### **Química Analítica Experimental II – 2019**

Profa. Adalgisa R. de Andrade

Prof. Anderson R. M. de Oliveira

Profa. Maria Eugênia Queiroz Nassur

Nome do aluno:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**Primeira edição: 2000**

**Edição revisada em 2019**

LABORATÓRIO

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| aula | Dia | TEMA APRESENTADO |
| 1 | 6/8 | Aula inicial |
| 2 | 13/8 | Experimento bloco1 |
| 3 | 20/8 | Experimento bloco1 |
| 4 | 27/8 | Experimento bloco1 |
|  | 3/9 | Feriado Semana da Patria  |
| 5 | 10/9 | Experimento bloco 1 |
| 6 | 17/9 | Experimento bloco 1 |
| 7 | 24/9 | Experimento bloco 1 |
| 8 | 1/10 | Prova 1 |
| 9 | 8/10 | Experimento bloco 2 |
|  | 15/10 | sem aula |
| 10 | 22/10 | Experimento bloco 2 |
| 11 | 29/10 | Experimento bloco 2 |
| 12 | 5/11 | Experimento bloco 2 |
| 13 | 12/11 | Experimento bloco 2 |
| 14 | 19/11 | Experimento bloco 2 |
| 15 | 26/11 | Prova 2 |

MF = (P1 x 3) + (P2 x 3) + (NL x 4) / 10

P = provas escritas 1, 2

NL= nota de laboratório

**Alguns comentários sobre a parte experimental da disciplina**

Vocês estarão cursando as últimas disciplinas de Química Analítica do curso. Espera-se, que nesta etapa, já tenha adquirido maturidade para trabalhar de forma independente, contudo sem esquecer todos os requisitos básicos que foram ensinados ao longo do curso.

**PARA QUE NOSSOS OBJETIVOS SEJAM ALCANÇADOS ALGUMAS MUDANÇAS DE COMPORTAMENTO DEVEM SER PARTE ROTINEIRA DO DIA A DIA DO LABORATÓRIO. NESTE SENTIDO, O APRENDIZADO OCORRERÁ, A PARTIR DA REALIZAÇÃO DAS EXPERIÊNCIAS DE FORMA CONCIENTE, DA ANÁLISE CRÍTICA DOS RESULTADOS E DA SISTEMATIZAÇÃO DOS MESMOS. ESTE TIPO DE SISTEMÁTICA DE TRABALHO É UMA CONSTANTE NA VIDA PROFISSIONAL DE UM QUÍMICO.**

**VALE LEMBRAR ALGUMAS REGRAS BÁSICAS QUE SERÃO EXIGIDAS NESSE SEMESTRE**

**1. Nunca venha para a aula de laboratório sem estar preparado para executar o experimento programado (ler a teoria pertinente nos livros textos recomendados/ fazer uma lista de dúvidas sobre a teoria/ fazer um esquema (organograma da execução proposta/ trazer todos os cálculos das concentrações exigidos). Entregar no dia da aula do laboratório - um resumo da preparação do laboratório (valor 1 pontos na nota do relatório).**

**QA Experimental II: Resumo do experimento.**

# Data do experimento:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ número do experimento\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Nomes integrantes : \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

no grupo: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1- Qual o objetivo do experimento?

2- Descreva brevemente o tipo de medida que será realizada e a forma da curva experimental que será obtida em cada caso de análise.

3-: Faça um organograma do experimento que será realizado.

4- coloque as principais reações químicas envolvidas durante o experimento.

5- Qual os principais cuidados que se deve ter para executar o experimento com resultados satisfatórios.

2. Nunca use um composto químico sem saber a periculosidade do mesmo. Procure a ficha FISPQ e mantenha com você durante o experimento.

3. Nunca use um equipamento sem saber a rotina de operação (leia o manual antes).

4. A qualidade do relatório dependerá da qualidade dos dados obtidos. Trabalhe com atenção e cuidado, anote todas as informações.

5. Prepare o relatório de forma objetiva, analisando criticamente os resultados apresentados. **O relatório completo, sempre é entregue no início do próximo experimento.** No dia do laboratório será cobrado somente o resumo dos resultados (ficha anexa- copie esta ficha no caderno ou tire cópia para ser entregue).

6. SEGUIR RIGOROSAMENTE TODAS AS RECOMENDAÇÕES EXPOSTAS NO LABORATÓRIO. VOCÊ É RESPONSÁVEL PELA SUA SEGURANÇA E DOS DEMAIS PRESENTES NO LABORATÓRIO.

**RELATÓRIOS**

**A descrição de um procedimento experimental é rotina do trabalho de qualquer profissional na área de química. O objetivo é fornecer todas as informações necessárias para tornar reprodutível o experimento realizado. Um relatório deve ser sucinto, escrito de forma clara, ser pessoal (isso significa que o autor se responsabiliza pela autenticidade do relato), empregar frases curtas e objetivas, evitar interpretações subjetivas. Apresentar uma conclusão baseada nos fatos/dados relatados. EVITEM COPIAR/COLAR ARQUIVOS DOS COLEGAS.**

 **Deve conter os seguintes itens:**

1. **Título seguido do nome dos autores**
2. **Resumo**
3. **Introdução**
4. **Parte experimental**
5. **Resultados e discussão**
6. **Conclusão**
7. **Bibliografia**
8. **(pesquisar sites: \**[**http://bsjoi.ufsc.br/files/2010/09/Modelo\_de\_relatorio\_tecnico-cientifico.pdf0**](http://bsjoi.ufsc.br/files/2010/09/Modelo_de_relatorio_tecnico-cientifico.pdf0)**)**

Modelo de resumo de resultados: **deverá ser entregue no final da aula experimental**

**QA Experimental II: Relatório diário do experimento.**

# Data do experimento:\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ número do experimento\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

número da amostra analisada:\_\_\_\_\_

Nomes integrantes : \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

no grupo: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1- O objetivo do experimento foi atingido? Indique um número de 0-10, sendo 0 não e 10 totalmente. \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

2-Descreva observações relevantes durante execução do experimento:

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

3-Média da concentração da amostra desconhecida: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

4- Valor fornecido pelo docente: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

5- Erro frente ao valor teórico(%): \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

Conclusões: \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

**🡪 Os anexos utilizados para obtenção do resultado da amostra (anotações de procedimentos, cálculos de concentração, gráficos, erro) devem ser entregues no relatório.**

\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*

Resíduos químicos de laboratório
\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*

Alguns lugares onde procurar coisas interessantes sobre os resíduos químicos de laboratório:

1. Página do laboratório do tratamento de resíduos do Campus da USP de Ribeirão Preto: www.pcarp.usp.br/lrq
2. Da American Chemical Society, o documento "Less is Better" deve ser encarado como uma leitura inicial obrigatória. Pode ser acessado em http://portal.acs.org/portal/fileFetch/C/WPCP\_012290/pdf/WPCP\_012290.pdf, ou usando a busca disponível na homepage da ACS. (http://portal.acs.org/portal/acs/corg/content)
3. - A Universidade de Illinois (Urbana-Champaign) tem um excelente conjunto de documentos no seu Chemical Safety Section (CSS), um dos quais chamado de "101 maneiras para reduzir resíduos em laboratório"  (em inglês 101 Ways to Reduce Hazardous Waste in the Laboratory). Neste endereço (http://www.drs.uiuc.edu/css/guide/index.htm) você encontrará uma excelente coleção de textos sobre o assunto.

Leiam e se informem sobre o assunto:

A Química do século XXI deve ser uma ciência que busca soluções para resolver os problemas ambientais.

**Produzir (energia, alimentos, bens se serviço) sem gerar resíduos.**

Artigo:

Flavia Martins da Silva, Sérgio Bergo de Lacerda e Joel Jones Junior, *Desenvolvimento sustentável, e química verde,* Química Nova, v. 28, n. 1, p. 103-110, 2005

**Planilha de experimentos:**

**BLOCO 1:**

* E1- Titulação biamperométrica de iodo com tiossulfato -Método dead-stop
* E2- Eletrólise a potencial e corrente constante de cobre com determinação coulométrica -coulômetro digital-
* E3- Titulação coulométrica de ácido (HCl)
* E4- Titulação de Karl-Fisher
* E5- Análise quantitativa de Ácido Ascórbico por voltametria cíclica
* E6- Determinação de Paracetamol – FIA\_ eletroquímico (4-Acetoamino Fenol ou Acetoaminophen)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Grupo** | **Aula 1** | **Aula 2** | **Aula 3** | **Aula 4** | **Aula 5** | **Aula 6** |
|  | **13/8** | **20/8** | **27/8** | **10/8** | **17/9** | **24/9** |
| **1** | **E1** | **E2** | **E3** | **E4** | **E5** | **E6** |
| **2** | **E2** | **E3** | **E4** | **E5** | **E6** | **E1** |
| **3** | **E3** | **E4** | **E5** | **E6** | **E1** | **E2** |
| **4** | **E4** | **E5** | **E6** | **E1** | **E2** | **E3** |
| **5** | **E5** | **E6** | **E1** | **E2** | **E3** | **E4** |
| **6** | **E6** | **E1** | **E2** | **E3** | **E4** | **E5** |
| **7** | **E1** | **E2** | **E3** | **E4** | **E5** | **E6** |

***1/10 Prova 1***

**EXPERIMENTO # 1**

***Titulação biamperométrica de iodo com tiossulfato -Método dead-stop***

**Objetivos do experimento:**

* Aprender os princípios de um experimento debiamperometria.
* Compreender o princípio da técnica e sua aplicação.
* Determinar a concentração de uma amostra desconhecida de iodato de potássio.

**Referências:** Skoog e West: Fundamentals of Instrumental Analysis

 A.I. Vogel: Química Analítica Quantitativa

 D. T. Sawyer: Instrumental methods of analysis

**Aparelhagem:** microamperímetro (fonte pequena-f.e.m.de 1-100 mV) (**A**)

multímetro (**B**)

2 eletrodos de platina (fios ou placas) (**C**)

**Vidraria:** 01 bureta de 10,00 mL, 01 béquer de 100 mL com tampa

 01 conta-gotas, 01 proveta de 50,00 mL

 01 pipeta volumétrica de 5,00 mL, 01 pipeta volumétrica de 50,00 mL, 01 funil, 01 pisseta, 01 béquer de 50,00 mL, 01 balão volumétrico de 250,0 mL para eletrólito de suporte, 01 frasco com a amostra desconhecida de iodato de potássio, 01agitador magnético e barra magnética, 01 pró-pipeta, 01 garra dupla, 01 garra pequena e 01 mufa, 01 big jack

**Reagentes fornecidos:** solução padrão de tiossulfato de sódio ~ 0,1000 M

ácido acético glacial,iodeto de potássio PA sólido

 amostra desconhecida de iodato de potássio

**A**

**B**

**C**

**Esquema experimental:**

**Procedimento:**

1. Preparar uma solução de HNO3 1:1. Mergulhar os eletrodos de platina nesta solução por 5 minutos. Enxagüar com bastante água deionizada.
2. Preparar 250,0 mL de uma solução de ácido acético/água desionizada 1:4.
3. Colocar 50,00 mL de uma solução de ácido acético 1:4 em um béquer de 100 mL com tampa. Adicionar 2,0 g de KI.
4. Colocar os eletrodos. **CUIDADO!! NÃO** deixar as placas ou fios de platina se tocarem, pois pode provocar curto-circuito.
5. Ligar a fonte e associar um multímetro digital em série. Aplicar uma tensão de 80-100 mV para calibração do microamperímetro.
6. Passar o microamperímetro para modo de corrente. Desconectar o multímetro. Ligar o microamperímetro a célula. **Não variar a tensão durante o experimento.**
7. **Certificar com o responsável de que tudo está ligado corretamente.**
8. Antes do início do experimento, certificar a utilização da bureta.
9. Transferir 5,00 mL da amostra desconhecida de iodato de potássio para o béquer de titulação.
10. Titular a amostra desconhecida de iodato de potássio até a solução tornar-se incolor. Anotar o valor da corrente após cada adição do titulante. Anotar o valor do ponto final pela variação da coloração. Continuar a titulação até ter ultrapassado em aproximadamente 30 % o ponto de equivalência.
11. Repetir a titulação por **3 X**.

**Tratamento dos dados:**

* Traçar o gráfico da corrente em função do volume adicionado. Determinar o ponto de equivalência.
* Calcular a concentração de iodato de potássio na amostra desconhecida fornecida pelo técnico. Determinar o desvio observado e fornecer dados finais. Comparar o resultado obtido com o valor fornecido pelo docente.

**Questões:**

1. **Quais as reações envolvidas na determinação?**
2. **O que está ocorrendo no eletrodo indicador antes e depois do ponto de equivalência?**
3. **O que ocorreria se o meio fosse básico? Justifique. (preparação)**

**Destino dos resíduos:**

Após cada titulação, descartar as soluções dos béqueres num recipiente apropriado para descarte de iodato com tiossulfato. Depois de realizadas todas as titulações, a solução de HAc e a solução de HNO3 utilizada na limpeza dos eletrodos que restarem devem ser descartadas no recipiente para descarte de ácidos e bases. As soluções que restarem da amostra desconhecida de iodato de potássio e do tiosssulfato de sódio devem ser descartadas num recipiente apropriado para descarte de iodato com tiossulfato.

EXPERIMENTO # 2

**Eletrólise a potencial e corrente constante de cobre com determinação coulométrica -coulômetro digital-**

**Objetivos do experimento:**

* Aprender os princípios da eletrólise a potencial e corrente controlada.
* Saber exatamente as polaridades e equações envolvidas em cada eletrodo.
* Calcular a concentração de uma amostra desconhecida de nitrato de cobre.

**Referências:** D. T. Sawyer:Experiments for Instrumental methods

Skoog e West: Fundamentals of Instrumental Analysis

 A.I. Vogel: Química Analítica Quantitativa

**Aparelhagem:** potenciostato (**A**)

 registrador X-Y (**B**)

 multímetro (**C**)

 secador de cabelo

 eletrodo de referência (ECS ou Ag/AgClsat.) (**D**)

 2 redes de platina (**E**)

**Vidraria:** 05 béqueres de 50 mL -02 béqueres de 150 mL-01 béquer de 250 mL

01 pisseta- 01 frasco contendo a amostra desconhecida-02 pipetas graduadas de 1,00 mL-01 pipeta volumétrica de 5,00 mL-01 pipeta volumétrica de 10,00 mL- 01 vidro de relógio-agitador magnético e barra magnética-03garras pequenas, 02 garras grandes e 05 mufas-01 pinça metálica-01 cronômetro-01 big jack- pró-pipeta-01 conta-gotas

**Reagentes fornecidos:** álcool etílico PA

 ácido sulfúrico concentrado

 ácido nítrico concentrado

 uréia sólida

 amostra desconhecida de nitrato de cobre

**Esquema experimental:**

**A**

**B**

**C**

**D**

**E**

**Procedimento:**

1. Anotar as características da amostra.
2. Preparar 40 mL de uma solução de HNO3 1:1 para limpar a rede de platina. A rede de platina que será utilizada como cátodo deve ser imersa por 5 minutos nesta solução. Enxaguar com bastante água deionizada e álcool PA, por imersão. Secar com ar quente. Depois de frio, pesar (com precisão de 0,0001g) o eletrodo de platina que será utilizado como cátodo. Anotar a massa correspondente. **Manusear o cátodo com pinça para evitar contaminação pela gordura da mão.**
3. Colocar 50 mL de água deionizada no béquer de 250 mL. Adicionar lentamente 1,00 mL de H2SO4 conc e 1,00 mL de HNO3 conc. Adicionar 0,5 g de uréia. Completar o volume com água desionizada até 150 mL. (Procedimento alternativo seria dispensar a uréia e aquecer esta solução até ebulição). **Rotular como eletrólito de suporte**. Reservar.
4. Transferir cerca de 25,00 mL de eletrólito de suporte para um béquer de 50 mL (célula eletroquímica).
5. Iniciar a montagem da célula eletroquímica. Ao montar os eletrodos tome os seguintes cuidados:

**A:** Colocar o eletrodo de referência o mais próximo do eletrodo de trabalho e fora do campo elétrico gerado pelo ânodo e cátodo.

**B: Cuidado.** Não deixar a rede de platina tocar com o contra eletrod, pois ocorrerá um curto circuito podendo danificar seriamente o instrumento.

**C**: Usar um big-jack para abaixar e levantar o conjunto da célula.

1. Ajustar o equipamento no modo **potenciostato**. O potencial deve ser de
-150 mV se o eletrodo de referência for o Ag/AgCl sat ou -200 mV se for ECS. Conectar os eletrodos:

WE (work electrode) 🡪 eletrodo de trabalho ou cátodo (redução de cobre)

CE ou AE (auxiliary electrode) 🡪 eletrodo auxiliar ou ânodo

RE (reference electrode) 🡪 eletrodo de referência

**Certificar se tudo está ligado corretamente!!!!!!**

1. Levantar a célula até que os eletrodos fiquem cerca de 3 mm da barra magnética.
2. Fazer uma pré-eletrólise do eletrólito de suporte. Usar a barra magnética pequena e um agitador magnético para promover a convecção da solução com agitação. Aplicar o potencial determinado no item 1. Aguardar até que a corrente atinja um valor constante.
3. Adicionar 10,00 mL da amostra desconhecida de nitrato de cobre na célula eletroquímica, contendo eletrólito de suporte pré-eletrolizado. E iniciar a contagem do coulômetro digital e iniciar o cronômetro.
4. Observar e anotar as condições em que o experimento está sendo conduzido. Fatores como temperatura, área dos eletrodos, geometria dos eletrodos, intensidade de agitação, concentração da amostra, volume da célula e potencial aplicado afetam a corrente de eletrólise, ou seja, no tempo de eletrólise.
5. Ao final da eletrolise anotar o valor obtido pelo integrador coulometrico (Qtotal). Anote o valor da corrente residual ou final (i/A) e tempo gasto no experimento (s).
6. Desligar o potenciostato. Desconectar o eletrodo de trabalho. Abaixar, imediatamente e cuidadosamente, a célula. Enxaguar o eletrodo de trabalho com bastante água deionizada e álcool, sempre por imersão. Secar com ar quente o cátodo (com o depósito de cobre) e colocá-lo sobre o vidro de relógio. Pesar e anotar a massa de cobre obtida.
7. **Repetir a eletrólise com uma segunda alíquota de cobre agora adotando o procedimento de corrente constante. Para tal, aplique uma corrente de aproximadamente 100 mA. Atenção ao realizar o procedimento de corrente constante o eletrodo de referencia (item D- do esquema) não é utilizado.**
8. **Anote a massa no final do experimento tomando os cuidados descrito nos itens 6 e 7.**
9. **Tratamento dos dados:**
* Calcular o valor da carga de cobre
* Qcobre = Qtotal – Qresidual
* Qresidual = ifinal x tempo da eletrolise (s)
* Calcular a massa média de cobre obtida pelos dois procedimentos. Discuta esse valor.
* Compare os valores de carga nos dois experimentos e discuta os valores obtidos.
* Relatar o desvio observado nas massas e nas cargas. Fornecer dados finais ao docente.
* Comparar o resultado obtido com o valor real. Explique as possíveis diferenças obtidas.

**Questões:**

1. Quais as reações que ocorrem no cátodo e no ânodo?
2. Por que é necessário ferver o ácido nítrico? Qual a função do ácido nítrico? (para o caso de não se utilizar a uréia)
3. O que poderia ser feito para melhorar a aparência e a aderência do depósito obtido?

**Destino dos resíduos:**

###  Após cada eletrólise, descartar a solução do béquer num recipiente apropriado para descarte de ácidos e bases. Depois de realizadas todas as eletrólises, a solução do eletrólito de suporte que restar deve ser descartada no mesmo recipiente. Faça o mesmo com o restante da amostra desconhecida e com a solução de HNO3 utilizada na limpeza dos eletrodos. O álcool pode ser descartado diretamente na pia desde que a torneira esteja aberta ou colocar no frasco de álcool comercial (para limpeza externa de vidrarias).

***EXPERIMENTO #3***

**Titulação coulométrica de ácido (HCl)**

**Objetivos do experimento:**

* Aprender a operar um titulador coulométrico.
* Determinar a concentração de uma amostra desconhecida de ácido HCl.
*

**Referências:** Skoog e West: Fundamentals of Instrumental Analysis

A.I. Vogel: Química Analítica Quantitativa.

**Aparelhagem :** colulômetro Methrom (A) – multímetro (B) – 01 rede de aço inox (C) – 01 fio em espiral de prata – eletrodo combinado de vidro (D) – pHmetro (E)

**Vidraria:** 01 balão volumétrico de 250,0 mL para preparo do eletrólito de suporte-01 balão vol. de 100,0 mL contendo a amostra desconhecida-01 pisseta-01 pipeta volumétrica de 50,00 mL-01 pipeta volumétrica de 10,00 mL- 01 pipeta volumétrica de 1,00 mL-01 pipeta volumétrica de 2,00 mL-01 pipeta volumétrica de 5,00 mL-03 béqueres de 50 mL-02 béqueres de 100 mL com tampa- 01 conta-gotas-agitador magnético e barra magnética-01 garra pequena e 01 mufa- pró-pipeta

**Reagentes fornecidos:** solução de amônia concentrada, HNO3

amostra desconhecida de ácido ponte salina de KCl

indicador fenolftaleína

**Esquema experimental:**

**A**

B

**C**

**D**

**E**

Na presença de eletrodo de prata em solução de NaBr haverá formação de AgBr na solução. Deste modo, as reações que ocorrem nos eletrodos são:

 (ânodo) Ag 🡪 Ag+ + e

 Ag+ + Br- 🡪 AgBr

 (cátodo/Pt) 2 H2O + 2e = H2 + 2OH-

1. Preparar 250,0 mL de solução de brometode sódio 0,05 M (6g/L). Rotular como eletrólito de suporte.
2. Colocar 50 mL do eletrólito de suporte na célula coulométrica. Pipetar 10,00 mL da amostra desconhecida na célula de titulação. Adicionar 2 gotas de fenolftaleína.
3. Colocar no béquer o eletrodo de prata, o eletrodo de platina e o eletrodo combinado de vidro.
4. **ATENÇÃO.** Neste experimento, o ponto final da titulação coulométrica será determinado pela mudança de cor do indicador e por meio da potenciometria (eletrodo de vidro combinado + pHmetro).
5. Ajustar o coulômetro para aplicar uma corrente constante entre 10-30 mA. Colocar o multímetro em série para medida exata da corrente aplicada. Zerar o cronômetro do próprio aparelho. Ajustar o pHmetro. Medir o pH da solução.
6. Disparar o botão do cronômetro do coulômetro para iniciar o experimento. Fazer paradas de tempos em tempos. Anotar o valor do tempo e do pH da solução.
7. Parar o cronômetro quando o indicador visual mudar de coloração. Anotar o valor do tempo. Anotar o pH da solução.
8. Continuar a titulação até que se permita obter uma curva potenciométrica satisfatória. (pH vs. tempo).
9. Repetir a operação com mais duas alíquotas da amostra desconhecida de ácido.
10. **Atenção**. Lavar cuidadosamente toda a vidraria e célula antes e após cada titulação com bastante água deionizada.
11. Após cada titulação, lavar o eletrodo de prata com uma solução de amônia concentrada e o eletrodo de platina com uma solução de HNO3 1:1.

**Tratamento dos dados:**

Dados: F=96487 C mol-1

* Traçar a curva de titulação potenciométrica.
* Determinar a concentração da amostra desconhecida pelos dois métodos (visual e potenciométrico).

**Questões:**

1. Comparar o procedimento adotado nesta titulação com o adotado em uma titulação potenciométrica clássica. Quais as principais vantagens e desvantagens desta análise?
2. Quais são os fatores limitantes de uma titulação coulométrica?

**Destino dos resíduos:**

Após cada titulação, descartar a solução do béquer num recipiente apropriado para descarte solução contendo resíduos de prata. Faça o mesmo com o restante da amostra desconhecida que restar. Os eletrólitos de suporte que sobrarem podem ser descartados diretamente na pia.

**EXPERIMENTO # 4 Titulação Karl Fischer Coulometrica- KFc**

**Determinação da umidade de um solvente ogânico**

Teoria: Na titulação coulometrica no lugar de uma bureta a corrente é utilizada para gerar o reagente (iodo). No caso da Reação de KF ao aplicar corrente libera-se estequiometricamente a quantidade de iodo contida no reagente de KF pela eletrolise de iodeto. Este equipamento trabalha para determinar pequenas quantidades de água geralmente na faixa de 10 microgramas --- 2000 mg de água com uma resolução de 0,1 micrograma de água.

 O equipamento de KF coulométrico trabalha com uma faixa de correntes variáveis 200-400 mA para gerar iodo no ânodo a partir do iodeto que está presente na reação reagente.

2 I- - 2e- 🡪 I2  (z = 2, M = 253,6)

 m = MQ/zF

m = massa da substância convertida em gramas; M massa molar em g/mol; Q carga medida em A/s; z número de elétrons trocados; F equivalente eletroquímico ( 96485).

O reagente de KF em meio de metanol apresenta a seguinte reação para a determinação de água.

 H2O + I2 + [RNH]+SO2CH3-+ 2RN 🡪 [RNH]+SO4CH3 + 2 [RNH]+I

a razão molar entre água:iodo é 1:1

**Objetivo**

Determinação de teor de água de álcool comercial

**Referências**

* Skoog e West: Fundamentals of Instrumental Analysis- Harris – Química Analítica Quantitativa

**Aparelhagem:** Titulador Karl-Fischer coulométrico - Metrohm

**Vidraria:** Célula eletroquímica- microseringa

**Reagentes Fornecidos:**  Reagente de Karl-Fischer

**Procedimento:**

1. Ligar o aparelho seguindo o manual e aguardar o início de operação
2. Ambientar a seringa com a amostra de etanol a ser analisado, colocar cerca de 1ml na seringa e tarar a balança com a seringa com etanol
3. Transferir de 3 a 4 gotas no recipiente do aparelho, seguindo as instruções do manual
4. Ao témino anotar o resultado
5. Realizar o experimento em triplicata para cada amostra

**Tratamento dos Dados**

1. Calcular a % de água existente no solvente orgânico.

**Questões:**

Quais as reações que ocorrem no cátodo e no ânodo?

**EXPERIMENTO # 5**

 ***Análise de Ferricianeto por voltametria de pulso diferencial (VPD)***

**Objetivos**

 Determinar a concentração de Ferricianeto usando a técnica de pulso diferencial

**Vidraria**: 01 balão volumétrico de 100ml, 01 balão volumétrico de 25ml, 01 pipeta graduada de 10 ml, pró pipeta, conta gotas, barra magnética, 2 beckeres de 25, becker de 10ml, Pisseta, micropipetas 1000 e 50.

**Reagentes fornecidos**: eletrólito de suporte KNO3 1,0 mol /L, solução padrão de ferricianeto 0,1005 mol/L.

**Aparelhagem**: Potenciostato / Galvanostato Autolab, Eletrodo de platina Carbono (célula eletroquímica), agitador magnético.

**Esquema experimental**:

 

**Condições voltamétricas**

 Potencial inicial = 0,4 V vs Ag/AgCl

Potencial final = -0,1 V vs Ag/AgCl

 Step potencial = 50 mV

Amplitude do pico = 25 mV

**Procedimento experimental**

1. Adicionar 10 mL de eletrólito de suporte
2. Encaixar o eletrodo “screen printed ” na célula eletroquímica.
3. Registrar um voltamograma de pulso do Eletrólito de suporte (branco)
4. Construir a curva analítica: fazer 5 adições sucessivas de 20µl da solução padrão de ferricianeto , agitar por 30 segundos a cada adição e parar. Proceder a medida do VPD
5. Descartar a solução.
6. Adicionar 10,0 mL de eletrólito de suporte – nesta solução adicionar um volume conhecido da amostra desconhecida.
7. Realizar 3 adições do padrão de ferricianeto sobre esta amostra. Atenção as adições devem duplicar, triplicar e quadruplicar o sinal da amostra.
8. Plotar os valores de corrente de pico versus concentração para os dois experimentos realizados.
9. Calcular a concentração da amostra desconhecida usando os dois métodos. Compare os resultados obtidos.
10. Plotar o potencial de pico versus a concentração. Explique o resultado obtido.

**EXPERIMENTO # 6: FIA**

***Determinação de Paracetamol (4-Acetoamino Fenol ou Acetoaminophen)***

 A determinação de paracetamol em medicamentos pode ser feita por oxidação eletroquímica, de acordo com a seguinte reação:



Para uma descrição mais detalhada, consulte Anal. Chem., 1981, 53, 2258.

 O sistema FIA a ser utilizado está esquematizado a seguir:



**Vidraria**:**:** 1Balões Volumétricos de 100, 7 Balões Volumétricos de 25 mL;
 2 Béqueres de 100 mL; Pisseta; Conta gotas; Micro pipeta 20-200 ; almofariz e pistilo

**Reagentes fornecidos**: tampão HAc/Ac pH 4; 4-acetamino fenol; Tylenol

**Aparelhagem**: bomba peristáltica, espectrofotômetro, célula eletroquímica, agitador magnético.

**Procedimento experimental:**

 A solução transportadora (tampão Ac-/Hac, pH 4,0) é impulsionada por gravidade, passa pelo injetor e chega à célula eletroquímica, na qual ocorre o processo de oxidação. As soluções a serem analisadas serão preparadas com a mesma solução tampão utilizada como transportador.

 Inicialmente, um comprimido de Tylenol é dissolvido em um balão de 100 mL. Comece com~30% do volume total no balão. Em poucos minutos de agitação o comprimido estará dissolvido e o balão pode ser completado à marca.

 Pese precisamente em balança analítica cerca de 0,1000 g de 4-acetamino fenol e dilua em um balão de 25 mL, tomando os mesmos cuidados que foram indicados no caso do comprimido de Tylenol. Pipete cuidadosamente 25, 50, 75, 100, 125 μL desta solução padrão para balões de 25 mL e complete os mesmos com a solução tampão Ac-/Hac, pH 4,0.

 Fixe o potencial em + 0,90 V (vs ECS), e com o eletrodo de platina posicionado no segundo compartimento da célula eletroquímica, faça injeções da solução mais concentrada para escolher a faixa de corrente a ser utilizada (escolha a faixa de corrente que propicie o maior pico, sem entretanto ultrapassar o limite do registrador). Fazer injeções das 5 soluções padrão para construir a reta de calibração.

 Pipetar 50 μL da solução de Tylenol para um balão de 25 mL e completar o volume com a solução tampão. Homogeneizar e injetar a solução da amostra em triplicata. Com base na curva de calibração, calcule o conteúdo de paracetamol no comprimido analisado.

**Questões:**

**a) Quais são as reações que acontecem nos eletrodos? (preparação)**

b) Tylenol contém outros componentes. Estes causam interferência neste estudo?

c) Compare as vantagens e desvantagens da utilização da gravidade e de bombas peristálticas.

d) Qual é a diferença (%) entre o valor indicado na embalagem e o encontrado no presente estudo?

**Bloco 2- Métodos de Separação**

***BLOCO 2***

**EXPERIMENTO 1 - CROMATOGRAFIA GASOSA (GC)**

***Determinação da concentração de Metanol e/ou Etanol em amostras de Biodiesel***

***OBS: trazer luvas e máscara para essa aula prática***

1. **Introdução**

A Cromatografia Gasosa (CG) é uma técnica para separação e análise de misturas de substâncias voláteis. Esta prática tem como objetivo a familiarização dos alunos com o equipamento assim como a determinação de parâmetros cromatográficos e a quantificação de metanol e/ou etanol em biodiesel.

O biodiesel, combustível renovável e biodegradável, constituído de uma mistura de ésteres, é produzido a partir da reação de transesterificação de um triglicerídeo, óleo vegetal, com um álcool de cadeia curta, normalmente, metanol ou etanol. A presença de metanol ou etanol no produto final, em concentrações superiores ao especificado pela legislação vigente, interfere no ponto de fulgor, propriedade importante dos combustíveis, e que está relacionada com o transporte dos mesmos. Pela resolução ANP n.7 de 19/03/ 2008, o teor máximo permitido para álcool (metanol ou etanol), no biodiesel, é de 0,20% m/m

1. **Objetivo**

Determinação da concentração de metanol e/ou etanol em amostra de biodiesel utilizando-se à técnica de padronização interna por Cromatografia Gasosa de Alta Resolução.

1. **Equipamento**
* Cromatógrafo a gás: Varian Star 3400.
* Coluna: SPBTM-1: Coluna Sílica Fundida 30m x 0.53mm x 3.0µm – Marca: Supelco.
1. **Materiais e reagentes:**
* Microsseringa de 10 µL
* Eppendorf de 2.0 mL
* Pipeta Pasteur
* Pipeta automática de 10 a 1000 µL
* Béquer de 25 mL
* Padrões: Metanol e Etanol - PA
* Padrão Interno: terc-butanol - PA
* Solvente: 1-butanol - PA
* Solução estoque Mistura :1% dos padrões de metanol e 1% etanol (m/v) utilizando o n-1-butanol como solvente ( Preparado pelos técnicos)
* Solução estoque de 0,5 % (m/v) de terc-butanol (Padrão Interno) utilizando o 1-butanol - como solvente ( Preparado pelos técnicos)
1. **Procedimento:**
	1. ***Condições cromatográficas:***
* Programação de temperatura da coluna: Temperatura inicial de 50 ºC durante 3 min, aquecendo a rampa de 50ºC/min. Manter nesta temperatura durante 2 min.
* Temperatura do injetor: 160ºC
* Temperatura do detector: 225ºC
* Gás de arraste: nitrogênio
* Vazão de hidrogênio: 30 mL/min
* Vazão de nitrogênio + Make up: 10 mL/min
* Vazão de ar sintético: 300 mL/min
* Volume injeção da amostra de 0,2 µL
	1. ***Preparação da Curva Analítica***

Partindo da solução estoque da **mistura de 1% de metanol e 1% etanol (m/v)**, efetuar as diluições nas concentrações de 0,05; 0,10; 0,20, 0,40 e 0,60 % (m/v) em tubo tipo “Eppendorf” de 2,0 mL, conforme indica a Tabela 1 abaixo.

A cada solução diluída dos padrões (metanol e etanol), adicionar um volume constante de 200 µL da solução padrão 0,5% do Padrão Interno (terc-butanol).

**Tabela 1.** Preparar diluições para volume final de 1 mL de 1-Butanol

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** |
| **Padrão % (m/v)** | 0,05% | 0,1% | 0,2% | 0,4% | 0,5% |
| **Metanol e Etanol** | 50 µL | 100 µL | 200 µL | 400 µL | 500 µL |
| **Terc-butanol (PI)** | 200 µL | 200 µL | 200 µL | 200 µL | 200 µL |
| **1-butanol (solvente)** | 750 µL | 700 µL | 600 µL | 400 µL | 300 µL |
| **Volume Total** | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL | 1000 µL |  |

Agitar as soluções vigorosamente. Injetar 0,2 µL cada solução padrão diluída no GC-FID. Identificar os picos de etanol ou metanol, terc-butanol e seus respectivos tempos de retenção. Obter as áreas dos picos de metanol e/ou etanol e terc-butanol (Padrão Interno). Calcular a razão das áreas utilizando a equação a seguir:

R = área analito / área PI

Traçar as curvas analíticas (uma para o metanol e outra para o etanol), colocando no eixo das abcissas as concentrações dos analitos nas soluções padrões e no eixo das ordenadas (y), os valores das razões de áreas (R).

* 1. ***Preparação da amostra***

Em um eppendorf de 2,0 mL, previamente tarado, pesar aproximadamente **100** µL da amostra de biodiesel, acrescentar **200** µL da solução estoque terc-butanol (PI) e **700** µL de solvente 1-butanol (Volume Total 1000 µL). (**CUIDADO PARA NÃO DEIXAR** **CAIR BIODIESEL NA BALANÇA**). Injetar 0,2 µL da amostra de biodiesel com o padrão interno no GC-FID.

1. **Cálculos e resultados**

Aplicar os valores obtidos para cada injeção da amostra na equação da curva analítica. Obter os valores de concentração dos componentes de interesse para cada injeção.

1. **Questões**
2. Calcular o fator de retenção, resolução cromatográfica, números de pratos teóricos, altura equivalente a um prato teórico e retenção relativa (α) dos analitos.
3. Discutir a resolução cromatográfica em relação à variação da temperatura da coluna, no modo isotérmico e empregando a temperatura programada.
4. A escolha do padrão interno empregado nesta análise foi adequada? Discutir.
5. Descrever os princípios teóricos do detector de ionização de chama (FID).

**Experimento 2 – CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

**Determinação de cafeína em amostras de chá**

1. **Objetivo**

Determinação (qualitativa e quantitativa) de cafeína em amostras de chá utilizando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

1. **Materiais e reagentes**
* 06 balões volumétricos de 10 mL
* 02 béqueres de 250 mL com vidro de relógio
* 02 béqueres de 10 mL
* Chapa de aquecimento
* 02 micropipetas de 100-1000 µL
* Proveta de 100 mL
* Termômetro de 100°C
* 02 Epepndorf de 2 mL
* Bastão de vidro médio
* Micro seringa de vidro
* Bacia com gelo
* Água Milli-Q
* Membrana 0,45 mn di do poro
* Padrão analítico de cafeína
* Amostras de chá
1. **Instrumentação**
* Cromatógrafo Líquido - Shimadzu
* Detector: Arranjo de Diodo – Modelo: SPDM-10ADVP (λ = 254 nm)
* Injetor Reodyne com Loop (alça de amostragem) de 20 µL
* Coluna: SGE C18: (250 mm *x* 4,6 mm D.I., diâmetro da partícula 5µm e diâmetro do poro = 120 Å).
* Pressão máxima da coluna: 300 Kgf/cm²
* microsseringa 100 µL.
1. **Condições cromatográficas**
* Fase móvel- Metanol: solução aquosa ácida pH 3,5 (50:50 v/v)
* Vazão: 1 mL/min
* Alça de amostragem: 20 µL
1. **Procedimento experimental**
	1. ***Solução-padrão da cafeína***

Partindo da solução-padrão de cafeína na concentração 0,5 mg/mL, preparar as soluções-padrão diluídas nas seguintes concentrações: 0,025; 0,05; 0,075; 0,1 e 0,125 mg/ mL. Estas soluções diluídas deverão ser preparadas em solução de metanol 50%, pH=3,5. Injetar em triplicata cada uma das concentrações.

* 1. ***Preparo da amostra de “chá”:***

Pesar a massa correspondente a um sachê de chá. Mergulhar a amostra de chá em 200 mL de água (MilliQ) à 80º C por 10 minutos. Após atingir à temperatura ambiente, pipetar 3,0 mL da amostra em balão volumétrico de 10 mL e completar o volume com a solução de metanol 50%, pH 3,5. Filtrar, com auxílio da micro seringa de vidro em membrana com porosidade 0,45 µm, recolher o filtrado em eppendorf e injetar no CLAE nas condições indicadas no item 4.

1. **Questões**
2. Traçar a curva analítica para a determinação de cafeína (Área do padrão versus Conc). Determinar a concentração de cafeína na amostra desconhecida. A partir das concentrações de cafeína encontradas pelos grupos, discuta a precisão intra-ensaio do método, ou seja, o coeficiente de variação (CV).

CV = s . 100/x, onde s é o desvio padrão e x, a média das concentrações.

1. Determinar a concentração de cafeína (m/m) em relação a massa do sachê de chá utilizado.
2. Discutir o mecanismo de separação em cromatografia líquida em fase reversa.
3. Otimizar as condições cromatográficas (proporções dos componentes da fase móvel e comprimento de onda)
4. Discutir os modos de eluição por gradiente e isocrática.

**Experimento 3 – tROCA IÔNICA**

***separação dos íons Co2+ e Cu2+***

1. **Objetivo**

 O principal objetivo deste experimento será separar os íons Cu2+ e Co2+ por cromatografia de troca iônica e construir o cromatograma correspondente à separação usando espectrofotometria na região do VIS.

1. **Materiais e reagentes**
* 1 bureta de 10 mL;
* 1 suporte universal;
* 1 garra para bureta;
* tubos de ensaio de capacidade 3 mL;
* 1 pipeta de Pasteur;
* 2 béqueres de 50 mL;
* lã de vidro
* Tubo para introduzir lã de vidro na bureta
* Resina Troca Iônica Dowex 50WX4-200- Sigma/Aldrich;
* Amostra: Soluções de concentração 0,05 mol. L-1 de CuSO4 .4H20 e 0,1 mol. L-1 de CoCl2 .6H20
* Solução tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,2 mol/L pH=5,5;
* Solução tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,2 mol/L pH=3,5; (contendo NaCl 0,3 mol/L)
* 1 espectrofotômetro;
* 1 par de cubetas.
1. **Procedimento Experimental**
	1. ***Preparo da coluna cromatográfica***

Para o preparo da coluna cromatográfica, pesar aproximadamente 10g de resina íon-exchange resin Dowex 50WX4-200 hydrogen form (Sigma-Aldrich), transferir para um béquer e lavar com 100 mL de água deionizada durante 2 minutos. Descartar o sobrenadante e repetir este procedimento de lavagem mais duas vezes. Adicionar 50 mL da solução tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,20 mol. L-1 de pH= 5,5 ao béquer que continha a resina e reservar.

 Utilizando uma bureta de 10 mL, adicionar uma pequena porção de lã de vidro em sua extremidade, percolar um pouco da solução tampão para a fixação da lã no fundo da bureta (acima da torneira) e em seguida, adicionar 10 mL da solução tampão na bureta.

 Em seguida, transferir à bureta a solução que continha resina. Adicionar pouco a pouco, agitando constantemente o béquer, de modo que toda a resina fique suspensa para ser transferida à coluna. Controlar a vazão para 1,0 mL/min (20 gotas correspondem a ~1 mL). Nunca deixe a coluna secar.

 O preparo da coluna será previamente realizado pelo técnico.

* 1. ***Aplicação e eluição da amostra***

Adicionar à coluna cromatográfica, com o auxílio de uma micropipeta, 0,5 mL da amostra contendo os íons Co2+ e Cu2+. Ao aplicar a amostra, o nível do tampão deve estar pouco acima da resina, aproximadamente 2 mm. ESTA ETAPA DEVE SER FEITA CUIDADOSAMENTE PARA NÃO REVOLVER A RESINA. Após a amostra adentrar na resina, iniciar a eluição dos analitos utilizando a solução tampão de pH 5,5.

Coletar as alíquotas de 2,0 mL em tubos de ensaio identificados (2,4, 6, .... mL) para posterior análise no espectrofotômetro.

Cada alíquota deverá ser analisada nos comprimentos de ondas de 510 nm e 680 nm. Utilizar a solução tampão como branco de referência.

O mesmo procedimento deverá ser realizado utilizando tampão citrato de sódio/ácido cítrico 0,20 mol. L-1 de pH 3,5 (contendo NaCl 0,3 mol/L).

***IMPORTANTE: a coluna cromatográfica NUNCA deverá ficar sem solução, para que esta não resseque.***

* 1. ***Análise espectrofotométrica dos cátions***

Fazer as leituras das absorbâncias de todas as frações recolhidas, utilizando o tampão citrato como branco.

A absorção em 510 nm para o íon Co2+ e em 680 nm para o íon Cu2+.

1. **Tratamento dos resultados**

Montar uma tabela com os valores de absorbância obtidos para cada comprimento de onda e para cada um dos valores de pH;

Construir cromatogramas com os valores de absorbância obtidos em função das diferentes frações e discutir os resultados.

1. **Questões**
2. Um exemplo clássico da aplicação da cromatográfica líquida por troca iônica é a separação do níquel, manganês, cobalto, cobre, ferro e zinco utilizando-se uma coluna de troca aniônica. A eluição foi realizada com HCl em concentrações, que variaram de 12,0 a 0,005 mol L-1. A Figura 1 abaixo ilustra essa separação:



**Figura 1**. Separação de metais de transição (Mn a Zn) a concentrações variáveis de HCl. Coluna Dowex 1, 26 *x* 0,29 cm, operada a uma vazão de 30 mL h-1. Concentrações de HCl: 1 = 12 mol L-1; 2 = 6 mol L-1; 3 = 4 mol L-1; 4 = 2,5 mol L-1; 5 = 0,5 mol L-1; 6 = 0,005 mol L-1.

1. Explique a ordem de eluição dos cátions
2. **Bibliografia**

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L; BONATO, P.S. Fundamentos de Cromatografia. Editora da Unicamp, Campinas-SP, 2006.

**Exp.4**

**LLE-Eletroforese Capilar**

*Determinação de resíduos de medicamentos em águas por eletroforese capilar após extração liquido-liquido*

**1-Materias, Equipamentos e Reagentes (por grupo):**

1. Equipamento para eletroforese capilar (1) (**Lab Anderson**)
2. Sistema para concentrar as amostras à vácuo (1) (**Lab -Anderson**)
3. Capilar de sílica fundida não recoberto (75 μm di x 30 cm) (1) **(Lab-Anderson)**
4. Microvials para amostra (eletroforese capilar, 14) (**Levar do Lab-Anderson para Lab didático)**
5. Agitador de tubos (Vibrax) (1) (**Levar do Lab-Anderson para Lab didático**),
6. vials do CE para solução tampão/água/NaOH (eletroforese capilar, 6) **(Levar do Lab-Anderson para Lab didático**
7. Agitador de tubos tipo “mixer” (1),
8. Tubos tipo Falcon de 15 mL (17),
9. Micropipeta de 10-100μL (1), micropipeta de 100-1000μL (1), ponteiras para micropipetas,
10. filtro Millex de 0,45 μm (2),
11. Solução padrão de mirtazapina 0,5 mg mL-1 (5 mL) (padrão interno),
12. Solução padrão de venlafaxina (100 µg mL-1, 200 µg mL-1,400 µg mL-1, 600 µg mL-1  e 1000 µg mL-1, 5 mL de cada),
13. Hidróxido de sódio 0,1 mol L-1(50 mL),
14. Hidróxido de sódio 1 mol L-1 (5 mL),
15. Solução de ácido clorídrico 1 mol L-1 (5 mL),
16. Solução tampão fosfato 25 mmol L-1 pH 3 (50 mL),
17. Água do tipo 1 (30 mL),
18. Acetato de etila grau HPLC (100 mL),
19. Tubos do tipo Eppendorf de 2 mL (14).

**2-Procedimento Experimental**

 **2.1-Cuidados com as soluções**

Anterior as análises, filtrar as soluções de NaOH 0,1 mol L-1 e solução tampão fosfato 25 mmol L-1 utilizando os filtros millex de 0,45 μm. Filtrar essas soluções para os tubos Falcon de 15 mL previamente identificados e levá-los para ultrassom durante 5 minutos. Adicionar aproximadamente 10 mL de água do tipo 1 (ultra pura) para outro tubo Falcon de 15 mL e levá-lo para ultra som por 5 minutos. Transferir 1,8 mL de cada uma dessas soluções para seus respectivos vials (item 1f) para posterior uso.

**2.2- Condições de análise**

Anterior as análises, realizar o pré-condicionamento do capilar da seguinte forma: lavar o capilar durante 1 minuto com NaOH 0,1 mol L-1, durante 1 minuto com água do tipo 1 e 1,5 minutos com a solução tampão de análise.

Realizar separação dos analitos empregando uma solução tampão fosfato 25 mmol L -1 pH 3 e capilar de sílica fundida não recoberto medindo 30 cm de comprimento efetivo e 75 μm de diâmetro interno. Aplicar uma tensão de +25 kV e temperatura de análise de 20oC. Empregar a injeção hidrodinâmica: 0,5 psi durante 5 segundos. Monitorar os analitos em 220 nm.

**2.3- Preparação da curva analítica empregando a ELL**

1. Adicionar 25 μL do padrão interno mirtazapina aos tubos Falcon;
2. Adicionar 25μLde cada concentração de venlafaxina, separadamente, aos tubos Falcon (*n = 2*);
3. Adicionar 500 µL de água tipo 1 e 10 μL de NaOH 1 mol L-1;
4. Agitar as amostras em mixer durante 5 segundos
5. Adicionar 2 mL de acetato de etila e vedar os tubos.
6. Levar os tubos ao agitador (Vibrax) e agitar durante 15 minutos a 1000 rpm.
7. Após, centrifugar as amostras durante 5 minutos a 4000 rpm;
8. Coletar o sobrenadante (parte orgânica), transferir para tubos do tipo Eppendorf previamente identificados e evaporar no concentrador à vácuo (speed vacumn) até a secura total do solvente.
9. Solubilizar o resíduo em 150 μL de água do tipo 1, transferir para os vials de “amostra” e colocar no equipamento para análise.

**3.4- Preparo das amostras empregando a ELL**

1. Pipetar 500 µL da amostra para 4 tubos Facon;
2. Adicionar 25 μL do padrão interno em todas as amostras;
3. Adicionar 10 μL de NaOH 1 M em 2 amostras e 10 μL de HCl 1 M nas outras 2 amostras;
4. Realizar as extrações a partir do item 4, mencionado acima;
5. Determinar a concentração de venlafaxina nas amostras desconhecidas baseado na equação da reta obtida na curva analítica.

**4-Questões:**

4.1-Baseado nas estruturas químicas do analito e do padrão interno discuta porque a análise foi realizada em pH 3.

4.2-Discuta porque o aumento na tensão em eletroforese capilar pode levar a uma perda da resolução dos analitos.

**Experimento 5**

**SPE-HPLC**

*Determinação de contaminantes veterinários em leite e análise por HPLC após extração por precipitação proteica seguida por SPE*

**Materiais e Reagentes (por grupo)**

* Padrão Interno: Carbamazepina(5 mL) na concentração de 1000 ng mL-1
* Matriz: Leite desnatado
* Soluções de Albendazol Sulfóxido (5 mL de cada solução) nas seguintes concentrações: 500, 1000, 5000, 10000 ng mL-1
* Sistema para extração em fase sólida (manifold) (1)
* Cartuchos para extração em fase sólida C18 (12)
* Centrífuga de bancada
* Pipeta volumétrica de 1 mL (1)
* Micropipeta de 10-100 µL (1) e de 100-1000 µL (1) e ponteiras para as mesmas
* Solventes grau HPLC: metanol (50 mL); hexano (100 mL); acetonitrila gelada (50 mL);
* Agua ultra pura (50 mL)
* Tubos do tipo Falcon para centrifugar as amostras (12)
* Tubos para descarte de interferentes e coleta do analito durante a SPE (24)
1. **Condições Cromatográficas (Lab Prof. Anderson-Não precisa preparar)**
* Sistema Cromatográfico: HPLC (Shimadzu)
* Coluna Analítica: C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm)
* Coluna de Guarda: C18 (4,6 x 12,5 mm)
* Fase Móvel: Metanol:Água + Ácido Fórmico 0,1% (70:30 v/v)
* Vazão: 0,8 mL min-1
* Detecção: 290 nm
* Temperatura de Análise: 40°C
1. **Procedimento Experimental**
	1. ***Padronização Interna (preparar a curva analítica em duplicata)***
2. Adicionar 1 mL de leite desnatado em um tubo Falcon de 15 mL;
3. Adicionar 25 µL do padrão de albendazol sulfóxido (curva analítica);
4. Adicionar 25 µL do padrão interno (carbamazepina);
5. Adicionar 1000 µL de acetonitrila gelada;
6. Agitar em agitador do tipo “mixer” durante 20 segundos;
7. Centrifugar durante 20 minutos em 3000 rpm.
	1. **Procedimento para a extração em fase sólida**
8. Posicionar os cartuchos C18 no manifold;
9. Adicionar 1 mL de metanol em cada cartucho, aplicar vácuo e proceder a eluição evitando a secagem do sorvente;
10. Adicionar 1 mL de água ultra-pura, aplicar vácuo e proceder a eluição evitando a secagem do sorvente;
11. Adicionar o sobrenadante da curva analítica, matriz branco ou amostra fortificada desconhecida (sobrenadante da etapa 2.1.);
12. Adicionar 3 mL de hexano, aplicar vácuo e proceder a eluição até completa secura do sorvente durante 10 min;
13. Eluir a amostra com 2 mL de metanol, a uma vazão aproximada de 2 mL/min;
14. Centrifugar durante 10 minutos em 3000 rpm;
15. Recuperar 1 mL do sobrenadante;
16. Secar o extrato resultante em fluxo de ar comprimido;
17. Solubilizar o resíduo em 150 µL de fase móvel para posterior injeção no HPLC.
18. **Quantificação na amostra de leite**
* Quantificar a presença de albendazol sulfóxido no leite fornecido (seguir as mesmas etapas descritas a partir do item 2.1.c). Fazer a extração em duplicata.
1. **Avaliação dos interferentes da matriz (leite desnatado)**
* Analisar a matriz branca (sem a presença dos analitos), visando avaliar a presença de interferentes (seguir as mesmas etapas descritas a partir do item 2.1.d). Fazer em duplicata.

**5-Perguntas:**

1. Por que é necessário a utilização de uma técnica de preparo de amostra antes da injeção no sistema cromatográfico?
2. Qual a importância da análise de um branco da matriz (sem a presença dos analitos)?
3. Na etapa de precipitação proteica qual outro método poderia ser utilizado para a precipitação das proteínas?
4. Quais os requisitos utilizados para se escolher a carbamazepina como padrão interno nesse experimento?

**Experimento 6**

**CROMATOGRAFIA GASOSA (CG)**

***Análise quantitativa de etanol e qualitativa de metanol em bebidas destiladas***

Esta prática objetiva-se em familiarizar o aluno quanto a técnica cromatografia gasosa, bem como a determinação da concentração de etanol e a determinação qualitativa de metanol em bebidas destiladas (uma ou mais).

1. **Equipamento**

**Cromatógrafo**: Shimadzu GC 2010.

**Coluna**: ZB-FFAP 30m x0,32mm x0,25µm

1. **Materiais e reagentes**
* 12 Balões volumétricos de 5 mL
* 3 Balões volumétricos de 10 mL
* 1 Balão volumétrico de 25 mL
* 2 Pipeta de Pasteur
* 1 Béquer de 50 mL
* 13 Vials para GC
* Micropipetas automáticas (1000 µL; 10 µL; 100 µL; 200 µL e 5000 µL)
* Padrão interno: Acetonitrila
* Padrão: álcool etílico absoluto (grauUV/HPLC) e Metanol (grauUV/HPLC)
* Solvente diluente: Acetona 99% (v/v)
1. **Procedimento experimental**

**4.1 Condições cromatográficas**

* Programação da temperatura da coluna: temperatura inicial de 30 ºC durante 3 min, aquecendo a rampa de 20ºC/min até a temperatura final de 80 ºC, mantendo a essa temperatura por 2 min.
* Temperatura do Injetor: 250 ºC
* Temperatura do Detector: 225 ºC
* Gás de arraste: nitrogênio
* Vazão de hidrogênio: 30 mL/min
* Vazão de nitrogênio + Make up: 10 mL/min
* Vazão de ar sintético: 300 mL/min
* Volume de Injeção: 0,5 µL
* Split: 1:75

**4.2 Preparação da curva analítica**

***Análise de Etanol***

Para a preparação da curva analítica inicialmente prepara-se uma solução mãe de 1% etanol em um balão de 25 mL, utilizando acetona como solvente diluente. Assim, utilizando a solução mãe, efetuar as diluições necessárias para as concentrações de: 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,1% e 0,5% nos balões de 5 mL, adicionando 5 µL de acetonitrila em cada balão, completando-os com acetona, de forma que a concentração de padrão interno nas soluções sejam de 0,1%. Faça cada concentração em duplicata.

 Agitar vigorosamente as soluções antes de passa-las para os vials correspondentes. Injetar as soluções de identificar os picos de etanol e do padrão interno com seus respectivos tempos de retenção. Obter as áreas dos picos e calcular as razões das áreas utilizando a equação a seguir:

Rx = $\frac{Área x}{ Área PI}$

Onde : Rx é a razão de área do componente x

Área x é a área obtida do componente x

Área PI é a área obtida do padrão interno (acetonitrila)

Determinar a curva analítica, colocando no eixo das abcissas os valores das razões de áreas (Rx) e no eixo das ordenadas, os valores de concentração dos respectivos componentes nas soluções padrões.

***Análise de Metanol***

 Para o metanol será avaliado apenas a presença do composto a bebidas, ou seja, uma análise qualitativa. Para isso, será injetado uma amostra de 0,0004% de metanol, de forma a comprovar que o método detecta concentrações muito menores do que o limite imposto. Para isso será feita duas diluições consecutivas:

* Pipete 5µL de metanol em um balão de 5 mL e complete com acetona. Teremos uma solução de concentração 0,1% de metanol. Agite bem.
* Da solução feita de 0,1% metanol, pipete 20 µL em outro balão de 5 mL, completando novamente com acetona. Teremos assim uma solução de 0,0004% metanol. Agite bem antes de passar para o vial.

Não é necessário que essa análise seja feita em duplicata.

**4.3 Preparo de Amostra**

***Análise de Etanol***

 Para o preparo das amostras de bebidas pipete 20 µL da bebida em um balão de 10 mL, adicionando posteriormente 10 µL de acetonitrila completando o balão com acetona. Esses volumes foram calculados para bebidas com teores de etanol de até 40%, caso a bebida escolhida tenha um teor maior refaça os cálculos para que a concentração de etanol fique dentro da faixa de concentração escolhida na curva analítica. Identifique os picos de etanol e do padrão interno, calculando assim a razão entre as áreas (Rx). Faça cada amostra de bebida em triplicata.

***Análise de Metanol***

 Para a análise quantitativa injete as bebidas diretamente sem nenhuma diluição prévia. Coloque uma quantidade de bebida suficiente para encher os vials. Injete as amostras e observe se no tempo de retenção do metanol há algum pico, o que demonstraria assim a presença de metanol.

1. **Cálculos e Resultados**

Obter os valores de concentração de etanol das bebidas aplicando os Rx obtido em cada injeção na equação obtida na curva analítica, levando em consideração as diluições feitas. Verificar se há presença de metanol com as análises qualitativas feitas.

**6- Questões**

1. Porque determinar a porcentagem exata de etanol em bebidas destiladas? Explique
2. Porque determinar a presença de metanol em bebidas alcóolicas?
3. Para a análise qualitativa do metanol não se fez nenhuma diluição. Porque?
4. A escolha do padrão interno empregado nesta análise foi adequada? Discutir.
5. Qual a diferença entre injeção split, splitless.