apenas a corrente faradaica controlada por difusão. A corrente total contém uma corrente capacitativa, devida à adsorção de ânions e cátions na superfície do eletrodo para formar a dupla camada elétrica. Essa dupla camada tem uma capacitância finita e, conseqüentemente, uma corrente significativa é necessária para levar a interface eletrodo-solução ao potencial requerido. É a existência dessa corrente capacitativa que limita a sensibilidade da técnica *dc* à cerca de 5×10^{-5} mol/l. A corrente capacitativa é muito grande no início da gota, mas decresce com o seu crescimento. A corrente faradaica, por outro lado, como definido pela Equação 1, aumenta com o tempo da gota. Essa importante diferença entre a corrente faradaica e a capacitativa é a base na qual as modernas técnicas polarográficas, como a polarografia de pulso, têm sido desenvolvidas.

Muitos processos de eletrodo são reversíveis, ou seja, a velocidade de transferência de elétrons é rápida em comparação com o transporte de massa para a superfície do eletrodo. A forma da curva $i \times E$ resultante desses processos é descrita pela equação:

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_d - i}{i} \left(\frac{D_r}{D_o} \right)^{1/2} \quad (\text{Eq. 2})$$

onde i = corrente no potencial E ;

i_d = corrente limite (controlada por difusão);

E° = potencial padrão para o sistema $O + ne \rightleftharpoons R$;

D_r = coeficiente de difusão da espécie eletroativa reduzida;

D_o = coeficiente de difusão da espécie eletroativa oxidada.

A Equação 2 pode ser simplificada para:

$$E = E^\circ + \frac{RT}{nF} \ln \frac{i_d - i}{i} \quad (\text{Eq. 3})$$

Da Equação 3 segue que um gráfico $E \times \log \frac{i_d - i}{i}$ deve

ser linear com uma inclinação de $2,303 RT/nF$. Quando $i = i_d/2$, então, $\log \frac{i_d - i}{i} = 0$ e $E = E_{1/2}$. Assim, um gráfico

desse tipo é freqüentemente usado para avaliar a reversibilidade ou não de um processo de eletrodo *dc* e para calcular $E_{1/2}$.

No entanto, muitas reações eletroquímicas são irreversíveis, isto é, a cinética e a termodinâmica da reação devem ser consideradas para deduzir a relação entre i e E . Para um sistema irreversível $O + ne \rightarrow R$, usando as correntes máximas no fim da vida da gota, a solução é dada pela equação:

$$E = E^\circ + 0,916 \frac{RT}{\alpha nF} \ln \frac{i_d - i}{i} + \frac{RT}{\alpha nF} \ln 1,3959 K_m \left(\frac{t}{D} \right)^{1/2} \quad (\text{Eq. 4})$$

onde α = coeficiente de transferência; (significa a fração do potencial que influencia a velocidade da eletrorredução. Para a maioria dos processos de eletrodo o valor de α fica em torno de 0,3 a 0,7);
 K_s = constante de velocidade de transferência de carga heterogênea.

Assim,

$$E_{1/2} = E^{\circ} + \frac{RT}{\alpha nF} \ln 1,359 K_s \left(\frac{t}{D} \right)^{1/2} \quad (\text{Eq. 5})$$

$$e \quad E = E_{1/2} + 0,916 \frac{RT}{\alpha nF} \ln \frac{i_d - i}{i} \quad (\text{Eq. 6})$$

Nas Equações 4, 5 e 6 i não é apenas o valor controlado pela difusão, mas é governado pela velocidade da transferência de elétrons. A corrente limite i_d é ainda um valor controlado por difusão. Se i_d é independente do potencial o gráfico $E \times \log \frac{i_d - i}{i}$ é linear com uma extensão maior que no caso reversível. Processos reversíveis e irreversíveis podem ser distinguidos com base na forma e na posição da onda e na dependência do tempo de gota.

Prótons também estão envolvidos em muitas reações de eletrodo de moléculas orgânicas. Para o sistema $O + mH^+ + ne \longrightarrow R$ pode-se escrever a equação:

$$E_{1/2} = k - \frac{0,059 m}{n} \text{ pH} \quad (\text{Eq. 7})$$

onde k = potencial padrão constante;

m = número de prótons envolvidos na reação.

A Equação 7 mostra a importância do tamponamento adequado do meio, de modo que a interface eletrodo/solução não sofra variação apreciável de pH, e fornece as bases para o uso da dependência do $E_{1/2}$ com o pH como meio de caracterização do processo de eletrodo.

Todas as variantes modernas da técnica polarográfica *dc* clássica, como as polarografias *dc* rápida, de corrente amostrada, de corrente média, derivativa e subtrativa, têm melhorado a sensibilidade eliminando, em parte, a contribuição da corrente capacitiva devido à dupla camada que carrega a gota. Embora haja várias técnicas disponíveis, apenas um número reduzido delas têm sido aceitas para trabalhos de rotina.

A polarografia de pulso foi inventada por Barker e colaboradores¹⁰⁰ no fim dos anos 50. Utilizando as diferentes dependências de tempo das correntes faradaica e capacitiva, a polarografia de pulso normal (PPN) impõe uma série de pulsos, de amplitude crescente, a gotas sucessivas em um tempo pré-selecionado, próximo do fim do tempo de vida de cada gota. A corrente capacitiva, inicialmente alta, cai rapidamente e a corrente faradaica residual é amostrada durante a parte final dos 50-60 ms do tempo do pulso.

A corrente limite na PPN, i_{d}^{PPN} , é dada pela equação de Cottrell:

$$i_d^{PPN} = n F C A \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \quad (\text{Eq. 8})$$

onde t_m = intervalo de tempo entre a aplicação do pulso e a medida da corrente;

A = área do eletrodo.

A PPN é extremamente útil em aplicações analíticas, uma vez que pode responder tanto a processos reversíveis como irreversíveis. Uma outra vantagem da técnica de pulso é que, como o pulso de medida é aplicado em uma fração pequena do tempo de gota total, de 0,5 a 5 segundos, somente uma pequena quantidade do material eletroativo é depositado no eletrodo. Isso significa que a técnica de pulso é muito menos afetada por problemas de adsorção que a *dc* clássica.

Embora a PPN tenha melhorado a sensibilidade em relação à *dc* clássica, o polarograma resultante ainda tem a forma de S. Uma variante analiticamente mais útil é a polarografia de pulso diferencial (PPD). Nessa técnica, pulsos de pequena amplitude (10 a 100 mV) de cerca de 60 ms de duração, sobrepostos a uma rampa de potencial *dc* convencional, são aplicados ao EMG próximo ao fim do tempo de vida da gota. A corrente é amostrada em dois intervalos de tempo, imediatamente sobre a rampa antes da aplicação do pulso e novamente no fim do pulso (após 40 ms) quando a corrente capacitiva já decaiu. É registrado, então, a diferença entre essas duas correntes. Como o maior aumento

na corrente, para um dado incremento de potencial, ocorrerá no $E_{1/2}$, a curva $i \times E$ tem a forma de um pico (Figura 2).

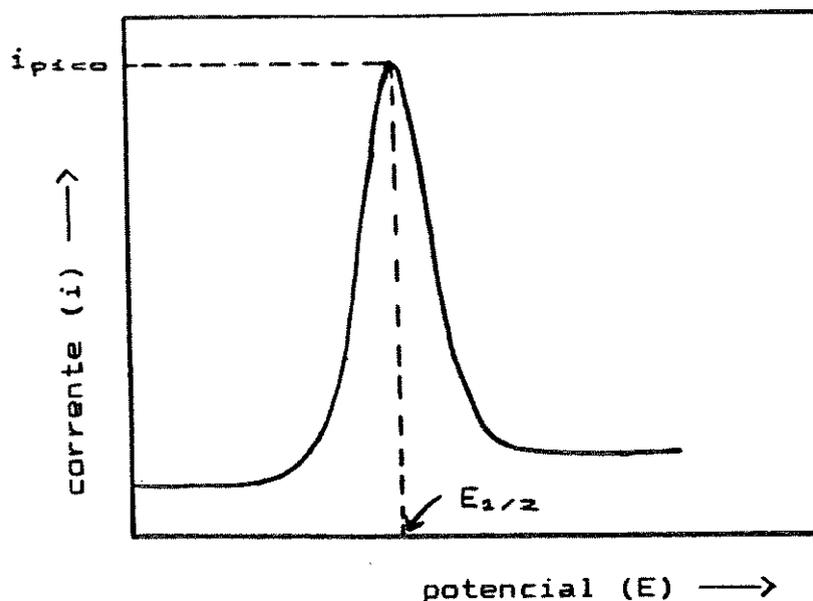


Figura 2. Diagrama esquemático de um polarograma de pulso diferencial

A relação entre a corrente de pico diferencial, Δi , e a amplitude modulada de pulso, E , é dada por:

$$\Delta i = n F A C \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \cdot \frac{P_A G^2 - P_A}{G + P_A G^2 + P_A + P_A^2 G} \quad (\text{Eq. 9})$$

$$\text{onde } P_A = \exp \frac{n F}{R T} \left(\frac{E_1 + E_2}{2} - E_{1/2} \right);$$

$$G = \exp \frac{n F}{R T} \left(\frac{E_2 - E_1}{2} \right);$$

$E_2 - E_1 = \Delta E =$ amplitude do pulso;

$E_2 =$ potencial no qual a corrente i_2 é medida, após

aplicação do pulso;

E_1 = potencial no qual a corrente i_1 é medida, na ausência do pulso.

Quando $-\frac{\Delta E}{2} < \frac{RT}{nF}$ a Equação 9 se simplifica para:

$$(\Delta i)_{\max} = \frac{n^2 F^2 A C}{4 R T} \cdot (-\Delta E) \cdot \left(- \sqrt{\frac{D}{\pi t_m}} \right) \quad (\text{Eq. 10})$$

Para polarogramas de pulso diferencial com valores de E muito pequenos, o potencial da corrente de pico, E_p , coincide com o $E_{1/2}$. Para valores maiores de E , E_p se relaciona com $E_{1/2}$ por:

$$E_p = E_{1/2} - \frac{\Delta E}{2} \quad (\text{Eq. 11})$$

Nos processos reversíveis, a corrente máxima, $(\Delta i)_{\max}$, está diretamente relacionada com a concentração, como na Equação 10. Nos processos irreversíveis, $(\Delta i)_{\max}$ é também uma função de K_s . A corrente por unidade de concentração é menor e a largura do pico maior quando comparadas com os processos reversíveis.

Pela Equação 10 pode parecer que a PPD é inerentemente menos sensível que a PPN, mas a prática mostra uma ligeira melhora na sensibilidade devido à superior resolução das curvas $i \times E$ em concentrações baixas.

A PPD além de minimizar os efeitos da corrente capacitiva ainda mantém as características importantes da dc clássica que são a superfície de eletrodo renovável e a

independência da corrente limite com a velocidade de transferência de elétrons.

A principal desvantagem da PPD é o tempo relativamente longo para o registro de cada curva $i \times E$ (tipicamente 3 a 5 min), uma vez que cada pulso de potencial é imposto somente uma vez durante o tempo de vida da gota e as velocidades de varredura do potencial são da ordem de 50 a 200 mV/s. Tempos de gota menores (0,1 s) permitem um aumento na velocidade de varredura, mas são obtidas linhas de base inclinadas e há um decréscimo na sensibilidade.

O aparecimento no mercado de equipamentos polarográficos de pulso de alta qualidade, com 3 eletrodos, tem resultado em muitas publicações, principalmente usando a PPD. Limites de detecção de 10^{-7} a 10^{-9} mol/l têm sido registrados para uma ampla faixa de moléculas orgânicas de importância ambiental como poluentes, drogas, aditivos de alimentos, contaminantes, agroquímicos, entre outros, presentes em uma variedade de matrizes como ar, plasma, tecidos e solos.

III.3. CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DA POLAROGRAFIA MODERNA^{187,170}

III.3.1 APLICAÇÃO

A reprodutibilidade das determinações polarográficas está, normalmente, entre 2 e 3 % para a *dc* clássica, a níveis de concentração de 20 a 0,01 %, e para a PPD em cerca de 5 %, para amostras contendo de 0,001 a 0,01 %. Em geral, a polarografia é mais adequada para a determinação de baixas concentrações de uma dada substância em solução ou mistura do que para ensaios quantitativos de uma substância pura (determinação do título). No entanto, pode ser recomendada para esse fim se não houver outro método disponível ou se forem mais demorados, mais caros, menos confiáveis ou seletivos.

A polarografia é um método oficial nas Farmacopéias dos Estados Unidos, Tchecoslováquia e Hungria para a determinação de alguns compostos orgânicos de interesse farmacêutico e biológico. As Farmacopéias da França e da Suíça incluem a titulação amperométrica como método oficial.

III.3.2. SENSIBILIDADE

A polarografia *dc* foi o primeiro método instrumental a permitir determinações quantitativas abaixo de 10^{-4} mol/l. No entanto, somente com o advento da voltametria de varredura rápida, onda quadrada e da PPD é que o método foi capaz de determinar com confiança de submicrogramas, sendo que os instrumentos de 3ª geração permitem determinações de concentrações cada vez menores. A polarografia moderna, sob condições ótimas, tem sensibilidade comparada com a de alguns métodos cromatográficos e espectrofluorimétricos (Figura 3).

III.3.3. TEMPO DE ANÁLISE

Devido ao preço de uma única análise e à necessidade de analisar um grande número de amostras, o tempo gasto nos procedimentos analíticos tem se tornado um fator de grande importância.

Na ausência de pré-tratamento da amostra (digestão, separação, entre outros) uma análise completa pode ser feita entre 5 e 15 minutos. A desaeração da solução é, freqüentemente, a etapa que mais consome tempo.

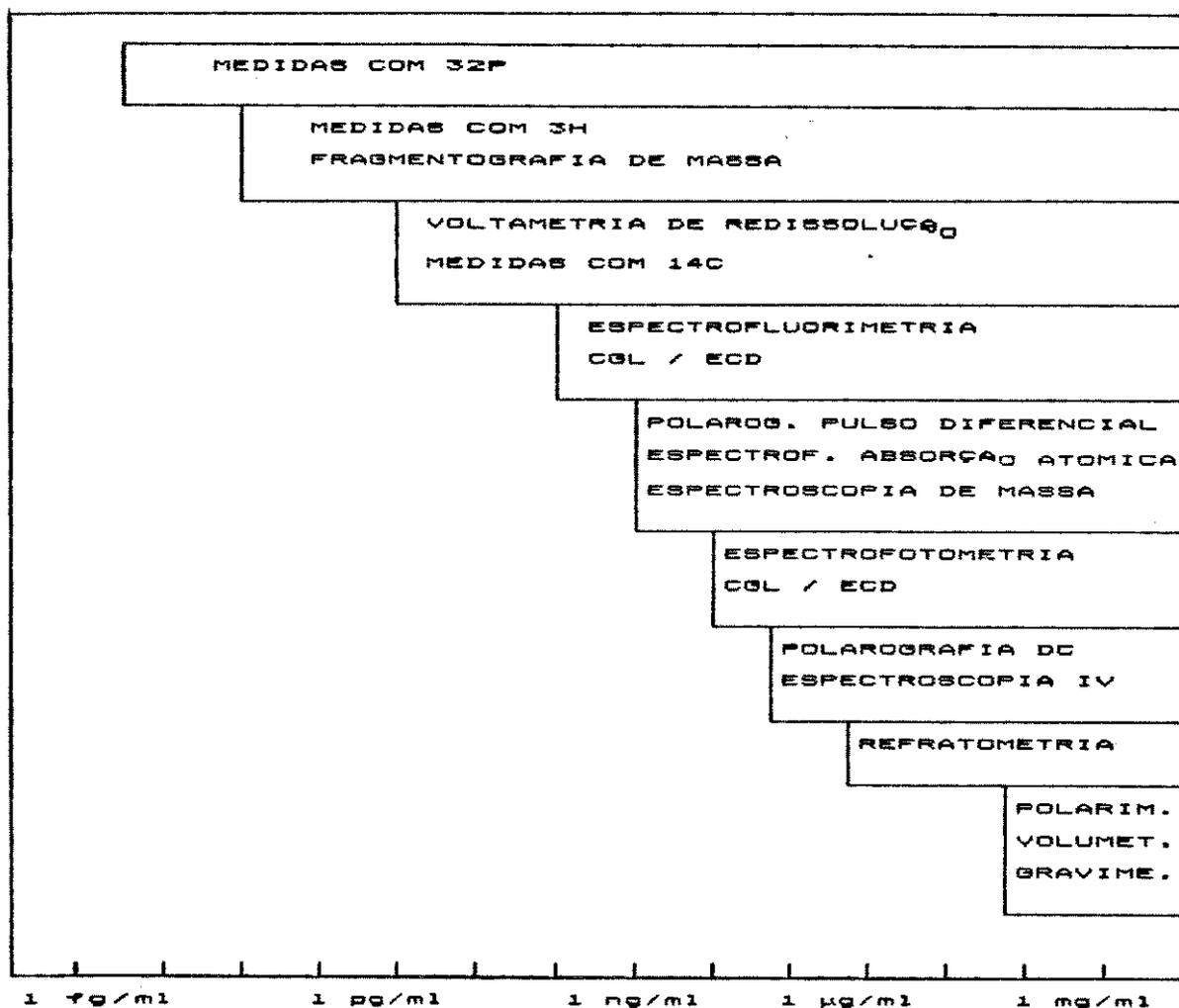


Figura 3. Sensibilidade de alguns métodos analíticos

III.3.4. SELETIVIDADE E ESPECIFICIDADE

Em geral, um sério problema em análises com técnicas eletroquímicas quando comparadas às técnicas baseadas em separação (cromatografia) é a pobre seletividade. Quando a comparação é feita com métodos

diretos (espectrofotometria, em particular), os métodos eletroquímicos são freqüentemente mais seletivos. Uma maior seletividade é conseguida quando são usadas técnicas que geram picos, como, por exemplo, a PPD. Para picos finos e bem definidos, uma diferença de 40 mV entre eles é suficiente para uma boa resolução. Na presença de surfactantes, pelo menos 100 mV são necessários para distinguir dois picos adjacentes.

CAPÍTULO IV . TRABALHO EXPERIMENTAL

IV.1. EQUIPAMENTOS

As medidas polarográficas de pulso diferencial foram feitas em um analisador polarográfico PAR (Princeton Applied Research) modelo 264A acoplado a uma célula polarográfica PAR modelo 303A, constituída de três eletrodos: eletrodo de mercúrio de gota estática (EMGE) como eletrodo de trabalho; eletrodo de prata/cloreto de prata, KCl sat., como referência; e um fio de platina como eletrodo auxiliar.

O EMGE incorpora um reservatório de mercúrio e um capilar através do qual flui o mercúrio para formar a gota. Uma válvula interna permite que o fluxo de mercúrio cesse a intervalos de tempo selecionados, originando uma gota estacionária ao invés de uma gota crescente. A gota fica presa no capilar por um período pré-determinado e é, então, dispensada mecanicamente. O EMGE mantém, assim, as vantagens do eletrodo de mercúrio gotejante convencional em polarografia de pulso diferencial como, por exemplo, ser um

eletrodo renovável de tamanho constante, ter características de superfície reprodutíveis, além de permitir que gotas com área relativamente grande cresçam muito rapidamente e de levar à linhas de base mais horizontais¹⁷⁹.

Para as medidas de voltametria cíclica, o eletrodo de trabalho foi um eletrodo de mercúrio de gota pendente (EMGP).

Os polarogramas e voltamogramas cíclicos foram registrados em um registrador X-Y PAR modelo RE 0089 com velocidade de pena correspondente a 50 mV/cm.

Nas titulações amperométricas, o titulante foi adicionado através de uma microbureta Metrohm de 0,5000 ml com ponteira capilar.

Os ajustes de pH e as titulações potenciométricas foram feitos com eletrodo de vidro combinado OP-0808 acoplado a um pH/ion analyser OP-271, ambos da Radelkis.

Os volumes de padrões e amostras foram medidos em pipetas automáticas, da Cakil.

A microbureta e as pipetas automáticas foram previamente calibradas.

IV.2. REAGENTES

. Solução estoque de acetaldeído 1,0 mol/l, preparada a partir do reagente Riedel 99,5 %. A solução deve ser guardada em geladeira.

. Solução estoque de formaldeído 1,0 mol/l, preparada a partir do reagente Merck 37 %.

. Soluções padrão dos aldeídos, preparadas, por diluições apropriadas, diariamente, a partir das respectivas soluções estoque padronizadas.

. Solução estoque de MEA 1,0 mol/l, preparada a partir do reagente Carlo Erba 99 %.

. Solução estoque de HMDA 1,0 mol/l, preparada a partir do reagente Fluka 97 %.

. Soluções padrão das aminas, preparadas, por diluições apropriadas, a partir das soluções estoque padronizadas das respectivas aminas.

. Solução de cloreto de lítio 0,10 mol/l, preparada a partir do sal Baker.

. Solução de sulfito de sódio anidro 1,0 mol/l, preparada a partir do sal Merck. Esta solução não deve ser estocada.

. Solução de ácido sulfúrico 0,5 mol/l, preparada a partir do reagente Merck 95 %.

. Solução de ácido clorídrico 0,1 mol/l, preparada a partir do reagente Merck 37 % e padronizada por titulação com carbonato de sódio.

. Solução de hidróxido de sódio 1,0 mol/l, preparada a partir do reagente Ecibra e padronizada por titulação com biftalato de potássio.

Todos os outros reagentes usados foram de grau P.A. e todas as soluções foram preparadas em água destilada.

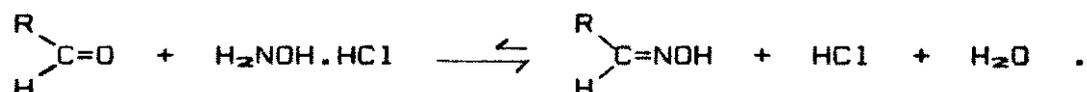
IV.3. PROCEDIMENTO

IV.3.1. PADRONIZAÇÃO DOS ALDEIDOS

A padronização de soluções estoque de aldeídos não é simples quando são exigidas altas precisão e exatidão nessa determinação. Muitos métodos registrados na literatura apresentam problemas como reação incompleta, longo tempo para alcançar o equilíbrio, dificuldades na determinação do ponto de equivalência, instabilidade das soluções usadas, entre outros^{52, 171}.

As soluções de acetaldeído e de formaldeído são, por si só, relativamente instáveis. Por isso o método escolhido para a sua padronização deve ser altamente confiável.

Um dos métodos mais comumente usados envolve a reação do aldeído com o cloreto de hidroxilamina

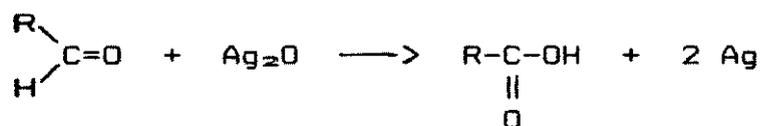


O composto carbonílico pode ser determinado tanto pela titulação do ácido clorídrico liberado com uma solução alcalina padronizada⁴⁰, como pela determinação da água via a técnica da titulação de Fischer¹⁷². A principal limitação dessa reação é que a conversão não é quantitativa. O uso de uma base fraca, como a piridina, ou de um solvente aquoso/alcoólico pode forçar o equilíbrio no sentido dos produtos. No entanto, a piridina exerce uma ação tamponante, o que dificulta a visualização do ponto final da titulação.

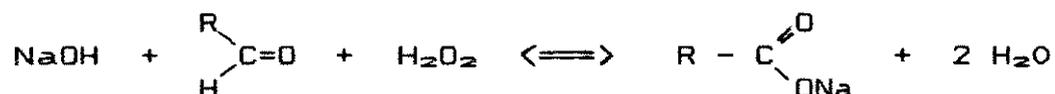
Um outro método é baseado na reação dos aldeídos com amônia mas, com exceção do formaldeído, essa reação é lenta, o que constitui uma desvantagem para o seu uso¹⁷³.

As técnicas oxidativas também foram bastante estudadas. O uso de hipiodito (método de Romijn) permite a oxidação dos aldeídos, mas a reação não é específica¹⁷⁴.

Os reagentes de oxidação mais comuns são o complexo de prata amoniacal (reagente de Tollens) e o óxido de prata. Embora o reagente de Tollens tenha sido amplamente empregado para testes qualitativos, a reação não é inteiramente quantitativa. Além disso, o reagente produz material explosivo nas reações com compostos orgânicos¹⁷⁵. A substituição desse reagente por óxido de prata levou a um método mais prático e quantitativo para a determinação de aldeídos. A quantidade de óxido de prata reduzida na reação,

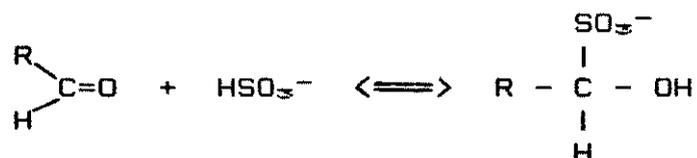
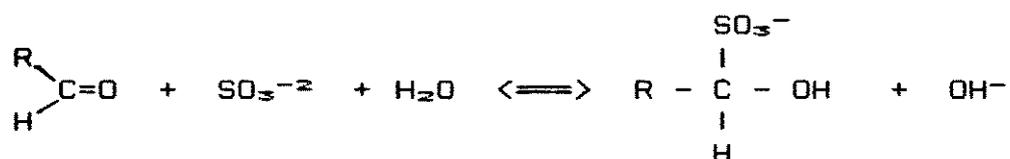


obtida pela titulação com tiocianato, é a medida do teor de aldeído na amostra¹⁷⁶. A reação dos aldeídos com o peróxido de hidrogênio e um excesso conhecido de hidróxido de sódio também tem sido usada e é o método recomendado pela AOAC⁵³:



A quantidade de hidróxido de sódio que não reagiu é titulada com solução de ácido sulfúrico padronizada.

Um dos métodos mais conhecidos para a padronização de aldeídos é aquele baseado na sua reação com os íons sulfito ou bissulfito



Várias possibilidades baseadas nessas reações são propostas na literatura. Uma delas é adicionar o aldeído a um excesso conhecido de sulfito de sódio e titular o sulfito que não

reagiu diretamente com uma solução padrão de iodo¹⁷⁷ ou ainda, adicionar uma alíquota da mistura de reação a um excesso conhecido de iodo e contratitular, imediatamente, com solução padrão de tiossulfato¹⁸². Este último é o método recomendado pelo NIOSH¹⁷⁸. Esse método é limitado pelo longo tempo necessário para a reação alcançar o equilíbrio e pela complicada padronização da solução de iodo.

A outra possibilidade é titular diretamente o hidróxido de sódio formado na reação com uma solução padrão de um ácido. O problema do método está na instabilidade da solução ácida de sulfito de sódio¹⁷⁹.

Uma maneira confiável de superar as dificuldades mencionadas foi proposta por Siggia e Maxcy²⁰⁰. Nesse caso, uma pequena quantidade de ácido sulfúrico é adicionada à solução de sulfito de sódio para se obter um pH em torno de 7,5. O aldeído é, então, adicionado com o cuidado de manter um excesso de sulfito. O bissulfito que não reage é titulado diretamente com uma solução padronizada de hidróxido de sódio. O teor de aldeído é determinado pela diferença do volume de hidróxido gasto para titular a amostra e um branco. A titulação do branco compensa a possível instabilidade da solução de sulfito.

Assim, tudo indica que o método do bissulfito é o mais conveniente para a padronização dos aldeídos e foi o escolhido para ser usado neste trabalho.

À 50 ml de solução 1,0 mol/l de sulfito de sódio, colocados em um erlenmeyer com tampa, foram adicionados

10 ml de solução 0,5 mol/l de ácido sulfúrico. A essa mistura foi adicionada a amostra contendo de 0,02 a 0,04 mols do aldeído. O erlenmeyer foi fechado e agitado por 2 ou 3 minutos para a reação se completar. O excesso de bissulfito que não reagiu foi titulado potenciométricamente com solução padronizada de hidróxido de sódio 1,0 mol/l. O ponto final da titulação foi determinado pelo gráfico pH vs volume de hidróxido adicionado. O mesmo procedimento foi repetido para uma solução-branco.

Devido à sua alta volatilidade, o acetaldeído deve ser padronizado imediatamente antes do uso; o formaldeído, ao contrário, permanece estável por alguns dias.

IV.3.2. PADRONIZAÇÃO DAS AMINAS

Ambas as aminas foram padronizadas potenciométricamente com soluções padrão de ácido clorídrico 0,1 mol/l.

A titulação potenciométrica foi usada devido à facilidade com que as aminas absorvem dióxido de carbono da atmosfera dificultando, assim, a visualização do ponto final quando é usado um indicador ácido-base.

IV.3.3. CURVA DE CALIBRAÇÃO

As células de eletrólise foram preparadas com 5,00 ml da solução de cloreto de lítio 0,10 mol/l e o volume adequado da solução 1,0 mol/l da amina. Um excesso de amina é necessário para garantir a completa reação com todo o aldeído presente.

Soluções padrão dos aldeídos, na faixa de 10^{-1} a 10^{-3} mol/l, foram preparadas a partir do estoque e alíquotas apropriadas foram adicionadas, com as pipetas automáticas, à célula eletrolítica acoplada à célula polarográfica. Após cada adição, a solução foi desaerada com nitrogênio puro por 2 minutos. O polarograma foi registrado na faixa de potencial de -1,10 V a -1,50 V vs Ag/AgCl para o formaldeído e de -1,30 V a -1,70 V vs Ag/AgCl para o acetaldeído, com uma velocidade de varredura de 5 mV/s e tempo de gota de 1 segundo.

Antes de ser borbuhlado na célula, o gás nitrogênio passou por uma solução de cromo (II) para eliminação de possíveis traços de oxigênio.

A curva de calibração foi construída colocando-se em um gráfico corrente de pico (i_p) vs concentração do aldeído (Figura 4).

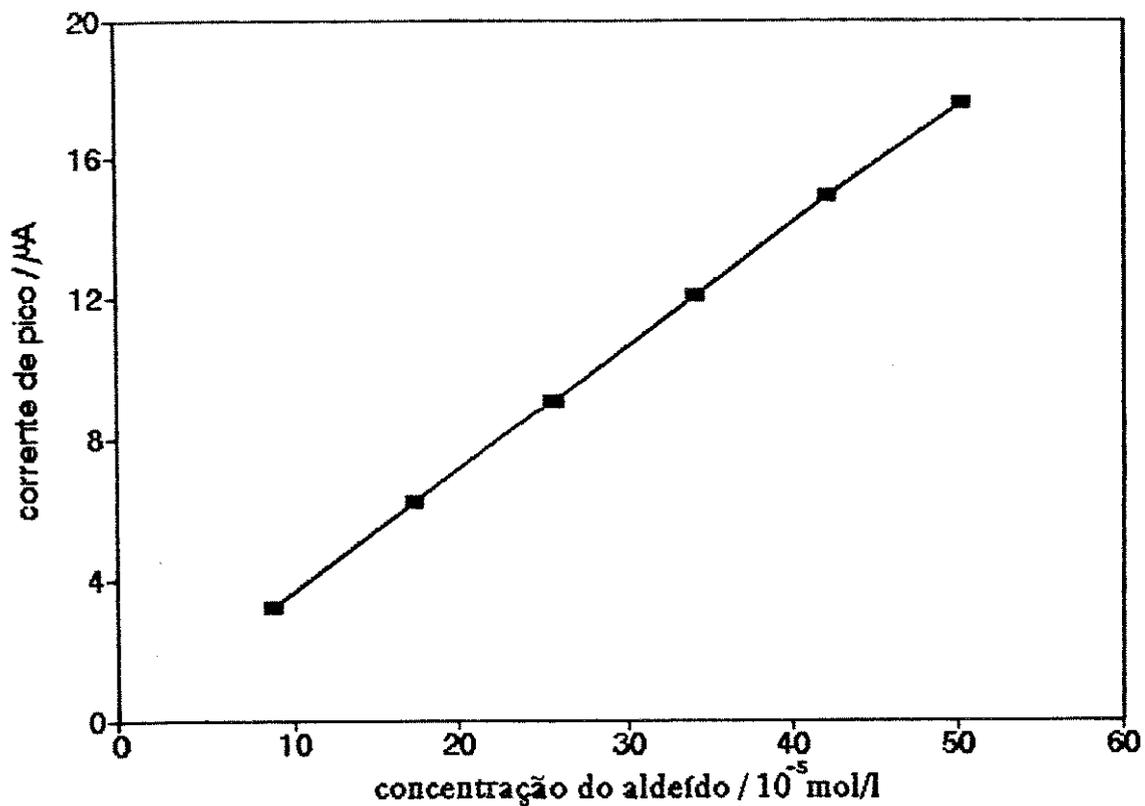


Figura 4 . Curva de calibração típica para os derivados azometinos dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Para as amostras aquosas foi utilizado o mesmo procedimento e a quantidade de aldeído presente foi calculada a partir da curva de calibração.

IV.3.4. TITULAÇÃO AMPEROMÉTRICA

As células para a titulação foram preparadas com 5,00 ml da solução de cloreto de lítio 0,10 mol/l e o volume adequado do aldeído a ser titulado. O titulante, as aminas padronizadas, foi adicionado em, incrementos de 0,0500 ml com a microbureta de ponteira capilar. Após cada adição foi borbulhado nitrogênio por 2 minutos e registrado o polarograma nas mesmas condições das curvas de calibração.

Uma curva corrente de pico vs volume do titulante foi traçada e o ponto final da titulação determinado pela interseção das duas retas obtidas. A Figura 5 mostra uma curva de titulação típica para os aldeídos.

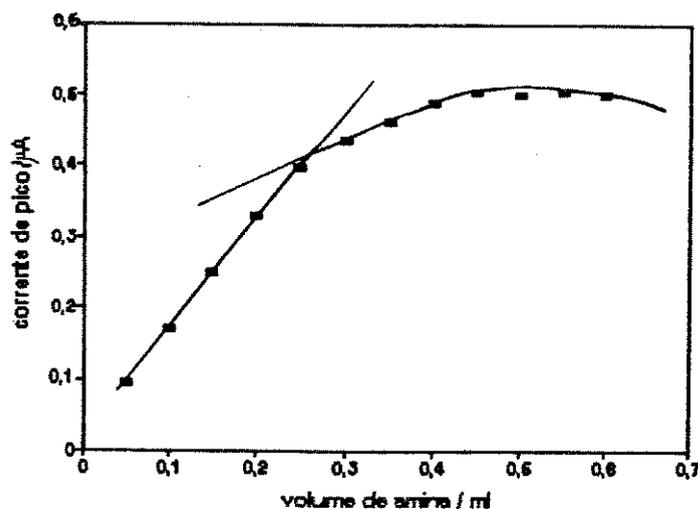


Figura 5 . Curva de titulação amperométrica típica para os aldeídos com aminas primárias, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

IV.3.5. APLICAÇÃO EM AMOSTRAS REAIS

As amostras (álcool etílico comercial, bebidas alcoólicas, leite e shampoo) foram analisadas diretamente, sem nenhum pré-tratamento. Apenas, quando necessário, por exemplo, no caso dos shampoos, foi feita uma diluição adequada.

O teor de aldeído foi determinado pelo método da adição de padrão. As células foram preparadas com 5,00 ml da solução de cloreto de lítio 0,10 mol/l e o volume adequado da amostra a ser analisada. Aliquotas de uma solução padrão do aldeído, exatamente medidas, foram adicionadas. Após cada adição foi borbulhado nitrogênio por 2 minutos e registrado o polarograma. As condições experimentais foram as mesmas das curvas de calibração, com exceção do tempo de gota na análise dos shampoos. Neste caso, devido à grande adsorção da matriz na gota de mercúrio, foi necessário um tempo de gota menor (0,5 s). O teor de aldeído na amostra foi determinado pela extrapolação da reta. A Figura 6 mostra uma curva de adição de padrão típica.

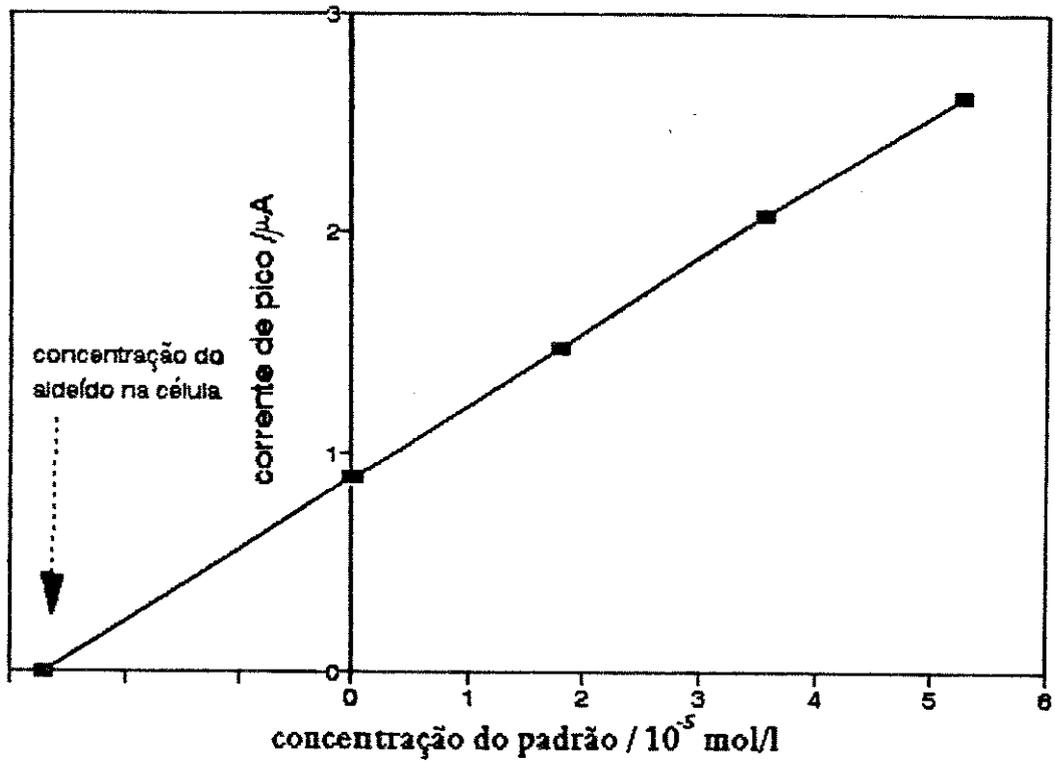
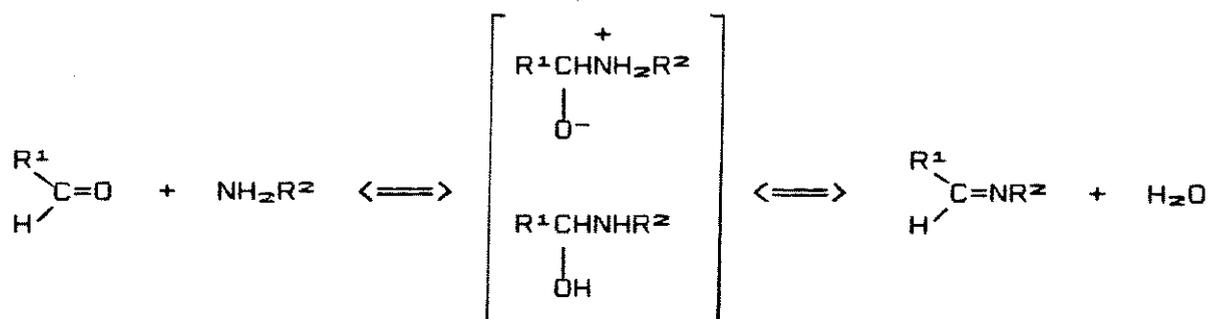


Figura 6 . Curva de adição de padrão típica para a determinação de aldeídos em amostras reais

CAPÍTULO V . DISCUSSÃO E RESULTADOS

As reações dos aldeídos com aminas primárias para formar as bases de Schiff envolvem um mecanismo em duas etapas: uma de adição e uma de eliminação. Na primeira etapa a base se adiciona ao composto carbonílico para formar o intermediário carbinolamina (ou α -aminoálcool), seguida pela eliminação de água para dar origem à dupla ligação carbono-nitrogênio na segunda etapa^{201,202}.



O intermediário α -aminoálcool é muito instável e raramente pode ser isolado.

A reação com diaminas primárias leva a produtos cuja estrutura ainda não foi bem determinada mas, que correspondem a produtos de condensação de dois mols da carbonila com um mol da diamina, de acordo com a equação²⁰¹:



A condensação de compostos carbonílicos e aminas é catalisada por ácidos. A velocidade da reação passa por um máximo com a variação do pH do meio caindo em ambos os lados do valor ótimo²⁰³⁻²⁰⁵. Em meio ácido, a adição é a etapa determinante da velocidade da reação, enquanto que em meio neutro ou básico, a etapa lenta é a da desidratação²⁰⁶.

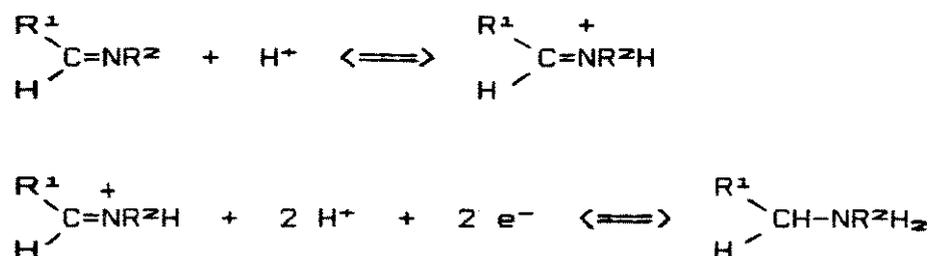
A reação entre aldeídos e aminas primárias para formar as bases de Schiff é a reação principal; no entanto, poderão ocorrer reações paralelas, especialmente após longos períodos de tempo. O equilíbrio nesses casos favorece grandemente a hidrólise do produto em soluções total ou parcialmente aquosas²⁰⁷. Os azometinos, derivados de aldeídos alifáticos de cadeia pequena e não ramificada, sofrem condensação aldólica facilmente, de modo que nas reações desses aldeídos com as aminas, usualmente, são formados polímeros²⁰⁸⁻²¹⁰. A condensação das diaminas resulta, algumas vezes, em compostos cíclicos²¹¹.

Apesar de todas essas possíveis reações paralelas, a transformação do grupo carbonila em uma base de Schiff dá origem a um derivado mais estável, dentro de certas condições experimentais, do que o composto de origem com relação à hidratação, formação de anéis, condensação ou enolização^{155,212}.

As condições experimentais dependem da natureza da amina e especialmente do composto carbonílico que determina

a posição de equilíbrio²¹¹. A reatividade das aminas está diretamente relacionada à sua força básica ou, mais provavelmente, à sua nucleofilicidade. Qualquer amina primária com $K_b \gg 10^{-4}$ pode ser usada para levar aldeídos alifáticos à bases de Schiff para fins analíticos¹⁰².

O grupo azometino é eletroativo e capaz de se reduzir no eletrodo de mercúrio em potencial menos negativo que o composto carbonílico de partida (Figura 7). Segundo alguns autores^{101,213}, a reação de eletrodo é um processo irreversível envolvendo dois prótons e dois elétrons, conforme o mecanismo:



Neste caso, o ácido conjugado da base de Schiff é a espécie eletroativa e, portanto, a cinética da reação de combinação do íon deveria ser esperada como a governante da natureza da corrente limite polarográfica, pelo menos, em alguma região de pH. No entanto, a velocidade de combinação do íon é mais rápida que a velocidade de difusão, de modo que a corrente limite será controlada por difusão.

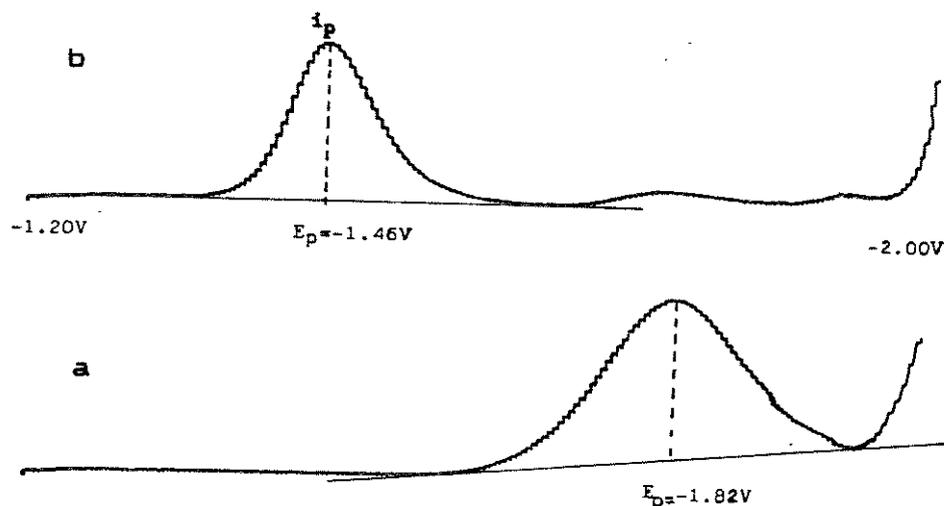


Figura 7 . Polarogramas de pulso diferencial típicos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

a : aldeído puro

b : derivado azometino

Assim, a formação do grupo azometino e sua redução no eletrodo de mercúrio pode fornecer uma medida quantitativa do teor de carbonila, como é provado pela relação linear da corrente de difusão com a concentração, e ser usada para fins analíticos.

Neste trabalho foi investigada a possibilidade de se usar os produtos das reações do acetaldeído e do formaldeído com a MEA ($K_b = 3,2 \times 10^{-3}$) e a HMDA ($K_b = 7,2 \times 10^{-3}$) para a determinação quantitativa do teor desses aldeídos por polarografia de pulso diferencial com o EMGE.

O comportamento polarográfico dos azometinos resultantes foi estudado e, definidas as melhores condições

experimentais, o método desenvolvido foi aplicado em algumas amostras reais.

A Figura 8 mostra os polarogramas de pulso diferencial para cada um dos derivados. Os voltamogramas cíclicos em EMGP (Figura 9) mostram que a redução para ambos os aldeídos e aminas é irreversível, o que está de acordo com os dados da literatura^{1e2}.

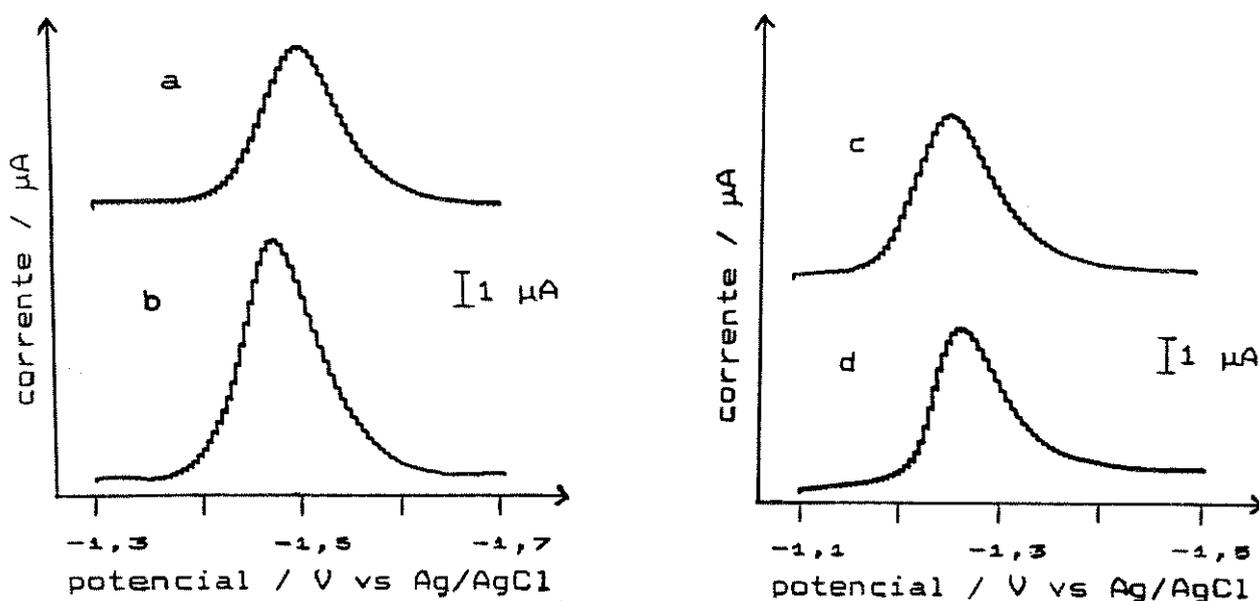


Figura 8 . Polarogramas de pulso diferencial dos derivados azometinos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Condições: altura de pico: 50 mV;
tempo de gota: 1 s;
tempo de desaeração: 2 min;
velocidade de varredura: 5 mV/s.

- (a) $c(\text{acetaldeído}) = 1,73 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$
 $c(\text{MEA}) = 2,03 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$
(b) $c(\text{acetaldeído}) = 1,56 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$
 $c(\text{HMDA}) = 9,36 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$
(c) $c(\text{formaldeído}) = 9,89 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$
 $c(\text{MEA}) = 8,75 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$
(d) $c(\text{formaldeído}) = 6,37 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$
 $c(\text{HMDA}) = 1,91 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$

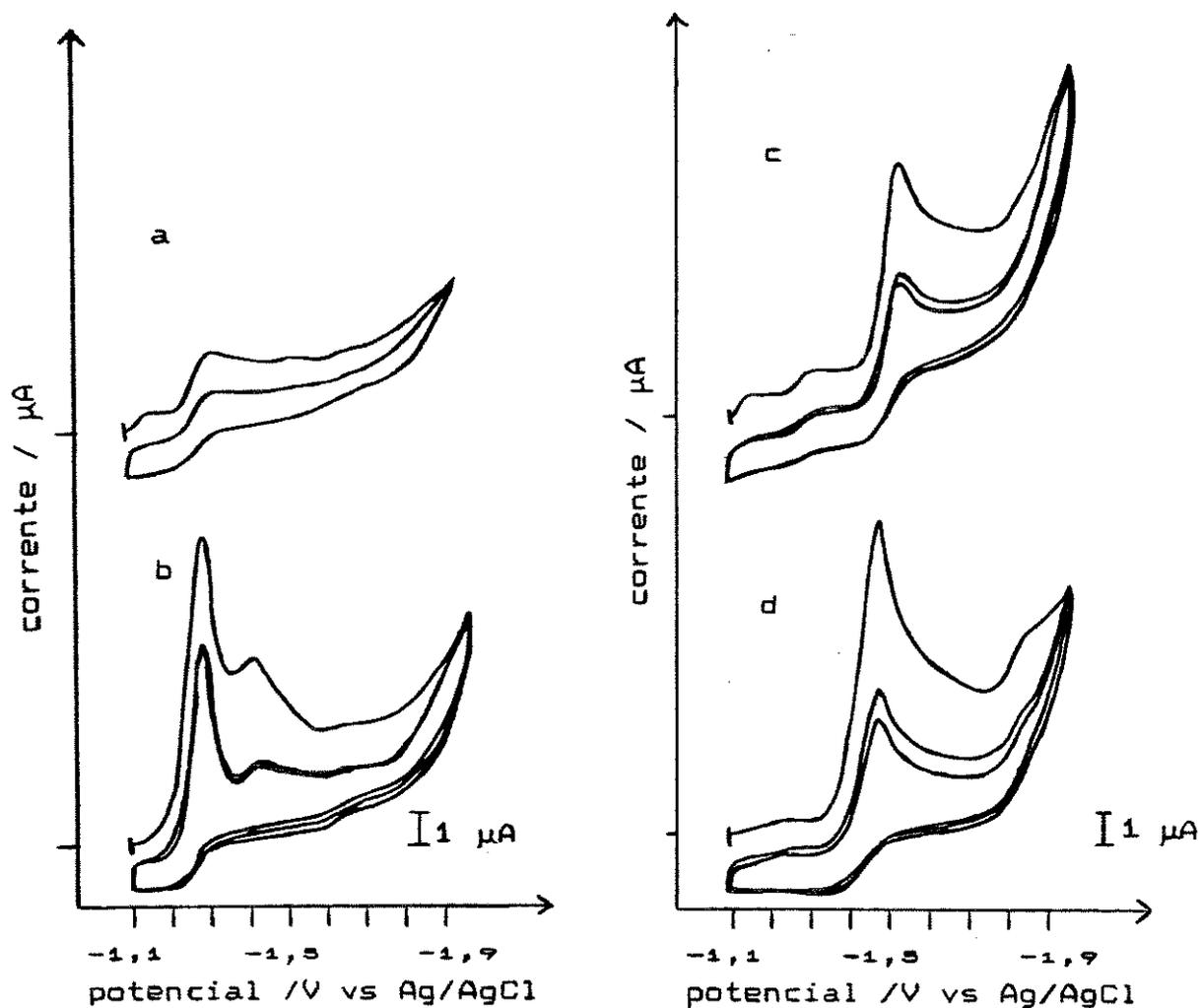


Figura 9 . Voltamogramas cíclicos para os derivados azometinos dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Condições: eletrodo de mercúrio de gota pendente;
tamanho da gota: médio;
velocidade de varredura: 100 mV/s;
corrente: 10 μ A.

- (a) $c(\text{formaldeído}) = 1,85 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$
 $c(\text{MEA}) = 5,56 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$
(b) $c(\text{formaldeído}) = 1,94 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$
 $c(\text{HMDA}) = 9,71 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$
(c) $c(\text{acetaldeído}) = 1,79 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$
 $c(\text{MEA}) = 8,93 \times 10^{-2} \text{ mol/l}$
(d) $c(\text{formaldeído}) = 1,94 \times 10^{-5} \text{ mol/l}$
 $c(\text{HMDA}) = 9,71 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$

V.1. EFEITO DO ELETRÓLITO DE SUPORTE

A região de potencial acessível em um eletrodo depende da escolha do eletrólito de suporte. Os cátions dos metais alcalinos são reduzidos próximo à $-2,0$ V vs ECS, enquanto que os íons tetraalquilamônio podem ser usados até cerca de $-2,5$ V vs ECS. No entanto, os últimos podem ser mais fortemente adsorvidos no eletrodo de mercúrio do que os íons metálicos podendo, assim, influenciar a cinética da reação²¹⁴.

Soluções de cloreto de lítio em diversas concentrações e misturas de soluções de cloreto e hidróxido de lítio foram, então, testadas como eletrólito de suporte. As correntes de pico (i_p) mais altas foram conseguidas com a solução $0,10$ mol/l de cloreto de lítio. A presença do hidróxido provocou uma diminuição no pico dos derivados, enquanto favorecia a redução dos aldeídos. A variação da concentração do eletrólito de suporte não teve qualquer efeito no potencial de pico (E_p).

V.2. EFEITO DO TEMPO DE DESAERAÇÃO

Embora a determinação polarográfica dos aldeídos com aminas seja possível na presença de oxigênio dissolvido,

melhor reprodutibilidade foi obtida após sua remoção por borbulhamento de nitrogênio.

Devido à volatilidade do acetaldeído, foi necessário investigar o efeito do tempo de desaeração na constância da corrente medida. Os resultados obtidos mostraram que não houve nenhuma variação significativa na corrente de pico para os diversos tempos de desaeração testados (Tabela 1). O tempo mais conveniente de 2 minutos foi usado em todas as medidas posteriores. Esse tempo de desaeração mostrou, também, ser suficiente para a completa homogeneização da solução.

Tabela 1. Efeito do tempo de desaeração na corrente de pico dos derivados azometinos dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Tempo de desaeração (minutos)	Corrente de pico (μA)			
	acetaldeído		formaldeído	
	MEA	HMDA	MEA	HMDA
1/2	4,71	14,1	1,26	2,21
1	4,71	14,3	1,26	2,20
2	4,71	14,5	1,28	2,19
4	4,71	14,3	1,26	2,20
8	4,71	14,3	1,28	2,20

concentração de aldeído na célula = $3,5 \times 10^{-4}$ mol/l

concentração de amina na célula = 0,09 mol/l

Como a altura do pico foi aproximadamente constante em todas as situações pode-se afirmar que as reações entre os aldeídos e as aminas estudadas são praticamente instantâneas e, portanto, a solução pode ser polarografada imediatamente após o preparo da célula de eletrólise.

V.3. EFEITO DO TEMPO DE GOTA E ALTURA DO PULSO

Foi verificado o efeito da altura do pulso na forma e na altura do pico polarográfico dos azometinos. Alturas de pulso de 25 e 50 mV deram origem a picos semelhantes tanto no tamanho como na forma. Picos mais largos foram obtidos quando os pulsos aplicados foram de 100 mV; o alargamento do pico dificultou a sua quantificação.

Tempos de gota de 0,5 s e 1,0 s foram testados; não foi observada nenhuma variação significativa nos picos polarográficos resultantes para as soluções aquosas dos aldeídos.

Tendo em vista os resultados obtidos, os testes seguintes foram feitos com tempo de gota de 1 s e altura de pulso de 50 mV. No entanto, algumas matrizes são fortemente adsorvidas na gota de mercúrio resultando em um pico

polarográfico deformado, dificultando, assim, a sua quantificação. Nesse caso, quanto maior o tempo de gota maior será o efeito da adsorção. Por isso, para cada uma das amostras reais analisadas foi feito um estudo para determinar o tempo de gota mais conveniente. Apenas os shampoos apresentaram alterações significativas no pico polarográfico e o tempo de gota usado para estas análises foi de 0,5 s.

V.4. EFEITO DO pH

Os íons hidrogênio estão envolvidos na maioria das reações de eletrodo orgânicas e o pH do meio pode influenciar não somente o potencial de redução mas, também, o curso da reação²¹⁰. Uma capacidade tamponante suficiente é, portanto, necessária para assegurar que o consumo de íons hidrogênio na reação de eletrodo não modifique o pH da vizinhança imediata do eletrodo. Isso pode ser conseguido com o uso de um tampão adequado ou com a presença de uma base forte no eletrólito de suporte.

Por isso, foi investigado o efeito do pH do meio no comportamento polarográfico das bases de Schiff de interesse.

O efeito do pH na quantidade das iminas formadas e, conseqüentemente, nas correntes de difusão obtidas, está mostrado nas Figuras 10 a 13.

A corrente de pico para o derivado do acetaldeído com a MEA durante a redução aumentou à medida que o pH do meio foi de 7,5 para 10; permaneceu praticamente constante entre 10 e 11 e, então, caiu acentuadamente com o aumento do pH. O outro derivado do acetaldeído e os dois do formaldeído tiveram comportamento semelhante. Apenas as regiões de pH onde a corrente de pico permaneceu constante e onde os azometinos praticamente não se formaram variaram com a natureza da amina. Estes resultados estão de acordo com as conclusões de outros autores que sugeriram que as reações de condensação de aminas e aldeídos requerem catálise ácida^{204,205}.

Para os derivados do acetaldeído a faixa de pH no qual a corrente de pico é máxima independe da concentração da amina e, conseqüentemente, da espécie eletroativa (Figuras 10 e 11). Para o formaldeído essa faixa é dependente da concentração e o deslocamento é mais pronunciado para o derivado da HMDA (Figuras 12 e 13).

Como as aminas usadas têm caráter fortemente básico e o pH das soluções estava dentro da faixa ótima para cada um dos azometinos, não foi necessário nenhum ajuste de pH, nem o uso de soluções tampão.

A maior quantidade de corrente de difusão obtida com a HMDA, talvez, tenha sido resultado dos dois grupos $C=N-$

presentes nesses derivados, enquanto que os derivados da MEA têm apenas um grupo redutível.

Variações no pH também afetaram o potencial de pico dos azometinos. Para cada unidade de decréscimo de pH o potencial se deslocou cerca de 0,06 V para valores mais positivos, na faixa de pH estudada (Figura 14). A exata posição do máximo, ou seja, o potencial onde a corrente de difusão é máxima, depende da basicidade da amina e da natureza do composto carbonílico. A Tabela 2 mostra as características polarográficas dos azometinos em estudo.

Um pequeno deslocamento no potencial de pico foi observado com a variação na concentração da espécie eletroativa, o que é característico dos sistemas irreversíveis²¹¹.

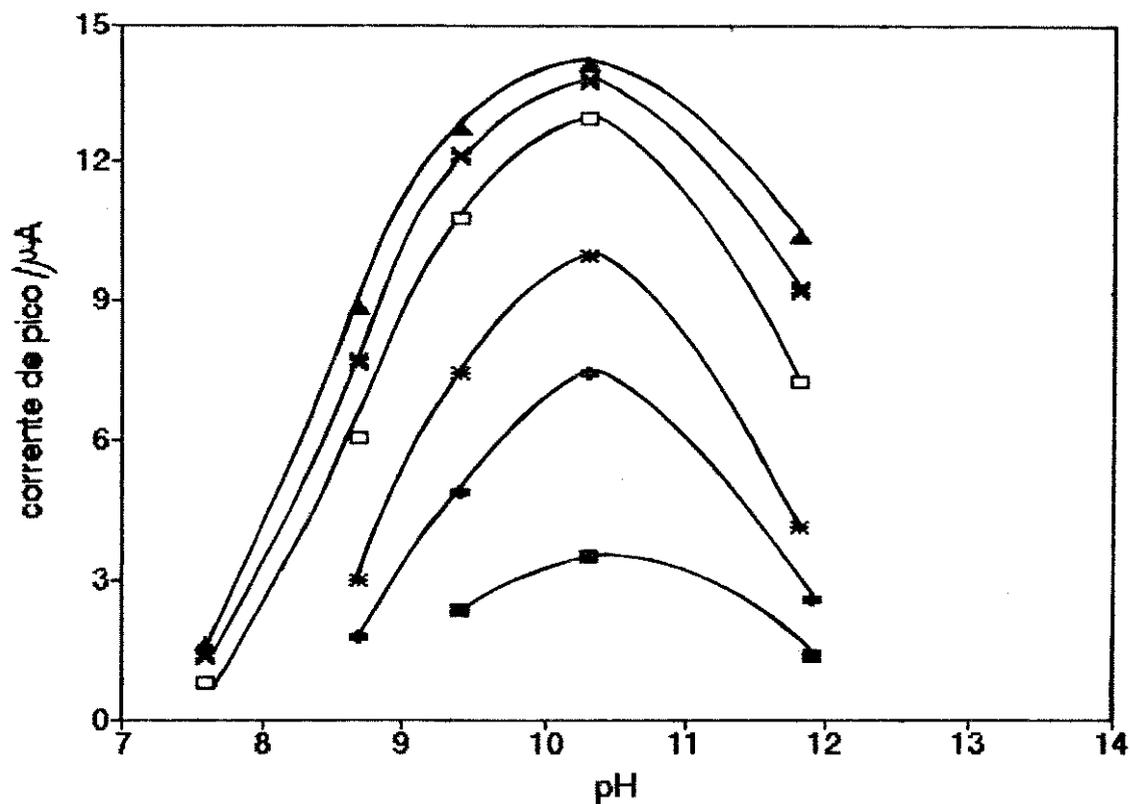


Figura 10 . Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o acetaldeído e a MEA

Condições: eletrólito de suporte: LiCl 0,10 mol/l;
 concentração de acetaldeído: $9,0 \times 10^{-3}$ mol/l;
 concentração da amina:

■ = 4×10^{-3} mol/l	◆ = 1×10^{-2} mol/l
* = 2×10^{-2} mol/l	□ = 6×10^{-2} mol/l
✕ = 9×10^{-2} mol/l	▲ = 1×10^{-1} mol/l

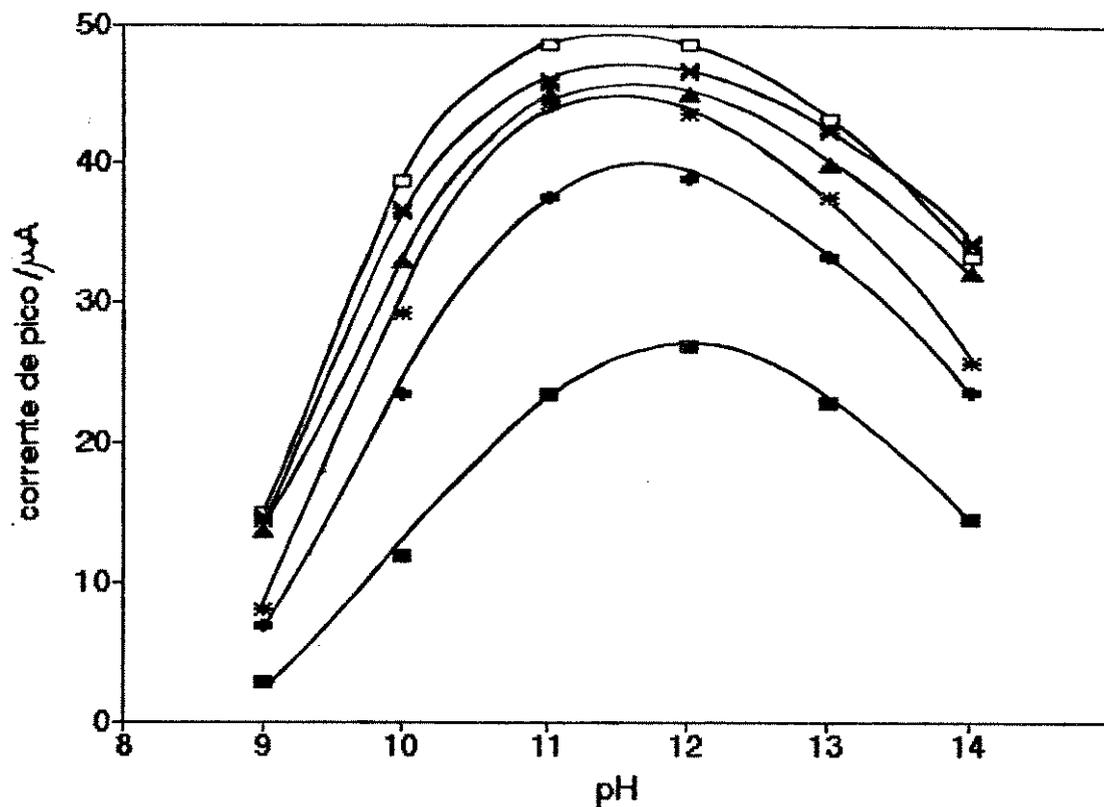


Figura 11 . Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o acetaldeído e a HMDA

Condições: eletrólito de suporte: LiCl 0,10 mol/l;

concentração de acetaldeído: $9,0 \times 10^{-5}$ mol/l;

concentração da amina:

■ = 4×10^{-3} mol/l

◆ = 1×10^{-2} mol/l

* = 2×10^{-2} mol/l

□ = 6×10^{-2} mol/l

⊠ = 9×10^{-2} mol/l

▲ = 1×10^{-1} mol/l

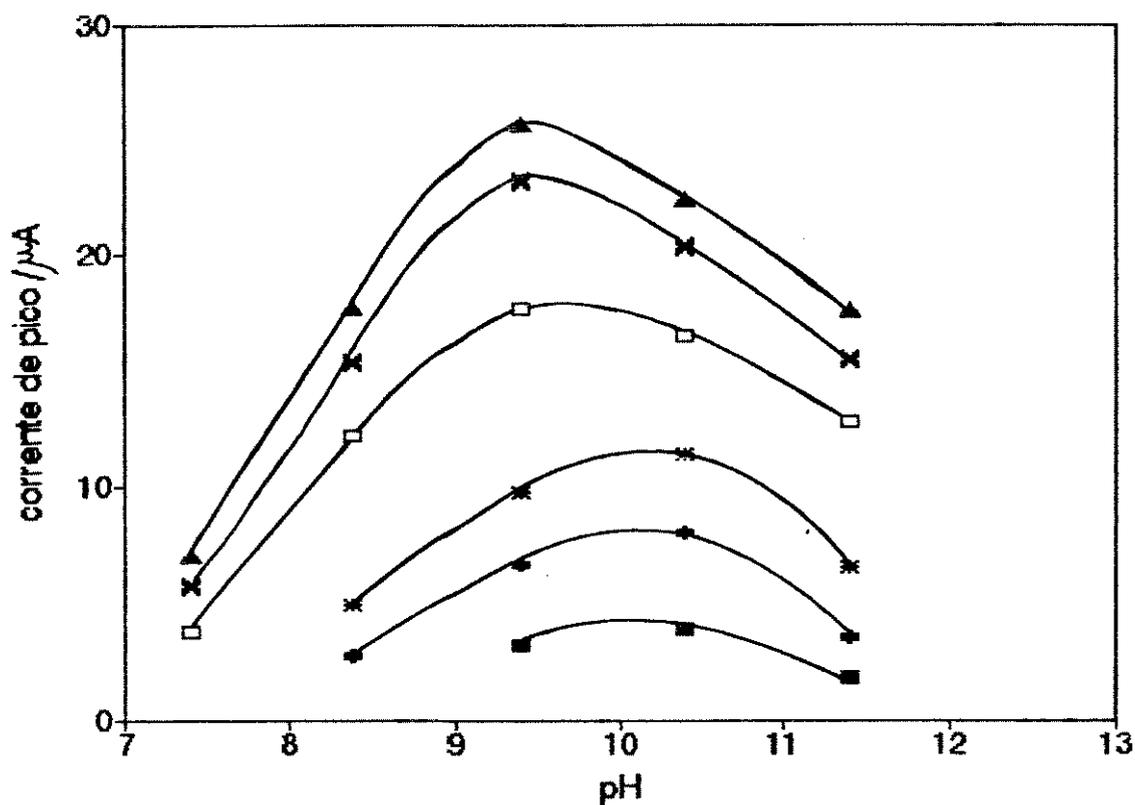


Figura 12 . Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o formaldeído e a MEA

Condições: eletrólito de suporte: LiCl 0,10 mol/l;

concentração de acetaldeído: $9,0 \times 10^{-3}$ mol/l;

concentração da amina:

■ = 4×10^{-3} mol/l

◆ = 1×10^{-2} mol/l

* = 2×10^{-2} mol/l

□ = 6×10^{-2} mol/l

✕ = 9×10^{-2} mol/l

▲ = 1×10^{-1} mol/l

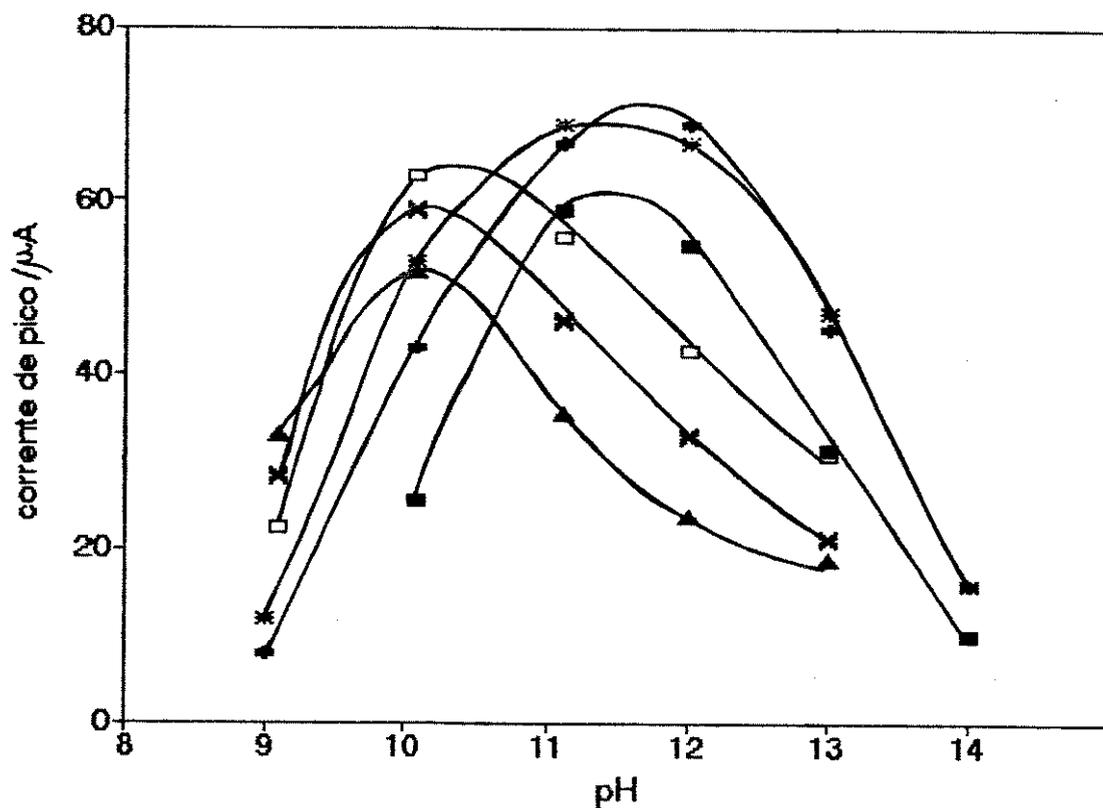


Figura 13 . Efeito do pH na corrente de pico - reação entre o formaldeído e a HMDA

Condições: eletrólito de suporte: LiCl 0,10 mol/l;
 concentração de acetaldeído: $9,0 \times 10^{-6}$ mol/l;
 concentração da amina:

■ = 4×10^{-3} mol/l	● = 1×10^{-2} mol/l
* = 2×10^{-2} mol/l	□ = 6×10^{-2} mol/l
x = 9×10^{-2} mol/l	▲ = 1×10^{-1} mol/l

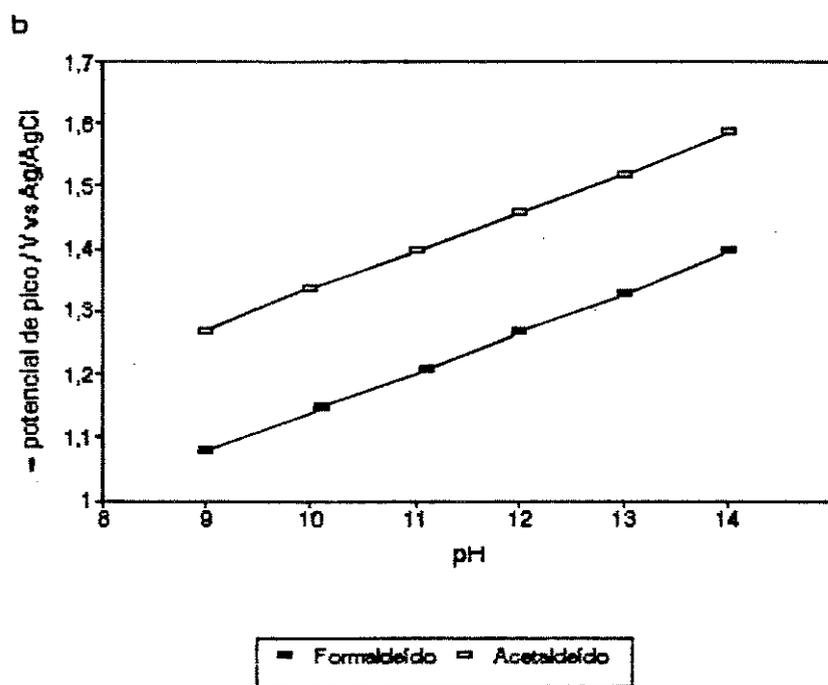
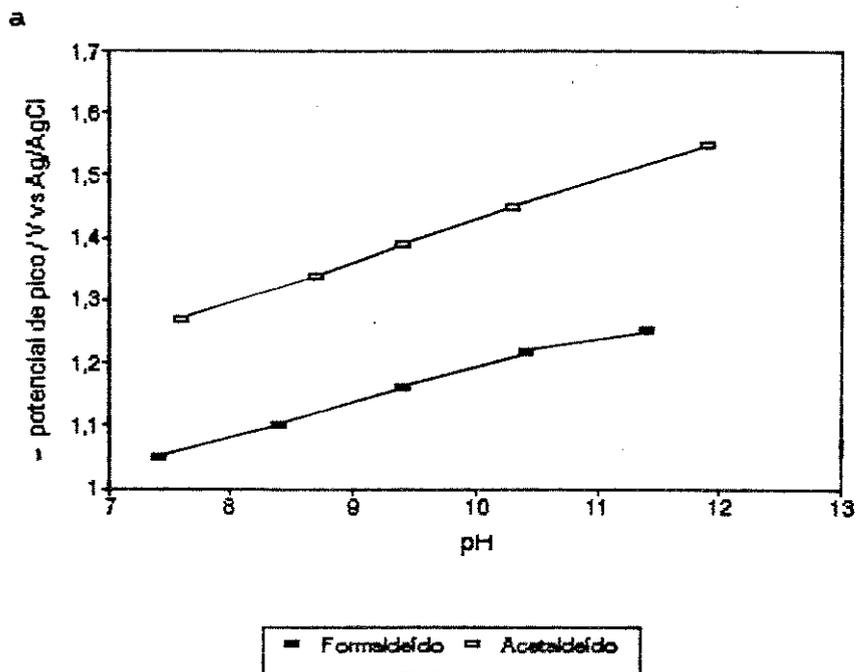


Figura 14 . Efeito do pH no potencial de pico dos derivados dos aldeídos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

(a) aldeídos com MEA

(b) aldeídos com HMDA

Tabela 2 . Características polarográficas dos derivados azometinos dos aldeídos

Aldeído 9×10^{-5} mol/l	MEA (6×10^{-2} mol/l) ^a		HMDA (10^{-2} mol/l) ^b	
	$-E_p$ (V)	i_p (μ A)	$-E_p$ (V)	i_p (μ A)
acetaldeído	1,42	1,29	1,50	3,89
formaldeído	1,25	1,65	1,30	6,68

Condições: eletrólito de suporte: LiCl 0,10 mol/l;

tempo de gota: 1,0 s;

altura de pulso: 50 mV;

faixa de potencial: -1,10 V a -1,70 V vs Ag/AgCl;

velocidade de varredura: 5 mV/s.

(a) pH = 10,9

(b) pH = 11,3

V.5. EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DAS AMINAS

A dependência da corrente de difusão para os derivados azometinos com relação à concentração das amins para pH e concentração dos aldeídos constantes pode ser vista nas Figuras 10 a 13. A corrente de difusão foi tanto maior quanto maior a quantidade de amina presente, até um determinado valor de concentração a partir do qual um

aumento da concentração da amina levou a um decréscimo na corrente. Esse valor se mostrou dependente da natureza dos aldeídos e das aminas.

As aminas apresentaram picos polarográficos em regiões de potencial que podem interferir nos picos dos azometinos. A intensidade dessa interferência determinou a concentração máxima de amina que foi usada em cada caso. A Tabela 3 mostra os resultados obtidos experimentalmente.

A variação na concentração das aminas não teve, praticamente, nenhum efeito no E_p dos derivados.

Tabela 3 . Relação entre a concentração das aminas e dos aldeídos na célula que resulta na melhor corrente de pico

Aldeído	[MEA]/[aldeído]	[HMDA]/[aldeído]
acetaldeído	100	60
formaldeído	10	3

Valores obtidos com aproximação, em cloreto de lítio 0,10 mol/l como eletrólito de suporte.

V.6. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DOS ALDEIDOS

Na Tabela 4 estão resumidas as condições experimentais usadas para a análise de uma série de amostras aquosas de acetaldeído e formaldeído.

Os gráficos corrente de pico vs concentração do formaldeído foram lineares na faixa de 0,10 $\mu\text{g/ml}$ a 160 $\mu\text{g/ml}$ com a MEA e de 0,60 $\mu\text{g/ml}$ a 85 $\mu\text{g/ml}$ com a HMDA. Para os derivados do acetaldeído esses valores foram de 0,08 $\mu\text{g/ml}$ a 40 $\mu\text{g/ml}$ e de 0,09 $\mu\text{g/ml}$ a 90 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Os valores mais baixos de cada faixa linear correspondem ao limite de detecção para cada azometino. O limite de detecção é, neste caso, definido como a menor concentração do aldeído que gera um pico polarográfico mensurável. A Figura 15 mostra os polarogramas típicos de uma curva de calibração para os aldeídos.

Os resultados das análises apresentados na Tabela 5 mostram que o acetaldeído pode ser determinado, em soluções aquosas, pelo método proposto com um erro relativo médio menor que 1,5 % e um coeficiente de variação médio de 0,2 % com ambas as aminas. Um melhor limite de detecção foi conseguido com a MEA; no entanto, a HMDA permitiu a determinação de teores mais altos do aldeído.

Como mostra a Tabela 6, a MEA se apresentou mais adequada para a determinação do formaldeído, já que levou a

erros relativos menores, enquanto que a HMDA permitiu a detecção de níveis mais baixos do aldeído.

As equações da regressão linear do aldeído colocado vs encontrado foram:

Para o formaldeído:

$$\text{.com a MEA: } y = 1,024x - 0,210 \quad R = 0,99952$$

$$\text{.com a HMDA: } y = 0,9697x + 0,321 \quad R = 0,99997$$

Para o acetaldeído:

$$\text{.com a MEA: } y = 0,9906x + 0,006 \quad R = 0,99992$$

$$\text{.com a HMDA: } y = 0,9993x - 0,029 \quad R = 0,99993$$

onde y = concentração do aldeído encontrada e

x = concentração do aldeído colocada.

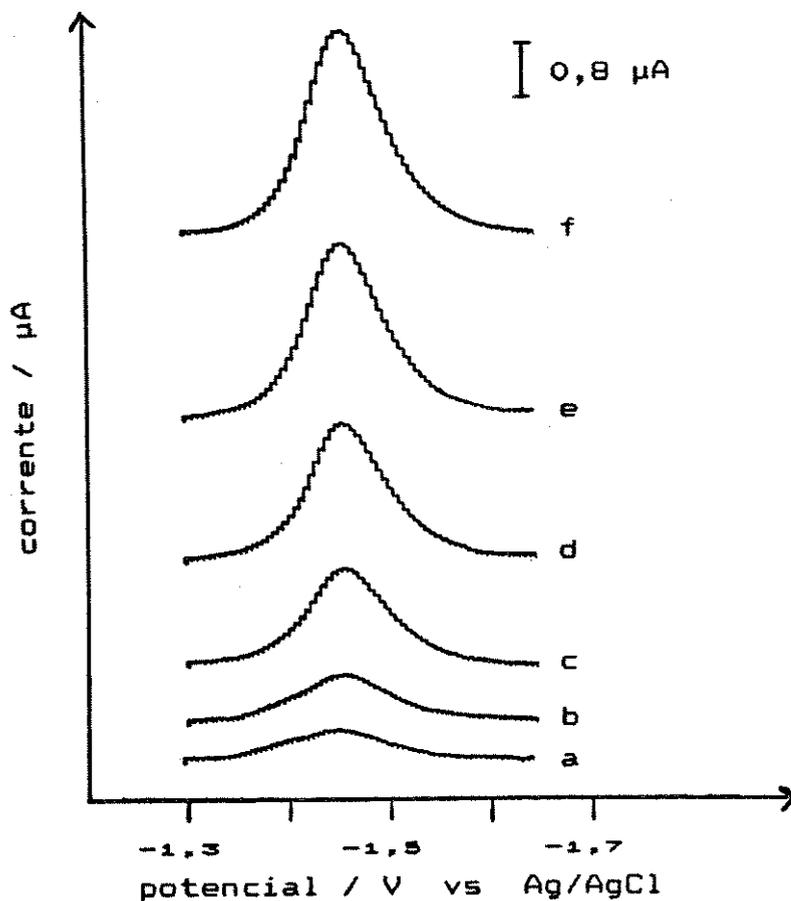


Figura 15 . Polarogramas de pulso diferencial típicos de uma curva de calibração para os derivados azometinos, em cloreto de lítio 0,10 mol/l.

A figura representa a curva de calibração para os derivados do acetaldeído com a MEA

c(acetaldeído) :	a = 0,33 mol/l;	b = 0,66 mol/l;
	c = 1,81 mol/l;	d = 2,62 mol/l;
	e = 4,19 mol/l;	f = 4,95 mol/l.

Tabela 4 . Condições experimentais para a análise de soluções aquosas de acetaldeído e formaldeído

.Faixa de concentração dos aldeídos na célula:	{	MEA acetaldeído: 80 ppb a 40 ppm formaldeído: 100 ppb a 160 ppm HMDA acetaldeído: 600 ppb a 85 ppm formaldeído: 90 ppb a 90 ppm
.Eletrólito de suporte: solução de cloreto de lítio de concentração 0,10 mol/l		
.pH do meio:	{	MEA: entre 10 e 11 HMDA: entre 11 e 12
.condições do instrumento:		
.eletrodo: eletrodo de mercúrio de gota estática		
.técnica: polarografia de pulso diferencial		
.altura do pulso: 50 mV		
.tempo de gota: 1 s		
.tamanho da gota: média		
.tempo de desaeração: 2 min		
.faixa de potencial:		
acetaldeído: -1,30 V a -1,70 V vs Ag/AgCl		
formaldeído: -1,10 V a -1,50 V vs Ag/AgCl		
.velocidade de varredura: 5 mV/s		
.corrente: variável com a faixa de concentração. A corrente típica para 0,1 ppm de aldeído é de 50 µA.		

Tabela 5 . Análise de soluções aquosas de acetaldeído por polarografia de pulso diferencial, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Com MEA				
Acetaldeído ($\mu\text{g/ml}$)		E_R^b %	S_R^c %	
colocado	encontrado*			
0,15	0,15	-	0,09	
0,53	0,52	-1,9	0,4	
0,68	0,69	+1,4	-	
0,76	0,75	-1,3	0,02	
7,62	7,62	-	0,2	
8,96	8,94	-0,2	0,2	
12,65	12,41	-1,9	0,2	
16,28	16,00	-1,7	0,08	
18,57	18,55	-0,1	0,07	

Com HMDA				
Acetaldeído ($\mu\text{g/ml}$)		E_R^b %	S_R^c %	
colocado	encontrado*			
0,37	0,37	-	0,2	
1,08	1,10	+1,9	0,3	
2,23	2,25	+0,9	0,2	
8,22	8,23	+0,1	0,2	
14,93	14,61	-2,1	0,3	
21,16	20,79	-1,7	0,06	
30,35	31,03	+2,2	0,07	
48,90	48,46	-0,9	0,08	
83,25	83,25	-	0,3	

(a) média de 6 determinações

(b) E_R = erro relativo

(c) S_R = desvio padrão relativo

Condições: tempo de gota: 1,0 s; altura de pulso: 50 mV;
tempo de desaeração: 2 min; velocidade: 5 mV/s;
faixa de potencial: -1,30 a -1,70 V vs Ag/AgCl.

Tabela 6 . Análise de soluções aquosas de formaldeído por polarografia de pulso diferencial, em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Com MEA				
Formaldeído ($\mu\text{g/ml}$)		E_R^b %	S_R^c %	
colocado	encontrado ^a			
0,38	0,37	-2,6	0,6	
1,42	1,41	-0,7	0,6	
3,79	3,82	+0,8	0,2	
9,05	9,14	+1,0	0,1	
14,18	14,27	+0,6	0,06	
23,86	24,44	+2,4	0,06	
37,87	36,97	-2,3	0,02	
64,44	65,64	-1,9	0,02	

Com HMDA				
Formaldeído ($\mu\text{g/ml}$)		E_R^b %	S_R^c %	
colocado	encontrado ^a			
2,27	2,19	-3,5	0,4	
5,42	5,59	+3,1	0,2	
8,50	8,68	+2,1	0,1	
11,46	11,64	+1,6	0,08	
39,34	38,56	-2,0	0,02	
66,91	65,11	-2,7	0,01	

(a) média de 6 determinações

(b) E_R = erro relativo

(c) S_R = desvio padrão relativo

Condições: tempo de gota: 1,0 s; altura de pulso: 50 mV;

tempo de desaeração: 2 min; velocidade: 5 mV/s;

faixa de potencial: -1,10 V a -1,50 V vs Ag/AgCl

V.7. INTERFERÊNCIAS

Os interferentes estudados foram acetona, álcool etílico, acetato de etila e ácido acético na determinação do acetaldeído e acetaldeído, álcool metílico e ácido fórmico na determinação do formaldeído. Os resultados obtidos estão nas Tabelas 7 e 8.

A acetona, por conter um grupo carbonila, reage com as aminas de maneira semelhante aos aldeídos. No entanto, as cetoiminas resultantes se reduzem em potenciais mais negativos que as aldíminas permitindo, assim, a determinação do acetaldeído na presença da acetona. Todavia, uma razão molar acetona/acetaldeído maior que 50 resultou em uma diminuição significativa na corrente de pico do derivado aldeído-MEA. Para o derivado aldeído-HMDA esse valor passou para 100.

O álcool etílico e o acetato de etila não apresentaram picos polarográficos na região de potencial estudada e nenhuma interferência significativa foi observada para concentrações de interferente até cerca de 10^3 vezes a concentração do aldeído. Um deslocamento no potencial de pico para valores menos negativos foi observado quando a razão molar interferente/aldeído foi maior que 10^4 e 5×10^3 , respectivamente.

Tabela 7 . Efeito dos interferentes na determinação do acetaldeído por PPD em LiCl 0,10 mol/l

Interferente	Razão molar aldeído/interferente	MEA ^a E _R %	HMDA ^a E _R %
Acetona	1:1	-0,7	-
	1:5	+0,7	+0,6
	1:10	+1,3	-0,6
	1:50	-2,7	-1,3
	1:100	-5,3	-2,6
	1:200	-	-3,2
Alcool	1:10	-1,3	-
Etílico	1:1000	-0,7	-0,6
	1:5000	+2,0	+1,9
	1:10000	+12,7	+4,5
Acetato de	1:10	-1,3	-
Etila	1:100	-1,3	-0,6
	1:1000	+0,7	-
	1:5000	+6,0	+1,3
Acido	1:1	-0,7	+0,6
Acético	1:10	-	+0,6
	1:100	-0,7	-0,6
	1:200	-4,0	-3,2

(a) média de 6 determinações

Tabela 8 . Efeito dos interferentes na determinação do formaldeído por PPD em LiCl 0,10 mol/l

Interferente	Razão molar aldeído/interferente	MEA ^a	HMDA ^a
		E _R %	E _R %
Acetaldeído	1:0,5	+0,4	-1,9
	1:5	-0,3	-2,4
	1:10	+1,9	-1,0
	1:25	+2,0	-14,4
	1:50	+2,0	-
	1:100	+4,7	-
Alcool	1:1	-1,0	-1,1
Metílico	1:10	-0,7	+1,3
	1:100	-0,7	-0,2
	1:1000	-1,9	+6,6
	1:5000	-6,0	-
Acido	1:1	+1,9	-0,1
Fórmico	1:10	+10,7	-0,1
	1:50	-	-18,1

(a) média de 6 determinações

O acetaldeído é um dos mais sérios interferentes na determinação do formaldeído, e vice-versa, pois ambos apresentam picos polarográficos em potenciais muito próximos. Ainda assim, foi permitida a determinação de um na presença do outro desde que a concentração de acetaldeído

nao ultrapassasse 50 vezes a concentração de formaldeido presente quando a amina foi a MEA; com a HMDA esse valor caiu para, aproximadamente, 10 vezes.

A interferência causada pelos ácidos fórmico e acético está relacionada com a variação do pH do meio. Portanto, a sua presença será permitida desde que seja feito o devido ajuste do pH.

A combinação dos diversos interferentes levou a resultados analíticos essencialmente idênticos aos obtidos para os componentes individuais.

V.8. TITULAÇÃO AMPEROMÉTRICA

As condições instrumentais e parâmetros como tipo e concentração do eletrólito de suporte, pH do meio e tempo de desaeração foram os mesmos usados na curva de calibração (Tabela 4).

A concentração da amina necessária para minimizar os erros de diluição e gastar um volume compatível com a microbureta usada foi determinada ser de, aproximadamente, 100 vezes a concentração do aldeido na célula.

Uma série de soluções aquosas de acetaldeido e formaldeido, na faixa de 20 µg/ml a 300 µg/ml de aldeido, foi analisada e os resultados obtidos estão mostrados nas Tabelas 9 e 10. A Figura 16 mostra os polarogramas típicos

de uma titulação amperométrica. As curvas obtidas exibiram boa inflexão no ponto de equivalência para a faixa de concentração estudada (Figura 5). Na titulação do acetaldeído, com ambas as aminas, a reprodutibilidade ficou dentro da faixa esperada para o método; para o formaldeído essa reprodutibilidade não foi tão boa quanto desejada.

As soluções de formaldeído a serem tituladas foram preparadas a partir da solução 37 %, imediatamente antes da determinação; caso contrário, não foi observada nenhuma inflexão no ponto de equivalência. De acordo com estudos sobre o comportamento do formaldeído em soluções aquosas, soluções concentradas desse aldeído contêm polímeros dissolvidos que se dissociam lentamente com a diluição²¹⁶. Essa despolimerização talvez seja a responsável pelo comportamento anômalo do formaldeído.

Na titulação do formaldeído com a HMDA foi observado o aparecimento de um segundo pico, em um potencial muito próximo ao do pico do azometino, que é função da concentração do aldeído (Figura 17). A presença desse pico impossibilita a quantificação do pico de interesse e impede que a técnica da titulação com a HMDA seja usada para soluções de formaldeído com concentrações superiores a 20 µg/ml.

A variação observada na razão das alturas dos dois picos com a variação na concentração da espécie eletroativa sugere que correntes de adsorção e/ou catalíticas ou reações

cinéticas de ordem mais elevada estejam envolvidas no processo²¹¹. Esse fenômeno não foi observado com a MEA.

Tabela 9 . Análise amperométrica de soluções aquosas de acetaldeído por PPD em LiCl 0,10 mol/l

Com MEA				
Acetaldeído (µg/ml)		E _R %	S _R %	
colocado	encontrado*			
28	27	-1,6	5,1	
62	63	+1,4	1,6	
125	126	+1,0	0,6	
264	263	-0,3	1,9	

Com HMDA				
Acetaldeído (µg/ml)		E _R %	S _R %	
colocado	encontrado*			
30	30	-	4,2	
74	74	-	3,0	
147	148	+0,7	2,3	
295	301	+2,0	2,5	

(a) média de 6 determinações

Condições: tempo de gota: 1,0 s; altura de pulso: 50 mV;
tempo de desaeração: 2 min; velocidade: 5 mV/s;
faixa de potencial: -1,30 V a -1,70 V vs Ag/AgCl.

Tabela 10 . Análise amperométrica de soluções aquosas de formaldeído por PPD em LiCl 0,10 mol/l

Com MEA			
Formaldeído ($\mu\text{g/ml}$)		E_r %	S_r %
colocado	encontrado*		
21	22	+4,8	9,3
51	51	-	3,4
99	102	+3,0	7,9
212	210	-0,9	7,6

Com HMDA			
Formaldeído ($\mu\text{g/ml}$)		E_r %	S_r %
colocado	encontrado*		
20	21	+5,0	9,1
50	58	+16,0	4,7

(a) média de 6 determinações

Condições: tempo de gota: 1,0 s;

altura de pulso: 50 mV;

tempo de desaeração: 2 min;

faixa de potencial: -1,10 V a -1,50 V vs Ag/AgCl;

velocidade: 5 mV/s.

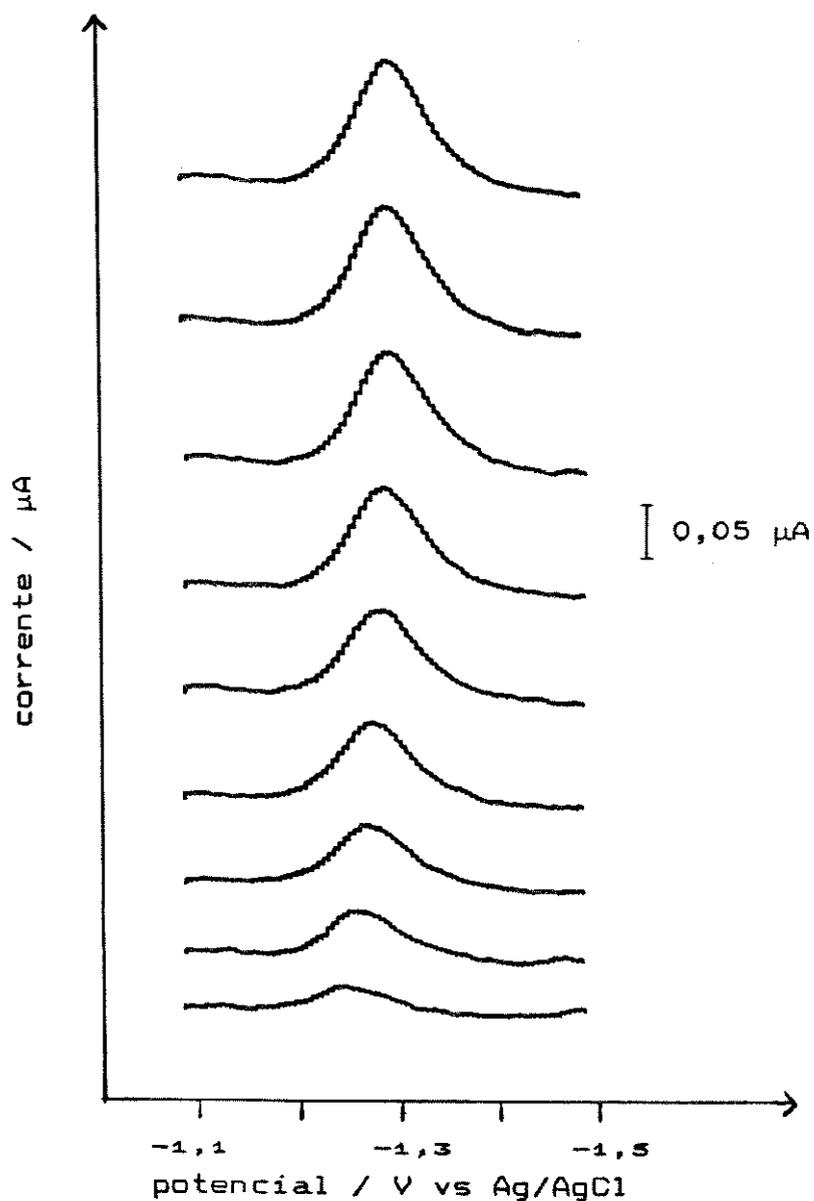


Figura 16 . Polarogramas de pulso diferencial típicos para a titulação amperométrica dos aldeídos com aminas primárias, em cloreto de lítio 0,10 mol/l. Cada polarograma representa a adição de 0,5000 ml da amina.

A figura representa a titulação de uma solução de acetaldeído com a MEA.

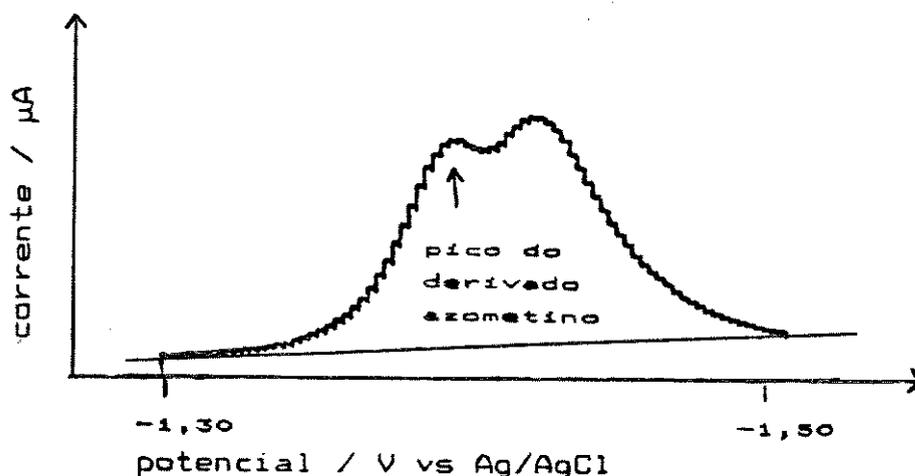


Figura 17 . Polarograma de pulso diferencial da titulação do formaldeído (50 $\mu\text{g/ml}$) com HMDA em cloreto de lítio 0,10 mol/l

Condições: tempo de gota: 1 s;

altura de pulso: 50 mV.

V.9. APLICAÇÃO EM AMOSTRAS REAIS

Há uma grande variedade de matrizes nas quais a determinação do teor de acetaldeído e formaldeído se faz essencial. Entre elas pode-se mencionar amostras de ar, águas, alimentos.

Com a criação do Pró-álcool, em 1975, surgiram as primeiras especificações brasileiras para o álcool combustível. O conhecimento do teor de acetaldeído no álcool

combustível é fundamental, por ser esse aldeído um sério contribuinte para a poluição ambiental.

A determinação de acetaldeído em bebidas alcoólicas é parte essencial no controle de qualidade dos produtos, tendo em vista os danos causados à saúde pela sua ingestão.

O uso crescente do formaldeído, ou de produtos que liberam formaldeído, como conservante em alimentos e cosméticos tem levado à necessidade de se desenvolver técnicas para a sua determinação nesses tipos de matrizes.

Assim, para mostrar a aplicabilidade do método proposto neste trabalho foi feita a determinação de acetaldeído em amostras de álcool etílico, inclusive no álcool combustível e em algumas bebidas alcoólicas e a determinação de formaldeído em leite e shampoos.

O procedimento de preparação da amostra depende da própria amostra. Nos casos mais simples, a amostra é diluída no eletrólito de suporte. No entanto, algumas vezes é necessário que o aldeído seja extraído ou destilado antes da análise. Nas matrizes escolhidas não foi feito nenhum tratamento prévio. Os aldeídos foram determinados diretamente, com exceção dos shampoos nos quais foi necessário uma diluição devido à sua grande viscosidade, formação de espuma durante a etapa de desaeração e forte adsorção na gota de mercúrio. No entanto, apesar destes inconvenientes, apenas uma diluição adequada e o uso de um tempo de gota mais apropriado foi o suficiente para permitir

a determinação do formaldeído nessa matriz. O leite também apresentou um certo grau de adsorção, mas foi possível fazer a sua análise sem qualquer modificação nas condições previamente estabelecidas.

Todas as amostras alcoólicas estavam dentro dos valores previamente estabelecidos com relação à interferência do álcool etílico.

O teor dos aldeídos foi determinado pelo método da adição de padrão para minimizar os possíveis efeitos de matriz. Na determinação do acetaldeído foi usada a HMDA e o formaldeído foi determinado com a MEA, por terem sido estas as aminas que levaram aos melhores resultados para ambos os aldeídos, respectivamente. A Figura 18 mostra os polarogramas típicos para a análise de uma amostra real pelo método da adição de padrão.

Para verificação da exatidão do método proposto foi feito o teste de recuperação. Com esse teste pode ser verificada a aplicabilidade de um método a uma determinada matriz sem que haja necessidade de comparação com outro método.

Essa comparação nem sempre é conveniente por uma série de fatores. Dentre eles o mais importante talvez seja a própria natureza da matriz. Cada método de análise exige um tratamento específico da amostra que, algumas vezes, pode modificar as suas características iniciais. Assim, o que é interferente para uma determinada situação pode não ser em outra e vice-versa. Além disso, os parâmetros de medida são

diferentes para métodos diferentes, levando a erros também diferentes, e a concentração do composto de interesse na amostra pode estar fora da faixa de trabalho do método de comparação, o que levaria a uma maior manipulação da mesma através de uma etapa de concentração ou diluição, conforme o caso. Há ainda a dificuldade da disponibilidade dos equipamentos e reagentes necessários para se usar outro método. O teste de recuperação evita esses problemas, uma vez que é feito exatamente nas mesmas condições e nos mesmos equipamentos usados para a análise pelo método em estudo.

As Tabelas 11 e 12 mostram que o acetaldeído e o formaldeído podem ser determinados como azometinos por polarografia de pulso diferencial nas amostras selecionadas dentro do erro experimental do método.

O tempo requerido por análise foi de cerca de 15 minutos.

A titulação amperométrica só pode ser aplicada ao álcool combustível, uma vez que o teor de acetaldeído presente nos álcoois comerciais está abaixo do limite de detecção do método. A concentração do aldeído encontrada foi de 122,0 $\mu\text{g/ml}$, o que corresponde a um erro relativo de -0,8 % em relação ao método da adição de padrão. Por outro lado, as bebidas alcoólicas apresentaram um pico polarográfico muito próximo ao do derivado de interesse, o que inviabilizou a aplicação do método a essas matrizes.

O formaldeído não foi determinado por titulação amperométrica nas amostras por não ter sido possível

Tabela 11 . Determinação de acetaldeído em amostras reais por PPD em cloreto de lítio 0,10 mol/l (método da adição de padrão)

Amostra	Teor Original µg/ml	Quantidade adicionada µg/ml	Recuperação ^a %
Alcool combustível	123,3	125,5	98,2
Alcool "A"	1,21	1,33	90,2
Alcool "B"	10,35	9,78	105,8
Alcool "C"	3,87	3,92	98,7
Conhaque	75,33	74,44	101,2
Sakê	4,37	5,29	82,6
Cachaça artesanal	27,58	27,58	100,0
Cachaça comercial	46,26	41,14	112,4
Vinho branco	7,76	7,84	101,0

(a) média de 6 determinações

Condições: amina: HMDA;

tempo de gota: 1,0 s;

altura de pulso: 50 mV;

tempo de desaeração: 2 min;

faixa de potencial: -1,30 V a -1,70 V vs Ag/AgCl;

velocidade: 5 mV/s.

Tabela 12 . Determinação de formaldeído em amostras reais por PPD em cloreto de lítio 0,10 mol/l (método da adição de padrão)

Amostra	Teor Original µg/ml	Quantidade adicionada µg/ml	Recuperação* %
Leite Tipo C	-	2,57	100,4
Leite desnatado Longa vida	-	2,57	98,4
Leite desnatado (24 h) ^b	-	2,57	98,4
Shampoo "A" ^c	-	25,7	101,1
Shampoo "B"	-	25,6	101,8
Shampoo "C"	6,20	6,20	100,0
Shampoo "D"	0,12	0,11	101,9

(a) média de 6 determinações

(b) a medida foi feita 24 horas após a contaminação da amostra

(c) na análise dos shampoos o tempo de gota foi de 0,5 s para diminuir os efeitos da adsorção da matriz na gota

Condições: amina: MEA;

faixa de potencial: -1,10 V a -1,50 V vs Ag/AgCl;

Demais condições idênticas às da Tabela 11.

CAPITULO VI . CONCLUSOES

Neste trabalho foi desenvolvido um método polarográfico indireto - via formação da base de Schiff - usando como técnica a polarografia de pulso diferencial para a determinação de formaldeído e de acetaldeído.

A principal vantagem do método indireto é que a redução dos derivados ocorre a um potencial menos negativo do que a dos aldeídos de partida evitando, assim, a região do potencial de descarga do eletrólito de suporte. Conseqüentemente, são obtidos resultados mais exatos e precisos do que aqueles do método polarográfico direto.

A PPD, associada ao método indireto, permitiu trabalhar com concentrações de aldeídos na célula tão baixas quanto 10^{-6} mol/l e com apenas uma solução de cloreto de lítio 0,10 mol/l como eletrólito de suporte, o que estende a aplicação do método a amostras com baixos teores dos aldeídos e minimiza as interferências provenientes do eletrólito.

As aminas usadas (MEA e HMDA) são reagentes facilmente acessíveis, estáveis e não exigiram nenhum tipo de purificação. Além disso, apresentaram algumas vantagens

em relação a outras aminas ou grupos amino comumente usados, entre elas, participarem de reações instantâneas com os aldeídos e não ser necessário o uso de solução tampão, uma vez que o excesso de amina é suficiente para manter o pH do meio em valores adequados para a análise. O excesso da amina presente na solução não interfere na determinação não sendo, portanto, necessário o isolamento dos derivados. Conseqüentemente, isso reduz o número de reagentes e de etapas envolvidas no processo reduzindo, assim, o tempo, as interferências e o custo da análise.

Os resultados obtidos para a determinação de formaldeído e acetaldeído em soluções aquosas levam a concluir que o método desenvolvido permite a determinação rápida (cerca de 15 minutos), exata (erro relativo médio de 1,5 %) e precisa (coeficiente de variação médio de 0,2 %) desses aldeídos. A faixa linear conseguida foi ampla e os coeficientes de correlação considerados muito bons (0,9999). Os limites de detecção (100 ppb para o formaldeído e 80 ppb para o acetaldeído) estão de acordo com os citados na literatura e, em relação a alguns desses casos, podem ser considerados melhores.

A interferência da acetona, que apresenta um pico polarográfico próximo ao do acetaldeído, é um problema na sua determinação. Com o uso da HMDA essa interferência é minimizada e é permitida a presença da acetona em concentrações de até 100 vezes a concentração do aldeído.

O estudo mostrou, ainda, que é possível a determinação simultânea do formaldeído e do acetaldeído, desde que a concentração de um não ultrapasse 50 vezes a do outro. Isso é importante, uma vez que, na maioria das matrizes, ambos os aldeídos estão presentes.

A aplicação em amostras reais mostrou que o método exibe boa recuperação e requer um mínimo de preparação para as matrizes escolhidas (álcool e bebidas alcoólicas para o acetaldeído; shampoo e leite para o formaldeído).

Embora o estudo tenha sido feito em apenas alguns tipos de matrizes, não há dúvidas de que o método pode ser aplicado a uma grande variedade de casos particulares. Seria importante, por exemplo, estudar a possibilidade da determinação dos aldeídos em amostras de interesse ambiental (como ar atmosférico, gases de exaustão de automóveis e fumaças), através da coleta da amostra diretamente em um sistema contendo a solução da amina, e em alimentos, basicamente os enlatados ou em embalagens tipo longa vida. Pode, também, ser interessante o estudo do comportamento de outras aminas primárias, ou aminas secundárias como reagentes de derivatização. Além disso, o método desenvolvido pode servir como ferramenta analítica para os estudos toxicológicos dos aldeídos, os quais vêm sendo feitos, sistematicamente, pela utilização da técnica cromatográfica.

A titulação amperométrica teria como principal vantagem evitar as freqüentes e demoradas padronizações das

soluções dos aldeídos. No entanto, apesar dos resultados obtidos terem sido coerentes com os do método polarográfico em relação à exatidão e à precisão, os limites de detecção (20 ppm) não foram tão bons quanto os desse último. Além disso, para o formaldeído a técnica só pode ser aplicada em uma faixa restrita de concentração, em torno do limite de detecção, e as soluções têm que ser preparadas imediatamente antes da determinação.

A aplicação da titulação amperométrica em amostras reais mostrou que o método está sujeito a sérias interferências das matrizes, o que dificulta e, em alguns casos, até inviabiliza a sua utilização.

Por isso, a titulação amperométrica não deve ser recomendada como técnica analítica para a determinação de aldeídos, mas pode ser considerada como um método alternativo para a padronização de suas soluções diluídas. Algumas vantagens com relação ao método clássico do bissulfito são o menor tempo de análise, o menor número de reagentes, o uso de pequena quantidade de amostra e a não ocorrência dos problemas causados pela instabilidade da solução de sulfito de sódio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. BRABEC, M.J., Aldehydes and Acetals in CLAYTON, G.D., CLAYTON, F.E. (eds), *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, 3rd ed., John Wiley, New York, V. 2A, cap. 37, pp. 2629-69, 1981.
2. BARARY, M.H., EL-YAZBI, F.A., BEDAIR, M.A., *Anal. Lett.*, 24 (5), 857-69, 1991.
3. GENG, A.C., CHEN, Z.L., SIN, G.G., *Anal. Chim. Acta*, 257 (1), 99-104, 1992.
4. COYNE, L.B. *et al.*, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 46 (10), 609-19, 1985.
5. XIADHU, L., MINGGANG, L., FANG, Y., *Anal. Lett.*, 23 (7), 1191-9, 1990.
6. WENG, J.L., HO, M.H., *Anal. Lett.*, 23 (12), 2155-74, 1990.

7. TUAZON, E.C., WINER, A.M., PITTS, J.N.Jr., *Envir. Sci. Technol*, 15, 1232-7, 1981.
8. JOHNSON, B.J., DAWSON, G.A., *Analyst*, 115, 1153-6, 1990.
9. IGNAT'EV, Yu.S., STRUKOVA, M.P., SMIRNOV, L.N., RUBEZHOVA, T.E., GRIBOVA, T.A., *Zavod. Lab.*, 40 (5), 519-23, 1974.
10. PRIBYL, M., NEDBALKOVA, J., *F'Z. Anal. Chem.*, 244 (3), 244-8, 1969.
11. SEPTON, J.C., KU, J.C., *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 43 (11), 845-52, 1982.
12. HAAS, J.W., STOREY, J.D., LYNCH, C.C., *Anal. Chem.*, 34 (1), 145-7, 1962.
13. CARLIER, P., HANNACHI, H., MOUVIER, G., *Atmos. Environ.*, 20 (11), 2079-99, 1986.
14. KIMMERER, T.W., KOZLOWSKI, T.T., *Plant Physiol.*, 69 (4), 840-7, 1982.
15. MIGUEL, A.H., de ANDRADE, J.B., *J. Braz. Chem. Soc.*, 1 (3), 124-7, 1990.

16. LIPARI, F., DASCH, J.M. and SCRUGGS, W.F., *Environ. Sci. Technol.*, 18 , 326-30, 1984.
17. ROE, F.J.C., WOOD, D., *Indoor Environ*, 1 (1), 8-15, 1992.
Chemical Abstract 115: 165330 p.
18. RAHWAN, R.G., *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 34 (1), 3-10, 1975.
19. WALKER, J.F., Formaldehyde in *Kirk-Othmer Encyclopaedia of Chemical Technology*, 2nd ed., Interscience Pub., New York, V.10, pp. 77-99, 1967.
20. BOYCE, S.D., HOFFMANN, M.R., *J. Phys. Chem.*, 88 (20), 4740-8, 1984.
21. KLEINDIENST, T.E. *et al.*, *Atmos. Environ.*, 22 (9), 1931-9, 1988.
22. PARMEGGIANI, L. (ed), *Encyclopaedia of Occupational Health and Safety*, 3 ed., International Labour Office, Geneva, V. 1, pp. 914-6, 1989.
23. KALLOS, G.J. and SOLOMON, R.A., *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 34 (9), 469-73, 1973.

24. FRANKEL, L.S., Mc CALLUM, K.S. and COLLIER, L., *Environ. Sci. Technol.*, *8*, 356-9, 1974.
25. KANE, L.E., ALAIRE, Y., *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, *38* (10), 509-22, 1977.
26. HAYES, E.R., *Acetaldehyde in Kirk-Othmer Encyclopaedia of Chemical Technology*, 2nd ed., Interscience Pub., New York, V. 1, pp. 77-95, 1967.
27. SHAW, P.E., MOSHONAS, M.G., PESIS, E., *J. Food Sci.*, *56* (2), 469-74, 1991.
28. SCHUCKIT, M.A., RAYES, V., *Science*, *203*, 54-5, 1979.
29. PETERSON, C.M., SCOTT, B.K., McLAUGHLIN, S.D., *Alcohol*, *8* (1), 35-8, 1991.
Chemical Abstract 116: 2160 q.
30. HAYASHI, M. *Arukoru Kenkyn to Yakubutsu Izon.*, *26* (2), 89-95, 1991.
Chemical Abstract 115: 200957 x.
31. TANNER, R.L. *et al.*, *Environ. Sci. Technol.*, *22*, 1026-34, 1988.
32. HOULGATE, P.R. *et al.*, *Analyst*, *114*, 355-60, 1989.

33. PAGE, E.W., REED, R., *Am. J. Physiol.*, 143 (1), 122-5, 1945.
34. SKOG, E., *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 6, 299-318, 1950.
35. PAWLICKA, E., BAUKOWSKI, E., SOBOLEWSKI, K., *Arch. Toxicol.*, 65 (8), 678-80, 1991.
Chemical Abstract 116: 2168 y.
36. ORTIZ, A., GRIFFITHS, P.J., LITTLETON, J.M., *J. Pharm. Pharmacol.*, 26 (4), 249-60, 1974.
37. ADAMS, E.W., ADKINS, H., *J. Am. Chem. Soc.*, 47 (5), 1358-67, 1925.
38. WINER, A.M., BIERMANN, H.W., *Proc. SPIE - Int. Soc. Opt. Eng.* 1433 (Meas. Atmos. Gases), 44-55, 1991.
Chemical Abstract 115: 119265 y.
39. FATIBELLO-FILHO, O., SULEIMAN, A.A., GUILBAULT, G.G., *Talanta*, 38 (5), 541-5, 1991.
40. BRYANT, W.M., SMITH, D.M., *J. Am. Chem. Soc.*, 57 (1), 57-61, 1935.

41. BALASIEWICZ, W., UJNIK, A., MLODECKA, J., *J. Chem. Anal. (Warsaw)*, 28 (4), 393-6, 1986.
Chemical Abstract 100: 16984 t.
42. PARKINSON, A.E., WAGNER, E.C., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 6 (6), 433-6, 1934.
43. REYNOLDS, J.G., IRWIN, M., *Chem. Ind. (London)*, 419-21, 1948.
44. ARDAGH, E.G.R., WILLIAMS, J.G., *J. Am. Chem. Soc.*, 47 (12), 2983-8, 1925.
45. SIGGIA, S., STAHL, C.R., *Anal. Chem.*, 27 (12), 1975-7, 1955.
46. BARK, L.S., PRACHUABPAIBUL, P., *Anal. Chim. Acta*, 84 (1), 207-10, 1976.
47. SIGGIA, S., SEGAL, E., *Anal. Chem.*, 25 (5), 830-1, 1953.
48. HASHMI, W.H., AYEZ, A.A., *Anal. Chem.*, 36 (2), 384-6, 1964.
49. SIGGIA, S., SEGAL, E., *Anal. Chem.*, 25 (4), 640-2, 1953.

50. RUCH, J.E., JOHNSON, J.B., *Anal. Chem.*, 28 (1), 69-71, 1956.
51. BEG, M.M., CHAUHAN, R.P.S., SHUKLA, I.C., *Proc. Natl. Acad. Sci., India, Sect. A.*, 50 (2), 93-6, 1980.
Chemical Abstract 96: 14810 h.
52. SIGGIA, S., *Quantitative Organic Analysis - Via Functional Groups*, 4th ed., Wiley-Interscience, New York, 1979.
53. HORWITZ, W. (ed), *Official Methods of Analysis*, 11th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C., 1970.
54. IDDLES, H.A., LOW, A.W., ROSEN, B.D., HART, R.T., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 11 (2), 102-3, 1939.
55. YOE, J.H., REID, L.C., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 13 (4), 238-40, 1941.
56. AL-TAMRAH, S.A., *Orient. J. Chem.*, 4 (1), 96-8, 1988.
Chemical Abstract 109: 47595 g.
57. EEGRIWE, E., *Z. Anal. Chem.*, 110, 22-9, 1937.
58. WEST, P.W., SEN, B., *Z. Anal. Chem.*, 153, 177-83, 1956.

59. SAITO, T., *Anal. Sci.*, 6 (4), 535-9, 1990.
Chemical Abstract 113: 217115 c.
60. LEE, C.W., FUNG, Y.S., FUNG, K.W., *Analyst*, 107, 30-4,
1982.
61. GRAZIANO, P.L., CASALICCHIO, G., *Agrochimica*, 34 (5-6),
515-9, 1990.
Chemical Abstract 115: 206872 n.
62. ALTSHULLER, A.P., MILLER, D.L., SLEVA, S.F., *Anal.
Chem.*, 33 (4), 621-5, 1961.
63. KAMEL, M., WIZINGER, R., *Helv. Chim. Acta*, 43 (2), 594-
600, 1960.
64. SAWICKI, E., HAUSER, T.R., McPHERSON, S., *Anal. Chem.*,
34 (11), 1460-4, 1962.
65. TANENBAUM, M., BRICKER, C.E., *Anal. Chem.*, 23 (2), 354-
7, 1951.
66. ROSEN, M., Mc FARLAND, A.G., *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 35
(3), 157-69, 1984.
Chemical Abstract 101: 216214 z.

67. LAPPIN, G.R., CLARK, L.C., *Anal. Chem*, 23 (3), 541-2, 1951.
68. SAWICKI, E., HAUSER, T.R., *Anal. Chem.*, 32 (11), 1434-6, 1960.
69. LOHMAN, F.H., *Anal. Chem.* 30 (5), 972-4, 1958.
70. SAWICKI, E., HAUSER, T.R., STANLEY, T.W., ELBERT, W., *Anal. Chem.*, 33 (1), 93-6, 1961.
71. VERACHTERT, H., FRATEUR, J., *Agricultura (Lowain)*, 14 (1), 83-95, 1966.
Chemical Abstract 65: 6302 e.
72. MIKSCH, R.R., ANTHON, D.W., *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 43 (5), 362-5, 1982.
73. SPREITZER, H., JAEGER, W., *Arch. Pharm.*, 323 (7), 445-6, 1990.
Chemical Abstract 113: 108538 x.
74. MATSUHISA, K., NAKAMURA, T., ONO, Y., *Kenkyn Hobun-Asahikawa Kogyo Koto Senmon Gakko*, 25, 225-32, 1988.
Chemical Abstract 109: 105946 k.
75. NAIR, J., GUPTA, V.K., *Talanta*, 26 (10), 962-3, 1979.

76. NASH, T., *Biochem. J.*, 55 (3), 416-21, 1953.
77. HUBER, W., *F.Z. Anal. Chem.*, 309 (5), 386-90, 1981.
78. WULF, G., Ger (East) DD276.414 (C1 G01N31/22), 28 Feb. 1990, Appl. 304, 305, 30 June 1987, 4 pp.
Chemical Abstract 113: 223908 e.
79. FISCHBECK, K., NEUNDEUBEL, L., *Z. Anal. Chem.*, 104, 81-8, 1936.
80. MIKSCH, R.R., ANTHON, D.W., FANNING, L.Z., HOLLOWELL, C.D., REVZAN, K., GLANVILLE, J., *Anal. Chem.*, 53 (13), 2118-23, 1981.
81. ARNOLD, S., BOY, E., *Lebensmittelindustrie*, 37 (6), 253-4, 1990.
Chemical Abstract 114: 205434 p.
82. RAYNER, A.C., JEPHCOTT, C.M., *Anal. Chem.*, 33 (4), 627-30, 1961.
83. PIEPER, H.J., RAN, T., ELLER, T., VOLZ, A., *Dtsch. Lebensm. Rundsch.*, 83 (2), 35-41, 1987.
84. MOFIDI, J., TONKABONI, M.B., DAVONDZADEH, F., *J. Food Sci.*, 41 (2), 471-3, 1976.

85. HO, M.H., SAMANIFAR, M., *Anal. Chim. Acta*, 215 (1-2), 249-57, 1988.
86. MUÑOZ, M.P., RUEDA, F.J.M.V., DIEZ, M.P., *Analyst*, 114, 1469-71, 1989.
87. LAZARO, F., LUQUE DE CASTRO, M.D., VALCARCEL, M., *Anal. Chem.*, 59 (14), 1859-63, 1987.
88. EVMIRIDIS, N.P., SADIRIS, N.C., KARAYANNIS, M.I., *Analyst*, 115, 1103-7, 1990.
89. MUÑOZ, M.P., RUEDA, F.J.M.V., DIEZ, M.P., *Anales de Química*, 86 (1), 49-54, 1990.
90. SAFAVI, A., ENSAFI, A.A., *Anal. Chim. Acta*, 252 (1-2), 167-71, 1991.
91. BELKIN, D.I., KRAVCHENKO, G.V., ROZKIN, M.Ya., *Zh. Anal. Khim.*, 31 (5), 1022-4, 1976.
92. PODLUBNAYA, E.T., STEPNAJA, V.E., SUSHINSKAYA, T.V., *Fermentn. Spirit. Prom-St*, 4, 10-12, 1984.
Chemical Abstract 101: 70914 d.
93. PICKARD, A.D., CLARK, E.R., *Talanta*, 31 (10A), 763-71, 1984.

94. SAWICKI, E., STANLEY, T.W., PFAFF, J., *Anal. Chim. Acta*, 28 (2), 156-63, 1963.
95. BISGAARD, P., MOLHAVE, L., REITZ, B., WILHARDT, P., *Anal. Lett.*, 16 (A17-18), 1457-67, 1983.
96. SAWICKI, E., CARNES, R.A., *Mikrochim. Acta*, 1, 148-59, 1968.
97. NAGIEV, T.M., ISKENDEROV, R.A., GASANOVA, L.M., RAMAZANOVA, Z.Yu., *Zh. Anal. Khim.*, 44 (9), 1690-2, 1989.
98. DUMAS, T., *J. Chromatog.* 247 (2), 289-95, 1982.
99. BERGMANN, K., SCHNEIDER, W., *Chromatographia*, 15 (10), 631-4, 1982.
100. YOKOUCHI, Y., FUJII, T., AMBE, Y., FUWA, K., *J. Chromatog.*, 180 (1), 133-8, 1979.
101. LUO, S., CAI, D., WU, J., XIAO, C., *Niangjin*, 3, 21-6, 1989.
Chemical Abstract 111: 230600 k.
102. SHIOMI, K., *J. High Resol. Chromatogr.*, 14 (2), 136-7, 1991.

103. TSUKAMOTO, S., MUTO, T., NAGOYA, T., SHIMAMURA, M.
SAITO, M., TAINAKA, H., *Alcohol, Alcohol*, 24 (2),
101-8, 1989.
Chemical Abstract 111:91767 e.
104. KASHIHIRA, N., MAKINO, K., KIRITA, K., WATANABE, Y.,
Bunseki Kagaku, 36 (3), 149-53, 1987.
Chemical Abstract 106: 181761 z.
105. KUCHERENKO, G.K., NECHIPORENKO, V.P., POTAPOVA, M.P.,
Lakokras. Mater. Ikh. Primen, 6, 78-80, 1989.
Chemical Abstract 113: 116362 a.
106. O'HARA, D., SINGH, H.B., *Atmos. Environ.*, 22 (11),
2613-5, 1988.
107. MANGANI, F., NINFALI, P., *J. Chromatog.*, 437 (1), 294-
300, 1988.
108. Mc GUIRRE, J.M., NAHM, S.H., *J. High Resol. Chromatog.*,
14 (4), 241-4, 1991.
109. SMITH, R.A., DRUMMOND, I., *Analyst*, 104, 875-7, 1979.
110. BABICHEVA, A.F., DREGVAL, G.F., *Gig. Sanit.*, 5, 90-1,
1990.
Chemical Abstract 115: 197411 g.

111. KOBAYASHI, K., TANAKA, M., KAWAI, S., *J. Chromatog.*, *187* (2), 413-7, 1980.
112. JANOS, E., BALLA, J., TYIHAK, E., GABORJANYI, R., *J. Chromatog.*, *191* (1-2), 239-44, 1980.
113. YASUHARA, A., SHIBAMOTO, T., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, *72* (6), 899-902, 1989.
114. MAROS, L., *Acta Chim. Hung.*, *118* (3), 215-20, 1985.
115. KENNEDY, E.R., HILL, R.H.Jr., *Anal. Chem.*, *54* (11), 1739-42, 1982.
116. PAPPA, L.J., TURNER, L.P., *J. Chromatog. Sci.*, *10* (12), 747-50, 1972.
117. KUNTZ, R., LONNEMAN, W., NAMIE, G., HULL, L.A., *Anal. Lett.*, *13* (16A), 1409-15, 1980.
118. LIPARI, F., SWARIN, S.J., *J. Chromatog.*, *247* (2), 297-306, 1982.
119. MATSUURA, H., FUJIYAMA, K., MINAGAWA N., SAWA, J., *Bunseki Kagaku*, *39* (7), 405-9, 1990.
Chemical Abstract 113: 96244 h.

120. LESCURE, J.P., DERUY, G., *Ind. Aliment. Agric.*, 107 (7-8), 639-43, 1990.
121. de ANDRADE, J.B., BRAVO, R.V.F., *Quimica Nova*, 12 (2), 196-8, 1989.
122. SLEMR, J., *F. J. Anal. Chem.*, 340, 672-7, 1991.
123. COLLI, M., GIRONI, A., MOLINA, V., MARCHETTI, R., MELZI d'Eril, LUCARELLI, C., *Chromatographia*, 32 (3-4), 113-5, 1991.
124. de ANDRADE, J.B., TANNER, R.L., *Atmos. Environ.*, 26 A (5), 819-25, 1992.
125. DAHLGRAN, J.R., JAMESON, M.N., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 71 (3), 560-3, 1988.
126. BENASSI, C.A., ZACCARIA, F., BETTERO, A., *J. Chromatog.*, 502 (1), 193-200, 1990.
127. Mc LURE, J.E., *Anal. Lett.*, 21 (2), 253-63, 1988.
128. SUMMERS, W.R., *Anal. Chem.*, 62 (14), 1397-402, 1990.
129. SLAWINSKA, D., SLAWINSKI, J., *Anal. Chem.*, 47 (13), 2101-9, 1975.

130. SATO, K., TANAKA, S., *Anal. Chim. Acta*, 236 (2), 459-62, 1990.
131. RIEGER, P.L., MADDOX, C.E., *Proc. SPIE-Int. Soc. Opt. Eng.* 1433 (Meas. Atmos. Gases), 290-301, 1991.
Chemical Abstract 115: 119266 z.
132. SZARVAS, T., SZATLÓCZKY, E., VOLFORD, J., TRÉZL, L., TYIHAK, E., RUSZNAK, I., *J. Radioanal. Nucl. Chem. Lett.*, 106 (6), 357-67, 1986.
133. CLARKE, S., HARRISON, J.A., *J. Electroanal. Chem.*, 36 (1), 109-15, 1972.
134. BIEBER, R., TRÜMPLER, G., *Helv. Chim. Acta*, 30 (2), 706-33, 1947.
135. BIEBER, R., TRÜMPLER, G., *Helv. Chim. Acta*, 30 (7), 2000-10, 1947.
136. JAHODA, F.G., *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 7, 415-23, 1935.
137. SHIKATA, M., TASCHI, I., *Proc. Imp. Acad (Tokyo)*, 2, 226-8, 1926.
Chemical Abstract 21: 1917.

138. SMDLER, I., *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 2, 699-711, 1930.
139. BOYD, M.J., BAMBACH, K., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 15 (5), 314-5, 1943.
140. ELVING, P.J., RUTNER, E., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 18 (3), 176-9, 1946.
141. WARSHOWSKY, B., ELVING, P.J., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 18 (4), 253-4, 1946.
142. KOEN, E., IVANOV, G., *Probl. Khig.*, 4, 50-62, 1979.
Chemical Abstract 91: 95927 y.
143. BRYGIN, Yu.P., SMIRNOVA, T.A., TYUTCHECA, S.B., *Khim. Prom-St., Ser. Metody Anal. Kontrolya Kach. Prod. Khim. Prom-Sti*, 10, 43-5, 1979.
Chemical Abstract 92: 129723 s.
144. LEZOVIC, A., SINGLIAR, M., *Petrochemia*, 18 (5-6), 159-63, 1978.
Chemical Abstract 91: 68006 r.
145. ADAMSKI, Z., MACIEJEWSKA, J., *Przegl. Wlok.*, 31 (11), 561-6, 1977.
Chemical Abstract 88: 90953 g.

146. ZAITSEVA, Z.V., PROKHOROVA, E.K., SALIKHDZHANOVA, R.M.F., *Zh. Anal. Khim.*, 33 (9), 1823-8, 1978.
147. COLLET, P., *GIT. Fachz. Lab.*, 32 (3), 191-4, 1988.
Chemical Abstract 109: 53289 b.
148. DANILENKO, L.N., KASSAI, T.V., *Tr. Vses. Nauchno-Issled. Inst. Vodosnabzh Kanaliz. Hidrotekh. Soornzh. Inzh. Hidrogeol.*, 40 (2), 98-103, 1972.
Chemical Abstract 81: 126477 b.
149. LADANYI, E., STALDER, K., *Bioelectrochem. Bioenerg.*, 15 (1), 89-93, 1986.
Chemical Abstract 105: 73810 k.
150. ESKINJA, I., GRABARIC, Z., GRABARIC, B.S., TKALCEC, M., MERZEL, V., *Mikrochim. Acta III* (3-4), 215-27, 1984.
151. ZUMAN, P., *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 15, 839-73, 1950.
152. TUR'YAN, Ya.I., TOLSTIKOVA, O.A., *Zh. Anal. Khim.*, 26 (2), 378-83, 1971.
153. CHERNOVA, Z.D., VASIL'ÉVA, G.G., PETROPVLOVSKII, G.A., *Zh. Anal. Khim.*, 30 (7), 1438-9, 1975.

154. BRADDOCK, L.I., GARLOW, K.Y., GRIM, L.I., KIRKPATRICK, A.F., PEASE, S.W., POLLARD, A.J., PRICE, E.F., REISSMANN, T.L., ROSE, H.A., WILLARD, M.L., *Anal. Chem.*, 25 (2), 301-6, 1953.
155. FLEET, B., KELIHER, P.N., *Analyst*, 94, 659-63, 1969.
156. YUAN, Y., ZANG, P., WEI, J., HU, S., LI, P., *Huanjing Huaxue*, 6 (4), 71-7, 1987.
Chemical Abstract 107: 222276 m.
157. SOUCHAY, P., GRAIZON, M., *Chim. Anal.*, 36, 85-91, 1954.
158. KATOVIC, D., SOLJACIC, I., PILJAC, I., *Tekstil*, 34 (8), 543-50, 1985.
Chemical Abstract 104: 35390 v.
159. COULSON, D.M., *Anal. Chim. Acta*, 19 (3), 284-92, 1958.
160. SOUCHAY, P., SER, J., *J. Chem. Phys.*, 49, C172-82, 1952.
161. MASAICHIRO, M., CHINO, Y., *Bunseki Kagaku*, 15 (2), 1350-6, 1966.
Chemical Abstract 67: 7800 c.
162. HALL, M.E., *Anal. Chem.*, 31 (12), 2007-9, 1959.

163. IGNAT'EV, Yu.S., STRUKOVA, M.P., VOLKOVA, L.E., MIKHEEVA, L.A., *Zh. Anal. Khim.*, 25 (7), 1389-91, 1970.
164. VAN ATTA, R.E., HARRISON, W.W., SELLERS, D.E., *Anal. Chem.*, 32 (12), 1548-50, 1960.
165. BORK, V.A., SHVYRKOVA, L.A., FAIZULLAEV, O., *Zh. Anal. Khim.*, 27 (9), 1859-62, 1972.
166. BORK, V.A., SHVYRKOVA, L.A., FAIZULLAEV, O., *Zh. Anal. Khim.*, 29 (9), 1844-7, 1974.
167. AL-HAJJAJI, M.A., AL-ZAMIL, I.Z., *J. Chem. Soc. Pak.*, 3 (3), 115-20, 1981.
Chemical Abstract 96: 14813 m.
168. MATSUDA, T., ITO, S., NAGAI, T., *Bunseki Kagaku*, 29 (11), 804-6, 1980.
Chemical Abstract 94: 57648 n.
169. SATAKE, H., IKEDA, S., *Nippon Kagaku Kaishi*, 5, 717-21, 1980.
Chemical Abstract 93: 36466 r.
170. IKEDA, S. *Anal. Chem.*, 46 (11), 1587-8, 1974.

171. USVYATSOV, A.A., SOLOMATIN, V.T., *Zavod. Lab.*, 36 (2), 154-5, 1970.
172. HERNANDEZ, L., PROCOPIO, J.R., PINILLA, J.M., *Analyst*, 109, 765-7, 1984.
173. RODRIGUEZ, P.J., HERNANDEZ, L., PINILLA, J.M., *Quim. Anal. (Barcelona)*, 5 (2), 141-9, 1986.
Chemical Abstract 106: 194648 t.
174. IANNIELLO, R.M., COLONNESE, R., MACHNICKI, N., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 70 (3), 566-8, 1987.
175. AFGHAN, B.K., KULKARNI, A.V., RYAN, J.F., *Anal. Chem.*, 47 (3), 488-94, 1975.
176. MITEV, S., UZOV, Kh., IVANOVA, Ts., *God. Vissh. Khim.-Tekhnol. Inst. "Prof. d.R As. Zlatarov" Gr. Burgas 1985 (Pub. 1986)*, 20 (2), 157-62.
Chemical Abstract 106: 148678 e.
177. OGANESYAN, L.B., SVIRSHCHEVSKAYA, G.G., *Zavod. Lab.*, 57 (5), 9-11, 1991.
178. SAAD, I., WALLACH, J.M., *Anal. Lett.*, 25 (1), 37-48, 1992.

179. BERSIER, P.M., BERSIER, J., *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, 16 (1-2), 15-128, 1985.
180. HEYROVSKY, J., KUTA, J., *Principles of Polarography*, Interscience, New York, 1965.
181. MEITES, L., *Polarographic Techniques*, Wiley-Interscience, New York, 1965.
182. PERRIN, C.L., Mechanisms of Organic Polarography. in COHEN, S.G., STREITWEISER, A., TAFT, R.W. (eds), *Progress in Physical Organic Chemistry*, V.3, John-Wiley Inc., New York, 1965.
183. BOND, A.M., *J. Electroanal. Chem*, 118, 381-94, 1981.
184. BOND, A.M., *Modern Polarographic Methods in Analytical Chemistry*, Marcel Dekker, Inc., New York, 1980.
185. ZUMAN, P., PERRIN, C.L., *Organic Polarography*, Interscience Pub., New York, 1969.
186. KOLTHOFF, I.M., LINGANE, J.J., *Polarography*, 2nd ed., V. 1, Interscience Pub., New York, 1952.

187. BARD, A.J., FAULKNER, L.R., *Electrochemical Methods - Fundamentals and Applications*, John-Wiley and Sons, Inc., Singapore, 1980.
188. BARKER, G.C., GARDNER, A.W., *F. Z. Anal. Chem.*, 173 (1), 79-83, 1960.
189. BERSIER, P.M., *Anal. Proceedings*, 24 (2), 44-9, 1987.
190. BERSIER, P.M., BERSIER, J., *Analyst*, 114, 1531-44, 1989.
191. WEISS, F.T., Determination of Organic Compounds - Methods and Procedures. in ELVING, P.J., KOLTHOFF, I.M. (eds), *Chemical Analysis*, V. 32, Wiley-Interscience, New York, 1970.
192. MITCHELL, J.Jr., SMITH, D.M., BRYANT, W.M.D., *J. Am. Chem. Soc.*, 63 (2), 573-4, 1941.
193. CASTIGLIONI, A., *Z. Anal. Chem.*, 119, 287-90, 1940.
194. ROGERS, H.R., *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 13, 238-40, 1941.
195. TOLLENS, B., *Ber*, 15, 1828-30, 1882.

196. SIEGEL, H., WEISS, F.T., *Anal. Chem.*, 26 (5), 917-9, 1954.
197. RIPPER, M., *Monatsch.*, 21, 1079-80, 1900
198. NIOSH, *Manual of Analytical Methods*, 2nd ed., V. 1, p.235, Cincinnati, 1977.
199. SEYEWETZ, A., GIBELLO, *Bull. Soc. Chim. France*, 31, 691-4, 1904.
200. SIGGIA, S., MAXCY, W., *Anal. Chem.*, 19 (12), 1023-5, 1947.
201. SPRUNG, M.M., *Chem. Rev.*, 26 (3), 297-335, 1940.
202. LAYER, R.M., *Chem. Rev.*, 63, 489-510, 1963.
203. BARRET, E., LAPWORTH, A., *J. Chem. Soc*, 93 (1), 85-93, 1908.
204. OLANDER, A., *Z. Phys. Chem.*, 129 (1-2), 1-32, 1927.
205. CONANT, J.G., BARLLETT, P.D., *J. Am. Chem. Soc.*, 54 (7), 2881-99, 1932.

206. REEVES, R.L., Condensations Leading to Double Bonds. in ZABICKY, J. (ed), *The Chemistry of the Carbonyl Compounds*, V. 1, pp. 567-619, Interscience Pub., London, 1970.
207. DAYAGI, S., Methods of Formation of the Carbon-Nitrogen Double Bond. in PATAI, S. (ed), *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double*, pp. 63-147, Interscience Pub., London, 1970.
208. WAGNER, E.C., *J. Org. Chem.*, 19 (12), 1862-81, 1954.
209. ANGYAL, S.J., BARLIN, G.B., WAILES, P.C., *J. Chem. Soc.*, 3512, 1951.
210. CAMPBELL, K.N., SOMMERS, H., CAMPBELL, B.K., *J. Am. Chem. Soc.*, 66 (1), 82-4, 1944.
211. ZUMAN, P., Some Techniques in Organic Polarography. in REILLEY, C.N. (ed), *Organic Polarography in Advances in Analytical and Instrumentation*, V. 2, pp. 219-53, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1963.
212. LUND, H., *Talanta*, 12, 1065-79, 1965.
213. LUND, H., *Acta Chem. Scand.*, 13 (2), 249-67, 1959.

214. LUND, H., Electrochemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond in PATAI, S. (ed), *The Chemistry of the Carbon-Nitrogen Double Bond*, pp. 506-63, Interscience Pub., London, 1970.
215. PASTERNAK, R., *Helv. Chim. Acta*, 31 (3), 753-76, 1948.
216. WALKER, F., *J. Phys. Chem.*, 35 (4), 1104-13, 1931.