

## ارایه یک روش رنگ‌سنجی جهت آنالیز کیفی متانول

علی رفیع زاده\* - شهاب شریعتی\*\* - لیلا پورمحمد\*\*\* - سوده فولادمهر\*\*\*\*

\* کارشناس علوم آزمایشگاهی، گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت  
\*\* دکترای شیمی تجزیه، عضو هیات علمی گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت  
\*\*\* کارشناس ارشد شیمی آلی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت  
\*\*\*\* کارشناس شیمی، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت

### چکیده

**مقدمه:** با وجود سودمندی فراوان و کاربرد گسترده متانول در صنعت و زندگی امروز، شرب اتفاقی یا ناآگاهانه آن در نوشیدنی‌های الکلی مشکلاتی درباره سلامت افراد ایجاد نموده است. از این رو، به نظر می‌رسد، شناسایی کیفی غلظت‌های بالاتر از دوز مجاز متانول در این نوع فرآورده‌ها ضرورت داشته باشد. در این تحقیق، یک روش کیفی جدید با کاربری آسان مبتنی بر کروموتروپیک اسید برای تشخیص مقادیر مسمومیت‌زای متانول در نوشیدنی‌های الکلی ارایه شده است.

**روش‌ها:** در روش حاضر، پس از افزودن ۲ ml پتاسیم پرمنگنات ۳٪ (حاوی ۱۵ v/v٪ ارتوفسفریک اسید) به نمونه ریخته شده در داخل یک بالن ژوژه ۵۰ ml، آن را به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب سرد قرار داده و بعد از گذشت این مدت، مقدار کافی سدیم هیدروژن سولفیت به آن می‌افزایند تا بی‌رنگ شود و پس از آن، ۱ ml محلول آبی ۵٪ کروموتروپیک اسید و ۱۵ ml سولفوریک اسید غلیظ به محتویات بالن اضافه می‌شود. در ادامه، بالن به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود تا فرمالدئید حاصل در محیط شدیداً اسیدی با کروموتروپیک اسید واکنش داده و ایجاد کمپلکس بنفش رنگ کند. پس از گذشت مدت زمان لازم، دمای محتویات بالن ژوژه تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد پایین آورده شده و حجم آن با آب مقطر به ۵۰ ml رسانده شده و میزان جذب در مقابل شاهد در طول موج ۵۷۵ nm قرائت می‌شود.

**یافته‌ها:** آزمایش‌های انجام شده نشان دادند، کاربرد مقادیر میکرو نمونه و مواد واکنش‌گر نتایج خوبی به دنبال خواهد داشت که از آن جمله می‌توان به کاهش محدودیت‌های کاربردی روش مرسوم اشاره کرد. به علاوه، استفاده از یک واکنش‌گر رقابتی در روش کروموتروپیک اسید می‌تواند به تشخیص مقادیر صرفاً بالاتر از دوز مجاز یا مسمومیت‌زای متانول در نوشیدنی‌های الکلی منجر شود.

**نتیجه‌گیری:** برای تشخیص مقادیر بالاتر از دوز مجاز یا مسمومیت‌زای متانول در نوشیدنی‌های الکلی که براساس استاندارد کشورهای اروپایی ۰/۴٪ حجمی - حجمی است، روش کروموتروپیک اسید می‌تواند به عنوان یک روش دقیق، حساس، ساده، ارزان و سریع در آزمایشگاه‌های عمومی و فاقد امکانات خاص آزمایشگاهی به کار گرفته شود.

**واژگان کلیدی:** متانول، شناسایی کیفی، رنگ‌سنجی، کروموتروپیک اسید

تأیید مقاله: ۱۳۸۹/۳/۱۸

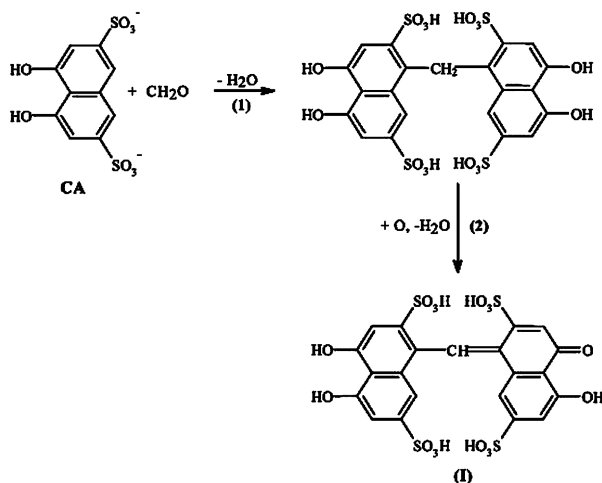
وصول مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۶

نویسنده پاسخگو: رشت، بلوار لاکان، پل تالشان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت، دانشکده پرستاری و مامایی، آزمایشگاه فیزیولوژی mpalirafizadeh@gmail.com

### مقدمه

شرب آن، مواد تلخ و بدمزه مانند بیترکس (با نام شیمیایی دناونوم بنزوات) یا ترکیبات رنگی و بدبو مانند بنفش متیل و تراننتین به آن اضافه می‌کنند (۳، ۲). تقلیب اتانول که به منظور غیرقابل شرب نمودن آن صورت می‌گیرد، در کشورهای اسلامی به جهت رعایت مسایل شرعی و در برخی کشورهای غیراسلامی به دلیل معافیت این نوع الکل از مالیاتی که به طور معمول بر فروش مشروبات الکلی وجود دارد، صورت می‌گیرد. در گذشته، برای غیرقابل شرب نمودن اتانول مورد استفاده در بخش‌های درمانی و آزمایشگاهی از تقلیب آن با متانول (عموماً با غلظت ۵٪ حجمی - حجمی) استفاده می‌کردند (۴، ۵)، اما،

متانول ماده‌ای سودمند است که کاربردهای صنعتی و خانگی فراوانی در زندگی روزمره دارد، اما، از نظر پزشکی مشکلات بسیار جدی در کشور ما ایجاد نموده که تقریباً در همه موارد به شرب ناآگاهانه آن مربوط می‌شود (۱). از مخلوط متانول با اتانول و سایر الکل‌های موجود در انتهای ستون تقطیر کارخانجات الکل‌سازی که فاقد درجه خلوص لازم به عنوان الکل (اتانول) طبی هستند، برای ساخت الکل صنعتی استفاده می‌شود که در این صورت، به منظور هشدار و جلوگیری از



### تصویر ۱- مکانیسم و ترکیب احتمالی کمپلکس رنگی در واکنش کروموتروپیک اسید با فرمالدئید

بنفش رنگ (تصویر ۱) منجر می‌شود که در روش کمی، در طول موج ۵۸۰-۵۷۰ نانومتر دارای جذب است (۱۳).

کروموتروپیک اسید تنها با فرمالدئید تولید کمپلکس بنفش رنگ می‌کند و هیچ گونه واکنش دیگری بین کروموتروپیک اسید با سایر الکل‌ها و آلدیدها وجود ندارد (۱۳، ۲). اما، این روش اختصاصی قدیمی بوده و دارای مشکلات کاربردی زیادی است که از آن جمله می‌توان به استفاده از حجم زیاد سولفوریک اسید داغ و غلیظ (استفاده از حرارت) و بروز خطرات احتمالی ناشی از آن اشاره نمود (۱۳) که البته کوشش برای رفع آنها همواره با کاهش حساسیت آزمایش همراه بوده است (۱۳، ۱۴). به غیر از مشکلات کاربردی، حساسیت بالای روش کروموتروپیک اسید باعث شده، امکان تشخیص مقادیر صرفاً مسمومیت‌زای متانول (و نه مقادیر ناچیز یا غیرمسمومیت‌زا) در محلول‌های حاوی اتانول وجود نداشته باشد.

### روش‌ها

در این تحقیق که به منظور تشخیص کیفی مقادیر صرفاً مسمومیت‌زا و یا به عبارت دیگر، بالاتر از دوز مجاز متانول در نوشیدنی‌های الکلی صورت گرفته، سعی شده است تا علاوه بر رفع مشکلات کاربردی مطرح شده، با به کارگیری پروپانول حساسیت روش

- 1 - Gas Chromatography
- 2 - High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- 3 - Fourier transform infrared spectrometry (FT-IR)
- 4 - Selective flow-injection
- 5 - Enzymatic method
- 6 - National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH)
- 7 - Chromotropic acid (CA)
- 8 - Association of Official Analytical Chemists
- 9 - Sulfurous acid

امروزه، به دلیل عوارض جدی مسمومیت با متانول، فقط از بیترکس برای این منظور استفاده می‌شود. اما در هر حال به دلیل نزدیکی بیش از حد نقطه جوش متانول با اتانول امکان جداسازی کامل آن دو در ستون تقطیر کارخانه‌های الکل‌سازی وجود نداشته و همواره مقادیر اندکی متانول در اتانول‌های طبی قابل عرضه در داروخانه‌ها و مراکز معتبر وجود دارد که البته، مشکلی از نظر مسمومیت ایجاد نمی‌نماید. از طرف دیگر، متانول به عنوان یک فرآورده ناخواسته جانبی به هنگام تهیه اتانول در روش‌های سنتی یا نیمه‌صنعتی غیرپیشرفته تولید و همراه آن وارد محصول نهایی می‌شود. از این رو، همواره مقادیر متفاوت اما قابل شناسایی و حتی مسمومیت‌زای متانول در مشروبات الکلی دست‌ساز خانگی یا تقلبی یافت می‌شود (۱) که تاکنون، شرب آنها منبع اصلی مسمومیت ناشی از متانول در کشور بوده و باعث بروز عوارض وخیمی مانند انواع نارسایی‌های کلیوی، ریوی، مغزی، کوری یا مرگ شده است (۵، ۴). ارزان بودن قیمت متانول نسبت به اتانول و نیز وجود عوامل مختلف موثر بر قاچاق این نوشیدنی‌ها باعث شده، بازار تقلب نوشابه‌های الکلی و سوء استفاده از آنها و در نتیجه عرضه متانول به جای اتانول و یا مخلوط آن دو با یکدیگر بسیار رایج شود. در حال حاضر، از روش‌های کروماتوگرافی گازی (GC)<sup>۱</sup>، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)<sup>۲</sup> (۷ و ۶)، روش طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR)<sup>۳</sup> (۷)، تزریق جریان انتخابی<sup>۴</sup> (۷، ۸) و روش آنزیمی<sup>۵</sup> (۷، ۹) برای شناسایی یا اندازه‌گیری مستقیم متانول استفاده می‌شود. اما، با توجه به گران بودن تجهیزات و امکانات مذکور و نیز پرهزینه بودن سرویس و نگهداری آنها، شناسایی متانول با کمک این روش‌ها در آزمایشگاه‌های عمومی امکان‌پذیر نمی‌باشد (۱۰). برخلاف متانول، روش‌های شیمیایی بسیار زیادی برای شناسایی یا اندازه‌گیری فرمالدئید وجود دارد (۵). از آنجا که اکسیداسیون متانول به تشکیل فرمالدئید منجر می‌گردد، می‌توان از روش‌های شیمیایی اندازه‌گیری فرمالدئید برای شناسایی غیرمستقیم متانول استفاده کرد (۱۱). روشی که برای اندازه‌گیری کمی فرمالدئید توسط انجمن ملی امنیت و سلامت شغلی (NIOSH)<sup>۶</sup> پیشنهاد گردیده، روش رنگ‌سنجی کروموتروپیک اسید<sup>۷</sup> است که بسیار دقیق، حساس و کم‌هزینه می‌باشد (۱۱، ۷). با توجه به نحوه اندازه‌گیری فرمالدئید توسط روش رنگ‌سنجی کروموتروپیک اسید (۱۲) و نیز توجه به این نکته که اکسایش متانول به تشکیل فرمالدئید منجر می‌گردد، AOAC<sup>۸</sup> نیز این روش را برای شناسایی متانول پیشنهاد نموده است (۱۲، ۷). در روش مرسوم کروموتروپیک اسید از پنج واکنش‌گر پتاسیم پرمنگنات، سولفوریک اسید رقیق، سدیم هیدروژن سولفیت، کروموتروپیک اسید و سولفوریک اسید غلیظ برای شناسایی کیفی یا اندازه‌گیری متانول استفاده می‌شود که در آن، ابتدا متانول به فرمالدئید و فرمیک اسید اکسید و سپس محصول نهایی توسط سولفوریک اسید غلیظ به فرمالدئید تبدیل می‌شود. واکنش ترکیب اخیر در مجاورت سولفوریک اسید غلیظ با شناساگر اختصاصی (کروموتروپیک اسید) به تولید سولفورس اسید<sup>۹</sup> و یک کمپلکس

می‌کند). در ادامه،  $50 \mu\text{L}$  از محلول پتاسیم پرمنگنات  $W/V$   $2/5\%$  و  $50 \mu\text{L}$  سولفوریک اسید  $W/V$   $2/5\%$  به لوله‌ها اضافه و محتویات لوله‌ها با تکان دادن مخلوط شدند. سپس بعد از یک دقیقه انتظار برای انجام واکنش‌های شیمیایی،  $50 \mu\text{L}$  از محلول سدیم هیدروژن سولفیت  $W/V$   $5\%$  به درون لوله‌ها افزوده شد و لوله‌های آزمایش تا بی‌رنگ شدن کامل محتویات داخل آنها به شدت تکان داده شدند و در ادامه، به ترتیب  $50 \mu\text{L}$  محلول کروموتروپیک اسید  $W/V$   $1\%$  و  $1 \text{ ml}$  سولفوریک اسید غلیظ به داخل لوله‌ها ریخته شد و پس از تکان دادن لوله‌های آزمایش، براساس مشاهدات، نتایج زیر استنباط شد:

الف - عدم تغییر رنگ، نشانه منفی بودن نتیجه آزمایش و عدم وجود متانول به مقدار بالاتر از دوز مجاز (دوز سمی) در نمونه است. باید توجه داشت، در این آزمایش، عدم تغییر رنگ نشانه منفی بودن کامل نتیجه آزمایش و عدم وجود متانول در نمونه نیست، بلکه فقط بیانگر عدم وجود متانول در حد مسمومیت‌زا (بالاتر از دوز مجاز) است.

ب - ظهور رنگ بنفش نشانه مثبت بودن نتیجه و حضور متانول به مقدار بالاتر از دوز مجاز یا مسمومیت‌زا در نمونه است.

## یافته‌ها

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان دادند، روش پیشنهادی می‌تواند به صورت انتخابی، مقادیر بالاتر از  $W/V$   $7/4\%$  متانول در محلول‌های حاوی اتانول  $60$  درجه را شناسایی کند و قادر به تشخیص مقادیر  $W/V$   $7/4\%$  متانول و کم‌تر از آن نیست، به طوری که در مورد نمونه‌های دارای درجه الکلی حدود  $60$  که حاوی مقادیر کمتر از  $W/V$   $7/4\%$  متانول هستند، هیچ‌گونه رنگی ظاهر نمی‌شود ولی در نمونه‌های دارای متانول بیشتر ( $W/V$   $7/5\%$  و بالاتر) رنگ بنفش ظاهر می‌شود و شدت رنگ به اندازه‌ای است که مشاهده رنگ بنفش کاملاً واضح، میسر می‌باشد. لازم به ذکر است، جهت کنترل بیشتر پاسخ گویی روش پیشنهادی، هر کدام از محلول‌های الکلی حاوی غلظت‌های مختلف متانول  $10$  بار در هر روز و به مدت  $5$  روز به روش پیشنهادی مورد آزمایش قرار گرفتند که در همه موارد، نتایج به دست آمده یکسان بود که نشان دهنده بالا بودن میزان تکرارپذیری و صحت عملکرد روش پیشنهادی می‌باشد. از این رو، می‌توان میزان حد تشخیص (LOD) این روش را  $W/V$   $7/5\%$  متانول در نوشیدنی‌های الکلی دارای درجه الکلی  $60$  عنوان نمود.

## بحث

در انواع نوشیدنی‌های الکلی که در بازار قاچاق و غیرقانونی کشور عرضه می‌شود موارد مقادیر متفاوتی متانول وجود دارد (۱) که در پاره‌ای

۱۰ - از آنجا که پتاسیم پرمنگنات در هر محیط اسیدی (حتی ضعیف) از فعالیت اکسندگی خوبی برخوردار است، در روش‌های مختلف از اسیدها مختلفی (از جمله سولفوریک اسید) برای این منظور استفاده می‌کنند

به طور انتخابی تا میزان دلخواه کاهش داده شود و از این طریق، تشخیص غلظت‌های بالاتر از حد مجاز متانول در نوشیدنی‌های الکلی امکان‌پذیر شود.

در روش حاضر (۱) به  $1 \text{ ml}$  از نمونه در داخل یک بالن ژوژه  $50 \text{ ml}$ ، حجم  $2 \text{ ml}$  پتاسیم پرمنگنات  $W/V$   $3\%$  (حاوی  $W/V$   $15\%$  ارتوفسفریک اسید<sup>(۱)</sup>) افزوده شده و سپس، بالن به مدت  $30$  دقیقه در حمام آب سرد قرار داده می‌شود. در این مرحله، هر کدام از الکلی‌های موجود در محیط به آلدید و سپس، اسید مربوطه اکسید می‌شوند. محتویات داخل بالن با افزودن مقدار کافی سدیم هیدروژن سولفیت بی‌رنگ شده و سپس  $1 \text{ ml}$  محلول آبی  $W/V$   $5\%$  کروموتروپیک اسید و  $15 \text{ ml}$  سولفوریک اسید غلیظ به محتویات بالن اضافه می‌شود. در ادامه، بالن به مدت  $15$  دقیقه در حمام آب در دمای  $60$  درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود که در این مرحله، فرمالدئید حاصل در محیط شدیداً اسیدی تحت تاثیر حرارت با معرف اختصاصی خود واکنش داده و ایجاد کمپلکس بنفش رنگ می‌کند. پس از گذشت مدت زمان لازم، دمای محتویات بالن ژوژه تا  $25$  درجه سانتی‌گراد پایین آورده شده و حجم آن با آب مقطر به  $50 \text{ ml}$  رسانده و میزان جذب در مقابل شاهد در طول موج  $575 \text{ nm}$  قرائت می‌شود.

## مواد مورد استفاده

کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق (پروپانول، پتاسیم پرمنگنات، سولفوریک اسید، سدیم هیدروژن سولفیت و کروموتروپیک اسید) با درجه خلوص تجزیه‌ای (P.A) از شرکت مرک آلمان خریداری شد و بدون هیچ‌گونه خالص‌سازی بیشتر مورد استفاده قرار گرفت.

## روش انجام آزمایش

در این تحقیق، آزمایش‌ها بر مبنای استاندارد کشورهای اروپایی درباره دوز مجاز متانول در نوشیدنی‌های الکلی ( $W/V$   $7/4\%$ ) انجام پذیرفت. برای این منظور، ابتدا، محلول‌های  $W/V$   $2/5\%$  پتاسیم پرمنگنات،  $W/V$   $2/5\%$  سولفوریک اسید،  $W/V$   $5\%$  سدیم هیدروژن سولفیت،  $W/V$   $1\%$  کروموتروپیک اسید و محلول‌های  $W/V$   $7/3\%$ ،  $W/V$   $7/4\%$  و  $W/V$   $7/5\%$  متانول در اتانول  $60$  درجه در آب مقطر تهیه شدند. به عبارت دیگر، به منظور کنترل، مقادیر پایین‌تر و بالاتر از مقدار مجاز متانول نیز ساخته و به همراه آن مورد آزمایش قرار گرفتند. سپس، به منظور به دست آوردن مقدار حجم لازم از نمونه و مواد واکنش دهنده، آزمایش‌های متعددی صورت گرفت تا سرانجام روش زیر به علت کسب بهترین نتایج مورد قبول واقع شد.

ابتدا  $3$  لوله آزمایش تمیز انتخاب و شماره‌گذاری شد و سپس،  $50 \mu\text{L}$  از هر کدام از نمونه‌ها (حاوی  $W/V$   $7/3\%$ ،  $W/V$   $7/4\%$  و  $W/V$   $7/5\%$  متانول در اتانول  $60$  درجه) به داخل لوله‌ها ریخته و به آنها  $100 \mu\text{L}$  پروپانول اضافه شد و محتویات لوله‌ها با تکان دادن مخلوط شدند (پروپانول به دلیل اکسید شدن و مصرف اکسندگی با متانول رقابت

محیط شدیداً اسیدی)، از واکنش سولفوریک اسید غلیظ و آب موجود در محیط به دست می‌آید. از طرف دیگر، استفاده از پروپانول امکان شناسایی غلظت‌های صرفاً مسمومیت‌زا و بالاتر از دوز مجاز متانول در نوشیدنی‌های الکلی را امکان‌پذیر ساخته است. لازم به ذکر است، این روش به گونه‌ای طراحی شده که می‌توان با اعمال تغییراتی آن را برای شناسایی همین مقدار از متانول در محلول‌های دارای درجه الکلی کمتر (مانند ۴۰ درجه) یا بیشتر قابل استفاده نمود. از طرف دیگر، این روش نیز مانند سایر روش‌های آزمایشگاهی دارای محدودیت‌هایی است که از عمده‌ترین آنها می‌توان به نحوه استفاده از آن در شناسایی متانول در نوشیدنی‌های رنگی اشاره نمود که در آنها آماده‌سازی (تخلیص و بی‌رنگ نمودن) نمونه قبل از انجام آزمایش با کمک روش‌های تقطیر حرارتی یا تقطیر در خلاء الزامی است. البته، عدم دسترسی به نمونه‌های واقعی نوشیدنی‌های الکلی باعث شد، مطالعه آنها از نظر وجود متانول امکان‌پذیر نباشد، اما، امید است، با همکاری مراجع ذیصلاح انجام چنین بررسی در آینده میسر شود.

### نتیجه‌گیری

از آنجا که روش جدید ارایه شده ضمن برخورداری از دقت و حساسیت بالا، ارزان و ساده بوده و کاربری آن با هر سطحی از دانش فنی و حداقل امکانات آزمایشگاهی در هر آزمایشگاه عمومی امکان‌پذیر است، می‌توان انتظار داشت، در آینده از قابلیت کاربردی فراوانی برخوردار شود، به طوری که، می‌تواند در اکثر صنایع و کارگاه‌های کوچک و نیز آزمایشگاه‌های عمومی که فاقد امکانات لازم فنی و توان مالی کافی برای خرید و استفاده از روش‌های پیشرفته، گران و پرهزینه کروماتوگرافی هستند، مورد استفاده قرار گیرد.

### تقدیر و تشکر

مراتب سپاس و تقدیر خود را از پارک علم و فناوری گیلان و مسؤولین محترم آن اداره که در راه پیشبرد مراحل مختلف این طرح (و ثبت آن به عنوان یک اختراع) کمال همکاری و مساعدت را داشتند و نیز راهنمایی‌های آقایان دکتر حسن کفایتی، دکتر عنایت‌اله مرادی، دکتر حمزه کیانی و خانم دکتر کبری اخوان اعلام می‌داریم.

موارد، مقدار کنترل نشده متانول در آنها بیشتر از حد مجاز بوده و خطر ایجاد مسمومیت را به دنبال دارد که شواهد عینی رخ داده در طول سال‌های اخیر در کشور نشانه بارز آن است. از این رو وجود یک روش دقیق، حساس و مقرون به صرفه شیمیایی (مانند روش رنگ‌سنجی کروموتروپیک اسید) برای کنترل و نظارت ارزان و آسان در این زمینه بسیار ضروری به نظر می‌رسد. در روش کروموتروپیک اسید، محلول‌های پتاسیم پرمنگنات و سولفوریک اسید رقیق که در مرحله اول واکنش به محیط اضافه می‌شوند، باعث تبدیل الکل (مثلاً متانول) به آلدید (مانند فرمالدئید) و اسید (مانند فرمیک اسید) مربوطه می‌گردند. از آنجا که در روش جدید پیشنهادی، شناسایی کیفی غلظت‌هایی بیشتر از دوز مجاز متانول در نوشیدنی‌های الکلی مد نظر است، به کارگیری غلظت‌های خاص مواد اکسنده و ترکیبی که بتواند با متانول بر سر اکسید شدن توسط پتاسیم پرمنگنات رقابت نماید، ضرورت دارد. برای این منظور ترکیبات مختلفی مورد آزمایش قرار گرفتند که پروپانول مناسب‌تر از همه تشخیص داده شد. بنابراین، در روش پیشنهادی، قبل از اضافه شدن واکنش‌گر اکسنده، مقدار مشخصی پروپانول به نمونه افزوده می‌شود تا از تأثیر ماده اکسنده بر متانول کاسته شود. در هر حال، پس از افزودن پتاسیم پرمنگنات و سولفوریک اسید رقیق یک دقیقه فرصت داده می‌شود تا واکنش‌های شیمیایی صورت پذیرند. در مرحله بعد، افزودن سدیم هیدروژن سولفیت باعث رنگ‌بری می‌شود تا با تغییر رنگ محیط از بنفش (رنگ پتاسیم پرمنگنات) به بی‌رنگ، امکان مشاهده رنگ حاصل از واکنش مثبت احتمالی (رنگ بنفش حاصل از تشکیل کمپلکس فرمالدئید- کروموتروپیک اسید) میسر شود که از طریق احیای  $Mn^{2+}$  به  $Mn^{7+}$  صورت می‌پذیرد. پس از این مرحله، معرف اختصاصی فرمالدئید (کروموتروپیک اسید) به همراه سولفوریک اسید غلیظ به محیط افزوده می‌شود که طی آن، فرمالدئید به وجود آمده در محیط با معرف اختصاصی خود واکنش داده و تولید کمپلکس بنفش رنگ می‌کند. البته، روش جدید پیشنهادی از مزایای مختلفی نسبت به روش قبلی برخوردار است که از آن جمله می‌توان به کاربرد مقادیر کم نمونه و مواد واکنش‌گر (کاهش آلودگی‌های زیست محیطی) و حذف حرارت (کاهش احتمال بروز خطرات ناشی از کاربرد سولفوریک اسید داغ و غلیظ) اشاره نمود. حرارت لازم برای انجام واکنش بین کروموتروپیک اسید و فرمالدئید در این مرحله (در

## References

- 1- Karimi G, Hassanzadeh M, Shahihdi N, Samiee Z. Determination of methanol in distilled herbaceous drinks by spectrophotometric method, *Faslnameh giahah daroe*. 1386; 25: 57-59. [Persian]
- 2- The Merck index. An encyclopedia of chemicals, drugs and biological, Division of Merck & Co. 12th ed. 2942-3.
- 3- Lewis RS. *Hawley's condensed chemical dictionary*. 14th ed. 148.
- 4- Taghaddossnejad F. *Clinical toxicology and poisoning diagnosis and treatment*. 1985; 164-7. [Persian]
- 5- Pajoumand AK, Jalili N, Aghdassi M, Saadatian SA. *Poisoning & Drug Overdose*. 1993; 439-40. [Persian]
- 6- Chen SH, Yen CH, Wu SM, Lin SJ, Kou HS, et al. Trace determination of methanol in water-ethanol solution by derivatization and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1998; 799: 93-9.
- 7- Quanmin L, Huanhuan Z. Study of methanol catalyzed reaction between sodium 1,2-aphthoquine-4-sulfonate and hydroxyl on and its application in the determination of methanol, *Spectrochim A. Acta*. 2008; 71: 245-51.
- 8- Garcia de Maria C, Manzano T, Duarte R, Alonso A. Selective flow-injection determination of methanol using immobilized enzyme reactors. *Anal Chim Acta*. 1995; 309: 241-50.
- 9- Wu MC, Jiang CM, Ho YY, Shen SC, Chang H M. Convenient quantification of methanol in juices by methanol oxidase in combination with basic fuchin. *Food Chem*. 2007; 100: 412-18.
- 10- Savary BJ, Nuñez A. Gas chromatography-mass spectrometry method for determining the methanol and acetic acid contents of pectin using headspace solid-phase microextraction and stable isotope dilution. *Journal of Chromatography A*. 2003; 1017: 151-9.
- 11- Ashraf AM, Ahmed TM, Zakaria MHM, Khaled FF. Highly sensitive and selective catalytic determination of formaldehyde and acetaldehyde. *Talanta*. 2008; 74: 578-85.
- 12- Official Method of Analysis of AOAC International. Williams Company. USA.1995, Chapter 26; 15.
- 13- Fagnani E, Melios CB, Pezza L, Pezza HR. Chromotropic acid formaldehyde reaction in strongly acidic media. The role of dissolved oxygen and replacement of concentrated sulphuric acid. *Talanta*. 2003; 60: 171-6.
- 14- Pickard AD, Clark ER. The determination of traces of formaldehyde, *Talanta*. 1984; 763: 31.

# Application a colorimetric method for qualitative analysis of methanol

Ali Rafizadeh \*† - Shahab Shariati\*\* - Liela Pourmohammad\*\*\* - Soodeh Fooladmehr\*\*\*\*

\*BS in Laboratory Sciences, Nursing & Midwifery School, Islamic Azad Univeristy, Rasht Branch

\*\*PhD in Analytical Chemistry, Faculty Member of Chemistry Department, Basic Sciences School, University, Rasht Branch

\*\*\*MSc in Organic Chemistry School, Islamic Azad University, Rasht Branch

\*\*\*\*Bs in Chemistry, Chemistry Department, Basic Sciences School, Islamic Azad University, Rasht Branch

## Abstract

**Background:** In spite of many usefulness and progressive application of methanol in today life and industry, the accidental or unawareness drinking of it in alcoholic drinks caused some problems in public health. Therefore, it seems, qualitative detection of methanol in concentrations more than permissible dose in such products is necessary. In this study, a new qualitative method with easy application based on chromotropic acid method has been suggested for detection of toxic dose of methanol in alcoholic drinks.

**Methods:** After adding potassium permanganate (containing orthophosphoric acid) to sample into a fixed 50 mL volumetric flask in a cold bath and waiting for specified period, enough sodium hydrogen sulfite is added to it for decolorizing of mixture. Then, chromotropic acid with concentrated sulfuric is added to the flask and it is fixed in a 60°C bath for 15 minutes. After this time, the flask is cooled and its volume is arisen to 50 mL and then, optical density of the solution is determined in 575 nm.

**Findings:** The obtained results were shown; application of micro amounts of sample and reactants would have good results such as decreasing of application limits of classic chromotropic acid method. Furthermore, using of a competitive reactant (propanol) is lead to detection of methanol in concentrations more than toxic amount in alcoholic drinks.

**Conclusion:** For detection of methanol in concentrations more than permissible dose or toxic amount in alcoholic drinks that based on European countries standard is about 0.4% v/v, the chromotropic acid method can be used as an accurate, sensitive, simple, cheap and rapid method in general laboratories with no especial equipment.

**Key words:** Methanol; Qualitative Analysis; Colorimetry; Chromotropic Acid

Received: 26 Jan 2010

Accepted: 8 June 2010

†Correspondence: Physiology Lab, Nursing & Midwifery School Blvd, Rasht, Iran

Mpalirafizadeh@gmail.com