QUI-129 – LABORATÓRIO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL
1º Semestre / 2020

ROTEIRO DE LABORATÓRIO

Espectrofotometria

Preparo do aparelho

a) Ligar o espectrofotômetro na tomada (VERIFICAR A VOLTAGEM CORRETA);
b) Esperar 15 minutos para estabilizar a lâmpada;
c) Escolher o modo absorvância;
d) Colocar a cubeta contendo água destilada no compartimento de leitura e clicar AUTOZERO;
e) Colocar a cubeta contendo o complexo no equipamento e realizar a leitura de absorvância.

- ***PRÁTICA 1: Determinação de cobre (II) por colorimetria visual e espectrofotometria***

Colorimetria visual

a) Preparar 6 balões volumétricos de 10,00 mL usando diferentes volumes da solução estoque de cobre (II) 2000 mg L^{-1} com concentração variando de 100 a 600 mg L^{-1};
b) Acrescentar solução de amônia em cada balão volumétrico no mesmo volume de padrão de cobre (II) adicionado. Diluir com água destilada até completar 10,00 mL;
c) Marcar os tubos de ensaio igualmente aos balões e transferir a solução do complexo preparada para cada um dos respectivos tubos;
d) Preparar a amostra desconhecida transferindo 1 mL para um balão volumétrico de 10,00 mL e adicionando 2 mL da solução de amônia. Diluir com água destilada até 10,00 mL (em triplicata);
e) Comparar a coloração apresentada pela solução da amostra com as dos padrões preparados e estimar a concentração do cobre (II) na amostra analisada.

Espectrofotometria

a) Utilizar o padrão 4 para traçar o espectro de absorção do complexo de cobre (II) com amônia. Ler os valores de absorvância do complexo variando o comprimento de onda de 400 a 700 nm;

Comprimento de onda / nm	Absorvância
400	
420	
440	
460	
480	
500	
520	
540	
560	
580	
600	
620	
630	
640	
660	
680	
700	

b) Selecionar o comprimento de onda onde a absorvância é máxima;
c) Medir os valores de absorvância dos 6 padrões preparados anteriormente usando o comprimento de onda de máxima absorção;

d) Medir o valor de absorvância da amostra preparada anteriormente.

Padrão	Volume da solução estoque de Cu(II) / mL	[Cu(II)] / mmol L^{-1}	Absorvância
1	0,50		
2	1,00		
3	1,50		
4	2,00		
5	2,50		
6	3,00		
Amostra 1	1,00	---	
Amostra 2	1,00	---	
Amostra 3	1,00	---	

Questões:
1) Determine visualmente a concentração de cobre na amostra analisada.
2) Construa o espectro de absorção do complexo cobre-amônia e determine o comprimento de onda de máxima absorção.
3) Construa a curva analítica e determine a absortividade molar do complexo estudado.
4) Determine a concentração de cobre usando a curva analítica e compare com o resultado obtido visualmente.

➢ *PRÁTICA 2 e 3: Propriedades colorimétricas desejáveis e indesejáveis*

2. Sistema Fe(III)-tiocianato

Espectro de absorção
a) Pipetar 600 µL da solução estoque de Fe(III) para um balão de 10,00 mL;
b) Acrescentar 400 µL da solução de NH_4SCN 0,30 mol L^{-1};
c) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
d) Ler os valores de aborvância do complexo Fe(III)-tiocianato variando o comprimento de onda de 400 a 560 nm.

Comprimento de onda / nm	Absorvância
410	
420	
440	
460	
500	
510	
520	
540	
560	
580	
600	

Efeito do tempo
a) Usar a solução prepara no item anterior para estudar o efeito do tempo na estabilidade do complexo Fe(III)-tiocianato;
b) Ler a absorvância em intervalos regulares de 5 minutos por um período de 20 minutos.

Tempo / min	Absorvância
0	
5	
10	
15	
20	

Efeito do volume de complexante (tiocianato)
a) Preparar 6 balões volumétricos de 10,00 mL usando 600 µL da solução estoque de Fe(III);

b) Acrescentar diferentes volumes (de acordo com a tabela abaixo) de NH_4SCN 0,30 mol L^{-1} com o auxílio de uma micropipeta;
c) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
d) Ler os valores de absorvância do complexo Fe(III)-tiocianato para cada balão volumétrico.

Volume de NH_4SCN / µL	Absorvância
100	
200	
400	
800	
1600	
3200	

Efeito do pH do meio complexante
a) Preparar 5 balões volumétricos de 10,00 mL usando 600 µL da solução estoque de Fe(III);
b) Acrescentar 400 µL da solução de NH_4SCN 0,30 mol L^{-1};
c) Acrescentar nos balões; 50 µL HCl_{conc}; 50 µL HCl 0,10 mol L^{-1}; 0; 20 µL e 100 µL de NaOH 2 mol L^{-1}, respectivamente;
d) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
e) Medir o pH de cada um dos balões;
d) Ler os valores de aborvância do complexo Fe(III)-tiocianato variando o pH do meio.

Balão	pH	Absorvância
1		
2		
3		
4		
5		

3. Sistema Fe(III)-1,10-fenantrolina

Espectro de absorção
a) Pipetar 400 µL da solução estoque de Fe(III) para um balão de 10,00 mL;
b) Acrescentar 100 µL de hidroxilamina ($NH_2OH.HCl$) 10 % (m/v) e agitar para reduzir o Fe(III) para Fe(II);
c) Acrescentar 200 µL de acetato de sódio 2 mol L^{-1} e 200 µL de 1,10-fenantrolina 0,30 % (m/v);
d) Completar o volume do balão com água destilada e homogeneizar;
e) Ler os valores de aborvância do complexo $[Fe(o\text{-}phen)_3]^{2+}$ variando o comprimento de onda de 400 a 560 nm.

Comprimento de onda / nm	Absorvância
410	
420	
440	
460	
500	
510	
520	
540	
560	
580	
600	

Efeito do tempo
a) Usar a solução prepara no item anterior para estudar o efeito do tempo na estabilidade do complexo $[Fe(o\text{-}phen)_3]^{2+}$;

b) Ler a absorvância em intervalos regulares de 5 minutos por um período de 20 minutos.

Tempo / min	Absorvância
0	
5	
10	
15	
20	

Efeito do volume de complexante (1,10-fenantrolina)
a) Preparar 6 balões volumétricos de 10,00 mL usando 400 µL da solução estoque de Fe(III);
b) Acrescentar 100 µL de hidroxilamina ($NH_2OH.HCl$) 10 % (m/v) e agitar para reduzir o Fe(III) para Fe(II);
c) Acrescentar 200 µL de acetato de sódio 2 mol L^{-1} e diferentes volumes (de acordo com a tabela abaixo) de 1,10-fenantrolina 0,30 % (m/v) com o auxílio de uma micropipeta;
d) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
e) Ler os valores de absorvância do complexo $[Fe(o\text{-}phen)_3]^{2+}$ para cada balão volumétrico.

Volume de $C_{12}H_8N_2$ / µL	Absorvância
30	
60	
90	
120	
150	
180	

Efeito do pH do meio complexante
a) Preparar 4 balões volumétricos de 10,00 mL usando 400 µL da solução estoque de Fe(III);
b) Acrescentar 100 µL de hidroxilamina ($NH_2OH.HCl$) 10 % (m/v) e agitar para reduzir o Fe(III) para Fe(II);
c) Acrescentar 200 µL de 1,10-fenantrolina 0,30 % (m/v) com o auxílio de uma micropipeta;
d) Acrescentar nos balões; 50 µL HCl_{conc}; 50 µL HCl 0,10 mol L^{-1}; 200 µL de CH_3COONa 2 mol L^{-1}; 100 µL de NaOH 2 mol L^{-1}, respectivamente.
e) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
f) Medir o pH de cada um dos balões;
g) Ler os valores de absorvância do complexo $[Fe(o\text{-}phen)_3]^{2+}$ variando o pH do meio.

Balão	pH	Absorvância
1		
2		
3		
4		

Questões:

1) Discutir clara, porém brevemente, os métodos tiocianato e 1,10-fenantrolina como reagentes colorimétricos para o ferro, incluindo nesta discussão os seguintes pontos: a) tempo de estabilidade do complexo formado, b) quantidade de reagente colorimétrico e c) efeito do pH do meio na formação do complexo.
2) Interpretar qualitativamente a curva de absorvância versus volume de 1,10-fenantrolina obtida experimentalmente.
3) Se o complexo $[Fe(o\text{-}phen)_3]^{2+}$ estiver dissociado apreciavelmente, o que você esperaria obter na curva de absorvância versus volume de 1,10-fenantrolina.
4) Sabe-se que o Fe(II) e a 1,10-fenantrolina formam um complexo 1:3 estável ($[Fe(o\text{-}phen)_3]^{2+}$). A partir deste fato e dos dados obtidos na curva de absorvância versus volume de 1,10-fenantrolina calcule a concentração molar da 1,10-fenantrolina na solução original usada no laboratório.
5) Defina o sistema que você adotaria para realizar uma determinação quantitativa do ferro. Explique o porquê da sua escolha.

➢ *PRÁTICA 4: Determinação espectrofotométrica de ferro em bebidas*

Curva analítica

a) Preparar 5 balões volumétricos de 10,00 mL usando diferentes volumes da solução estoque de Fe(III);
b) Acrescentar os demais reagentes necessários para a reação colorimétrica do ferro com o ligante que apresentou melhores resultados nos estudos da prática 2;
c) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
d) Ler os valores de absorvância do complexo para cada balão volumétrico.

Análise da amostra

a) Preparar 3 balões volumétricos de 10,00 mL usando ____ µL da solução amostra;
b) Acrescentar os demais reagentes necessários para a reação colorimétrica do ferro como realizado para preparar a curva analítica;
c) Agitar e completar o volume do balão com água destilada;
d) Ler os valores de absorvância do complexo.

Padrão	Volume da solução estoque de Fe(III) / µL	$C_{Fe(III)}$ / µmol L^{-1}	Absorvância
1	100		
2	200		
3	300		
4	400		
5	500		
Amostra 1		---	
Amostra 2		---	
Amostra 3		---	

Análise por adição de padrão

a) Preparar 6 balões volumétricos de 10,00 mL usando ____µL da solução amostra;
b) Acrescentar diferentes volumes da solução estoque de ferro (III) e os demais reagentes necessários para a reação colorimétrica do ferro como realizado para preparar a curva analítica;
c) Agitar e completar o volume dos balões com água destilada;
d) Ler os valores de absorvância dos complexos.

Balão	Volume da amostra / µL	Volume da solução estoque de Fe(III) / µL	[Fe(III)] / µmol L^{-1}	Absorvância
Amostra	400	---		
1	---	100		
2	---	200		
3	---	300		
4	---	400		
5	---	500		

Questões:
1) Determine a concentração de ferro na amostra analisada usando a curva analítica e a curva de adição de padrão.
2) Compare com o valor fornecido pelo fabricante.

➢ *PRÁTICA 5: Determinação espectrofotométrica do pKa de um indicador*

Espectro de absorção

a) Preparar 3 balões volumétricos de 25,00 mL adicionando 1 mL de solução de azul de bromotimol 0,1 %. No balão 1 adicione 8 gotas de HCl 4 mol L^{-1}, no balão 5 adicione 5 mL de Na_2HPO_4 0,1 mol L^{-1} e 5 mL de NaH_2PO_4 0,1 mol L^{-1} e no balão 10 adicione 24 gotas de NaOH 4 mol L^{-1}. Complete todos os balões com água destilada. Meça o pH de cada uma das soluções e anote a cor das soluções;
b) Ler os valores de absorvância das soluções preparadas anteriormente variando o comprimento de onda de 400 a 650 nm.

Construção da curva

a) Numerar 10 balões volumétricos de 25,00 mL e adicionar as soluções conforme a seguinte tabela. Completar os volumes com água destilada, agitar, verificar o pH e anotar.

Balão	*Volume de indicador / mL*	*Volume de NaOH 4 mol $^{-1}$*	*Volume de HCl 4 mol L^{-1}*	*Volume de Na_2HPO_4 0,1 mol L^{-1}*	*Volume de NaH_2PO_4 0,1 mol L^{-1}*
1	1	-	8 gotas	-	-
2	1	-	-	-	5
3	1	-	-	1	5
4	1	-	-	5	10
5	1	-	-	5	5
6	1	-	-	10	5
7	1	-	-	10	1
8	1	-	-	5	1
9	1	-	-	5	-
10	1	24 gotas	-	-	-

b) Fazer a leitura das absorvâncias de cada uma destas soluções nos 3 comprimentos de onda selecionados para as formas ácida, alcalina e no ponto isosbéstico respectivamente.

Questões:
1) Construir um gráfico colocando na abscissa o pH e na ordenada as absorvâncias de cada uma das soluções. O ponto em que a curva da forma ácida corta a curva da forma básica fornece o pH, que permite calcular o pKa.
2) Comparar com o valor de pKa apresentado pela literatura.
3) Determine o ponto isosbéstico.

➢ *PRÁTICA 6: Análise espectrofotométrica de mistura*

Espectro de absorção

a) Preparar 10,00 mL de uma solução 5 x 10^{-4} mol L^{-1} de $KMnO_4$ a partir da solução estoque;
b) Preparar 10,00 mL de uma solução 5 x 10^{-4} mol L^{-1} de $K_2Cr_2O_7$ em H_2SO_4 0,50 mol L^{-1}, a partir da solução estoque;
c) Preparar 10,00 mL de uma solução mistura 5 x 10^{-4} mol L^{-1} de $KMnO_4$ e 5 x 10^{-4} mol L^{-1} de $K_2Cr_2O_7$ em H_2SO_4;
d) Obter o espectro de absorção das três soluções preparadas anteriormente variando o comprimento de onda de 420 a 600 nm (20 em 20 nm).

Comprimento de onda / nm	Absorvância $KMnO_4$	Absorvância $K_2Cr_2O_7$
420		
440		
460		
480		
500		
520		
540		
560		
580		
600		

Análise da amostra

a) Preparar 5 balões volumétricos de 10,00 mL com padrões de $KMnO_4$ variando de 5 a 10 x 10^{-4} mol L^{-1};
b) Preparar 5 balões volumétricos de 10,00 mL com padrões de $K_2Cr_2O_7$ em H_2SO_4 variando de 5 a 25 x 10^{-4} mol L^{-1}.
c) Leia os valores de absorvância para os padrões preparados anteriormente usando os comprimentos de onda de máxima absorção do $KMnO_4$ e do $K_2Cr_2O_7$;
d) Adicione 2,00 mL da amostra em um balão volumétrico de 10,00 mL. Complete o balão com água destilada. Faça a medida de absorvância usando os comprimentos de onda de máxima absorção do $KMnO_4$ e do $K_2Cr_2O_7$.

Balão	C_{KMnO4} / mol L^{-1}	Absorvância $KMnO_4$
1		
2		
3		
4		
5		

Balão	$C_{K2Cr2O7}$ / mol L^{-1}	Absorvância $K_2Cr_2O_7$
1		
2		
3		
4		
5		

Amostra	C_{KMnO4} / mol L^{-1}	$C_{K2Cr2O7}$ / mol L^{-1}	Absorvância λ_1	Absorvância λ_2
1				
2				
3				

Questões:
1) Construa os espectros de absorção para o $KMnO_4$ e $K_2Cr_2O_7$. Determine o comprimento de onda de máxima absorção para cada um dos analitos.
2) Construa as curvas analíticas para o $KMnO_4$ e $K_2Cr_2O_7$. Determine as absortividades molares dos analitos.
3) Usando o princípio da aditividade da Lei de Beer determine a concentração de Cr e Mn na amostra analisada.

➢ *PRÁTICA 7: Titulação espectrofotométrica de ferro com EDTA*

a) Em um béquer de 25 mL coloque 4,00 mL da amostra, 5 mL de ácido acético pH 4,0 e 5 mL de ácido salicílico 0,5 %.
b) Efetuar a leitura do ponto correspondente a 0,00 mL de EDTA adicionado (titulante);
c) Adicionar sucessivamente alíquotas de 0,25 mL de EDTA 0,05 mol L^{-1}, agitar por 30 segundos e realizar a medida de absorvância em 520 nm. Terminar a titulação somente após ultrapassar por cerca de 2,00 mL o ponto de equivalência, ou seja, ter obtido aproximadamente 5 ou 6 leituras constantes de absorvância;
d) Faça a análise em triplicata.

Volume de EDTA / mL	Absorvância 1	Absorvância 2	Absorvância 3
0,00			
0,25			
0,50			
0,75			
1,00			
1,25			
1,50			
1,75			
2,00			
2,25			
2,50			
2,75			
3,00			
3,25			
3,50			
3,75			
4,00			
4,25			
4,50			
4,75			
5,00			
5,25			
5,50			
5,75			
6,00			
6,25			
6,50			
6,75			
7,00			

Questões:
1) Construa as curvas de titulação para as três análises. Determine o ponto final de cada titulação.
2) Determine a concentração de ferro na amostra analisada.

Fotometria de Chama

Preparo do aparelho

a) Tirar o plástico do equipamento;
b) Ligar o fotômetro na tomada (verificar voltagem correta);
c) Ligar o compressor na tomada;
d) Ligar o fornecimento de gás (verificar se o botijão está cheio);
e) Ligar o estabilizador do equipamento;
e) Ligar o equipamento no botão LIGA;
f) Escolher SETAGEM (clicar ENTRA; senha: SELEÇÃO-ENTRA-ESCAPE);
g) Selecionar unidade (mg/L); resolução (0.1) e auto calibração;
h) Selecionar LEITURA (clicar ENTRA);
i) Abrir a válvula de gás no equipamento e acionar a ignição;
j) Mergulhar o capilar de aspiração em água destilada;
j) Regular o fluxo de gás até que os 10 cones azuis da chama se tornem nítidos e aguardar estabilização do equipamento.

ANTES DE INICIAR AS LEITURAS, CALIBRAR O EQUIPAMENTO COM OS PONTOS MAIS ALTOS DA CURVA!!!

➢ *PRÁTICA 8: Determinação de sódio e potássio em bebidas isotônicas*

Curva analítica

a) Preparar por diluição soluções para cada espécie (Na^+, K^+ e Li^+) com água deionizada e utilizando balões de 50,00 mL a partir das soluções estoques de 100 mg L^{-1};

OBS:

- As concentrações finais de Na^+ deverão ser: **1,0 ,10, 20, 30 e 40 mg L^{-1}**;
- As concentrações finais de K^+ deverão ser: **1,0, 5,0, 10, 15 e 20 mg L^{-1}**;
- As concentrações finais de Li^+ (usado como padrão interno) deverá ser: **20 mg L^{-1}**.

Tabela 1: Medidas obtidas dos padrões no FOTÔMETRO

Ensaio	Na		K		Li	
	Vol (mL)	Sinal	Vol (mL)	Sinal	Vol (mL)	Sinal
1						
2						
3						
4						
5						

Tabela 2: Teor de Na e K descrito no rótulo dos isotônicos:

Marca	Na (mg/ 200 mL)	K (mg/ 200 mL)

Análise da amostra

a) Pipetar uma alíquota da amostra (a ser calculada pelo grupo) em um balão volumétrico de 50,00 mL de forma que o teor esperado fique dentro da faixa de calibração. Adicionar, no mesmo balão, uma quantidade da solução estoque de Li de forma que a concentração final seja de 20 mg L^{-1} e completar o volume com água deionizada até a marca de aferição. Realizar a preparação em duplicata (n=2);

b) Obter as leituras dos padrões (todas as soluções) e amostras, lembrando que a cada leitura deve-se passar água pelo capilar até o sinal do equipamento "zerar".

Marca	Na	K	Li

Questões:
1) Construa o gráfico da curva de calibração para os valores obtidos no fotômetro e calcule o valor do Fator de Resposta.
2) Determine o valor de Na e K nas amostras indicadas, compare com o valor rotulado descrito na tabela 2 e calcule o valor do erro relativo.

Absorção Atômica

➢ *PRÁTICA 9: Tratamento de amostra de leite em pó*

Preparo das amostras de leite em pó

a) Pesar 1,000 g de leite em pó em três cadinhos de porcelana. Reservar um cadinho para o branco.
b) Adicionar 10 mL de água deionizada em cada um dos cadinhos, inclusive no branco.
c) Adicionar 4 mL de H_2O_2 e 4 mL de HNO_3 concentrado.
d) Aquecer em uma chapa aquecedora a 95 ºC, até a redução do volume.
e) Colocar as amostras na mufla, aquecida a 350 ºC durante aproximadamente 4 horas.
f) Retirar as amostras da mufla e deixar esfriar até a temperatura ambiente.
g) Solubilizar as cinzas em HCl 0,1 mol L^{-1}, tomando o cuidado de não ultrapassar 10,00 mL.
h) Transferir para um balão volumétrico de 10,00 mL e completar o volume com HCl 0,1 mol L^{-1}.

➢ *PRÁTICA 10: Determinação de ferro em leite em pó por F AAS*

Preparo da curva analítica

a) A partir de uma solução estoque de 1000 mg L^{-1} de Fe, preparar 10,00 mL de uma solução intermediária de 100 mg L^{-1} de Fe.
b) Calcular os volumes necessários e preparar uma curva analítica de Fe a partir da solução de 100 mg L^{-1}, em 6 balões de 10,00 mL, nas concentrações indicadas abaixo.

Balão	Fe (mg L^{-1})	Volume (µL)
1	0,0	
2	0,5	
3	2,5	
4	5,0	
5	7,5	
6	10	

Análise das amostras por Espectrometria de Absorção Atômica com Chama (F AAS)

a) Na Central Analítica, ligar o equipamento, abrir o gás C_2H_2 e o ligar o compressor de ar.
b) Montar o método de análise para Fe no programa, considerando o comprimento de onda 248,3 nm e a vazão de gás 1,2 L min^{-1}.
c) Acender a chama e iniciar a análise.
d) Realizar a leitura de absorbância dos padrões e das amostras, colocando o capilar em água deionizada entre cada leitura.
e) Após a análise, desligar a chama e salvar os resultados.

Questões:
1) Construa a curva analítica para o Fe.
2) Determine a concentração de Fe nas amostras em mg kg^{-1}.
3) Calcule o valor do desvio padrão e do desvio padrão relativo (RSD). Com base no RSD, avalie a precisão do método.
4) Quais as vantagens da técnica F AAS para a determinação de Fe em leite?

Extração Líquido-Líquido

➢ *PRÁTICA 11: Verificação da influência do pH na extração de Fe(III) com éter etílico*

Extração

a) Pipetar 5,00 mL de uma das soluções contendo 0,2 % (m/v) de $FeCl_3$ em HCl 2 mol L^{-1}, 4 mol L^{-1} e 6 mol L^{-1}, levar para um funil de separação e adicionar 5,0 mL de éter etílico;
b) Agitar vigorosamente por aproximadamente 5 minutos. Deixar em repouso para separação das fases;
c) Recolher a fase aquosa.

Titulação espectrofotométrica dos extratos

a) Transferir 5,00 mL da solução de ferro, utilizada na extração, para um erlenmeyer, ajustar o pH entre 2-3, com solução de NaOH. Os volumes da NaOH 2,5 mol L^{-1} para o ajuste são aproximadamente 3, 7 e 11 mL (até a solução ficar azul com a adição do ácido salicílico), para as soluções que contenham 2 mol L^{-1}, 4 mol L^{-1} e 6 mol L^{-1} do ácido.
b) Realizar a titulação espectrofotométrica (releia prática 06) com solução de EDTA 0,01 mol L^{-1}, utilizando o ácido salicílico como indicador;
d) Após a separação das fases, titular a solução aquosa seguindo o mesmo procedimento anterior.

Questões:
1) Construa os gráficos das curvas de titulação espectrofotométrica para cada um dos padrões e calcule o volume do ponto final de cada titulação.
2) Determine a concentração de ferro em cada fração, antes e após a extração, para cada concentração de ácido utilizada.
3) Determine a percentagem de ferro na fase orgânica para cada um dos padrões analisados.
4) Calcule o coeficiente de partição para cada extração.

Troca Iônica

➢ *PRÁTICA 12: Estudo da eficiência de uma resina de troca iônica*

Preparo da coluna de troca iônica

a) Vedar a extremidade inferior de uma coluna (bureta) de 25 mL, com lã de vidro. Adicionar 5 mL de água destilada;
b) Separadamente, colocar cerca de 20 g de resina trocadora de cátions em um béquer, cobrindo-a com solução de HCl 6 mol L^{-1}, deixando repousar por alguns minutos, procedendo à agitação por algumas vezes. Descartar a solução e lavar várias vezes com água destilada para eliminar o excesso de ácido;
c) Colocar a coluna ligeiramente inclinada, introduzindo a mistura pastosa da resina até que alcance uma altura de 20 cm da bureta. Em seguida, adicionar água destilada deixando sempre a parte superior da resina coberta com solução. Certifique a não formação de bolhas no leito da resina. Colocar um tampão de algodão na parte superior da bureta, pressionando a resina.

Análise da amostra

a) Transferir 1,00 mL de uma solução 2,85 mol L^{-1} de NaCl para o interior da coluna;
b) Adicionar água destilada continuamente, eluindo a amostra, não permitindo que a parte superior da resina resseque;
c) Recolher o ácido formado na coluna em um béquer;
d) Quando não houver mais formação do ácido, interromper a saída da coluna e transferir o material para um balão volumétrico de 50,00 mL, completando o volume com água destilada;
e) Retirar uma alíquota de 10,00 mL da solução anterior e realizar uma titulação potenciométrica com NaOH 0,10 mol L^{-1}.

Questões:
1) Quais as fases móvel e estacionária usada neste experimento?
2) Construa a curva de titulação potenciométrica para o ácido gerado e calcule o volume do ponto final da titulação.
3) Determine a concentração de ácido clorídrico formada.
4) Calcule o rendimento da coluna de troca iônica.

Cromatografia

➢ *PRÁTICA 13: Determinação de paracetamol e cafeína em medicamentos por HPLC*

Preparo da amostra

a) Pesar o comprimido do medicamento e triturar em um grau;
b) Em béqueres (25 mL) distintos, pesar 2 porções com cerca de 50 mg da amostra composta pelos comprimidos triturados;
c) Adicionar cerca de 5 mL da mistura solução H_3PO_4 pH 2,5:metanol (60:40 v/v) em cada um dos béqueres e leve a solução ao ultrassom por 5 min. Após este tempo, transferir a solução para um balão de 10,00 mL e completar o volume com a solução H_3PO_4 pH 2,5:metanol (60:40 v/v);
d) Filtrar a solução em filtro de seringa com membrana de PTFE 0,45 µm de porosidade e transfirir 150 µL do filtrado para um balão de 5,00 mL. Completar o volume do balão com a solução H_3PO_4 pH 2,5:metanol (60:40 v/v) e transferir alíquotas das amostras para microtubos previamente identificados;
e) Injetar as amostras no HPLC.

Tabela 01: Parâmetros analíticos para determinação AAS e cafeína por HPLC-UV.

Gradiente:	*Tempo (min)*	*% H_3PO_4 pH 2,5*	*% MeOH*	*Fluxo (mL/min)*	*P max (Bar)*

Tempo de análise (min):

Tempo de espera (min):

Detector (nm): A _____ B _____ C _____ D _____ E _____

Análise da amostra

a) Injetar as amostras preparadas;
b) Medir as áreas para cada analito presente na amostra.
OBS: *TODAS AS SOLUÇÕES INJETADAS NO HPLC DEVEM SER PREVIAMENTE FILTRADAS EM MEMBRANA DE 0,45 µm.*

Valores de áreas e tempos de retenções obtidos para injeção no HPLC-UV das soluções padrões da curva analítica.

T. de Retenção (min)	**Analito**	**Curva analítica**		
		Concentração (mg L^{-1})		**Área (mUA.s)**
	Cafeína	Cal 1		
		Cal 2		
		Cal 3		
		Cal 4		
		Cal 5		
	Paracetamol	Cal 1		
		Cal 2		
		Cal 3		
		Cal 4		
		Cal 5		

Valores de áreas e tempos de retenções obtidos para injeção no HPLC-UV das amostras.

T. de Retenção (min)	**Analito**	**Amostras**		
		n	**Área (mUA.s)**	**Concentração (mg L^{-1})**
	Cafeína	1		
		2		
	Paracetamol	1		
		2		

Trabalhando com o Excel

Com os valores de áreas obtidos para obtidos para as injeções das soluções da curva analítica, elabore uma planilha no Excel para construção da curva analítica. Obtenha a equação da reta e as incertezas da inclinação, intercepto e regressão.

Determine as massas em mg e os valores de % m/m dos analitos presentes no comprimido do medicamento analisado, utilizando os dados obtidos na planilha, acompanhados dos respectivos valores de incertezas.

Compare os resultados obtidos com os valores referenciados pelo fabricante do medicamento. Apresentem no relatório da prática (tabela) os dados obtidos na planilha do Excel (curva analítica, concentrações dos compostos nas amostras injetadas, mg e % m/m dos compostos no medicamento, precisão e exatidão da análise).