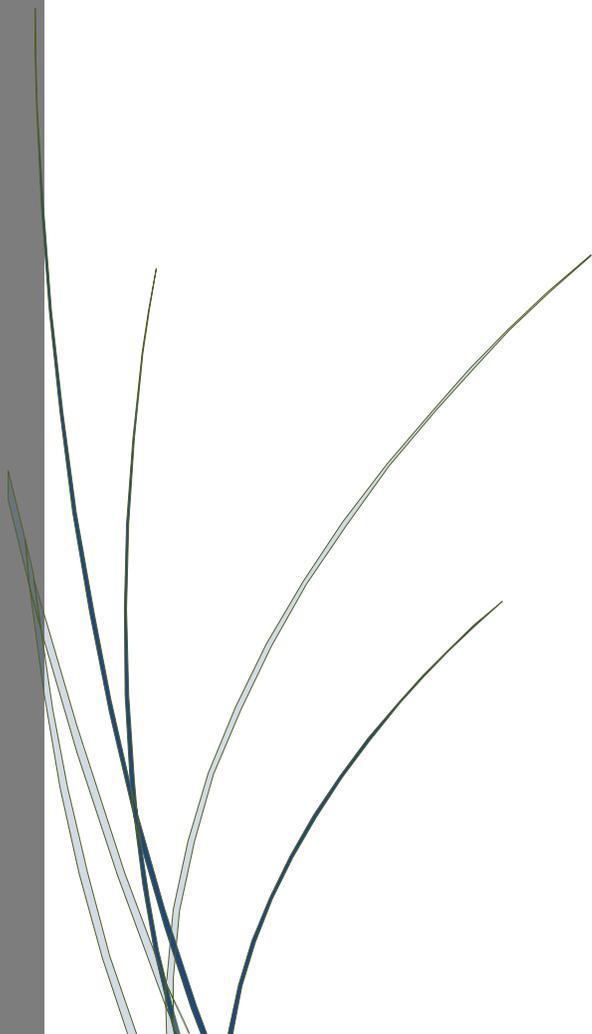




Apontamentos Introdução aos métodos Instrumentais de Análise

Métodos Instrumentais de Análise



BETTER MINDS

De estudantes para estudantes

Análise Química

Uma análise é um processo que fornece informações químicas ou físicas sobre os constituintes de uma amostra ou sobre a amostra [Identificação/Quantificação]

Análito

São os constituintes de interesse da amostra

é a espécie que pretendem determinar

Matriz

Todos os constituintes da amostra

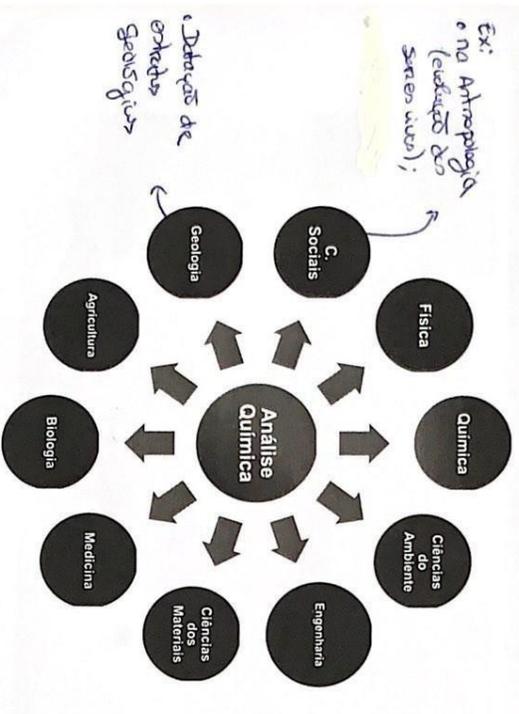
Matrizes complexas podem interferir na amostra que estamos a analisar

tudo o que tem; inclui o analito

Métodos Instrumentais de Análise

Introdução

Campos de Aplicação



Análise Clássica

- Método em que o processo de medição se baseia na medição de grandezas físicas convencionais. Exemplos: volumetria, gravimetria, etc.;
- Envolve reações químicas, dissolução, extração e estequiometria
- Podem ser muito elaboradas e demoradas
- Equipamentos usados: aparelho de pH e balança analítica

Análise Instrumental

- Métodos em que o processo de medição se baseia numa calibração com padrões químicos, geralmente por intermédio de uma curva de calibração
- Podem envolver reações químicas
- Usa essencialmente equipamento sofisticado
- É geralmente mais rápida
- Muito usada na identificação e quantificação de quantidades vestigiais

ppm (partes por milhão) e ppb (partes por bilhão)

Técnicas analíticas quanto ao sinal gerado

Quando se analisa uma amostra através de uma técnica gera-se um sinal químico ou físico cuja magnitude é proporcional à quantidade do analito na amostra. O sinal pode ser qualquer parâmetro que possamos medir.....

⊕ amostra
↑ vai ser o sinal

Análise Instrumental (quantidade verticais) (aparatos explicativos)

Absorção de radiação	espectrofotometria (UV-Vis IR, RMN, Rx, ...)
Emissão de radiação	espectroscopia de emissão atômica e molecular (UV-Vis) / fluorescência
Dispersão	luz difrativa, Raman
Razão m/z	espectrometria de massa
Refração	refractometria
Rotação	polarimetria / dicroísmo circular
Potencial eléctrico	potenciometria
Carga eléctrica	coulometria
Corrente eléctrica	voltametria
Resistência eléctrica	condutimetria
.....

Análise Quantitativa vs Qualitativa

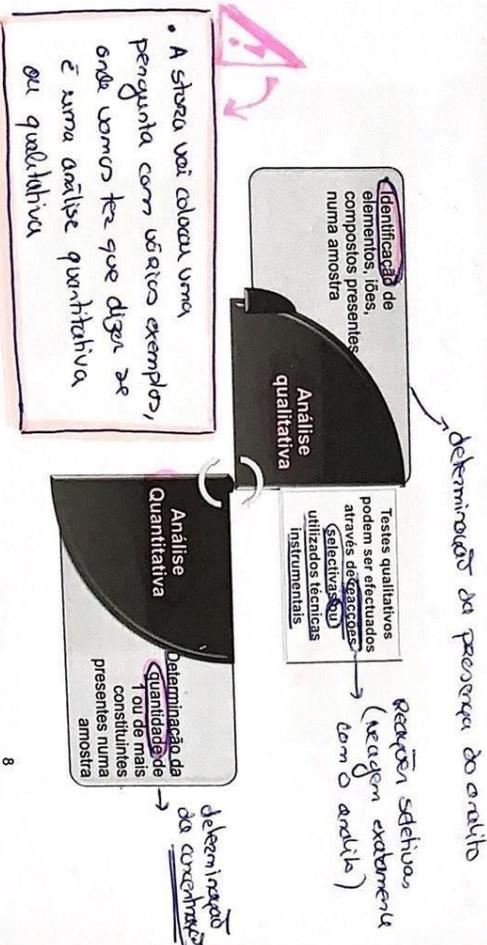


Table 11

Comparison of Different Analytical Methods

Method	Approx. Range (mol/L)	Approx. Precision (%)	Selectivity	Speed	Cost
Gravimetry	10 ⁻¹ -10 ²	0.1	Poor-moderate	Slow	Low
Titrimetry	10 ⁻¹ -10 ⁴	0.1-1	Poor-moderate	Moderate	Low
Potentiometry	10 ⁻⁶ -10 ⁴	2	Good	Fast	Low
Electrogravimetry, coulometry	10 ⁻¹ -10 ⁴	0.01-2	Moderate	Slow-moderate	Moderate
Volumetry	10 ⁻³ -10 ¹⁰	2-5	Good	Moderate	Moderate
Spectrophotometry	10 ⁻⁶ -10 ⁶	2	Good-moderate	Fast-moderate	Low-moderate
Fluorimetry	10 ⁻⁶ -10 ⁸	2-5	Moderate	Moderate	Moderate
Atomic spectroscopy	10 ⁻¹⁰ -10 ⁸	2-10	Good	Fast	Moderate-high
Chromatography	10 ⁻¹⁰ -10 ⁸	2-5	Good	Fast-moderate	Moderate-high
Kinetic methods	10 ⁻² -10 ¹⁰	2-10	Good-moderate	Fast-moderate	Moderate

intervalo em que se pode fazer medições com o método

podem verificar que são mesmo quantificáveis.

Análise Quantitativa vs Quantitativa

Análise Qualitativa

Isso queremos saber se há a presença do composto

Análise Quantitativa

Presença de resíduos de pólvora na mãos

Nota: Quando realizamos análises de teste hipótese, temos de fazer uma contagem - análise para saber se vale a pena fazer uma análise quantitativa, que é mais cara.

Análise rotineira
Utilização do rodizonato de sódio como reagente colorimétrico para a identificação de chumbo

[O-]C1=CC(=C(C=C1)C(=O)O)C(=O)O.[Na+].[Pb2+]>>[O-]C1=CC(=C(C=C1)C(=O)O)C(=O)O.[Na+].[Pb2+].[O-]C1=CC(=C(C=C1)C(=O)O)C(=O)O.[Na+].[Pb2+]

Complexação de chumbo com rodizonato

Ácido parasulfanílico para a constatação da presença de nítrios

9

Análise Quantitativa vs Quantitativa

Análise Qualitativa

Análise se substâncias ilícitas em competições desportiva

Análise Quantitativa

análises envolvem concentrações

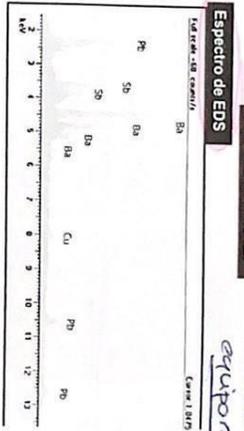
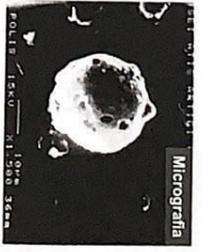
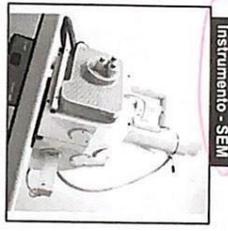
Artigo 19.º
Tramitação do controlo antidopagem

- O controlo antidopagem consiste numa operação de recolha de líquido orgânico do praticante desportivo, simultaneamente guardado em dois recipientes, designados como A e B, para exame laboratorial.
- O exame laboratorial compreende:
 - A análise ao líquido orgânico contido no recipiente A (primeira análise);
 - A análise ao líquido orgânico contido no recipiente B (segunda análise), quando o resultado da análise mencionada na alínea anterior indicar a suspeita da prática de dopagem.

Decreto-Lei nº 18397 de 28 de Julho
Alterado pela Lei nº 11239 de 14 de Setembro e pela Lei nº 182202 de 31 de Setembro

Análise Quantitativa vs Quantitativa

No momento do tiro são expelidos, além do projétil, diversos resíduos sólidos e produtos gasosos. Estas partículas sólidas apresentam características peculiares, quer pela sua morfologia, quer pela sua composição química, onde se encontram principalmente os elementos antimônio (Sb), bário (Ba) e chumbo (Pb) e, por exemplo, nítrios.



Exemplos de equipamentos de análise (instrumental)

Análise Quantitativa vs Quantitativa

Análise Qualitativa

Preço do carvão é determinado pelo teor em S

Análise Quantitativa

"Teor" é uma forma bonita de dizer "concentração".

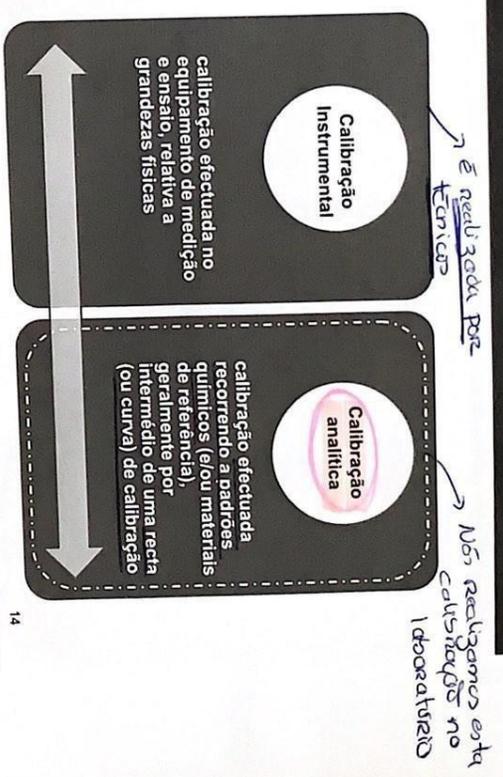
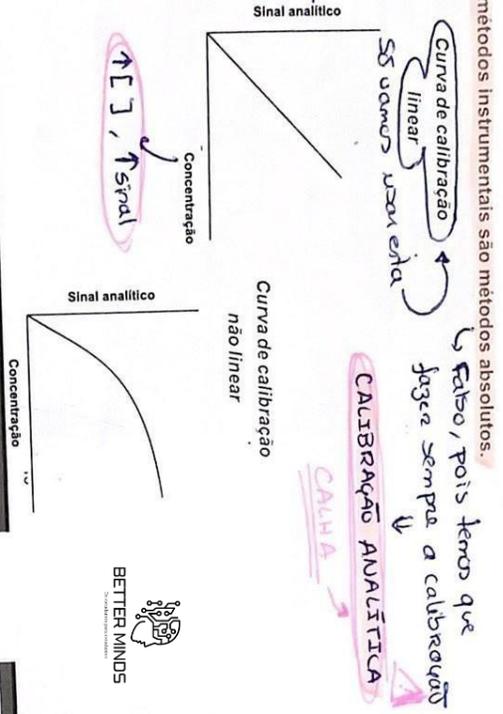


Análise Quantitativa vs Quantitativa

Verdadeiro ou Falso?

Qualquer que seja o método instrumental, o sinal analítico será sempre uma função da concentração do analito

A curva de calibração pode ser linear ou polinomial (correlação entre resposta instrumental e a concentração)



? O que é uma ...

...alíquota

porção da amostra que eu retiro

porção / constant

...interferência

qualquer coisa presente na amostra que altere o sinal analítico de alguma maneira

interfere no analito

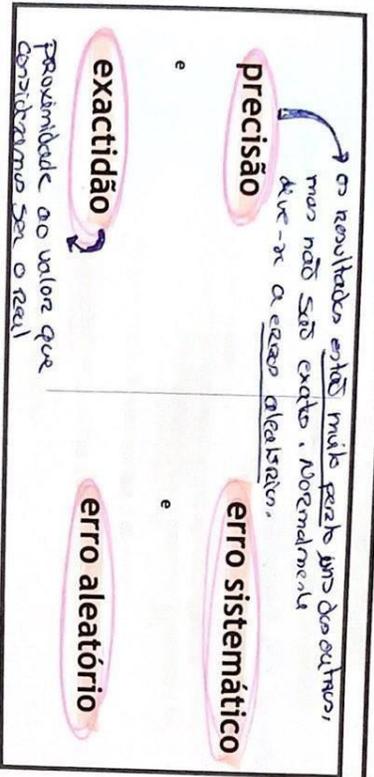
? Qual a diferença entre:

análise → eu analiso a amostra

determinação → eu determino o analito

Chat GPT: "a análise envolve a exploração e interpretação de informações, enquanto a determinação envolve tomar uma decisão ou definir um curso de ação com base nessa análise. Em muitos casos, a análise é um passo importante antes da determinação, pois fornece os conhecimentos necessários para tomar decisões."

? Qual a diferença entre:



17



Diferença entre exactidão e precisão

	Precisão	Exactidão
	X	X
	✓	X
	✓	✓

se fiquese a média, espalhar pelo do "valor real".

NOTA

- 1g ± 0,1 foram medidas com
 - 1,00g ± 0,01 incerteza ≠, logo,
 - 1,0000g ± 0,0001 balanças ≠
 - ↳ ± 0,1001
 - ↳ -A incerteza está no último algarismo.
- Se no protocolo estiver "medida 1g", ou vou ter que por 1,0000g no analítico, por ter em conta a incerteza da balança
- 10 ± 1
 - 1 ± 1 → a incerteza é maior

om-se os genes é direita!!
"Sei um zero à esquerda" = não conta

15ml
2
Número de casas decimais!

? Proceda ao arredondamento dos valores numéricos:

- o 9,47 → 9,5
- o 9,43 → 9,4
- o 8,65 → é par! logo fica o par → 8,6
- o 8,75 → é ímpar, logo fica o número acima → 8,8

Relativo

$$\frac{0,01 \times 100}{0,1005} = 0,983\%$$

2 casas decimais
Consoante a incerteza

$$\frac{0,0001 \times 100}{0,1005} = 0,09935\%$$

$$\frac{0,000004 \times 100}{0,005532} = 0,723\%$$

$$\frac{1}{15} \times 100 = 6,67\%$$

?

Complete a seguinte tabela:

	12,00 mL	0,1005 L	0,000532 L	15 mL
Nº Algarismos significativos	4	4	3	2
Incerteza relativa	$\pm 0,01$	$\pm 0,0001$	$\pm 0,000001$	± 1
Incerteza relativa (%)	0,083%			

contam-se os zeros à direita!!

"Seu um zero à esquerda" = não contar

número de casas decimais!

Incerteza relativa (%) $\rightarrow I_r = \frac{I_e}{\text{valor}} \times 100$

Calculo

$$\frac{0,01}{0,1} \times 100 = 0,083\%$$

2 casas decimais
casas da incertez

$$\frac{0,0001}{0,1005} \times 100 = 0,09935\%$$

$$\frac{0,000001}{0,000532} \times 100 = 0,187970\%$$

$$\frac{1}{15} \times 100 = 7\%$$



Qual o n° de algarismos significativos das seguintes medições ou dos resultados dos cálculos

a) $5,600 \times 10^{-4} \text{ g} \rightarrow 4$ (3 zeros à direita contam? = 0,0005600)

b) $1,2300 \text{ g/cm}^3 \rightarrow 5$ = 16, 2

c) $16,006 \text{ g} + 0,0501 \text{ g} = 3$ algarismos significativos

d) $28,39 \text{ g} - 6,39 \text{ g} = 22,00 \rightarrow 2$ algarismos significativos

e) $4,06 \text{ cm} \times 2,5 \text{ cm} = 10$ - 2 algarismos significativos

f) $0,200 \text{ g} / 2$ = uma constante!! Não influencia!!

g) $4,560 \times 10^{-4} - 5,67 \times 10^{-6}$ Não é 0,1 g, mas sim 0,100g (3 algarismos significativos)

no caso é uma multiplicação logo contamos o que tem menos n° de algarismos significativos.

têm que ter o mesmo expoente: $4,560 \times 10^{-4} - 0,0567 \times 10^{-4} = 4,50 \times 10^{-4}$

Etapas de uma análise química

Definição do problema → que informação preciso?

Seleção do método

Amostragem - Obtenção de uma amostra representativa

Conservação da amostra até à análise

Preparação da amostra para a análise - Processos de solubilização, digestão, extração para eliminar interferências

Análise/Medidação → Análise estrutural - saber os constituintes das moléculas

Tratamento dos resultados

Estimativa da incerteza associada ao resultado

Conclusões



Heurística

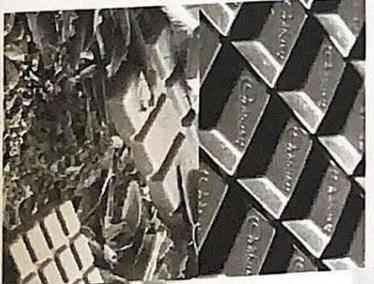
- As contas mais básicas que aprendemos na escola são \oplus e \ominus . É o que aprendemos primeiro? Não é os algarismos decimais?
- Então em somas e subtrações, alhamos para o menor número de casas decimais.
- O nº de casas decimais menor é o nº de algarismos com que nos que a apresenta o resultado

2022-2023

Uma amostragem mal feita cobra em causa toda a seguir



Determinação da cafeína da teobromina numa barra de chocolate



Definição do Problema

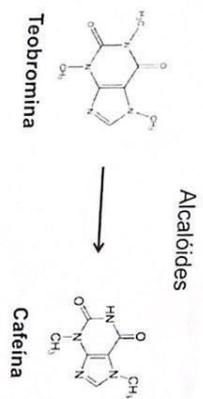
Qual a informação que eu preciso???

Determinação da cafeína e da teobromina numa barra de chocolate

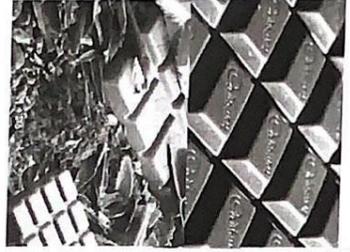


Na sua composição, o chocolate tem:

- x cafeína (estimulante do sistema nervoso central)
- x teobromina (um precursor da cafeína) tem menos impacto no sistema nervoso central mas estimula mais o coração. Ainda que a teobromina não seja uma substância viciante, alguns sugerem que seja uma do "vício por chocolate".
- (diurético, relaxante muscular, estimulante cardíaco e vasodilatador)



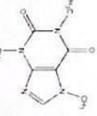
Escolha do método



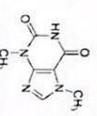
Que informação analítica será necessária?

- Análise Qualitativa
 - Análise Quantitativa
 - Análise Estrutural ou Especificação
- Sabe as combinações da amostra

Determinação da cafeína

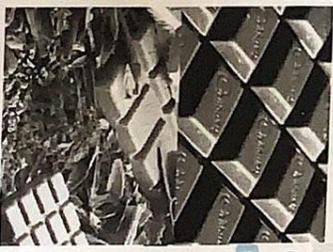


e da teobromina



numa barra de chocolate

Escolha do método



Qual a quantidade de amostra disponível?

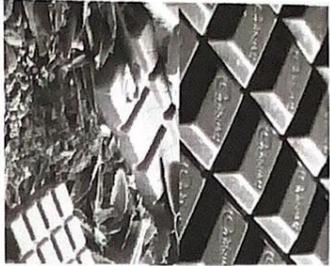
- Macro-análise → ex: tiraça solo
 - Semi-microanálise
 - Micro-análise
- No análise: se formos analisar a cafeína presente no chocolate, não está em macro-análise.

- O excesso de cafeína é prejudicial para muitas pessoas, e mesmo pequenas quantidades não são bem toleradas por alguns indivíduos.
- x Quanta cafeína possui uma barra de chocolate? → concentração
- x Qual a diferença existente entre esse valor e a quantidade presente no café e nos refrigerantes? → comparação
- x Como podemos medir a quantidade de cafeína e de teobromina presente numa barra de chocolate?

Procura de Metodologias para efectuar esta análise



Escolha do método



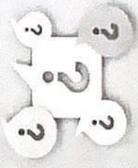
Qual a concentração amostra?

- Macroanálise
- Microanálise
- Vestigial < 0,1%

Escolha do método
Cromatografia Líquida de alta Eficiência (HPLC)



Escolha do método



Qual a composição da amostra?

ETAPAS ANÁLISE QUÍMICA

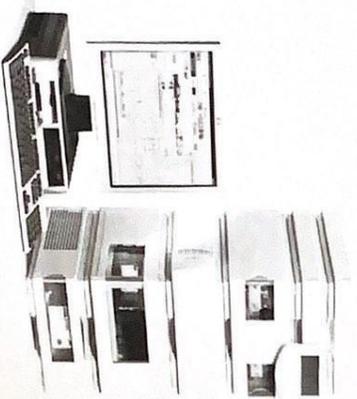
- 1º Definição do problema
- 2º Escolha do método:
 - Análise qualitativa;
 - Análise quantitativa;
 - Análise Estrutural / Espectroscópica

Informação analítica

Quantidade de amostra

- Marca-análise
- Semi - microanálise
- Micro-análise
- Macroanálise > 1%
- Microanálise 0,1 - 1%
- Vestigial < 0,1%

→ composição da amostra



Amostragem

Procura de uma amostra representativa.
Todos os chocolates são iguais?



Escolhe a estrutura

A amostra é:
 x Homogênea
 x Heterogênea

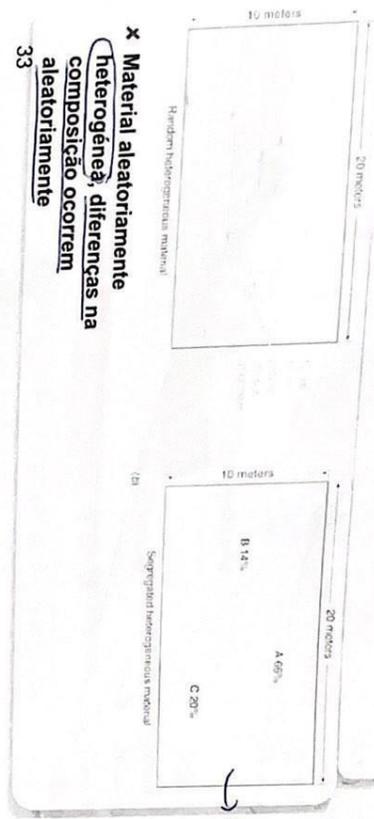
32
 Depois
 • escolher se vai ser da mesma marca ou de marcas #, do mesmo lote e fabricado em vários dias.

Amostragem

Procura de uma amostra representativa.
Todos os chocolates são iguais?

A amostra é:

- Homogênea
- Heterogênea

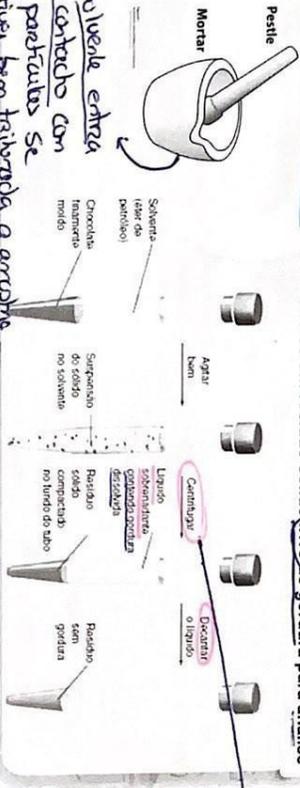


x Material aleatoriamente heterogêneo, diferenças na composição ocorrem aleatoriamente

É sólido? → congela-se / semi-congela-se, parte-se a amostra e trituramos com o almofariz.
Tratamos toda a gordura / retirando-a!

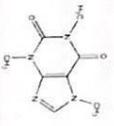
Preparação da amostra

Extracção da gordura do chocolate, obtendo-se um resíduo sólido livre de gordura para análise

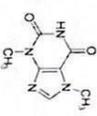


x Retirar a gordura vegetal para não interferir durante as análises, assim adiciona ao chocolate, éter de petróleo, visto que este solvente não dissolve os compostos de interesse.

Determinação da cafeína



e da teobromina



numa barra de chocolate

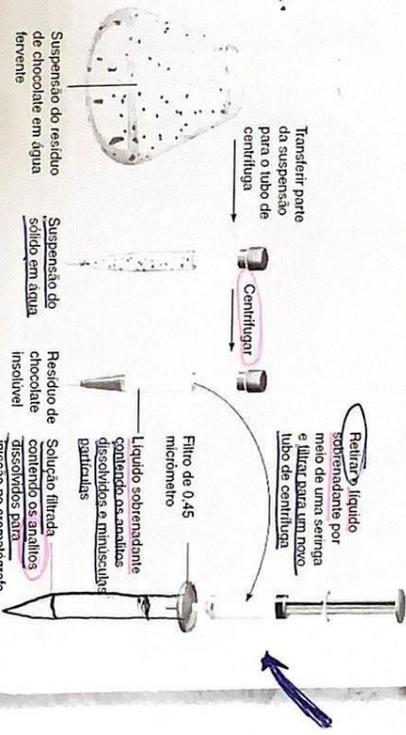


Amostragem

- O chocolate é homogêneo em toda sua extensão?
- Todo chocolate é igual?
- Qual a composição do chocolate?
- Que informações é possível recolher na literatura?
- Na fabricação dos tabletes de chocolates, o teor de cafeína e teobromina permanece constante em lotes diferentes?
- Chocolate com amêndoas tem a mesma composição que o chocolate isento de amêndoas ou no chocolate branco?

Preparação da amostra

Extrair a cafeína e a teobromina (analitos) com água Centrifugação e filtração usadas para separar resíduos sólidos indesejáveis da solução aquosa dos analitos



Análise Química

Análise por Cromatografia líquida de alta eficiência

Princípio da cromatografia líquida

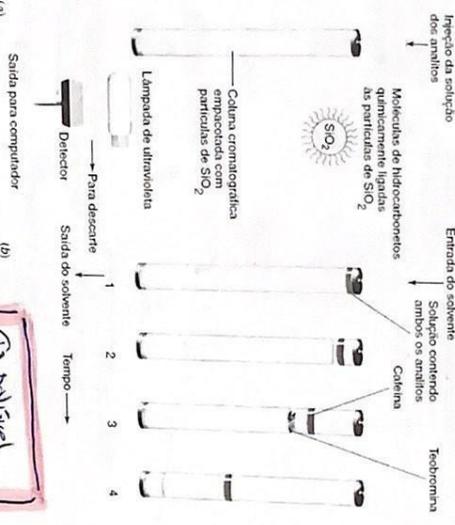
(a) Dispositivo cromatográfico contendo um detector por absorção de UV para detectar os analitos à saída da coluna

(b) Separação entre a cafeína e a teobromina por cromatografia. A cafeína é mais solúvel do que a teobromina na camada de hidrocarboneto sobre as partículas da coluna.

Cafeína é retida mais fortemente e move-se por meio da coluna mais lentamente do que a teobromina.

37

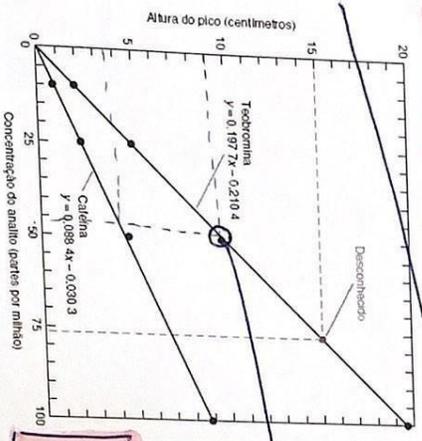
a cafeína separa-se mais lentamente da teobromina por que km mais afinidade



Análise de Resultados

Análise por Cromatografia líquida de alta eficiência

Curva de Calibração - Soluções padrão



⊕ Solúvel
⊕ Afinidade

injetar vários padrões para se permitir ler as retas de calibração para cada uma.

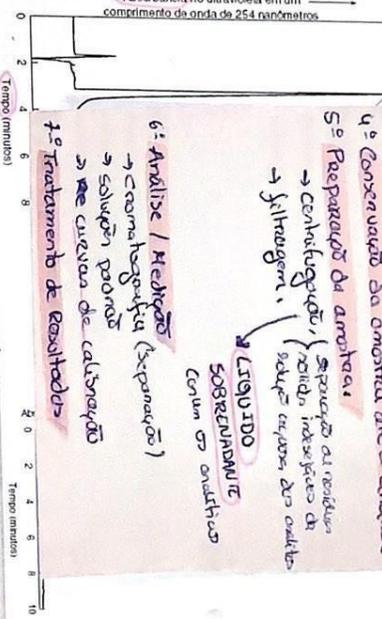
a teobromina é uma a análise mais sensível, pois apresenta maior desvio.

↑ Delicadeza
↑ Sensibilidade

IMPORTANTE

Análise

x Solução padrão (20 µl e 50 µg ml⁻¹ de teobromina)



38

Se conseguir identificar o que é cada um desses "traços" se injetar uma solução padrão e ver o tempo que demoram.

Análise de Resultados

Resultados obtidos para a análise dos chocolates preto e branco

Análito	Gramas de analito por 100 gramas de chocolate	
	Chocolate preto	Chocolate branco
Teobromina	0,392 ± 0,002	0,010 ± 0,007
Cafeína	0,050 ± 0,003	0,0009 ± 0,0014

Média ± desvio-padrão de três injeções de cada extrato.

Podemos usar fruta que o chocolate branco possui quantidades menores, pois km mais gordura

Se os resultados das três injeções forem iguais, qual o valor do desvio padrão? Se os resultados não são muito reprodutíveis, o que acontece ao desvio padrão?

Resultados obtidos para a análise dos chocolates preto e branco

Análito	Gramas de analito por 100 gramas de chocolate
Chocolate preto	0,392 ± 0,002
Chocolate branco	0,010 ± 0,007
Teobromina	0,050 ± 0,003
Cafeína	0,000 9 ± 0,001 4

Média ± desvio-padrão de três injeções de cada extrato.

O objetivo da análise é chegar a uma conclusão.

As questões apresentadas no início

Quanta cafeína possui uma barra de chocolate?

Qual a diferença existente entre esse valor e a quantidade presente no café e nos refrigerantes?

Resultados

Amostra	Teobromina	Cafeína
Coca-cola (mg/L) (*1)	< LOD	106,7
Chá verde (mg/100 g amostra) (*1)	32,0	1263,1
Chá Lipton (mg/L) (*2)	133,9+/-1,8	110,6+/-5,2
Cacau (mg/100 g amostra) (*1)	462,1	48,9
Chocolate Milka (mg/100 g amostra) (*1)	100,4	5,6
Pepsi (mg/L) (*2)	102,7+/-1,7	n.d.
Lipton ice tea (mg/L) (*2)	62,2+/-5,1	20,4+/-3,4

(*1) Sofroneic, B, Golic, N, Jilge, R, and Leopoldic, Z (2008). Simultaneous HPLC determination of caffeine, theobromine, and theophylline food drinks, and herbal products. J Chrom. Sci. 46, 134-139
 (*2) Al-Qaim, F.S., Nur, A., Musa, Z. H. (2018). Determination of theobromine and caffeine in some Malaysian beverages by liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. Trop. J. Pharm. Res. 17, 529-535

Etapas de uma análise química

Definição do Problema



Traduzir questões gerais em questões específicas para serem respondidas por meio de medidas químicas

Selecionar os procedimentos analíticos

Encontrar na literatura química procedimentos apropriados ou, se necessário, desenvolver novos procedimentos, para fazer as medições necessárias, tendo em conta:

Natureza da amostra (e matriz)

Pequena quantidade não permite testar o método

A natureza da matriz influencia a metodologia a seguir

Nível de concentração

Tipo de análise (qualitativa ou quantitativa)

Tempo de análise/custo

Definição da exatidão necessária/compromisso entre exatidão e custo

Etapas de uma análise química

Amostragem Representativa

Processo de seleção do material a ser analisado



Amostragem envolve a obtenção de uma quantidade de amostra "representativa"

Se começarmos com uma amostra não representativa ou se ocorrerem modificações na amostra durante o intervalo de tempo entre a coleta das amostras e a análise, os resultados não terão qualquer significado.

conservação da amostra até à análise



Etapas de uma análise química

Preparação da

Amostra

Processo em que a amostra representativa é convertida em uma forma apropriada para a análise química, pode envolver:

- Moagem/homogeneização
- Armazenagem / higroscopicidade - determinação a seco
- Dissolução/Digestão
- Remoção ou mascaramento de espécies que interferem na análise química
- Ajustes das condições das soluções

45

Etapas de uma análise química

Tratamento dos

Resultados e

Relatório

Análise Estatística
Apresentação dos resultados com informação da precisão/exatidão

No fim, o químico analítico deve traduzir os resultados em termos que sejam compreendidos, de preferência pelo público em geral.

→ dá a importância do uso adequado de unidades SI.

47

Etapas de uma análise química

Análise/Medição

Calibração

Validação/controlo/brancos ?

Réplicas

repliques aumentam a qualidade dos resultados - aumenta o grau de confiança

Medir a concentração do analito em várias alíquotas (porções) idênticas.

O objectivo das medidas repetidas (Réplicas) é avaliar a variabilidade (incerteza) na análise e precaver contra algum erro grosseiro na análise de uma única alíquota

46