



FÍSICO-QUÍMICO

PRÁTICAS DE FÍSICO-QUÍMICA

ÍNDICE

1. Densidade	3
2. Viscosidade - Reologia	5
3. <i>Refratometria – Determinação do índice de refração e refração específica</i>	13
4. <i>Refratometria – Determinação da concentração de sacarose</i>	18
5. Polarimetria – Determinação do poder rotatório específico	21
6. Espectroscopia	25
7. Tensão superficial e tensoativos	27
8. Condutividade Elétrica	30
9. <i>Equilíbrio químico – Determinação da constante de equilíbrio</i>	33
10. Alcoometria	35
11. Cinética Química – Determinação da ordem de reação	38
12. Eletroforese em Gel de Poliacrilamida	40
13. Eletroforese em Gel de Agarose	43
14. <i>Temperatura de Fusão</i>	46
15. Temperatura de Ebulição	48
16. Referências Bibliográficas	51

DENSIDADE DE LÍQUIDOS

Método do Picnômetro

1) **OBJETIVO:** verificar a influência da presença de impurezas sobre a densidade da água.

2) **RESUMO DA TEORIA:**

Chamamos de densidade ρ (ou massa específica) o quociente entre a massa e volume:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

A densidade tem como unidade de medida g/cm^3 , mas é mais freqüentemente expressa em g/mL . Ao contrário de grandezas como a massa ou o comprimento, designamos a densidade como grandeza derivada, pois é definida através de outras grandezas.

Quando aquecidos os corpos se dilatam. A densidade da substância da qual eles se compõem torna-se, portanto, menor.

A densidade é uma grandeza intensiva, isto é, não muda, por exemplo, ao dobrarmos o tamanho do sistema. Ela depende ponto a ponto do material. Caso a amostra seja homogênea, seu valor é o mesmo para todos os pontos do sistema. A densidade é função do tipo de substância, da temperatura e da pressão, principalmente.

Visto ser característica de cada substância, a densidade pode ser utilizada para a determinação da pureza de amostras, pois é significativamente alterada pela presença de contaminantes.

A densidade de líquidos pode ser determinada por medidas da massa do líquido que ocupa um volume conhecido (método do picnômetro) e por métodos de flutuação baseados no princípio de Arquimedes.

3) **MATERIAL NECESSÁRIO:**

Picnômetro, balança, termômetro, balão volumétrico, espátulas, água destilada, amostras.

4) **MÉTODO:**

- Pesar o picnômetro vazio.
- Determinar a temperatura da água destilada.
- Pesar o picnômetro repleto de água destilada, tomando os seguintes cuidados:
 - * não tocar no picnômetro com a mão (usar papel absorvente).
 - * eliminar as bolhas.
 - * lavar bem o picnômetro na troca de líquidos, usando na última etapa da lavagem o líquido da pesagem seguinte.
 - * secar o picnômetro externamente, sem tocar na parte superior.
- Pesar o picnômetro repleto com o líquido em questão.
- Determinar a massa de água destilada ($m_{\text{água}}$) e a massa da amostra (m) subtraindo o peso do picnômetro.
- Calcular a densidade da amostra através da relação:

$$\rho = \frac{m}{m_{\text{água}}} \times \rho_{\text{água}}^{t^{\circ}\text{C}}$$

A densidade da água à temperatura ambiente é obtida pela tabela de Régnault.

5) **TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:**

- Realize o experimento de seu grupo
- Determine a média e o desvio padrão de seus dados
- Complete a tabela abaixo com os dados de todos os grupos.
- Analise os resultados obtidos por todos os grupos.

Tabela 1. Resultados de densidade obtidos experimentalmente.

Grupo	Amostra	Massa Picnôm (g)	Massa picnômetro. + água (g)			Massa do picnômetro. + amostra (g)			Densidade obtida (g/cm ³)	Densidade água destilada.
			massa	média	d.padr.	massa	média	d.padr.		
1	Água de torneira		1			1				
			2			2				
			3			3				
2	Água + NaCl 5% (m/v)		1			1				
			2			2				
			3			3				
3	Água + NaCl 0,5% (m/v)		1			1				
			2			2				
			3			3				
4	Água + glicose 5% (m/v)		1			1				
			2			2				
			3			3				
5	Água + etanol 5% (v/v)		1			1				
			2			2				
			3			3				

VISCOSIDADE – REOLOGIA

1. OBJETIVOS:

- Avaliar a influência da velocidade de cisalhamento sobre a viscosidade de fluidos Newtonianos e não-Newtonianos
- Avaliar o comportamento reológico de amostras de interesse farmacêutico.

2. RESUMO DA TEORIA:

O termo reologia (do grego *rheo* = fluxo, *logos* = ciência) foi introduzido no século passado por Bingham e Crawford para identificar a parte da físico-química que trata da deformação dos sistemas líquidos, sólidos e semi-sólidos. No âmbito das ciências biológicas e farmacêuticas, o estudo da reologia é indispensável para o entendimento de diferentes fenômenos, muitos deles essenciais à vida, à eficácia dos medicamentos e dos processos tecnológicos.

As medidas viscoelásticas são baseadas nas propriedades mecânicas dos materiais que exibem propriedades viscosas dos líquidos e propriedades elásticas dos sólidos. Muitos dos sistemas estudados na formulação de medicamentos pertencem a esta classe, como, por exemplo, cremes, loções, ungüentos, supositórios, suspensões e dispersões coloidais, emulsões e agentes suspensores. Os materiais biológicos tais como o sangue e o líquido cervical mostram também propriedades viscoelásticas.

A reologia abrange diferentes propriedades associadas à deformação da matéria, entre as quais: **extrusibilidade** (processo de forçar uma massa semi-sólida através de um orifício; ex. creme dental), **compressibilidade** (termo bastante usual na tecnologia de obtenção de comprimidos a partir de pós ou granulados), **ductibilidade** (propriedade associada à formação de fios quando sistemas semi-sólidos são espichados, como é o caso da vaselina sólida; ex. retirar creme de um pote), **espalhabilidade** (quando um material semi-sólido ou líquido espalha-se, sob aplicação de uma força, sobre uma superfície sólida), **elasticidade** (fenômeno de deformação associado a fibras e filmes poliméricos, geralmente no *estado de borracha*, abaixo da denominada temperatura de transição vítrea), **fluidez e viscosidade** (propriedades que constituem o tema principal desta aula; ex. xarope). Conhecer e controlar estas propriedades é importante na indústria de cosméticos, alimentos e farmacêutica, não só como critério de qualidade técnica, mas, também, como uma necessidade de preencher parâmetros de aceitabilidade por parte do cliente ou paciente. As características reológicas de um produto estão associadas a aspectos de absorção e biodisponibilidade de fármacos, bem como à escolha de equipamentos a serem usados na sua produção.

Reologia é definida como o **estudo das mudanças na forma e fluxo da matéria, envolvendo elasticidade, viscosidade e plasticidade.**

2.1. VISCOSIDADE:

A viscosidade desempenha nos fluidos o mesmo papel que o atrito nos sólidos. A viscosidade é uma medida da fricção interna de um fluido. Esta fricção se torna aparente quando uma camada de fluido se move sobre a outra. Quanto maior a fricção maior a força necessária para causar este movimento, denominado **cisalhamento**. Fluidos altamente viscosos, portanto, requerem mais força para se mover do que materiais menos viscosos.

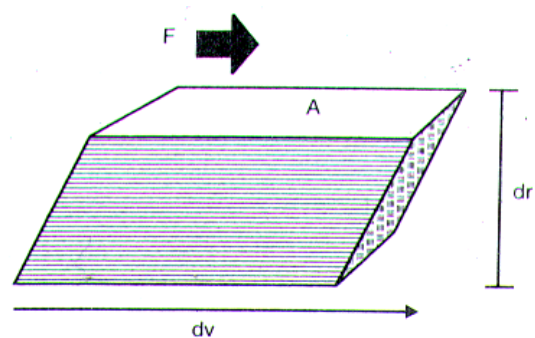
Isaac Newton definiu viscosidade considerando o modelo representado na figura abaixo. Considere um “bloco” de líquido constituído de placas paralelas de moléculas, semelhante a um baralho. A camada inferior não se move. Se o plano superior do líquido se move a uma velocidade constante, cada camada inferior irá se mover a uma velocidade diretamente proporcional a sua distância da camada estacionária. A **diferença de velocidade “dv”** entre duas placas de líquido separadas por uma **distância infinitesimal “dv”** é o **gradiente de velocidade** ou **gradiente de cisalhamento “S” (shear rate)**. A força por unidade de área “F/A” necessária para provocar o fluxo é denominada **força de cisalhamento** e simbolizada por **F’ (shear stress)**

$$\frac{F}{A} = \eta \frac{dv}{dr} \quad \text{onde } \eta \text{ é o coeficiente de viscosidade ou viscosidade}$$

$$F' = \frac{F}{A} = (\text{dyn/cm}^2) \quad e \quad S = \frac{dv}{dr} = (\text{s}^{-1})$$

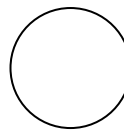
$$\eta = \frac{F'}{S} = \frac{\text{força de cisalhamento (shear stress)}}{\text{gradiente de cisalhamento (shear rate)}}$$

$$\eta = \frac{F dr}{A dv} = \frac{\text{dyn} \times \text{cm}}{\text{cm}^2 \times \text{cm/s}} = \frac{\text{dyn} \times \text{s}}{\text{cm}^2} = \frac{\text{g} \times \text{cm/s}^2 \times \text{s}}{\text{cm}^2} = \frac{\text{g}}{\text{cm} \times \text{s}}$$



A unidade de viscosidade é o **poise**, definida de acordo com a figura acima como a força de cisalhamento necessária para produzir a velocidade de 1cm/s entre dois planos paralelos de um líquido com 1cm de área e separados pela distância de 1cm. A unidade mais conveniente para se trabalhar é o **centipoise (cp)**, 1cp equivale a 0,01 poise. Também são encontradas medidas de viscosidade expressas em “**Pascal-segundo**” (**Pa.s**) ou miliPascal-segundo (mPa.s), sendo **1 mPa.s** igual a **1 cp**.

TORQUE: $\vec{\tau} = \vec{r} \times \vec{F}$



OBS: A faixa de 50 a 80 % de torque é a ideal para escolher a velocidade. Abaixo de 10% o erro relativo é alto. Usar sensores com área de contato maior e maior velocidade para fluidos de baixa viscosidade.

Erro: AUTO RANGE mostra a condição máxima de leitura usando determinado sensor e velocidade. **O erro corresponde a 1% do valor máximo** Ex: sensor LV3 a 12.000 rpm

100% = 10.000cp

Exatidão = 1% , portanto erro é 100 cp

Torque de 10% = 1000 erro relativo maior (100 em 1000)

Torque de 80% = 8000 erro relativo menor (100 em 8000)

2.2. TIPOS DE FLUIDOS:

Newton assumiu que todos os materiais têm, a uma dada temperatura, uma viscosidade que é independente do gradiente de cisalhamento. Em outras palavras, duplicando a força, duplica-se a velocidade do fluxo. Newton estava parcialmente certo.

De acordo com os tipos de fluxo e deformação, os fluidos são classificados como **Newtonianos** e **não-Newtonianos**.

2.2.1. Fluidos Newtonianos:

Estes fluidos têm a mesma viscosidade independente do gradiente de cisalhamento aplicado. Na prática isto significa que, a uma dada temperatura, a viscosidade de um fluido Newtoniano será constante independente do viscosímetro, do sensor de cisalhamento ou da velocidade usados para realizar a medida. Fluidos típicos newtonianos são a água, óleos finos, etc.

2.2.2. Fluidos Não-Newtonianos:

Estes fluidos têm diferentes viscosidades dependendo do gradiente de cisalhamento aplicado. Ou seja, quando o gradiente de cisalhamento é variado, a força de cisalhamento não varia na mesma proporção (nem mesmo necessariamente na mesma direção). A viscosidade de tais fluidos muda quando se altera o gradiente de cisalhamento. Assim, os parâmetros experimentais o modelo do viscosímetro, o **sensor de cisalhamento (SDC)** e a velocidade têm efeito na medida da viscosidade. A viscosidade é denominada “**viscosidade aparente**” do fluido.

Fluidos não-Newtonianos podem ser vistos como uma mistura de moléculas de diferentes tamanhos e formas. À medida que elas passam umas pelas outras, como ocorre durante o fluxo, seus tamanhos, formas e coesão irão determinar quanta força é necessária para movê-las. A cada específica velocidade de cisalhamento, o alinhamento pode ser diferente e mais ou menos força pode ser necessária para manter o movimento.

Há vários tipos de comportamento de fluxo não-Newtoniano, caracterizados pelo modo como a viscosidade do fluido se altera em função da variação do gradiente de cisalhamento. Os tipos mais comuns de fluidos não-Newtonianos incluem: pseudoplásticos, dilatantes e plásticos.

- **Pseudoplástico:** este tipo de fluido irá mostrar uma diminuição da viscosidade com o aumento do gradiente de cisalhamento. Ex: tintas, emulsões e dispersões de diferentes tipos.

- **Dilatante:** o aumento da viscosidade com o aumento do gradiente de cisalhamento caracterizam os fluidos dilatantes. A dilatância é freqüentemente observada em fluidos contendo alto teor de sólidos defloculados. Ex: pastas, certas suspensões e ungüentos contendo elevado percentual de sólidos insolúveis suspensos, misturas de areia e água.

- **Plásticos:** este tipo de fluido se comporta como um sólido em condições estáticas. Uma certa força deverá ser aplicada ao fluido para iniciar o processo de deslocamento das camadas moleculares. Esta força determina o ponto de cedência (f), acima do qual, geralmente, sistemas plásticos passam a ter um comportamento linear ou quase linear. Abaixo do ponto de cedência, o sistema apresenta um comportamento elástico reversível. Ex.: alguns géis, ungüentos e cremes concentrados, bem como suspensões concentradas e floculadas como o leite de magnésia.

2.3. TIXOTROPIA E REOPEXIA:

Alguns fluidos irão apresentar alterações na viscosidade com o tempo, em condições de gradiente de cisalhamento constante. Há duas categorias a serem consideradas:

- **Tixotropia:** o fluido tixotrópico mostra uma redução da viscosidade com o tempo, enquanto é submetido a um cisalhamento à velocidade constante. A tixotropia é uma propriedade importante em formas farmacêuticas líquidas e semi-sólidas, que permite obter um medicamento mais consistente quando em repouso, mas de elevada fluidez quando agitado pelo paciente. As suspensões floculadas são um bom exemplo de sistema tixotrópico.
- **Reopexia:** a viscosidade do fluido aumenta com o tempo quando é submetido a um cisalhamento à velocidade constante.

Tixotropia e reopexia podem ocorrer em combinação com qualquer um dos tipos de fluxo discutidos anteriormente, ou apenas a certas velocidades de cisalhamento. O elemento tempo é extremamente variável; sob condições de cisalhamento constante, alguns fluidos irão alcançar sua viscosidade final em poucos segundos, enquanto que outros podem levar vários dias.

Quando a velocidade de cisalhamento é aumentada gradativamente até um limite e, logo a seguir, diminuída ao seu valor original, em sistemas Newtonianos, as curvas de ida e de volta são retas e sempre se sobrepõem. Quando as curvas não se sobrepõem, e a curva de volta ocorre em um plano superior à de ida, temos o fenômeno tixotropia, o qual está associado à recuperação lenta da consistência do material, perdida pelo cisalhamento, desenhando uma curva denominada **curva de histerese**. Quando a curva descendente (de volta) passa abaixo do plano da curva ascendente (de ida), o fenômeno é chamado **antitixotropia**.

Comportamentos tixotrópicos e antitixotrópicos são encontrados, principalmente, em sistemas plásticos e indicam um fenômeno de estruturação tridimensional da matriz, decorrente da assimetria das partículas e moléculas, assim como de diversos efeitos de interação.

2.4. VARIÁVEIS NAS MEDIDAS DE VISCOSIDADE:

Como qualquer outro instrumento de medida, existem variáveis que podem afetar as medidas de viscosidade. Estas variáveis podem ser relacionadas ao instrumento (Viscosímetro), ou ao fluido de teste. As variáveis relacionadas ao fluido provêm das propriedades reológicas do mesmo, enquanto as relacionadas com o instrumento devem-se ao desempenho do viscosímetro e à geometria do **sensor de cisalhamento (SDC, spindle)** utilizado. A maioria dos fluidos encontra-se na classe dos não-Newtonianos. Eles são dependentes do **gradiente de cisalhamento** e da **geometria do SDC**. Se uma leitura foi feita a 2,5 rpm (rotações por minuto) e outra a 50 rpm, os dois valores de viscosidade serão diferentes porque foram obtidos com diferentes forças de cisalhamento. Quanto maior for a velocidade do **SDC**, maior será o gradiente de cisalhamento.

O gradiente de cisalhamento é determinado por: a velocidade rotacional do **SDC**, a geometria do **SDC**, a geometria da câmara de amostras e da distância entre a parede da câmara e a face do **SDC**.

Um teste de viscosidade deve controlar os seguintes parâmetros para ser reproduzível e específico:

- Temperatura do teste
- Geometria do **SDC** e da câmara
- Volume da amostra
- Modelo do viscosímetro
- Velocidade do teste
- Tempo para a tomada da medida ou número de revoluções do **SDC**.

3. FUNDAMENTOS:

Lei do escoamento viscoso de Newton

4. MATERIAL NECESSÁRIO:

Viscosímetro digital Brookfield, modelo DV-I+, sensores de cisalhamento, amostras (glicerina, óleo de milho e detergente).

5. MÉTODO:**5.1. Função das teclas:**

- **↑**: esta tecla é usada para navegar em direção **ascendente** através das velocidades disponíveis ou do Menu de Seleção de códigos para os sensores de cisalhamento (SDC)
- **↓**: esta tecla é usada para navegar em direção **descendente** através das velocidades disponíveis ou do Menu de Seleção de códigos para os sensores de cisalhamento (SDC)
- **MOTOR ON/OFF**: liga e desliga o motor
- **SET SPEED**: seleciona a velocidade a ser utilizada pelo DV-I+. Esta tecla também é utilizada para acessar tempos tais como: “Time to Torque” e “Timed Stop” (método de tempos para medida de viscosidade)
- **AUTO RANGE**: apresenta o máximo valor de viscosidade (100% de torque) capaz de ser alcançado com a combinação SDC / velocidade selecionada. Esta função só funciona com o motor ligado. Nota: pressionando e segurando a tecla “AUTO RANGE” no ato de ligar o viscosímetro, irá mudar a configuração de unidades de medidas CGS para SI ou vice-versa.
- **SELECT SPINDLE**: seleciona o código correspondente aos SDC. Esta tecla também é utilizada para acessar tempos tais como: “Time to Torque” e “Timed Stop” (método de tempos para medida de viscosidade).

5.2. Auto-zero:

Antes das leituras serem tomadas, o viscosímetro necessita ser zerado. Esta ação deve ser realizada cada vez que o viscosímetro for ligado. A tela do viscosímetro irá orientá-lo através dos seguintes procedimentos:

- Ligue a chave de força, localizada na face traseira do instrumento, para posição **ON**. Isto irá resultar na tela as indicações seguintes: torque do instrumento; LV, RV, HA ou HB.

Brookfield DV- I+ RV viscosimeter

Logo após irá aparecer a configuração do instrumento

Brookfield DV- I+ RV version 4.1

Nenhuma tecla precisa ser pressionada até este ponto. Em seguida a seguinte tela aparecerá

Remove spindle, press any key

- Remova o SDC se houver algum conectado e pressione qualquer tecla, e o DV-I+ irá iniciar o auto-zero. A tela ficará piscando com a mensagem “Autozeroing”. Após 15 segundos, a tela irá parar de piscar e a seguinte mensagem aparecerá:

Replace spindle, press any key

- Pressionando qualquer tecla neste ponto irá resultar na tela principal do DV-I+. A tela pode variar dependendo do último SDC selecionado.

cP 0.0	S01	0.0RPM	%0.0
--------	-----	--------	------

5.3. Seleção dos sensores de cisalhamento – SDC (Spindles):

- Os viscosímetros LVDV-I+ são providos de um jogo de quatro SDC e um guardileg. Os SDC são conectados rosqueando-os na ponta de eixo. Note que os SDC são de **rosca esquerda**. A ponta de eixo deve ser segurada com uma das mãos e o SDC deve ser rosqueado à esquerda. Os SDC são identificados pelo número que existe na parte cilíndrica da cabeça de cada um.
- Pressionando a tecla **SELECT SPINDLE** irá acionar o caractere **S** na linha de topo da tela que irá piscar por 3 segundos. Se as teclas **↑** ou **↓** forem pressionadas (somente quando S estiver piscando) os dois caracteres do número dos SDC à direita do S irão mudar. Quando o código correto do SDC desejado aparecer na tela, solte a tecla para parar a seleção.

- Pressione a tecla **SELECT SPINDLE** novamente. Esta ação irá aceitar o código do novo SDC para o cálculo da viscosidade e o caractere S não piscará mais (obs: você tem 3 segundos para pressionar a tecla novamente).

5.4. Seleção e configuração das velocidades:

Existem 18 velocidades programadas no modelo DV-I+.

- Para selecionar uma velocidade no viscosímetro, pressione primeiramente a tecla ↑ ou ↓, que irão acionar diretamente a RPM (na linha superior) para mostrar a velocidade corrente. A tela mostra que o viscosímetro estava operando a 10.0 RPM e a velocidade corrente selecionada é 10.0 RPM

cP 872.0	S01
10.0 RPM 10.0	% 87.2

- Se alguma tecla ↑ ou ↓ for pressionada somente uma vez e depois solta, os caracteres RPM irão piscar por 3 segundos, assim que cessar a intermitência, não será possível fazer nenhuma mudança na velocidade. O usuário deve operar a uma velocidade já estabelecida e pré-configurar o viscosímetro para a próxima velocidade antes que esta seja utilizada. Por exemplo, se o aparelho esta a uma velocidade de 10 RPM e a próxima velocidade é de 20 RPM, pressione qualquer uma das teclas ↑ ou ↓ que resultará na tela abaixo:

cP 872.0	S01
10.0 RPM 20.0	% 87.2

- Pressionando a tecla **SET SPEED**, o viscosímetro irá utilizar a velocidade de 20 RPM. Se o usuário não pressionar **SET SPEED** a velocidade continuará 10 RPM. De fato você deve selecionar uma nova velocidade e pressionar a tecla **SET SPEED** a qualquer tempo para que o viscosímetro utilize imediatamente a nova velocidade. Pressionar a tecla ↑ ou ↓ a qualquer instante irá mostrar ao usuário qual velocidade esta selecionada para o próximo passo.
- Se qualquer tecla ↑ ou ↓ for pressionada e segurada o viscosímetro irá navegar através da tabela de velocidades. Quando a velocidade desejada for mostrada, solte a tecla nesta posição. Você tem aproximadamente 2 segundos (antes que o RPM pare de piscar) para pressionar a tecla **SET SPEED** para imediatamente iniciar a rotação na nova velocidade selecionada.
- Pressionando a tecla **MOTOR ON/OFF** cessará a rotação do viscosímetro

cP 0.0	S01
OFF RPM	% 0.0

- Pressionando a tecla **MOTOR ON/OFF** novamente, o viscosímetro usará a última velocidade selecionada. No entanto, se o motor estava desligado e você selecionou a velocidade de 20 RPM, ao pressionar a tecla **MOTOR ON/OFF** o viscosímetro irá rotacionar a 20 RPM.

5.5. AUTO RANGE e seleção das unidades CGS ou SI:

- A tecla **AUTO RANGE** permite que você determine a viscosidade máxima a ser calculada com a combinação SDC/velocidade selecionadas. Pressionando esta tecla a qualquer momento o visor irá mostrar a viscosidade máxima que pode ser medida nestas condições.
- Pressionando a tecla **AUTO RANGE** no ato de ligar o viscosímetro, fará com que a velocidade seja mostrada em unidades CGS (cp) ou SI (mPa.s).
- Fora de faixa:

Leitura de torque exceder 100%

CP EEE	S01
10 RPM	% EEE

Leitura de torque abaixo de 10%

CP ? 78.0	S01
10 RPM 20	% ? 77.8

5.6. Operação:

- Monte o guardleg no viscosímetro. Segure a ponta de eixo com uma das mãos tirando a folga e rosqueie o SDC (rosca esquerda) com a outra mão.
- Insira e centralize o SDC no material de teste até chegar ao nível de imersão deste.

- Faça a seleção do SDC e da velocidade. Espere o tempo de estabilização para tomar as medidas. Para exatidão devemos somente considerar leituras obtidas entre 10% e 100% da faixa de torque.
- Pressione a tecla **MOTOR ON/OFF** para ‘desligar’ o motor quando for trocar um SDC ou amostra. Remova o SDC para limpá-lo.

5.7. Método de tempo para medida de viscosidade:

O método de tempo permite ao usuário implementar capacidades Timed Stop e Time to Torque. Esta característica permite ao usuário configurar o viscosímetro para gravar as leituras após um tempo determinado (Timed Stop) ou até chegar a um valor de torque estipulado (Time to Torque).

6. TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:

- 6.1. Analisar a reologia da glicerina: determinar a viscosidade e torque para diferentes valores de velocidade e traçar os gráficos relacionando velocidade (eixo y) com torque (eixo x) e η (eixo y) com velocidade (eixo x).
- 6.2. Analisar a reologia do óleo: determinar a viscosidade e torque para diferentes valores de velocidade e traçar os gráficos relacionando velocidade (eixo y) com torque (eixo x) e η (eixo y) com velocidade (eixo x).
- 6.3. Analisar a reologia do detergente: determinar a viscosidade e torque para diferentes valores de velocidade e traçar os gráficos relacionando velocidade (eixo y) com torque (eixo x) e η (eixo y) com velocidade (eixo x).

TABELA 1. Valores de viscosidade em função da velocidade de cisalhamento para diferentes amostras

Grupo 1 – óleo de milho Sensor: SC4-18 Volume da amostra: 8 mL Temperatura: _____					Grupo 2 – glicerina Sensor: SC4-34 Volume da amostra: 9,5 mL Temperatura: _____					Grupo 3 – detergente Sensor: SC4-34 Volume da amostra: 9,5 mL Temperatura: _____				
Tempo (min)	Velocid (rpm)	Fator (cp)	Torque (%)	η (cp)	Tempo (min)	Velocid (rpm)	Fator (cp)	Torque (%)	η (cp)	Tempo (min)	Velocid (rpm)	Fator (cp)	Torque (%)	η (cp)
0,5					0,5					0,5				
1					1					1				
1,5					1,5					1,5				
2					2					2				
2,5					2,5					2,5				
3					3					3				
3,5					3,5					3,5				
4					4					4				
4,5					4,5					4,5				
5					5					5				
5,5					5,5					5,5				

PARA CILINDROS COXIAIS:

Velocidade de cisalhamento, S (s⁻¹): $S' = \left(\frac{2R_c^2}{R_c^2 - R_b^2} \right) \omega$

Força de cisalhamento, F' (dyn/cm²): $F' = \frac{\tau}{2\pi R_b^2 L}$

Viscosidade, η (poise): $\eta = \frac{F'}{S'}$

ω : velocidade angular do sensor de cisalhamento (rad/s) ou $[(2\pi/60)N]$ sendo N= rpm

R_c : raio do contêiner (cm)

R_b : raio do sensor de cisalhamento (cm)

τ : torque utilizado pelo instrumento

L : comprimento efetivo do sensor de cisalhamento (cm).

REFRATOMETRIA I

1) OBJETIVOS:

Determinação do índice de refração de líquidos e o uso desta medida na identificação de líquidos puros e na determinação da pureza de amostras.

2) RESUMO DA TEORIA:

Quando um raio de luz monocromática passa de um meio para outro, ele é entortado ou refratado, aproximando-se ou afastando-se da normal, de acordo com as características dos meios. O grau dessa refração é dado pela equação:

$$n_{2,1} = \frac{\sin i}{\sin r} = \frac{v_1}{v_2}$$

n = índice de refração do meio 2 em relação ao meio 1

i = é o ângulo formado pelo raio incidente e a normal

r = é o ângulo formado pelo raio refrato e a normal

v_1 = é a velocidade da luz no primeiro meio

v_2 = é a velocidade da luz no segundo meio

O índice de refração (n) de uma substância é a relação entre a velocidade da luz no vácuo e sua velocidade na substância. Ele também pode ser definido como a relação entre o seno do ângulo de incidência e o seno do ângulo de refração.

Na prática, determina-se a refração em relação ao ar e à substância, em lugar de em relação ao vácuo e à substância, visto que isso não apresenta influência significativa nos valores observados.

O índice de refração depende da **natureza química** da substância, do **comprimento de onda** da luz usada em sua medida e da **temperatura**. Se o segundo meio é uma solução, o índice de refração depende também da **concentração** da mesma.

É necessário especificar as condições de temperatura e comprimento de onda utilizados (n_λ^t). Os índices de refração são geralmente formulados em função da linha D da luz de sódio de comprimento de onda de 589,3nm, à temperatura de $20^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$ (n_D^{20}).

O índice de refração pode ser usado para **determinar a concentração** de materiais, para **estabelecer a identidade** e a **pureza** de um composto químico e como uma ajuda valiosa para **provar a estrutura** de um composto.

O índice de refração, em conjunto com a densidade, pode servir como uma valiosa ajuda para provar a estrutura de um novo composto através do uso da **refração específica (r)**, a qual é definida pela equação de Lorentz-Lorenz:

$$r = \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \times \frac{1}{d} \quad (\text{cm}^3/\text{g})$$

e dela deriva-se a **refração molar (R)**

$$R = r.M \quad (\text{cm}^3)$$

n = índice de refração da substância usando a raia D do sódio

d = densidade da substância **à mesma temperatura**

M = peso molecular da substância

A determinação da refração específica pode ser comparada com a calculada a partir de considerações estruturais. Dois sistemas são atualmente utilizados: um baseado na refratividade de ligações e outro baseado na refratividade atômica e estrutural. Em ambos os casos o componente refratividade para qualquer estrutura dada são adicionados, e esta soma (a refração molar) é dividida pelo peso molecular da estrutura dada. Para a maioria dos compostos orgânicos a medida da refração específica mostrou não diferir da refração específica calculada em mais que 1%. A refração específica e a refração molar são independentes da temperatura e inclusive do estado de agregação. São de grande importância para as determinações de concentração de misturas de líquidos, visto que se alteram linearmente com a concentração, o qual não é válido para o índice de refração nem a densidade.

O índice de refração varia com a **temperatura** e, para a maioria dos líquidos orgânicos usados, **um aumento na temperatura de 1°C , causa uma diminuição em ' n ' de $3,5 \cdot 10^{-4}$ a $5,5 \cdot 10^{-4}$** . Na ausência do dado correto, o valor de $4,5 \cdot 10^{-4}$ pode ser usado como uma aproximação.

3) FUNDAMENTOS:

- Fenômeno da refração e **ângulo limite de incidência** (reflexão total).

4) MATERIAL NECESSÁRIO:

Refratômetro de Abbe, lenço de papel, pipetas, água destilada, etanol, tetracloreto de carbono, ácido acético.

5) MÉTODO:

- Abra a chave **8** e gire o sistema, para que o prisma opaco fique na posição horizontal
- Limpe **cuidadosamente** os prismas, utilizando papel macio umedecido com éter ou metanol, seque-os bem.
- Coloque 3 gotas da amostra sobre o prisma opaco, sem tocá-lo com a pipeta .
- Feche o sistema rapidamente a fim de evitar a evaporação.
- Gire a chave **10** até que a luz observada na ocular **1** se torne parcialmente escura (a fase escura deve ficar próxima ao cruzamento das linhas existentes na ocular **1**). O ajuste deverá ser no sentido anti-horário quando o campo aparecer escuro e horário quando aparecer claro. A área clara deverá estar na parte superior do campo.
- Caso não haja nitidez da linha escuro-claro, gire o compensador **4** para que tal nitidez seja a melhor possível.
- Gire a chave **10** até que a linha escuro-claro fique exatamente sobre o cruzamento das linhas do visor.
- Leia o índice de refração no microscópio de leitura **12**.
- Abra o sistema de prismas e limpe-o muito bem.

CALIBRAÇÃO:

- Deverá ser realizada com água destilada. Conferir o valor obtido com o tabelado para diferentes temperaturas.

6) TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:

- Os índices de refração da **água, do tetracloreto de carbono e etanol** são dados pelas seguintes equações:

$$\text{H}_2\text{O}: n_D^t = 1,3325 - 1,1 \cdot 10^{-4}(t-25)$$

$$\text{CCl}_4: n_D^t = 1,4576 - 2,2 \cdot 10^{-4}(t-25)$$

$$\text{Etanol}: n_D^t = 1,3584 - 4,1 \cdot 10^{-4}(t-25)$$

Onde n_D^t é o índice de refração para a linha D do sódio à $t^\circ\text{C}$. Compare o índice de refração determinado para estes líquidos com o índice de refração calculado pelas equações acima, para a temperatura do experimento (t).

- Para o **ácido acético** pesquisar no Handbook o valor do índice de refração, converter este valor para a temperatura do experimento (use o fator de $3,2 \times 10^{-4}$), e comparar com o valor obtido na prática.
- Calcular a **refração específica** e a **refração molar** da água, do CCl_4 , do ácido acético e do etanol 99,5% a partir dos valores de índice de refração obtidos no Handbook para a temperatura de 20°C (usar os valores de densidade a 20°C fornecidos abaixo) e comparar com os valores de **refração molar** calculados usando os dados da **tabela 3**.
- OBS: densidade da água a 20°C : $0,9982 \text{ g/cm}^3$
densidade do CCL_4 a 20°C : $1,595 \text{ g/cm}^3$
densidade do ácido acético a 20°C : $1,0492 \text{ g/cm}^3$
densidade do etanol 99,5% a 20°C : $0,791 \text{ g/cm}^3$

7) ITENS PARA A DISCUSSÃO:

- Eficiência e facilidade de uso dos dois refratômetros usados.
- Análise da pureza das substâncias testadas.
- Diferenças entre os valores de índice de refração obtidos experimentalmente e os obtidos no Handbook.
- Diferenças entre os valores de refração molar experimental (índice de refração obtidos no Handbook) e o calculado pelos dados da tabela 3.

Tabela 1. Resultados de índice de refração obtidos experimentalmente.

Amostra	Grupo	Handbook		Abbe I		Abbe II	
		n_D^{25} a 25°C	n_D^t a t°C	t°C	n_D^t	t°C	n_D^t
H ₂ O	1						
CCl ₄	2						
Ácido acético	3						
Etanol 99,5%	4						
Etanol 95 %	5						
Etanol comercial	6	-----	-----				

Tabela 2. Refração molar experimental e teórica

Substância	Peso molecular	Dados do Handbook (experimental)				Refração molar calculada com dados da tabela 3
		n_D^{20}	Densidade a 20°C	Refração específica	Refração molar	
H ₂ O	18,02					
CCl ₄	153,82					
Ácido acético	60,05					
Etanol 99,5%	46,07					

REFRATÔMETRO DE ABBE

O refratômetro de Abbe faz uso do princípio de ângulo crítico ou ângulo limite de reflexão total. O campo no telescópio irá mostrar uma região clara e outra escura, a fina linha de demarcação entre elas corresponde ao ângulo crítico.

O refratômetro de Abbe é composto essencialmente de quatro partes: o telescópio, os prismas de Abbe, o círculo graduado de cristal com microscópio de leitura e os prismas de compensação.

O telescópio consta de uma objetiva, uma ocular e um disco com linhas cruzadas montado no plano focal da objetiva. A função do telescópio é formar uma imagem da linha extrema de reflexão total, ou linha limite, no plano de linhas cruzadas.

Os prismas de Abbe consistem de dois prismas semelhantes de vidro de alto índice de refração, montados em uma cavidade rodeada por uma camisa de água, de modo que se possa manter o controle da temperatura ao redor dos prismas.

A superfície exposta do prisma superior é polida enquanto que a do prisma inferior é áspera, resultando no que se chama de superfície rugosa. Esta superfície serve para dirigir a luz que chega ao prisma para todas as direções possíveis. No espaço entre os 2 prismas (0,1 mm espessura) é colocado o líquido cujo índice de refração se deseja determinar.

Os prismas de compensação são prismas de Amici, de visão direta, que giram em direções opostas ao redor do eixo óptico do Telescópio. Estes prismas tornam possível a utilização do instrumento com luz branca.

Embora a luz branca seja usada, o índice de refração medido, n_D^t , é para a linha D do sódio, 5893 Å, porque os prismas de compensação de Amici são construídos com vidros especiais tal que a luz deste comprimento de onda não é desviada mas qualquer outra luz é desviada.

Um anel saliente no meio da barra do telescópio é girado até a compensação ser completa e as franjas de cor desaparecem, levando a uma fina linha de demarcação entre as 2 partes do campo.

PRODUÇÃO DA LINHA EXTREMA DE REFLEXÃO TOTAL.

A superfície do prisma inferior é rugosa e produz uma dispersão da luz quando sai do prisma inferior para o espaço entre os prismas. A direção da luz difundida varia desde paralela à superfície do prisma (Fig. 2 - raios a) até perpendicular. Os raios paralelos são chamados raios limite e têm incidência rasante. Os raios limite formam todos os ângulos possíveis dentro de 360° em relação com qualquer linha de referência na superfície do prisma (Fig.2 - raios a, a', a'', etc.)

Os raios a e b na figura 2 passam pelo líquido, pelo prisma superior e são focados no plano das linhas cruzadas pela objetiva (Fig.3). Estamos limitando a discussão a 2 dimensões, porém deve-se ter sempre presente que se trata de um problema em 3 dimensões e que os raios a, a', a'', etc., experimentam em seus planos as mesmas refrações que as que consideramos no plano do papel.

REFRAÇÃO MOLAR

A refração molar de uma substância é aproximadamente a soma das refrações dos grupos eletrônicos dentro da substância. A refração molar de NaCl, por exemplo, é a soma das refrações dos íons Na^+ e Cl^- . Para obter a refração dos íons individuais, a partir dos seus sais, é necessário conhecer pelo menos o valor da refração para um dos íons. A refração do íon fluoreto foi calculada exatamente, a partir da Mecânica Quântica e, usando-se este valor, podemos calcular as refrações dos íons Li^+ , Na^+ , etc, a partir da refração dos fluoretos correspondentes.

O mesmo argumento pode ser aplicado a grupos eletrônicos em moléculas covalentes. A refração do metano é atribuída à refração de quatro grupos eletrônicos de ligação, entre os átomos de carbono e hidrogênio.

A contribuição das duplas e triplas ligações à refração é encontrada a partir das refrações de eteno e etileno. Os pares eletrônicos das ligações π estão mais fracamente ligados que os da ligação simples. Grupos incluindo oxigênio, mostram que a refração depende do modo de ligação do oxigênio. A refração, que inclui dois pares de elétrons do oxigênio, bem como os pares de elétrons de ligação, é diferente para cetonas, éteres e álcoois.

Para compostos simples, a soma das refrações dos grupos é a refração molar do composto com razoável exatidão. Aparecem algumas dificuldades em compostos com duplas ligações conjugadas que possuem refração maior que a esperada.

R é independente da temperatura ou estado físico e fornece uma medida aproximada do volume total (sem espaços livres) de um mol de moléculas.

Algumas contribuições atômicas e de ligações, determinadas para a raia D do sódio são dadas na tabela abaixo. A refração molar depende do número e natureza dos átomos presentes, e também das características das ligações. Estes valores podem ser usados para comparar a refração molar calculada com a observada, e assim confirmar a estrutura das moléculas.

Tabela 3. Contribuições para a refração molar

Átomo / ligação	Refração molar	Átomo / ligação	Refração molar
Carbono	2,418	Oxigênio (em grupo OH, O–)	1,525
Hidrogênio	1,100	Oxigênio (em grupo CO, O=)	2,211
Cloro	5,967	Oxigênio (em éter, O–)	1,643
Bromo	8,865	Anéis de 3 membros	0,71
Iodo	13,900	Anéis de 4 membros	0,48
Dupla ligação	1,733		
Tripla ligação	2,398		

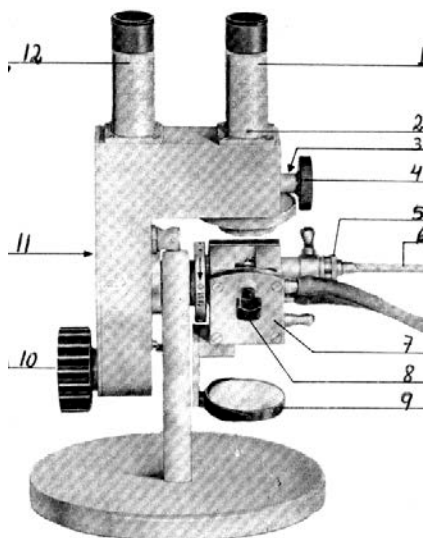


Fig. 1- Refratômetro de Abbe

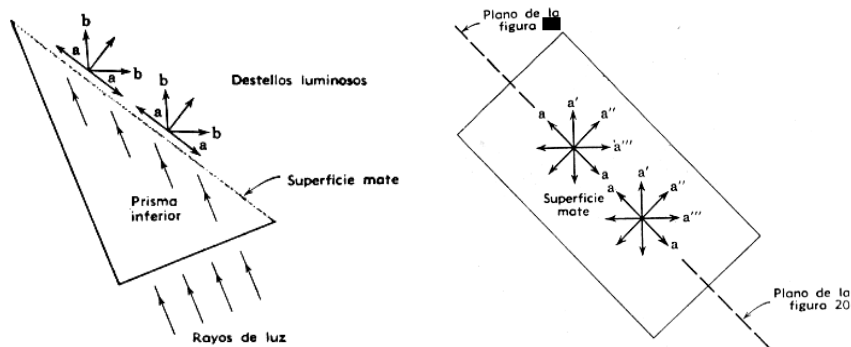


Fig. 2- Seção transversal e vista por cima do prisma inferior

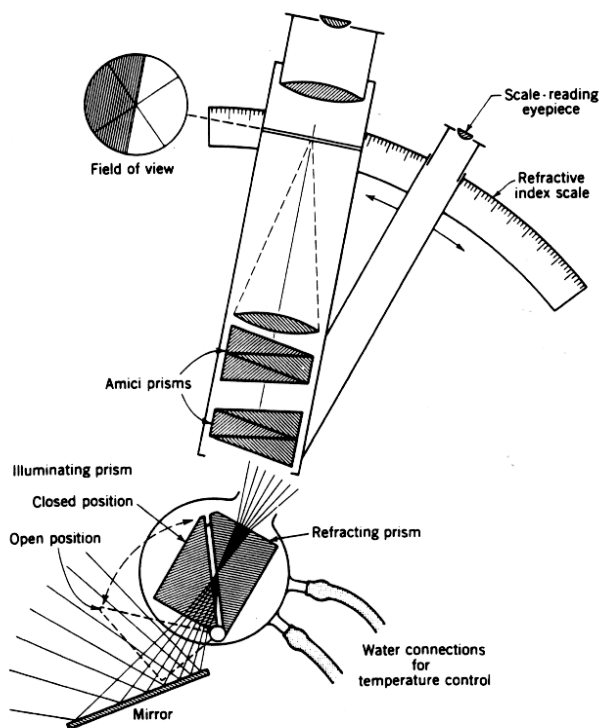


Fig. 3- Caminho da luz através do Refratômetro de Abbe

REFRATOMETRIA -II

1) OBJETIVOS:

- Determinação do conteúdo de substância seca em soluções de sacarose, glicose e refrigerante, com o uso do refratômetro de Abbe.
- Determinação da composição de uma solução hidro-alcoólica, pela determinação do índice de refração, usando uma reta de calibração, traçada com soluções de concentrações conhecidas e a correspondente refração específica.

2) RESUMO DA TEORIA:

a) Determinação de substância seca:

A determinação do conteúdo em substância seca se efetua com o refratômetro de Abbe com preferência em sucos de frutas e verduras, conservas de tomate, limonadas efervescentes (gasosas) e em outros produtos alimentícios. A escala de substância seca está dividida segundo a escala de açúcar internacional de 1966. Esta indica o conteúdo em substância seca, ou seja no componente desprovido de água de um produto, com exatidão apenas para soluções de açúcar puras.

Na maioria dos casos, a substância seca contém, além do componente principal, o açúcar, outras substâncias solúveis em água que, de forma análoga ao açúcar, surtem efeito sobre o índice de refração, assim como outros componentes não solúveis.

Amostras que não são soluções, mas misturas podem precisar de preparações especiais, tais como remoção de sólidos suspensos. Fibras, polpa e outros tipos de inclusões devem ser separados por filtração. Este processo preparatório irá, na maioria dos casos, aumentar a definição da linha claro-escuro, sem afetar o grau de concentração ou índice de refração da amostra.

O refratômetro indica todo o extrato solúvel em água (açúcar e outras substâncias dissolvidas) como substância seca. A escala de substância seca vale para medidas a 20 °C. Para outras temperaturas entre 10 °C e 30 °C, deve-se corrigir o número de porcentagem lido segundo a tabela de correção (Tabela 2).

A refração específica e a refração molar são independentes da temperatura e inclusive do estado de agregação. São de grande importância para as determinações de concentração de misturas de líquidos, visto que se alteram linearmente com a concentração, o qual não é válido para o índice de refração nem a densidade

Equação de Lorentz-Lorenz: Refração específica:
$$r = \left(\frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \right) \times \frac{1}{d} \text{ (cm}^3\text{/g)}$$

Refração molar: $R = r.M \text{ (cm}^3\text{)}$

n = índice de refração da substância usando a raia D do sódio

d = densidade da substância à mesma temperatura

M = peso molecular da substância

b) Definições:

- **°Gay Lussac (°GL= %V_{150C}):** quantidade em mililitros de álcool absoluto contida em 100 mililitros de mistura hidro-alcoólica.
- **°INPM (%P= porcentagem de álcool em peso ou grau alcoólico INPM):** quantidade em gramas de álcool absoluto contida em 100 gramas de mistura hidro-alcoólica

c) Abaixamento do grau alcoólico:

Para levar um álcool de concentração conhecida a uma concentração mais baixa, diluindo-o com água destilada, levar-se-á em conta que os peso dos álcoois manipulados estarão entre si como o inverso de seus títulos ponderais, utilizando-se a equação:

$$x = P \frac{b}{a}$$

x = peso que se deve tomar do álcool a diluir (concentrado)

P = peso que se deseja obter do álcool diluído

a = é o título ponderal (°INPM) do álcool a diluir

b = é o título ponderal (°INPM) do álcool diluído que se deseja obter.

Obtém-se a proporção de água destilada pela diferença ($P-x$).

OBS.: % açúcar (substância seca)= g/100g. Margem de medição: 0 a 85%

3) **MATERIAL NECESSÁRIO:** refratômetro de Abbe, sacarose, etanol 95%, glicose, refrigerante, balança, lenço de papel e vidraria.

4) APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS:

Tabela 1. Resultados de % de substância seca e índices de refração obtidos experimentalmente.

GRUPO	REFRATÔMETRO ABBE I				REFRATÔMETRO ABBE II					
	AMOSTRA	T°C	% em PESO		AMOSTRA °INPM	T°C	n_D^t	$n_D^{20^\circ C}$	Densidade 20°C	Refração Específica
			Escala	Corrigido						
1	Sacarose 10%				Etanol 10%					
	Sacarose 20%				Etanol 20%					
	Sacarose 30%				Etanol 30%					
	Sacarose 40%				Etanol 40%					
2	Glicose 10%				Etanol 50%					
	Glicose 20%				Etanol 60%					
	Glicose 30%				Etanol 70%					
	Glicose 40%				Etanol 80%					
3	Amostra X				Etanol 90%					
	Amostra Y				Etanol 95%					
	Refrigerante				Amostra R					
	Refrig. diet				Amostra S					

- Determine o teor de substância seca nas soluções contendo concentrações conhecidas de sacarose e glicose, nas amostras e nos refrigerantes, usando a escala adequada do refratômetro. Faça as correções de temperatura de acordo com a tabela 2 e analise a eficiência do método.
- Trace a curva relacionando o índice de refração determinado com o °INPM das soluções de etanol. Compare com os valores de Handbook.
- Trace a reta relacionando a **refração específica**, calculada usando valores de densidade (20°C) do Handbook (Tabela 3) e o índice de refração corrigido para 20°C (use o fator de correção de $4,1 \times 10^{-4}$), **com a concentração das soluções de etanol (°INPM)** e, por meio dela, determine a concentração das amostras R e S.

Tabela 2. Correção da % de substância seca em função da temperatura.

Tabla internacional para corregir la temperatura, referida a 20 °C

Tempe- ratura (°C)	Contenido de sustancia seca en %														
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
	Del por ciento en sustancia seca de descuento														
10	0,50	0,54	0,58	0,61	0,64	0,66	0,68	0,70	0,72	0,73	0,74	0,75	0,76	0,78	0,79
11	0,46	0,49	0,53	0,55	0,58	0,60	0,62	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,69	0,70	0,71
12	0,42	0,45	0,48	0,50	0,52	0,54	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,61	0,61	0,63	0,63
13	0,37	0,40	0,42	0,44	0,46	0,48	0,49	0,50	0,51	0,52	0,53	0,54	0,54	0,55	0,55
14	0,33	0,35	0,37	0,39	0,40	0,41	0,42	0,43	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46	0,47	0,48
15	0,27	0,29	0,31	0,33	0,34	0,34	0,35	0,36	0,37	0,37	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40
16	0,22	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,29	0,30	0,30	0,30	0,31	0,31	0,32	0,32
17	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24
18	0,12	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16
19	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
	Al por ciento en sustancia seca se anade														
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70
	Del por ciento en sustancia seca de descuento														
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,13	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16
23	0,19	0,20	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
24	0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32
25	0,33	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
26	0,40	0,42	0,43	0,44	0,45	0,46	0,47	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48
27	0,48	0,50	0,52	0,53	0,54	0,55	0,55	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56
28	0,56	0,57	0,60	0,61	0,62	0,63	0,63	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64	0,64
29	0,64	0,66	0,68	0,69	0,71	0,72	0,72	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73
30	0,72	0,74	0,77	0,78	0,79	0,80	0,80	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81	0,81

Ejemplo: Con 25 °C se lee 52 % de sustancia seca
Corrección 0,40 %
Contenido porcentual corregido 52,40 % de sustancia seca

Tabela 3. Dados de densidade e índice de refração a 20°C para soluções hidro-alcoólicas.

16 ETHANOL, CH₃CH₂OH

MOLECULAR WEIGHT = 46.07

RELATIVE SPECIFIC REFRACTIVITY = 1.363

0.00 % by wt. data are the same for all compounds.

For Values of 0.00 wt. % solutions see Table 1, Acetic Acid.

A°, by wt.	ρ D ₄ ²⁰	D ₂₀ ²⁰	C _p g/l	M g-mol/l	C _w g/l	(C _p - C _w) g/l	(n - n _s) x 10 ⁴	n	Δ °C	O Os/kg	S g-mol/l	η/η_s	η/ρ cS	ϕ rhe	γ mmho/cm	T g-mol/l
0.50	0.9973	0.9991	5.0	0.108	992.3	5.9	3	1.3333	0.20	0.11	0.057	1.021	1.026	97.71		
1.00	0.9963	0.9981	10.0	0.216	986.4	11.8	6	1.3336	0.40	0.22	0.116	1.044	1.050	95.59		
1.50	0.9954	0.9972	14.9	0.324	980.5	17.8	9	1.3339	0.60	0.32	0.175	1.068	1.075	93.42		
2.00	0.9945	0.9962	19.9	0.432	974.6	23.6	12	1.3342	0.81	0.44	0.236	1.093	1.101	91.31		
2.50	0.9936	0.9953	24.8	0.539	968.7	29.5	15	1.3345	1.02	0.55	0.297	1.116	1.126	89.42		
3.00	0.9927	0.9945	29.8	0.646	962.9	35.3	18	1.3348	1.23	0.66	0.359	1.138	1.149	87.70		
3.50	0.9918	0.9936	34.7	0.754	957.1	41.1	21	1.3351	1.44	0.77	0.421	1.159	1.171	86.08		
4.00	0.9910	0.9927	39.6	0.860	951.4	46.9	24	1.3354	1.65	0.89	0.484	1.181	1.194	84.52		
4.50	0.9902	0.9919	44.6	0.967	945.6	52.6	27	1.3357	1.87	1.01	0.547	1.203	1.217	82.98		
5.00	0.9893	0.9911	49.5	1.074	939.9	58.4	31	1.3360	2.09	1.12	0.611	1.226	1.242	81.40		
5.50	0.9885	0.9903	54.4	1.180	934.2	64.1	34	1.3364	2.31	1.24	0.675	1.250	1.267	79.81		
6.00	0.9878	0.9895	59.3	1.286	928.5	69.7	37	1.3367	2.54	1.36	0.739	1.276	1.294	78.24		
6.50	0.9870	0.9887	64.2	1.393	922.8	75.4	41	1.3370	2.76	1.49	0.804	1.301	1.321	76.69		
7.00	0.9862	0.9880	69.0	1.498	917.2	81.0	44	1.3374	2.99	1.61	0.870	1.328	1.349	75.16		
7.50	0.9855	0.9872	73.9	1.604	911.6	86.7	48	1.3377	3.23	1.74	0.936	1.355	1.378	73.66		
8.00	0.9847	0.9865	78.8	1.710	906.0	92.3	51	1.3381	3.47	1.86	1.003	1.382	1.407	72.19		
8.50	0.9840	0.9857	83.6	1.816	900.4	97.9	55	1.3384	3.71	2.00	1.071	1.411	1.436	70.75		
9.00	0.9833	0.9850	88.5	1.921	894.8	103.4	58	1.3388	3.96	2.13	1.140	1.439	1.467	69.34		
9.50	0.9826	0.9843	93.3	2.026	889.2	109.0	62	1.3392	4.21	2.27	1.210	1.468	1.497	67.97		
10.00	0.9819	0.9836	98.2	2.131	883.7	114.5	65	1.3395	4.47	2.40	1.282	1.498	1.529	66.62		
11.00	0.9805	0.9822	107.9	2.341	872.6	125.6	73	1.3403	5.00	2.69	1.426	1.560	1.594	63.99		
12.00	0.9792	0.9809	117.5	2.550	861.7	136.6	80	1.3410	5.56	2.99	1.572	1.624	1.662	61.44		
13.00	0.9778	0.9796	127.1	2.759	850.7	147.5	87	1.3417	6.13	3.30	1.722	1.691	1.732	59.03		
14.00	0.9765	0.9782	136.7	2.967	839.8	158.4	95	1.3425	6.73	3.62	1.874	1.757	1.803	56.80		
15.00	0.9752	0.9769	146.3	3.175	828.9	169.3	102	1.3432	7.36	3.96	2.030	1.822	1.872	54.78		
16.00	0.9739	0.9756	155.8	3.382	818.1	180.2	110	1.3440	8.01	4.31	2.189	1.886	1.941	52.91		
17.00	0.9726	0.9743	165.3	3.589	807.3	191.0	117	1.3447	8.69	4.67	2.351	1.951	2.010	51.16		
18.00	0.9713	0.9730	174.8	3.795	796.5	201.8	125	1.3455	9.40	5.05	2.516	2.015	2.078	49.54		
19.00	0.9700	0.9717	184.3	4.000	785.7	212.5	132	1.3462	10.14	5.45	2.683	2.077	2.146	48.04		
20.00	0.9687	0.9704	193.7	4.205	774.9	223.3	140	1.3469	10.92	5.87	2.853	2.138	2.212	46.68		
22.00	0.9660	0.9677	212.5	4.613	753.5	244.8	154	1.3484	12.60	6.78	3.203	2.254	2.338	44.27		
24.00	0.9632	0.9649	231.2	5.018	732.0	266.2	168	1.3498	14.47	7.78	3.568	2.365	2.460	42.20		
26.00	0.9602	0.9619	249.7	5.419	710.6	287.7	181	1.3511	16.41	8.82	3.920	2.471	2.579	40.39		
28.00	0.9571	0.9588	268.0	5.817	689.1	309.1	194	1.3524	18.43	9.91	4.262	2.576	2.696	38.75		
30.00	0.9539	0.9556	286.2	6.211	667.7	330.5	205	1.3535	20.47	11.01	4.583	2.662	2.796	37.49		
32.00	0.9504	0.9521	304.1	6.601	646.3	352.0	216	1.3546	22.44	12.07		2.721	2.869	36.68		
34.00	0.9468	0.9485	321.9	6.988	624.9	373.3	227	1.3557	24.27	13.05		2.762	2.923	36.13		
36.00	0.9431	0.9447	339.5	7.369	603.6	394.7	236	1.3566	25.98	13.97		2.797	2.971	35.69		
38.00	0.9392	0.9408	356.9	7.747	582.3	415.9	245	1.3575	27.62	14.85		2.823	3.012	35.35		
40.00	0.9352	0.9369	374.1	8.120	561.1	437.1	253	1.3583	29.26	15.73		2.840	3.043	35.14		
42.00	0.9311	0.9328	391.1	8.488	540.0	458.2	260	1.3590	30.98	16.66		2.846	3.063	35.06		
44.00	0.9269	0.9286	407.8	8.853	519.1	479.2	268	1.3598	32.68	17.57		2.844	3.074	35.09		
46.00	0.9227	0.9243	424.4	9.213	498.2	500.0	274	1.3604	34.36	18.47		2.837	3.081	35.18		
48.00	0.9183	0.9199	440.8	9.568	477.5	520.7	280	1.3610	36.04	19.38		2.826	3.083	35.32		
50.00	0.9139	0.9155	457.0	9.919	457.0	541.3	286	1.3616	37.67	20.25		2.807	3.078	35.55		
52.00	0.9095	0.9111	472.9	10.265	436.5	561.7	291	1.3621	39.20	21.08		2.783	3.066	35.87		
54.00	0.9049	0.9065	488.7	10.607	416.3	582.0	296	1.3626	40.65	21.85		2.749	3.044	36.31		
56.00	0.9004	0.9020	504.2	10.944	396.2	602.1	300	1.3630	42.06	22.61		2.696	3.000	37.02		
58.00	0.8958	0.8974	519.5	11.277	376.2	622.0	304	1.3634	43.49	23.38		2.627	2.938	38.00		
60.00	0.8911	0.8927	534.7	11.606	356.5	641.8	308	1.3638	44.93	24.15		2.542	2.858	39.26		
62.00	0.8865	0.8880	549.6	11.930	336.9	661.4	311	1.3641	46.28	24.88		2.474	2.796	40.34		
64.00	0.8818	0.8833	564.3	12.250	317.4	680.8	315	1.3644	47.52	25.55		2.410	2.739	41.41		
66.00	0.8771	0.8786	578.9	12.565	298.2	700.0	317	1.3647	48.64	26.15		2.342	2.676	42.61		
68.00	0.8724	0.8739	593.2	12.876	279.2	719.1	320	1.3650	49.52	26.62		2.276	2.614	43.85		
70.00	0.8676	0.8692	607.3	13.183	260.3	737.9	322	1.3652				2.210	2.552	45.17		
72.00	0.8629	0.8644	621.3	13.486	241.6	756.6	324	1.3654				2.144	2.490	46.55		
74.00	0.8581	0.8596	635.0	13.784	223.1	775.1	325	1.3655				2.078	2.426	48.03		
76.00	0.8533	0.8549	648.5	14.077	204.8	793.4	327	1.3657				2.011	2.361	49.63		
78.00	0.8485	0.8500	661.8	14.366	186.7	811.6	327	1.3657				1.944	2.296	51.33		
80.00	0.8436	0.8451	674.9	14.650	168.7	829.5	328	1.3658				1.877	2.229	53.15		
82.00	0.8387	0.8401	687.7	14.927	151.0	847.3	328	1.3657				1.804	2.155	55.31		
84.00	0.8335	0.8350	700.2	15.198	133.4	864.9	326	1.3656				1.738	2.089	57.42		
86.00	0.8284	0.8299	712.4	15.464	116.0	882.3	325	1.3655				1.671	2.021	59.74		
88.00	0.8232	0.8247	724.4	15.725	98.8	899.4	323	1.3653				1.603	1.951	62.26		
90.00	0.8180	0.8194	736.2	15.979	81.8	916.4	320	1.3650				1.539	1.885	64.85		
92.00	0.8125	0.8140	747.5	16.226	65.0	933.2	316	1.3646				1.472	1.815	67.80		
94.00	0.8070	0.8084	758.6	16.466	48.4	949.8	312	1.3642				1.404	1.743	71.07		
96.00	0.8013	0.8027	769.2	16.697	32.1	966.2	306	1.3636				1.339	1.674	74.53		
98.00	0.7954	0.7968	779.5	16.920	15.9	982.3	300	1.3630				1.270	1.600	78.59		
100.00	0.7893	0.7907	789.3	17.133	0.0	998.2	284	1.3614				1.201	1.525	83.10		

POLARIMETRIA

1. OBJETIVOS:

Demonstrar que a atividade óptica é função da constituição química da substância e de sua concentração. Determinar o **ângulo de rotação** e calcular a **rotação específica** de soluções de sacarose, glicose e frutose de diferentes concentrações.

2. RESUMO DA TEORIA:

Segundo a teoria ondulatória, a luz se propaga por um movimento ondulatório caracterizado por um *comprimento de onda* e por um *plano de vibração*.

Na luz natural as *vibrações* correspondentes a cada ponto de um raio luminoso se fazem, ao acaso em todas as direções possíveis, desde que perpendiculares ao raio. Na luz polarizada as *vibrações* correspondentes a todos os pontos de um raio luminoso se fazem em uma única direção perpendicular ao raio. Se pudéssemos ver as *vibrações luminosas*, um raio de luz polarizada, visto de frente, teria o aspecto mostrado na figura 1. Se o raio fosse de luz natural, o aspecto seria o mostrado na figura 2.



Fig. 1: luz polarizada



Fig. 2: luz natural

A luz natural pode ser transformada em luz polarizada por qualquer um dos seguintes modos:

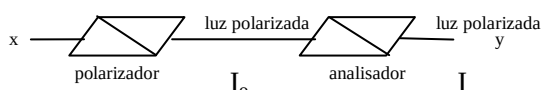
- Por reflexão
- Por refração
- Por dupla refração

As substâncias amorfas (vidro, plástico, etc.) e as cristalinas no sistema cúbico (cloreto de sódio, diamante, etc.) são **isótropas**. As demais são **anisótropas**. Quando a substância é isótropa um raio luminoso incidente dará origem a um único raio refratado. Quando a substância é anisótropa obtém-se, em geral, dois raios refratados. Um deles obedece às leis de Snell-Descartes e se chama **raio ordinário**; o outro não obedece a estas leis e se chama **raio extraordinário**. O fenômeno é denominado **dupla refração ou birrefringência**. Tanto o raio ordinário quanto o extraordinário se encontram polarizados.

Um dos métodos de produzir luz polarizada é mediante o prisma de Nicol. Este prisma é obtido cortando-se um cristal de calcita (espato da Islândia – forma cristalina romboédrica muito pura de carbonato de cálcio) por um plano de inclinação conveniente e colando as duas partes com bálsamo do Canadá. Quando um raio incide sobre o prisma de Nicol, formam-se dois raios polarizados: o **ordinário** (obedece às leis de Descartes) e o **extraordinário**. Os dois raios refratados encontram o bálsamo segundo ângulos tais que o raio ordinário sofre reflexão total e o raio extraordinário consegue atravessá-lo. Após a reflexão total o raio ordinário é absorvido pelas paredes laterais do Nicol, convenientemente enegrecidas. As vibrações dos dois raios polarizados são perpendiculares entre si: o raio ordinário vibra perpendicularmente ao plano da seção principal, o raio extraordinário vibra paralelamente ao plano da seção principal.



Consideremos dois prismas de Nicol dispostos com indica a figura abaixo.



Prismas paralelos

Girando o analisador em torno de xy verificamos que a intensidade do raio emergente varia de acordo com a equação:

$$I = I_0 \cdot \cos^2 \theta \quad (\text{Lei de Malus})$$

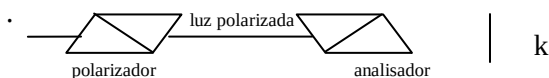
I : intensidade da luz transmitida pelo analisador.

I_0 : intensidade da luz que incide no analisador.

θ : ângulo máximo de que se girou o analisador, em relação à posição de máxima transmissão.

$I = I_0$ para $\theta = 0^\circ$ e $\theta = 180^\circ \Rightarrow$ prismas paralelos

$I = 0$ para $\theta = 90^\circ$ e $\theta = 270^\circ \Rightarrow$ prismas cruzados



Prismas cruzados

Considere dois nicóis cruzados e uma fonte de luz monocromática. Nestas condições o anteparo **k** não recebe luz. Entretanto, colocando certas substâncias opticamente ativas entre o polarizador e o analisador, o anteparo se ilumina. Restabelece-se a obscuridade girando-se o analisador de um ângulo conveniente.

Individualmente todas as moléculas possuem a capacidade de desviar o plano de polarização da luz. Na maior parte dos casos, as moléculas estão orientadas completamente ao acaso, de modo que não é possível observar nenhum efeito global apesar de que estão girados os planos de todas as ondas luminosas. No entanto, algumas moléculas, orgânicas e inorgânicas, têm estrutura de tal natureza, que é impossível uma orientação completamente ao acaso. As moléculas deste tipo mais conhecidas na química orgânica são as que possuem um ou mais átomos de carbono assimétrico. Um exemplo é o ácido láctico. Usando modelos moleculares pode-se provar que é impossível colocarmos um junto ao outro, de modo que a orientação do segundo seja justamente a oposta do primeiro.

Se através de um sistema de moléculas deste tipo passa luz polarizada, o plano de polarização experimentará uma rotação global, no sentido dos ponteiros do relógio (**dextrógira**, +) ou no sentido contrário (**levógira**, -).

A **direção do giro** do plano da luz polarizada depende da **natureza da substância** opticamente ativa.

A **magnitude da rotação** depende:

- da **natureza da substância** opticamente ativa
- do **comprimento de onda** da luz polarizada
- da **temperatura**
- do **tamanho da coluna** através da qual passa a luz
- da **concentração da substância** opticamente ativa na coluna
- da **natureza do solvente** (em alguns casos).

A determinação do poder rotatório serve para determinar tanto a **identidade** como a **pureza** da substância. Às vezes a atividade óptica serve para dar indicação do valor terapêutico de uma substância. Exemplos: quinina, hiosciamina, epinefrina, isoprenalina, cloranfenicol e ácido ascórbico **levógiros** são mais ativos que os correspondentes **dextrógiros**.

Rotação óptica: é o ângulo através do qual o plano de polarização é girado quando a luz polarizada passa através de uma camada de líquido.

Rotação específica: a rotação específica de uma substância líquida é o ângulo de rotação medido conforme especificado, calculado com referência a uma camada de 1dm de espessura e dividido pela densidade a 20°C. A rotação específica de uma **substância sólida** é o ângulo medido conforme especificado, e calculado com referência a uma camada de 1 dm de espessura de uma solução contendo 1 g da substância por 100 g de solução.

A atividade óptica de uma substância em solução é expressa geralmente como **Rotação Específica**, $([\alpha]_{\lambda}^t)$, a qual é definida como:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \alpha \cdot 100 / l \cdot c \quad \text{ou} \quad [\alpha]_{\lambda}^t = \alpha \cdot 100 / l \cdot d \cdot p$$

α : ângulo de rotação observado

l : comprimento da coluna em decímetro

c : concentração da substância em g/100 mL de solução

d : densidade da solução

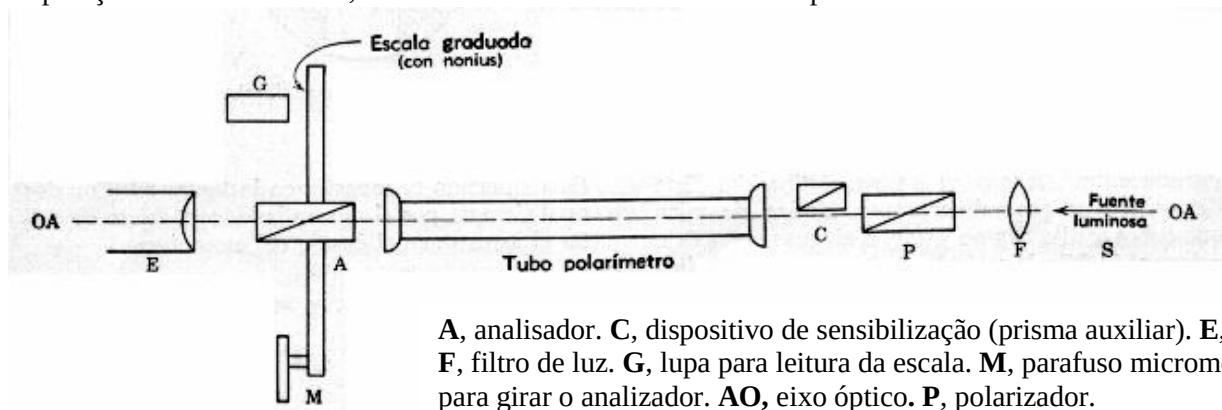
p : é o número de gramas da substância contida em 100 g da solução

O superíndice **t** indica a temperatura e o subíndice λ o comprimento de onda da luz utilizada.

POLARÍMETRO DE LAURENT

A fonte de luz é geralmente uma lâmpada de vapor de sódio. Depois de passar através de um filtro, a luz entra no **polarizador**, este é um prisma de Nicol. No outro extremo do instrumento há outro prisma de Nicol, que se chama **analisador**. Se o analisador e o polarizador estão orientados exatamente da mesma maneira em relação ao eixo óptico do instrumento, toda a luz que atravessa o polarizador atravessará também o analisador. Se, ao contrário, o analisador está orientado perpendicularmente ao polarizador, a luz não o

atravessará, e se observará obscuridade completa ao observar a ocular. Se o tubo contendo a substância opticamente ativa é colocado entre o polarizador e o analisador, terá lugar o giro do plano da luz. Na prática, a operação não é tão sensível, devido à dificuldade em determinar o ponto de luminosidade mínima.



A, analisador. C, dispositivo de sensibilização (prisma auxiliar). E, ocular. F, filtro de luz. G, lupa para leitura da escala. M, parafuso micrométrico para girar o analisador. AO, eixo óptico. P, polarizador.

3. FUNDAMENTOS:

- Leis de Biot
- Polarização da luz por dupla refração
- Polarização rotatória: substâncias opticamente ativas

4. MATERIAIS:

Água destilada, sacarose, glicose, frutose, Polarímetro de Laurent, 9 balões volumétricos de 100 mL, soluções de sacarose, glicose e frutose, a 5%, 10% e 15% (m/v).

5. MÉTODO:

- Calibrar o aparelho com **água destilada**, determinar o $\alpha_{padrão}$. Coloque água destilada no tubo, coloque-o dentro do polarímetro, e faça a leitura do ponto zero. A leitura deve ser realizada quando as duas metades do campo estiverem igualmente escuras. Realizar pelo menos 3 leituras. A leitura assim obtida deve ser subtraída das leituras obtidas com as diferentes amostras.
- Determinar o grau de rotação das **amostras**, α_{teste} . Devem ser realizadas 3 leituras do ângulo de rotação para cada amostra.

6. TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS

- A partir do ângulo de rotação médio, determinado para cada amostra, calcular a rotação específica:

$$[\alpha]_d^t = \frac{100(\alpha_{teste} - \alpha_{padrão})}{l \cdot c}$$

- Compare os valores de rotação específica obtidos a partir dos dados experimentais, para cada substância e cada concentração, com os valores calculados através das equações abaixo (equações apresentadas no Handbook). Considere c a concentração em g/100 mL.
 - ✓ Sacarose: $66,412 + 0,01267 c - 0,000376 c^2$ (**20°C**)
 - ✓ Glicose: $52,5 + 0,025 c$ (**20°C**)
 - ✓ Frutose: $-88,5 - 0,145 c$ (**25°C**)
- Calcule a rotação específica da sacarose para a temperatura do experimento e compare com o valor a 20°C e com o valor experimentalmente obtido. A equação para a rotação específica da sacarose, em função da temperatura, quando se utiliza a luz de sódio (raia D) é:

$$[\alpha]_D^t = [\alpha]_D^{20} [1 - 0,00037 (t - 20)] \quad \text{para } t = 14 \text{ a } 30^\circ\text{C}$$

ESPECTROSCOPIA

1. OBJETIVOS:

Determinar o comprimento de onda de radiações constituintes do espectro de emissão de diferentes substâncias através do espectroscópio de Kirchhoff-Bunsen.

2. RESUMO DA TEORIA:

a) *Espectroscopia*:

A espectroscopia é o estudo da interação da radiação eletromagnética com a matéria. Dos espectros atômicos e moleculares pode-se obter informações detalhadas sobre a estrutura das moléculas (simetria molecular, distâncias de ligação e ângulos de ligação) e sobre suas propriedades químicas (distribuição eletrônica, força de ligação).

As moléculas de um dado composto existem apenas em certos estados de energia. As energias são "quantizadas". Para um fóton ser absorvido por uma molécula a energia do fóton deve corresponder precisamente à diferença entre dois estados energéticos característicos da molécula. A energia do fóton não pode ser dividida neste processo, ou é absorvida em sua totalidade ou não afeta a molécula.

b) O espectro eletromagnético:

O espectro eletromagnético consiste de uma gama de radiações cujos comprimentos de onda no espaço livre vão do mais curto, de aproximadamente 10^{-14}m , ao mais longo, de aproximadamente 10^7m . Esses limites não são absolutos uma vez que trabalhos futuros poderão estendê-los nos dois sentidos. Estas radiações são caracterizadas pela velocidade comum "c", no espaço livre. As diferentes porções deste espectro são dados nomes diferentes (raios γ , raios X, ultravioleta, visível, infravermelho, ondas curtas, ondas longas) que indicam usualmente seu modo de produção.

As radiações de pequenos comprimentos de onda são mais energéticas. A energia cinética associada com um fóton de radiação eletromagnética é definida pela equação:

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

onde:

E = energia do fóton (erg ou J, $1\text{J} = 10^7\text{erg}$)

h = constante de Max Planck ($6,6262 \cdot 10^{-34}\text{J.s}$ ou $6,6262 \cdot 10^{-27}\text{erg.s}$)

ν = frequência da radiação (s^{-1} ou Hz)

c = velocidade da luz ($2,998 \cdot 10^8\text{ m/s}$)

λ = comprimento de onda (m, μm , nm ou Å)

OBS. $\mu\text{m} = 10^{-6}\text{m}$; nm = 10^{-9}m ; Å = 10^{-10}m

Para qualquer ramo da espectroscopia, a posição das linhas espectrais pode ser medida em termos de frequência, comprimento de onda ou número de onda. O **número de onda** ($\bar{\nu}$) é definido como:

$$\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda} = \frac{\nu}{c} \quad (\text{cm}^{-1})$$

c) Estados energéticos das moléculas:

Os níveis de energia responsáveis pelos espectros atômicos representam os diferentes estados de energia permitidos para os elétrons orbitais. Da mesma maneira, numa molécula, a absorção ou emissão de energia pode ocorrer em transições entre níveis de energia diferentes dos elétrons, contudo, além disso, uma molécula pode mudar seu nível de energia de duas outras maneiras, que não ocorrem em átomos: através de variações na energia vibracional da molécula e através de variações na energia rotacional da molécula. Estas energias internas, da mesma forma que a energia eletrônica, são quantizadas, de modo que a molécula só pode existir em certos níveis discretos de energia vibracional e rotacional.

A energia de uma molécula pode ser expressa como a soma das contribuições eletrônicas, vibracionais e rotacionais.

$$E = E_{\text{elet}} + E_{\text{vib}} + E_{\text{rot}}$$

As diferenças de energia entre estados rotacionais são muito pequenas, muito menores que entre estados eletrônicos. Transições vibracionais são intermediárias entre os dois.

3. MATERIAL NECESSÁRIO:

Espectroscópio de Kirchhoff-Bunsen, bico de Bunsen, lâmpada com filamento de tungstênio, suporte para a lâmpada, garra, cabos de Koli, alças de níquel-cromo, solução de HCl 50% (lavar as alças), lâmpada de hélio e soluções saturadas das amostras.

4. MÉTODO:

- Aferir o aparelho: queimar a solução de NaCl e ajustar o prisma de forma que a raia amarela emitida pelo sódio se sobreponha à graduação 5,9 (5.900 Å) da escala micrométrica.
- Traçar uma curva de calibração da escala do aparelho, utilizando os valores obtidos para as raiais do gás hélio em função dos valores tabelados para as mesmas.
- Queimar a substância da qual se deseja conhecer os comprimentos de onda emitidos na faixa do visível.

5. FUNDAMENTOS:

- Do aparelho: reflexão e refração e suas leis.
- Da experiência: teoria de Niels Bohr.

6. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS:

- Determinar o comprimento de onda da radiação emitida pelas substâncias analisadas utilizando a curva de calibração traçada com as radiações emitidas pelo gás hélio.
- Apresentar o valor do **comprimento de onda** da raia do sódio e das outras substâncias analisadas em **m**, **μm**, **nm** e **Å**, e calcular sua **energia (erg e J)**, **frequência** e **número de onda**.
- Fazer esquema do aparelho, explicar seu funcionamento e mostrar onde ocorre a reflexão e refração.

TENSÃO SUPERFICIAL (γ) E TENSOATIVOS

1. OBJETIVOS:

- Determinar a tensão superficial de substâncias pelo método da ascensão capilar.
- Estudar a variação da tensão superficial de um líquido em consequência da adição de outras substâncias ao mesmo.
- Verificar a influência da natureza do líquido na tensão superficial.

2. RESUMO DA TEORIA:

a) Tensão Superficial:

As moléculas da superfície de um líquido são submetidas a forças intermoleculares desiguais, resultando na tensão superficial. Esta tensão superficial é expressa como a energia livre de superfície por unidade de área e pode ser representada como uma força que age no plano da superfície do líquido, tornando esta superfície a menor possível.

$$\gamma = \frac{W}{A} = \frac{F \cdot x}{l \cdot x} = \frac{F}{l}$$

γ = tensão superficial

A = área

F = força

W = trabalho

l = comprimento

x = largura

Unidades: MKS: J/m² ou N/m

CGS: erg/cm² ou dyn/cm

1 J = 10⁷ erg 1 N = 10⁵ dyn

b) Fatores que influenciam a tensão superficial:

- Natureza da substância
- Temperatura
- Substâncias dissolvidas.

c) Capilaridade:

O fenômeno em que um líquido sobe até determinada altura dentro de um tubo capilar, quando este é colocado dentro do recipiente que o contém, chama-se "ação capilar". A altura alcançada depende da natureza do líquido, do tubo e do raio do capilar. A força que sustenta a coluna líquida é proporcional à tensão superficial do líquido, fato este que permite determiná-la experimentalmente a partir da seguinte equação:

$$\gamma = \frac{d \cdot g \cdot r \cdot h}{2 \cdot \cos \theta}$$

d = densidade do líquido (g/cm³)

h = altura da coluna líquida (cm)

g = aceleração da gravidade: 980 cm/s²

para $\theta = \text{zero}$, $\cos \theta = 1$

r = raio do capilar (cm)

dyn = g.cm/s²

d) Tensoativos:

Dá-se o nome de agentes tensoativos, agentes de superfície, anfifílicos, surfactantes ou simplesmente tensoativos, às substâncias que, colocadas em solução, são capazes de modificar as propriedades superficiais do solvente.

A atividade superficial destas substâncias é consequência de sua estrutura química. Todas elas possuem, em uma mesma molécula, grupos polares e grupos não polares, ou seja, uma parte hidrofílica e

outra hidrofóbica. A porção hidrofóbica é, geralmente, constituída por cadeias alifáticas ou, menos freqüentemente, por heterocíclicos ou sistemas de anéis aromáticos. A porção hidrofílica pode ser constituída por grupamentos funcionais, cuja estrutura condiciona a afinidade pela água (carboxilas, hidroxilas, grupamentos sulfúricos, etc.).

Os tensoativos tendem a migrar até a superfície da solução e originar ali películas orientadas. Quando a concentração aumenta, certas moléculas tendem a tomar a mesma orientação que na superfície, formando verdadeiros agregados coloidais, as **micelas**.

Os tensoativos são, geralmente, classificados de acordo com a natureza de seu grupamento hidrofílico e são divididos em 4 classes:

1- Aniônico: em água formam íons orgânicos graxos com carga negativa, aos quais se deve a tensoatividade, e íons positivos, que conferem solubilidade ao composto.

Ex: dodecil sulfato de sódio (SDS)

2- Catiônico: em solução aquosa formam íons orgânicos graxos carregados positivamente e íons negativos, geralmente inorgânicos e de caráter não metálico.

Ex: cloreto de lauril trimetil-amônio

3- Não iônicos: não se ionizam em água, sua solubilidade é condicionada à presença de grupos orgânicos que possuem forte afinidade pela água.

Ex: lauril trietilenoglicol, série span, série tween

4- Anfóliticos: são tensoativos que em solução aquosa se dissociam segundo as condições do meio. Quando o meio é alcalino, funcionam como **aniônico**, quando é ácido, funcionam como **catiônicos**, quando é neutro, agem como **não iônicos**. Esta versatilidade se deve à presença de grupos funcionais duplos que se dissociam de acordo com o pH.

Ex: lauril taurina

3. MATERIAL NECESSÁRIO:

Microscópio, ocular micrométrica, lâmina micrômetro objetiva, suporte de cortiça, lâmina de vidro, régua, capilares, vidro relógio, balança, picnômetro, termômetro, substâncias das quais se deseja determinar a tensão superficial.

4. MÉTODO :

- Determinar a temperatura do líquido.
- Determinar a densidade do líquido: método do picnômetro.
- Determinar a altura que o líquido ascende no capilar: fazer 5 determinações e usar o valor médio obtido.
- Determinar o raio interno do capilar.
- Calcular a tensão superficial.

5. FUNDAMENTO : fenômeno da capilaridade.

6. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS :

Organize a tabela com os valores obtidos por todos os grupos e apresente os cálculos efetuados pelo seu grupo. Indique corretamente as grandezas envolvidas e apresente os resultados com o número correto de algarismos significativos.

Tabela 1. Tensão superficial e densidade das substâncias e misturas analisadas.

GRUPO	SUBSTÂNCIA	DENSIDADE (g/cm ³)		TENSÃO SUPERFICIAL (dyn/cm)	
		Handbook	Obtido	Handbook	Obtido
1	H ₂ O		XXXXXXXXXX		
	ETANOL		XXXXXXXXXX		
	BUTANOL		XXXXXXXXXX		
	OCTANOL		XXXXXXXXXX		
	ÉTER ETÍLICO		XXXXXXXXXX		
	H ₂ O + BUTANOL (0,2 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
2	H ₂ O		XXXXXXXXXX		
	H ₂ O + ETANOL (0,025 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + ETANOL (0,050 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + ETANOL (0,100 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + ETANOL (0,200 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + ETANOL (0,400 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
3	H ₂ O		XXXXXXXXXX		
	H ₂ O + SDS (0,0025 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + SDS (0,0050 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + SDS (0,0100 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + SDS (0,0200 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	
	H ₂ O + SDS (0,0400 M)	XXXXXXXXXX		XXXXXXXXXX	

7. QUESTÕES:

a) O que pode ser concluído das diferenças entre a tensão superficial da água, etanol e éter etílico? E entre a tensão superficial do etanol, butanol e octanol?

b) Explique o efeito da adição de etanol, butanol e SDS sobre a tensão superficial da água. Faça o gráfico relacionando a tensão superficial com a concentração molar destas substâncias.

a) Qual é a concentração micelar crítica **aproximada** do SDS?

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA

1) OBJETIVOS:

- Estudar os procedimentos utilizados para a determinação da condutividade de soluções aquosas.
- Analisar a qualidade da água através da medida da condutividade elétrica.
- Analisar a influência da concentração na condutância de eletrólitos fracos e fortes. Determinar as condutividades de soluções de cloreto de potássio e ácido acético, para um grande intervalo de concentração. A partir dos dados obtidos, calcular para cada concentração o grau de ionização do ácido acético.

2) RESUMO DA TEORIA:

O mecanismo da condução de corrente elétrica em soluções eletrolíticas difere da dos metais. Nos metais a corrente é composta unicamente de 'elétrons livres', já nos líquidos a condução é feita por íons.

A medida da condutividade requer o uso da corrente alternada a fim de eliminar os efeitos da eletrólise, que ocasionam modificações na composição da solução, contudo a frequência deverá situar-se entre certos limites, para conseguirmos leituras otimizadas.

Pela 2ª lei de Ohm, temos: "A resistência de um condutor é diretamente proporcional ao comprimento do condutor e inversamente proporcional à área da secção transversal, à temperatura constante"

$$R = \rho \cdot \frac{l}{a}$$

R = resistência (ohm , Ω)

ρ = resistência específica (ohm.cm)

l = comprimento do condutor (cm)

a = área do condutor (cm²)

A condutância, L, de um condutor é definida como sendo o inverso de sua resistência, isto é:

$$L = \frac{1}{R} = \frac{1}{\rho} \cdot \frac{a}{l} = k \cdot \frac{a}{l}$$

L = condutância (ohm⁻¹ ou mho,)

k = condutividade ou condutância específica (mho/cm)

A relação $\frac{a}{l}$ é denominada **constante da célula**

A condutividade eletrolítica, também chamada de condutância específica, é a capacidade de uma solução de conduzir a corrente elétrica.

Fatores que afetam a condutividade das soluções aquosas:

a) Temperatura: a condutividade aumenta com o aumento da temperatura. Para equipamentos que não possuam o sistema de compensação automático de temperatura, a condutividade deve ser determinada a 25°C, que é a temperatura de referência.

b) Natureza e carga dos íons

c) Concentração dos íons: visto que a condutividade varia com a concentração dos íons é conveniente só comparar a condutividade de soluções que contenham o mesmo número de cargas, trabalhando com a **condutância equivalente**, que é a **condutividade de soluções contendo um equivalente de cargas por cm³**.

$$\Lambda = \frac{1000 \cdot \kappa}{C}$$

Λ = condutância equivalente (mho.cm²/eq)

C = concentração (eq/L, N)

Alterações na condutância equivalente, devido a variações na concentração, podem ser resultado de mudanças no número ou da mobilidade dos íons presentes.

Eletrólitos fortes são 100% ionizados em qualquer concentração, de forma que seria de se esperar possuírem a mesma condutância equivalente em todas as concentrações. No entanto, a condutância equivalente diminui com a concentração a partir de um máximo à diluição infinita. Esta diminuição é uma função linear da raiz quadrada da concentração (Kohlrausch), e se deve à diminuição da mobilidade dos íons. A relação entre condutância equivalente (Λ) e condutância equivalente à diluição infinita (Λ_0) é:

$$\Lambda = \Lambda_0 - b\sqrt{C}$$

Os valores de Λ_0 para eletrólitos fortes são obtido por extrapolação, para valores de diluição infinita, da condutância equivalente versos a raiz quadrada da concentração.

No caso de eletrólitos fracos o valor de Λ_0 não pode ser obtido por extrapolação para diluição infinita dos resultados obtidos a concentrações finitas, mas pode ser calculado a partir de resultados obtidos com eletrólitos fortes por meio da lei de Kohlrausch, concernente a aditividade de condutâncias iônicas à diluição infinita. Assim, para um ácido HR, o valor Λ_0 pode prontamente ser determinado a partir do conhecimento dos valores de Λ_0 para o HCl, NaCl, e o sal de sódio, NaR, do ácido fraco:

$$\Lambda_{0,HR} = \Lambda_{0,HCl} + \Lambda_{0,NaR} - \Lambda_{0,NaCl}$$

Em uma solução concentrada de um eletrólito forte, os íons estão suficientemente próximos uns dos outros, de forma que o movimento dos mesmos é influenciado não apenas pelo campo elétrico imposto pelos eletrodos, mas também pelo campo da vizinhança iônica. As velocidades iônicas dependem, portanto, das duas forças.

Quando o eletrólito é fraco, o aumento observado na condutância equivalente com a diluição é devido principalmente ao aumento do número de íons presentes, correspondente ao maior grau de dissociação nas soluções diluídas. Esta é a base da teoria de Arrhenius, proposta em 1887. Quando o eletrólito é fraco o grau de dissociação varia fortemente com a concentração. Numa primeira aproximação pode-se chegar à relação:

$$\alpha = \frac{\Lambda}{\Lambda_0}$$

α = grau de dissociação

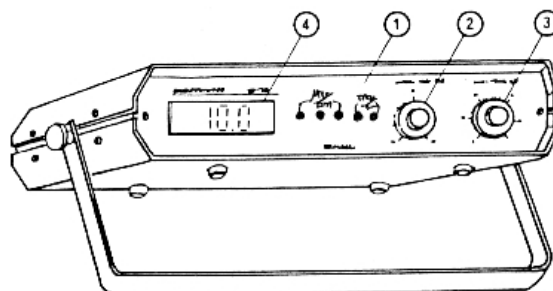
3) FUNDAMENTO: Segunda lei de Ohm, ponte de Wheatstone.

4) MATERIAL NECESSÁRIO:

Conduvímeter, balança, espátula, termômetro, água destilada, ácido acético, cloreto de potássio, 8 pipetas de 10 mL e 8 balões volumétricos de 100 mL.

5) MÉTODO:

- Ligue o equipamento e aguarde 20 minutos para a sua estabilização térmica.
- Instale a célula de amostra no conector do painel traseiro.



Calibração:

OBS: ajuste 1 = chave seletora de escalas

ajuste 2 = ajuste da constante da célula

ajuste 3 = ajuste da compensação da temperatura

- Pressione o “ajuste 1” para a terceira escala (2000 μ mh/cm).

- Mergulhe a célula e o termômetro na solução padrão e aguarde alguns minutos para a estabilização térmica do termômetro.
- Posicione o “ajuste 3” na posição correspondente da temperatura da solução.
- Posicione no indicador, através do “ajuste 2”, o valor de condutividade da solução padrão.
- Retire a célula e o termômetro da solução padrão e lave-os com água deionizada.

Operação:

- Posicione o “ajuste 1” na faixa de leitura do valor esperado para a solução amostra.
- Posicione o “ajuste 3” no valor de temperatura correspondente à solução amostra.
- Introduza a célula na solução e leia o valor em condutividade diretamente no indicador.

6) TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:

1ª Parte:

Faça uma análise da qualidade das diferentes águas analisadas, considerando as seguintes zonas de qualidade:

- De 0 a 1,0 $\mu\text{mho/cm}$: água de condutividade
- De 1,0 a 2,0 $\mu\text{mho/cm}$: água bi-destilada
- De 2,0 a 10,0 $\mu\text{mho/cm}$: água destilada
- De 10,0 $\mu\text{mho/cm}$ em diante: outras águas.

2ª Parte:

- Calcule as condutâncias equivalentes, Λ , das soluções de KCl e ácido acético.
- Calcule o grau de dissociação, α , para as soluções de ácido acético. Use $\Lambda_0 = 399 \text{ mho.cm}^2/\text{eq}$.
- Faça o gráfico da condutância equivalente em função de $\sqrt{C}$ para o KCl e HAc.
- Extrapole a reta obtida para o KCl para a concentração zero, determinando assim, o valor de Λ_0 para o KCl.
- Calcule o grau de dissociação aparente (α aparente) para as soluções de KCl, usando o valor de Λ_0 determinado graficamente.

Tabela 1: Condutividade, condutância equivalente e grau de dissociação obtidos experimentalmente.

Grupo	Soluções	Condutividade κ (mho/cm)	Condutância equivalente, Λ (mho.cm ² /eq)	$\sqrt{C}$	Grau de dissociação α	α aparente	Temp. °C
1	Água Milli-Q		xxx	xxx	xxx	xxx	
	Água destilada		xxx	xxx	xxx	xxx	
	Água potável		xxx	xxx	xxx	xxx	
2	KCl 0,1000 N				xxx		
	KCl 0,0250 N				xxx		
	KCl 0,0025 N				xxx		
	KCl 0,0005 N				xxx		
3	HAc 0,1000 N					xxx	
	HAc 0,0250 N					xxx	
	HAc 0,0025 N					xxx	
	HAc 0,0005 N					xxx	

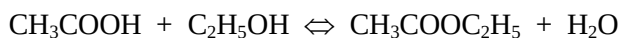
7) QUESTÕES:

- Por que a condutância equivalente do KCl diminui com o aumento da concentração da solução?
- Qual é a principal causa da redução da condutância equivalente, com o aumento da concentração para o HAc?

EQUILÍBRIO QUÍMICO

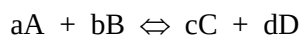
1) OBJETIVO:

Determinar a constante de equilíbrio da reação abaixo por análise química da mistura em equilíbrio:



2) RESUMO DA TEORIA:

Para a reação hipotética geral



a constante de equilíbrio é dada pela expressão:

$$K = \frac{a_C^c \times a_D^d}{a_A^a \times a_B^b}$$

Se considerarmos uma reação que ocorra inteiramente na fase líquida e se considerarmos as atividades iguais às concentrações, esta expressão pode ser escrita:

$$K_c = \frac{[\text{C}]^c [\text{D}]^d}{[\text{A}]^a [\text{B}]^b}$$

onde os colchetes indicam que as concentrações são expressas em moles por litro. Na reação de esterificação

$$a = b = c = d = 1$$

portanto:

$$K_c = \frac{[\text{ester}][\text{agua}]}{[\text{acido}][\text{alcohol}]} = \frac{(N_E / V)(N_A / V)}{(N_{Ac} / V)(N_{Al} / V)} = \frac{N_E \times N_A}{N_{Ac} \times N_{Al}}$$

onde N_{Ac} , N_{Al} , N_E e N_A representam o número de moles de ácido acético, álcool, éster e água em qualquer mistura em equilíbrio de volume total V . Como os volumes se compensam, não é necessário determinar o volume da mistura em equilíbrio.

Para a reação estudada o valor de ΔH , calor de reação, é muito próximo a zero, e K_c é quase independente da temperatura. Não é necessário, portanto estudar a reação em temperatura constante.

O tempo necessário para que o equilíbrio seja alcançado diminui quando se usa ácido clorídrico como catalisador.

3) FUNDAMENTO: equilíbrio químico, princípio de Le Chatelier

4) MATERIAL NECESSÁRIO: 7 erlenmeyers de 100 mL, 1 bureta de 50 mL, pipetas de 5, 2, e 1 mL, 35mL de HCl 3,0 N, 300 mL de NaOH 1,0 N, fenolftaleína, 20 mL de acetato de etila, 2 mL de ácido acético glacial, 5 mL de álcool etílico.

5) MÉTODO:

- A tabela abaixo mostra as misturas sugeridas para este estudo.
- Pipetar as quantidades indicadas em frascos de 100mL com tampa de vidro e tampá-los imediatamente. Vedar muito bem os erlenmeyers a fim de evitar a evaporação.
- Esperar que o equilíbrio seja atingido. Manter os frascos à temperatura ambiente, agitando de vez em quando, durante quatro dias e, preferivelmente, durante uma semana.
- Titular as misturas em equilíbrio com uma solução de NaOH 1,0 N, usando como indicador a fenolftaleína

6) TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:

Tabela 1. Constante de equilíbrio determinada experimentalmente a partir de diferentes proporções iniciais de reagentes e produtos.

Amostra	HCl ~3N	Ac. Et.	H ₂ O	Etanol	HAc	NaOH 1,0 N	Número de moles iniciais				Número de moles finais				K _c
	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	Ac.Et	H ₂ O	Et.	HAc	Ac.Et	H ₂ O	Et.	HAc	
1	5	-	5	-	-										
2	5	5	-	-	-										
3	5	4	1	-	-										
4	5	2	3	-	-										
5	5	4	-	1	-										
6	5	4	-	-	1										
7	5	-	-	4	1										
Densidade (g/mL)	1,0435	0,9003	0,9982	0,7893	1,0492										$\bar{x}$
Peso molecular	36,5	88	18	46	60										S

OBSERVAÇÕES:- A massa de água em cada frasco é obtida pela adição da massa da água pura à da água contida no ácido clorídrico 3N. A última é calculada subtraindo a massa do HCl da massa de 5 mL da solução de HCl 3 N.

- A quantidade de ácido acético no equilíbrio de cada frasco é obtido pela subtração do número de mililitros de hidróxido de sódio usado na solução 1 daquele usado para a titulação da solução em equilíbrio. Nas soluções 6 e 7, o ácido acético é adicionado na solução original, e esta quantidade deve ser considerada nos cálculos das quantidades em equilíbrio dos outros reagentes. Para cada mol de ácido acético produzido na reação, um mol de etanol é produzido, um mol de água desaparece, e um mol de acetato de etila desaparece.

- Se são conhecidos o número de moles de cada um dos quatro reagentes na mistura original e o número de moles de ácido acético produzido na reação, pode-se determinar a constante de equilíbrio K_c.

Problema: Quando 1 mol de ácido acético é misturado com 2 moles de etanol, cerca de 0,85 moles de água são formado no equilíbrio a 100°C. Qual a constante de equilíbrio nestas condições.

ALCOOMETRIA

1) **OBJETIVO:** Determinação do grau alcoólico de diferentes misturas.

2) **RESUMO DA TEORIA:**

O alcoômetro destina-se, unicamente, à determinação do grau alcoólico das misturas de água e álcool etílico. O instrumento é um densímetro especial que indica, imediatamente, o número do volume de álcool etílico contido em 100 volumes de uma mistura feita exclusivamente de álcool etílico e água. Com efeito, sua escala de graduação é baseada sobre as densidades das misturas de álcool etílico e água, determinadas à temperatura de 15°C ou 20°C. Como o álcool e a água se contraem por sua recíproca dissolução e como a contração varia de acordo com a proporção dos líquidos misturados, as divisões do alcoômetro não são nem equidistantes nem regulares na variação de seus afastamentos

a) Para determinar o conteúdo de álcool etílico numa preparação proceda como está descrito num dos métodos abaixo (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 3ª edição):

Para líquidos com menos de 30% de álcool:

- ◆ Por meio de uma pipeta, transfira para um aparelho destilador adequado, amostra de no mínimo 25 mL do líquido em que o álcool está sendo determinado e anote a temperatura na qual o líquido foi medido.
- ◆ Junte volume igual de água, destile e colete um volume de destilado cerca de 2 mL menor que o volume da amostra tomada.
- ◆ Ajuste à temperatura em que a amostra foi medida, junte água suficiente até o volume inicial da amostra e misture.
- ◆ Determine a densidade do líquido e use o resultado para avaliar a percentagem em volume de álcool contido no líquido examinado, pela **Tabela Alcoométrica**. Pode-se, também, determinar o teor alcoólico do líquido diretamente com o alcoômetro.

Para líquido com mais de 30% de álcool:

- ◆ Proceda como indicado anteriormente, com a seguinte modificação: dilua a amostra com cerca de duas vezes seu volume de água e colete um volume de destilado cerca de 2 mL menor que duas vezes o volume da amostra.
- ◆ Leve à temperatura na qual a amostra foi medida, junte água suficiente para completar exatamente duas vezes o volume da amostra, misture e determine a densidade.
- ◆ A proporção de etanol, em volume, neste destilado, avaliada pela densidade, é igual à metade daquela do líquido examinado.

b) Análise para destilados alcoólicos (DIÁRIO OFICIAL, 03.12.1986):

- ◆ Medir 200 mL da amostra em balão volumétrico, anotando sua temperatura.
- ◆ Transferir a amostra para o balão destilatório e colocar bolinhas de vidro ou talco neutro. Lavar o balão 4 vezes com 5 mL de água destilada e juntar ao conteúdo do balão destilatório. Conectar ao condensador e este mergulhar até o fundo do balão volumétrico anteriormente empregado, já com 10 mL de água destilada.
- ◆ Recolher cerca de $\frac{3}{4}$ do volume inicial. Resfriar este balão mergulhando-o em água e gelo. Completar o volume, à mesma temperatura inicial, com água destilada e agitar.
- ◆ Determinar a densidade do destilado a 25°C, e fazer a leitura do grau alcoólico na **tabela alcoométrica**.

c) Definições:

- ◆ **°Gay Lussac (°GL= %V):** quantidade em mililitros de álcool absoluto contida em 100 mililitros de mistura hidro-alcoólica.
- ◆ **°INPM (%P= porcentagem de álcool em peso ou grau alcoólico INPM):** quantidade em gramas de álcool absoluto contida em 100 gramas de mistura hidro-alcoólica.

d) Abaixamento do grau alcoólico:

Para levar um álcool de concentração conhecida a uma concentração mais baixa, diluindo-o com água destilada, levar-se-á em conta que os pesos dos álcoois manipulados estarão entre si como o inverso de seus títulos ponderais, utilizando-se a equação:

$$x = P \frac{b}{a}$$

x = peso que se deve tomar do álcool a diluir (concentrado)

P = peso que se deseja obter do álcool diluído

a = é o título ponderal (°INPM) do álcool a diluir

b = é o título ponderal (°INPM) do álcool diluído que se deseja obter

Obtém-se a proporção de água destilada pela diferença (P-x).

3) FUNDAMENTO: Princípio de Arquimedes: empuxo

4) MATERIAL NECESSÁRIO: proveta, alcoômetro, picnômetro, termômetro, balança, soluções a serem analisadas.

5) MÉTODOS:

a) Uso do alcoômetro:

- ◆ Colocar o álcool a examinar em proveta de dimensões tais que permitam ao alcoômetro flutuar livremente, sem tocar no fundo ou nas paredes. Evitar a formação de bolhas.
- ◆ Imergir na solução de álcool o alcoômetro rigorosamente limpo e desengordurado. Atingida a posição de equilíbrio, verificar o ponto de afloramento da haste, observando tangencialmente ao nível do líquido, ou seja, na parte inferior do menisco.
- ◆ O número correspondente ao ponto de afloramento indica em centésimos e em volume, o teor do líquido em álcool absoluto. É necessário fazer correções sobre a indicação do instrumento em função da temperatura.

Correção aproximada da temperatura do alcoômetro:

$$g = g_0 - 0,4(t - t_0)$$

g = grau alcoólico na temperatura da experiência

g₀ = grau alcoólico na temperatura de graduação do alcoômetro (20°C) - valor lido no alcoômetro.

t = temperatura da experiência

t₀ = temperatura da graduação do alcoômetro

0,4 = constante (varia com o teor alcoólico, é mais adequada para teores alcoólicos próximos a 50%):

b) Picnometria:

- ◆ Determinar a densidade relativa (D_{25/25}) da amostra a 25°C, pelo método do picnômetro.
- ◆ Pela tabela alcoométrica encontrar os valores correspondentes de °GL e °INPM.

6) TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:

- ◆ Determinar o teor alcoólico das amostras, em percentagem de volume (°GL), com o uso do **alcoômetro** e, por meio da Tabela Alcoométrica, descubra sua densidade e seu teor alcoólico em percentagem de peso (°INPM)
- ◆ Determinar a densidade das amostras, por **picnometria** e, por meio da Tabela Alcoométrica, descubra seu teor alcoólico em percentagem de peso (°INPM), e em percentagem de volume (°GL).
- ◆ Fazer um gráfico relacionando a densidade (eixo x) com o teor alcoólico encontrado, em °GL e °INPM (eixo y).

Tabela 1. Teor alcoólico de diferentes amostras determinado pelo método do alcoômetro e do picnômetro.

Grupo	Amostra	% volume (°GL)		% peso (°INPM)		Densidade D ₂₅ ²⁵	
		alcoômetro	picnômetro	alcoômetro	picnômetro	alcoômetro	picnômetro
1	Etanol 95% °INPM Destilado 1						
2	Etanol 80% °INPM Etanol comercial						
3	Etanol 60% °INPM Etanol 40% °INPM						
4	Etanol 20% °INPM Destilado 2						

TABELA ALCOOMÉTRIA – Farmacopéia Brasileira, 3ª Edição, 1967.

Percentagem de C ₂ H ₅ OH		Densidade no ar		Percentagem de C ₂ H ₅ OH		Densidade no ar	
Em Volume a 15,56°	Em Peso	a 25° a 15,56°	a 15,56° 15,56°	Em Peso	Em Volume a 15,56°	a 25° a 15,56°	a 15,56° 15,56°
0	0,00	1,0000	1,0000	0	0,00	1,0000	1,0000
1	0,80	0,9985	0,9985	1	1,26	0,9981	0,9981
2	1,59	0,9970	0,9970	2	2,51	0,9963	0,9963
3	2,39	0,9956	0,9956	3	3,76	0,9945	0,9945
4	3,19	0,9941	0,9942	4	5,00	0,9927	0,9928
5	4,00	0,9927	0,9928	5	6,24	0,9911	0,9912
6	4,80	0,9914	0,9915	6	7,48	0,9894	0,9896
7	5,61	0,9901	0,9902	7	8,71	0,9879	0,9881
8	6,42	0,9888	0,9890	8	9,94	0,9863	0,9867
9	7,23	0,9875	0,9878	9	11,17	0,9848	0,9852
10	8,05	0,9862	0,9866	10	12,39	0,9833	0,9839
11	8,86	0,9850	0,9854	11	13,61	0,9818	0,9825
12	9,68	0,9838	0,9843	12	14,83	0,9804	0,9812
13	10,50	0,9826	0,9832	13	16,05	0,9789	0,9799
14	11,32	0,9814	0,9821	14	17,26	0,9776	0,9787
15	12,14	0,9802	0,9810	15	18,47	0,9762	0,9774
16	12,96	0,9790	0,9800	16	19,68	0,9748	0,9763
17	13,79	0,9778	0,9789	17	20,88	0,9734	0,9751
18	14,61	0,9767	0,9779	18	22,08	0,9720	0,9738
19	15,44	0,9756	0,9769	19	23,28	0,9706	0,9726
20	16,27	0,9744	0,9759	20	24,47	0,9692	0,9714
21	17,10	0,9733	0,9749	21	25,66	0,9677	0,9701
22	17,93	0,9721	0,9739	22	26,85	0,9663	0,9688
23	18,77	0,9710	0,9729	23	28,03	0,9648	0,9675
24	19,60	0,9698	0,9719	24	29,21	0,9633	0,9662
25	20,44	0,9685	0,9708	25	30,39	0,9617	0,9648
26	21,29	0,9673	0,9697	26	31,56	0,9601	0,9633
27	22,13	0,9661	0,9687	27	32,72	0,9585	0,9620
28	22,97	0,9648	0,9676	28	33,88	0,9568	0,9605
29	23,82	0,9635	0,9664	29	35,03	0,9551	0,9590
30	24,67	0,9622	0,9653	30	36,18	0,9534	0,9574
31	25,52	0,9609	0,9641	31	37,32	0,9516	0,9558
32	26,38	0,9595	0,9629	32	38,46	0,9498	0,9541
33	27,24	0,9581	0,9617	33	39,59	0,9480	0,9524
34	28,10	0,9567	0,9604	34	40,72	0,9461	0,9506
35	28,97	0,9552	0,9590	35	41,83	0,9442	0,9488
36	29,84	0,9537	0,9576	36	42,94	0,9422	0,9470
37	30,72	0,9521	0,9562	37	44,05	0,9402	0,9451
38	31,60	0,9506	0,9548	38	45,15	0,9382	0,9432
39	32,48	0,9489	0,9533	39	46,24	0,9362	0,9412
40	33,36	0,9473	0,9517	40	47,33	0,9341	0,9392

Percentagem de C ₂ H ₅ OH		Densidade no ar		Percentagem de C ₂ H ₅ OH		Densidade no ar	
Em Volume a 15,56°	Em Peso	a 25° a 15,56°	a 15,56° 15,56°	Em Peso	Em Volume a 15,56°	a 25° a 15,56°	a 15,56° 15,56°
41	34,25	0,9456	0,9501	41	48,41	0,9320	0,9372
42	35,15	0,9439	0,9485	42	49,48	0,9299	0,9352
43	36,05	0,9421	0,9469	43	50,55	0,9278	0,9331
44	36,96	0,9403	0,9452	44	51,61	0,9256	0,9310
45	37,87	0,9385	0,9434	45	52,66	0,9235	0,9289
46	38,78	0,9366	0,9417	46	53,71	0,9213	0,9268
47	39,70	0,9348	0,9399	47	54,75	0,9191	0,9246
48	40,62	0,9328	0,9380	48	55,78	0,9169	0,9225
49	41,55	0,9309	0,9361	49	56,81	0,9147	0,9203
50	42,49	0,9289	0,9342	50	57,83	0,9124	0,9181
51	43,43	0,9269	0,9322	51	58,84	0,9102	0,9159
52	44,37	0,9248	0,9302	52	59,85	0,9079	0,9137
53	45,33	0,9228	0,9282	53	60,85	0,9056	0,9114
54	46,28	0,9207	0,9262	54	61,85	0,9033	0,9092
55	47,25	0,9185	0,9241	55	62,84	0,9010	0,9069
56	48,21	0,9164	0,9220	56	63,82	0,8987	0,9046
57	49,19	0,9142	0,9199	57	64,80	0,8964	0,9024
58	50,17	0,9120	0,9177	58	65,77	0,8941	0,9001
59	51,15	0,9098	0,9155	59	66,73	0,8918	0,8978
60	52,15	0,9076	0,9133	60	67,69	0,8895	0,8955
61	53,15	0,9053	0,9111	61	68,64	0,8871	0,8932
62	54,15	0,9030	0,9088	62	69,59	0,8848	0,8909
63	55,17	0,9006	0,9065	63	70,52	0,8824	0,8886
64	56,18	0,8983	0,9042	64	71,46	0,8801	0,8862
65	57,21	0,8959	0,9019	65	72,38	0,8777	0,8839
66	58,24	0,8936	0,8995	66	73,30	0,8753	0,8815
67	59,28	0,8911	0,8972	67	74,21	0,8729	0,8792
68	60,33	0,8887	0,8948	68	75,12	0,8706	0,8768
69	61,38	0,8862	0,8923	69	76,02	0,8682	0,8745
70	62,44	0,8837	0,8899	70	76,91	0,8658	0,8721
71	63,51	0,8812	0,8874	71	77,79	0,8634	0,8697
72	64,59	0,8787	0,8848	72	78,67	0,8609	0,8673
73	65,67	0,8761	0,8823	73	79,54	0,8585	0,8649
74	66,77	0,8735	0,8797	74	80,41	0,8561	0,8625
75	67,87	0,8709	0,8771	75	81,27	0,8537	0,8601
76	68,98	0,8682	0,8745	76	82,12	0,8512	0,8576
77	70,10	0,8655	0,8718	77	82,97	0,8488	0,8552
78	71,23	0,8628	0,8691	78	83,81	0,8463	0,8528
79	72,38	0,8600	0,8664	79	84,64	0,8439	0,8503
80	73,53	0,8572	0,8636	80	85,46	0,8414	0,8479
81	74,69	0,8544	0,8608	81	86,28	0,8389	0,8454
82	75,86	0,8516	0,8580	82	87,08	0,8364	0,8429
83	77,04	0,8487	0,8551	83	87,89	0,8339	0,8404
84	78,23	0,8458	0,8522	84	88,68	0,8314	0,8379
85	79,44	0,8428	0,8493	85	89,46	0,8288	0,8354

Percentagem de C ₂ H ₅ OH		Densidade no ar		Percentagem de C ₂ H ₅ OH		Densidade no ar	
Em Volume a 15,56°	Em Peso	a 25° a 15,56°	a 15,56° 15,56°	Em Peso	Em Volume a 15,56°	a 25° a 15,56°	a 15,56° 15,56°
86	80,66	0,8397	0,8462	86	90,24	0,8263	0,8328
87	81,90	0,8367	0,8432	87	91,01	0,8237	0,8303
88	83,14	0,8335	0,8401	88	91,77	0,8211	0,8276
89	84,41	0,8303	0,8369	89	92,52	0,8184	0,8250
90	85,69	0,8271	0,8336	90	93,25	0,8158	0,8224
91	86,99	0,8237	0,8303	91	93,98	0,8131	0,8197
92	88,31	0,8202	0,8268	92	94,70	0,8104	0,8170
93	89,65	0,8167	0,8233	93	95,41	0,8076	0,8142
94	91,03	0,8130	0,8196	94	96,10	0,8048	0,8114
95	92,42	0,8092	0,8158	95	96,79	0,8020	0,8086
96	93,85	0,8053	0,8118	96	97,46	0,7992	0,8057
97	95,32	0,8011	0,8077	97	98,12	0,7962	0,8028
98	96,82	0,7968	0,8033	98	98,76	0,7932	0,7988
99	98,38	0,7921	0,7986	99	99,39	0,7902	0,7967
100	100,00	0,7871	0,7936	100	100,00	0,7871	0,7936

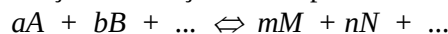
CINÉTICA QUÍMICA – DETERMINAÇÃO DA ORDEM DE UMA REAÇÃO

1) OBJETIVO:

Determinar a ordem de uma reação química utilizando o método das **concentrações em excesso**

2) RESUMO DA TEORIA:

A velocidade, v , de uma reação química é definida como sendo a variação da concentração de um dos componentes que toma parte na reação em função do tempo. Para uma reação do tipo:



a velocidade da reação é dada por:

$$v = -\frac{d[Y]}{dt} = k \cdot [A]^\alpha \cdot [B]^\beta \dots$$

onde Y é A , ou B , e k é denominada **constante cinética**.

Os expoentes α , β , ... não podem ser preditos teoricamente e são estabelecidos pela observação da dependência da velocidade em relação à concentração. A soma destes expoentes é denominada **ordem de reação**. A ordem em relação a A é α , com relação a B é β , etc. Quando a soma dos expoentes é 1, a reação é denominada de primeira ordem; quando é 2, de segunda ordem, etc.

Existem vários métodos para determinar a ordem de uma reação química. Um deles consiste em utilizar em excesso todos os reagentes, exceto um. Deste modo, as concentrações dos reagentes em excesso podem ser consideradas constantes. Por exemplo, a equação cinética de Maucourt-Fissen,



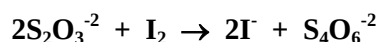
é dada por:

$$-\frac{d[H_2O_2]}{dt} = k \cdot [H_2O_2]^\alpha$$

quando a reação é realizada em meio ácido com a concentração de iodeto muito superior à concentração de peróxido de hidrogênio.

Desse modo se a reação for de **ordem zero** em relação ao H_2O_2 , existirá uma relação linear entre $[H_2O_2]_0 - [H_2O_2]$ e o tempo, se for de **primeira ordem** existirá uma relação linear entre $\ln [H_2O_2]_0 / [H_2O_2]$ e o tempo e, se for de **segunda ordem**, o tempo será proporcional a $1/[H_2O_2] - 1/[H_2O_2]_0$.

A velocidade desta reação é mensurável à temperatura ambiente e pode ser seguida pela adição de pequenas quantidades de íons tiosulfato de concentração conhecida. O iodo (I_2) produzido pela reação é rapidamente reduzido de volta para iodeto (I^-) pelos íons tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$).



Isto continua até que todo o tiosulfato tenha sido convertido em tetrationato ($S_4O_6^{2-}$), depois do que o iodo livre formado fica em solução. A cor do iodo é aumentada pela adição de solução de amido. O intervalo de tempo entre o início da reação e a mudança de cor da solução é uma medida da velocidade da reação.

1) **FUNDAMENTO:** equações de velocidade de cinética química.

4) MATERIAL NECESSÁRIO:

Pipeta de 20 mL, um balão volumétrico de 500 mL, uma pipeta de 5 mL, um béquer de 500 mL, duas buretas de 25 mL, uma proveta de 100 mL, 1 cronômetro, 1 termômetro, 30 mL de água oxigenada 3% diluída até 500mL com água destilada, 100 mL de iodeto de potássio 1M, 50 mL de ácido sulfúrico 3M, 300 mL de tiosulfato de sódio 0,1M e 50 mL de solução de amido 0,5%.

5) MÉTODO:

- Coloque numa bureta tiossulfato de sódio 0,1M ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).
- Tome um béquer de 500 mL e adicione pela ordem:
 - 150 mL de água destilada
 - 20 mL de KI 1,0M
 - 10 mL de H_2SO_4 3,0 M
 - 2 mL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,1 M (da bureta)
 - 5 mL de solução de amido 0,5%
- Agite e meça a temperatura da solução.
- Tome em uma proveta padronizada 20 mL da solução de H_2O_2 padronizada e adicione-os à solução, **disparando o cronômetro**.
- Agite a solução, anote o tempo em que a solução se torna azul e adicione **imediatamente** mais 2 mL de tiossulfato de sódio.
- Anote o tempo em que a solução se torna novamente azul. Adicione novamente 2 mL de tiossulfato de sódio.
- Repita a operação por 9 vezes.
- Repita a operação completa pelo menos duas vezes.

6) TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS: Para cada conjunto de operação, complete a seguinte tabela:

TEMPO (s)				Volume $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ adicionado	Nºmoles $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ usados	Nºmoles I_2 formados	Nºmoles $[\text{H}_2\text{O}_2]$ que restam	$[\text{H}_2\text{O}_2]$	$[\text{H}_2\text{O}_2]_0 - [\text{H}_2\text{O}_2]$	$\ln \frac{[\text{H}_2\text{O}_2]}{[\text{H}_2\text{O}_2]_0}$	$\frac{1}{[\text{H}_2\text{O}_2]} - \frac{1}{[\text{H}_2\text{O}_2]_0}$
	1	2	Média	mL	moles	moles	moles	M	M		M^{-1}
t_0				2	0	0			0	0	0
t_1				4							
t_2				6							
t_3				8							
t_4				10							
t_5				12							
t_6				14							
t_7				16							
t_8				18							
t_9				20							

- Faça os gráficos representativos das equações integradas de ordem zero, primeira e segunda, e determine a ordem da reação.

- Calcule a constante cinética da reação química.

7) QUESTÕES:

- Explique os desvios possíveis da reta obtida.
- Sugira um método para determinar a ordem global da reação.

ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA

2) OBJETIVO:

Verificar o comportamento eletroforético de proteínas com diferentes pIs, em eletroforese para proteínas básicas.

3) RESUMO DA TEORIA:

A eletroforese é uma técnica analítica importante à disposição da investigação bioquímica atual. Este termo é usado para descrever a migração de uma partícula carregada sob influência de um campo elétrico.

Os princípios da eletroforese baseiam-se nos conhecimentos da química de proteínas e nos fatores que determinam sua migração eletroforética. Consideraremos, inicialmente, a estrutura básica das moléculas de proteínas e suas propriedades biofísicas. As proteínas são constituídas por aminoácidos, cuja sequência caracteriza suas propriedades básicas. Um aminoácido é composto por um grupo amino (NH_3), um grupo carboxil (COOH), um átomo de hidrogênio e um grupo “R” diferenciado, ligados a um átomo de carbono. Dependendo da composição do grupo “R” formam-se diferentes aminoácidos, sendo que eles podem ser:

1. Grupos R não polares ou hidrofóbicos:

- Alifáticos: alanina, valina, leucina, isoleucina, glicina e prolina.
- Aromáticos: fenilalanina, triptofano e tirosina.

2. Grupos R polares, porém não carregados: serina, treonina, cisteína, metionina, asparagina e glutamina.

3. Grupos R carregados positivamente: lisina, arginina e histidina.

4. Grupos R carregados negativamente: ácido aspártico e ácido glutâmico.

Numa solução tamponada os aminoácidos se comportam como eletrólitos e carregam uma carga positiva ou negativa, dependendo do pH do meio. Em um *meio alcalino* (pH maior que 7,0) os aminoácidos tornam-se negativamente carregados por comportarem-se como um ácido (doam seu H^+ ao excesso de OH^- da solução), então as moléculas migrarão para o ânodo. Em uma *solução ácida* (pH menor que 7,0) os aminoácidos tornam-se positivamente carregados, agindo como uma base (aceitam H^+ da solução). Em uma solução neutra os aminoácidos adquirem um estado de equilíbrio formando íon dipolar por carregar cargas positivas e negativas, ao mesmo tempo; a este estado dá-se o nome de “*Zwitterion*”.

A estrutura de uma proteína depende da ligação de seus aminoácidos formadores; assim, as proteínas têm propriedades semelhantes à de seus aminoácidos. As estruturas das proteínas são classificadas em primárias, secundária, terciária e quaternária.

As proteínas quando desnaturadas perdem sua função, mas não as características, ou seja, não alteram suas estruturas primária e secundária.

As propriedades como estrutura, carga e ligações, dão às proteínas suas características próprias, quando submetidas à eletroforese. Nas proteínas, há grupos amino e carboxil, que contribuem com cargas elétricas para as moléculas.

A migração eletroforética de uma proteína depende da carga total, do tamanho, da forma, da composição do tampão (pH e molaridade, ou força iônica) e do suporte utilizado (papel, gel de amido, ou agarose, ou poliacrilamida e acetato de celulose).

Como já foi mencionado anteriormente, a eletroforese é uma técnica que produz movimento de íons através de um suporte estabelecido: gel de amido, agar, poliacrilamida, acetato de celulose, ou papel. No presente experimento iremos utilizar como suporte o gel de poliacrilamida, o qual é o produto da polimerização da acrilamida (monômero) e da N, N'-metileno-bis-acrilamida (bis-acrilamida ou BIS). A formação desse gel ocorre com auxílio de catalisadores como, por exemplo, o persulfato de amônio, que participam na formação de radicais livres, com ajuda de uma amina terciária a N, N, N', N' tetrametiletilenodiamina (TEMED). Na catálise química, deve-se evitar a presença de oxigênio, pois este funciona como um inibidor da reação. Também é aconselhável, nesse caso, que a polimerização seja realizada ao abrigo da luz.

O polímero formado consiste de cadeias lineares de poliacrilamida, que incorporam uma pequena proporção de moléculas de bis-acrilamida, responsáveis pelo estabelecimento das ligações cruzadas intercadeias. O comprimento médio das cadeias é determinado pela concentração de acrilamida. A concentração de bis-acrilamida determina a quantidade de ligações cruzadas. Além disso, a relação acrilamida/BIS determina as propriedades físicas do gel, tais como: densidade, elasticidade, transparência e o tamanho dos seus poros (estes são definidos conforme o peso molecular da proteína).

Os géis de poliacrilamida podem ser feitos em tubo ou entre 2 placas de vidro.

3) MÉTODO:

REISFELD, R.A. *et al.* (*Nature*, v.195, p.281, 1962) com modificações, como descrito por ARANTES, E.C. *et al.* (*Toxicon*, v. 27, n.8, p.907-916, 1989)

a) MONTAGEM DO SISTEMA DE ELETROFORESE:

- Duas placas de vidro, distanciadas entre si por espaçadores de 0,7 mm, são imobilizadas verticalmente com o auxílio de pinças metálicas, de modo a formar entre elas um espaço retangular. Esta câmara será preenchida com a solução que dará origem ao gel.
- Terminada a polimerização, retira-se a borracha da parte inferior da placa e monta-se o sistema na cuba de eletroforese. Recomende-se a realização de uma pré-corrida de aproximadamente 30 minutos, a 100V, antes da aplicação das amostras.

b) SOLUÇÕES A SEREM PREPARADAS:

1. KOH 1N:

- KOH (PM: 56) 2,8 g
- Água q.s.p. 50 mL

2. Tampão acetato de potássio 0,05 M, pH 4,5 (Solução A):

- KOH 1N..... 48 mL
- Ácido acético glacial até pH 4,5 17,2 mL
- Água q.s.p. 100 mL

3. Acrilamida a 30 % (Solução C):

- Acrilamida 30 g
- Bis-acrilamida 0,8 g
- Água q.s.p..... 100 mL

4. Tampão do eletrodo:

- β -Alanina (PM: 89)..... 31,2 g
- Ácido acético glacial até pH 4,5..... 8 mL
- Água q.s.p..... 1000 mL

Obs: diluir 10 X na hora de usar.
Conc. Final: 0,035 M

5. Solução corante:

- Coomassie Brilliant Blue G-250..... 0,2 g
- Água 50 mL
- Metanol..... 50 mL

6. Solução descorante:

- Ácido acético glacial..... 70 mL
- Água q.s.p. 1000 mL

c) GEL A 9 % EM ACRILAMIDA, PARA ELETROFORESE SEM SDS

ITEM	Solução Mãe	Concentr. final	Volume de gel	
			10 mL	4 mL
Solução A	0,05 M	0,00625 M	1,25mL	0,5 mL
Solução C	30 %	9,0 %	3,0 mL	1,2 mL
Persulfato de amônio	100 %	0,1 %	0,01 g	0,004 g
TEMED	100 %	0,5 %	50 μ L	20 μ L
Água			5,75mL	2,3 mL

POLO + EM CIMA

Dimensões do gel: _____

Pré-corrida: - Duração: _____

- Corrente: _____

- Voltagem: _____

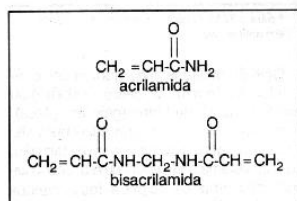
Corrida: - Duração: _____

- Corrente: _____

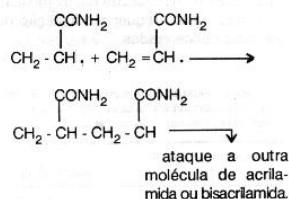
- Voltagem: _____

Aplicação das Amostras:

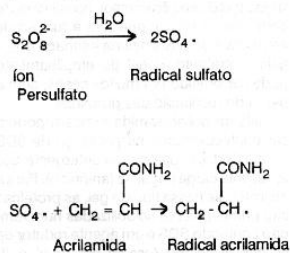
- | | |
|----------|-----------|
| 1) _____ | |
| 2) _____ | 3) _____ |
| 4) _____ | 5) _____ |
| 6) _____ | |
| 7) _____ | 8) _____ |
| 9) _____ | 10) _____ |



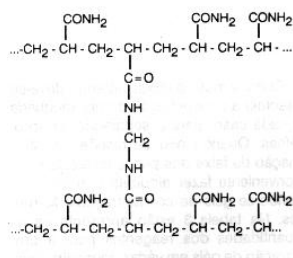
b) Polimerização



a) Formação de radicais livres



c) Ligações cruzadas



ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

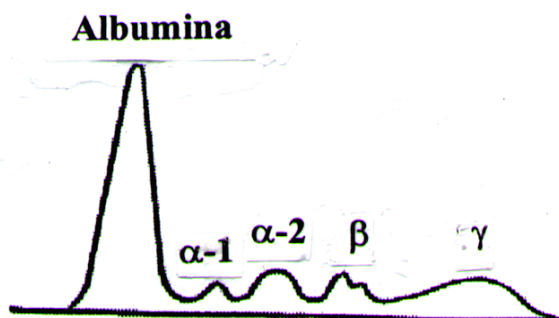
1. OBJETIVO:

Verificar o perfil eletroforético das proteínas plasmáticas em gel de agarose do plasma de diferentes animais.

2. RESUMO DA TEORIA:

A análise do quadro protéico-plasmático é de particular interesse em bioquímica clínica devido aos importantes progressos acumulados nos últimos anos sobre as características físico-químicas e estruturais das proteínas humanas. Somam-se a esses aspectos as propriedades fisiológicas e o significado clínico de numerosas proteínas plasmáticas, que devido à contínua evolução metodológica, têm permitido auxiliar o diagnóstico de várias alterações patológicas que refletem no conteúdo das proteínas plasmáticas. Entre os métodos de qualificação e quantificação dessas proteínas destaca-se a eletroforese, que tem se tornado um importante meio auxiliar de diagnóstico na maioria dos laboratórios clínicos. A eletroforese permite uma avaliação aproximada das concentrações de várias proteínas importantes cujas alterações estruturais, ou de regulação de suas sínteses, ou de seu maior consumo, podem refletir nas suas mobilidades eletroforéticas ou nas suas concentrações.

Cerca de cem tipos de diferentes proteínas plasmáticas foram identificadas até o presente, utilizando técnicas sofisticadas e de alta sensibilidade. Entretanto, somente dez a doze tipos podem ser detectados pelas técnicas de menor resolução, constituindo mais de 90% do conteúdo protéico do plasma e por isso denominadas de componentes determinantes da zona do traçado eletroforético. Estes componentes são identificados nominalmente em sete zonas: **Pré-albumina, Albumina, Interzona Albumina-alfa-1, Alfa-1, Alfa-1-Globulina, Alfa-2-Globulina, Beta-Globulina e Gama-Globulina.**



3. MATERIAL:

AMOSTRA: Plasma

SUPORTE: Gel de agarose

REGENTES:

1 - Tampão: Tris - pH 9,5 (v/v).

2 - Corante: Negro de amido (Amido Black 10 - B) 0,2% em ácido acético 5% (v/v).

3 - Descorante: Ácido acético a 5% (v/v).

EQUIPAMENTOS : Fonte eletroforética específica (CELM) e Densitômetro (CELM)

VIDRARIAS: Pipeta de Hamilton, ponteiros e recipientes para acondicionar o corante e o descorante.

4. MÉTODO:

Cada grupo, após ter aplicado sua amostra no gel e ter realizado a eletroforese, vai obter através do densitômetro o perfil eletroforético de suas amostras, bem como a concentração das proteínas presentes na mesma, utilizando o método do biureto.

a) Eletroforese

1 - Colocar 190 mL de tampão tris pH 9,5 gelado (2 a 8°C), na cuba. **Obs: não reutilizar o tampão.**

2 - Aplicar **0,4 µL** de cada soro no filme de agarose. Usar soro fresco livre de hemólise por até 3 dias mantidos em geladeira (2 a 8°C). O congelamento é desaconselhável.

- 3 - Colocar o filme de agarose no porta-filme coincidindo os pólos negativos do filme com a cuba (a região onde foi aplicada a amostra para o lado do polo negativo da cuba).
- 4 - Colocar o porta-filme na cuba e tampá-la. Deixar por **25 minutos a 90 volts**.
- 5 - Retirar a tampa da cuba sem inverter a mesma, colocar o porta-filme sobre uma folha de papel de filtro para eliminar o excesso das bordas do filme.
- 6 - Retirar o filme do porta-filme.
- 7 - Mergulhar o filme em 200 mL de corante (Negro de Amido) por **cinco minutos** sem agitação.
- 8 - Retirar o filme de agarose do corante e colocar em **200 mL** de ácido acético a 5% (descorante) por **cinco minutos**.
- 9 - Retirar o excesso de descorante do filme de agarose e colocá-lo a 60°C (secador de cabelos) até que o mesmo fique completamente seco.
- 10 - Colocar o filme de agarose em banhos sucessivos de descorante (ácido acético 5%), até o fundo ficar transparente novamente.
- 11 - Secar a 60 °C (secador de cabelos).
- 12 - Realizar a densitometria a 520 nm:

b) Funcionamento do densitômetro

Fracionamento automático:

1. Ligar o aparelho no botão verde dianteiro.
Obs: O botão vermelho é um reset.
2. O aparelho faz uma checagem geral (aparece CELM).
3. Aparece d--: digite o dia que você está realizando a leitura.
4. Confirmar com a tecla **MEM**.
5. Aparece m--: digite o mês que você está realizando a leitura.
6. Confirmar com a tecla **MEM**.
7. Aparece A--: digite o ano que você está realizando a leitura.
8. Confirmar com a tecla **MEM**.
9. Aparece o número 0, significa que o aparelho está pronto.
10. Com a tampa do aparelho aberta, posicionar a fita corretamente na célula fotoelétrica, segurando as pontas da fita com o imã.
11. Apertar e segurar a tecla **ESQ** voltando a fita até chegar a última fração na célula.
12. Fechar a tampa do aparelho.
13. Colocar o papel e tirar a tampa da pena.
14. Apertar a tecla **AUT**, o aparelho começa a traçar o gráfico automaticamente.
15. No final do traçado, aparece o número de picos que o aparelho traçou no visor.
16. Para determinar a % de cada pico, apertar a tecla %.
17. Para determinar a concentração, apertar a tecla **CONC** e digitar o valor da proteína total determinada para aquele plasma, e aperte a tecla **MEM**.
18. Depois de terminado, para mudar de amostra, apertar **REIN**, posicionar a fita e começar tudo outra vez apertando **AUT**.

Fracionamento manual:

1. Após ter traçado o gráfico automático e aparecido o número de picos no visor, se não for o número esperado, traçar os picos manualmente no gráfico da seguinte forma:
2. Apertar a tecla **MAN**, aparece a letra N.
3. Pressionar a tecla **ESQ** até o lugar que corte o pico desejado e digite a tecla **MEM**, para confirmar.
4. E assim por diante em todos os picos, até o final do gráfico apertando **ESQ** e parando, pois o aparelho voltará automaticamente.
5. Pressionar uma vez a tecla **PIC**, aparece o novo número de picos no visor.
6. Pressionar outra vez a tecla **PIC**, mostra no visor a % de cada pico.
7. Colocar o novo papel.
8. Apertar a tecla **REIN** e **COP** para traçar o gráfico com os novos picos.
9. Apertar a tecla % para obter a % dos picos no papel.
10. Apertar a tecla **CONC**, colocar o valor da proteína total e apertar a tecla **MEM**, para obter a concentração dos picos no papel.

c) Dosagem de proteínas total pelo método do biureto:

- Branco: Adicione 50 µL de água a 2,5 mL do reagente de biureto
- Padrão: Adicione 50 µL de soro padrão (4 mg/dL) a 2,5 mL do reagente de biureto
- Amostra: Adicione 50 µL de soro a 2,5 mL do reagente de biureto
- Misturar e deixar em repouso em temperatura ambiente por 15 minutos. **OBS:** pode-se usar 20µL de amostra e 1mL do reagente do biureto sem prejuízo para a análise.
- Determinar a absorbância do teste e do padrão em 545 nm, acertando o zero com o branco. A cor é estável por 3 horas. Calcular a concentração de proteínas usando a equação:

$$\text{proteínas totais (g / dL)} = \frac{\text{Abs do teste}}{\text{Abs do padrao}} \times 4$$

5. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS:

Cada grupo vai elaborar um relatório detalhando a obtenção dos resultados referentes às suas amostras, mas a discussão deverá envolver todos os perfis eletroforéticos obtidos pela turma.

Tabela 1: Apresentação dos dados experimentais:

Grupo	Amostras	Proteína Total (g/dL)	Concentração das proteínas plasmáticas									
			%					g/dL				
			Albumina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	gama	Albumina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	gama
1	1											
	2											
2	3µ											
	4											
3	5											
	6											
4	7											
	8											
5	9											
	10											

Tabela 2: Valores de referência para soro humano.

Bandas protéicas	Concentração (%)	Concentração (g/dL)	Proteína total (biureto)
Albumina	50,0 a 63,0	3,2 a 5,0	6 a 8 g/dL
Alfa- 1	2,5 a 5,7	0,2 a 0,4	
Alfa-2	5,8 a 13,0	0,5 a 0,9	
Beta	8,5 a 14,7	0,6 a 1,1	
Gama	11,8 a 20,2	0,7 a 1,5	

Fonte de informações: CELM – Cia Equipadora de Laboratórios Modernos

6. ÍTENS PARA DISCUSSÃO:

- Como o corante negro de amido (amido black) cora as proteínas?
- Explique através do ponto isoelétrico (pI) e peso molecular (PM), porque que a albumina migra mais do que a gama-globulina ?
Dados: Albumina: PM=70.000, pI= 4,1
Gama-globulina: PM=1000.000, pI= 6,0

TEMPERATURA DE FUSÃO

1. OBJETIVOS

- a) Verificar a pureza de substâncias através da determinação do intervalo de fusão das mesmas.
- b) Identificar uma substância através do ponto de fusão misturado.

2. RESUMO DA TEORIA

a) Ponto de Fusão:

O ponto de fusão de um sólido cristalino é a temperatura na qual o sólido começa a se tornar líquido sob a pressão de uma atmosfera. Para substâncias puras, a mudança do estado sólido para líquido é bem definida (dentro de 0,5°C), sendo, portanto, a temperatura valiosa para fins de identificação. Além disso, o ponto de fusão é consideravelmente influenciado pela presença de outras substâncias e constitui, portanto, um importante critério de pureza.

A temperatura de fusão e de congelação são idênticas para uma substância pura, e é apenas a esta temperatura, na qual as pressões de vapor do líquido e do sólido são idênticos em grandeza, que o líquido e o sólido podem coexistir, contanto que a temperatura seja mantida constante.

b) Lei de Raoult

"A pressão de vapor de um componente de uma solução a uma dada temperatura é igual à pressão de vapor da substância pura multiplicada pela sua fração molar na solução:"

$$P_A' = P_A \cdot x_A$$

c) Ponto Eutético

Representa a temperatura e a composição em que o sistema líquido-sólido A-sólido B pode existir em equilíbrio.

d) Mistura eutética

Apresenta uma composição fixa que se funde e se congela como uma substância pura, a uma temperatura definida.

3. MATERIAL NECESSÁRIO

Aparelho de Fisher-Johns, lamínulas de vidro, gral, pistilo, espátulas, aparelho Quimis-340, capilares de vidro, termômetros, substâncias.

4. MÉTODO

- a) Triturar as substâncias.
- b) Para o aparelho de Fisher-Johns o material é colocado entre duas lamínulas e para o Quimis-340 dentro de um capilar.
- c) Iniciar o aquecimento e anotar a temperatura do início e final da fusão.

5. FUNDAMENTOS:

- a) Dos aparelhos: efeito Joule
- b) Da experiência: fenômeno da fusão

6. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS: organize tabela com os valores obtidos por todos os grupos.

Tabela 1. Intervalo de fusão para as substâncias e misturas analisadas.

APARELHO	SUBSTÂNCIA	GRUPO	INTERVALO DE FUSÃO (°C)	
			Handbook	Valor obtido
Fisher-Johns	Uréia	1		
	AAS	1		
	Ác. pícrico PA	2		
	Ác. pícrico recristalizado	3	xxxxxxxxxx	
Quimis I	Uréia	1		
	AAS	1		
	Substância X	1	xxxxxxxxxx	
	Ác. pícrico PA	2		
	Ác. pícrico recristalizado	3	xxxxxxxxxx	
Quimis II	Uréia (90%) + X (10%)	2	xxxxxxxxxx	
	Uréia (50%) + X (50%)	2	xxxxxxxxxx	
	Uréia (10%) + X (90%)	2	xxxxxxxxxx	
	AAS (90%) + X (10%)	3	xxxxxxxxxx	
	AAS (50%) + X (50%)	3	xxxxxxxxxx	
	AAS (10%) + X (90%)	3	xxxxxxxxxx	

7. ITENS PARA DISCUSSÃO:

- Eficiência dos aparelhos
- Pureza das substâncias
- Qual é a substância X ? Explique como chegou a esta conclusão.

TEMPERATURA DE EBULIÇÃO

1) OBJETIVO:

Determinação da temperatura de ebulição de diferentes amostras.

2) RESUMO DA TEORIA:

Se um líquido for introduzido em um recipiente onde se fez o vácuo, ele evaporará ou desprenderá vapor, até que atinja uma pressão definida, que depende apenas da temperatura. Diz-se então que o vapor está **saturado**.

A pressão de vapor de um líquido aumenta com a elevação da temperatura. Quando a pressão de vapor se torna igual à pressão *total* exercida sobre a superfície de um líquido, este **ferve**, isto é, é vaporizado por meio de bolhas formadas *no seio* do líquido. Quando a pressão de vapor do líquido é igual à pressão externa a que o líquido está sujeito, a temperatura, via de regra, não se modifica. Se o fornecimento de calor aumenta, a velocidade de formação de bolhas também aumenta e o calor de vaporização é absorvido. **O ponto de ebulição de um líquido** pode ser definido como a temperatura na qual sua pressão de vapor é igual à pressão externa exercida, em qualquer ponto, sobre a superfície. Esta pressão externa pode ser exercida pelo ar atmosférico, por outros gases, etc. O ponto de ebulição a uma pressão de 760 mm de mercúrio ou uma atmosfera, pode ser denominado de **ponto de ebulição normal**.

Se a pressão sobre a superfície for reduzida, vamos dizer, ligando-se o recipiente que contém o líquido a uma bomba de vácuo, o ponto de ebulição é baixado. Há vantagens no uso do ponto de ebulição mais baixo, sob pressão reduzida, na destilação de substância que se decompõem, por aquecimento, no ponto de ebulição sob pressão atmosférica. O acetilacetato de etila, que ferve com decomposição a 180°C sob pressão de 760 mmHg, ferve sem se decompor a 78 °C sob pressão de 18 mmHg (geralmente indicado como 78 °C/18 mmHg).

O ponto de fusão de um líquido puro, se determinado apropriadamente, tem um valor constante e definido a uma pressão constante, digamos a da atmosfera. O ponto de ebulição de um líquido impuro depende, em grande parte, da natureza física das impurezas. Ao adicionar um soluto não volátil em um solvente qualquer há um abaixamento de sua pressão de vapor e, conseqüentemente, uma elevação da temperatura de ebulição do solvente. Se, as impurezas forem voláteis, o ponto de ebulição pode elevar-se gradualmente à medida que o líquido for sendo destilado ou pode permanecer constante em uma etapa particular da destilação, graças à formação de uma mistura de ponto de ebulição constante de duas substâncias. Tais sistemas, que destilam sem variação de temperatura, são chamados **misturas azeotrópicas** (em grego: ferver sem variação). O comportamento de misturas de ponto de ebulição constante se assemelha ao de um composto puro, porque a composição da fase líquida é idêntica à da fase de vapor. A composição e ponto de ebulição de tais misturas variam com a pressão e, conseqüentemente, não constituem compostos químicos.

a) Cálculo do ponto de ebulição a pressões determinadas:

Às vezes, necessita-se do ponto de ebulição de um líquido a uma pressão não registrada na literatura. Este ponto pode ser calculado a partir da curva de pressão de vapor - temperatura. Para a maioria dos objetivos práticos, esta pode se apresentar sob a forma:

$$\log p = A + \frac{B}{T}$$

p = pressão de vapor

T = temperatura na escala absoluta

A e B são constantes

Se fizermos o gráfico de **log p** como ordenada contra **1/T** como abcissa, obtém-se uma linha reta.

b) Correção do ponto de ebulição para a pressão padrão (760 mmHg):

Para destilações efetuadas à pressão atmosférica, as pressões barométricas muito raramente são exatamente 760 mmHg. Para corrigir o ponto de ebulição observado para a pressão normal (760 mmHg), deve ser utilizada a seguinte equação:

$$\Delta t = \frac{(273,1 + t)(2,8808 - \log p)}{\phi + 0,15(2,8808 - \log p)}$$

$\Delta t = ^\circ\text{C}$ a serem adicionados ao ponto de ebulição observado.

t = ponto de ebulição observado.

$\log p$ = logaritmo da pressão atmosférica local em milímetros de mercúrio (Ribeirão Preto: ~710 mm Hg).

ϕ = entropia de vaporização a 760 mmHg.

Os valores de ϕ podem ser estimados pelo gráfico e tabela **apresentados na próxima folha**. Substâncias não incluídas na tabela podem ser agrupadas a substâncias semelhantes. Se o valor de ϕ da substância após a correção da temperatura (ϕ_2) for significativamente diferente do usado na primeira correção (ϕ_1) é importante fazer uma nova correção do Δt . *Para isto basta multiplicar o valor obtido de Δt pela razão ϕ_1/ϕ_2 .*

Pode-se, também, usar a seguinte expressão aproximada:

$$\Delta t = 0,00012 (760 - p) (t + 273)$$

Δt = é a correção, em graus centígrados, a ser aplicada ao ponto de ebulição observado t

p = pressão barométrica.

Para água, álcoois, ácidos e outros líquidos associados, é preferível usar-se a expressão:

$$\Delta t = 0,00010 (760 - p) (t + 273)$$

4) **FUNDAMENTO:** fenômeno da ebulição

4) **MATERIAL NECESSÁRIO:**

Sistema de destilação em tamanho micro, bico de bunsen, placa de amianto, tripé, termômetro, cacos de porcelana porosa, garras, suportes e amostras

5) **MÉTODO:**

- Montar o sistema de destilação: ligar o balão de destilação ao condensador, na extremidade do qual se coloca um recipiente para coletar o destilado. Adaptar o termômetro à boca do balão de destilação, posicionando o bulbo do termômetro no centro do gargalo do balão e ligeiramente abaixo (~ 5 mm) do nível do tubo lateral.
- Colocar o líquido no balão, através de um funil cuja haste se prolongue até abaixo do tubo lateral. Encher até a metade ou, no máximo, até dois terços da capacidade do balão.
- Adicionar alguns fragmentos de porcelana porosa. O material poroso promoverá uma ebulição regular no aquecimento subsequente; **nunca** deve ser adicionado ao líquido quente.
- Aquecer o balão numa tela de amianto ou em um banho de ar. O aquecimento pode ser rápido até que a ebulição comece; a chama deve, então, ser diminuída e ajustada, de maneira que o destilado seja coletado a uma velocidade de uma ou duas gotas por segundo. Deve-se ter em mente que, no início da destilação, é preciso um apreciável período de tempo para que o vapor aqueça a parte superior do balão e do termômetro. A destilação não deve ser muito lenta, pois o termômetro pode esfriar por falta de suprimento de vapor no bulbo, resultando, assim, um ponto de ebulição irregular. Por outro lado, a chama não pode ser muito grande, pois poderá aquecer diretamente uma parte do vapor, do que resultará superaquecimento.
- Continuar a destilação até que apenas um pequeno volume de líquido permaneça no balão.
- Registrar a temperatura a intervalos regulares. Se o líquido for puro, a maior parte destilará a uma temperatura constante (dentro da faixa de $0,5^\circ\text{C}$); esta temperatura constante é o ponto de ebulição do líquido.

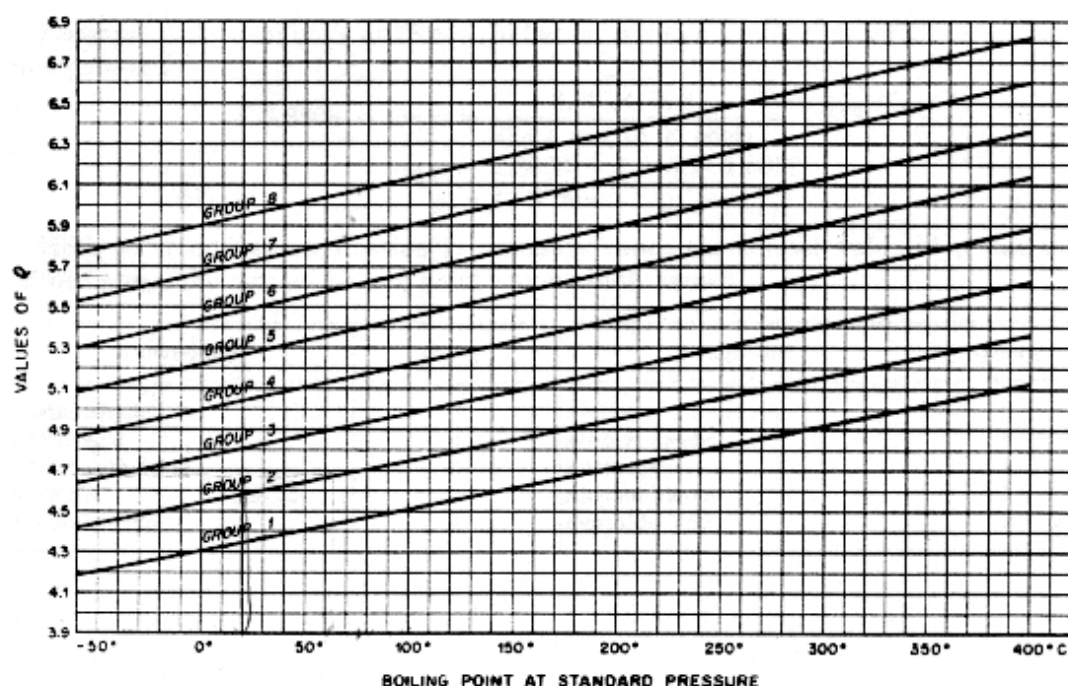
6) **TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS:**

- Faça as correções das temperaturas de ebulição obtidas à pressão local, para a pressão de 760 mmHg.
- Analise a pureza das substâncias, comparando a temperatura de ebulição obtida (corrigida) com os valores tabelados (Handbook).
- Explique as alterações de temperatura em função do tempo, observadas para as misturas testadas.

8) **QUESTÕES:**

- Por que se deve usar o caco de porcelana, por exemplo, em sistemas de destilação? Que outros
- O benzeno entra em ebulição a 20°C à pressão de 75 mmHg. Qual é seu ponto de ebulição normal (760 mmHg)?

Compound	Group	Compound	Group
Acetaldehyde.....	3	Amines.....	3
Acetic acid.....	4	n-Amyl alcohol.....	8
Acetic anhydride.....	6	Anthracene.....	1
Acetone.....	3	Anthraquinone.....	1
Acetophenone.....	4	Benzaldehyde.....	2
Benzoic acid.....	5	Hydrogen cyanide.....	3
Benzonitrile.....	2	Isoamyl alcohol.....	7
Benzophenone.....	2	Isobutyl alcohol.....	8
Benzyl alcohol.....	5	Isobutyric acid.....	6
Butylethylene.....	1	Isocaproic acid.....	7
Butyric acid.....	7	Methane.....	1
Camphor.....	2	Methanol.....	7
Carbon monoxide.....	1	Methyl amine.....	5
Carbon oxysulfide.....	2	Methyl benzoate.....	3
Carbon suboxide.....	2	Methyl ether.....	3
Carbon sulfoselenide.....	2	Methyl ethyl ether.....	3
m.p. Chloroanilines.....	3	Methyl ethyl ketone.....	2
Chlorinated derivatives.....	Same group as though Cl were H	Methyl fluoride.....	3
o.m.p. Cresols.....	4	Methyl formate.....	4
Cyanogen.....	4	Methyl salicylate.....	2
Cyanogen chloride.....	3	Methyl silicane.....	1
Dibenzyl ketone.....	2	α, β Naphthols.....	3
Dimethyl amine.....	4	Nitrobenzene.....	3
Dimethyl oxalate.....	4	Nitromethane.....	3
Dimethyl silicane.....	2	o.m.p. Nitrotoluenes.....	2
Esters.....	3	o.m.p. Nitrotoluidines.....	2
Ethanol.....	8	Phenanthrene.....	1
Ethers.....	2	Phenol.....	5
Ethylamine.....	4	Phosgene.....	2
Ethylene glycol.....	7	Phthalic anhydride.....	2
Ethylene oxide.....	3	Propionic acid.....	5
Formic acid.....	3	n-Propyl alcohol.....	8
Glycol diacetate.....	4	Quinoline.....	2
Halogen derivatives.....	Same group as though halogen were hydrogen.	Sulfides.....	2
Heptylic acid.....	7	Tetranitromethane.....	3
Hydrocarbons.....	2	Trichloroethylene.....	1
		Valeric acid.....	7
		Water.....	6



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BUENO, W. A; DEGRÈVE, L. Manual de Laboratório de Físico-Química, Editora McGraw-Hill do Brasil, São Paulo, 1980.

CROCKFORD, H.D.; NOWELL, J. W. Manual de Laboratório de Química-Física, Editorial Alhambra, Madrid S.A., 1961.

Farmacopéia Brasileira, 3ª edição, Organização Andrei Editora, AS, 1977.

Handbook of Chemistry and Physics, 57ª edição, WEAST, R. C. (editor), CRC Press, 1977.

NAOUM, P. C. Eletroforese: Técnicas e Diagnósticos, 1ª edição, Livraria Editora Santos, São Paulo, 1990.