

Química Analítica Experimental II – 2023

Profa. Adalgisa R. de Andrade
Prof. Anderson R. M. de Oliveira

Nome do aluno: _____

Primeira edição: 2000
Edição revisada em 2023

Química Analítica Experimental II – 2023 - Terças: 14:00h-18:00h

AULA	data	Descrição	Docente
1	08/08	Eletroanalítica - Introdução	Gisa
2	15/08	Eletroanalítica	Gisa
3	22/08	Eletroanalítica	Gisa
4	29/08	Eletroanalítica	Gisa
	05/09	Recesso - Semana da pátria	
5	12/09	Eletroanalítica	Gisa
6	19/09	Eletroanalítica	Gisa
7	26/09	Eletroanalítica	Gisa
8	03/10	1a Avaliação	Gisa
9	10/10	Separações	Anderson
	17/10	Dia do professor - não haverá aula - Evento PET	
10	24/10	Separações	Anderson
11	31/10	Separações	Anderson
	07/11	Semana da Química	
12	14/11	Separações	Anderson
13	21/11	Separações	Anderson
14	28/11	Separações	Anderson
15	05/12	2a Avaliação	Anderson

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- esta entrega deverá ser no papel).**

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- Responda as perguntas do pré-relatório do seu experimento.

5. Prepare o relatório de forma objetiva, analisando criticamente os resultados apresentados. **O relatório completo, sempre é entregue no início do próximo experimento no portal.** 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 reproduzível 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

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 e 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 tiosulfato -Método dead-stop
- E2- Eletrólise a potencial e corrente constante de cobre com determinação coulométrica -
- 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	Aula 7
	8/8	15/8	22/8	29/8	12/9	19/9	26/9
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

03/10 Prova 1

EXPERIMENTO # 1

Titulação biamperométrica de iodo com tiosulfato -Método dead-stop

Link para o Vídeo da aula: <https://eaulas.usp.br/portal/video.action?idItem=29775>

Objetivos do experimento:

- Aprender os princípios de um experimento de biamperometria.
- 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)

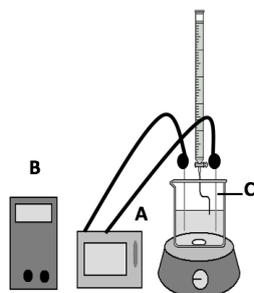
Vidraria: 01 bureta de 10,00 mL, 01 béquer de 100 mL com tampa

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, 01 agitador magnético e barra magnética, 01 pró-pipeta, 01 garra
dupla, 01 garra pequena e 01 mufa, 01 big jack

Reagentes fornecidos: solução padrão de tiosulfato de sódio ~ 0,1000 M
ácido acético glacial, iodeto de potássio PA sólido
amostra desconhecida de iodato de potássio

Esquema experimental:



Procedimento:

1. Preparar uma solução de HNO_3 1:1. Mergulhar os eletrodos de platina nesta solução por 5 minutos. Enxaguar 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.
 2. 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.
- 3. Repetir a titulação por 3 X. Calcular a média e desvios pertinentes**

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.

Destino dos resíduos:

Após cada titulação, descartar as soluções dos béqueres num recipiente apropriado para descarte de iodato com tiosulfato. Depois de realizadas todas as titulações, a solução de HAc e a solução de HNO_3 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 tiossulfato de sódio devem ser descartadas num recipiente apropriado para descarte de iodato com tiosulfato.

Questões para o pré-relatório E1 (entregar antes da aula- NÃO SERÁ ENTREGUE NA FORMA DIGITAL):

- 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.**

EXPERIMENTO # 2

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

O vídeo completo mostrando a execução deste experimento encontra-se no link:
<https://eaulas.usp.br/portal/video.action?idItem=30766>

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

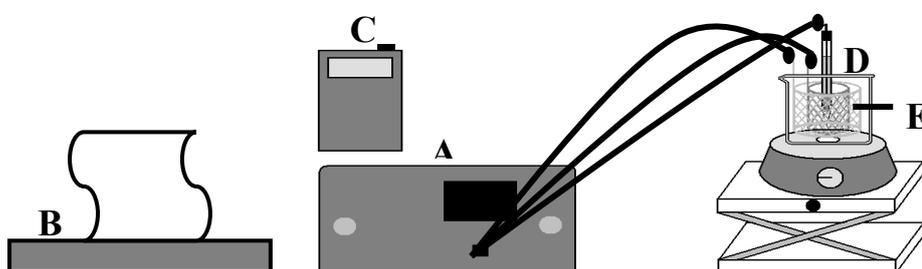
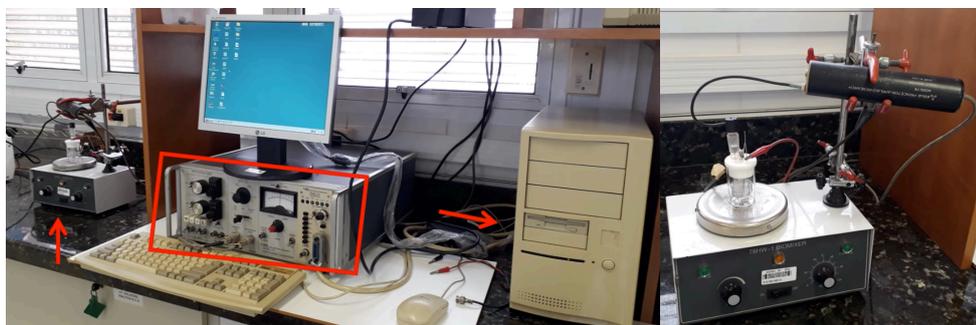
Aparelhagem: potenciostato (A)
registrador X-Y (B)
multímetro (C)
secador de cabelo
eletrodo de referência (ECS ou Ag/AgCl_{sat.}) (D)
2 redes de platina (E)

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 - 03 garras 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:



Procedimento:

1. Anotar as características da amostra.
2. Preparar 40 mL de uma solução de HNO_3 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 H_2SO_4 conc e 1,00 mL de HNO_3 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 eletrodo, pois ocorrerá um curto circuito podendo danificar seriamente o instrumento.

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

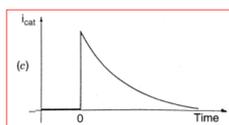
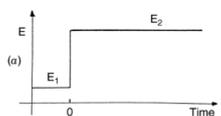
1. Ajustar o software no modo de controle de potencial (cronoamperometria). O potencial deve ser de -150 mV se o eletrodo de referência for o Ag/AgCl_{sat} ou -200 mV se for ECS.

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



O potencial E1- chamado de potencial de condicionamento

Manter em 0 V vs. Ag/AgCl_{sat}.

Tempo = 1 minuto

E2= potencial aplicado onde irá ocorrer a reação desejada ($\text{Cu}^{2+} + 2e = \text{Cu}^0$)

E2= - 0,150 V vs. Ag/AgCl_{sat}.

Tempo = 60 minutos = 3600 s

2. Certificar se está ligado corretamente –célula e potenciostato -Levantar a célula até que os eletrodos fiquem cerca de 3 mm da barra magnética.

3. 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.

4. Adicionar 10,00 mL da amostra desconhecida de nitrato de cobre na célula eletroquímica, contendo eletrólito de suporte pré-eletrolizado.
5. 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.
6. Ao final da eletrolise - a corrente final é cerca de 99,8 % da corrente inicial - anotar o valor obtido pelo integrador coulométrico (Q_{total}). Anote o valor da corrente residual ou final (i/A) e tempo gasto no experimento (s).
7. 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.
8. **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 por 1 hora. **observação – esta técnica não necessita de um referência para controle de corrente – iremos usar o ER para monitorar o potencial do cátodo durante o experimento.**
9. **Anote a massa no final do experimento tomando os cuidados descrito nos itens 6 e 7.**

10. Tratamento dos dados:

Complete a tabela abaixo e transcreva para o relatório:

Modo experimento	Massa rede de Pt (inicial) (g)	Massa rede Pt (final) (g)	Massa de cobre (g)	Concentração desconhecida solução
EPC ($E = -0,150 \text{ V} / \text{Ag/AgCl}$)				
ECC $I = -100 \text{ mA}$				
Massa média de cobre (média dos dois experimentos)				
	Valor teórico:			Erro%

- Calcular o valor da carga de cobre
- $Q_{\text{cobre}} = Q_{\text{total}} - Q_{\text{residual}}$
- $Q_{\text{residual}} = i_{\text{final}} \times \text{tempo da eletrolise (s)}$
- 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.
- Comparar o resultado obtido com o valor real. Explique as possíveis diferenças obtidas.

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 HNO_3 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).

Pré- Relatório E2-

- 1- Fazer um fluxograma do experimento- indicando claramente todas as fases experimentais executadas.
- 2- Quais as reações que ocorrem no cátodo e no ânodo?
- 3- Qual a função do ácido nítrico?
- 4- O que poderia ser feito para melhorar a aparência e a aderência do depósito obtido?

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.
- Link para o vídeo do experimento: <https://eaulas.usp.br/portal/video.action?itemId=29776>

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)

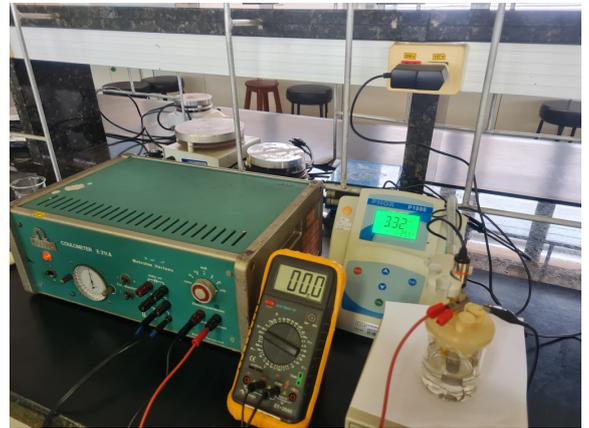
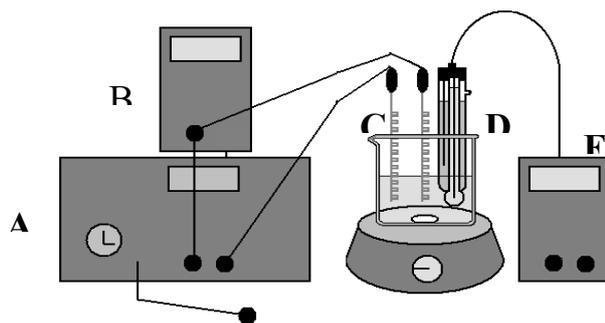
Vidraria: 01 balão volumétrico de 250,0 mL para preparo do eletrólito de suporte-01 balão vol. de 100,0 mL contendo a amostra desconhecida-01 pisseta-01 pipeta volumétrica de 50,00 mL-01 pipeta volumétrica de 10,00 mL- 01 pipeta volumétrica de 1,00 mL-01 pipeta volumétrica de 2,00 mL-01 pipeta volumétrica 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, HNO_3

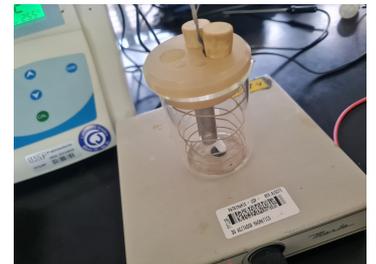
amostra desconhecida de ácido ponte salina de KCl

indicador fenolftaleína

Esquema experimental:



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:



1. Preparar 250,0 mL de solução de brometo de 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.



Tempo zero

ponto de equivalência – titular até pH > 9,0 ou até ter número de pontos suficientes para a curva experimental

Tratamento dos dados:

Dados: $F=96487 \text{ C mol}^{-1}$

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

- **Completar a tabela abaixo** – colocar no relatório e determinar a concentração da amostra desconhecida pelo método visual e potenciométrico.

	1ª tit.	2ª tit.	3ª tit.	Média	% desvio
T _{viragem(S)} colorimétrico Biamperométrico					
T _{viragem(S)} - Biamperométrico					
I _{aplicada} (mA)					
Q (C)					
n _{HCl} (mol)					
[HCl] (mol L ⁻¹)					
Valor teórico				Erro %	

Dados: F=96487 C mol⁻¹

Destino dos resíduos:

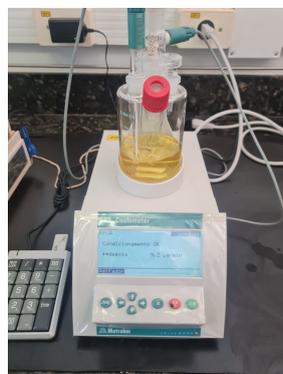
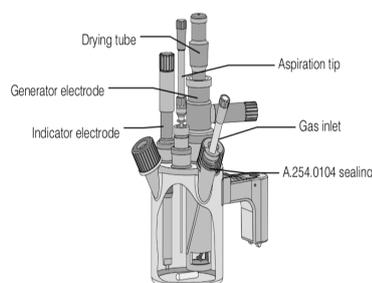
Após cada titulação, descartar a solução do béquer num recipiente apropriado para descarte solução contendo resíduos de prata. Faça o mesmo com o restante da amostra desconhecida que restar. Os eletrólitos de suporte que sobraem podem ser descartados diretamente na pia.

Pré-relatório- E3

1. Fazer um fluxograma do procedimento experimental executado.
2. Após a leitura do roteiro discuta a diferença entre a titulação potenciométrica clássica executada no semestre anterior (ácido fosfórico) e a titulação coulométrica proposta. Quais as principais vantagens e desvantagens desta análise?
3. Quais são os fatores limitantes de uma titulação coulométrica?
4. O que ocorreria se no lugar do fio de prata no ânodo fosse utilizado um fio de platina? Faça um esquema de como deveria ser a célula para realizar experimento com a platina.

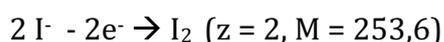
EXPERIMENTO # 4 Titulação Karl Fischer Coulométrica- KFc

Determinação da umidade de um solvente orgânico



Teoria: Na titulação coulométrica 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.



$$m = MQ/zF$$

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.



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
- 3- tarar a balança com a seringa com etanol
- 4- Transferir de 3 a 4 gotas no recipiente do aparelho, seguindo as instruções do manual
- 5- Voltar a pesar a seringa e anotar a massa exata de solvente introduzida.
- 6- Colocar a massa introduzida no equipamento
- 7- Ligar o equipamento
- 8- Anotar a % de água



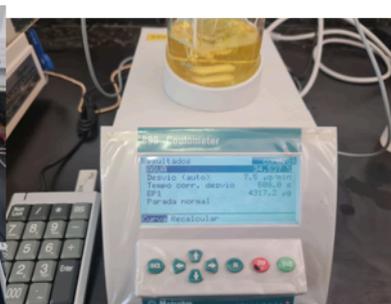
etapa 1



etapa 2



etapa 3



etapa 8

- 9- Realizar o experimento em quintuplicata para cada amostra

Tratamento dos Dados

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

Pré-relatório:

- 1- Faça um organograma do experimento
- 2- Quais as reações que ocorrem no cátodo e no ânodo?
- 3- O método de Karl Fisher tem restrições. Quais são estas restrições?
- 4- Por que a solução de KF deve ser titulada antes da sua utilização?
- 5- **Vamos treinar os cálculos:** foi transferido 0,0282 g de solvente contendo 34,5 % de água gastou um tempo de 508 segundos. Determine a corrente aplicada durante o experimento.

EXPERIMENTO # 5

Análise quantitativa de Ácido Ascórbico por voltametria cíclica

O vídeo completo mostrando a execução deste experimento encontra-se no YOUTUBE no link: <https://youtu.be/Igr8whO4z9Q>

Objetivos

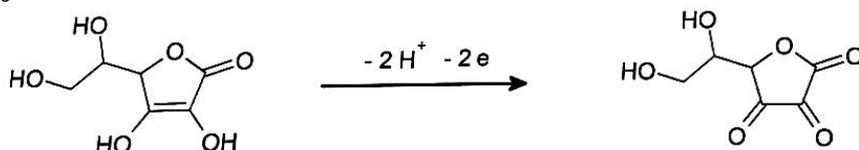


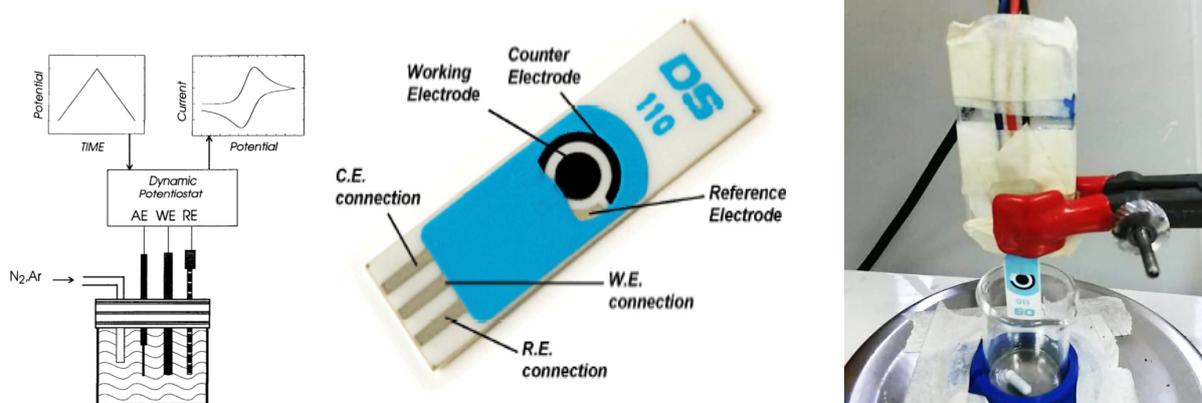
Figure 16: Oxidation of vitamin C

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.

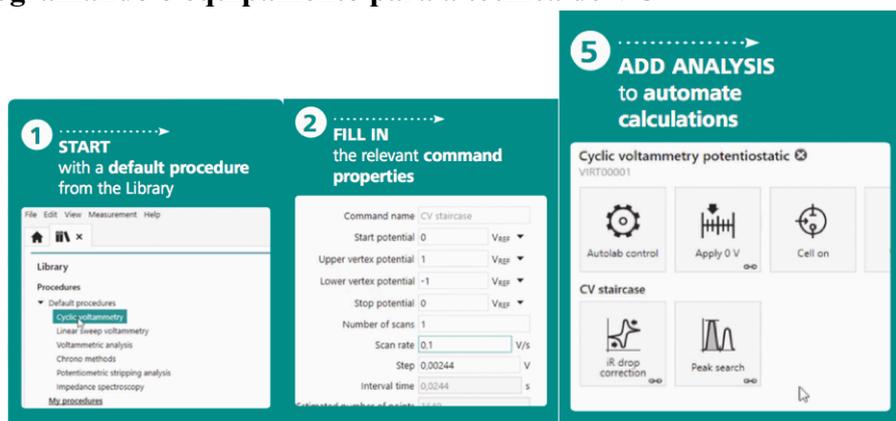
Reagentes fornecidos: eletrólito de suporte Tampão Acetato de Amônio pH 4,6, ácido Ascórbico P.A. , amostra vitamina C (comprimido de 1g de AA).

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

Esquema experimental:



Programando o equipamento para a técnica de VC



1. Potencial inicial = $-0,1$ V vs Ag/AgCl
2. Potencial do vertex superior (ida) = $+0,4$ V vs Ag/AgCl
3. Potencial do vertex inferior (volta) = $-0,1$ vs Ag/AgCl
4. Potencial final = $-0,1$ V vs Ag/AgCl
5. Velocidade de varredura = $0,1$ V/s
6. Encaixar o eletrodo serigrafado no contato do potenciostato e inserir na amostra.

Serão realizados dois procedimentos de análise :

- (1) Método da curva analítica;
- (2) Método da adição de padrão.

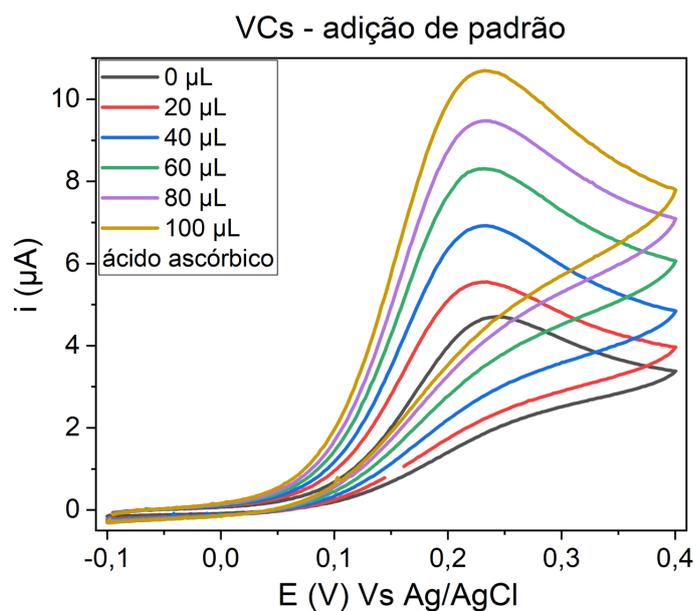
Procedimento experimental

1. Preparar em um balão de 25ml, solução Padrão de Ácido Ascórbico 10g/L.
 2. Pesar o comprimido de vitamina C inteiro - triturar, colocar no béquer de 100 ml com metade do volume de água e levar ao ultrassom por alguns minutos e transferir quantitativamente para um balão 100,0 mL acertar o menisco. Este balão será denominado de **amostra diluída**.
 3. Em um becker de 10 ml, colocar 9 ml de água deionizada e 1 ml de tampão, agitar por 30 segundos, desligar a agitação e deixar em repouso por 2 minutos. Este béquer será denominado de **béquer 1**. Proceder à medida da curva do eletrólito de suporte (ES) (zero de padrão) com a programação ajustada anteriormente no potenciostato. Os dados da curva obtida estão na tabela 1.
 4. Construir a curva analítica: em um Becker fazer 5 adições sucessivas de 20 μ l da solução padrão 10g/L de ácido ascórbico, agitar por 30 segundos a cada adição e parar. Proceder a medida do voltamograma para cada adição.
1. Registrando a amostra- em outro Becker de 10ml, colocar 9 ml de água deionizada e 1 ml de tampão, agitar por 30 segundos. Acrescentar 60 μ l da amostra, agitar por 30 segundos e parar. Proceder a medida do voltamograma.
 2. Agora utilize essa medida para realizar a adição de padrão. Para isso acrescentar 20 μ l da solução padrão 10g/L de ácido ascórbico. Agitar por 30 segundos e parar. Proceder a leitura.
 3. Repetir adições do padrão por mais 4 vezes.
 4. Trace a curva padrão e adição de padrão e determine a concentração da amostra.
 5. O procedimento da Farmacopéia USP (atenção: não é Universidade de São Paulo e sim sigla para *The United States Pharmacopeia (USP)*)
http://www.uspbpep.com/usp32/pub/data/v32270/xref_usp32nf27s0_m6090.html -

consulta web. dia 05/10/2022). Descreve que para comprimidos efervescentes de vitamina C – o valor aceitável deve estar entre 90 – 110 % de AA/g comprimido. Você recomendaria o método realizado como um método oficial de análise? Quais as vantagens e desvantagens da VC frente ao método oficial?

Pré- relatório-

- 1- Faça um organograma do experimento
- 2- Pesquise qual o método oficial para análise de vitamina C em comprimidos.
- 3- Pesquise como deve ser um voltamograma cíclico para um processo reversível e irreversível.
- 4- Dada a figura abaixo calcule a concentração de ácido ascórbico volume da amostra 60 uL volume do eletrólito de suporte 10 mL.



EXPERIMENTO # 6: FIA

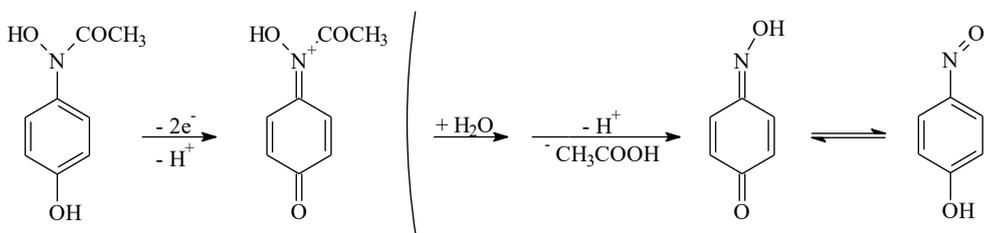
Determinação de Paracetamol (4-Acetoamino Fenol ou Acetoaminophen)

Veja vídeo do experimento em: **Fia Eletroquímico - Determinação de paracetamol em comprimidos**

<https://eaulas.usp.br/portal/video.action?idItem=31302>

Consulte também- Fundamentos da análise de VC de paracetamol e derivados: Anal. Chem., 1981, 53, 2258. ou *J. Braz. Chem. Soc.*, Vol. 25, No. 3, 478-483, 2014.

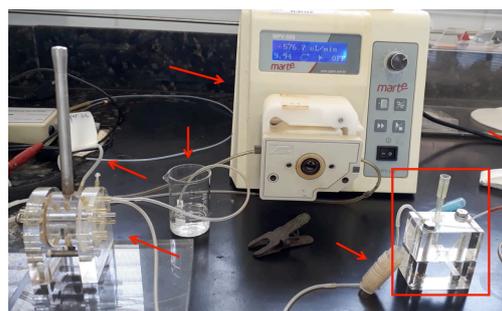
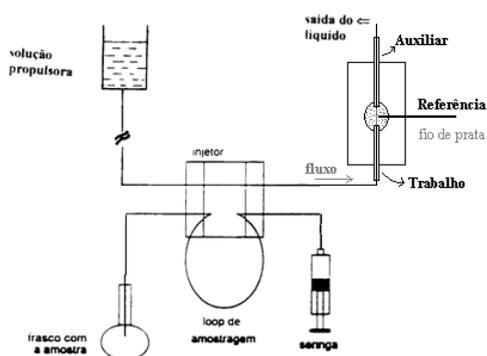
A determinação de paracetamol em medicamentos pode ser feita por oxidação eletroquímica, de acordo com a seguinte reação:



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

O sistema FIA a ser utilizado está esquematizado a seguir:

Esquema equipamento FIA

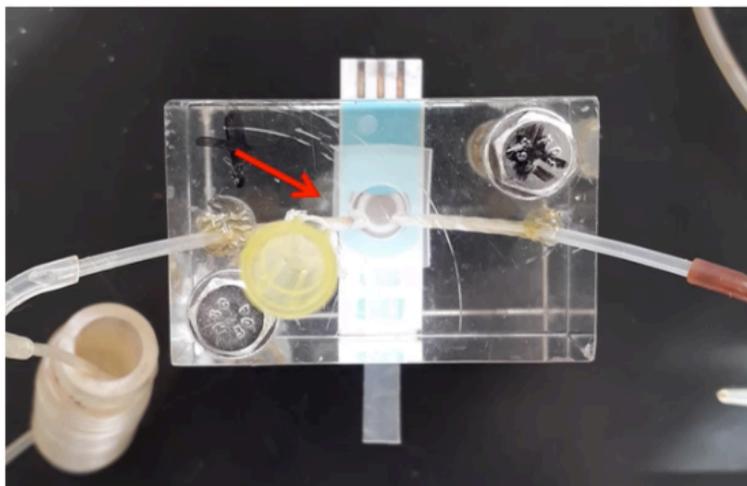


Vidraria:: 1 Balões Volumétricos de 100, 7 Balões Volumétricos de 25 mL; 2 Béqueres de 100 mL; Pisseta; Conta gotas; Micro pipeta 20-200 ; almofariz e pistilo

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

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

Monte a célula eletroquímica conforme foto abaixo:



Célula eletroquímica

Procedimento experimental:

Inicialmente, macerou-se um comprimido de Tylenol como auxílio de um almofariz e pistilo, dissolveu-se os comprimidos com uma solução tampão Ac-/HAc, pH 4,0, e a solução foi transferida quantitativamente para balões 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. Agitou-se vigorosamente o balão, como também este foi levado ao sonicador, para então conseguir-se obter uma melhor dissolução dos comprimidos. Depois, as amostras foram filtradas com a ajuda de uma seringa e um filtro, este contendo uma membrana capaz de reter a sílica que envolve os comprimidos por fora. **A amostra deve ser preparada em triplicata – 3 comprimidos diferentes (A1- A2 e A3)**

De acordo com o fabricante cada comprimido deve conter 750 mg de paracetamol

Pipetar 50 μ L da cada solução de Tylenol (A1) 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. **Repetir o procedimento para as amostras A2 e A3.**

3- montagem do experimento:

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.

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.

Repetir o procedimento com as

Com base na curva de calibração, calcule o conteúdo de paracetamol no comprimido analisado.

Qual é a diferença (%) entre o valor indicado na embalagem e o encontrado no presente estudo?
Discuta a exatidão e precisão deste experimento?

Pré-relatório__

- 1. Quais são as reações que acontecem nos eletrodos? (preparação)**
 - 2. De acordo com o fabricante cada comprimido de tylenol deve conter 750 mg de paracetamol**
 - 3. Calcule a concentração de paracetamol em g/L e mol/L na solução A e na solução da amostra**
 - 4. Tylenol contém outros componentes. Estes causam interferência neste estudo?**
 - 5. Compare as vantagens e desvantagens da utilização da gravidade e de bombas peristálticas.**
-

Bloco 2- Métodos de Separação

CRONOGRAMA – MÓDULO PROF. ANDERSON

Data	Experimento	Grupo
10/10	SPE-HPLC	1
	HPLC-ID	2
	GC-Biodiesel	3
	CG-Destilados	4
	CE-LLE	5
24/10	SPE-HPLC	2
	HPLC-ID	3
	GC-Biodiesel	4
	CG-Destilados	5
	CE-LLE	1
31/10	SPE-HPLC	3
	HPLC-ID	4
	GC-Biodiesel	5
	CG-Destilados	1
	CE-LLE	2
14/11	SPE-HPLC	4
	HPLC-ID	5
	GC-Biodiesel	1
	CG-Destilados	2
	CE-LLE	3
21/11	SPE-HPLC	5
	HPLC-ID	1
	GC-Biodiesel	2
	CG-Destilados	3
	CE-LLE	4
28/11	DLLME-LC-MS	Todos

Experimento 1 - SPE-HPLC

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

1. Materiais equipamentos e Reagentes (por grupo)

- Sistema cromatográfico (Shimadzu) (**Lab Anderson**);
- Coluna cromatográfica de octadecilsilano, C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m) (**Lab Anderson**);
- Coluna de guarda C18 (4,6 x 12,5 mm) (**Lab Anderson**);
- Solução padrão interno de carbamazepina na concentração de 1000 ng mL⁻¹ (2,0 mL);
- Leite desnatado livre de albendazol sulfóxido (matriz);
- Soluções padrão de albendazol sulfóxido nas seguintes concentrações: 100, 500, 1000, 5000, 10000 ng mL⁻¹ (2,0 mL de cada solução);
- Sistema para extração em fase sólida (manifold) (1) – **Ver figura abaixo**
- Cartuchos para extração em fase sólida C8 (12)
- Centrífuga
- Pipeta volumétrica de 1,00 mL (1)
- Micropipeta de 10-100 μ L (1) e de 100-1000 μ L (1) e ponteiros para as mesmas
- Solventes grau HPLC: metanol (50 mL); hexano (100 mL); acetonitrila gelada (50 mL);
- Água ultrapura (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. Procedimento Experimental

1.1. Preparo da curva analítica (em duplicata) (n=2)

- a. Adicionar 25 μ L de cada concentração da solução padrão de albendazol sulfóxido nos tubos Falcon® de 15 mL, separadamente;
- b. Adicionar 25 μ L do padrão interno (carbamazepina) em todos os tubos Falcon®;
- c. Adicionar 1,00 mL de leite desnatado;
- d. Adicionar 1000 μ L de acetonitrila gelada;
- e. Agitar os tubos em agitador do tipo “mixer” durante 20 segundos;
- f. Centrifugar os tubos durante 15 minutos em 3000 rpm.

1.2. Quantificação dos analitos na amostra desconhecida de leite (triplicata) (n=3)

- a. Adicionar 25 µL do padrão interno (carbamazepina) aos tubos;
- b. Adicionar 25 µL de acetonitrila;
- c. Adicionar 1,00 mL **da amostra desconhecida** de leite;
- d. Adicionar 1000 µL de acetonitrila gelada;
- e. Agitar os tubos em agitador do tipo “mixer” durante 20 segundos;
- f. Centrifugar durante 15 minutos em 3000 rpm.

2.3 Avaliação dos interferentes da matriz (análise do “Branco”) (n=1)

- a. Adicionar 1,00 mL de leite desnatado ao tubo;
- b. Adicionar 50 µL de acetonitrila;
- c. Adicionar 1000 µL de acetonitrila gelada;
- d. Agitar em agitador do tipo “mixer” durante 20 segundos;
- e. Centrifugar durante 15 minutos em 3000 rpm.

2.4 Procedimento para a extração em fase sólida

- a. Posicionar os cartuchos C8 no manifold (**Ver figura abaixo**);
- b. Adicionar 1,0 mL de metanol em cada cartucho, aplicar vácuo e proceder a eluição evitando a secagem do sorvente;
- c. Adicionar 1,0 mL de água ultrapura, aplicar vácuo e proceder a eluição evitando a secagem do sorvente;
- d. Adicionar o sobrenadante da curva analítica, “branco” ou amostra desconhecida (sobrenadante das etapas 2.1; 2.2. e 2.3) nos cartuchos; aplicar vácuo e proceder a eluição evitando a secagem do sorvente.
- e. Adicionar 3,0 mL de hexano, aplicar vácuo e proceder a eluição até completa secura do sorvente durante 10 min;
- f. Após esse tempo, trocar os tubos que estão abaixo dos cartuchos e colocar tubos limpos (para coleta dos analitos)
- g. Eluir a amostra com 2,0 mL de metanol, a uma vazão aproximada de 2 mL/min;
- h. Coletar o eluato e centrifugá-lo durante 10 minutos em 3000 rpm;
- i. Recuperar 1 mL do sobrenadante;
- j. Secar o extrato resultante em fluxo de ar comprimido;

k. Solubilizar o resíduo em 150 μ L de fase móvel para posterior injeção no HPLC.

2. Condições Cromatográficas (Lab Prof. Anderson-Não precisa preparar)

Será utilizado um sistema para cromatografia líquida de alta eficiência, uma coluna analítica de octadecilsilano, C18 (250 x 4,6 mm, 5 μ m) e uma coluna de guarda C18 (12,5 x 4,6 mm, 5 μ m). A fase móvel será composta de metanol e solução aquosa de ácido fórmico 0,1% v/v (70:30 v/v), com vazão de 0,8 mL/min¹. A temperatura de análise será de 40 °C e a detecção será feita em 290 nm.

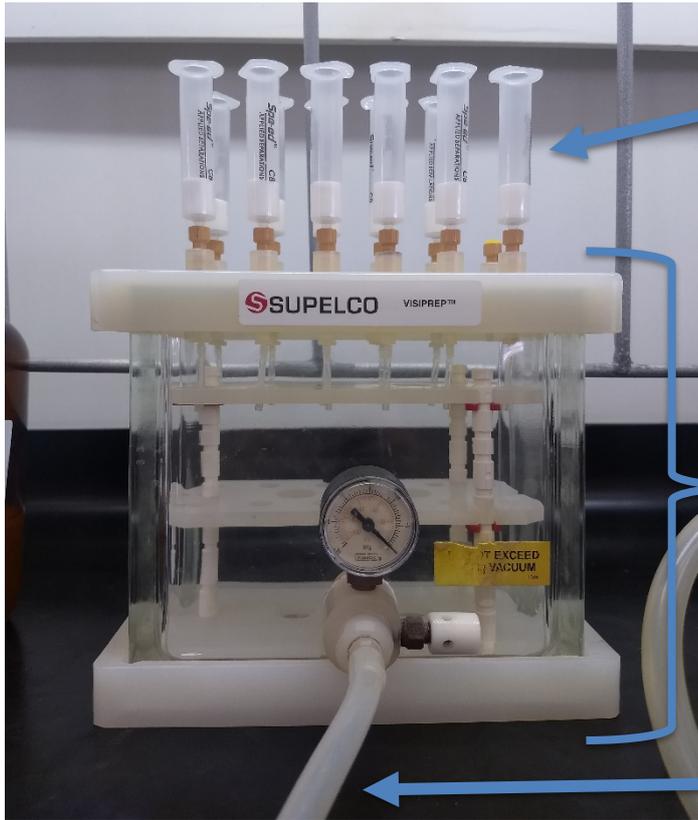
3. Relatório:

- 3.1. Apresentar, em tabelas, as concentrações usadas nas curvas com as respectivas áreas obtidas para cada replicata (apresentar também os valores de área do PI para cada concentração). **(0,5 ponto)**
- 3.2. Apresentar a figura da curva analítica (por padronização interna) com a equação da reta e coeficiente de correlação. Apresentar, logo abaixo dessa figura, em forma de tabela a concentração obtida de albendazol sulfóxido da amostra na forma de média e desvio padrão (atenção para o uso correto de algarismos significativos). Apresentar os valores de área usados para o cálculo da concentração. **(3,5 pontos)**
- 3.3. Por que é necessário a utilização de uma técnica de preparo de amostra anterior a injeção no sistema cromatográfico para amostras “complexas”? **(1 ponto)**
- 3.4.** Na etapa de precipitação proteica qual outro método (além da precipitação com solvente) poderia ser utilizado para a precipitação das proteínas? Explique. **(2 pontos)**
- 3.5.** Qual a função do padrão interno (P.I) nas análises quantitativas? Quais critérios devem ser levados em consideração para escolha de um P.I? **(2 pontos)**
- 3.6. Qual modo empregado nessa análise: reverso ou normal? Explique. **(1 ponto)**

SPE-HPLC

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

Alguns Equipamentos



Cartuchos para
SPE

Manifold

Saída para bomba à
vácuo

Experimento 2 - HPLC – Injeção direta (HPLC-ID)

Quantificação de cafeína em amostras de chá por injeção direta da amostra

1. Materiais, reagentes e instrumentação

- 6 balões volumétricos de 10,00 mL
- 3 balões volumétricos de 5,00 mL
- 3 béqueres de 100 mL com vidro de relógio
- Chapa de aquecimento
- 2 micropipetas de 100-1000 μL
- Proveta de 100,00 mL
- 1 Termômetro de 100°C
- 3 frascos do tipo Eppendorf de 2,0 mL
- 1 Bastão de vidro médio
- 1 Microseringa de vidro
- 1 Bacia com gelo
- Água do tipo I
- Membrana 0,45 μm di do poro
- Padrão de cafeína
- Amostras de chá
- Sistema para cromatografia líquida de alta eficiência: Detector: Arranjo de Diodo – Modelo: SPDM-10ADVP ($\lambda = 254 \text{ nm}$). Injetor Rheodyne com loop (alça de amostragem) de 20 μL . Coluna: SGE C18: (250 mm x 4,6 mm D.I., diâmetro da partícula 5 μm e diâmetro do poro = 120 Å). Pressão máxima da coluna: 300 Kgf/cm². Microseringa 100 μL .

2. Condições cromatográficas

- Fase móvel: metanol: solução aquosa ácida pH 3,5 (50:50 v/v)
- Vazão: 1 mL/min
- Alça de amostragem: 20 μL
- Temperatura de análise: ambiente

3. Procedimento experimental

3.1. Preparo da curva analítica da cafeína (n = 2).

Partindo da solução-padrão de cafeína na concentração 0,5 mg/mL, preparar 10,00 mL das 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 empregando a fase móvel como diluente. Posteriormente injetar em duplicata cada uma das concentrações nas condições indicadas no item 2.

3.2. Preparo da amostra de “chá” (n = 3).

Pesar a massa correspondente a um sachê de chá. Mergulhar a amostra de chá em um béquer de 100 mL contendo água do tipo I à 80° C por 10 minutos. Após atingir à temperatura ambiente, pipetar 1,0 mL da amostra em um balão volumétrico de 5,00 mL e completar o volume com a fase móvel. Filtrar, com auxílio da microseringa de vidro em membrana com porosidade 0,45 µm, recolher o filtrado em um frasco do tipo Eppendorf e injetar no sistema cromatográfico nas condições indicadas no item 2. Fazer esse procedimento todo em triplicata.

Com o auxílio da curva analítica, calcule a concentração de cafeína nas amostras.

4. Relatório

- 4.1. Apresentar, em tabelas, as concentrações usadas nas curvas com as respectivas áreas obtidas para cada concentração e replicata. **(0,5 ponto)**
- 4.2. Apresentar a figura da curva analítica com a equação da reta e coeficiente de correlação. Apresentar, logo abaixo dessa figura, em forma de tabela a concentração obtida de cafeína da amostra na forma de média e desvio padrão (atenção para o uso correto de algarismos significativos). Apresentar os valores de área usados para o cálculo da concentração. **(3 pontos)**
- 4.3. Discuta como ficaria a análise caso a fase móvel fosse metanol: solução aquosa ácida pH 3,5 (70:30 v/v). **(1 ponto)**
- 4.4. Discuta como ficaria a análise caso a coluna tivesse a seguinte dimensão: 150 mm x 4,6 mm D.I., diâmetro da partícula 5µm e diâmetro do poro = 120 Å. **(1 ponto)**
- 4.5. Discuta como ficaria a análise caso fosse injetado 40 µL da amostra. **(1 ponto)**
- 4.6. Discuta como ficaria a análise caso fosse utilizado uma coluna C8, com a mesma dimensão da utilizada no experimento. **(1 ponto)**

4.7. Caso o diâmetro da partícula da coluna fosse diminuído, como a eficiência cromatográfica seria afetada? Explique com base na equação de Van Deemter. **(2,5 pontos)**

Experimento 3 - GC-Biodiesel

Determinação da concentração de metanol e/ou etanol em amostras de Biodiesel

OBS: trazer luvas e máscara para essa aula prática

1. Equipamento, materiais e reagentes

- Sistema para Cromatografia gasosa Shimadzu GC 2010.
- Coluna: SPBTM-1: Coluna Sílica Fundida 30m x 0.53mm x 3.0µm – Marca: Supelco.
- Microseringa de 10 µL
- Frasco do tipo Eppendorf de 2,0 mL
- Pipeta Pasteur
- Micropipeta de 10 a 1000 µL
- Béquer de 25 mL
- Padrões: metanol e etanol – grau HPLC
- Padrão Interno: *tert*-butanol - PA
- Solvente para diluição: 1-butanol - PA
- Solução estoque (mistura): 1% dos padrões de metanol e 1% etanol (m/v) utilizando o 1-butanol como diluente (preparado pelos técnicos)
- Solução estoque de 0,5 % (m/v) de *tert*-butanol (padrão interno) utilizando o 1-butanol - como diluente (preparado pelos técnicos)

2. Procedimento:

2.1. Condições cromatográficas:

- Programação de temperatura da coluna: temperatura inicial de 50 °C durante 3 min, posteriormente, aquecer com a rampa de 50°C/min. Manter nesta temperatura durante 2 min.
- Temperatura do injetor: 160°C
- Temperatura do detector: 225°C
- 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

2.2. Preparo 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 indicado 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 1,00 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				
1-butanol (diluyente)	750 µL	700 µL	600 µL	400 µL	300 µL
Volume Total	1000 µL				

Agitar as soluções vigorosamente. Injetar 0,2 µL cada solução padrão diluída no sistema cromatográfico (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 (Rz) das áreas utilizando a equação a seguir:

$$Rz = \text{área analito} / \text{área PI}$$

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 (Rz).

2.3. Preparo da amostra de biodiesel

Em um frasco do tipo 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** do diluyente 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.

Com o auxílio da curva analítica (padronização interna) calcule a concentração de etanol e ou metanol nas amostras.

3. Relatório

3.1. Apresentar, em tabelas, as concentrações usadas nas curvas com as respectivas áreas obtidas para cada replicata (apresentar também os valores de área do PI para cada concentração). **(0,5 ponto)**

3.2. Apresentar a figura da curva analítica com a equação da reta e coeficiente de correlação. Apresentar, logo abaixo dessa figura, em forma de tabela a concentração obtida de metanol e etanol da amostra na forma de média e desvio padrão (atenção para o uso correto de algarismos significativos). Apresentar os valores de área usados para o cálculo da concentração. **(3,5 pontos)**

3.3. Calcular o fator de retenção, resolução cromatográfica, números de pratos, altura equivalente a um prato teórico e fator de separação (α) dos analitos. **(2,5 pontos)**

3.4. Por que, em cromatografia gasosa, usa-se o modo de eluição por programação da temperatura? **(1,0 ponto)**

3.5. A escolha do padrão interno empregado nesta análise foi adequada? Explique. **(1,0 ponto)**

3.6. A concentração de etanol e ou metanol determinadas na amostra encontra-se dentro do estabelecido pela legislação. Explique. **(0,5 ponto)**

3.7. Por que determinar a presença de metanol e etanol em biodiesel? **(1,0 ponto)**

Experimento 4 - CG-Destilados

Análise quantitativa de etanol e qualitativa de metanol em bebidas destiladas

1. Materiais, Equipamento e reagentes

- Sistema cromatográfico Shimadzu GC 2010;
- Coluna OV-1 Bonded (30 m x 0,32 mm; 3,0 μ m);
- 12 Balões volumétricos de 5,0 mL;
- 3 Balões volumétricos de 10,0 mL;
- 1 Balão volumétrico de 25,0 mL;
- 2 Pipetas de Pasteur;
- 1 Béquer de 50 mL;
- 13 Vials para GC;
- Micropipetas (1000 μ L; 10 μ L; 100 μ L; 200 μ L e 5000 μ L);
- Padrão interno: acetonitrila grau HPLC;
- Padrão de álcool etílico absoluto (*grau* UV/HPLC) e metanol (*grau* UV/HPLC);
- Solvente diluente: Acetona 99% (v/v).

2. Procedimento experimental

2.1. Condições cromatográficas

A programação de temperatura da coluna iniciará em 40 °C, o qual será mantido por 4 min, seguido de uma rampa de 20 °C/min até atingir a temperatura de 60 °C, a qual será mantida por 2 min. Em seguida a temperatura retornará à condição inicial.

A temperatura do injetor e do detector serão 175 °C e 225 °C, respectivamente. O gás de arraste será o nitrogênio com vazão de 10 mL/min. A vazão de hidrogênio será de 30 mL/min, e a vazão de ar sintético de 300 mL/min. O volume de injeção será de 0,5 μ L e será adotado o modo split na proporção de 75:1.

2.2. Preparação da curva analítica para análise quantitativa de etanol

- a. Preparar uma solução mãe de etanol 1% (v/v) em um balão de 25,00 mL, utilizando acetona como solvente diluente;

- b. Utilizando a solução mãe de etanol, realizar diluições nas concentrações de 0,001%, 0,005%, 0,01%, 0,1% e 0,5% utilizando os balões de 5,0 mL e em duplicata (n = 2);
- c. Adicionar 5 µL de acetonitrila em cada balão e completar o volume com acetona;
- d. Agitar vigorosamente as soluções;
- e. Transferir para os respectivos vials de CG e injetar as soluções no sistema cromatográfico.

2.3. Análise qualitativa de metanol

- a. Pipetar 5 µL de metanol em um balão de 5,00 mL e completar o volume com acetona (solução de 0,1% v/v) e agitar bem;
- b. Pipetar 20 µL da solução anterior e transferir para um novo balão de 5,00 mL, completando o volume com acetona (solução de 0,0004% v/v) e agite bem;
- c. Transfira para o vial do CG e injetar as soluções no sistema cromatográfico (não é necessário realizar em duplicata).

2.4. Preparo da amostra desconhecida para análise de etanol (n=3)

- a. Pipetar 20 µL da bebida* em cada um dos três balões volumétricos de 10,00 mL;
- b. Pipete 10 µL de acetonitrila em cada balão e complete o balão com acetona;
- c. Agite bem, transfira para os vials de CG e injete as soluções no sistema cromatográfico.
- d. Com o auxílio da curva analítica (padronização interna), e levando em consideração os cálculos de diluição, calcule a concentração de etanol nas amostras.

** 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 linear da curva analítica.*

2.5. Preparo da amostra para análise de metanol (n = 2)

- a. Transferir a bebida diretamente para os vials do CG;
- b. Injete as amostras e observe no tempo de retenção do metanol se há algum pico.

3. Relatório

- 3.1. Apresentar, em tabela, as concentrações usadas nas curvas com as respectivas áreas obtidas e replicatas. **(0,5 ponto)**
- 3.2. Apresentar a figura da curva analítica (por padronização interna) com a equação da reta e coeficiente de correlação. Apresentar, logo abaixo dessa figura, em forma de tabela a concentração obtida de etanol da amostra na forma de média e desvio padrão (atenção para o uso correto de algarismos significativos). Apresentar os valores de área usados para o cálculo da concentração. **(3,5 pontos)**
- 3.3. A concentração de etanol determinada na amostra encontra-se dentro do estabelecido pela legislação? Explique. **(0,5 ponto)**
- 3.4. Por que determinar a presença de metanol em bebidas alcóolicas? **(1,0 ponto)**
- 3.5. Qual a diferença entre o detector de ionização em chama e o espectrômetro de massas? **(1 ponto)**
- 3.6. Qual a diferença entre injeção split e splitless. **(1,5 pontos)**
- 3.7. Como a polaridade do analito influencia na escolha da fase estacionária em CG? **(1 ponto)**.
- 3.8. Por que usar o método de padronização interna em análises quantitativas? **(1 ponto)**.

Experimento 4 - LLE-Eletroforese Capilar (LLE-EC)

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

1. Materiais, Equipamentos e Reagentes (por grupo):

- Equipamento para eletroforese capilar (1) (**Lab Anderson – Ver figura abaixo**);
- Capilar de sílica fundida não recoberto (75 μm di x 50 cm) (1) (**Lab-Anderson**);
- Microvials para amostra (eletroforese capilar, 17) (**Levar do Lab-Anderson para Lab didático**);
- Agitador de tubos (Vibrax) (1) (**Levar do Lab-Anderson para Lab didático– Ver figura abaixo**);
- Vials do CE para solução tampão/água/NaOH (eletroforese capilar, 6) (**Levar do Lab-Anderson para Lab didático**);
- Agitador de tubos tipo “mixer” (1);
- Tubos tipo Falcon de 15 mL (40);
- Micropipeta de 10-100 μL (1), micropipeta de 100-1000 μL (1), ponteiros para micropipetas;
- Filtro Millex de 0,45 μm (2);
- Solução padrão de mirtazapina 1 mg mL⁻¹ (2,0 mL) (padrão interno);
- 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, 2,0 mL de cada);
- Hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹ (50 mL);
- Hidróxido de sódio 1 mol L⁻¹ (5 mL);
- Solução de ácido clorídrico 1 mol L⁻¹ (5 mL);
- Solução tris-fosfato 50 mmol L⁻¹ pH 3,0 (50 mL);
- Água ultrapura (30 mL);
- Metanol (grau HPLC) – 5 mL;
- Acetato de etila grau HPLC (100 mL);

2. Procedimento Experimental

2.1. Preparo da curva analítica empregando a ELL (n = 2)

1. Adicionar 20 μL do padrão interno mirtazapina aos tubos Falcon® de 15 mL;

2. Adicionar 40 μL de cada concentração de venlafaxina, separadamente, aos tubos Falcon® de 15 mL ($n = 2$);
3. Adicionar 500 μL de água ultrapura e 10 μL de NaOH 1 mol L⁻¹;
4. Agitar as amostras em mixer durante 5 segundos;
5. Adicionar 1,0 mL de acetato de etila e fechar 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 – 800 μL), transferir para tubos limpos do tipo Falcon® previamente identificados e em seguida evaporar o solvente até secura total com ajuda do ar comprimido (**Lab. Prof. Anderson**);
9. Solubilizar o resíduo em 100 μL de água ultrapura, transferir para os vials de “amostra” e colocar no equipamento para análise.

2.2. Preparo do branco empregando a ELL (n = 1)

- I. Pipetar 500 μL da amostra para 1 tubo de ensaio;
- II. Adicionar 60 μL de metanol (para igualar o solvente do padrão interno e do padrão de venlafaxina adicionado na curva);
- III. Adicionar 10 μL de NaOH 1 mol L⁻¹;
- IV. Realizar a extração a partir do item d, do tópico 2.1;

2.3. Preparo das amostras desconhecidas empregando a ELL

- V. Pipetar 500 μL **da amostra desconhecida** para 5 tubos de ensaio;
- VI. Adicionar 20 μL do padrão interno em todas as amostras;
- VII. Adicionar 40 μL de metanol em todas as amostras (para igualar o solvente do padrão de venlafaxina adicionado na curva);
- VIII. Adicionar 10 μL de NaOH 1 mol L⁻¹ em 3 amostras e 10 μL de HCl 1 mol L⁻¹ nas outras 2 amostras;
- IX. Realizar as extrações a partir do item d, do tópico 2.1;
- X. Determinar a concentração de venlafaxina nas amostras desconhecidas baseado na equação da reta obtida na curva analítica.

2.4. Soluções empregadas na análise por EC

- a. Filtrar as soluções de NaOH 0,1 mol L⁻¹ e solução de tris-fosfato 50 mmol L⁻¹ utilizando os filtros millex de 0,45 μm ;

- b. Transferir as soluções filtradas e água ultrapura para tubos Falcon;
- c. Levá-los ao ultrassom durante 5 minutos;
- d. Transferir 1,8 mL de cada solução para seus respectivos vials de eletroforese capilar.

3. 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 ultrapura e 2 minutos com a solução tampão de análise.

Realizar separação dos analitos empregando uma solução tris-fosfato 50 mmol L⁻¹ pH 3,0 e capilar de sílica fundida não recoberto medindo 50 cm de comprimento efetivo e 75 µm de diâmetro interno. Aplicar uma tensão de +22 kV e temperatura de análise de 25°C. Empregar a injeção hidrodinâmica: 0,5 psi durante 5 segundos. Monitorar os analitos em 195 nm.

4. Relatório

- 4.1. Apresentar, em tabela, as concentrações usadas nas curvas com as respectivas áreas obtidas e replicatas. **(0,5 ponto)**
- 4.2. Apresentar a figura da curva analítica (por padronização interna) com a equação da reta e coeficiente de correlação. Apresentar, logo abaixo dessa figura, em forma de tabela a concentração obtida de venlafaxina na amostra na forma de média e desvio padrão (atenção para o uso correto de algarismos significativos). Apresentar os valores de área usados para o cálculo da concentração. **(3,5 pontos)**
- 4.3. Baseado nas características físico-química dos analitos discuta porque a análise foi realizada em pH 3,0. **(1,5 ponto)**.
- 4.4. Caso a análise fosse realizada em pH 10, como ficaria a separação dos analitos? **(1 ponto)**
- 4.5. Baseado nas características físico-química dos analitos discuta porque a extração foi realizada em pH alcalino. **(1,5 ponto)**
- 4.6. Como a informação do Log P da molécula pode ajudar no planejamento da extração líquido-líquido? **(1 ponto)**
- 4.7. Qual a importância do “branco” (item 2.2) nas análises? **(1 ponto)**

Nas páginas abaixo seguem algumas imagens de alguns equipamentos utilizados no experimento

EXPERIMENTO LLE-Eletroforese Capilar

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

Alguns Equipamentos



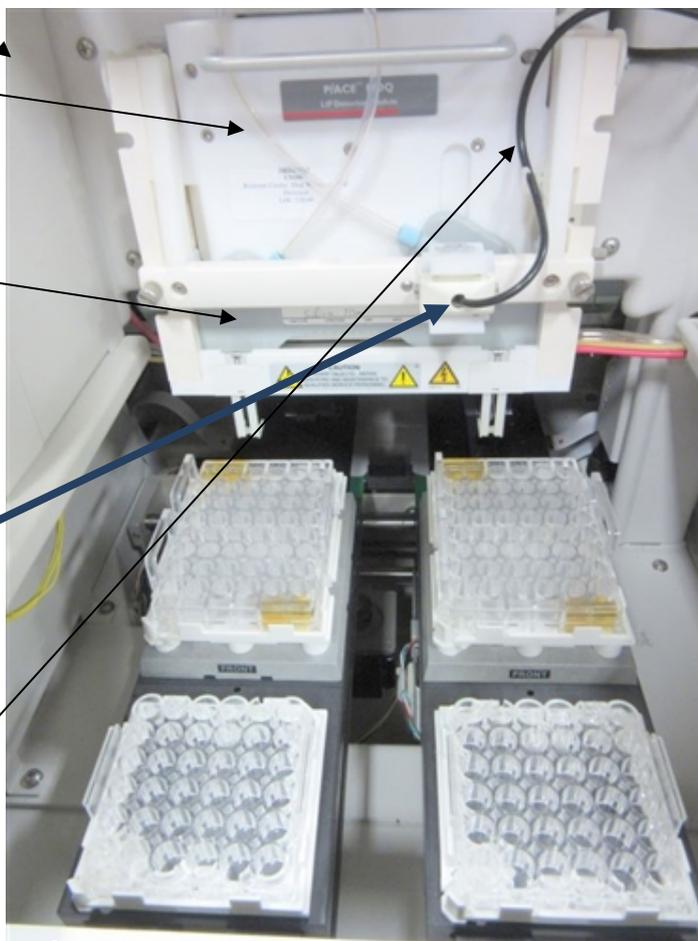
Sistema para Eletroforese capilar
Abaixo, onde as amostras são inseridas após abrir a "porta" do equipamento (no círculo azul)

Tubo por onde passa o "coolant" (líquido que controla a temp. do capilar) e o capilar

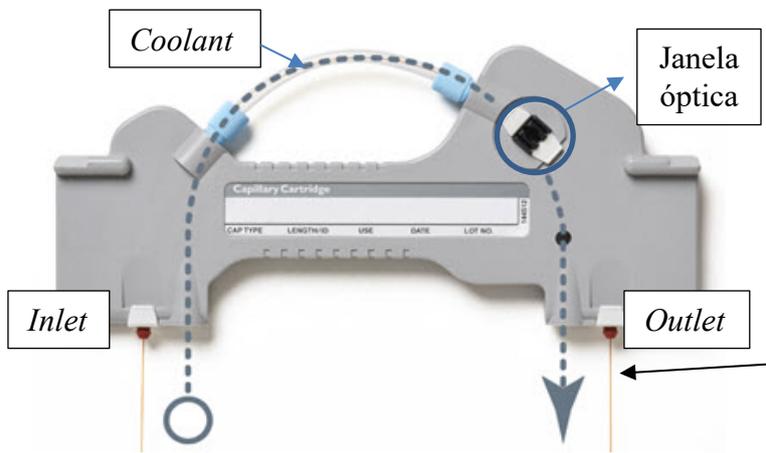
Cassete que suporta o capilar no interior do equipamento

Janela óptica por onde incide a radiação eletromagnética

Fibra óptica que leva a informação até o espectrofotômetro



Nesses suportes são colocados os vials das amostras, NaOH, água, e solução tampão



Cassete utilizados no Sistema para Eletroforese capilar, no qual é inserido o capilar. Em destaque o *inlet*, *outlet*, *coolant* e a janela óptica.

Capilar



Sistema para agitar as amostras (Vibrax). Os tubos são suportados por essa base de acrílico. A agitação é do tipo "orbital" e você controla a rpm.