

## Programação dos Experimentos – Bloco 01

- **Espectroscopia de absorção molecular:** Determinação de sulfato ferroso em formulação farmacêutica.
- **Métodos de automação em fluxo:** Determinação de íons fosfato em amostras de Coca-Cola e Biotônico por FIA.

<b>Data</b>	<b>Exp. 3</b>	<b>Exp. 4</b>
<b>07/03</b>	G1, G2, G3	G4, G5, G6
<b>14/03</b>	G4, G5, G6	G1, G2, G3

**G1:** Vitor de Lima Ribeiro e Pablo Figueiredo

**G2:** Lucas Castanho e Pedro S.

**G3:** Pedro Leonel, Livia e Ana Carla

**G4:** Ana Livia, Larissa Rodrigues e Maisa M.

**G5:** Ana Laura, André e Nicolas

**G6:** Bruna, Vinicius e Ricardo

## BLOCO 1

### Experimento 3 – Absorção Molecular

#### Determinação espectrofotométrica do ferro em complexos vitamínicos

##### 1. Objetivo

Determinar o comprimento de onda de máxima absorção no visível empregando o espectrofotômetro de arranjo de diodos.

Traçar curva analítica para as determinações quantitativas.

Determinar a concentração de ferro presente na amostra desconhecida.

Discutir os fundamentos teóricos da técnica de espectrofotometria.

##### 2. Materiais e reagentes

- 10 balões volumétricos de 100 mL
- 3 balões volumétricos de 250 mL
- 3 béqueres de 100 mL
- 1 Pipeta volumétrica de 1, 2, 3, 5, 10 e 25 mL
- 1 Pipeta graduada de 10 mL
- 1 Bastão de vidro
- Papel indicador
- Micropipeta (100-1000 $\mu$ L)
- Hidroquinona 1% (m/v) (Preparar minutos antes do experimento);
- Tampão Ácido cítrico/Citrato de sódio pH 3,5 (Preparada pelos técnicos antes do experimento);
- Solução hidroalcoólica (90:10 v/v) de orto-fenantrolina 0,25% (m/v) (Preparada pelos técnicos antes do experimento);
- Solução padrão de ferro (40 mg. L<sup>-1</sup>)
- Comprimidos de sulfato ferroso
- 1 par de cubetas

##### 3. Procedimento Experimental

###### 3.1. Preparo da Amostra

Pesar 10 comprimidos do produto farmacêutico e calcular a massa média de uma unidade.

Pesar a massa da amostra correspondente à massa média de um comprimido e colocar em um béquer de 100 mL. Adicionar 10 mL de solução tampão e agitar até a dissolução da amostra. Transferir quantitativamente a solução para um balão volumétrico de 100 mL e completar o volume com água deionizada. Realizar este procedimento em triplicata.

Transferir, com a micropipeta, 500  $\mu$ L da solução preparada anteriormente para um novo balão volumétrico de 250 mL. Adicionar 25 mL de tampão, 5,0 mL de solução aquosa de hidroquinona 1% (m/v) e 7,0 mL de solução hidroalcoólica de *o*-fenantrolina 0,25% (m/v). Completar o volume com água deionizada. Verificar o pH, que deverá ser próximo de 3,5. Realizar este procedimento em triplicata.

### **3.2. Branco de referência**

Em um balão volumétrico de 100 mL, pipetar 10 mL de solução tampão, 2,0 mL de solução aquosa de hidroquinona 1% (m/v) e 3,0 mL de solução hidroalcoólica de *o*-fenantrolina 0,25% (m/v). Completar o volume com água deionizada. Verificar o pH, que deverá ser de  $\sim$ 3,5.

### **3.3. Curva Analítica**

Pipetar 1,00, 2,00, 3,00, 5,00 e 10,00 mL da solução padrão de ferro (40 mg/L) em balões volumétricos de 100 mL identificando-os como A, B, C, D e E respectivamente. Em seguida, adicionar 10 mL de solução tampão em todos os balões. Em TODOS os balões, adicionar 2,0 mL de solução aquosa de hidroquinona 1% (p/v) e 3,0 mL de solução hidroalcoólica de *o*-fenantrolina 0,25% (p/v) e completar o volume com água deionizada. Verificar o pH de cada solução, que deverá ser de  $\sim$ 3,5.

## **4. Leitura da Absorbância**

Deixar **todas as soluções em repouso por pelo menos 10 minutos** antes de efetuar a leitura da absorbância. (A cor é estável, de forma que todas as soluções podem ser preparadas e todas as absorbâncias medidas de uma só vez).

Determinar o  $\lambda_{\text{máx}}$  do complexo de ferro com *o*-fenantrolina, através do espectro VIS de absorbância versus  $\lambda$  (em diferentes comprimentos de onda) no

espectrofotômetro com detector de arranjo de diodos. **Obs.: Utilizar uma das amostras da curva analítica.**

Medir a absorvância, no espectrofotômetro de comprimento de onda fixo, de cada amostra no  $\lambda_{\text{máx}}$ .

## 5. Questões:

- 1) Traçar a curva analítica (absorvância vs miligramas/mL de ferro nos padrões). Determinar o coeficiente angular a intersecção pelo método dos mínimos quadrados.
- 2) Calcule a concentração de Fe (*o*-fenantrolina)<sub>3</sub><sup>2+</sup> e determine a absorvidade média ( $\epsilon$ ) das cinco leituras de absorvâncias. (Lembre-se que todo ferro foi convertido no complexo de fenantrolina).
- 3) Usando a curva analítica, calcule a massa (mg/g) de ferro no comprimido.
- 4) Faça um esquema e explique os diferentes sistemas de detecção dos espectrofotômetros de comprimento de onda fixo e arranjo de diodos (DAD).
- 5) O que ocorreria se as leituras de absorvância das soluções fossem realizadas em comprimento de onda diferente do  $\lambda_{\text{máx}}$ ?
- 6) Explique a reação química que ocorre durante o preparo de amostra.
- 7) Anexe todos os seus resultados e cálculos junto ao relatório.
- 8) Uma amostra aquosa contendo Fe<sup>2+</sup> é tratada com 1,10-fenantrolina para formar um complexo colorido para detecção. A solução tratada dá uma absorvância de 0,367 quando medida com uma cubeta de 1,00 cm em 510 nm. Em seguida, 5,0 mL de uma solução de Fe<sup>2+</sup> 0,02 M são adicionados a 10,0 mL de amostra desconhecida e tratada com 1,10-fenantrolina da mesma forma que no exemplo anterior, constando-se uma absorvância de 0,538 em 510 nm. Com base nesta informação, qual a concentração de Fe<sup>2+</sup> na amostra desconhecida original?

## 6.0 Bibliografia

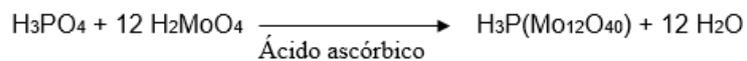
HARRIS, Daniel C. *Análise química quantitativa*. 5ª ed. Rio de Janeiro, LTC, 1999.

## Experimento 4 - Análise por Injeção em Fluxo (FIA)

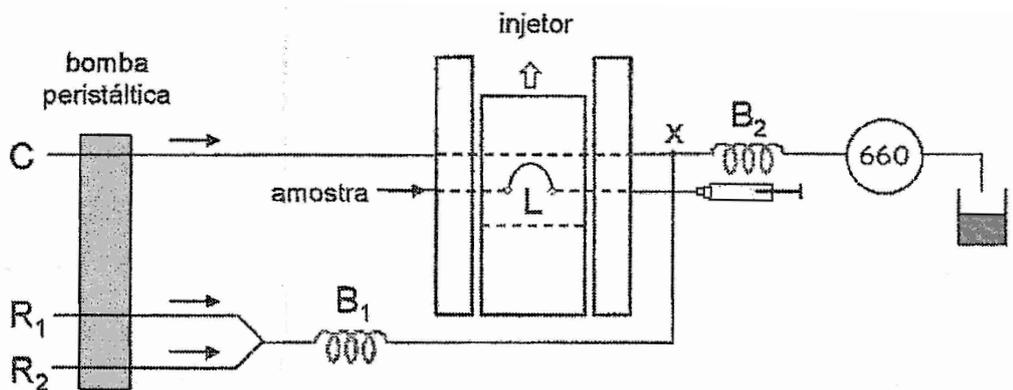
### Determinação de íons fosfato em amostras de Coca-Cola e Biotônico Fontoura

#### 1. Determinação de íons fosfato

Um método espectrofotométrico amplamente utilizado para determinação da concentração de fosfato é baseado em sua reação com molibdato de amônio e ácido ascórbico em meio ácido. Fosfato forma um heteropoliácido com molibdato, que é posteriormente reduzido por ácido ascórbico com a formação de um produto azul:



A determinação de fosfato pode ser implementada com o sistema FIA esquematizado a seguir:



Na posição mostrada na figura, a amostra é aspirada com uma seringa hipodérmica, preenchendo a alça de amostragem (L), enquanto o transportador (C, H<sub>2</sub>O) e os reagentes R1 (molibdato de amônio 2,5 mmol L<sup>-1</sup> em meio HNO<sub>3</sub> 0,2 mol L<sup>-1</sup>) e R2 (ácido ascórbico 2,5 % (m/v)) são continuamente bombeados. Os reagentes R1 e R2 se misturam na bobina B1 (50 cm). Quando a porção central do injetor é movimentada no sentido pela seta, a alíquota de amostra é inserida no transportador, sendo conduzida em direção ao detector. No ponto de confluência x, a amostra recebe os reagentes e a reação se processa a bobina B2. A vazão total e o comprimento de B2 (250 cm) definem o tempo médio de residência (tempo

disponível para ocorrência da reação química). O produto formado é detectado em  $\lambda = 660 \text{ nm}$ , no espectrofotômetro equipado com uma cela de fluxo.

## 2. Materiais:

- Balão volumétrico de 100 mL (1)
- Balão volumétrico de 50 mL (7)
- Equipamento para FIA (1)
- Padrão de fosfato (hidrogenofosfato de sódio)
- Molibdato de amônio  $2,5 \text{ mmol L}^{-1}$  em meio  $\text{HNO}_3$   $0,2 \text{ mol L}^{-1}$  (50 mL)
- Ácido ascórbico 2,5% (m/v) (50 mL)
- Micropipetas

## 3. Procedimento:

Preparar soluções padrão de fosfato 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0  $\text{mg L}^{-1}$ , em balões de 25 mL a partir de uma solução estoque  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . A amostra de Coca-cola deve ser previamente degaseificada. As amostras de Coca-Cola e Biotônico devem ser previamente diluídas, respectivamente, 35 e 357 vezes, ambas em balão de 25 mL.

I. Empregando a solução de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , avaliar o efeito da variação do volume de amostra (150, 250 e 500  $\mu\text{L}$ ) substituindo a alça de amostragem (L);

II. Com a alça de 250  $\mu\text{L}$ , determinar a concentração de fosfato nas amostras. Efetuar três medidas para cada padrão ou amostra. Fazer um gráfico das absorbâncias do pico obtidas (valor médio) em função da concentração de e calcular a concentração de fosfato nas amostras.

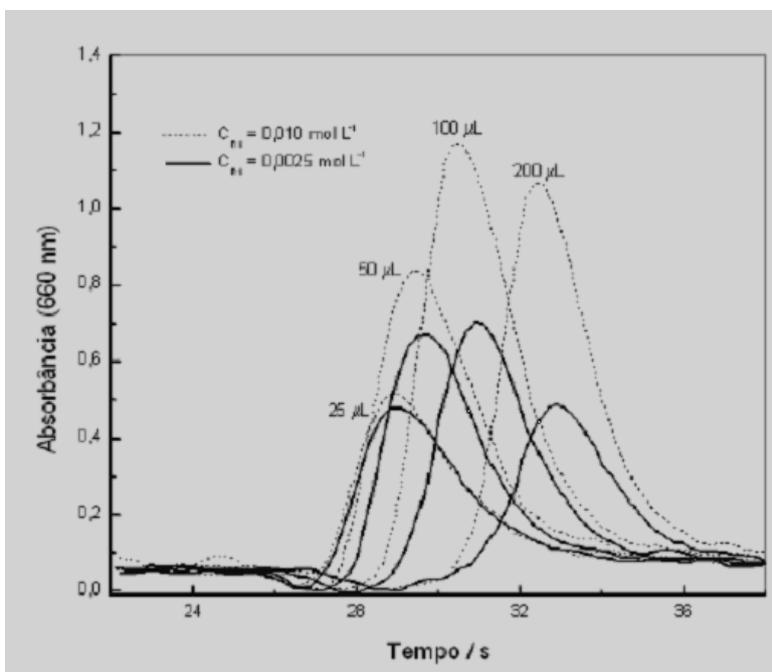
III. Parar a bomba peristáltica com o centro da zona de amostra no interior da cela de fluxos.

## 4. Questões

1) Discutir a influência do volume de amostra e do percurso analítico (B2) no sinal analítico, com base nos dados experimentais obtidos pelo grupo.

2) Os dados da figura abaixo foram obtidos por um determinado grupos durante as aulas experimentais. Com base nesta figura, discutir a influência do volume de

amostra (25, 50, 100 e 200  $\mu\text{L}$ ) no sinal analítico. Sendo que as concentrações de R1 (molibdato de amônio) estudadas foram  $2,50 \times 10^{-3}$  e  $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , enquanto que a concentração de R2 (ácido ascórbico) foi mantida fixa em 2,50% (m/v).



- 2) Discuta o perfil do sinal obtido com base na dispersão da amostra.
- 3) Compare a determinação espectrofotométrica convencional com a efetuada em fluxo, comente vantagens e desvantagens.
- 4) Supondo a possibilidade de variar a rotação da bomba peristáltica, como o sinal seria afetado?
- 5) Calcule a concentração de fosfato nas amostras, expressando como  $\text{H}_3\text{PO}_4$  em  $\text{mg L}^{-1}$  (considerar o máximo de algarismos significativos e expressar o desvio das medidas).
- 6) Compare o resultado experimental com o especificado no rótulo do biotômico. Existem diferenças significativas em um intervalo de confiança de 95%?
- 7) Estime a frequência de amostragem e o consumo de molibdato de amônio e de ácido ascórbico por determinação.