



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 10 2012 012197-2 A2

(22) Data de Depósito: 22/05/2012

(43) Data da Publicação: 29/04/2014

(RPI 2260)



* B R 1 0 2 0 1 2 0 1 2 1 9 7 A 2 *

(51) Int.Cl.:

C07C 45/78

B01J 20/32

G01N 33/22

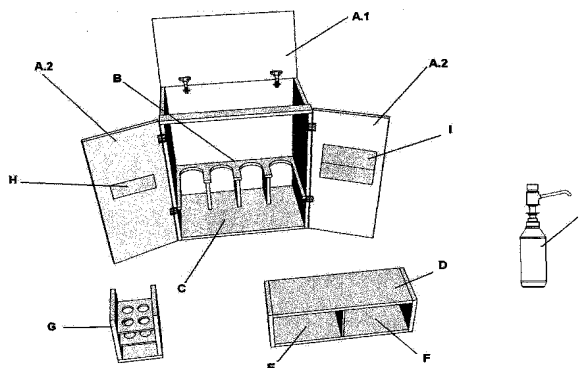
G01N 33/30

(54) Título: MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF EM DIVERSOS VEÍCULOS, REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO EM MATRIZES SÓLIDAS, PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DESSE REAGENTE, MÉTODO DE DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE AMOSTRAS BASEADO NA UTILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF ESTABILIZADO, KIT PARA A DETERMINAÇÃO ESPECIALMENTE DE METANOL E FORMOL EM PRODUTOS COMERCIAIS E SUAS APLICAÇÕES

(73) Titular(es): Fundação Universidade de Brasília

(72) Inventor(es): Guilherme Bandeira Candido Martins, Paulo Anselmo Ziani Suarez

(57) Resumo: MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF EM DIVERSOS VEÍCULOS, REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADA EM MATRIZES SÓLIDAS, PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DESSE REAGENTE, MÉTODO DE DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE AMOSTRAS BASEADO NA UTILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF ESTABILIZADO, KIT PARA A DETERMINAÇÃO ESPECIALMENTE DE METANOL E FORMOL EM PRODUTOS COMERCIAIS E SUAS APLICAÇÕES. A presente invenção refere-se a um método de estabilização do Reagente de Schiff em diversos veículos (líquidos ou sólidos), úteis na determinação colorimétrica da presença ou não de compostos específicos em uma amostra, sobretudo aldeídos e alcoóis. A obtenção desse reagente estabilizado, principalmente os imobilizados em matrizes sólidas, como óxidos de metais e não metais, materiais celulósicos e polímeros, permitem a realização de análises em campo ou locais de interesse, além de facilitar operacionalmente as análises por usuários comuns ou em metodologias que já utilizam esse reagente preparado de forma convencional. Outro aspecto aborda o desenvolvimento de um método de análise colorimétrica qualitativo e semi-quantitativo desses compostos, e de um kit para determinação analítica em campo, especialmente de metanol e/ou formol, em produtos comerciais, como combustíveis, solventes líquidos e bebidas alcoólicas, bem como a análise de formol em produtos de limpeza, cosméticos e de higiene pessoal e saneantes, e ainda, suas aplicações.



MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF EM DIVERSOS VEÍCULOS, REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO EM MATRIZES SÓLIDAS, PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DESSE REAGENTE, MÉTODO DE DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE AMOSTRAS BASEADO NA UTILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF ESTABILIZADO, KIT PARA A DETERMINAÇÃO ESPECIALMENTE DE METANOL E FORMOL EM PRODUTOS COMERCIAIS E SUAS APLICAÇÕES

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a um método de estabilização do Reagente de Schiff em diversos veículos, preservando suas características utilizadas em técnicas de determinação analítica, especialmente em determinação colorimétrica da presença ou não de compostos específicos em uma dada amostra, sobretudo aldeídos e alcoóis. A obtenção desse reagente analítico estabilizado em forma líquida ou sólida permite a realização de análises em campo, além de facilitar operacionalmente as análises que já utilizam esse reagente preparado de forma convencional, sendo objetos da presente invenção o Reagente de Schiff estabilizado, principalmente imobilizado em matrizes sólidas e seu processo de impregnação em diferentes substratos, por exemplo, óxidos de metais e não metais, materiais celulósicos, polímeros, entre outros.

Outro aspecto da invenção envolve o desenvolvimento de um método de determinação analítica de amostras baseado na utilização de pelo menos um Reagente de Schiff proposto, sobretudo na determinação de alcoóis e aldeídos.

Em uma de suas modalidades, a presente invenção proporciona a elaboração de um kit portátil contendo reagentes e materiais capazes de determinar colorimetricamente, mediante instruções, a presença e/ou e viabilizar a quantificação de aldeídos e alcoóis, especialmente metanol em produtos comerciais, tais como, combustíveis líquidos e bebidas alcoólicas, bem como de formol em produtos, tais como cosméticos, produtos de limpeza e higiene pessoal. A aplicação do kit permite análise em campo ou em locais de interesse, como por exemplo, postos de gasolina, ou ainda, análises qualitativas e/ou semi-quantitativas de amostras desses produtos comerciais suspeitas de contaminação de metanol e/ou formol, no local de venda ou análise prévia ao consumo ou no controle de qualidade principalmente na distribuição de solventes líquidos e combustíveis. Um dos objetivos da presente

invenção visa de modo fácil e rápido, indicar em campo a presença ou não de metanol e/ou formol em produtos comercialmente distribuídos, evitando o custo com análises especializadas, demoradas e dispendiosas, as quais são realizadas apenas em laboratórios, também facilitando a forma de analisar as amostras, de modo a dispensar mão de obra especializada.

Embora o Reagente de Schiff seja conhecido para detecção qualitativa de aldeídos e detecção seletiva de metanol em etanol mediante oxidação prévia, a metodologia analítica desenvolvida é aplicável para uma grande abrangência de amostras. Essas amostras são constituídas por produtos comerciais, principalmente onde o metanol ou o formol são considerados ingredientes adulterantes ou contaminantes, prejudiciais à saúde dos consumidores, sendo que os métodos específicos de detecção desenvolvidos utilizando o Reagente de Schiff em solução ou suportado em materiais sólidos visa facilitar seu manuseio e melhorar sua estabilidade. Além disso, estes métodos de análise, incluindo o Kit e o uso de pelo menos um dos Reagentes de Schiff propostos, permitem a identificação da presença ou não dos ingredientes específicos com a finalidade de verificação do enquadramento do produto analisado frente a particularidades legais (especificações exigidas) e de práticas de controle de serviços/produtos em fornecimento e/ou distribuição e/ou compra/venda do produto comercial de interesse, e ainda, se estendendo ao uso em práticas de análise convencionais onde este reagente já é utilizado, como por exemplo em testes analíticos orgânicos e aplicação como corante ou agente de mudança de coloração em sistemas biológicos.

ESTADO DA TÉCNICA

Os combustíveis líquidos utilizados em motores a combustão interna, tais como álcool hidratado e gasolina são passíveis de adulteração com metanol. O primeiro é na sua totalidade constituído por etanol 96% e o segundo possui entre 20 a 25% de etanol anidro em sua composição. Devido ao menor preço de mercado do metanol em relação ao etanol e às similaridades físico-químicas entre os mesmos, a adulteração vem sendo praticada de forma alarmante, por exemplo, chegando a 100% no caso do álcool hidratado. A Agência Nacional do Petróleo (ANP), de acordo com a resolução ANP nº 7, de 09 de fevereiro de 2011 (DOU 10 de fevereiro de 2011-e retificada pelo DOU 14 de abril de 2011), define como quantidade limite de metanol presente em etanol anidro ou hidratado a alíquota de 1%, sendo a única

análise regulamentada a cromatografia gasosa, que é uma técnica pouco viável para se executar no ato do recebimento da carga de combustível nos postos. Como a ANP considera o etanol um combustível regulamentado para uso, ela adota a adição de etanol anidro em gasolina, porém adições de metanol à gasolina também podem ocorrer, promovendo sua adulteração, o que remove este combustível da especificação exigida, sendo isto um problema já experimentado em postos de combustíveis. Além de não ser normatizado pela ANP como combustível, o metanol é tóxico à saúde humana, podendo acarretar vários males desde problemas no fígado e na visão, ocasionando até mesmo a morte. Portanto, bebidas alcoólicas contendo metanol são altamente tóxicas, sendo necessário o monitoramento em relação à presença de metanol em bebidas.

O formol, sempre foi empregado em diversos produtos comerciais de higiene pessoal e limpeza com a finalidade de conservante e desinfetante. Além de ser utilizado em produtos cosméticos e em salões de beleza, principalmente para finalidades de alisamento de fios de cabelo. Recentemente a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) proibiu a utilização deste em saneantes de acordo com a Resolução-RDC nº 35, publicada em 3 de junho de 2008, bem como restringiu sua comercialização de acordo com a resolução-RDC nº 36, publicada em 17 de junho de 2009. A ANVISA também proibiu e fez ressalvas acerca do uso de formol em tratamentos de embelezamento em vista de apresentar diversos efeitos colaterais, como por exemplo, danos físicos e mal-estar dos usuários. Adicionalmente, é de conhecimento que o formol possui comprovado efeito carcinogênico, motivo pelo qual se fundamentou as alterações na legislação quanto ao seu uso em diferentes produtos comerciais.

Devido à similaridade das propriedades entre os alcoóis metílico e etílico, se faz necessário o uso de técnicas espectroscópicas ou cromatográficas para a identificação de ambos em uma amostra. Uma técnica amplamente utilizada é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE, ou HPLC, sigla em inglês). Um exemplo de aplicação desta metodologia foi descrito para detectar e quantificar metanol em um sistema contendo etanol e água (Chen, S. H., *et al. J. Chromatogr. A.*, **1998**, 799, 93). Recentemente, foi relatado um método para quantificar metanol em misturas contendo etanol e água, utilizando a técnica de Infravermelho (Carneiro, H. S. P., *et al. Energy & Fuels*, **2008**, 22, 2767). Ambas as metodologias são

precisas para a detecção e determinação da mistura etanol/metanol, porém necessitam de equipamentos específicos, sendo que o aparelho de cromatografia em especial é dispendioso de se manter e ambos necessitam de técnicos capacitados para a sua operação. Estas técnicas são realizadas em laboratórios com infraestrutura especializada, não sendo vantajosa sua aplicação em campo, ou seja, em locais sem a devida infraestrutura laboratorial, como os encontrados naqueles onde se comercializam estes produtos, como por exemplo, postos de gasolina, distribuidores de bebidas alcoólicas gaseificadas ou não, pontos de carregamento/descarga de mercadorias, salões de beleza ou outros locais de interesse. Atualmente, existem equipamentos de pequeno porte para análises espectroscópicas e cromatográficas em campo, como pequenos equipamentos de infravermelho. No entanto, eles exigem técnicos especializados para a sua operação, além de apresentarem custos altos de manutenção e de conservação, motivos pelos quais não são muito difundidos.

No intuito de superar estas dificuldades, se faz necessário o emprego de uma técnica mais simples, sem o uso de equipamentos sofisticados (espectroscópicos ou cromatográficos) e que gere resultados rapidamente e com interpretação simples, com reprodutibilidade e eficiência, como por exemplo, métodos colorimétricos, sendo um dos objetivos da presente invenção.

Técnicas de bancada para análise de metanol em etanol direcionada para bebidas alcoólicas foram desenvolvidas no início do Século XX. Anteriormente, diversos métodos foram realizados, porém, eram métodos pouco seletivos e muito suscetíveis a falsos positivos, além de utilizar metodologias complexas e reagentes restritos, como por exemplo, alcalóides. A metodologia que emprega o Reagente de Schiff modificado, posteriormente aprimorada por R. M. Chapin, foi na época a técnica mais robusta e seletiva frente a interferentes, para a detecção, tanto qualitativa quanto quantitativa, de metanol em etanol (Deniges, G., *Compt. rend.*, **1910**, 150, 832; Chapin, R. M., *J. Ind. Eng. Chem.*, **1921**, 13, 543).

Os métodos apropriados para análise de metanol em etanol foram discutidos e utilizam o método modificado por R. M. Chapin para detecção de metanol, porém restringindo seu campo de pesquisas a bebidas alcoólicas, o qual ele listou uma série de interferentes no procedimento (Georgia, F. R., *et. al. Ind. Eng. Chem.*, **1926**, 18, 304). Posteriormente, foi editada a norma ISO 1388/8-**1981** (E) utilizando uma

simplificação do método modificado por R. M. Chapin para a determinação de metanol em etanol para uso industrial, utilizando análise colorimétrica. Porém, a norma não se expande para outros tipos de amostras, como por exemplo, combustíveis e bebidas, além disso, sua faixa de detecção se limita a
5 contaminações de 0,10 a 1,50% de metanol na amostra. A norma também utiliza demasiadas diluições no preparo das amostras, além de não alertar para possíveis problemas ocasionados pela forma como o Reagente de Schiff deve ser armazenado. Desta forma, os métodos de bancada citados anteriormente são de fundamentação muito técnica, de modo que necessitam de no mínimo um técnico
10 especializado para a aplicação da técnica, bem como de uma infraestrutura laboratorial adequada para a execução da mesma.

Diversos trabalhos foram publicados utilizando a metodologia do Reagente de Schiff para a detecção de metanol (MeOH) em bebidas, como por exemplo, o método colorimétrico descrito para determinação de MeOH em bebidas alcoólicas e
15 vodca, com base na oxidação de metanol para formaldeído com permanganato de potássio (KMnO_4), na presença de ácido sulfúrico (H_2SO_4); o permanganato adicionado em excesso é, em seguida, descorado com ácido oxálico (HOOCCOOH), e o formaldeído (CH_2O) formado é tratado com o Reagente de Schiff para dar um complexo azul-cinza, que é quantificado por fotoeletrocolorimetria em 582 nm. O
20 método é preciso, confiável e requer 1 mL das bebidas (Filatova, T. *et al. Fermentnaya i Spirtovaya Promyshlennost*, **1982**, 7, 13). Em outro trabalho, relacionado à determinação de metanol em bebidas, foi empregado o método de identificação indireta de metanol via oxidação prévia para formaldeído, a análise foi realizada utilizando o ácido cromotrópico (Skapska, S. *et al. Przemysl Fermentacyjny i Owocowo-Warzywny*, **1998**, 42, 41). Na mesma linha dos artigos já citados, um
25 trabalho bastante abrangente foi realizado para a determinação de metanol em mostos, vinhos, destilados e frutas empregando quatro procedimentos diferentes, esse trabalho traz uma vasta avaliação crítica de métodos para a detecção de MeOH por colorimetria com o Reagente de Schiff, colorimetria com ácido cromotrópico e por polarografia (Tuszynski, T., *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, **1989**, 22, 110). É importante notar que a literatura não faz
30 referência especificamente para análise de cachaça e cerveja, ressaltando-se que o método de determinação analítica de amostras baseado na utilização de pelo menos

um Reagente de Schiff proposto (reagente estabilizado) e o kit para a determinação de alcoóis, principalmente metanol, propostos na presente invenção, quando aplicados a estes produtos apresentaram resultados bastante promissores em termos de confiabilidade.

- 5 Com relação a processos patentários relacionados ao uso do Reagente de Schiff de forma estável ou na sua utilização na confecção de kits para análise de alcoóis e aldeídos, os exemplos a serem citados são:

US20030220191 apresenta um Reagente de Schiff modificado que é estável à temperatura ambiente para determinação de aldeídos em amostras biológicas. O
10 reagente compreende metabissulfito de potássio, acetato de *p*-rosanilina e ácido clorídrico (HCl). O metabissulfito de potássio e acetato de *p*-rosanilina estão presentes no reagente em quantidades iguais, sendo que o pH do reagente varia entre cerca de 1,2 a cerca de 2,7. A estabilidade do Reagente de Schiff descrito é diferente da apresentada na presente invenção.

- 15 US200607360 descreve um kit consistindo basicamente do Reagente de Schiff para detecção de aldeídos em amostras biológicas, tais como urina e sangue.

Cabe salientar que não há registro de kits portáteis para análise de metanol em produtos comerciais em geral, sobretudo combustíveis e bebidas, como tampouco para análise da presença de formaldeído em produtos comerciais,
20 incluindo cosméticos, produtos de limpeza e higiene pessoal e produtos saneantes.

Atualmente, o uso do Reagente de Schiff está focado para testes analíticos orgânicos para detecção de aldeídos e aplicação como corante em sistemas biológicos. Recentemente, o Reagente de Schiff foi impregnado em vidro poroso e esse material foi utilizado para detectar a presença de aldeídos na atmosfera. Na
25 literatura revisada, nenhum material foi impregnado com o intuito de detectar a presença de aldeídos em produtos comerciais (Maruo, Y. Y., *et al.* em *Sensors and Actuators B*, **2008**, 129, 544), como proposto na presente invenção.

Embora a literatura reúna uma gama de técnicas espectroscópicas ou cromatográficas para a identificação de metanol e formol em diferentes amostras,
30 acredita-se que as mesmas não se aplicam para análise em campo, pois necessitam de equipamentos caros e são realizadas apenas em laboratórios, com a necessidade de mão de obra especializada, demandando tempo para obtenção dos

resultados, mesmo que sejam apenas qualitativos. Assim, a presente invenção visa um método que permita, de modo fácil e rápido, indicar especialmente a presença ou não de metanol e/ou formol em produtos comerciais em atendimento a especificações exigidas ou em práticas de controle de serviços/produtos em estágio de fornecimento e/ou distribuição e/ou compra/venda, evitando o custo associado à realização de análises especializadas.

Acredita-se que a falta ou a não difusão de práticas de análise colorimétrica de alcoóis e aldeídos, especificamente de metanol e formol, baseada no emprego do Reagente de Schiff e para execução em campo, e ainda, de ampla abrangência de aplicação (produtos comerciais em geral), se deve principalmente à questão da estabilidade desse reagente. É de conhecimento da técnica que este reagente é instável com o tempo, devido à perda por evaporação de SO_2 . Sabe-se que a estabilidade das variantes do Reagente de Schiff é diretamente afetada pela perda de SO_2 do mesmo. Quando essa perda é grande e, a uma taxa rápida, a estabilidade do reagente diminui, até que se deteriora, perdendo sua propriedade reativa de interesse analítica, limitando os fatores de precisão, confiabilidade ou reprodutibilidade quanto ao seu uso, especialmente na confecção de kits de análise ou kits portáteis de análise de alcoóis e aldeídos. Consequentemente, vários métodos têm sido utilizados para prevenir a perda de SO_2 e aumentar a estabilidade desse reagente com o tempo. Alguns exemplos são: métodos que envolvem o armazenamento do reagente num frasco rolhado e, a uma temperatura baixa; ou envolvem a minimização da evaporação do SO_2 por cobrir a superfície do reagente, como por exemplo, com xileno ou óleo mineral.

Para evitar estes problemas e o uso de outros insumos para estocagem desse reagente (aumento de custo e possibilidade de contaminação do mesmo) uma prática laboratorial bastante utilizada é a preparação periódica da solução de Reagente de Schiff, que é mantida sob refrigeração em períodos relativamente curtos (alguns dias). Entretanto, essa prática apresenta limitações técnicas operacionais, ligadas principalmente aos equipamentos necessários e requerendo mão de obra qualificada, já que depende de decisão da viabilidade de uso do reagente estocado e de sua preparação de forma adequada para a execução do ensaio analítico pretendido.

Todos estes métodos têm contribuído para o controle da perda de SO_2 . No

entanto, há ainda uma necessidade de manter o nível de SO_2 no Reagente de Schiff e, assim, a estabilidade ou as propriedades reacionais desse reagente durante um período de tempo considerável.

5 A presente invenção satisfaz esta necessidade e resolve os problemas mencionados anteriormente, proporcionando um reagente sensível, que é estável durante um período de tempo substancial para análises precisas e confiáveis, onde sua durabilidade é aumentada consideravelmente.

10 No presente invento foi realizado um aperfeiçoamento na forma de estocagem do Reagente de Schiff, evitando a perda de SO_2 , sendo estabilizado em diversos veículos na forma líquida (como por exemplo, em solução aquosa, devidamente acondicionada em recipientes sem espaços livres ou de vacância) ou sólida (como por exemplo, impregnado em matrizes sólidas que permitam sua atividade (indicativa de cor para a presença de alcoóis ou aldeídos, principalmente metanol ou de formol), exemplificadas por material celulósico (por exemplo, o papel), vidro, 15 polímeros orgânicos (por exemplo, um polissacarídeo como o amido) e óxidos de metais e não metais (por exemplo, óxido de alumínio (Al_2O_3) ou simplesmente alumina; óxido de silício ou sílica). Nestes casos, estudos demonstram, também, que como cuidado adicional, se recomenda evitar a exposição de luz para prevenir reações de decomposições, tendo em vista a manutenção da atividade do reagente. 20 Isto permite uma durabilidade do Reagente de Schiff proposto em tempos superiores a 2 meses. De uma forma geral, a forma de produção e armazenagem desses reagentes são de maior relevância neste sentido, devendo ser embalados (sólidos) ou envazados (líquidos) em recipientes fechados sem espaço vacante. Para o caso de soluções desses reagente, há a possibilidade de uso em dose única, contribuindo 25 ainda mais na questão de praticidade operacional aplicável a qualquer usuário.

A eliminação de espaços de vacância se estende às metodologias propostas baseadas na utilização de pelo menos um dos Reagentes de Schiff estabilizados e suas aplicações, sendo ainda, considerada como etapa final do método de impregnação desse reagente em matrizes sólidas, incluindo práticas simples como 30 acondicionamento das fitas ou placas do reagente sólido em filmes plásticos.

Dessa forma destacam-se como principais vantagens dos objetos da presente invenção:

- teste qualitativo confiável para a detecção de aldeídos e alcoóis, principalmente formol e metanol, em uma gama considerável de produtos comerciais, especialmente combustíveis e solventes líquidos, bebidas alcoólicas gaseificadas ou não, cosméticos, limpeza pessoal e produtos saneantes;

5 - possibilidade de detecção com precisão da presença de metanol em amostras com variações de quantidade desde 0 até 100%, principalmente para amostras líquidas;

10 - teste semi-quantitativo confiável para a detecção conforme apresentada para o teste qualitativo, mediante técnicas e instrumentação já conhecidos, utilizando comparação com soluções padrões conhecidas e de acordo com o ingrediente a ser testado;

- disponibilização de diferentes formas de apresentação de Reagente de Schiff estabilizado em fase sólida: fitas de papel, pó, gel, entre outros;

15 - possibilidade de emprego de Reagente de Schiff em solução e impregnado em matrizes sólidas sem a necessidade de estocagem sob refrigeração;

- aplicável a uma elevada gama de produtos comerciais, onde principalmente o metanol e/ou o formol são considerados ingredientes adulterantes ou contaminantes ou prejudiciais à saúde dos consumidores;

20 - produtos e metodologias de detecção em campo, viabilizando o emprego de Reagente de Schiff de forma estável em períodos de tempo considerável (acima de 2 meses);

25 - sistemática de difusão de análise qualitativa e/ou semi-quantitativa em campo de forma prática e confiável por qualquer usuário, empregando metodologias baseada no uso de Reagente de Schiff já estabelecidas pela técnica, sobretudo aquelas que envolvem a diluição da amostra em água (produto a ser analisado);

- possibilidade de utilização de recarga e/ou refil dos reagentes analíticos que compõem o kit portátil, principalmente para o caso do Reagente de Schiff estabilizado em solução;

30 - possibilidade de utilização dos Reagentes de Schiff propostos em fase sólida sem contaminar a amostra durante a análise de detecção, disponibilizando a mesma para posterior uso ou outros testes a serem realizados, especialmente para o caso de

fitas de material celulósico ou papel com este reagente impregnado;

- possibilidade do uso do Reagente de Schiff imobilizado em sílica gel, que apresenta as mesmas funcionalidades do vidro, mas sendo uma opção mais econômica;

- 5 - possibilidade do uso dos Reagentes de Schiff propostos, sobretudo os impregnados em matrizes sólidas, em práticas de análise convencionais onde este reagente já é utilizado, como por exemplo, testes analíticos orgânicos, verificação de contaminantes na atmosfera e uso como corante ou agente de mudança de coloração em sistemas biológicos.

10 **DESCRIÇÃO SUCINTA DAS FIGURAS**

A invenção poderá ser melhor compreendida com base nas Figuras de 1 a 8, cuja descrição segue abaixo:

Figura 1: Exemplo do kit da presente invenção em vista em perspectiva frontal em: **(a)** representação esquemática e **(b)** fotografia, onde: **(A)** tampa(s), sendo **(A.1)** uma tampa rebatível disposta no lado superior ao estojo e **(A.2)** na lateral frontal ao mesmo; **(B)** o espaço para acomodar os frascos contendo as soluções para análise, os quais são acoplados a um dispensador, representado por **(J)**; **(C)** representa o espaço para encaixar o elemento **(D)**; **(D)** é uma gaveta removível com os compartimentos **(E e F)**; **(E)** espaço para encaixar o elemento **(G)**; **(F)** espaço para acomodar os frascos contendo o Reagente de Schiff estabilizado em forma líquida ou sólida da presente invenção; **(G)** estante para os tubos de ensaio; **(H)** espaço para acomodar o pipetador; **(I)** espaço para acomodar o(s) manual(is) do kit e as ponteiros do pipetador; e **(J)** um frasco acoplado com dispensador.

Figura 2: Representação do teste qualitativo para metanol em álcool etílico 95% comercial utilizando contaminações de 0, 10, 25, 50, 75 e 100%, respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração azulviolácea.

Figura 3: Representação do teste qualitativo para metanol em álcool hidratado de posto de gasolina, utilizando contaminações de 0, 10, 25, 50, 75 e 100% respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração azulviolácea.

Figura 4: Representação do teste qualitativo para metanol em gasolina comercial, utilizando contaminações de 0 e 50% respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração azulviolácea.

Figura 5: Representação do teste qualitativo para metanol em cachaça comercial, utilizando contaminações de 0, 1, 5, 15 e 30% respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração azulviolácea.

Figura 6: Representação do teste qualitativo para metanol em cerveja comercial, utilizando contaminações de 0, 1, 2 e 5% respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração azulviolácea.

Figura 7: Representação do teste qualitativo para formol em xampu comercial para lavagem de cabelo, utilizando contaminações de 0, 1, 2 e 5% respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração violácea.

Figura 8: Representação do teste qualitativo para formol em detergente comercial para limpeza geral, utilizando contaminações de 0, 1, 2 e 5% respectivamente representados da esquerda para direita, junto com o aumento da coloração violácea.

DESCRIÇÃO DA INVENÇÃO

A presente invenção está relacionada ao desenvolvimento de um método de estabilização do Reagente de Schiff em diversos veículos na obtenção desse reagente estabilizado em fase líquida ou sólida, mantendo suas características de agente de mudança de cor, quando na presença de compostos específicos, as quais são aproveitadas para ensaios analíticos de detecção colorimétrica de aldeídos e alcoóis em diferentes tipos de amostras.

A formação do Reagente de Schiff resulta da reação de um corante específico com sulfito em meio ácido. O precursor do Reagente de Schiff é um corante, pertencente à classe das fucsinas básicas, denominado *p*-rosanilina. A *p*-rosanilina hidrocloreídrica em estado aquoso e em meio ácido, gera um carbocátion terciário central, estabilizado por um íon cloreto, conjugando os sistemas aromáticos ligados a ele gerando absorção no visível em torno de 539 nm, e assim, fornecendo um tom rosáceo a solução (Gibson, L.T, *et.al. Analytica Chimica Acta*, 623, **2008**, 110). Para

a formação do Reagente de Schiff a *p*-rosanilina reage com sulfito em meio ácido. Os prótons se inserem nos grupos amina e o sulfito se liga ao carbono central. A ligação efetiva do carbocátion central com o sulfito promove a quebra da conjugação do sistema, de modo que o reagente não absorve mais no visível, ficando incolor.

- 5 Quando o Reagente de Schiff reage com o aldeído presente em solução, o sulfito ligado ao carbono central volta para solução regenerando o carbocátion central, restabelecendo a conjugação do sistema e concomitante absorção no visível. Porém, devido à presença de grupos aminossulfônicos, formados em grupos amina do reagente durante a reação, o comprimento de onda em que é absorvido se desloca
10 para aproximadamente 588 nm, gerando uma nova cor na solução de tom púrpura, relacionada à presença de aldeído na amostra.

- A oxidação para identificação de metanol em etanol é realizada em duas etapas. Primeiramente se ajusta a quantidade de amostra para 5%, diluindo em água, em vista do ideal permitido de álcool na análise (Chapin, R. M., *J. Ind. Eng. Chem.*, 1921, 13, 543). A primeira etapa consiste na oxidação dos alcoóis presentes
15 para aldeídos, utilizando permanganato de potássio (KMnO_4). Nessa etapa, além dos aldeídos é formado óxido de manganês (MnO_2), um sólido marrom que fica em suspensão na solução. Na segunda etapa é utilizado uma solução de ácido oxálico (HOOC-COOH) e ácido sulfúrico (H_2SO_4), para aumentar a acidez do meio e
20 transformar o MnO_2 no íon Mn^{2+} , incolor em solução. Finalmente, adiciona-se o Reagente de Schiff e verifica-se a cor formada.

- Em ambos os casos (determinação de aldeídos e alcoóis) o excesso de ácido na amostra prejudica a formação do aduto colorido com o aldeído. A falta e o excesso de sulfito em solução também interferem na formação do aduto. Reações
25 paralelas de adição de sulfito aos aldeídos presentes em solução também influenciam no processo. O sistema não se estabiliza devido às reações paralelas, à perda constante do aldeído, geralmente volátil, e à volatilização de SO_2 , de modo que a temperatura influencia muito no sistema.

- Na presente invenção, o Reagente de Schiff, devido à perda de SO_2 , deve ser
30 mantido de preferência resfriado e em recipiente fechado sem espaço vacante. Também, como cuidado adicional, se recomenda evitar a exposição de luz para prevenir reações de decomposições, tendo em vista a manutenção da atividade

deste reagente.

De forma geral, o método de estabilização do Reagente de Schiff em diversos veículos líquidos ou sólidos compreende as etapas de:

- a) Preparar uma solução homogênea do Reagente de Schiff pela mistura em proporção em massa dos seus constituintes representados por: uma fúcsina básica (faixa em torno de 0,02 a cerca de 0,9%), uma fonte de sulfito (faixa em torno de 0,05 a cerca de 1,8%) e um ácido;
- b) Envasar a solução em embalagens ou recipientes apropriados, sem espaços de vacância; ou
- c) Colocar a solução obtida na etapa a em contato com matrizes ou substratos sólidos por um período e posteriormente secá-los.

A preparação da solução de Reagente de Schiff (**etapa a**) é feita segundo técnicas já estabelecidas, pela mistura das respectivas soluções de seus componentes precursores. Os componentes do Reagente de Schiff utilizado foram: uma fúcsina básica, preferencialmente a *p*-rosalina; - uma fonte de sulfito selecionada entre metabissulfito de sódio, dióxido de enxofre, ácido sulforoso, entre outros, sendo preferido o metabissulfito de sódio; e - um ácido mineral selecionado entre ácido sulfúrico, ácido clorídrico, entre outros, sendo preferido o ácido sulfúrico.

Em fase líquida, por exemplo, solução aquosa, a estabilização do reagente é feita mediante as **etapas a e b**, resultando em produtos prontos para o uso.

Em fase sólida, os produtos obtidos (Reagente de Schiff imobilizado) resultam da aplicação das **etapas a e c**. A impregnação (**etapa c**) depende de fatores ligados ao tipo de matriz ou substrato sólido utilizado na obtenção de fitas, placas, pós, géis, entre outros. As matrizes sólidas utilizadas devem apresentar as características desejáveis de: não reagir com o Reagente de Schiff, suportá-lo em sua superfície sem modificar sua reatividade e não apresentar cores que interfiram na análise colorimétrica, antes e depois da adição do Reagente de Schiff. São exemplos de matrizes sólidas: - óxidos de metais e não metais (sílica, alumina, etc), - materiais celulósicos (papel e seus derivados, entre outros), - polímeros (plásticos entre outros).

Neste caso, a secagem é realizada por técnicas já estabelecidas, sendo necessário o controle da temperatura (preferencialmente menores que 20 °C) por

questões de estabilidade do reagente, principalmente, evitar perdas de SO_2 . A escolha do processo de secagem também depende do tipo de matriz sólida obtida e de sua forma de apresentação (fita, placa, pó, gel, etc).

5 Ainda para a fase sólida, a estabilização do reagente é complementada pela utilização de embalagens sem espaços de vacância.

Este método de estabilização também é considerado como um método de preparação do Reagente de Schiff, no qual são incluídas etapas de estocagem com restrições específicas, sendo utilizado qualquer tipo de embalagem ou frascos, desde que seja inerte ao reagente e que permita modelos estruturais de forma a não
10 apresentar espaços de vacância com o conteúdo em seu interior, ou seja, espaços livres ou vazios entre a solução de reagente (ou do reagente imobilizado em matrizes sólidas) e o recipiente (ou a embalagem) após sua preparação.

Esta forma de obtenção desse reagente analítico permite a disponibilização de diferentes produtos tidos como Reagente de Schiff com diferentes formas de
15 apresentação (por exemplo, solução, fita, placa, pó e gel) com durabilidade analítica estendida, possibilitando a realização de análises em campo, além de facilitar operacionalmente as análises no local pretendido ou análises que já utilizam esse reagente preparado de forma convencional (técnicas de análise colorimétrica de detecção de aldeídos ou corantes em sistemas biológicos), ampliando o leque de
20 aplicações. Estas características também permitem a confecção de kits de determinação de aldeídos e alcoóis, principalmente o formol e o metanol, com possibilidade de uso desse reagente líquido em formas de apresentação de recarga ou de refil para uso em dose única.

Nos **Exemplos**, o Reagente de Schiff estabilizado conforme proposto na
25 presente invenção, tais como em fitas de papel, pós e géis de sílica apresentaram tempos de durabilidade maiores que 2 meses. Os procedimentos complementares de estocagem como refrigeração e proteção contra luminosidade, visam aumentar ainda mais o prazo de validade desse reagente.

Outro aspecto da presente invenção refere-se ao Reagente de Schiff
30 estabilizado, obtido conforme descrito anteriormente, principalmente os imobilizados em matrizes sólidas e seu processo de impregnação. Estes reagentes imobilizados se referem a fitas, placas, bastonetes ou qualquer substrato sólido adequado, contendo

em sua superfície o Reagente de Schiff distribuído de forma homogênea, que mudam de cor na presença de aldeídos ou alcoóis, principalmente o formol e o metanol (cor violácea). Os pós e os géis também apresentam tal propriedade de detecção, sendo utilizados dessa forma ou aderidos a outros substratos para facilitar a manipulação.

- 5 Quando utilizado para análise, os reagentes impregnados interagem com o analíto, seja na superfície do material, ou migrando para a amostra, caso seja submergido na mesma, gerando cor (por exemplo, violácea para a presença e vermelha ou rósea para a ausência de metanol ou formol). Considerando ainda o reagente impregnado, na ausência do analíto não é gerado cor a partir do Reagente de Schiff, exceto na
10 presença de diluição do reagente na qual são formada as cores vermelhas ou rosáceas.

- A utilização dos Reagentes de Schiff propostos em fase sólida da presente invenção, ainda possui a vantagem de não contaminar a amostra durante a análise de detecção, disponibilizando a mesma para o uso posterior ou para outros testes, muito
15 importante para o caso de amostras disponibilizadas em quantidade restrita. Isto ocorre para o caso de fitas de material celulósico, por exemplo, papel, onde a detecção também pode ser realizada gotejando a amostra sobre o mesmo e observando a alteração de sua coloração.

- O Reagente de Schiff foi impregnado de forma estável em papel e em sílica gel.
20 Os materiais resfriados mantiveram-se incolores e ativos para a detecção de aldeídos em até três meses após a confecção, quando devidamente armazenados. A utilização destes também gera testes positivos para a detecção de formol em amostras reais, utilizados no exemplo de kit de análise apresentado nas **Figuras 1a e 1b**.

- De forma geral, o processo de impregnação desse reagente em matrizes ou
25 substratos sólidos depende das propriedades intrínsecas dos materiais utilizados, resultando em produtos de detecção analítica baseado no Reagente de Schiff imobilizado, representados por fitas, placas, pós, géis, entre outros. As características desejáveis a essas matrizes ou substratos foram descritas anteriormente no método de estabilização proposto para esse reagente (**etapas a e c**). O contato da solução
30 homogênea do reagente com a matriz sólida utilizada favorece os processos de adsorção física e/ou química do mesmo em sua superfície, ressaltando que a secagem é feita preferencialmente a temperaturas inferiores a 20°C, devido a questões de estabilidade do Reagente de Schiff.

No caso de material celulósico, especialmente papel, o processo de impregnação do Reagente de Schiff compreende as etapas de:

5 A) Imergir totalmente o material celulósico de dimensões apropriadas em solução homogênea do Reagente de Schiff preparado pela mistura de uma fúcsina básica (faixa em torno de 0,02 a cerca de 0,9%), uma fonte de sulfito (faixa em torno de 0,05 a cerca de 1,8%) e um ácido mineral (faixa em torno de 0,07 a cerca de 2,2%);

B) Retirar o material celulósico do sistema anterior e promover sua secagem.

C) Armazená-lo devidamente após a secagem.

10 Os componentes do Reagente de Schiff utilizado foram: uma fúcsina básica, preferencialmente a *p*-rosalina; - uma fonte de sulfito selecionada entre metabissulfito de sódio, dióxido de enxofre, ácido sulforoso, entre outros, sendo preferido o metabissulfito de sódio; e – um ácido mineral selecionado entre ácido sulfúrico, ácido clorídrico, entre outros, sendo preferido o ácido sulfúrico. O material celulósico
15 mencionado acima se refere a qualquer substrato constituído de celulose ou um derivado, podendo ser papel novo ou reciclado, produtos manufaturados ou residuais, como aparas geradas em processos de industriais em geral.

No **Exemplo**, o material celulósico utilizado foi uma folha de papel filtro comum de 5 cm por 5 cm. A secagem foi realizada em atmosfera local, mantendo esse
20 material em repouso sob uma superfície recoberta por filme de polietileno em temperaturas não superiores a 20°C.

Para o caso de obtenção de pó e gel de matrizes sólidas representadas por óxidos de metais e não metais, especialmente sílica e alumina, e ainda, de materiais orgânicos como o amido, o processo de impregnação do Reagente de Schiff
25 compreende as etapas de:

(a) Gotejamento ou molhabilidade controlada da matriz sólida pela solução homogênea do Reagente de Schiff preparado pela mistura de uma fúcsina básica (faixa em torno de 0,02 a cerca de 0,9%), uma fonte de sulfito (faixa em torno de 0,05 a cerca de 1,8%) e um ácido mineral (faixa em torno de 0,07 a cerca de 2,2%);

30 (b) Mistura do sistema anterior até a obtenção de um gel;

(c) Opcionalmente para a obtenção de pó, realizar a secagem do material

obtido na etapa b.

Os componentes do Reagente de Schiff utilizado foram: uma fúcsina básica, preferencialmente a *p*-rosalina; - uma fonte de sulfito selecionada entre metabissulfito de sódio, dióxido de enxofre, ácido sulforoso, entre outros, sendo preferido o metabissulfito de sódio; e – um ácido mineral selecionado entre ácido sulfúrico, ácido clorídrico, entre outros, sendo preferido o ácido sulfúrico.

O termo “molhabilidade” apresentado na **etapa (a)** se refere à qualidade ou estado de ser umidificável, ou o grau a que algo pode ser umedecido. Também a capacidade de qualquer superfície sólida de ficar molhada quando em contato com um líquido, cuja tensão superficial foi reduzida, de modo que o líquido se espalha sobre a superfície do sólido. O gotejamento controlado se refere à adição de um volume suficiente para que a matriz sólida seja umedecida completamente sem excesso, possibilitando a formação de uma espécie de “gel”, e ainda facilitar o processo de secagem.

Na **etapa (a)** a matriz sólida preferencial é a sílica devido aos resultados bastante promissores de sua utilização para a detecção de aldeídos e alcoóis, tanto na forma de gel quanto de pó, em diferentes amostras. Este material também se destaca devido a questões de estabilização do Reagente de Schiff e de economia, apresentando as mesmas funcionalidades do vidro, mas sendo uma opção mais barata.

Os reagentes imobilizados em matrizes sólidas (fitas, pós, géis, etc) assim obtidos permitem a detecção colorimétrica de aldeídos, aplicáveis para a detecção de alcoóis, onde se faz necessário a oxidação prévia para aldeídos, mediante adição de solução de permanganato de potássio e de solução de oxalato à amostra.

Nos **Exemplos** o Reagente de Schiff imobilizado em amido e alumina não apresentaram bons resultados, como os apresentados para as outras matrizes sólidas. Acredita-se que este processo não funciona bem para estes substratos, necessitando de ajustes. Isto reforça o conceito de que o processo de impregnação é dependente do tipo de matriz sólida utilizada.

Outro aspecto da presente invenção está relacionado a um método de determinação analítica de amostras baseado na utilização do Reagente de Schiff preparado conforme mencionado no método de estabilização desse reagente em

diversos veículos (líquidos ou sólidos) ou na obtenção desse reagente imobilizado em matrizes sólidas descritos anteriormente.

De forma geral, trata-se de um método qualitativo colorimétrico para detecção de alcoóis e aldeídos. Para alcoóis, o método consiste na diluição da amostra e oxidação dos alcoóis presentes mediante duas etapas, utilizando na primeira um agente oxidante, permanganato de potássio (KMnO_4) na presença de ácido fosfórico (H_3PO_4), e na segunda etapa um agente acidificante, ácido oxálico (HOOCCOOH) na presença de ácido sulfúrico (H_2SO_4). Os aldeídos gerados pela oxidação dos alcoóis são detectados pela adição do Reagente de Schiff como indicador seletivo para estes compostos, gerando cor púrpura quando há metanol presente na amostra e permanecendo incolor na ausência do mesmo. No caso de aldeídos, é realizada uma diluição prévia da amostra e a detecção é realizada diretamente pela adição do Reagente de Schiff, sem a oxidação prévia, ocorrendo também uma mudança na coloração para púrpura na presença dos aldeídos. Na ausência dos mesmos não se observa alteração de cor nos primeiros minutos, sendo posteriormente formada uma cor rosácea relativa à fucsina utilizada, especialmente a *p*-rosanilina devido à decomposição do Reagente de Schiff mediante a sua diluição. A intensidade da cor púrpura formada é proporcional à quantidade de aldeído ou de álcool, especialmente metanol presente na amostra. Na diluição utilizada nas amostras é possível detectar concentrações a partir de 0,01%. Utilizando um meio controlado, mediante os reagentes utilizados e a concentração de ácido na amostra, o método também permite detectar seletivamente a presença de metanol que esteja misturado com etanol em combustíveis líquidos e bebidas alcoólicas.

Em uma de suas modalidades, a presente invenção relaciona-se à aplicação do método em amostras reais, sendo possível observar faixas de concentração, de acordo com os padrões utilizados, de 0 a 100% de metanol presente em amostra, como por exemplo, em álcool etílico p.a., álcool combustível, gasolina, cerveja e cachaça. Adicionalmente, o método também foi aplicado na detecção de formol em produtos comerciais, tais como detergente e xampu.

Vale ressaltar que o método de determinação de aldeídos e/ou alcoóis baseados na utilização do Reagente de Schiff estabilizado, assim como a elaboração e a utilização de kits para essa determinação, aqui propostos, são aplicados a qualquer tipo de amostra. As amostras preferenciais para a aplicação pretendida destacam-se

aquelas que são provenientes de produtos comerciais, referenciadas simplesmente por amostras comerciais, como por exemplo: - combustíveis líquidos (gasolina, álcool ou etanol obtido de diferentes fontes, diesel e biodiesel obtidos de diferentes fontes); solventes orgânicos; - bebidas alcoólicas gaseificadas ou não, obtidas por processos de fermentação ou destilação (cachaça, cerveja, vinho, entre outros), e incluindo 5 bebidas energéticas; - produtos cosméticos e de limpeza pessoal, incluindo produtos para limpeza e tratamento de cabelos (xampus, condicionadores, etc) e outros produtos de perfumaria e - produtos de limpeza geral e saneantes. Entende-se por produto saneante as substâncias ou preparações destinadas à higienização, 10 desinfecção ou desinfestação domiciliar, em ambientes coletivos e/ou públicos, em lugares de uso comum e no tratamento de água (<http://www.anvisa.gov.br/saneantes>, visitado em abril de **2012**). São exemplos de produtos saneantes: detergentes; alvejantes; amaciantes de tecidos; produtos antiferruginosos; ceras; desincrustantes ácidos e alcalinos; limpa móveis, plásticos, 15 pneus, vidros; polidores de sapato ou de superfícies metálicas; removedores; sabões; saponáceos e outros; desinfetantes, tais como de uso geral, para indústria alimentícia, para piscinas, para lactários, hospitalares (para superfícies fixas e para artigos semi-críticos); desinfetante de água para o consumo humano; desodorizantes, tais como desodorizante ambiental, para aparelhos sanitários e 20 outros; esterilizantes; algicidas e fungicidas para piscinas; inseticidas; raticidas; produtos destinados à jardinagem; repelentes entre outros.

Em uma de suas modalidades, a presente invenção apresenta um kit para determinação colorimétrica de aldeídos e/ou alcoóis em diferentes amostras, caracterizado por compreender pelo menos um Reagente de Schiff estável em forma 25 líquida ou sólida da presente invenção. Para a determinação de alcoóis, principalmente o metanol, este kit também é compreendido por componentes selecionados entre: um agente oxidante, um agente redutor e um agente acidificante. Sendo o agente oxidante preferido uma solução de permanganato de sódio na presença de ácido fosfórico, o agente redutor é uma solução de ácido oxálico e o agente acidificante é o ácido 30 sulfúrico. Para simplificar, estes componentes são aqui chamados de "elementos de oxidação da amostra" e são necessários para promover a oxidação prévia dos alcoóis presentes na amostra em aldeídos detectáveis pela interação com o Reagente de Schiff e descolorir a solução, facilitando a visualização das cores formadas pela adição

do Reagente de Schiff, relacionadas à mudança de cor (violácea para a presença).

Este kit para determinação também é caracterizado por compreender ainda:

(i) Um ou mais componentes complementares para a detecção, selecionados entre: água destilada ou deionizada, soluções padrões conhecidas de acordo com a análise pretendida, elementos de oxidação da amostra, além do Reagente Schiff em uma das suas formas propostas na presente invenção;

(ii) Um ou mais materiais para o preparo das amostras e das análises selecionados entre: recipiente graduado específico para condicionar a amostra a ser analisada, dispositivos coletores volumétricos e seus acessórios, tubos de ensaio ou recipientes adequados para realizar as análises pretendidas.

As soluções padrões dependem do tipo de análise pretendida, exemplificadas pelas misturas de proporções previamente conhecidas, como por exemplo, padrões de etanol/metanol/água, formol/água, entre outras, com concentrações variando entre 100 a 0% do composto de interesse (metanol ou formol). Os dispositivos coletores volumétricos e seus acessórios exemplificados se referem a um pipetador automático para coletar a amostra e ponteiras para o pipetador.

Este kit para determinação analítica também é caracterizado por ser complementado ainda com pelo menos um dos seguintes itens:

(iii) Elementos de segurança, como por exemplo, luvas para a manipulação dos reagentes;

(iv) Manual de instruções e procedimentos;

(v) Estojo portátil.

Em qualquer uma das possibilidades de constituição do kit proposto, o Reagente de Schiff estabilizado de em fase líquida ou sólida da presente invenção e os componentes complementares para a detecção (água de preferência destilada ou deionizada, uma ou mais soluções padrões, elementos de oxidação da amostra (para o caso de análise de alcoóis), entre outros) são acondicionados em recipientes ou frascos apropriados, os quais são confeccionados com materiais estruturais adequados, principalmente de materiais poliméricos ou plásticos, que não interajam com os reagentes líquidos e soluções utilizadas no kit e que possam ser disponibilizados em apresentações ou modelos que permitam facilidade de retirar

seu conteúdo de forma controlada, por exemplo: frascos com dosadores ou dispensadores (manuais ou semi-automáticos ou automáticos) de volumes fixos ou pré-estabelecidos, com possibilidades de recarga ou uso de refil. Este dosador dispensa o volume equivalente ao necessário para uma análise. Para o caso da água, preferencialmente destilada ou deionizada é utilizado um frasco com volume fixo e ajustado para o número de análises requeridas com seu respectivo dosador. Para os casos do Reagente de Schiff estabilizado, aqui propostos, são necessários ainda que os recipientes ou frascos utilizados (reagente líquido) ou embalagens utilizadas (reagente sólido) permitam a ausência de espaços livres ou de vacância conforme descrito anteriormente. As soluções de reagente estabilizado possuem ainda a possibilidade de serem disponibilizadas para uso em dose única, com volumes fixos ou pré-estabelecidos de acordo com o tipo de análise a ser realizada. Isto controla a evolução de SO_2 , bem como a integridade do reagente, além de facilitar as etapas operacionais da análise por qualquer usuário.

Ainda para as dosagens únicas, os frascos ou embalagens utilizadas apresentam possibilidades de outras variações de sua constituição, que são permitidas pelo uso de combinações de diferentes materiais já estabelecidos pela técnica para a sua confecção, por exemplo, papéis plastificados e papéis metalizados para a obtenção de recipientes ou caixinhas de diferentes formatos, saches, entre outros, visando economia e facilidade no uso, descarte e na destinação final após o consumo dessas embalagens em métodos de análise.

No manual, constam as instruções acerca do uso do reagente e informações específicas acerca da toxicidade dos reagentes, cuidados de manipulação dos reagentes e materiais, passos detalhados para realizar as análises, especificidades de amostras que devem ser levadas em consideração para aplicabilidade da metodologia de análise (por exemplo: para bebidas gaseificadas, deve-se realizar a degaseificação prévia da amostras, entre outros), maneiras de usar o Reagente de Schiff estabilizado em diversos veículos (líquidos e sólidos), como interpretar os resultados e como descartar os resíduos da análise.

Também para qualquer uma das possibilidades de constituição do kit proposto, o estojo é confeccionado com material sintético ou natural ou suas combinações, incluindo chapas de compensado. Como exemplo de materiais sintéticos destaca-se os polímeros ou os plásticos em geral, rígidos ou macios e

suas combinações, incluindo os materiais metálicos, como por exemplo, alumínio, aço inox, ligas em geral e suas combinações. Os materiais naturais são fibras vegetais, madeira e seus derivados, tais como o papel entre outros, e suas combinações.

5 O formato do estojo permite variações, por exemplo, quadrado, arredondado, oval, ovalado, etc, ou suas combinações, desde que permita o acondicionamento adequado dos itens permanentes ou consumíveis do kit, visando facilidade de manuseio e seu transporte. Dessa forma, o kit apresenta uma ou mais portas, partes estruturais que se encaixam, incluindo gavetas, formando um conjunto único, com
10 uma ou mais alças em seu exterior. A(s) alça(s) possui(em) características de ser(em): rígida, semi-rígida ou flexível, móvel ou fixa e com o formato ergonômico (proporciona a pega pelo usuário de forma mais cômoda) ou não, dispostas na parte superior e/ou nas laterais do estojo.

Outro aspecto da presente invenção está relacionado ao desenvolvimento de
15 um kit portátil para análise em campo com todos os reagentes e materiais necessários para determinação colorimétrica de aldeídos e/ou alcoóis, especialmente o metanol em produtos comerciais (especialmente combustíveis líquidos e bebidas alcoólicas, bem como a análise de formol em produtos de limpeza e higiene pessoal. O kit constitui-se dos padrões requeridos para análise de acordo com a determinação pretendida
20 (aldeídos e/ou alcoóis, principalmente formol e metanol) e os reagentes com dosadores específicos ou em doses específicas, incluindo um Reagente de Schiff estabilizado de forma líquida ou sólida da presente invenção, de modo a apenas misturá-los, mediante instruções prévias, facilitando a manipulação dos reagentes para analisar uma determinada amostra.

25 No **Exemplo 5**, um modelo de kit portátil foi apresentado (**Figuras 1.a e 1.b**), aplicado ao método de determinação analítica de amostras baseado na utilização do Reagente de Schiff estabilizado da presente invenção, aplicado especialmente para a determinação de metanol e formol de amostras comerciais mencionadas anteriormente. Este modelo é caracterizado por compreender as seguintes partes: uma
30 ou mais tampas (A), sendo pelo menos uma superior, por exemplo, uma rebatível (A.1) e/ou laterais frontais (A.2), com partes encaixáveis ou com espaço destinado à acomodação dos componentes de análise (B), selecionados entre os reagentes complementares e padrões, os quais estão anexados aos dispensadores ou outro

elemento que facilite a saída do conteúdo do frasco de forma controlada, sendo o Reagente de Schiff estabilizado e a estante de tubos ou os recipientes adequados para a análise (D) acomodados em partes que se encaixam ou em gaveta (C) com espaços separados, enquanto outros compartimentos diversos serem para colocar os demais itens constituintes, representados por um compartimento para colocar o pipetador (E), um compartimento para acomodar um ou mais manuais (F), onde (D) encaixa em (C) e (C) se encaixa pela abertura (A), formando uma única peça ou estojo, contendo pelo menos uma alça para locomoção. Neste exemplo, o material utilizado para a confecção do estojo foi chapas de compensado.

Os testes realizados para a detecção utilizaram solução aquosa de Reagente de Schiff. Outra forma para detecção de aldeídos e alcoóis oxidados para aldeídos, no kit exemplificado, são os materiais impregnados, podendo ser utilizado qualquer material impregnado pelo Reagente de Schiff, mediante adaptação da técnica, como por exemplo, o papel. Utilizando o papel, utiliza-se o pipetador automático para coletar a amostra e em seguida adiciona-se esse volume no papel, a cor formada deve ser comparada ao padrão colorimétrico presente nas instruções.

Os métodos de análise para a determinação de aldeídos e/ou alcoóis apresentados para a análise em campo (qualquer local de interesse) de amostras e empregados no kit são aplicados a temperaturas na faixa em torno de 15 a cerca de 35 °C, sendo preferível esta faixa de temperatura para evitar a decomposição dos reagentes.

O método analítico para detectar contaminação por metanol compreende as seguintes etapas:

- a. Diluir amostra a ser analisada em água no frasco de análise;
- b. Adicionar ao frasco de análise solução de agente oxidante em meio aquoso, com posterior repouso;
- c. Adicionar ao frasco de análise a solução aquosa de agente acidificante e de agente redutor em agitação até descoloração da solução obtida;
- d. Adicionar ao frasco de análise a solução aquosa do Reagente de Schiff, com posterior repouso;
- e. Comparar coloração obtida na solução com a coloração da solução de

concentração conhecida analisada pelos métodos descritos nas etapas de (a) a (d).

Na **etapa a**, a diluição da amostra é necessária apenas para o caso de detecção de metanol (por exemplo, atingindo uma concentração entre 1 e 10% v/v, preferencialmente em torno de 5%. Para o caso de aldeídos, a diluição é indicada, porém não é essencial.

Na **etapa b** a adição de solução de agente oxidante (um dos componentes dos elementos de oxidação da amostra) é permitida para qualquer concentração, sendo para o caso exemplificado de 30 g/L, onde a proporção solução de agente oxidante:solução da amostra, preferencialmente em torno de 1:2,5. Em alguns casos o tempo de repouso adequado não deve ser inferior a 10 minutos.

Na **etapa c** a adição de solução de agente acidificante e de agente redutor (demais componentes dos elementos de oxidação da amostra) é permitida para qualquer concentração, sendo para o caso exemplificado de 50 g/L. A solução de agente acidificante e de agente redutor é preferencialmente preparada pela diluição de ácido oxálico em solução ácido sulfúrico diluído em água em qualquer proporção, sendo preferencial o uso de 50% cada em relação v/v. Neste caso, a proporção preferencial de solução de agente acidificante e de agente redutor:solução obtida da **etapa b** é em torno de 1:3,5.

Nos exemplos, a solução de Reagente de Schiff utilizada foi preparada a partir da diluição em água de 3 reagentes: *p*-rosanilina, com concentrações de 0,02 - 0,9%, sendo preferenciais em torno de 0,29% m/m, bissulfito de sódio, com concentrações de 0,05 - 1,8%, sendo preferencial em torno de 0,61 % m/m, e de ácido sulfúrico, com concentrações de 0,07 - 2,2%, sendo preferencial em torno de 0,78%.

Na **etapa d** para o caso de utilizar a solução aquosa de Reagente de Schiff, sua adição é permitida para qualquer proporção com relação à solução obtida na **etapa c**, sendo preferencialmente na proporção em torno de 2,5:4,5 para os casos exemplificados. Os reagentes imobilizados propostos na presente invenção também são utilizados.

O preparo de soluções padrões contendo etanol e metanol permite concentrações variando de 100 a 0% de metanol em etanol e posterior diluição com água em qualquer proporção, preferencialmente atingindo uma proporção de 5% de

alcoóis.

Na **etapa e** se completa a determinação qualitativa de presença ou não do contaminante da amostra, por meio da observação da coloração resultante, sendo uma coloração azulviolácea nos casos de resultados positivo em relação as amostras contaminadas por metanol e ausência de cor para as amostras isentas de metanol. A comparação da coloração da solução da amostra dessa resultante, com a coloração dos padrões permite a obtenção de valores aproximados da concentração do contaminante (determinação quantitativa – **Exemplo 6**).

Este método analítico foi aplicado para amostras reais, principalmente para gasolina, etanol combustível, bebidas destiladas/fermentadas ou bebidas alcoólicas gaseificadas, abordadas a seguir.

Para análise de gasolina, é necessário um procedimento prévio de extração da fase aquosa, pela adição de água e posterior diluição da fase orgânica:

- a) Colocar uma quantidade, por exemplo, 20 mL de gasolina no recipiente graduado para amostras;
- b) Ajustar o dispensador do frasco contendo a solução de diluição para 5mL e dispensar esse volume no recipiente de amostras contendo a gasolina;
- c) Agitar a mistura vigorosamente para garantir a extração da fase aquosa da gasolina e deixar o frasco em repouso até evidenciar a separação das fases;
- d) Ajustar o dispensador do frasco contendo a solução de diluição para 4,5 mL e dispensar esse volume em um tubo de ensaio;
- e) Coletar com uma micropipeta duas alíquotas da fase aquosa (fase inferior) extraída da gasolina a ser analisada (0,50 mL) e adicionar ao tubo com a solução de diluição, agitando para uniformizar a amostra;
- f) Seguir o padrão para análise de metanol.

Para análise de bebidas alcoólicas segue-se o mesmo procedimento utilizado para álcool de posto descrito anteriormente. Bebidas gaseificadas devem ser desgaseificadas, antes da realização da **etapa a** de preferência.

Para análises de aldeídos a metodologia utilizada é semelhante à de detecção de metanol, exceto pelo fato de ser optativa a diluição da amostra e não

necessitar da etapa de adição de elementos de oxidação. Em um procedimento padrão, devem ser realizadas as seguintes etapas:

- a. Diluir a amostra a ser analisada em água, se necessário;
- b. Adicionar à solução obtida na etapa a, um Reagente de Schiff estabilizado
5 conforme proposto na presente invenção;
- c. Comparar coloração obtida na solução com a coloração da solução padrão utilizada de concentração conhecida submetida às etapas a – b.

Como exemplo, foram realizadas análises de formol a partir do kit exemplificado de acordo com o seguinte procedimento:

- 10 a) Escolher um ambiente adequado para o procedimento, com temperatura na faixa de 15 a 35 °C.
- b) Recolher em um tubo de ensaio o volume dispensado da solução de diluição.
- c) Coletar com uma micropipeta uma alíquota da amostra a ser analisada
15 e adicionar ao tubo com a solução de diluição, agitando para uniformizar a amostra.
- d) Adicionar na amostra uma dose do Reagente de Schiff e agitar, para o caso de utilizar solução aquosa desse reagente. Os reagentes imobilizados propostos na presente invenção também são utilizados;
- e) Observar a coloração formada e se necessário comparar com um
20 padrão colorimétrico.

As soluções padrão contendo aldeído são preparadas com concentrações variando de 100 a 0% e posterior diluição com água, preferencialmente atingindo uma concentração de 5% (soluções aldeído/água).

25 Em caso da amostra ser uma emulsão parcialmente hidrofóbica deve-se realizar uma extração prévia dos componentes hidrofílicos com água e, então, diluir até atingir uma concentração de 5%.

A solução aquosa do Reagente de Schiff é adicionada em qualquer quantidade, sendo preferida uma proporção em torno de 1:1 (solução do reagente de Schiff:amostra).

30 A coloração resultante para o teste é azulviolácea nos casos de resultados

positivos em relação às amostras contaminadas com aldeído e ausência de cor para as amostras isenta de aldeído. A comparação da coloração resultante da solução da amostra com a coloração dos padrões testados nas mesmas condições é utilizada para a quantificação desse contaminante.

5 Dessa forma, a presente invenção relata, ainda, para fins de comparativos, as análises quantitativas dos produtos comerciais. Para tal, foi utilizado um espectrofotômetro de UV-VIS e propiciando a obtenção do comprimento de onda máximo absorvido, que geralmente se encontra na faixa de 586 a 592 nm. A análise deve ser realizada após 45 minutos da adição do Reagente de Schiff em até 55
10 minutos após a adição do Reagente de Schiff. Se o sinal obtido for muito forte, o que varia de acordo com a atividade do Reagente de Schiff, as amostras devem ser diluídas. As amostras a serem analisadas devem passar pelo tratamento prévio, semelhante ao estipulado nos métodos qualitativos.

Os procedimentos experimentais envolvidos estão detalhados em cada um
15 dos Exemplos a seguir, sendo importante destacar que a invenção não se limita aos exemplos citados, podendo ser utilizada em todas as aplicações descritas ou em quaisquer outras variações equivalentes.

EXEMPLOS:

EXEMPLO 1: Preparo dos padrões e das amostras para análise qualitativa

20 A técnica consegue detectar, com precisão, variações de intervalos de 0,01% em volume de metanol até aproximadamente 2%. A quantidade de metanol em uma amostra pode ser observada desde 0 até 100% em volume. Para preparar os padrões, mistura-se metanol p.a. com etanol isento de metanol, em volumes determinados. Desta solução retira-se 5 mL e dilui até 100 mL com água destilada.
25 Para o preparo de uma amostra para análise a partir de uma amostra desconhecida, retira-se 5 mL da amostra a ser analisada e dilui a mesma até 100 mL com água destilada. Podem-se preparar soluções com volumes maiores ou menores, bastando respeitar a relação entre os volumes da água e dos reagentes.

EXEMPLO 2: Teste qualitativo colorimétrico para análise de metanol

30 Foi escolhido um branco isento de metanol. Com este foram preparadas soluções padrões dentro de um intervalo de interesse com concentrações definidas.

Durante a análise foi mantida uma temperatura definida entre um intervalo de 15 a 35 °C. Em seguida, foram medidos 2,5 mL de cada amostra padrão, os quais foram transferidos para tubos de ensaio distintos, em ordem crescente de volume de metanol. Paralelamente a esse procedimento foi dispensado em um tubo distinto 2,5mL da amostra a ser analisada. Em todas as amostras foi adicionado 1 mL da solução de permanganato de potássio em cada tubo, sendo o conteúdo dos tubos agitado por 10 min. Na sequência, foi adicionado 1 mL da solução de ácido oxálico em cada tubo, agitando até a solução ficar translúcida. Em seguida foi adicionado em cada tubo 2,5 mL do Reagente de Schiff, os mesmos foram, então, agitados. A comparação entre a amostra e os padrões deve ser feita quando a cor nas amostras estiver estável e acentuada, determinando então o intervalo em que se encontra a amostra.

Dependendo da quantidade de metanol nas amostras a aparição de um tom azul-violáceo pode ser imediata após a adição do Reagente de Schiff, entretanto deve-se esperar até 10 min para uma análise segura. O máximo de coloração é observado em aproximadamente 30 min, porém a comparação entre a amostra e os padrões, pode ser efetuada em menor tempo. Quanto mais forte a tonalidade da cor maior é a concentração de metanol na amostra.

O padrão contendo 0% de metanol não deve apresentar cor. Pode apresentar cor nos primeiros minutos, porem essa deve sumir durante a análise. Se o padrão contendo 0% de metanol apresentar cor, é possível que haja interferentes no branco escolhido, contaminações de metanol ou que os reagentes utilizados não estejam em condições adequadas.

Foram realizados como exemplo cinco testes qualitativos envolvendo amostras comerciais. O primeiro teste foi realizado utilizando como branco álcool etílico 95%. Padrões do álcool foram feitos, utilizando contaminações de 10, 25, 50, 75 e 100% de metanol em álcool etílico, como observado na **Figura 2**.

O mesmo procedimento foi realizado para amostras comerciais, sendo elas: Álcool hidratado (álcool de posto), gasolina, cerveja e cachaça. As amostras isentas de metanol foram contaminadas com metanol em proporções distintas e submetidas ao teste qualitativo, como ilustrado nas **Figuras 3, 4, 5 e 6**, respectivamente às amostras de álcool hidratado, gasolina, cerveja e cachaça. A cerveja foi previamente

desgaseificada antes da preparação das amostras. A fase aquosa da gasolina foi extraída com água destilada mediante um processo de extração simples.

EXEMPLO 3: Teste qualitativo colorimétrico para análise de formol

Para avaliar a quantidade de formol em um produto comercial basta diluir a amostra em no mínimo 5% com água destilada e a 2 mL dessa solução gotear 2 mL do Reagente de Schiff. Se o teste for positivo deve-se observar uma coloração púrpura na solução após a adição do reagente. Se o teste não der positivo, não será observada a formação de cor púrpura após a adição do reagente, mas a solução incolor poderá adquirir um tom rosáceo advindo da *p*-rosanilina, ainda que essa coloração rosácea demore algum tempo para aparecer.

O procedimento foi realizado utilizando amostras reais, disponibilizadas comercialmente, sendo elas: xampu e detergente. Ambos eram isentos de formol e em ambos foi realizado contaminações de formol para avaliar a metodologia. O resultado foi positivo e pode ser observado nas **Figuras 7 e 8**, respectivamente às amostras de xampu e detergente.

EXEMPLO 4: Impregnação de materiais

O Reagente de Schiff foi utilizado para impregnar materiais sólidos a fim de manter sua atividade. Diversos materiais sólidos foram testados, entre eles papel, sílica gel, amido e alumina. Esses materiais estabilizam o reagente e mantêm a atividade do mesmo para a detecção de aldeídos.

EXEMPLO 4.1: Impregnação de papel com o Reagente de Schiff

A folha de papel deve ser totalmente imersa numa solução do Reagente de Schiff. Toda a área do papel deve entrar em contato com o reagente simultaneamente, caso contrário o reagente migra pelo papel não imerso decompondo-se em *p*-rosanilina. Para secar o papel, deve-se deixá-lo em uma superfície recoberta por filme de polietileno, a temperaturas que não excedam 20 °C. Após estar seco, o papel apresenta o mesmo aspecto inicial, sem a presença de cor ou manchas e deve ser armazenado entre filmes de polietileno sob resfriamento em recipiente fechado. O papel, se exposto a temperaturas acima de 20 °C, pode apresentar uma tonalidade levemente rosa, o que não prejudica sua capacidade de detecção de aldeídos. Se exposto a altas temperaturas o papel escurece, perdendo

sua atividade. Se não for mantido resfriado, o papel escurece até atingir uma coloração escura, perdendo sua atividade. Para melhorar a performance da análise utilizando papel, este pode ser armazenado sob superfícies de modo a não deixar espaço vacante evitando a perda de SO_2 do papel. Por exemplo, pode-se utilizar
5 papel "contact®" para armazenar os papeis entre os mesmos e assim manter sua atividade.

O papel impregnado pode detectar aldeídos em concentrações menores que 1%, apenas adicionando uma gota do analíto em sua superfície. Aldeídos geram uma cor violeta no papel. No papel a intensidade da cor também é proporcional à
10 concentração de aldeído na amostra. Adição de álcool ou água não gera cor, podendo ocorrer a degradação do reagente para *p*-rosanilina, nesse caso é observada uma coloração rosa, bem diferente do tom violáceo gerado pelo Reagente de Schiff.

O papel impregnado é utilizado para detectar alcoóis. Para tal, basta realizar a
15 oxidação prévia para aldeídos com a solução de permanganato de potássio, por 10 min, seguida da adição da solução de oxalato, conforme descrito anteriormente. A seguir, após que a solução fique incolor, goteja-se sobre o papel. Caso haja contaminação com metanol irá se verificar um tom violáceo gerado pelo Reagente de Schiff.

20 **EXEMPLO 4.2: Impregnação da sílica com o Reagente de Schiff**

A sílica estabiliza o Reagente de Schiff, o qual se mantém incolor e ativo frente a aldeídos. Através da impregnação, podem ser obtidas duas formas diferentes da sílica impregnada. Primeiramente se espalha a sílica em uma superfície inerte e adiciona de forma uniforme o Reagente de Schiff sobre a sílica.
25 Para obter um gel agrega-se a sílica ainda úmida, colocando-a em um recipiente fechado e mantendo-o resfriado. Para obter um pó, após gotejar o Reagente de Schiff sobre a sílica, espalha-se ela sobre a superfície e deixa-se em repouso até secar, sob temperaturas próximas a 20 °C. A sílica também pode ser armazenada sob superfícies a fim de minimizar o espaço vacante, evitando perda de SO_2 ,
30 conforme descrito para o papel.

O teste utilizando a sílica se baseia na dispersão do pó ou do gel na solução contendo o analíto. Em solução, a sílica libera o reagente gerando cor púrpura na

presença de aldeído, ou cor vermelha, ou rosada em solução ausente de aldeído. A sílica impregnada pode ser utilizada para detectar alcoóis mediante sua oxidação prévia para aldeídos, conforme descrito para o papel.

EXEMPLO 4.3: Impregnação da alumina com o Reagente de Schiff

- 5 O Reagente de Schiff foi imobilizado em alumina de acordo com o procedimento descrito para a sílica (**Exemplo 4.2**).

EXEMPLO 4.4: Impregnação de amido com o Reagente de Schiff

O Reagente de Schiff foi imobilizado em amido de acordo com o procedimento descrito para a sílica (**Exemplo 4.2**).

10 **EXEMPLO 5: Kit para análise em campo utilizando métodos de determinação especialmente de metanol e formol em produtos comerciais**

O modelo do kit exemplificado (**Figuras 1.a e 1.b**) para a determinação, especialmente, de metanol e formol em amostras comerciais é constituído de quatro partes principais:

- 15 (i) Reagentes necessários para detecção armazenados em frascos com dosadores e em doses ajustadas;
- (ii) Materiais para o preparo das amostras;
- (ii) Manual de instruções e procedimentos;
- (iv) Gaveta e compartimentos para o condicionamento dos itens.

- 20 O kit é feito de acordo com a quantidade de análises em demanda, mantendo como padrão os materiais e soluções inclusas.

Neste kit exemplificado constam:

- (a) Um frasco com volume fixo contendo a solução de permanganato de potássio, com volume e concentração ajustados para o número de análises
- 25 requeridos, e seu respectivo dosador;
- (b) Um frasco com volume fixo contendo a solução de ácido oxálico, com volume e concentração ajustados para o número de análises requeridos, e seu respectivo dosador;
- (c) Um ou mais frascos com volume fixo contendo a solução padrão para

análise comparativa. Para o caso de metanol, com volume ajustado para o número de análises requeridas e concentração desejada, sendo sugerida de 1%, com seu respectivo dosador;

5 (d) Um frasco com volume fixo contendo água para diluição com volume ajustado para o número de análises requeridas com seu respectivo dosador;

(e) Frascos contendo volumes fixos da solução do Reagente de Schiff (estabilizado em solução aquosa), sendo o número determinado pela quantidade de análises requeridas e o volume e concentração equivalente ao necessário para uma análise (dose única). Também foi utilizado este reagente imobilizado em diferentes
10 matrizes sólidas (por exemplo, fitas de material celulósico ou papel, óxidos metálicos e polímeros em forma de gel ou pó – sílica, alumina e amido).

Os materiais inclusos no kit são:

- (a) Equipamentos de segurança, por exemplo, luvas para a manipulação dos reagentes;
- 15 (b) tubos de ensaio para realizar as análises;
- (c) suporte para os tubos de ensaio;
- (d) pipetador automático para coletar a amostra;
- (e) ponteiras para o pipetador;
- (f) recipiente graduado de 50 mL específico para condicionar a amostra;
- 20 (g) manual de operação do kit para realização de análises;
- (h) Os materiais impregnados também podem ser inclusos no kit, quando desejado.

Este kit é dividido em partes permanentes e partes consumíveis. Os dosadores, o pipetador, os tubos de ensaio, o suporte para tubos de ensaio e o
25 recipiente para amostras são permanentes, de modo que são inclusos somente no kit principal. Os reagentes, soluções de padrão e diluição assim como as luvas e as ponteiras são considerados consumíveis, e também constam no kit principal, assim como podem ser pedidos a parte de acordo com a demanda (itens de reposição).

Outra forma para detecção de aldeídos e alcoóis oxidados para aldeídos, no
30 kit exemplificado, são os materiais impregnados, podendo ser utilizado qualquer

material impregnado pelo Reagente de Schiff, mediante adaptação da técnica, como por exemplo, o papel. Utilizando o papel, utiliza-se o pipetador automático para coletar a amostra e em seguida adiciona-se esse volume no papel, a cor formada deve ser comparada ao padrão colorimétrico presente nas instruções.

5 **EXEMPLO 6: Teste quantitativo colorimétrico para análise de metanol**

Foi construída uma curva com quinze pontos, com a concentração de metanol variando na faixa de 0,01 a 0,2%. O ajuste linear para a curva obtida forneceu o valor de $r^2 = 0,9681$. A curva de calibração pode ser utilizada, porém com um erro considerável associado. Esta análise é limitada pelo tempo de análise, relativo ao
10 tempo de estabilidade do aduto, que gira em torno a uma faixa de 10 min, de modo que não é possível plotar muitos pontos para construir uma reta sem ter um erro associado à concentração. A liberação de gases também influencia bastante a análise, de modo que as transferências da amostra para cubeta devem ser feitas suavemente. A curva de calibração deve ser feita para cada amostra e análise. A
15 matriz em que se encontra o analíto pode mudar e interferir na absorbância. O Reagente de Schiff, dependendo do seu tempo de armazenamento, pode variar as concentrações de alguns de seus componentes, de modo que sua reatividade com o formaldeído formado a partir do metanol também poderá mudar, nesse caso os valores de absorbância serão diferentes, de modo que necessitaria de uma curva de
20 calibração prévia sempre que for realizada esta análise.

Também foi aplicado o método de adição de padrão para amostras de etanol, álcool de posto, gasolina, cerveja e cachaça, de modo que foram feitas cinco amostras padrão para as amostras de etanol, álcool de posto e cachaça e quatro amostras padrões para as amostras de gasolina e cerveja. Os r^2 obtidos para as
25 amostras de etanol, álcool de posto, gasolina, cerveja e cachaça foram respectivamente de 0,98625, 0,95842, 0,99038, 0,98961 e 0,98103. Dessa forma, foi observado que bons resultados podem ser obtidos, como no caso da gasolina, porém o excesso de etapas, a volatilidade dos reagentes, a sensibilidade dos reagentes, a presença de reações paralelas e a formação de mais de uma espécie
30 cromófora dificultam que o sistema atinja um estado de equilíbrio. Assim, o sistema só permite resultados confiáveis se for feito sempre comparando os resultados da amostra com o resultado de uma solução padrão conhecida.

REIVINDICAÇÕES

1. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF EM DIVERSOS VEÍCULOS líquidos ou sólidos, **caracterizado por** compreender as etapas de:

- 5 a) Preparar uma solução homogênea do Reagente de Schiff pela mistura em proporção em massa dos seus constituintes representados por: uma fúcsina básica (faixa em torno de 0,02 a cerca de 0,9%), uma fonte de sulfito (faixa em torno de 0,05 a cerca de 1,8%) e um ácido mineral (faixa em torno de 0,07 a cerca de 2,2%);
- b) Envasar a solução em embalagens ou recipientes apropriados, sem
10 espaços de vacância; ou
- c) Colocar a solução obtida na etapa a em contato com matrizes ou substratos sólidos por um período e posteriormente secá-los.

2. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** fúcsina básica ser preferencialmente a *p*-
15 rosalina.

3. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pela** fonte de sulfito ser selecionada entre metabissulfito de sódio, dióxido de enxofre, ácido sulforoso e outros compostos constituídos de enxofre.

20 4. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 1 ou 3, **caracterizado pela** fonte de sulfito ser preferencialmente o metabissulfito de sódio.

5. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** ácido mineral ser selecionado entre ácido
25 sulfúrico, ácido clorídrico e outros ácidos minerais.

6. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 1 ou 5, **caracterizado pelo** ácido mineral ser preferencialmente o ácido sulfúrico.

7. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com
30 a reivindicação 1, **caracterizado pelo** reagente estabilizado em fase líquida ser compreendido por uma solução aquosa.

8. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 1 ou 7, **caracterizado pela** solução de Reagente de Schiff ser

envazada em recipientes ou frascos com dosadores ou dispensadores (manuais ou semi-automáticos ou automáticos) de volumes fixos ou pré-estabelecidos, permitindo uso direto ou de recarga ou de refil, incluindo para uso em dose única.

5 **9. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF**, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelas** matrizes sólidas utilizadas serem selecionadas entre material celulósico ou papel, óxidos de metais e não metais, polímeros ou qualquer outro substrato sólido que possa suportar o Reagente de Schiff sem decompô-lo.

10 **10. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF**, de acordo com a reivindicação 1 (etapa c) ou 9, **caracterizado pela** secagem ser realizada a temperaturas preferencialmente menores que 20 °C.

15 **11. MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF**, de acordo as reivindicações 1 (etapas a e c), 9 ou 10, **caracterizado pelo** Reagente de Schiff impregnado em matrizes sólidas obtidos serem embalados de forma a não apresentar espaços de vacância entre a embalagem e o seu conteúdo.

12. REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO EM MATRIZES SÓLIDAS **caracterizado por** compreender o Reagente de Schiff preparado conforme as reivindicações 1 (etapas a e c), 9 ou 10.

20 **13. REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO**, de acordo com a reivindicação 12, **caracterizado pelo** reagente estabilizado em fase sólida compreender diferentes formas de apresentação, selecionadas entre: fitas, placas, géis, pós ou outras formas resultantes da impregnação nas matrizes ou substratos sólidos.

25 **14. REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO**, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, **caracterizado pelo** reagente disponibilizado em forma de fitas serem de material celulósico ou papel.

15. REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO, de acordo com a reivindicação 12 ou 13, **caracterizado pelo** reagente disponibilizado em forma de géis e pós serem de sílica ou óxido de silício, a serem utilizados puros ou imobilizados em substratos sólidos.

30 **16. PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF** em material celulósico **caracterizado por** compreender as etapas de:

 A) Imergir totalmente o material celulósico de dimensões apropriadas em solução homogênea do Reagente de Schiff preparado pela mistura de: - uma fúcsina

básica numa faixa em torno de 0,02 a cerca de 0,9%, conforme definido na reivindicação 2; - uma fonte de sulfito numa faixa em torno de 0,05 a cerca de 1,8%, conforme definido na reivindicação 3 ou 4; e - um ácido mineral numa faixa em torno de 0,07 a cerca de 2,2%, conforme definido na reivindicação 5 ou 6;

- 5 B) Retirar o material celulósico do sistema anterior e promover sua secagem.

17. PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF de acordo com a reivindicação 16, **caracterizado pelo** fato do material celulósico ser o papel ou qualquer uma de suas variações contendo celulose obtida de diferentes fontes vegetais, incluindo resíduos industriais de descarte ou aparas.

- 10 **18. PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF** em matrizes sólidas, **caracterizado por** compreender as etapas de:

- (a) Gotejamento ou molhabilidade controlada da matriz sólida pela solução homogênea do Reagente de Schiff, preparado pela mistura de: - uma fúcsina básica numa faixa em torno de 0,02 a cerca de 0,9%, conforme definido na reivindicação 2; -
15 uma fonte de sulfito numa faixa em torno de 0,05 a cerca de 1,8%, conforme definido na reivindicação 3 ou 4; e - um ácido mineral numa faixa em torno de 0,07 a cerca de 2,2%, conforme definido na reivindicação 5 ou 6;

- (b) Mistura vigorosa do sistema anterior até a obtenção de um gel;

- (c) Opcionalmente para a obtenção de pó, *realizar a secagem do material*
20 obtido na etapa b.

19. PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF, de acordo com a reivindicação 18, **caracterizado pelas** matrizes sólidas utilizadas serem selecionadas entre sílica, alumina e amido.

- 20. PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF**, de acordo
25 com uma das reivindicações de 16 a 19, **caracterizado pela** secagem ser realizada a temperaturas preferencialmente menores que 20 °C.

- 21. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE ALDEÍDOS E/OU**
ALCOÓIS **caracterizado por** utilizar pelo menos um dos Reagentes de Schiff estabilizados preparados conforme uma das reivindicações de 1 a 20, e diferentes
30 tipos de amostras.

- 22. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** pelas amostras serem amostras de produtos comerciais.

- 23. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 21 ou 22,

caracterizado pelas amostras serem selecionadas entre: - combustíveis líquidos, - solventes orgânicos, - bebidas alcoólicas gaseificadas ou não, - produtos cosméticos e de limpeza pessoal, incluindo produtos para limpeza e tratamento de cabelos, - produtos de limpeza geral e saneantes.

5 **24. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado pelas** amostras de combustíveis líquidos serem selecionadas entre gasolina, álcool ou etanol obtidos de diferentes fontes e diesel ou biodiesel obtidos de diferentes fontes.

10 **25. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado pelas** amostras de bebidas alcoólicas gaseificadas ou não serem selecionadas entre cachaça, cerveja entre outras bebidas destiladas ou fermentadas, e ainda, bebidas energéticas.

15 **26. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado pelas** amostras de produtos cosméticos e de limpeza pessoal serem selecionados entre xampus, condicionadores, desodorantes e outros produtos de perfumaria.

20 **27. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado pelas** amostras de produtos de limpeza geral e saneantes serem selecionadas entre o grupo de detergentes, alvejantes, amaciantes de tecidos, produtos antiferruginosos, ceras, desincrustantes ácidos e alcalinos, limpa móveis, limpa plásticos, limpa pneus, limpa vidros, polidores de sapato ou de superfícies metálicas, removedores, sabões, saponáceos e derivados, desinfetantes de uso geral, desinfetante de água para o consumo humano, desodorizantes, esterilizantes, algicidas e fungicidas para piscinas, inseticidas, raticidas, produtos destinados à
25 jardinagem e repelentes.

28. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações de 21 a 27, **caracterizado pelo** fato de ser realizado em campo ou no local de interesse.

30 **29. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 28, **caracterizado pelo** fato de realização em campo compreender temperaturas na faixa em torno de 15 a 35 °C.

30. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 28 ou 29, **caracterizado pelo** fato de utilizar soluções padrões selecionadas entre: - metanol/etanol/água, com concentrações variando de 100 % a 0% de metanol em etanol e posterior diluição com água (detecção de metanol), - formol/água, com

concentrações variando de 100 a 0% de formol em água (detecção de formol), ou outras soluções padrões de acordo com a análise pretendida.

5 **31. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com uma das reivindicações de 28 a 30, **caracterizado pelo** fato de ser utilizado para a determinação colorimétrica qualitativa e quantitativa de aldeídos ou alcoóis, especialmente formol e metanol, por meio da comparação dos resultados de cor apresentados pelas soluções padrões utilizadas com o mesmo tratamento submetido às amostras analisadas.

10 **32. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com uma das reivindicações de 28 a 31, **caracterizado pelo** fato ser realizada a detecção de aldeídos e alcoóis oxidados para aldeídos, mediante a oxidação prévia dos alcoóis presentes na amostra a aldeídos pela adição de elementos de oxidação da amostra, compreendidos pela adição de um agente oxidante, um agente redutor e um agente acidificante.

15 **33. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo a reivindicação 32, **caracterizado por** ser o agente oxidante uma solução de permanganato de sódio na presença de ácido fosfórico.

34. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO, de acordo a reivindicação 32, **caracterizado por** ser o agente redutor uma solução de ácido oxálico.

35. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO, de acordo a reivindicação 32, **caracterizado por** ser o agente acidificante o ácido sulfúrico.

20 **36. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com uma das reivindicações de 21, 24, 28 a 35, **caracterizado pela** extração prévia dos constituintes solúveis em água, quando a amostra selecionada é gasolina.

25 **37. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com uma das reivindicações de 21, 25, 28 a 35, **caracterizado pela** degaseificação prévia da amostra, quando a amostra selecionada é uma bebida alcoólica gaseificada.

38. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** detectar contaminação por metanol, compreendendo as seguintes etapas:

- 30 a. Diluir amostra a ser analisada em água;
- b. Adicionar à solução diluída um volume de solução de agente oxidante, em meio aquoso, com posterior repouso;
- c. Adicionar à solução obtida na etapa b, um volume de agente acidificante e de agente redutor em agitação até descoloração da solução obtida;
- d. Adicionar à solução obtida na etapa c, um Reagente de Schiff estabilizado

conforme uma das reivindicações de 1 a 20;

e. Comparar coloração obtida na solução com a coloração da solução padrão utilizada de concentração conhecida submetida às etapas a - d.

5 **39. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado por** detectar contaminação por metanol em amostras de produtos definidas em uma das reivindicações de 22 a 27.

40. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado por** detectar contaminação por aldeídos, compreendendo as seguintes etapas:

- 10 a. Diluir a amostra a ser analisada em água, se necessário;
- b. Adicionar à solução obtida na etapa a, um Reagente de Schiff estabilizado conforme uma das reivindicações de 1 a 20, com posterior repouso;
- c. Comparar coloração obtida na solução com a coloração da solução padrão utilizada de concentração conhecida submetida às etapas a – b.

15 **41. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 40, **caracterizado por** detectar contaminação por formol em amostras de produtos definidas em uma das reivindicações de 22 a 27.

20 **42. MÉTODO DE DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 40 ou 41, **caracterizado pelo** fato de realizar uma extração prévia dos componentes hidrofílicos em água para o caso da amostra ser uma emulsão parcialmente hidrofóbica.

25 **43. KIT PARA DETERMINAÇÃO COLORIMÉTRICA DE ALCOÓIS E/OU ALDEÍDOS** em diferentes amostras baseada na utilização do Reagente de Schiff **caracterizado por** compreender a utilização de pelo menos um Reagente de Schiff estável em forma líquida ou sólida, preparados conforme uma das reivindicações de 1 a 20.

44. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 43, **caracterizado por** compreender ainda:

- 30 (i) Um ou mais componentes complementares para a detecção, selecionados entre: água destilada ou deionizada, soluções padrões conhecidas de acordo com a análise pretendida, elementos de oxidação da amostra para o caso de determinação de alcoóis;

- (ii) Um ou mais materiais para o preparo das amostras e das análises

selecionados entre: recipiente graduado específico para condicionar a amostra a ser analisada, dispositivos coletores volumétricos e seus acessórios, tubos de ensaio ou recipientes adequados para realizar as análises pretendidas.

5 **45. KIT PARA DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 43 ou 44, **caracterizado por** ser complementado ainda com pelo menos um dos seguintes itens:

- (i) Equipamentos de segurança;
- (ii) Manual de instruções e procedimentos;
- (iii) Estojo portátil.

10 **46. KIT PARA DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado pelos** elementos de oxidação da amostra compreender um agente oxidante, um agente redutor e um agente acidificante.

15 **47. KIT PARA DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 46, **caracterizado pelo** agente oxidante ser uma solução de permanganato de sódio na presença de ácido fosfórico.

48. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 46, **caracterizado pelo** agente redutor ser uma solução de ácido oxálico.

49. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 46, **caracterizado pelo** agente acidificante ser o ácido sulfúrico.

20 **50. KIT PARA DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado pelo** fato das soluções padrões serem selecionadas entre: - metanol/etanol/água, com concentrações variando de 100 % a 0% de metanol em etanol e posterior diluição com água (detecção de metanol), - formol/água, com concentrações variando de 100 % a 0% de formol em água (detecção de formol), ou
25 outras soluções padrões de acordo com a análise pretendida.

51. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado pelos** dispositivos coletores volumétricos e seus acessórios serem um pipetador automático para coletar a amostra e ponteiras para o pipetador.

30 **52. KIT PARA DETERMINAÇÃO**, de acordo com a reivindicação 45, **caracterizado pelo** estojo apresentar: - variações quanto aos materiais para a sua confecção e formato, visando o acondicionamento adequado dos itens permanentes ou consumíveis do kit e facilidade de manuseio e de seu transporte, - e/ou possuir uma ou mais portas, e/ou partes estruturais que se encaixam, incluindo gavetas,

formando um conjunto único, com uma ou mais alças em seu exterior.

53. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações de 43 a 52, **caracterizado pelo** fato do Reagente de Schiff utilizado em fase líquida e os componentes complementares para a detecção (água, soluções padrões e elementos de oxidação da amostra) serem compreendidos por recipientes ou embalagens ou frascos com formas de apresentação ou modelos que permitam facilidade de retirar seu conteúdo de forma controlada, selecionados entre: frascos com dosadores ou dispensadores (manuais ou semi-automáticos ou automáticos) de volumes fixos ou pré-estabelecidos, com possibilidades de recarga ou uso de refil.

10 54. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com a reivindicação 53, **caracterizado pelo** fato do Reagente de Schiff utilizado em fase líquida ou em solução aquosa serem compreendidos por recipientes ou embalagens ou frascos com forma de apresentação em dose única.

15 55. KIT PARA DETERMINAÇÃO, de acordo com uma das reivindicações de 43 a 54, **caracterizado por** compreender as seguintes partes: uma ou mais tampas (A), sendo pelo menos uma superior, por exemplo, uma rebatível (A.1) e/ou laterais frontais (A.2), com partes encaixáveis ou com espaço destinado à acomodação dos componentes de análise (B), selecionados entre os reagentes complementares e padrões, os quais estão anexados aos dispensadores ou outro elemento que facilite a saída do conteúdo do frasco de forma controlada, sendo o Reagente de Schiff estabilizado e a estante de tubos ou os recipientes adequados para a análise (D) acomodados em partes que se encaixam ou em gaveta (C) com espaços separados, enquanto outros compartimentos diversos serem para colocar os demais itens constituintes, representados por um compartimento para colocar o pipetador (E), um compartimento para acomodar um ou mais manuais (F), onde (D) encaixa em (C) e (C) se encaixa pela abertura (A), formando uma única peça ou estojo, contendo pelo menos uma alça para locomoção.

20 56. USO do Reagente de Schiff estabilizado preparado conforme uma das reivindicações de 1 a 20, **caracterizado por** ser utilizado em um método de determinação colorimétrica de aldeídos e alcoóis ou em um kit de determinação desses compostos.

25 57. USO do Reagente de Schiff, de acordo com a reivindicação 56, **caracterizado por** ser utilizado em um método ou kit de determinação de formol e metanol em amostras de produtos comerciais em campo ou no local de interesse.

58. USO do Reagente de Schiff estabilizado preparado conforme uma das reivindicações de 1 a 20, **caracterizado por** ser utilizado em um método de determinação colorimétrica de aldeídos ou como corantes em sistemas biológicos ou na verificação de contaminantes na atmosfera.

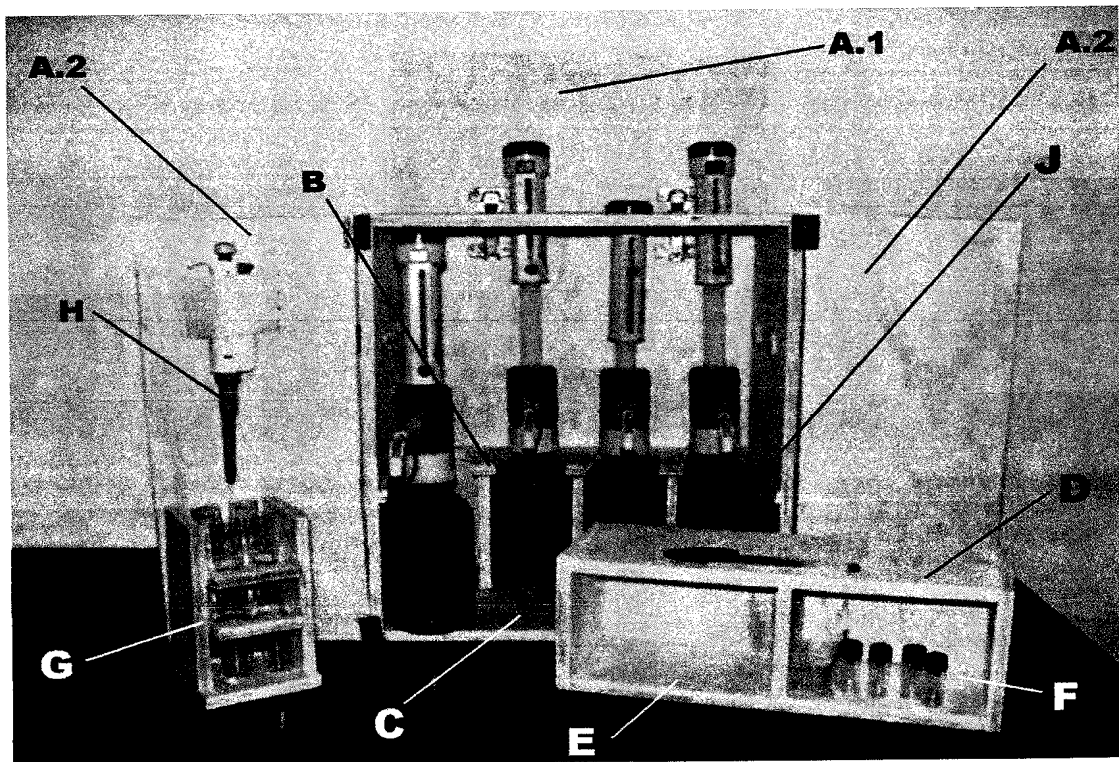
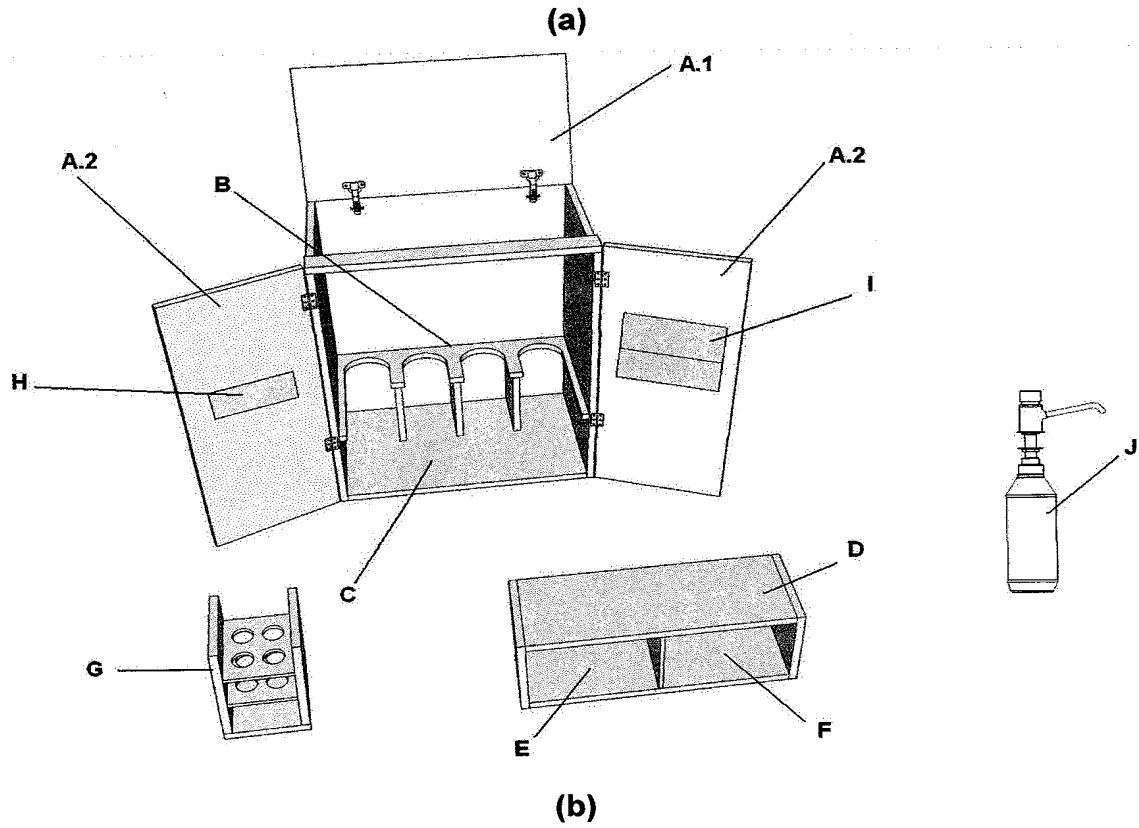


FIGURA 1

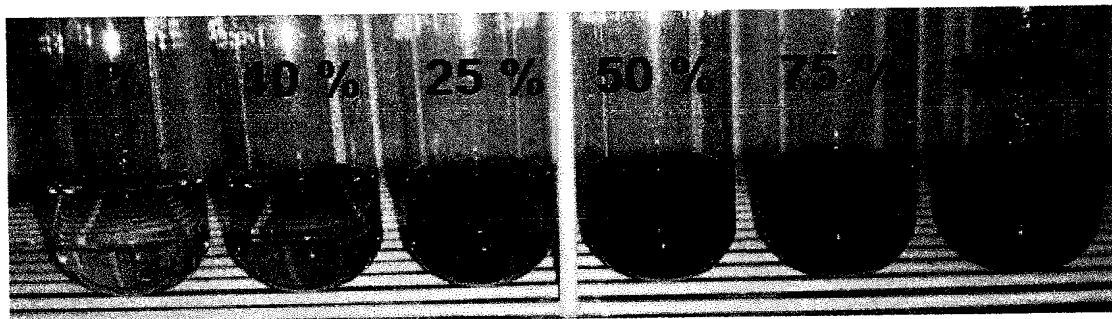


FIGURA 2

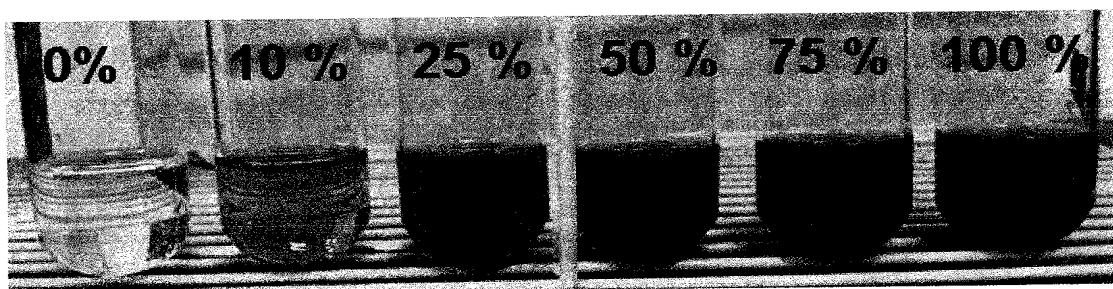


FIGURA 3

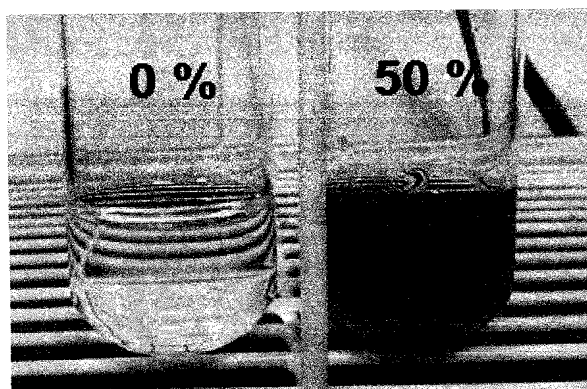


FIGURA 4



FIGURA 5

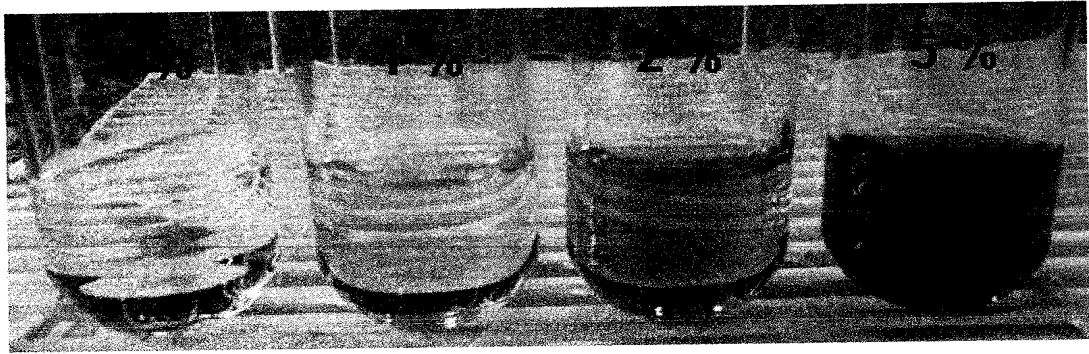


FIGURA 6

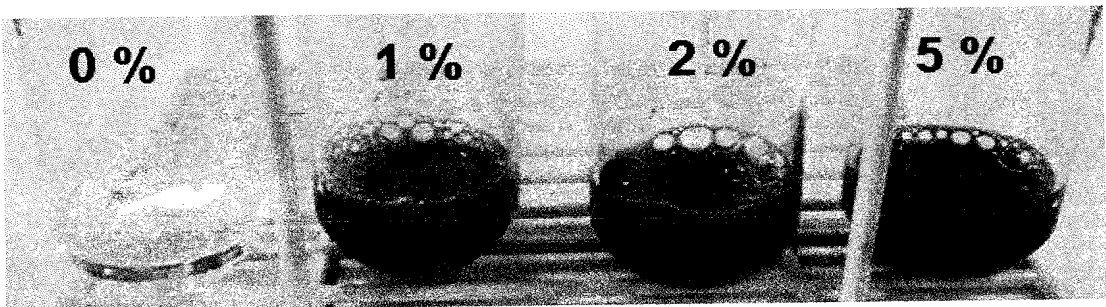


FIGURA 7

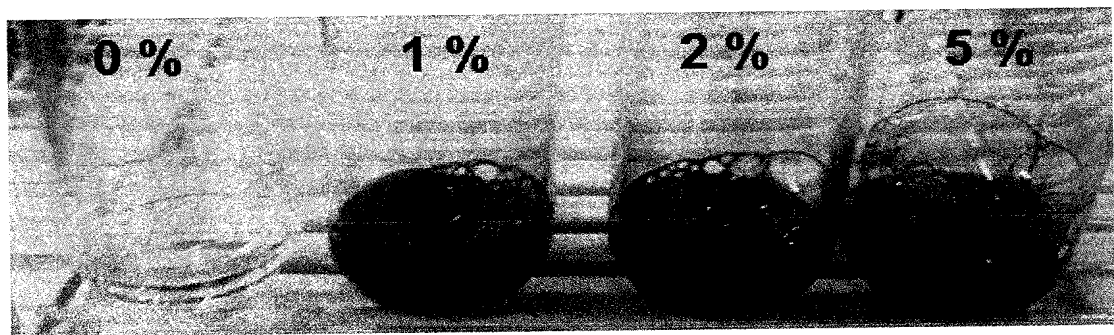


FIGURA 8

RESUMO

MÉTODO DE ESTABILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF EM DIVERSOS VEÍCULOS, REAGENTE DE SCHIFF IMOBILIZADO EM MATRIZES SÓLIDAS, PROCESSO DE IMPREGNAÇÃO DESSE REAGENTE, MÉTODO DE DETERMINAÇÃO ANALÍTICA DE AMOSTRAS BASEADO NA UTILIZAÇÃO DO REAGENTE DE SCHIFF ESTABILIZADO, KIT PARA A DETERMINAÇÃO ESPECIALMENTE DE METANOL E FORMOL EM PRODUTOS COMERCIAIS E SUAS APLICAÇÕES

A presente invenção refere-se a um método de estabilização do Reagente de Schiff em diversos veículos (líquidos ou sólidos), úteis na determinação colorimétrica da presença ou não de compostos específicos em uma amostra, sobretudo aldeídos e alcoóis. A obtenção desse reagente estabilizado, principalmente os imobilizados em matrizes sólidas, como óxidos de metais e não metais, materiais celulósicos e polímeros, permitem a realização de análises em campo ou locais de interesse, além de facilitar operacionalmente as análises por usuários comuns ou em metodologias que já utilizam esse reagente preparado de forma convencional.

Outro aspecto aborda o desenvolvimento de um método de análise colorimétrica qualitativo e semi-quantitativo desses compostos, e de um kit para determinação analítica em campo, especialmente de metanol e/ou formol, em produtos comerciais, como combustíveis, solventes líquidos e bebidas alcoólicas, bem como a análise de formol em produtos de limpeza, cosméticos e de higiene pessoal e saneantes, e ainda, suas aplicações.