



AULA PRÁTICA

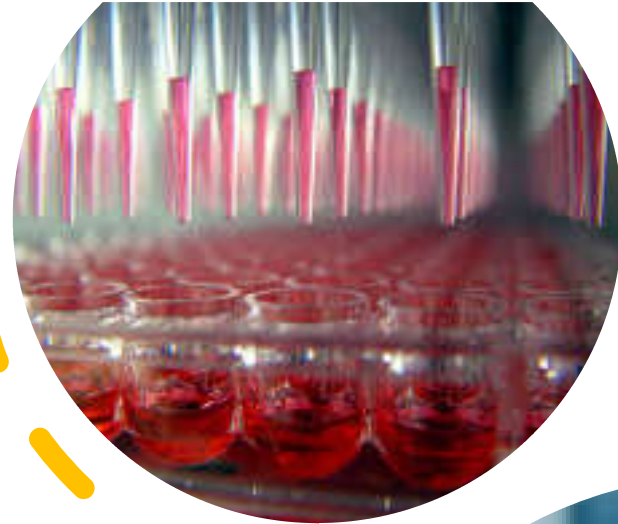
APLICAÇÕES DA FLUORESCÊNCIA EM ANÁLISE QUÍMICA

Profa Rose Naal



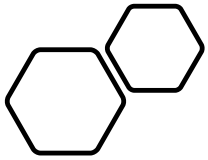
Aplicações da Fluorescência

- Análises quantitativas de fármacos, alimentos – controle de qualidade
- Ensaios bioquímicos em laboratórios de análises clínicas (metabolismo)
- Detecção de doenças

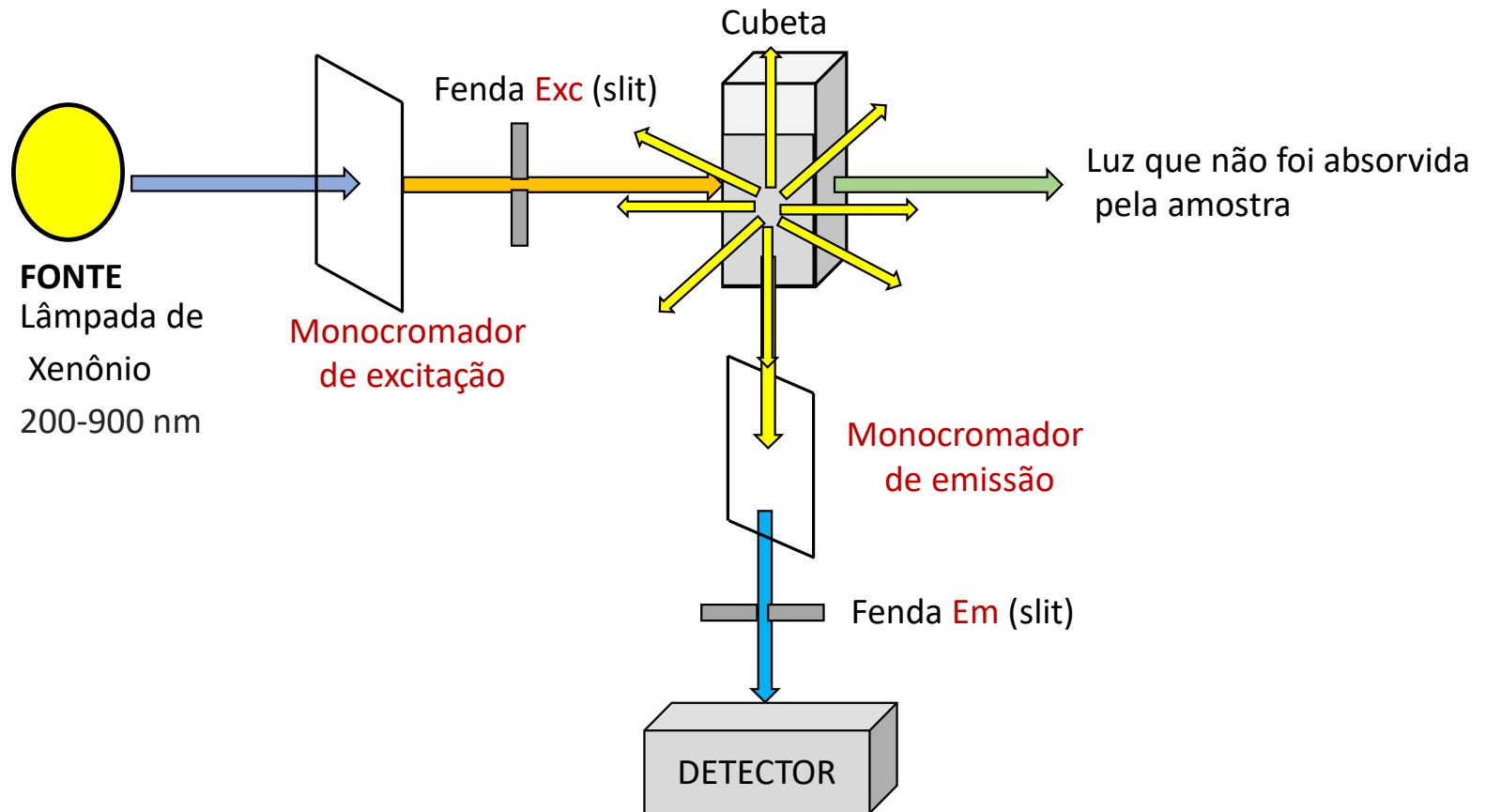




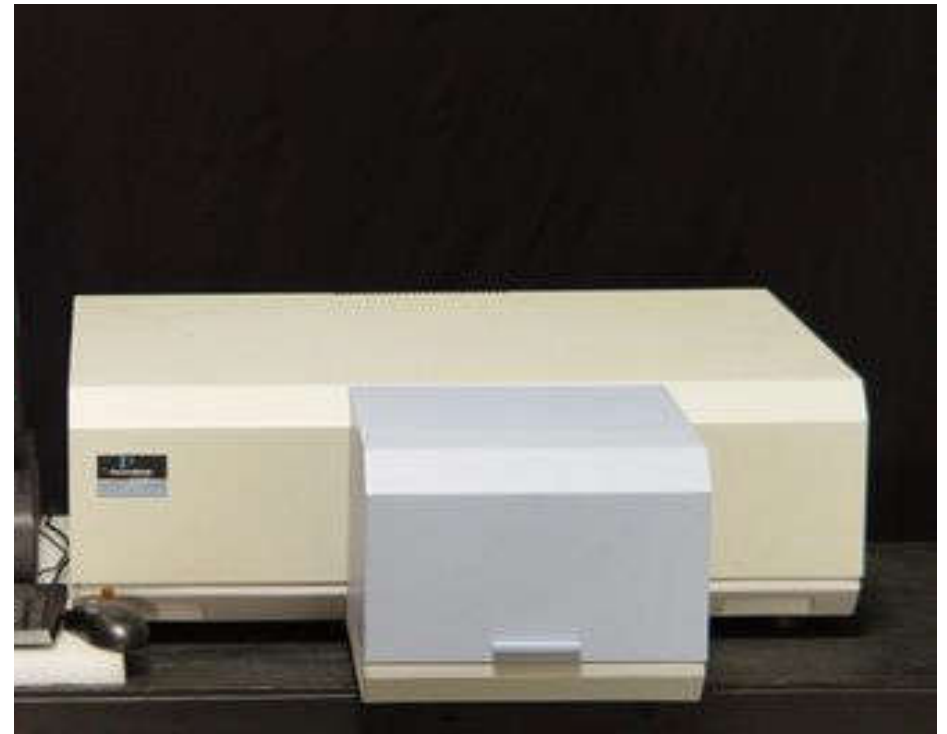
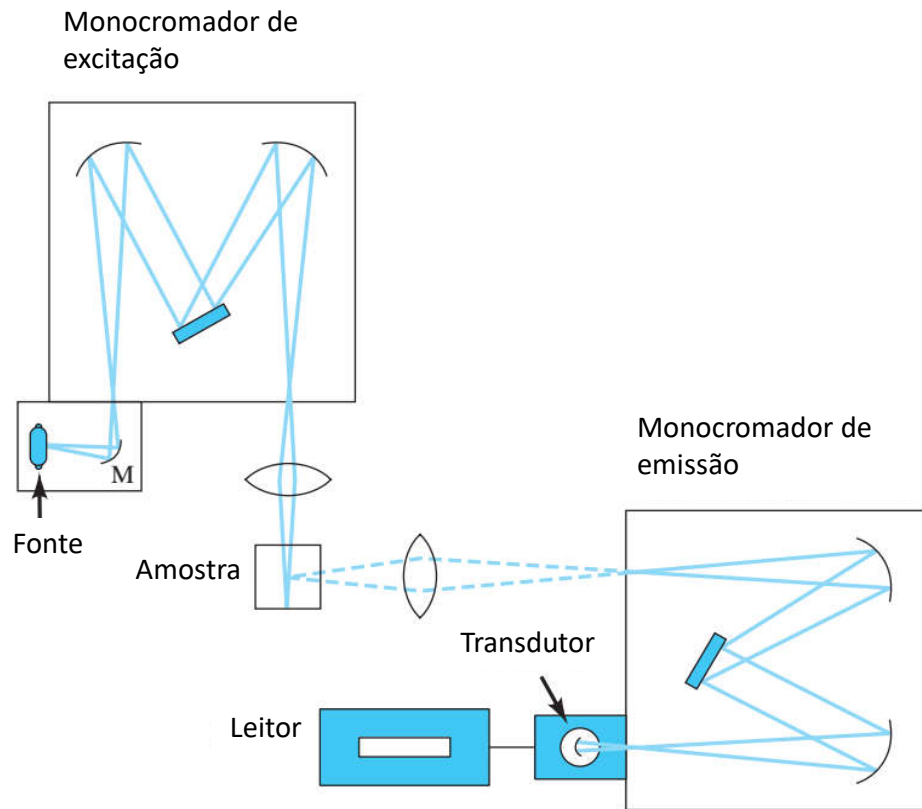
Recordando o
funcionamento do
espectrofluorímetro



FLUORÍMETRO: Esquema resumido



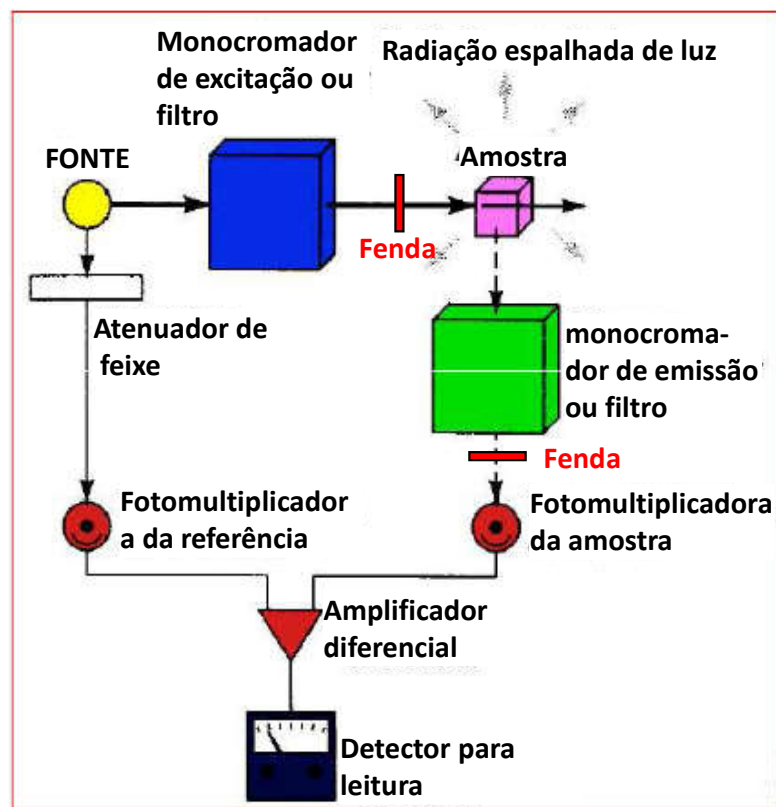
Espectrofluorímetro (Perkin Elmer)



ESQUEMA DO ESPECTROFLUORÍMETRO CORRIGIDO

Atenua a luz para cair na faixa de luz emitida →

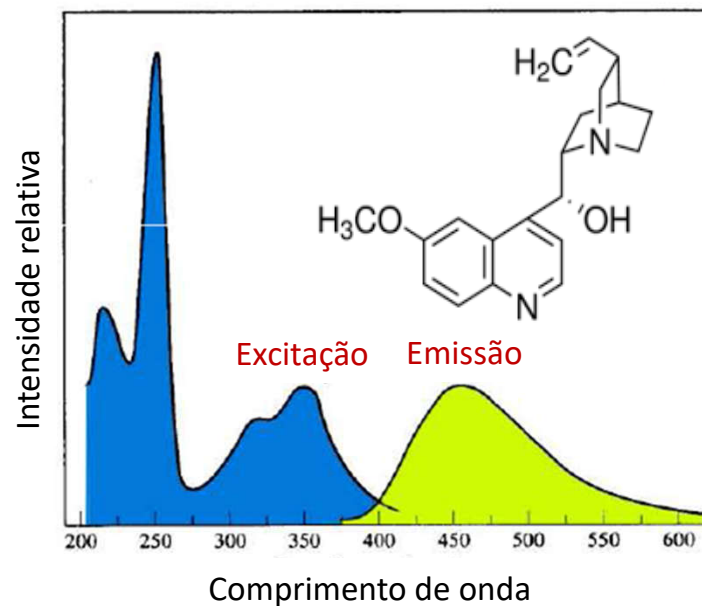
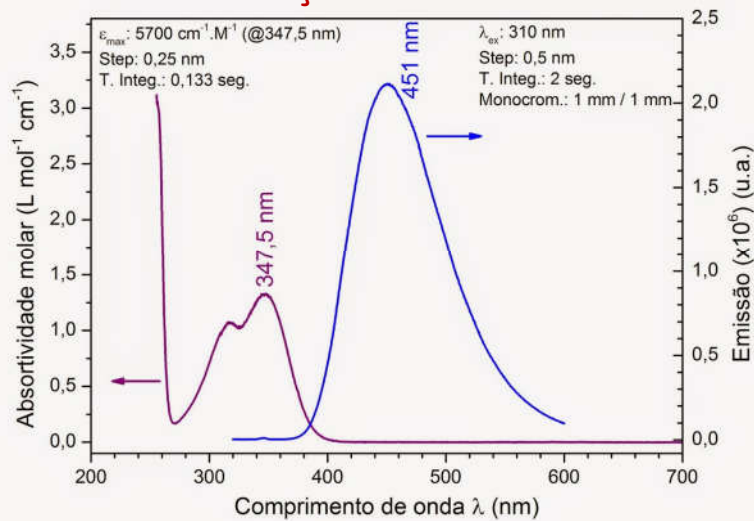
Controla as flutuações da fonte →



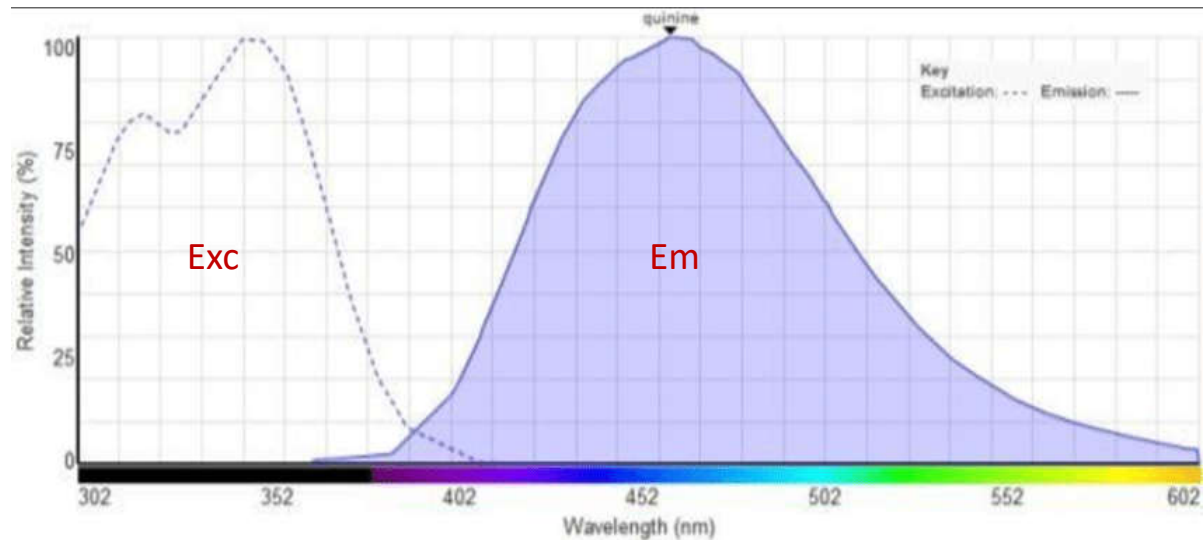
- Componentes similares a um UV-Vis
- “Detector” a 90° em relação ao feixe incidente
- Observa-se ambos os espectros de excitação e emissão

FLUORÍMETRO: Controla a luz absorvida e emitida através de filtros com comprimentos de onda selecionados
ESPECTROFLUORÍMETRO: Controla a luz absorvida e emitida através de monocromadores

Absorção x emissão

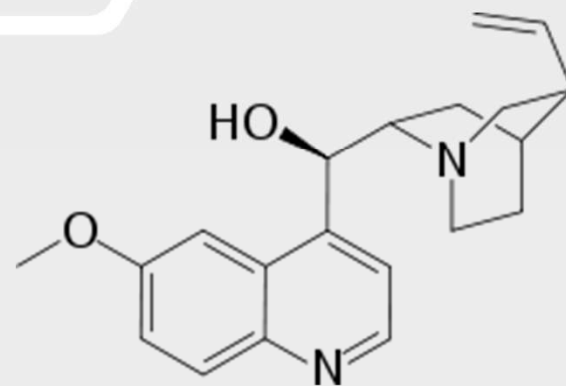



QUININO



O que vamos fazer na aula prática?

- Determinar a concentração em mols/L e a massa de sulfato de quinino contida na água tônica
- Determinar a concentração de uma amostra desconhecida de sulfato de quinino





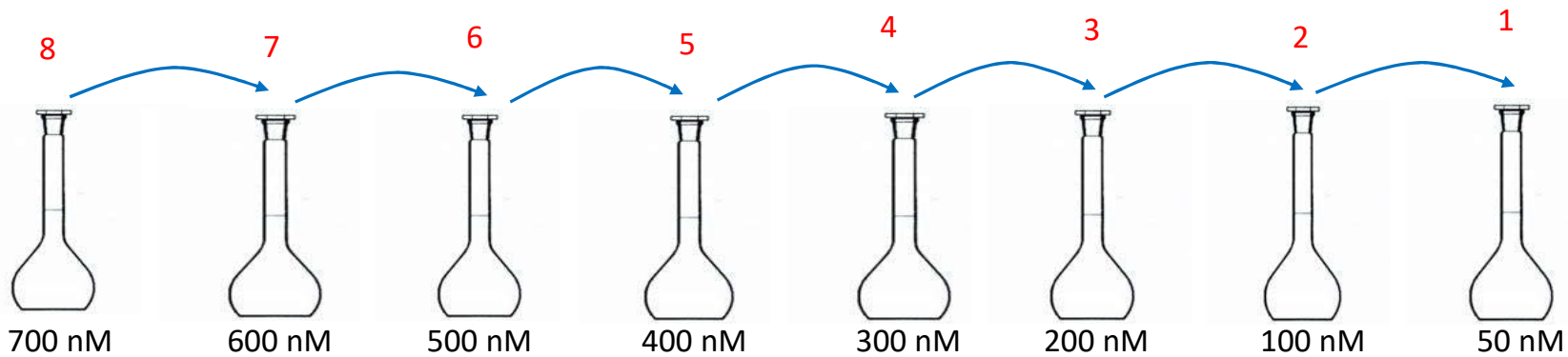
PRECISAMOS
DE UMA
CURVA
ANALÍTICA

- COMO É
CONSTRUIDA A
CURVA ANALÍTICA?



1) PREPARAR SOLUÇÕES DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

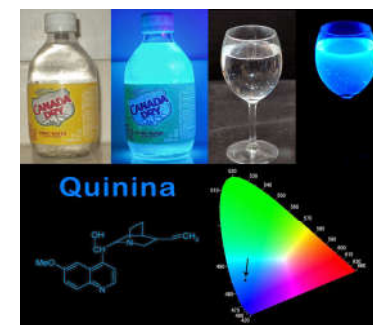
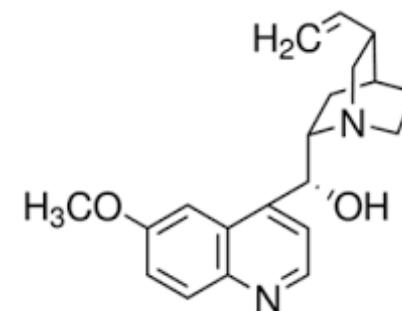
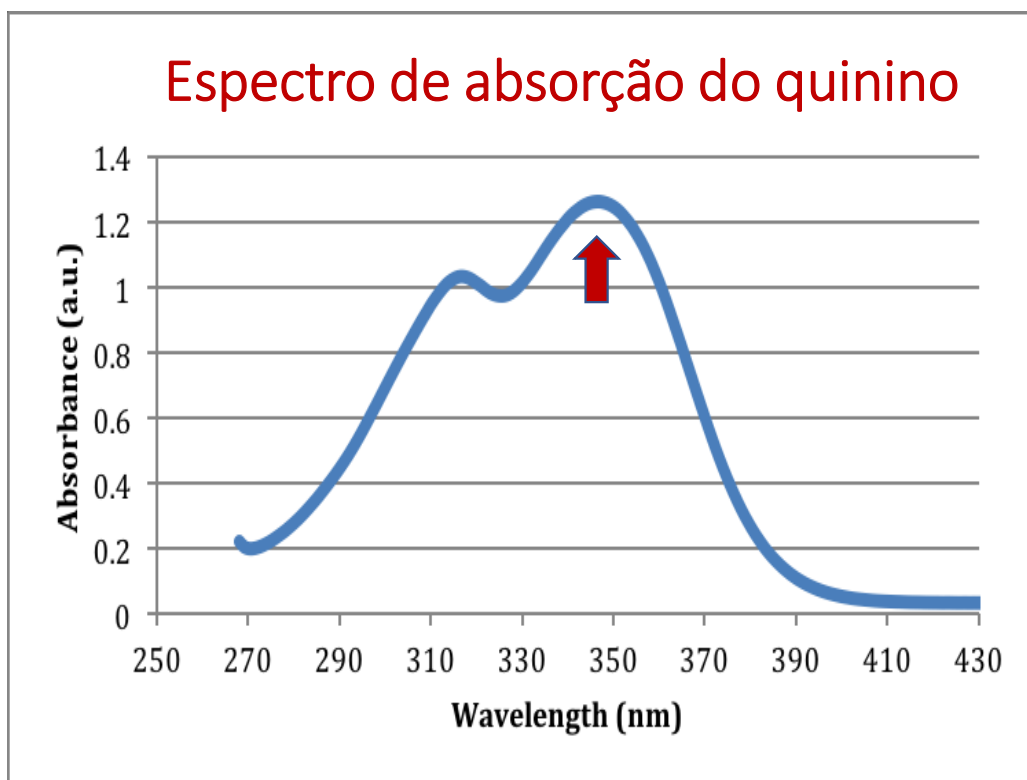
DILUIÇÃO SERIADA



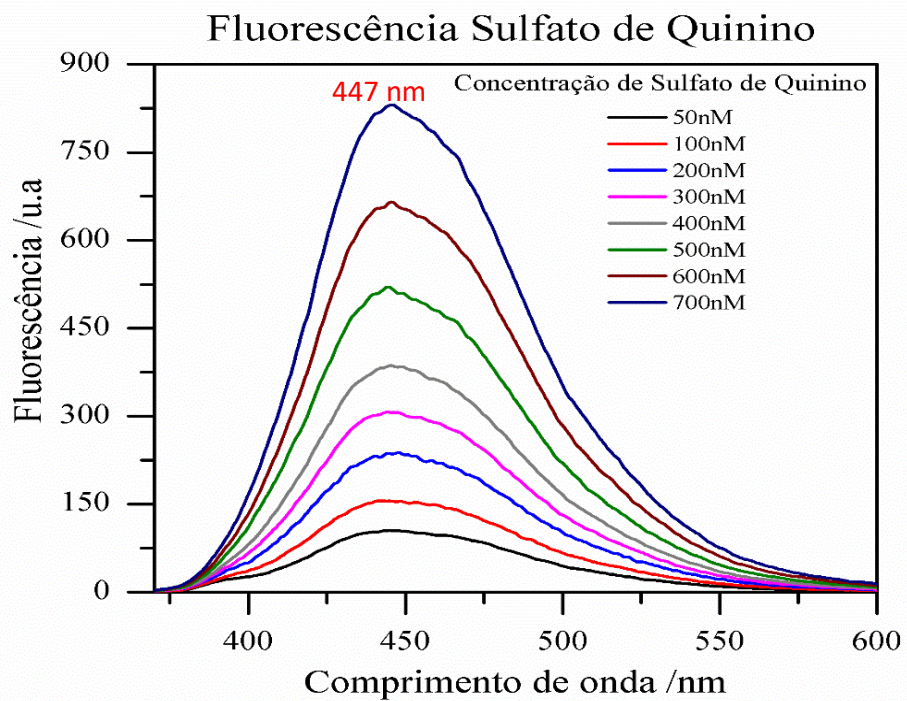
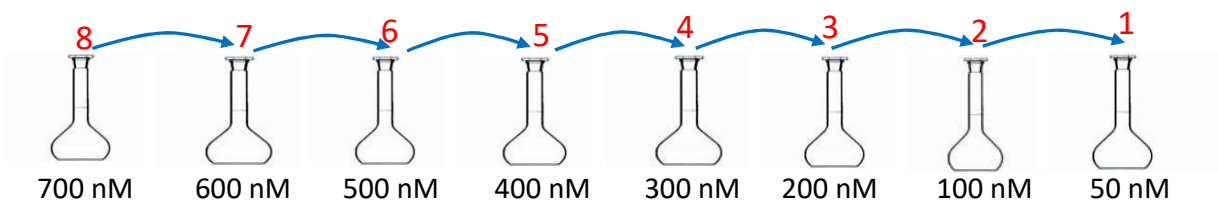
MEDIR A FLUORESCÊNCIA PARA CADA CONCENTRAÇÃO

2) Qual o comprimento de onda usado na excitação?

Comprimento de onda máximo de absorção= 350 nm

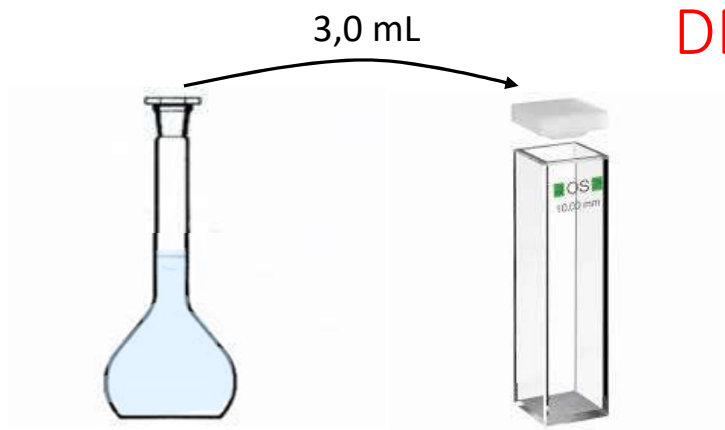


MEDIDA



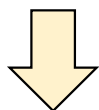
Amostra	Concentração, nmol/L	Fluorescência 447 nm
1	50	110
2	100	160
3	200	240
4	300	305
5	400	390
6	500	500
7	600	640
8	700	800

CURVA ANALÍTICA E ANÁLISE DE AMOSTRA DESCONHECIDA

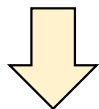


Amostra desconhecida de sulfato quinino

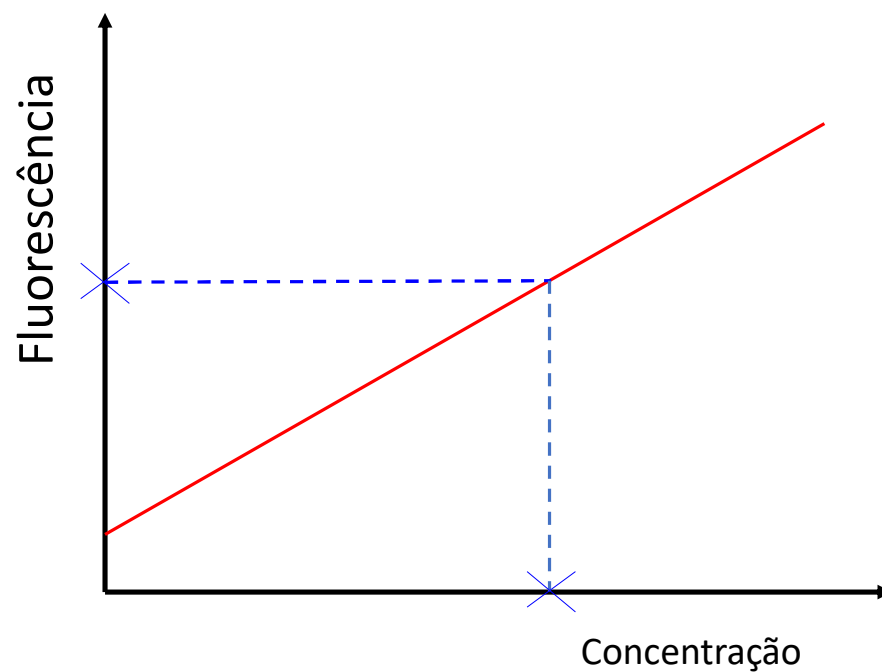
Cubeta de fluorescência




Fazer a leitura de fluorescência



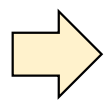
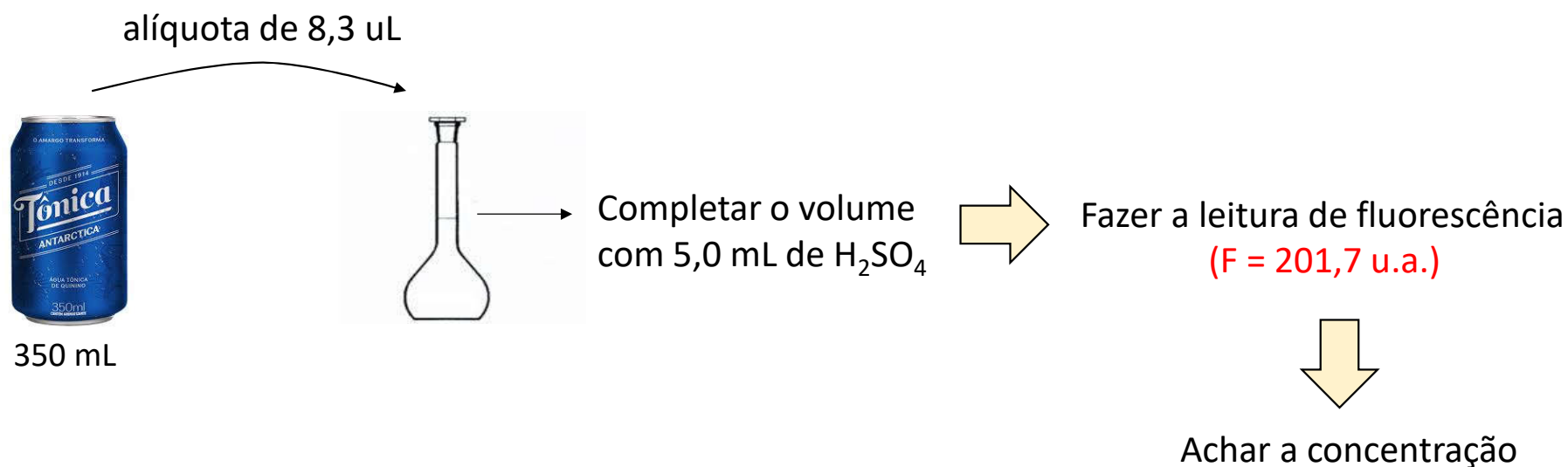
Achar a concentração pela curva analítica



A hand is pouring water from a green glass bottle into a glass filled with ice cubes. The scene is set on a kitchen counter with various items like a cutting board, a pepper mill, and a bowl of fruit in the background. A white circular callout box is overlaid on the left side of the image.

O que vocês
farão para
simular uma
análise química
no laboratório
usando a
fluorescência

Quantificação do sulfato de quinino na água tônica



Determinar a concentração em mols/L e a massa de sulfato de quinino ($\text{MM} = 391,47 \text{ g/mol}$) contida na lata de água tônica

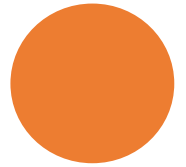
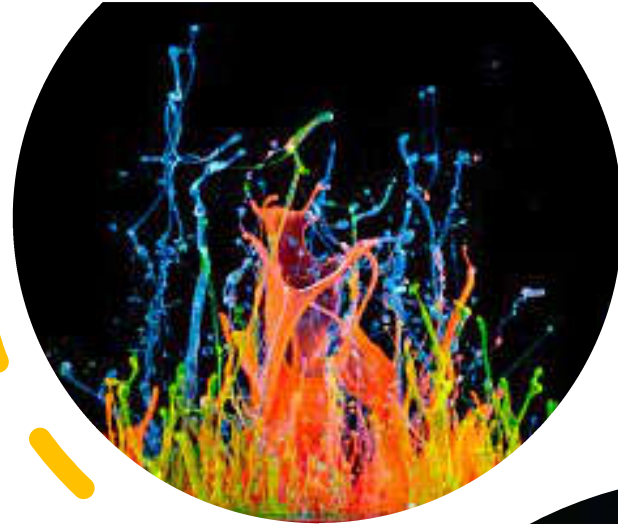
CADA UMA DAS DUPLAS:

Preparar uma solução de sulfato de quinino na concentração indicada no começo da aula

1) Cada grupo fará o cálculo de volume a ser usado na diluição a partir da concentração da solução estoque. Será informada a concentração que a dupla irá preparar assim como a concentração da solução estoque).

2) Cada dupla levará a solução preparada para o laboratório de pesquisa onde será feita a medida da intensidade de fluorescência.

3) Com todos os dados de intensidade de fluorescência, construiremos a curva analítica



Links para aula sobre fluorescência no youtube

Aula sobre a análise do quinino –IQ-USP

<https://www.youtube.com/watch?v=N1ggNZoaJ3s>

Aula – IFSC-USP –fala sobre espectros de excitação e emissão de fluorescência

<https://www.youtube.com/watch?v=wS842KgGXtM>

Mostra funcionamento de um espectrofluorímetro-vídeo em inglês

<https://www.youtube.com/watch?v=ec4PqF2tzwU>

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. SKOOG, D.A. & LEARY, J.J. Principles of Instrumental Analysis. 4a edição, Saunders College Publishing, 1992.
2. HARRIES, D.C. Quantitative Chemical Analysis, 6a. edição, Freeman and Company, 2003.
3. LAKOWICZ, J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3a edição, Springer, 2006.

