

## Capítulo 5

# Fundamentos em química experimental

Mônica Mendes Caminha Murito  
Virginia de Lourdes Mendes Finete

### 1. Química: uma ciência essencialmente experimental

A Química é a ciência que estuda as substâncias presentes na natureza, do que elas são feitas, como se transformam e as diversas aplicações destas substâncias em nosso dia-a-dia. Embora o estudo da Química seja constituído de múltiplos conceitos teóricos, associados ao conhecimento de uma simbologia própria, a essência desta ciência é experimental.



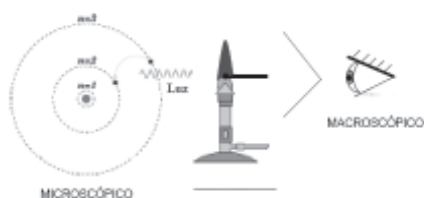
**Química:** do egípcio 'kēme', que significa 'terra'

**Ramos da química:**

- Química inorgânica
- Química orgânica
- Físico-química
- Química analítica

## 2. Introdução ao laboratório de Química

O laboratório é o local mais importante para o desenvolvimento da Química e ambiente de atuação dos profissionais da saúde e de outras áreas afins. É no laboratório que se estabelecem relações entre o que é observado no campo macroscópico, com os conceitos, teorias e modelos formulados em nível microscópico.



**Niels Bohr**, cientista dinamarquês, criou seu modelo atômico em 1913, propondo que os elétrons estão dispostos no átomo em órbitas circulares, ao redor do núcleo, como os planetas em torno do sol. A cor no teste de chama é a energia que os elétrons do elemento emitem em forma de luz, ao retornarem ao seu estado fundamental.

A realização de qualquer atividade no laboratório requer o uso da vestimenta adequada: calça comprida, jaleco fechado de manga comprida, sapato fechado em couro e óculos de proteção, os quais oferecem uma barreira de proteção mínima contra eventuais respingos ou derramamentos de substâncias químicas. Também é imprescindível reconhecer os diversos materiais, equipamentos, substâncias, fontes de consulta bibliográfica, símbolos de segurança e apresentar uma postura adequada.

## 3. Soluções

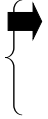
### 3.1. Propriedades das soluções

As substâncias químicas presentes na natureza e utilizadas em nosso cotidiano encontram-se, geralmente, em forma de soluções. As soluções podem ser líquidas, sólidas ou gasosas.

SOLUÇÃO	SOLUTO	SOLVENTE
Soro fisiológico	Cloreto de sódio	Água
Aço	Carbono	Ferro
Ar atmosférico	Oxigênio, gás carbônico e outros gases	Nitrogênio

**Soluções:** são misturas homogêneas constituídas por um ou mais solutos dissolvidos em um solvente.

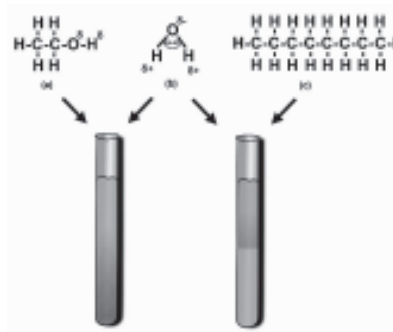
**Solubilidade:** é a capacidade de uma substância (solute) ser dissolvida por um determinado solvente, a uma dada temperatura.



Fatores que influenciam a solubilidade

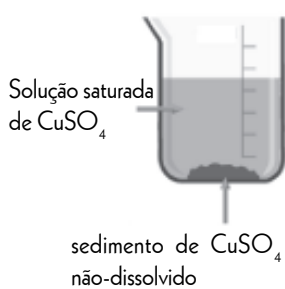
TEMPERATURA  
PRESSÃO  
FORÇAS INTERMOLECULARES

As 'forças intermoleculares' dependem das ligações químicas presentes: substâncias formadas por ligações covalentes podem ser POLARES ou APOLARES. A água (b), por ser uma substância polar, é um bom solvente para o álcool (a), que também é polar; porém, a água é um solvente ruim para a gasolina (c), que é apolar, formando assim uma mistura heterogênea.



### 3.2. Concentração das soluções

Concentração é a quantidade de soluto contida em um volume ou em uma massa de solvente.



A solução é 'saturada' quando contém a máxima quantidade possível de soluto dissolvido e é 'insaturada' antes de atingir esse ponto. Também é possível obter uma solução 'supersaturada' aquecendo uma solução saturada, que tenha parte do soluto não dissolvido, até que todo ele se dissolva. Deve-se manter a solução em repouso e deixar que ela atinja a temperatura ambiente lentamente.

#### 3.2.1. Concentração em quantidade de matéria

A quantidade de matéria é uma unidade fundamental do Sistema Internacional de Unidades (SI) que expressa a quantidade em mol de uma substância. Concentração em quantidade de matéria é a quantidade em mol do soluto por litro de solução:

$$\text{Concentração em quantidade de matéria} = \frac{\text{mol do soluto}}{\text{L de solução}} = \text{mol L}^{-1}$$

Um exemplo da expressão da concentração em quantidade de matéria é a quantidade de sal,  $\text{NaCl}$ , na água do mar: cada 1 L contém 27 g de sal. É possível converter a massa de sal em quantidade de matéria: A massa molar do  $\text{NaCl}$  é a soma das massas do Na e do Cl:  $23 + 35,5 = 58,5 \text{ g/mol}$ . Então se 1 mol de  $\text{NaCl}$  pesa 58,5 g, quantos mol correspondem a 27 g? Basta fazer a seguinte regra de três:

$$\begin{array}{l} 58,5 \text{ g NaCl} \text{ ————— } 1 \text{ mol} \\ 27 \text{ g NaCl} \text{ ————— } x \quad \rightarrow \quad x = 0,46 \text{ mol} \end{array}$$

Assim, a concentração em quantidade de matéria do sal NaCl na água do mar é  $0,46 \text{ mol L}^{-1}$ .

### 3.2.2. Concentração em massa por volume $C_{(m/v)}$

A concentração em massa por volume expressa a massa do soluto em gramas, por litro de solução.

$$C_{(m/v)} = \frac{\text{massa de soluto (g)}}{\text{L}} = \text{g L}^{-1}$$

A solução fisiológica constitui-se de 9,0 gramas de cloreto de sódio, NaCl em um litro de água. A concentração desta solução é igual a  $9,0 \text{ g L}^{-1}$ . Em geral, essa concentração é expressa nos rótulos em termos percentuais. Para isso, deve-se calcular a massa de NaCl contida em 100 ml de solução:

$$1 \text{ L} = 1.000 \text{ mL}$$

$$9,0 \text{ g NaCl} \text{ ————— } 1.000 \text{ mL de solução}$$

$$\times \text{ ————— } 100 \text{ mL de solução} \rightarrow 0,9 \text{ g} / 100 \text{ mL} = 0,9 \% (m/v)$$

### 3.2.3. Concentração em massa por massa $C_{(m/m)}$ e volume por volume $C_{(v/v)}$

Esse tipo de concentração é comumente expresso em forma de composição percentual:

**Composição percentual (%):** é a porcentagem em massa ou volume de um soluto por massa ou volume de solução.

$$\% (m/m) = \frac{\text{massa de soluto (g)}}{\text{massa de solução (g)}} \cdot 100$$

$$\% (v/v) = \frac{\text{volume de soluto (L)}}{\text{volume de solução (L)}} \cdot 100$$

É possível observar essa expressão da concentração em rótulos de muitos produtos utilizados no cotidiano. O vinagre, por exemplo, é uma solução de ácido acético em água a 3,0 %. Isso significa que uma garrafa de 750 g de vinagre contém 22,5 g de ácido acético:

$$\text{Ácido acético no vinagre \% (m/m)} = \frac{22,5 \text{ g}}{750 \text{ g}} \cdot 100 = 3,0 \%$$

### 3.3. Preparo de soluções

Preparar soluções é uma das tarefas principais dentro de um laboratório. Uma solução mal preparada ocasiona erros em formulações e análises. Para o preparo de uma solução, devem ser seguidos os seguintes passos:

- Primeiro passo – Qualidade da água

A maioria das soluções utilizadas em laboratório são líquidas e têm a água como solvente. É importante que a água apresente um nível de qualidade satisfatório e atenda às especificações preconizadas pelas farmacopeias.<sup>1</sup>

#### Especificações USP para águas purificadas

ANÁLISES/ DETERMINAÇÕES	ESPECIFICAÇÃO
pH (25°C)	5,0 - 7,0
Condutividade (25°C)	</= 1,3 uS/cm
Cloretos	</= 1,0 ppm <sup>2</sup>
Amônio	</= 0,3 ppm
Ferro	Passa teste

<sup>1</sup> Farmacopeias: códigos onde se estabelecem, dentre outras coisas, os requisitos mínimos de qualidade para fármacos, insumos, drogas vegetais, medicamentos e produtos na área da saúde. A Farmacopeia Brasileira é o código oficial farmacêutico do país.

<sup>2</sup> ppm e ppb: partes por milhão e partes por bilhão – indicam a concentração em mg/L ou µg/L, respectivamente.

Cálcio	passa Teste
TOC (carbono orgânico total)	< 500 ppb
Nitratos	</= 0,2 ppm
Nitritos	</= 0,2 ppm
Formol	ausente
Cloro total	< 5,0 ppm
Cloro livre	< 5,0 ppm

Fonte: USP 30, NF 25, 2007.

• Segundo passo – Qualidade dos reagentes

Existem diferentes graus de pureza para um reagente químico, de acordo com o fim a que se destina. Quanto maior for o grau de pureza, maior será o custo do reagente.

Grau de pureza ( $p$ ) é o quociente entre a massa de substância pura e a massa total da amostra.

Classificação dos reagentes de acordo com o grau de pureza

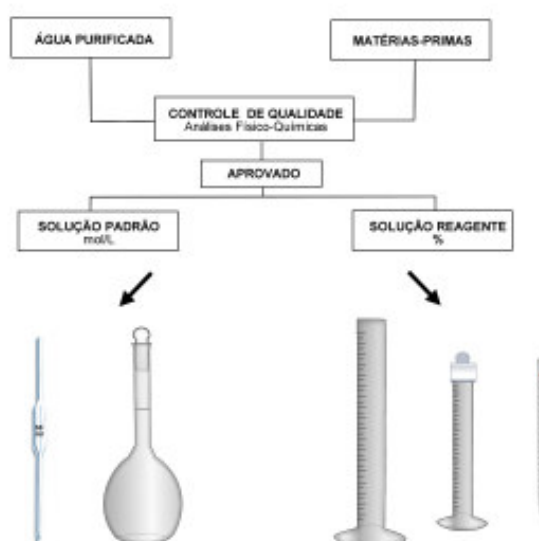
Grau de pureza	Classificação do reagente
Técnico ou comercial	Destinados a fins industriais, não requerem grau de pureza elevado.
Para análise (PA)	Substâncias de grau de pureza analítico, destinadas a análises físico-químicas, com baixos teores de contaminantes.
Substâncias Químicas de Referência (SQR)	Materiais de referência certificados utilizados na avaliação da conformidade dos insumos farmacêuticos e dos medicamentos, como referência de controle de qualidade.

Grau de pureza	Classificação do reagente
Ultrapuro	Substâncias de alto grau de pureza, destinadas a processos analíticos altamente sensíveis, como análises cromatográficas, espectroscópicas, etc.

As monografias de matérias-primas (insumos), constantes nas farmacopeias, contêm os ensaios de pureza e dosagens requeridos para os reagentes químicos.

- Terceiro passo – Qualidade da vidraria

As vidrarias corretas devem ser selecionadas: para o preparo de soluções padrão ou de concentração em quantidade de matéria, devem ser escolhidas vidrarias de precisão, como a pipeta e o balão volumétricos. Já para soluções expressas em composição percentual não há a necessidade de vidrarias tão precisas. Podem ser utilizadas, então, provetas, cilindros graduados e pipetas graduadas.





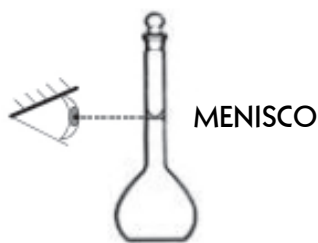
• Quarto passo – Qualidade na técnica de preparo da solução

1. Para soluções de soluto sólido, deve-se pesar o soluto em balança analítica, verificando antes de tudo se a mesma encontra-se calibrada e nivelada. O recipiente para pesagem pode ser um bécher, erlenmeyer, vidro de relógio ou naveta, e deve estar limpo e seco. Já para solutos líquidos, deve-se utilizar a pipeta.

2. Antes de abrir o frasco do reagente, ler o rótulo e verificar a presença de símbolos de risco, obedecendo às normas de biossegurança. Deve-se utilizar uma espátula para retirar a porção a ser pesada ou, no caso de substâncias líquidas, transferir pequena porção para outro recipiente e só então pipetar o líquido. Nunca devemos introduzir outro tipo de objeto no frasco de reagente, evitando contaminações. Também é importante não manipular diretamente com os dedos o recipiente de pesagem a fim de evitar que a gordura dos dedos influencie na leitura.

3. Após a pesagem, o soluto deverá ser transferido quantitativamente, ou seja, totalmente, para a vidraria escolhida: um balão volumétrico ou cilindro graduado. É adequado utilizar um funil e um bastão de vidro para auxiliar nessa transferência.

4. Em seguida, deve-se avolumar a solução, adicionando um volume de solvente até o traço de aferição da vidraria. É muito importante elevar ao nível dos olhos, observando a posição do menisco, evitando assim o erro de paralaxe.

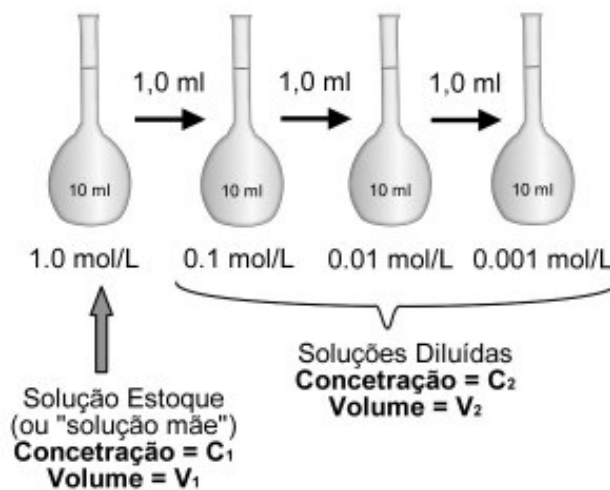


Obs: A sigla 'q.s.p.' aparece com frequência em soluções e formulações de produtos e significa 'quantidade suficiente para', ou seja, para completar o volume final.

A homogeneização da solução deve ser feita apoiando o fundo da vidraria com a palma de uma das mãos e segurando firmemente a tampa com a outra.

### 3.3.1. Diluição de soluções

Diluição é uma técnica em que se acrescenta solvente à solução. A quantidade de soluto permanece constante.

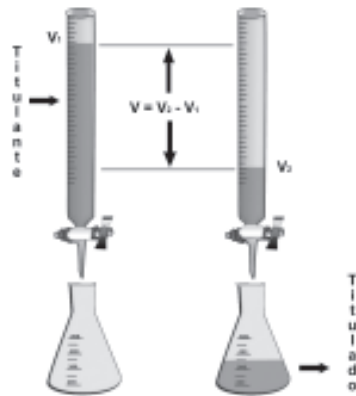


A equação geral para diluição a partir de uma solução concentrada (solução estoque) é:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

### 3.3.2. Titulação

A 'titulação' é uma técnica utilizada em análises volumétricas (ver item 4.1.5.1.3.), para a verificação da concentração das soluções preparadas em laboratório.



Para realizar uma titulação, emprega-se a bureta, que é uma vidraria de precisão, e utiliza-se uma solução padrão, de concentração conhecida (titulante). A substância para o preparo da solução padrão deve ser quimicamente estável, ter alto grau de pureza e ser adequada para reagir com a solução que se deseja analisar (titulado).

**Fator de correção:** Multiplicando a concentração pelo fator de conversão,  $f$ , obteremos a concentração real da solução. Caso o fator de correção seja maior que  $1 \pm 10\%$ , deve-se fazer uma diluição e, através de nova titulação, determinar a concentração.

$$f = \frac{\text{Concentração obtida}}{\text{Concentração desejada}}$$

### 3.3.3. Armazenagem de soluções

Nome: \_\_\_\_\_  
 Concentração: \_\_\_\_\_ Fator: \_\_\_\_\_  
 Data de validade: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Instruções Específicas de Armazenagem  
 Técnico Responsável

As soluções alcalinas, como a de hidróxido de sódio (NaOH), não devem ser guardadas em frascos de vidro, pois os hidróxidos 'atacam' o mesmo e dissolvem a sílica com formação de silicatos solúveis. O ácido

'atacam' o mesmo e dissolvem a sílica com formação de silicatos solúveis. O ácido

fluorídrico, HF, também reage com o vidro formando  $\text{SiF}_4$ . Estas soluções devem ser conservadas em frascos de polietileno. Soluções que sofrem decomposição pela exposição à luz, como a de nitrato de prata,  $\text{AgNO}_3$ , devem ser estocadas em frasco âmbar. As demais soluções podem ser armazenadas em frascos de vidro, bem fechados e rotulados.

#### 4. Química analítica

A Química Analítica é o ramo da química que estuda a identificação e quantificação das substâncias que compõem uma amostra. Através das determinações analíticas é possível saber do que a amostra é feita e quanto de cada substância está presente.

O controle de qualidade das diversas matérias-primas e dos produtos industrializados que utilizamos, os resíduos gerados nesses processos produtivos, as reações químicas que acontecem na natureza e as pesquisas envolvendo a transformação de substâncias em novos produtos são áreas onde a química analítica está presente.

É importante destacar que as metodologias em Química analítica encontram-se disponíveis nas farmacopeias.

A seguir, temos a descrição das etapas de uma determinação analítica:

1. Planejamento e organização da análise
2. Estudo das propriedades da substância de interesse (analito)
3. Amostragem
4. Preparo da amostra para análise no laboratório (amostra laboratorial)
5. Seleção do método de análise – clássico ou instrumental?
6. Tratamento de dados / validação

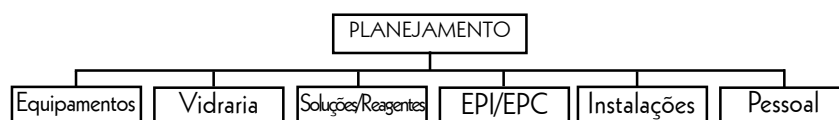
## 4.1. Etapas de uma determinação analítica

### 4.1.1. Planejamento e organização da análise

O planejamento é a etapa mais importante de qualquer atividade laboratorial. Através dele é possível evitar a falta de insumos e materiais que comprometeriam o resultado de uma análise. É possível, também, organizar melhor a execução do trabalho, evitando situações de risco para os operadores e danos aos equipamentos, materiais e instalações

É sempre importante considerar que:

- Cada material tem o seu lugar específico.
- A bancada de trabalho deve estar livre de qualquer material que não faça parte da tarefa.
- A roupa de trabalho deve ser compatível com o tipo de atividade que está sendo executada.
- É preciso estar atento aos ruídos a sua volta.
- Ao terminar a atividade, deve ser feita a limpeza das bancadas.



### 4.1.2. Estudo das propriedades da substância de interesse (analito)

Ao analisar uma amostra, é importante reconhecer suas propriedades físico-químicas.

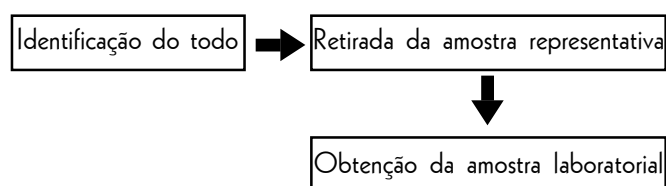
Uma propriedade físico-química é uma propriedade mensurável que descreve qualquer característica qualitativa ou quantitativa do analito.

Dependendo da complexidade e do tipo de amostra, podem ser preconizadas medidas de uma ou mais propriedades do analito para análise.

Propriedades qualitativas	Propriedades quantitativas
Identidade química	pH
Cor	Viscosidade
Sabor	Densidade
Odor	Condutividade
Textura	Ponto de fusão e ebulição
	Absorção e emissão de radiação

#### 4.1.3. Amostragem

A amostragem de uma determinada substância para análise no laboratório deve ser efetuada de maneira a retirar uma porção homogênea do todo, chamada 'amostra representativa'. Para proceder uma amostragem correta, é necessário seguir três passos fundamentais:



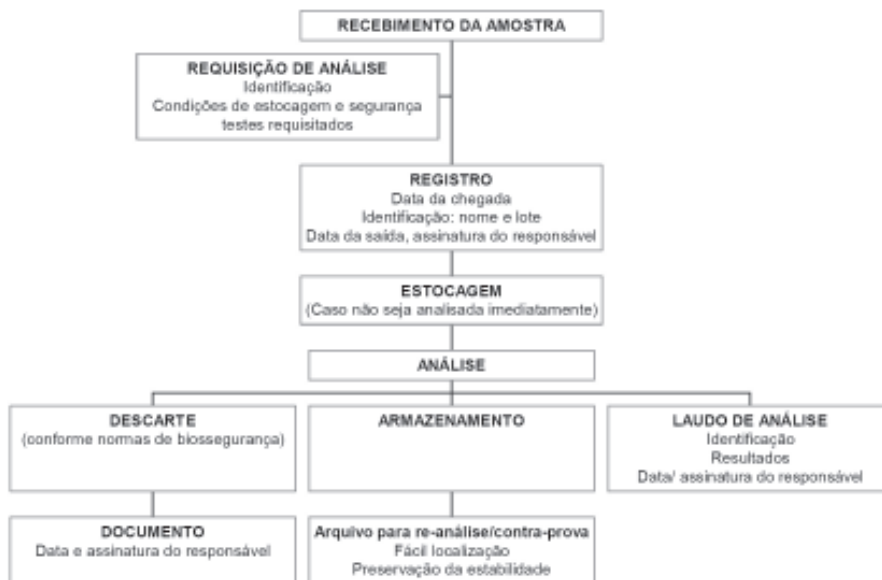
Para a obtenção de uma amostra representativa a partir de um material heterogêneo, é necessário dividir esse material, visualmente, em partes. Retirando-se porções de cada parte, aleatoriamente, temos a coleta de uma 'amostra aleatória'. A combinação da amostra aleatória constrói a amostra representativa.

## Transporte da amostra

○ transporte da amostra representativa deve ser feito em recipientes apropriados, devidamente fechados e à temperatura adequada de forma a preservar a integridade da amostra durante o seu fluxo.

Deve haver Procedimentos Operacionais Padrão (POP) relativos à amostragem e que especifiquem as pessoas designadas a coletar amostras.

### Fluxo da amostra no laboratório



#### 4.1.4. Preparo da amostra para análise no laboratório (amostra laboratorial)

Algumas amostras necessitam de preparo antes de sua análise. Isso dependerá da complexidade da matriz a ser analisada.

As técnicas para obtenção da amostra laboratorial incluem:

- Trituração e dissolução
- Decomposição

- Extração (ver item 5.1.)
- Separação de misturas

### Trituração e dissolução

Quando uma amostra é sólida, é necessário triturá-la e misturá-la para que a mesma se reduza a um pó fino e homogêneo. Para a trituração de amostras, usam-se gral (ou almofariz) e pistilo, feitos em porcelana ou ágata.

Após a trituração, o sólido geralmente passa por um processo de dissolução. O solvente utilizado dependerá da natureza química do sólido a ser dissolvido: para sólidos iônicos, a água e os alcoóis são os solventes mais utilizados. Para outros sólidos inorgânicos, geralmente são empregados ácidos (Tabela 1).

Tabela 1: Ácidos utilizados para dissolução de amostras

ÁCIDO	COMPOSIÇÃO (% em massa e densidade)	CARACTERÍSTICAS
HCl	37% 1,19g mL <sup>-1</sup>	Não oxidante. Dissolução de metais, carbonatos, óxidos, fosfatos e sulfetos. A composição constante em ebulição a 109°C é 20% de HCl. Forma cloretos voláteis com As, Sb, Ge e Pb.
HBr	48-65% 1,49g mL <sup>-1</sup>	Semelhante ao HCl na propriedade de solvente. A composição constante em ebulição a 124°C é de 48% de HBr.
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	95-98% 1,84g mL <sup>-1</sup>	Bom solvente em sua temperatura de ebulição a 338°C. Ataca metais. Desidrata e oxida compostos orgânicos.



$\text{H}_3\text{PO}_4$	85% 1,70g mL <sup>-1</sup>	Dissolução a quente de óxidos refratários, insolúveis em outros ácidos. Torna-se anidro acima de 150°C. Desidrata a ácido pirofosfórico, $\text{H}_2\text{PO}_3\text{-O-PO}_3\text{H}_2$ , acima de 200°C e desidrata ainda a ácido metafosfórico, $[\text{HPO}_3]_n$ , acima de 300°C.
HF	50% 1,16g mL <sup>-1</sup>	Dissolução de silicatos, pela formação de $\text{SiF}_4$ volátil. O excesso de produto é removido pela adição de $\text{HClO}_4$ ou $\text{H}_2\text{SO}_4$ , com aquecimento. Forma fluoretos voláteis com As, B, Ge, Se, Ta, Nb, Ti e Te. Forma precipitados com Ca. A composição constante em ebulição a 112°C é de 38% de HF.
$\text{HClO}_4$	60-72% 1,54-1,67g mL <sup>-1</sup>	Oxidante poderoso e explosivo, a quente e concentrado. Dissolução de matéria orgânica que já tenha sido parcialmente oxidada por $\text{HNO}_3$ a quente e levada próximo da secura, algumas vezes. A composição constante em ebulição a 203°C é de 72% de $\text{HClO}_4$ .
$\text{HNO}_3$	68% 1,51g mL <sup>-1</sup>	Oxidante. Dissolução de metais alcalinos, óxidos básicos e carbonatos, formando sais, como o nitrato de amônio. Reage explosivamente com cianetos, carbetos e pós-metálicos.

Fonte: Adaptado de Harris, 2001.

Também são comumente utilizadas misturas de ácidos para a dissolução de amostras. Uma das mais utilizadas é a chamada 'Água Régia', uma mistura de 'ácido nítrico' e 'ácido clorídrico' concentrados (proporção 1 para 3). É um líquido altamente 'corrosivo', de coloração amarela, e um dos poucos solventes que tem a capacidade de dissolver o 'ouro' e a 'platina', daí vem o

nome dessa mistura de ácidos: devido à propriedade de dissolver os 'metais nobres', 'régios'. A mistura é instável e perde seu poder de solvente rapidamente. Assim, seu uso deve ser imediato após o preparo.

É importante considerar os riscos de acidentes ao se manipular ácidos concentrados, os quais têm alto poder corrosivo. O uso de luvas adequadas, óculos de proteção e capela de segurança é essencial para o trabalho com ácidos.

### **Decomposição**

A decomposição aplica-se a amostras de matéria orgânica e é efetuada, geralmente, na presença de solventes líquidos, como os ácidos nítrico e sulfúrico, ou água oxigenada, utilizando-se a ação das microondas ou digestão, como no caso da determinação de nitrogênio por Kjeldahl (ver item 4.1.5.1.4.).

### **Separação de misturas**

As misturas são formadas pela união de duas ou mais substâncias, as quais não sofrem transformação, ou seja, ao serem separadas permanecem quimicamente inalteradas.

Ao contrário da substância pura, que possui temperaturas ou pontos de fusão e ebulição constantes e bem definidos, não é possível determinar experimentalmente estas propriedades físicas em uma mistura, com exceção das 'misturas azeotrópicas', que apresentam ponto de ebulição constante, e das 'misturas eutéicas', onde o ponto de fusão é constante.

As misturas são classificadas como 'homogêneas', as quais apresentam um só aspecto ou fase, e 'heterogêneas', onde é possível identificar duas ou mais fases.

Para a separação de misturas 'heterogêneas', têm-se principalmente os seguintes métodos:

**Filtração:** Processo que utiliza um filtro para efetuar a separação. Podemos proceder a filtração simples, adaptando o filtro de papel dobrado e ajustado conforme a figura (a) ao funil ou a filtração a vácuo (b), utilizada para misturas viscosas.

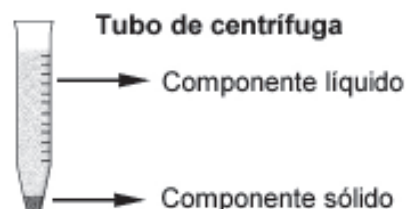


(a) Filtração simples



(b) Filtração a vácuo

**Centrifugação:** Processo que utiliza uma centrífuga que, por rotação em alta velocidade, separa misturas sólido-líquido, onde o componente sólido se deposita no fundo do recipiente. Muito utilizada para o preparo de amostras de sangue – separa o soro (parte líquida) do plasma (parte sólida).





**Decantação:** Utiliza um funil próprio, o funil de decantação, para a separação de misturas onde um dos componentes possui maior densidade, depositando-se no fundo do recipiente.

Para separação de misturas 'homogêneas', os métodos mais utilizados são: cristalização, destilação simples ou fracionada. Estes métodos serão estudados em 'Química orgânica' (item 5.1.).

#### 4.1.5. Seleção do método de análise: clássico ou instrumental?

Os métodos em Química analítica são divididos em clássicos e instrumentais. A seleção do método de análise não depende somente da natureza química da amostra. É preciso levar em conta fatores como custo, equipamentos existentes no laboratório, quantidade de amostra disponível, demanda de análises e pessoal técnico envolvido.

**Número de replicatas da amostra:** Depende da quantidade de amostra disponível e da técnica analítica empregada. É importante trabalhar com replicatas, de forma a obter um resultado final confiável, pela média das determinações.

#### 4.1.5.1. Métodos clássicos: gravimetria e volumetria

##### 4.1.5.1.1. Gravimetria

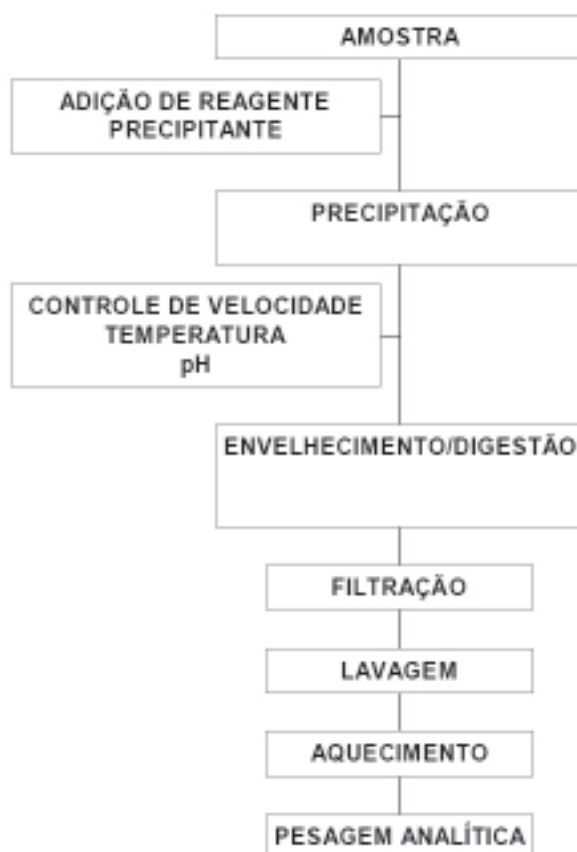
O princípio da análise gravimétrica ou gravimetria é a determinação da concentração de um ou mais analitos, de composição química definida, em uma amostra, através da pesagem. Antes de ser pesada, a substância a ser

analisada deve ser separada da amostra e, para isso, podem ser aplicadas reações de precipitação ou combustão.

### Gravimetria por precipitação

Nesta análise, é adicionado um reagente à amostra, capaz de formar com o analito de interesse um composto insolúvel que se deposita (precipita) no fundo do recipiente. Esse reagente deve ser seletivo, ou seja, específico para o elemento ou substância que se deseja separar.

#### Étapas da análise gravimétrica por precipitação



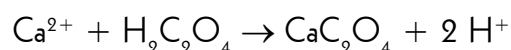
## Exemplos de alguns metais determinados por gravimetria

Metal	Reagente precipitante	Precipitado formado*	Temperatura de aquecimento (°C)	Precipitado final para pesagem	Interferentes mais comuns
Ag	HCl/HNO <sub>3</sub>	AgCl	400	AgCl	Hg
Al	NH <sub>4</sub> Cl/NH <sub>3</sub>	Al(OH) <sub>3</sub>	1.200	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Cr, Fe, Ni
Ca	H <sub>2</sub> C <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	CaC <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	1.000	CaO	Metais(exceção alcalinos) e Mg
Fe	NH <sub>4</sub> Cl/NH <sub>3</sub>	Fe(OH) <sub>3</sub>	850	Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Metais tetravalentes e Al, Ti, Cr
Ni	DMG (dimetil-glioxima)/NH <sub>3</sub>	Ni(DMG) <sub>2</sub>	120	Ni(DMG) <sub>2</sub>	Pd

\* O precipitado formado deve ter as seguintes características:

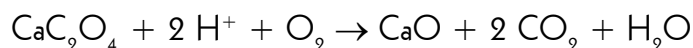
- Composição química definida (não sofrer contaminações).
- Não ser volátil, higroscópico ou solúvel.
- Ter aspecto e quantidade adequados para pesagem na balança analítica.
- Ser formado lentamente, com controle de parâmetros da reação de precipitação como: velocidade, temperatura e pH, de forma a obter um sólido com boas condições para filtração simples ou a vácuo.
- Passar por um processo de envelhecimento ou digestão, que consiste em uma série de modificações estruturais, visando ao seu aperfeiçoamento.
- Ser aquecido a altas temperaturas (geralmente em mufla) para obtenção do produto final estável a ser pesado.

Um exemplo da aplicação da gravimetria por precipitação é a 'determinação de cálcio em águas minerais'. O cálcio é precipitado como oxalato,  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , pela adição de ácido oxálico:



Um cadinho deve ser tarado, até peso constante. O procedimento consiste em levar o cadinho à mufla, à temperatura de  $1.000^\circ\text{C}$ , por uma hora. Retira-se o cadinho, com o auxílio de luvas e uma pinça, e resfria-se em dessecador. Pesa-se. Esse procedimento deverá ser repetido até que a massa não apresente variação maior que 1%.

O precipitado de  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , insolúvel, é coletado em papel de filtro, seco, transferido para o cadinho previamente tarado, e aquecido ao rubro à temperatura de  $1.000^\circ\text{C}$ , sendo convertido em óxido de cálcio,  $\text{CaO}$ , pela ação do oxigênio do ar:



Após a calcinação, resfria-se o precipitado, em dessecador, e pesa-se, até peso constante. Sempre se deve trabalhar com pelo menos uma duplicata da amostra.

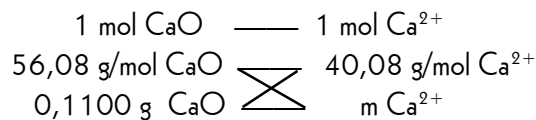
Simulando a análise de uma amostra de 200 mL de água, e considerando que a massa do cadinho tarado, até peso constante, é de 25,0000 g, o cálculo da concentração de cálcio na amostra seria:

Cálculo da massa de  $\text{CaO}$ :

$$(\text{massa do cadinho} + \text{massa do precipitado}) - \text{massa do cadinho} = \text{massa de CaO}$$

$$25,1100 - 25,0000 = 0,1100 \text{ g}$$

Cálculo da massa de  $\text{Ca}^{2+}$  na amostra após aquecimento ao rubro (calcinação):



$$\boxed{m \text{ Ca}^{2+} = 0,0786 \text{ g}} \rightarrow \text{Massa de cálcio em 200 mL de amostra de água}$$

Para expressão do resultado em termos percentuais, basta calcular a massa de  $\text{Ca}^{2+}$  para 100 mL de água:

$$m \text{ Ca}^{2+} / 100 \text{ mL} = 0,03931 \text{ g} \rightarrow \mathbf{0,03931\%}$$

#### 4.1.5.1.2. Determinação do teor de cinzas

As cinzas constituem a fração mineral de amostras e contêm, em geral, cálcio, magnésio, ferro, fósforo, chumbo, sódio e outros componentes. O perfil das cinzas é comumente considerado como parâmetro geral de qualidade e frequentemente utilizado como critério na especificação de amostras diversas.

Para determinar o teor de cinzas, utilizam-se cadinhos previamente incinerados e tarados, como descrito no exemplo da determinação de cálcio. Pesa-se 3 g da amostra, sempre trabalhando no mínimo em duplicata. Leva-se à mufla, à temperatura de  $600^\circ\text{C}$ , até a eliminação completa do carvão. As cinzas deverão ficar brancas ou ligeiramente acinzentadas, caso contrário, esfriar, adicionar 0,5 mL de água, secar e incinerar novamente. Deixa-se esfriar em estufa por vinte minutos, transferindo-se para um dessecador por mais vinte minutos. Finalmente, os cadinhos contendo as cinzas devem ser pesados, até a obtenção de peso constante. O cálculo do teor de cinzas é feito pela equação:



$$\text{Teor de cinzas (\%)} = \frac{mC}{mA} \cdot 100$$

Onde:

$mC$  = massa das cinzas (g)

$mA$  = massa da amostra (g)

### **Cinzas carbonatadas e sulfatadas**

Algumas amostras contendo sais de metais alcalinos, que retêm proporções variáveis de dióxido de carbono nas condições da incineração, deverão ser tratadas, inicialmente, com solução de carbonato de amônio (cinzas carbonatadas) ou ácido sulfúrico diluído (cinzas sulfatadas) e, após secagem do excesso do reagente, incineradas e pesadas. A determinação de cinzas insolúveis em ácido, geralmente utilizando ácido clorídrico diluído a 10% (m/m), oferece uma avaliação do teor de sílica existente na amostra.

### **Cuidados com o uso da balança analítica nas análises gravimétricas**

O coração da gravimetria é a utilização da balança analítica para a pesagem de amostras. Qualquer erro nesse procedimento acarretará em um resultado incorreto.

As balanças analíticas modernas trabalham com o emprego de circuitos eletrônicos que permitem medições precisas e, mesmo que seu aperfeiçoamento já não exija o uso de uma sala especial, é preciso levar em consideração as interações do equipamento com o ambiente.

A primeira coisa a se observar é a localização da balança analítica: ela deve estar sobre uma bancada fixa, à prova de impactos ou vibrações, e em sala fechada onde não existam intensas correntes de ar.

O nivelamento da balança deve ser checado pela observação da bolha de nível: caso não esteja centralizada, fazê-lo pela regulagem dos pés ajustáveis.

As janelas de vidro da balança devem permanecer fechadas durante a leitura da massa para evitar variações devido à entrada de correntes de ar.

Nunca se devem pesar amostras fora da temperatura ambiente: amostras aquecidas devem ser resfriadas no interior do dessecador e, no caso de amostras resfriadas, deve-se esperar até que a mesma atinja o equilíbrio térmico com o ambiente, evitando assim erros pela convecção de ar.

Ao manipular o recipiente usado para a pesagem, tomar o cuidado de não tocá-lo diretamente com as mãos, sempre usando uma toalha de papel ou uma gaze. A gordura e as impressões digitais influenciam na leitura da massa.

A calibração da balança deve estar dentro do prazo de validade estabelecido pelo fabricante. As balanças eletrônicas modernas possuem a opção de autocalibração, pela presença de pesos internos padrões de calibração. Caso a balança necessite de calibração, pelo uso de padrões de peso externos, é essencial que isso seja feito no próprio local onde a balança está instalada, evitando variações de condições ambientais, principalmente da aceleração gravitacional.

Antes de anotar o resultado da leitura da massa, deve-se aguardar a estabilização do valor que aparece no mostrador digital. Flutuações constantes e tendenciosas do valor podem demonstrar a ocorrência de algum problema na pesagem.

Finalmente, é valioso proceder a limpeza da balança após o seu uso, mantendo-a livre de substâncias contaminantes que possam danificá-la, usando um pincel limpo e macio e, se necessário, aplicando um pano limpo embebido em acetona, sem no entanto fazer movimentos bruscos que possam deslocar o prato da balança.

#### 4.1.5.1.3. Volumetria

O princípio da análise volumétrica ou volumetria é a determinação da concentração de um ou mais analitos em uma amostra, através da medição do volume, utilizando a técnica de titulação.

Existem diferentes classificações para a titulação, de acordo com o tipo de reação química envolvida:

- Titulação ácido-base (a mais utilizada em laboratório)
- Titulação de oxirredução (ou redox)
- Titulação complexométrica
- Titulação de precipitação

Titulação ácido-base: o exemplo do preparo e titulação da solução padrão de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

O ácido clorídrico, HCl, P.A. não é uma substância padrão. Sua concentração é função da massa específica, igual a  $1,19 \text{ g mL}^{-1}$ , e sofre variações com o tempo. A solução de HCl na concentração de  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  é muito utilizada no laboratório para reações químicas diversas e preparo de outras soluções.

O preparo da solução  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  se dá pela diluição do HCl concentrado. Para preparar, por exemplo, 1 L, deve ser feita a seguinte sequência de cálculos:

Dados: Concentração do HCl: 37% (m/m); Massa específica:  $1,19 \text{ g mL}^{-1}$ ; Massa molar:  $36,5 \text{ g/mol}$

1 – Cálculo da massa de HCl em  $0,1 \text{ mol}$ :

$$0,1 \text{ mol HCl} = \text{massa HCl} / \text{Massa molar HCl}$$

$$\text{massa HCl} = 0,1 \cdot 36,5 = 3,65 \text{ g}$$

2 – Correção da massa pela concentração do HCl:

$$\begin{array}{l} 37 \text{ g HCl} \text{ — } 100 \text{ g solução} \\ 3,65 \text{ g HCl} \text{ — } m \qquad \qquad m = 9,86 \text{ g} \end{array}$$

3 – Conversão da massa em volume:

$$\begin{array}{l} 1,19 \text{ g HCl} \text{ — } 1 \text{ mL} \\ 9,86 \text{ g HCl} \text{ — } v \qquad \qquad v = 8,29 \text{ mL} \end{array}$$

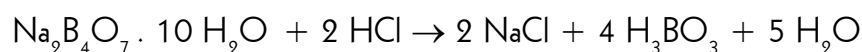
Deve-se transferir 8,29 mL de HCl concentrado para balão volumétrico com capacidade de 1.000 mL, contendo 500 mL de água (completar o volume até o traço de aferição). Homogeneizar.

**Nunca derramar a água sobre o ácido, sempre o ácido sobre a água!**

Para a titulação da solução preparada, utiliza-se bórax,  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$ , como padrão primário. Transferir de 0,4 a 0,5 g de bórax, pesados exatamente, para *erlenmeyer* (trabalhar em triplicata), dissolvendo o padrão em 50 mL de água destilada. Adicionar algumas gotas do indicador metilorange.

A bureta deve ser rinsada pelo menos duas vezes com a solução de HCl a ser titulada, antes de ser preenchida totalmente e zerada.

A solução de HCl é adicionada ao padrão contido no *erlenmeyer*, até que ocorra a viragem de cor do indicador (do amarelo ao laranja). O volume gasto deve ser anotado, com precisão de 0,02 mL, e os valores deverão ser concordantes, caso contrário, repetir a titulação com mais alíquotas.



O 'erro de titulação' deve ser calculado pela realização do ensaio em branco, calculando-se o volume real de titulante gasto:  $V_{\text{real de titulante}} = V_{\text{gasto de titulante}} - V_{\text{ensaio em branco}}$

Cálculo Final:

$$\text{Concentração} = \frac{\text{massa do bórax}}{V \text{ de HCl (mL)} \cdot 0,1907}$$

Obs.: A partir da concentração obtida, calcular o fator de correção (conforme item 3.3.2.).

#### 4.1.5.1.4. Determinação de nitrogênio total pelo método de Kjeldahl

O método desenvolvido por Kjeldahl, em 1883, vem sendo, desde então, adotado por laboratórios em todo o mundo como referência para a determinação de nitrogênio em amostras diversas.

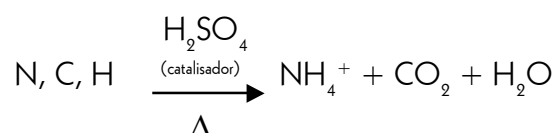
Embora tenham sido desenvolvidos aparatos instrumentais, incorporando avanços para a execução da técnica originalmente praticada com vidrarias adequadas para destilação, seu princípio foi mantido ao longo de mais de um século.



Aparato original

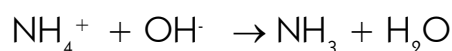
O princípio do método de Kjeldahl consiste em três etapas: digestão da amostra, destilação e titulação.

**1. Digestão:** O nitrogênio presente em uma amostra encontra-se combinado a outros elementos, como carbono e hidrogênio. A digestão é a conversão de todo o nitrogênio orgânico presente na amostra em íons amônio,  $\text{NH}_4^+$ . Isso é possível tratando a amostra em ácido sulfúrico concentrado, a altas temperaturas. O processo de digestão da amostra é acelerado pela adição de pequena quantidade de um catalisador, que contém geralmente selênio, cobre ou titânio em sua composição:



Para proceder a digestão da amostra, deve-se pesar uma quantidade, com precisão, entre 0,1 e 0,5 g, transferindo-a quantitativamente para o balão de Kjeldahl. Adiciona-se 5 ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  e pequena quantidade do catalisador. Os balões são colocados no digestor e a temperatura ajustada a  $50^\circ\text{C}$  – após uma hora, aumentar lentamente até aproximadamente  $300^\circ\text{C}$ . A digestão deve ser feita sempre em duplicata e com a realização do ensaio em branco. ‘Todo o procedimento deve ser executado no interior da capela e com o uso dos EPI’s adequados.’ A digestão termina quando o líquido contendo a amostra ficar límpido.

**2. Destilação:** Após a obtenção dos íons  $\text{NH}_4^+$  é realizada a destilação. Adiciona-se uma base forte, 10 mL de NaOH a 50% (m/v), para a conversão desses íons em gás amônia:



O gás  $\text{NH}_3$  liberado e destilado é coletado em frasco contendo 10 mL de solução de ácido bórico,  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , a 2% (m/v) e algumas gotas de indicador misto. Sempre se deve usar o EPI adequado para o procedimento, que será realizado de acordo com o aparato disponível no laboratório.

**3. Titulação:** O destilado recolhido em ácido bórico deve ser titulado, utilizando solução padrão de ácido clorídrico  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  como solução titulante, até a viragem do indicador.

Cálculos:

$$\% \text{ Nitrogênio Total} = \frac{V \cdot C \cdot f}{m} \cdot 0,014 \cdot 100$$

Onde:

V = volume de solução padrão de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  gasto na titulação (mL)

C = concentração em quantidade de matéria do HCl ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ )

f = fator de correção da solução padrão de HCl  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$

m = massa da amostra (g)

É possível ainda estimar o valor percentual de proteína na amostra, multiplicando o valor do nitrogênio total obtido por um fator de conversão, igual a 6,25:  $\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrogênio total} \cdot 6,25$

**Vantagens e limitações dos métodos clássicos:**

Os métodos clássicos oferecem uma relativa precisão para análise de substâncias em amostras, da ordem de  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , ao mesmo tempo que necessitam de aparato simples para sua execução. Isso traz uma diminuição no custo da análise, já que vidrarias, fornos e balanças são materiais/equipamen-

tos básicos em um laboratório de Química. Porém, são necessários maiores volumes de amostra, o que nem sempre está disponível. Outra desvantagem é o maior tempo de duração das análises.

A presença de substâncias interferentes na amostra é outro ponto crítico. A eliminação destes interferentes implica na introdução de mais etapas na análise, o que aumenta ainda mais o tempo.

Outro problema é a produção de resíduos tóxicos em algumas reações, bem como o manejo e descarte desses resíduos, o que demanda a substituição da técnica por uma outra mais segura.

Erros na manipulação de vidrarias, preparo de soluções e pesagem têm grande impacto no resultado final da análise. É importante seguir os cuidados recomendados ao optar por esses métodos.

### **Cuidados com a vidraria**

Em Química analítica, qualquer perda da amostra em análise é crítica. Vimos os cuidados com a pesagem, quase sempre a etapa inicial de um processo de análise, e a que requer maior precisão. Os cuidados com a limpeza do material utilizado, especialmente a vidraria, também são imprescindíveis para evitar perdas de amostra, por contaminação com outras substâncias.

A limpeza da vidraria deve ser feita inicialmente com água corrente, para retirada dos contaminantes mais solúveis. Após, deve-se mergulhar a vidraria em uma solução de detergente neutro, específico para materiais de laboratório, na concentração e no tempo recomendados pelo fabricante. Com o auxílio de uma escova adequada para cada tipo de vidraria, proceder a limpeza mecânica, enxaguando em



água corrente até a remoção completa do detergente. O enxágue final é sempre feito com água destilada ou deionizada. Vidrarias de maior precisão não podem ser levadas à estufa para secagem, pois a temperatura afeta a calibração das mesmas. Já as demais podem ser secas em estufa, a temperaturas de aproximadamente 60 a 90°C. Sempre se deve guardar as vidrarias limpas e secas.

### Calibração de vidrarias de precisão

Para maior exatidão dos resultados em Química analítica, a calibração de vidrarias volumétricas deve ser feita, a fim de corrigir o volume que realmente está sendo medido. Utiliza-se a pesagem de volumes de água, de acordo com o volume de aferição do material. Para tanto, é importante anotar a temperatura, fazendo a correção do valor da massa específica, convertendo massa em volume. Isso é necessário, pois geralmente as vidrarias são calibradas à temperatura de 20°C, bem abaixo de nossa temperatura ambiente. Esse valor, corrigido, deverá ser considerado no cálculo final para a obtenção de resultados de análise.

Um exemplo seria o procedimento de calibração de uma pipeta volumétrica de 10 mL:

- É preciso colocar o recipiente para pesagem, de preferência um pesa-filtro, na balança analítica, e tará-lo (com a tampa).
- A pipeta a ser calibrada deve ser preenchida com água destilada, até um pouco acima do traço de aferição. Seca-se a ponta da pipeta, para remover qualquer excesso de água, e zera-se, respeitando a posição do menisco e evitando o erro de paralaxe.
- Retira-se então a tampa do pesa-filtro, transferindo-se o volume de 10 mL de água para o interior do mesmo, tampando-o em seguida, evitando assim qualquer perda de água por evaporação.

- Anota-se então a massa de água obtida e utiliza-se a equação seguinte para conversão dessa massa em volume (Tabela 2):

Volume real =  $m \cdot v$

Onde:

$m$  = massa de água

$v$  = volume de 1 g de água tabelado

Tabela 2: Massa específica da água em diferentes temperaturas

Temperatura (°C)	Massa específica da água (g mL <sup>-1</sup> )	Volume de 1g de água (mL)
10	0,9997026	1,0014
11	0,9996084	1,0015
12	0,9995004	1,0016
13	0,9993801	1,0017
14	0,9992474	1,0018
15	0,9991026	1,0020
16	0,9989460	1,0021
17	0,9987779	1,0023
18	0,9985986	1,0025
19	0,9984082	1,0027
20	0,9982071	1,0029
21	0,9979955	1,0031

22	0,9977735	1,00333
23	0,9975415	1,0035
24	0,9972995	1,0038
25	0,9970479	1,0040
26	0,9967867	1,0043
27	0,9965162	1,0046
28	0,9962365	1,0048
29	0,9959478	1,0051
30	0,9956502	1,0054

---

Fonte: Harris, 2001.

#### 4.1.5.2. Métodos instrumentais

A análise instrumental é o estudo dos métodos que utilizam equipamentos para analisar os componentes de uma amostra.

Embora o método instrumental aumente o custo de uma análise pelo uso de equipamentos sofisticados, que demandam aparatos eletrônicos mais complexos, sua utilização vem sendo cada vez mais difundida nos laboratórios, já que estes conferem vantagens diante dos métodos clássicos, como maior precisão às análises bem como a possibilidade de determinar concentrações cada vez menores de analitos, simultaneamente e em menor tempo.

A seguir serão apresentados os métodos instrumentais mais utilizados nas análises químicas realizadas tanto no campo da pesquisa e desenvolvimento, como no controle de qualidade de produtos diversos.

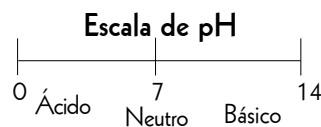
#### 4.1.5.2.1. Potenciometria

A potenciometria utiliza eletrodos (de referência e indicador) para medição de potenciais elétricos de espécies químicas em uma amostra, relacionando-os com a sua concentração. Os potenciais são gerados a partir de reações de oxirredução ou processos de migração seletiva de íons. Em laboratório, a maior aplicação desta técnica é na medição do pH de amostras.

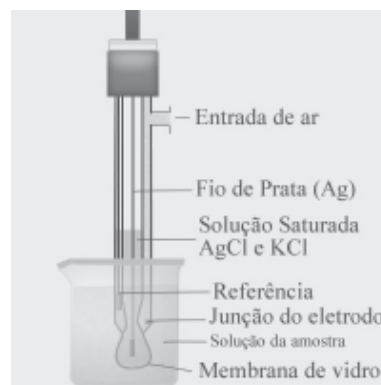
#### Medição do pH

O pH é expresso como a relação logarítmica da concentração de íons  $H^+$  em uma amostra.

$$pH = - \log [H^+]$$



Utiliza-se para a medição do pH o equipamento chamado potenciômetro, ligado a um eletrodo íon seletivo de vidro (específico para íons  $H^+$ ). Ele é combinado a um eletrodo de referência, de prata/cloreto de prata. A parte do eletrodo sensível aos íons  $H^+$  é a fina membrana de vidro, em formato de bulbo, na parte inferior do eletrodo (por esse motivo, deve-se manter essa parte do eletrodo sempre hidratada). Na prática, a variação de potencial do eletrodo corresponde à concentração de íons  $H^+$  na amostra. Antes de efetuar a leitura, o equipamen-



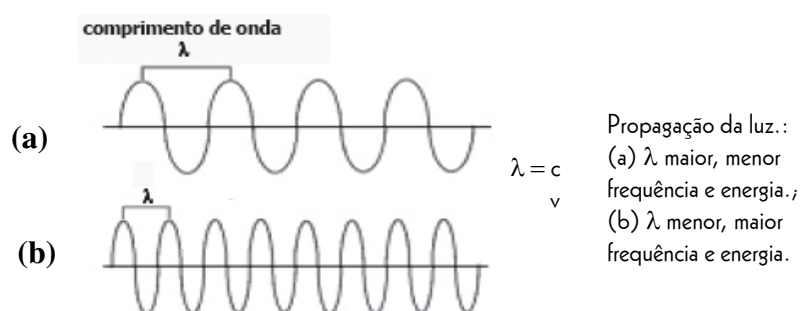
to deve ser calibrado pelo uso de soluções-tampão, de pH conhecido (geralmente nos valores 7,0 e 4,0, consecutivamente). O eletrodo deve ser lavado com água destilada a cada troca de solução e secado delicadamente, com papel de boa qualidade.

#### 4.1.5.2.2. Fundamentos de espectrofotometria

A espectrofotometria é um método instrumental que utiliza a luz para medir as concentrações de substâncias químicas. Para entendermos como isso acontece, é preciso, em primeiro lugar, compreender o que é a luz e como ela se comporta.

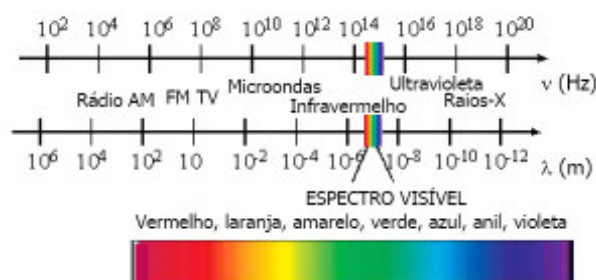
A luz é uma onda eletromagnética, constituída por partículas de energia, chamadas fótons, que se propaga no vácuo a uma velocidade igual a  $3 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$ . A energia da luz é proporcional ao seu comprimento de onda ( $\lambda$ ) e à frequência ( $\nu$ ) dessas ondas. O físico Max Planck, um dos fundadores da teoria quântica, determinou essa constante de proporcionalidade, chamada constante de Planck ( $h$ ):

$$E = h \nu$$



As intensidades de luz, em função dos diferentes comprimentos de onda ou frequências, dão origem ao que chamamos de espectro da luz, ou

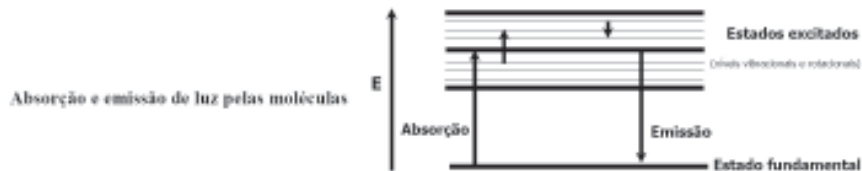
‘espectro eletromagnético’.



Observe que a luz que conseguimos enxergar é apenas uma pequena faixa de comprimentos de onda do espectro eletromagnético. Porém, há outras formas de energia que, embora não possamos ver, estão presentes em nosso dia a dia, como os raios ultravioleta do sol, o calor dos corpos fornecido pelo infravermelho, as microondas que utilizamos para aquecer alimentos, e os raios X, que têm poder de penetração em nossos corpos suficiente para fornecer imagens internas. No laboratório, a radiação ultravioleta é uma das mais aplicadas, já que sua grande energia faz com que ela atue como bactericida, sendo utilizada na esterilização de materiais.

Mas, afinal, o que ocorre ao incidirmos luz em uma substância? A energia dessa luz é absorvida pelas moléculas que formam a substância, aumentando a energia das mesmas. O efeito dessa ‘absorção’ dependerá do tipo de radiação incidente:

RADIAÇÃO	EFEITO NAS MOLÉCULAS
Microondas	Rotação
Infravermelho	Vibração
Ultravioleta/Visível	Promoção dos elétrons a níveis mais energéticos
Raios X	Rompimento de ligações/Ionização



### Lei de Beer-Lambert

Ao incidirmos luz sobre uma amostra, parte dessa energia é absorvida e a outra é transmitida. É possível medir essa absorção de luz por determinados analitos presentes na amostra e relacioná-la à concentração destes, através de uma lei fundamental em química analítica: a Lei de Beer-Lambert:

$$A = \varepsilon b c$$

Onde:

$A$  = absorvância (adimensional)

$\varepsilon$  = absortividade molar ( $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ )

$b$  = caminho óptico (cm)

$c$  = concentração do analito na amostra ( $\text{mol L}^{-1}$ )

Para entendermos como essa lei acontece na prática, precisamos conhecer o caminho percorrido pela luz, desde a fonte da radiação até a passagem pela amostra e detecção:



A fonte de luz dependerá da radiação que se deseja incidir e da técnica instrumental:

**Visível** – lâmpada halógena de quartzo (como a dos faróis de automóveis) ou de tungstênio.

**Ultravioleta** – lâmpada de arco deutério.

**Infravermelha** – *laser*.

**Absorção atômica** – lâmpada de catodo oco e lâmpada de descarga sem eletrodos.

A luz atinge o monocromador (prisma, filtro ou rede de dispersão), que tem a propriedade de selecionar apenas um valor de comprimento de onda. A radiação torna-se monocromática (uma só cor).

A radiação monocromática ( $P_0$ ) incide sobre a amostra e é absorvida por determinados constituintes desta ('absorvância'). Ela passa através da amostra, percorrendo o caminho óptico,  $b$ .

A radiação não absorvida ( $P$ ) é transmitida ('transmitância') e medida pelo detector, que tem a capacidade de converter a energia recebida em sinal elétrico. Esse sinal é transformado em um valor de absorvância, que pode ser lido na tela do equipamento.

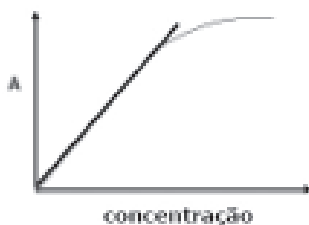
### Relação entre absorvância e transmitância

A transmitância é a quantidade de luz não absorvida pela amostra dada pela equação:  $T = P / P_0$

○ percentual de transmitância (%T) = 100 T

A absorvância é dada por:  $A = \log_{10} P_0 / P$

Relacionando transmitância e absorvância, temos então:



$$A = \log_{10} 1 / T$$

$$A = \log_{10} 100 / \%T$$

$$A = 2 - \log_{10} \%T$$



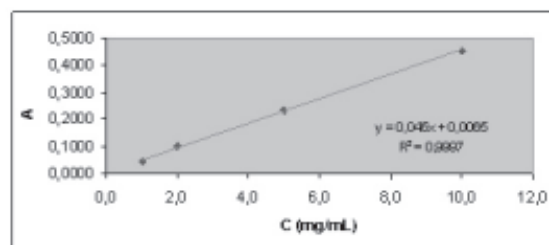
A 'relação linear' entre a concentração e a absorvância é simples e direta. Assim é correto expressar a Lei de Beer-Lambert usando a absorvância,  $A$ , como uma medida da absorção da amostra, em vez do %T. É importante destacar que a Lei de Beer-Lambert aplica-se a soluções diluídas. A relação linear entre a concentração e a absorvância é afetada quando a amostra está muito concentrada, pois as moléculas de soluto estão muito próximas e sua absorvidade molar, capacidade de absorver a radiação, é afetada por essa interação.

### Espectrofotometria UV/Visível

Utiliza radiação na faixa do UV/Visível para determinação de analitos em uma amostra. Deve-se comparar a amostra a uma referência negativa, ou ensaio em branco, que contém todos os reagentes menos a substância de interesse, e a padrões da substância que se quer analisar, em concentrações conhecidas. Esses padrões devem ser preparados utilizando reagentes de alta pureza.

A curva de calibração, ou curva padrão, consiste num gráfico onde os valores de diferentes concentrações de padrão são colocados, de acordo com os valores de absorvância lidos para cada um deles.

Um exemplo da aplicação desta técnica é a determinação da concentração de proteína em amostras pelo método de biureto: ocorre a formação de um complexo colorido (violeta) pela reação das proteínas com o reagente de biureto – íons cobre (II) em meio básico. A absorvância de amostras e padrões (concentrações em mg/mL) é medida a um  $\lambda = 555 \text{ nm}$ .



### **Erros em análises espectrofotométricas UV/Visível: como evitá-los?**

As análises espectrofotométricas exigem cuidados que vão desde o preparo das soluções a serem utilizadas até a leitura de absorvância pelo detector. As principais fontes de erros instrumentais em espectrofotometria estão relacionadas à seleção do comprimento de onda pelo monocromador, concentração da solução da amostra e posicionamento do compartimento de amostra. Todos esses fatores causam a dispersão da luz, acarretando erros na detecção e, conseqüentemente, na leitura dos valores de absorvância.

No preparo das soluções do ensaio em branco, padrões e amostras deve-se evitar a presença de partículas estranhas em suspensão, filtrando as soluções caso seja necessário. Essas partículas desviam o feixe de luz, prejudicando as leituras de absorvância.

Uma das principais fontes de erros está na seleção do comprimento de onda de trabalho. É preciso saber o comprimento de onda de absorção máxima para determinada substância presente na amostra, de forma a conseguir a máxima sensibilidade nessa análise, evitando possíveis interferências.

O monocromador deve ter a capacidade de selecionar o valor de comprimento de onda que se quer trabalhar, sem deixar que ele disperse. Porém, a largura da fenda para a saída da radiação selecionada deve ser a maior possível, possibilitando a chegada de luz ao detector. Quando o detector recebe pouca luz, isto resulta em uma menor relação sinal-ruído, reduzindo a precisão da medida da absorvância. Em geral, os equipamentos dispõem de dois monocromadores em série, que funcionam como filtros de comprimentos de onda, impedindo a passagem de radiações não desejadas para a amostra. A eficiência seletiva do monocromador também pode ser checada, através de padrões de calibração com valores de absorvância conhecidos, para determinados comprimentos de onda. Esses padrões são em geral fornecidos pelo próprio fabricante do instrumental.

Uma outra fonte de erros está na faixa de leitura da absorvância. Valores de absorvância não devem ser próximos de zero, tampouco acima de 1,0. A faixa ideal de trabalho, a qual garante a relação linear entre absorvância e concentração, de acordo com a Lei de Beer-Lambert, é de 0,1 a 1,0. Abaixo desta faixa, a absorvância da amostra se aproxima do ensaio em branco. Acima, a quantidade de luz que chega ao detector é muito pequena, já que há um maior número de moléculas da amostra absorvendo a radiação. Em ambas as situações, de amostras muito diluídas ou muito concentradas, há um aumento na incerteza do valor medido, gerando perda de precisão na análise.

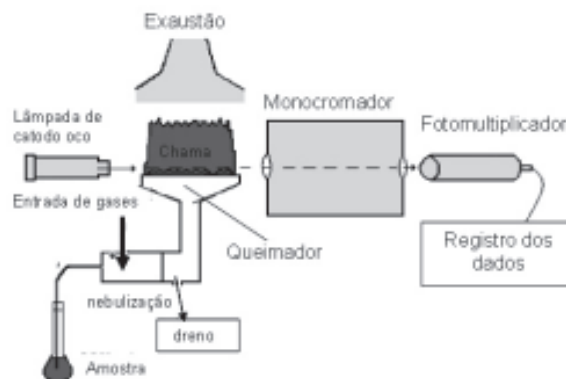
Também se destaca como fonte de erros o posicionamento correto do compartimento da amostra e a colocação e manipulação da cubeta. Deve-se tomar o cuidado de não tocar a superfície da cubeta por onde passa o feixe de luz, manipulando-a com o auxílio de papel de boa qualidade, que não deixe resíduos. Isso evita marcas de impressões digitais, as quais desviam a luz. Pelo mesmo motivo, também se deve observar o possível escorrimento de material pelas paredes externas da cubeta, limpando-as. Ao retirar e recolocar a cubeta, deve-se evitar movimentos bruscos, que possam vir a mover o suporte de alguma forma.

Também é crítico o fechamento do equipamento: caso o compartimento da amostra não esteja bem fechado, pode ocorrer a entrada de luz de fora do equipamento, introduzindo dispersão da luz. O perfeito fechamento deve também ser feito a fim de evitar a entrada de poeira.

### **Espectrofotometria de absorção atômica de chama**

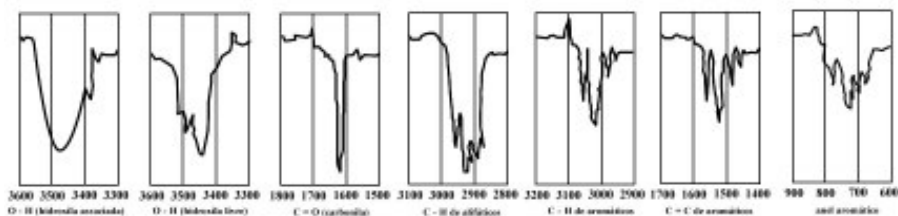
A espectrofotometria de absorção atômica de chama é o método de análise mais utilizado para determinação de metais em amostras. O princípio é a absorção de radiação pelo analito, na forma atômica gasosa, obtida pela introdução da amostra, na forma de aerossol (nebulização), em uma chama de ar/acetileno ou acetileno-óxido nítrico (temperaturas de 2.200 °C e 3.000 °C,

respectivamente). A absorção atômica é uma medida da população de átomos do elemento presente na chama e, portanto, da concentração do mesmo na amostra, segundo a Lei de Beer-Lambert.



### Espectrofotometria de infravermelho

Este tipo de espectrofotometria (também chamado espectroscopia de infravermelho) é muito utilizado para a identificação de amostras, especialmente de grupos funcionais orgânicos. A técnica consiste na incidência de radiação infravermelha, que provoca vibrações nas moléculas do analito de interesse. Cada ligação química vibra em uma frequência específica (níveis vibracionais), dependendo dos tipos de átomos ligados e geometria da molécula, gerando um espectro característico da substância. Na figura ao lado, podemos observar as regiões espectrais características de alguns grupos funcionais.



#### 4.1.5.2.3. Fotoluminescência

A fotoluminescência é a radiação eletromagnética emitida quando espécies químicas que foram previamente excitadas por fótons retornam para níveis de menor energia (em geral, o estado fundamental), processo que envolve elétrons de valência (desativação radiativa). No caso das moléculas, a fotoluminescência é formalmente dividida em fluorescência e fosforescência e as técnicas analíticas que se baseiam respectivamente na medida destes parâmetros são a fluorimetria e a fosforimetria. A intensidade de radiação emitida é medida e relacionada à concentração do analito de interesse na amostra, segundo a Lei de Beer-Lambert. Experimentalmente, a fosforescência pode ser isolada da fluorescência com o uso de dispositivos seletivos: rejeita-se a luminescência de curto tempo de vida (fluorescência) permitindo a detecção da luminescência de longa duração (fosforescência).

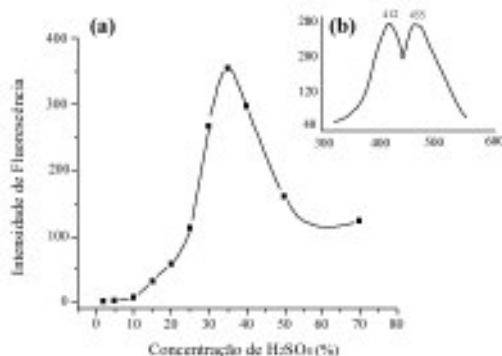
#### Fatores que afetam a luminescência

Para que ocorra a luminescência, uma molécula precisa ter estrutura apropriada e estar em um meio que favoreça a desativação radiativa. Embora seja difícil prever teoricamente se uma molécula exibirá luminescência sem o prévio conhecimento da diferença de energia relativa entre os estados excitado e fundamental, é possível, de um modo geral, observar alguns requisitos:

- Moléculas relativamente rígidas e ricas em elétrons  $\pi$  são potencialmente luminescentes.
- A fluorescência é um fenômeno luminescente mais comum que a fosforescência, sendo observável à temperatura ambiente e diretamente em soluções líquidas, caracterizando um procedimento experimental mais simples.
- A fosforescência, que é um processo com tempo de vida mais longo, necessita de condições especiais para ser observada. Estruturas moleculares rígidas naturalmente ou com o uso de algum artifício experimental são

fundamentais. Assim, o uso de meios sólidos ou organizados (micelas, por exemplo) e a ausência do contato com o oxigênio têm sido de grande utilidade para permitir a observação da fosforescência.

- A presença de grupos substituintes na molécula também é fator importante, pois afeta a intensidade e o tipo de luminescência. A presença de grupos hidroxí (-OH), cianeto (-CN) e sulfônico (-SO<sub>3</sub>H), por exemplo, têm tendência a amplificar a fluorescência. Já grupos cetônicos (-C=O) carboxílicos (-COOH) e halogênios (-Cl, -F) favorecem a fosforescência.
- Outros fatores, tais como temperatura, pH do meio, solvente e presença de outras espécies, também têm profundo efeito nas características luminescentes, e uma substância, afetando não somente as velocidades dos processos luminescentes e dos processos não radiativos, mas também a natureza e a energia relativa do estado excitado de menor energia.



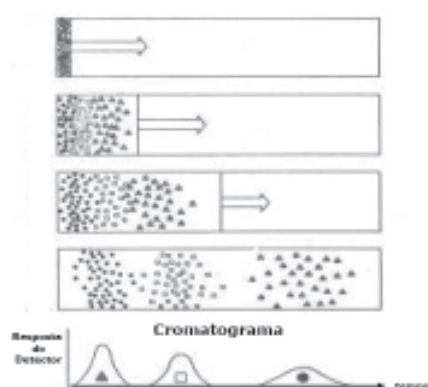
A luminescência pode ser induzida em moléculas naturalmente não luminescentes através de reações de derivação, que modificam a estrutura das moléculas e conseqüentemente suas propriedades físico-químicas, obtendo-se, assim, um derivado luminescente. Essas derivações podem ser feitas com

agentes oxidantes e redutores, derivação com agentes fluorogênicos ou fosfogênicos e após reações ácido-base. Existe também a possibilidade da formação de quelatos com íons de terras raras e derivação da molécula por meio de reações fotoquímicas (radiação UV). A figura ao lado mostra (a) a fluorescência do antibiótico eritromicina, observada em função da concentração

do meio ácido, e (b) o espectro de excitação/emissão do mesmo antibiótico após derivação fotoquímica com irradiação UV e aquecimento.

#### 4.1.5.2.4. Cromatografia

O nome cromatografia vem do grego '*chroma*' = cor, e '*grafein*' = grafia. É uma técnica de separação baseada nas propriedades adsorptivas ou de partição dos componentes de uma amostra em um sistema cromatográfico. Os diferentes componentes são carregados por uma fase móvel através de uma fase estacionária, envolvendo interações (adsorção superficial, solubilidade relativa, carga elétrica, hidrofobicidade) entre um ou mais solutos e as duas fases. Os componentes são detectados, gerando um cromatograma, e quantificados.



##### **Termos importantes em cromatografia:**

**Fase móvel:** é o fluido que se move através da coluna cromatográfica (solvente, no qual a amostra está dissolvida). O solvente e a amostra fluem juntos através da fase estacionária.

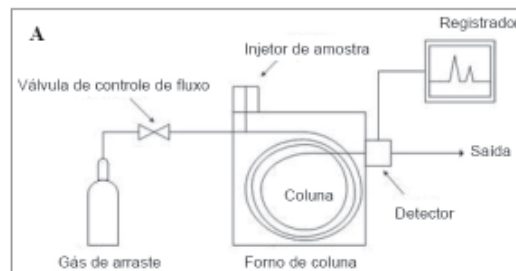
**Fase estacionária:** é o material adsorvente, sólido ou líquido, que não se move (material pelo qual os componentes da amostra a serem separados apresentam diferentes graus de interação) e está empacotado em uma coluna.

**Soluto:** é a substância em solução que se deseja separar.

## Tipos de cromatografia

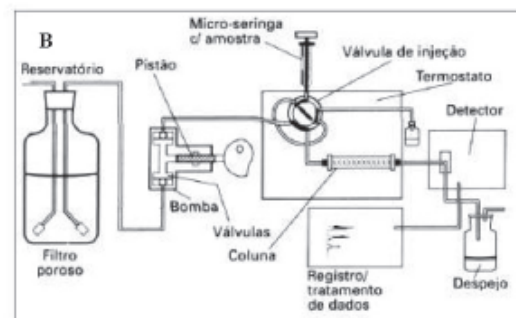
### Cromatografia gasosa: a

fase móvel é geralmente um gás inerte (hélio, por exemplo). A fase estacionária é um adsorvente ou líquido distribuído na superfície de um suporte poroso inerte (esquema A).



### Cromatografia líquida: a

fase móvel é um líquido de baixa viscosidade que flui através de um leito de fase estacionária. Se este leito for um adsorvente sólido através do qual, a uma alta pres-



são, se faz passar a fase móvel e a amostra, temos a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE); se a fase estacionária for um sólido iônico, temos a cromatografia de troca iônica (CTI); se a fase estacionária for um sólido poroso fazendo-se a separação em função do tamanho molecular, temos a cromatografia de exclusão por tamanho (CET) – um caso particular deste tipo de cromatografia é a usada, por exemplo, no estudo de polímeros, em que a fase estacionária é um gel, chamando-se por isso cromatografia de permeação de gel ou GPC (esquema B).

**Cromatografia em camada fina:** a fase móvel é um líquido de baixa viscosidade que elui através da fase estacionária, por capilaridade – mais vulgarmente ‘de baixo para cima’. A fase estacionária é um sólido (sílica ou alumina) depositado em camada fina e uniforme sobre um suporte sólido inerte.

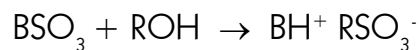
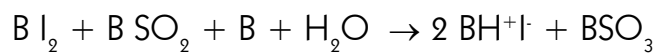


#### 4.1.5.2.5. Análise de umidade residual pelo método de Karl Fischer – titulação coulométrica

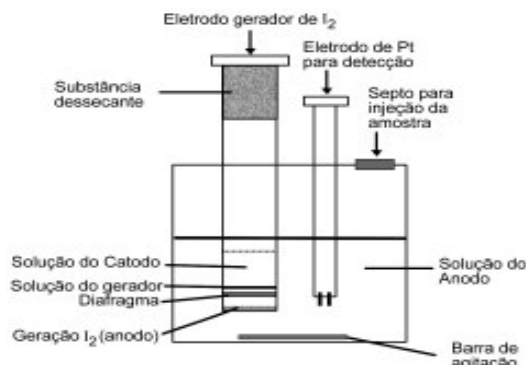
A titulação pelo método de Karl Fischer é a técnica mais utilizada para a determinação da umidade residual e aplica-se à análise de fármacos, alimentos, fluidos biológicos, derivados do petróleo, matérias-primas, amostras ambientais e outros produtos diversos.

Algumas vantagens do método coulométrico são a precisão, com a possibilidade de determinação de quantidades de água da ordem de  $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ , a necessidade de um pequeno volume de amostra e a redução no tempo de análise.

O princípio desse método baseia-se na reação entre a água da amostra e o iodo produzido na célula de titulação, na presença da solução de Karl Fischer, que contém dióxido de enxofre, ( $\text{SO}_2$ ), álcool (ROH) e uma base (B) em sua composição:



O equipamento utilizado possui uma célula de titulação com dois eletrodos: um gerador de iodo,  $\text{I}_2$ , que é consumido rapidamente pela reação com a água presente na amostra, e um eletrodo de referência de platina, que funciona como detector do ponto final de titulação, de acordo com o esquema a seguir.



A geração de iodo ocorre pela oxidação do  $I^-$  presente na solução de Karl Fischer a  $I_2$  ('catodo').

A célula principal contém a solução de Karl Fischer ('anodo'), onde será injetado um volume conhecido da amostra.

A corrente elétrica entre os dois eletrodos é mantida constante pelo equipamento, até que, quando toda a água da amostra reage com o  $I_2$  produzido, há um excesso do mesmo no interior da célula de reação, ocasionando uma queda brusca no potencial elétrico, detectado pelo eletrodo de platina.

#### 4.1.6. Tratamento de dados

##### Estatística básica

Medidas de tendência central:

Média aritmética – É a mais comum das medidas de tendência central. É calculada somando-se as  $n$  observações originais da amostra e dividindo-se por  $n$ .

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Amplitude (R) – É o valor que representa o afastamento entre o maior e o menor valor de um conjunto de observações.

Medidas de dispersão:

Variância ( $s^2$ ) – A variância de um conjunto de dados é, por definição, a média dos quadrados das diferenças dos valores em relação à sua média, isto é:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

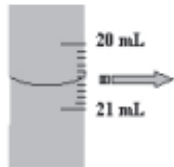
Desvio padrão ( $s$ ) – O desvio padrão indica a dispersão dos dados dentro da amostra, isto é, o quanto os dados em geral diferem da média. Quanto menor o desvio padrão, mais parecidos são os valores da série estatística.

$$s^2 = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

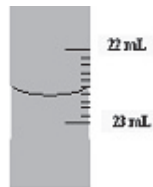
### Propagação de incertezas

Em química analítica, estudam-se métodos envolvendo medição de volume, massa e absorvância. Os resultados finais destas medições são obtidos através de cálculos e possuem associadas as incertezas originais consideradas para a realização destes.

Um exemplo seria a leitura de volume em uma proveta, durante uma análise volumétrica:



O volume lido está entre 20,6 e 20,7 mL. Assim, devemos estimar o algarismo após o 6. Poderia ser: 20,61 ou 20,62 ou ainda 20,63. Portanto, escrevemos a primeira medida como:  $20,62 \pm 0,01$ .



Pelo mesmo raciocínio, o volume final lido seria  $22,64 \text{ mL} \pm 0,01$ . Qual o volume gasto na titulação?

$$22,64 - 20,62 = 2,02 \text{ mL}$$

Mas qual a incerteza associada a esse resultado final? É a soma das incertezas:  $2,02 \text{ mL} \pm 0,02$

#### 4.1.6.1. Validação

A validação de métodos analíticos deve ser feita para demonstrar que estes são adequados para a finalidade a que se destinam: determinação qualitativa ou quantitativa de analitos em uma amostra.

Para metodologias descritas em farmacopeias ou outros documentos oficiais, a metodologia será considerada validada. Em caso contrário, a validação deverá ser realizada através do estudo de parâmetros, segundo a tabela 3 a seguir, e de acordo com a categoria do método analítico (Anvisa, 2003).

Tabela 3 – Recomendação de parâmetros necessários para validação dos métodos analíticos e classificação dos métodos, segundo sua finalidade (USP 30, 2007)

Parâmetro de validação	Categoria	Categoria II		Categoria III	Categoria IV
	I	Quantitativo	Qualitativo		
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Faixa	Sim	Sim	*	*	Não

\*Pode ser exigido dependendo da natureza do ensaio específico.

Categoria I – Quantificação de macrocomponentes em substâncias ativas ou ingredientes ativos em produtos farmacêuticos acabados.

Categoria II – Determinação de impurezas em substâncias ativas ou componentes de degradação em produtos farmacêuticos acabados.

Categoria III – Determinação de características físico-químicas em substâncias ativas ou em produtos acabados (ex.: dissolução, tamanho de partículas, liberação da droga).

Categoria IV – Testes de identificação.

### **Parâmetros para validação de métodos analíticos**

Para o estudo dos parâmetros de validação, é importante sempre utilizar substâncias de referência oficializadas pela Farmacopeia Brasileira ou, na ausência destas, por outras autorizadas pela legislação vigente. No caso da inexistência dessas substâncias, o uso de padrões de trabalho é aceito, desde que a identidade e o teor sejam devidamente comprovados.

Descrição dos parâmetros de validação segundo a Resolução Anvisa RE 899 (2003), Inmetro, DOQ-CGCRE-008 (2003) e USP 30 (2007):

#### **I – Exatidão**

É a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro. Várias metodologias para a determinação da exatidão estão disponíveis na literatura. No caso de impurezas, podem ser utilizados dois procedimentos:

- Ensaio de recuperação: ensaio onde o analito de interesse é adicionado à matriz da amostra.
- Avaliação da exatidão sem a matriz: preparam-se pelo menos duas amostras do analito, com precisão quantitativa, e os resultados da % de recuperação são calculados.

#### **II – Precisão**

Avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada em três níveis: repetitividade (precisão intracorrída); precisão intermediária (precisão intercorrídas) e reprodutibilidade (precisão interlaboratórios).

- Repetitividade: concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e a mesma instrumentação. A repetitividade do método é verificada por pelo menos nove determinações, dentro do intervalo linear do método, que será descrito mais adiante.

- **Precisão intermediária:** concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para a determinação da precisão intermediária, recomenda-se um mínimo de dois dias diferentes com analistas diferentes.
- **Reprodutibilidade:** concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes, geralmente feitos através de estudos colaborativos, aplicados à padronização de metodologias analíticas.

A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (DPR) ou coeficiente de variação, CV%, de uma série de medidas, que é calculado pela fórmula:

$$\text{DPR} = \frac{\text{DP}}{\text{CMD}} \cdot 100$$

Onde:

DPR = desvio padrão relativo

DP = desvio padrão

CMD = concentração média determinada

O valor máximo aceitável para o DPR é de 5%.

### III – Especificidade

Capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes, tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz.

Testa-se a especificidade de métodos qualitativos comparando a aplicação do método em amostras contendo o analito de interesse com amostras que não o contém, porém possuem substâncias de estrutura química semelhante. O método precisa demonstrar a seletividade para o analito, mesmo em presença destas substâncias.

Para análises quantitativas, pode-se comparar os resultados obtidos para amostras contaminadas com impurezas adicionadas em quantidades determinadas com amostras isentas de contaminantes. O resultado final não deve ser afetado pela presença das substâncias adicionadas.

#### **IV – Limites de detecção e quantificação**

Parâmetro de ensaios quantitativos para baixos níveis de compostos em matrizes de amostras. O limite de detecção é a menor concentração do analito que pode ser determinada com precisão e rigor aceitáveis. Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco).

#### **V – Linearidade**

A linearidade do procedimento analítico é a sua capacidade de produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, em uma faixa de concentração. Deve ser construída a curva padrão experimental e devem ser calculados: o coeficiente de correlação,  $r$ , que precisa ser no mínimo igual a 0,99; a interseção com o eixo  $Y$ ; o coeficiente angular; a soma residual dos mínimos quadrados da regressão linear; e o desvio padrão relativo. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de pelo menos cinco concentrações diferentes, com teor de analito contido entre 80% e 120% da concentração teórica do teste.

#### **VI – Faixa**

Intervalo é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico. Normalmente, é derivado do estudo de linearidade e depende da aplicação pretendida do método.

O ‘protocolo de validação’ é um documento completo, que contém todos os parâmetros avaliados para a validação de determinado método.

### Modelo de Protocolo de Validação

<p><b>Considerações gerais:</b></p> <p>Objetivo</p> <p>Laboratório/Setor responsável</p> <p>Especificações do método</p> <p>Classificação do método em validação</p> <p>Parâmetros de validação aplicáveis ao método</p> <p>Siglas</p> <p>Referências bibliográficas</p> <p>Material/Vidraria/Equipamentos (marca, modelo, data da calibração)</p> <p>Reagentes (marca, fornecedor, data de validade)</p>
<p><b>Descrição dos parâmetros de validação aplicáveis ao método</b></p> <p><b>Testes/Resultados da validação</b></p>
<p><b>Estimativa da incerteza dos resultados obtidos através do método</b></p>
<p><b>Conclusão</b></p>
<p><b>Folha de aprovação</b></p> <p>Assinaturas dos responsáveis pela validação</p>

A metodologia analítica deverá ser revalidada caso sejam efetuadas mudanças na síntese da substância ativa, na composição do produto acabado ou no procedimento analítico.



## 5. Fundamentos em química orgânica

A química orgânica é o ramo da química que estuda as substâncias que contêm átomos de carbono em sua composição. O átomo de carbono, por ser tetravalente, se une a outros átomos formando quatro ligações covalentes. Assim, o carbono tem a capacidade de formar longas cadeias, chamadas cadeias carbônicas.



As substâncias orgânicas são classificadas de acordo com o seu grupo funcional característico.

### Funções orgânicas mais importantes

Função orgânica	Grupo funcional	Exemplo
Hidrocarboneto	$C_xH_y$	$CH_4$ Metano
Ácido carboxílico	R-COOH	$CH_3-COOH$ ácido etanoico (ácido acético)
Aldeído	R-CHO	$CH_3-CHO$ etanal
Amida	R-CONH <sub>2</sub>	$CH_3-CONH_2$ etanamida
Amina	R-NH <sub>2</sub>	$CH_3-CH_2NH_2$ etanamina
Álcool	R-OH	$CH_3-CH_2OH$ Etanol (álcool etílico)
Cetona	R <sub>1</sub> -CO-R <sub>2</sub>	$CH_3-CO-CH_3$ propanona (acetona)
Éster	R <sub>1</sub> -COOR <sub>2</sub>	$HCOO-C_6H_5$ metanoato de fenila
Éter	R <sub>1</sub> -O-R <sub>2</sub>	$CH_3CH_2-O-CH_2CH_3$ Etoxietano (éter etílico)
Fenol		 o-hidroximetil benzeno (o-cresol ou creolina)

A química orgânica experimental envolve reações de síntese e purificação, caracterização de grupos funcionais, separação, purificação e estudo das propriedades das substâncias orgânicas.

## 5.1. Técnicas de separação e purificação

### 5.1.1. Extração

A extração é um método onde se utiliza um solvente, que dissolve o analito de interesse em uma amostra seletivamente, separando-o da mesma. A extração pode ser em fase líquida ou sólida, as quais apresentam as seguintes características principais, descritas no quadro abaixo:

Extração líquida	Extração sólida
Solventes orgânicos (ex.: acetona, hexano, acetato de butila, dióxido de carbono)	Fase sólida (ex.: sílica-C18, resinas de troca iônica)
Microondas ou aparato próprio para extração	Coluna cromatográfica ou seringa
Aquecimento	Não necessita aquecimento
Remoção do solvente aumenta o custo da análise	Reduz o uso de solventes orgânicos

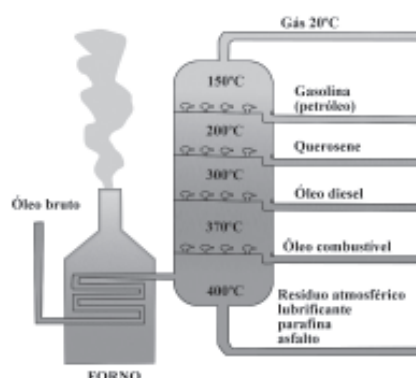
### 5.1.2. Destilação simples

É um processo de separação de misturas homogêneas sólido-líquido ou líquido-líquido (desde que a diferença das temperaturas de ebulição entre os componentes seja alta), onde ocorre a vaporização e condensação do componente mais volátil. A técnica da destilação simples é utilizada para obtenção de solventes puros e muito empregada na produção de bebidas destiladas.



### 5.1.3. Destilação fracionada

É uma técnica utilizada para separar misturas homogêneas líquidas, pela vaporização e condensação dos componentes da mistura, baseando-se na diferença de ponto de ebulição entre esses componentes. As aplicações da destilação fracionada são principalmente relacionadas à separação dos componentes (frações) do petróleo.



### 5.1.4. Cristalização

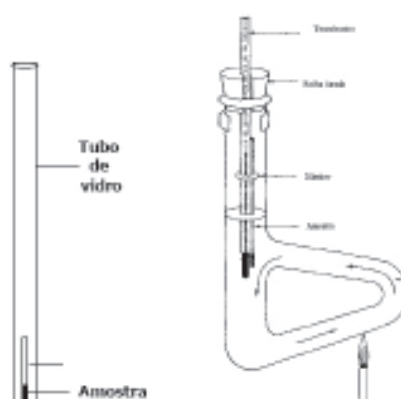
A cristalização é um método de separação e purificação de soluções líquidas, ou sólido-líquidas, onde são obtidos cristais puros de um dos componentes, o soluto, sendo o método mais adequado para a purificação de substâncias sólidas. As etapas principais do processo são:

- Nucleação – A partir do preparo de uma solução supersaturada, as moléculas do soluto se unem, formando alguns núcleos microscópicos. Ao atingirem a estabilidade e determinado tamanho, estes núcleos se organizam em uma estrutura cristalina. Essa organização dependerá de fatores como a temperatura e a concentração da solução supersaturada.
- Crescimento dos cristais – A partir dos núcleos ocorre o crescimento dos cristais, a uma velocidade relacionada à supersaturação da solução. Os cristais têm formas e tamanhos diferentes, dependendo das condições em que se efetua sua obtenção, o que se torna um grande desafio quando se trata de processos industriais de cristalização.

### 5.1.5. Determinação do ponto de fusão

O ponto de fusão é a temperatura constante na qual uma substância muda do estado físico sólido para o líquido. A determinação desta propriedade é fundamental para a caracterização de substâncias puras. A técnica pelo 'método do tubo de Thiele' consiste em colocar pequena quantidade da substância sólida, previamente pulverizada, no interior de um tubo capilar, fechado em uma das extremidades.

A introdução da substância deve ser feita empurrando a extremidade aberta contra o sólido, com o auxílio de uma espátula. Para a compactação da substância no fundo do capilar, deve-se soltá-lo no interior de um tubo de vidro. O capilar deve ser preso a um termômetro, o mais próximo possível do bulbo. O ponto de fusão é a temperatura na qual aparece a primeira gota de líquido e desaparece o restante da parte sólida da substância em análise.



Fonte: Constantino, 2009

## Resumo do capítulo

A química é uma ciência essencialmente experimental, que se divide em quatro ramos principais: química inorgânica, orgânica, analítica e físico-química. O laboratório é o local mais importante para o desenvolvimento desta ciência. Para a realização de atividades laboratoriais, é imprescindível reconhecer os diversos materiais, equipamentos, substâncias, fontes de consulta bibliográfica, símbolos e normas de segurança, e apresentar uma postura adequada.

O preparo de soluções é uma das tarefas principais dentro de um laboratório e engloba: qualidade da água, dos reagentes, da vidraria e da técnica de preparo, bem como o conhecimento das unidades de concentração (quantidade de matéria, massa por volume, massa por massa e volume por volume), cálculos de diluição e procedimentos de armazenagem.

O ramo da química que estuda a identificação e quantificação das substâncias que compõem uma amostra é a química analítica. As principais etapas de uma determinação analítica são: planejamento e organização da análise; estudo das propriedades do analito; amostragem; preparo da amostra laboratorial; seleção do método de análise – clássicos (gravimetria e volumetria) ou instrumentais (potenciometria, espectrofotometria UV/Visível, absorção atômica, infravermelho, fotoluminescência e cromatografia) – e tratamento de dados/validação. O controle de qualidade das diversas matérias-primas e dos produtos industrializados, os resíduos gerados nesses processos produtivos, as reações químicas na natureza e as pesquisas envolvendo a transformação de substâncias em novos produtos são áreas onde a química analítica está presente. Os requisitos de qualidade para diversos produtos na área da saúde são estabelecidos pelas farmacopeias. A Farmacopeia Brasileira é o código oficial farmacêutico do país.

A química orgânica é o ramo da química que estuda as substâncias que contêm átomos de carbono em sua composição, as quais são classificadas de acordo com o seu grupo funcional característico. A química orgânica experi-

mental envolve reações de síntese e purificação, caracterização de grupos funcionais, separação, purificação e estudo das propriedades físico-químicas.

### **Questões para reflexão**

1) Um técnico de laboratório preparou uma solução aquosa de sulfato de cobre, armazenando-a em um recipiente de vidro, na geladeira. Algum tempo depois, ele observou a presença de um precipitado de sulfato de cobre no fundo do recipiente. O técnico decidiu, então, aquecer a solução, sob agitação, até que o precipitado dissolvesse completamente. Logo após, deixou a solução em repouso sobre a bancada até que a mesma atingisse a temperatura ambiente. O técnico observou que a solução permaneceu homogênea. Explique o que aconteceu antes e depois do aquecimento da solução.

2) Descreva, com as suas palavras, a sequência correta a ser seguida para o preparo de um litro de uma solução salina (ou soro caseiro) na concentração de 0,9% (m/v). Liste os materiais, reagentes, equipamentos, procedimento (técnica de preparo e armazenagem) e cálculos necessários. Reflita sobre os cuidados gerais a serem adotados quando do preparo de soluções.

3) Um técnico recebeu uma amostra de água deionizada para análise no laboratório. Descreva o procedimento a ser seguido, desde o recebimento dessa amostra até o seu descarte, incluindo as etapas para a realização das determinações analíticas, preconizadas pela farmacopeia, para esse tipo de amostra.

## Bibliografia Consultada

ALVES, L. *Equipe Brasil Escola*. Disponível em: <<http://www.brasilecola.com/quimica/producao-etanol.htm>>. Acesso em: 25 maio 2009.

ANVISA. *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Resolução RE 899, 2003.

\_\_\_\_\_. *Critérios para a Habilitação de Laboratórios Segundo os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL)*. Procedimento GGLAS 02/BPL. Revisão 00. Brasília, 2001.

AQUINO, F. R. N.; NUNES, D. S. S. *Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins*. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.

BUYS, B. Inovação: parceria gera tecnologia para otimizar produção em refinarias. *Un Kemp*, v.3, n. 3, 2007.

CARVALHO, P. R. *Boas Práticas Químicas em Biossegurança*. Rio de Janeiro: Interciência, 1999.

CAULCUTT, R.; BODDY, R. *Statistics for Analytical Chemists*. New York: Chapman and Hall, 1983.

CHAVES, M. H. *et al. Apostila de Química Orgânica Experimental I*. UFPI. Centro de Ciências da Natureza-Departamento de Química, 2003.

CIOLLA, R. *Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho: HPLC*. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

COLLINS, H. *Introdução a Métodos Cromatográficos*. 7. ed. Campinas: Unicamp, 1997.

CONSTANTINO, L. *Técnicas de Laboratório*. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa (FFUL). Disponível em: <<http://www.ff.ul.pt/paginas/constant/tl/tecnicas/pfusao.html>>. Acesso em: 5 jun. 2009.

ESTATÍSTICA PARA VALIDAÇÃO DE ENSAIOS. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Metrologia, 2002.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Parte III. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

FDA. *Guidance for Industry – analytical procedures and methods validation, chemistry, manufacturing and controls documentation*. USA, 2000.

FINETE, V. L. M. *Desenvolvimento de Métodos Espectrofluorimétricos para a Determinação de Eritromicina e Canamicina e Aplicabilidade na Vacina contra a Febre Amarela*, 2005. Dissertação de Mestrado, Rio de Janeiro: Pontifícia Universidade Católica.

FINETE, V. L. M.; AUCÉLIO, R. Q.; ARISSAWA, M. Fluorimetric method for the determination of erythromycin using a photochemical derivatization approach. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v. 19, n. 7, p. 1.418-1.422, 2008.

- HARRIS, D. C. *Análise Química Quantitativa*. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2001.
- HARTWIG, D. R.; SOUZA E. de; MOTA, R. M. *Química Orgânica*. São Paulo: Scipione, 2000.
- INMETRO. *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*. DOQ-CGCRE-008, 2003a.
- \_\_\_\_\_. *Critérios para o Credenciamento de Laboratório de Ensaio – BPL – Aplicação a estudos de campos*. NIT-DICLA-034. Revisão 00, 2003b.
- MALDANER, O. A. *Química 1: construção de conceitos fundamentais*. 2. ed. Ijuí: Unijuí, 1997.
- MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R. M. *Manual de Soluções, Reagentes e Solventes*. São Paulo: Edgard Blücher, 1995.
- RIBANI, M; BOTTOLI, C. B. G.; MELO, L. F.C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27, p. 771-780, 2004.
- ROMANELLI, L. I.; JUSTI, R. S. *Aprendendo Química*. Ijuí: Unijuí, 1998.
- SARDELLA. *Química. Sério novo Ensino Médio*. Volume único. São Paulo: Ática, 2000.
- SCHULMAN, S. G. *Fluorescence and Phosphorescence Spectroscopy: physicochemical principles and practice*. New York: Pergamon Press, 1977.
- SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2006.
- SKOOG, D. *Princípios de Análise Instrumental*. 5. ed. Porto Alegre: 2002
- SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, B. C. *Química Orgânica*. V. 1 e 2. 7. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2001.
- TITO, M. R.; CANTO, E. L. do. *Química*. Coleção base. Volume único. 3. ed. São Paulo: Moderna, 2003.
- USP30-NF25. American Pharmacopeia, 2007.
- VOGEL, A. *Análise Orgânica Qualitativa*. Química orgânica. V. 1, 2 e 3. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico e Científico, 1980.