

## ESPECTROFLUORIMETRIA MOLECULAR (FL)

### Ficha técnica do equipamento

Espectrofluorímetro Shimadzu RF-5301PC

---

**Fonte de excitação:** Lâmpada de arco de Xe, 150 W;

**Seletores de comprimento de onda:** Monocromadores

**Monocromador de emissão:** Grade de difração côncava controlada mecanicamente

**Monocromador de excitação:** Grade de difração côncava controlada mecanicamente

**Detector:** Fotomultiplicadora R928

**Resolução:** 1,0 nm

**Faixa de varredura:** 220 – 990 nm

**Velocidade de varredura:** até 5500 nm/min

---

### Determinação de quinino em água tônica

O quinino (sulfato de quinina) é uma das drogas antimaláricas mais utilizadas contra a doença causada pelo *Plasmodium falciparum*, sendo adicionada em água para produzir água tônica, conferindo seu sabor amargo. A quantificação dessa molécula por fluorescência é de grande importância no controle de qualidade em indústrias farmacêuticas e de bebidas.

A fluorescência é o fenômeno de emissão de radiação por espécies previamente excitadas por radiação eletromagnética. As aplicações analíticas da fluorescência baseiam-se no fato de que os espectros de fluorescência são característicos de cada molécula, podendo ser utilizada tanto para identificação quanto para quantificação, destacando-se pelos baixos limites de detecção geralmente obtidos (de ng/mL a pg/mL).

A espectrofluorimetria molecular consiste na excitação de moléculas que apresentem o fenômeno de fluorescência (em geral, espécies contendo sistemas  $\pi$  conjugados e/ou aromáticos), excitando-se estas moléculas com o comprimento de onda apropriado ( $\lambda_{\text{excitação}}$ ) e medindo-se a intensidade da radiação emitida ( $\lambda_{\text{emissão}}$ ).

## DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO

### *Preparo das soluções para a curva analítica*

A partir de uma solução estoque de quinino 10 mg/L em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 M, preparar os padrões nas seguintes concentrações:

**Tabela 1:** Diluições para os padrões

Concentração de quinino (mg/L)	Volume da solução estoque (mL)	Volume aproximado de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,05 M (mL)	Volume total do balão volumétrico (mL)
0,4			10,0
0,8			10,0
1,2			10,0
1,5			10,0
2,0			10,0
5,0			10,0
10,0			-
Amostra			-

### *Aquisição do espectro de emissão*

No espectrofluorímetro, obtenha o espectro de emissão do quinino, utilizando a solução de 2,0 mg/L. Tenha por base o conhecimento prévio do espectro de absorção dessa molécula no UV-Vis.

**Tabela 2:** Parâmetros do espectro de emissão do quinino

Comprimento de onda do início da varredura, nm	
Comprimento de onda do fim da varredura, nm	
Comprimento de onda de emissão máxima, nm	

### *Aquisição do espectro de excitação*

No espectrofluorímetro, obtenha o espectro de excitação do quinino, utilizando a solução de 2,0 mg/L. Tenha por base o espectro de emissão obtido anteriormente.

**Tabela 3:** Parâmetros do espectro de excitação do quinino

Comprimento de onda do início da varredura, nm	
Comprimento de onda do fim da varredura, nm	
Comprimento de onda excitação máxima 1, nm	
Comprimento de onda excitação máxima 2, nm	

#### *Curva analítica*

Utilizando as informações espectrais obtidas anteriormente, escolher um comprimento de onda para excitação e outro para medir a intensidade de fluorescência emitida. Faça sua escolha considerando a intensidade do pico e sua posição no espectro. Lembre-se que comprimentos de onda muito energéticos podem degradar o analito. Faça a análise em triplicata.

**Tabela 4:** Curva analítica para o quinino

Concentração Quinino (mg/L)	Intensidade da emissão (u.a.)		
0,4			
0,8			
1,2			
1,5			
2,0			
5,0			
10,0			
Amostra diluída			

## Estudo da supressão por haletos

### *Preparo das soluções de NaBr*

A partir de uma solução estoque de NaBr 0,05 M, preparar as seguintes soluções de NaBr, em solução de quinino 2,0 mg/L:

**Tabela 5:** NaBr em solução de quinino 2,0 mg/L

Concentração de NaBr (mmol/L)	Volume de solução estoque de NaBr (mL)	Volume aproximado de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,05 M (mL)	Volume de solução estoque de quinino 10,0 mg/L (mL)	Volume total do balão volumétrico (mL)
0			2,0	-
2			2,0	10,0
4			2,0	10,0
8			2,0	10,0
16			2,0	10,0
32			2,0	10,0

### *Análise da supressão por haletos*

Utilizando o mesmo comprimento de onda de excitação da curva analítica, analisar as soluções de quinino contendo NaBr. Faça a análise em triplicata.

**Tabela 6:** Curva da supressão por haletos

Concentração de NaBr (mmol/L)	Intensidade da emissão (u.a.)		
0*			
2			
4			
8			
16			
32			

\* Essa leitura é chamada de  $F_0$ ; As demais são denominadas  $F$ ;

### Tratamento dos dados

#### Curva analítica

Construa a curva analítica do quinino, montando um gráfico de intensidade de emissão (u.a.) x concentração de quinino (mg/L), usando todos os dados obtidos e não apenas as médias. Obtenha o coeficiente angular e linear para sua curva. Coloque os erros em cada ponto do seu gráfico. A partir dessas informações, calcular a concentração de quinino na água tônica. Levar em consideração o fator da diluição inicial.

#### Análise da supressão por haletos

Construa uma curva de  $F_0/F$  x concentração de haleto adicionado (essa curva é chamada de gráfico de Stern-Volmer). Obtenha o coeficiente angular e linear para sua curva. Coloque os erros em cada ponto do seu gráfico. A partir dessas informações, calcular a constante de supressão para o íon  $Br^-$ , segundo a equação:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q \cdot [Br^-]$$

## Questões complementares

- 1) Faça um diagrama de blocos de um espectrofluorímetro, detalhando seus componentes principais e descrevendo sua função.
- 2) Por que o detector dos espectrofluorímetros geralmente é posicionado a  $90^\circ$  da direção do feixe de radiação incidente?
- 3) Quais são as principais diferenças entre um espectrofotômetro e um espectrofluorímetro, tanto em termos instrumentais e analíticos quanto em termos fenomenológicos?
- 4) Descreva quais são os tipos de supressão de fluorescência (*quenching*) e como podem ser evitados.