



Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Brasília

Campus Gama

Licenciatura em Química

Camila Dias Meneses

**PROPOSTA DE UM ROTEIRO EXPERIMENTAL BASEADO NA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA DO USO DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS E CROMATOGRAFIA
GASOSA NA DETERMINAÇÃO DE IMPUREZA EM MISTURAS ALCOÓLICAS**

Brasília
2021

Camila Dias Meneses

**PROPOSTA DE UM ROTEIRO EXPERIMENTAL BASEADO NA REVISÃO
BIBLIOGRÁFICA DO USO DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS E CROMATOGRAFIA
GASOSA NA DETERMINAÇÃO DE IMPUREZA EM MISTURAS ALCOÓLICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção de título de Licenciado Pleno em Química ao Curso Superior de Licenciatura em Química do *Campus* Gama do Instituto Federal de Brasília.

Orientadora: Nizamara Simenremis Pereira.

Brasília
2021

CIP — Catalogação na Publicação

M543p Meneses, Camila Dias

Proposta de um roteiro experimental baseado na revisão bibliográfica do uso de espectroscopia UV-VIS e cromatografia gasosa na determinação de impureza em misturas alcólicas / Camila Dias Meneses ; orientação Profa. Dra. Nizamara Simenremis Pereira — Brasília, 2021.

45 f.

Orientadora: Profa. Dra. Nizamara Simenremis Pereira.

Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação — Licenciatura em Química) — Instituto Federal de Brasília, Campus Gama, 2021.

1. Espectroscopia. 2. UV-VIS. 3. Cromatografia. I. Pereira, Nizamara Simenremis, orient. II. Título.

CDU 543.5

Elaborado com os dados fornecidos pela autora, sob a responsabilidade do bibliotecário Daniel R. Guimarães — CRB/1ª 2961.

CAMILA DIAS MENESES

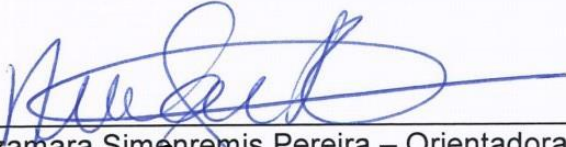
**PROPOSTA DE UM ROTEIRO EXPERIMENTAL BASEADO NA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA DO USO DE ESPECTROSCOPIA UV-
VIS E CROMATOGRAFIA GASOSA NA DETERMINAÇÃO DE
IMPUREZA EM MISTURAS ALCOÓLICAS**

Trabalho de Conclusão do Curso
apresentado como requisito parcial para
obtenção de título de Licenciado Pleno em
Química ao Curso Superior de Licenciatura
em Química do *Campus* Gama do Instituto
Federal de Brasília.

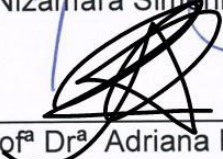
Orientadora: Nizamara Simenremis Pereira

Aprovado em 05 de março de 2021.


BANCA EXAMINADORA



Profª Drª Nizamara Simenremis Pereira – Orientadora



Profª Drª Adriana Linhares Drummond



Prof Dr Rodrigo Alves da Silva

Dedico o presente trabalho a Deus, minha família, minha filha, meus amigos e minha orientadora que me acompanharam nessa jornada e me deram forças, incentivo e colaboraram para a conclusão deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Processo de produção de etanol a partir da cana-de-açúcar	12
Figura 2 – Ação do etanol na bactéria	14
Figura 3 - Diagrama demonstrando o funcionamento interno do espectrofotômetro.	16
Figura 4 - Níveis de energia eletrônica e transições.....	17
Figura 5 - Espectro da luz com medidas de comprimento de onda	17
Figura 6 - Esquema do funcionamento de UV-VIS feixe único	18
Figura 7 - Esquema do funcionamento de UV-VIS feixe duplo.....	19
Figura 8 - Luz incidindo sobre amostra absorvedora.....	21
Figura 9 – Exemplo gráfico da curva de calibração	23
Figura 10 - Resultado de Medição de etanol anidro por UV-VIS	25
Figura 11 - Composição de um cromatógrafo de gás típico	27
Figura 12 - Curva de calibração	34
Figura 13 - Gráfico da curva de calibração para determinação da concentração de etanol em amostras de sangue.	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de metanol e etanol permitidas em bebidas, segundo legislação brasileira.....	32
Tabela 2 - Valores obtidos das análises em cromatografia gasosa	33

LISTA DE SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CG	Cromatografia Gasosa
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CRQ- III	Conselho Regional de Química – Terceira Região
UV-VIS	Ultravioleta- Visível

RESUMO

O presente trabalho buscou propor um roteiro experimental baseado na revisão bibliográfica do uso de espectroscopia UV-VIS e cromatografia gasosa na determinação de impureza em misturas alcoólicas, levando em consideração que essa determinação e análise da qualidade do álcool 70% em uma aula prática de química mostra-se relevante ao passo que auxilia na aprendizagem do aluno tendo em vista que as aulas de laboratório facilitam o aprendizado, pois integram a teoria com a parte prática, assim como permite uma contextualização com o cotidiano e situação atual do momento presente. O trabalho fundamentou-se nos princípios básicos de funcionamento de um espectrômetro de UV-VIS, bem como de um cromatógrafo gasoso, assim como na revisão bibliográfica de estudos que se utilizaram de análises semelhantes por meio dessas duas técnicas. Os resultados das revisões bibliográficas permitiram concluir que as técnicas de UV-VIS e cromatografia gasosa mostraram-se realmente úteis e amplamente utilizadas na determinação de concentração de etanol em misturas alcoólicas. Sendo possível, então, por meio dessas técnicas determinar o teor de etanol assim como detectar possíveis impurezas em misturas alcoólicas.

Palavras-chave: Cromatografia. Espectroscopia. UV-VIS. Roteiro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. JUSTIFICATIVA.....	11
3. OBJETIVOS.....	11
3.1 Objetivo Geral	11
3.2 Objetivos Específicos.....	12
4. CAPÍTULO 1 - PRODUÇÃO DE ETANOL NO BRASIL.....	12
4.1 - Propriedades antissépticas do álcool.....	13
5. CAPÍTULO 2 - PRINCÍPIOS DA ESPECTROSCOPIA UV-VIS.....	15
5.1 - A lei de Lambert -Beer	20
6. CAPÍTULO 3 - PRINCÍPIOS BÁSICOS DA CROMATOGRAFIA GASOSA.	26
7. CAPÍTULO 4 – IMPORTÂNCIA DAS AULAS PRÁTICAS NO ENSINO DE QUÍMICA	37
8. ROTEIRO PROPOSTO PARA UMA AULA DE LABORATÓRIO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL.	37
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
10. REFERÊNCIAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

O álcool destaca-se em diversos cenários, sendo eles acadêmicos, industriais, cotidianos, um dos fatores que levam a esse destaque é por ser considerado um produto com ação antisséptica. No último ano, a utilização do álcool sofreu um grande aumento especialmente devido ao surgimento de uma pandemia mundial, ocasionada pela COVID-19.

A ANVISA autorizou, em 2020, a fabricação e comercialização de sanitizantes à base de etanol para pequenas empresas, sem autorização do órgão regulador. Essa medida teve como objetivo aumentar a produção de sanitizantes frente a uma demanda crescente no início da pandemia. Após essa autorização, é natural o aumento do número de fabricantes, bem como o aumento da probabilidade de fraudes e da não conformidade de desinfetantes comerciais (PASQUINI; HESPANHOL; CRUZ; PEREIRA, 2020). Diante desse contexto se faz necessário o monitoramento da qualidade desse tipo de produto.

Partindo desse pressuposto, o presente trabalho busca propor métodos para a realização dessa análise no âmbito prático de uma aula de química. Para isto, dois métodos são apresentados: espectroscopia por UV-VIS e cromatografia gasosa. Isso pois, são consideradas duas técnicas com grande eficiência na determinação de concentrações e na detecção de impurezas em compostos orgânicos. Levando em consideração também que grande parte das aplicações espectroscópicas para compostos orgânicos são fundamentadas, especialmente, em transições de elétrons, a energia demandada para este processo favorece a presença de picos capazes de absorver em uma região espectral experimental conveniente (200 a 700 nm), que se encontra dentro da região do UV-VIS. E, tendo em vista que os cromatogramas obtidos por cromatografia gasosa são amplamente usados para estabelecer a pureza de compostos orgânicos (SKOOG, 2009).

Diante de tal problemática, este trabalho propõe um roteiro tendo como base esses dois métodos, a fim de ser ministrado e posto em prática em uma aula de laboratório de análise instrumental, com o objetivo de oferecer aos participantes noções e aprendizado sobre UV-VIS e cromatografia gasosa e sobre como analisar a qualidade dos resultados.

2. JUSTIFICATIVA

Em 2020, devido a uma pandemia, aumentou-se o uso de álcool líquido e álcool em gel por todo o mundo. Segundo a Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), o Brasil registrou um aumento de 7,5% da produção de etanol em relação à 2018/2019, registrando um total de 35,6 bilhões de litros, que foram provenientes da cana-de-açúcar e milho, sendo a maior produção da história.

Tendo em vista o fato citado, buscou-se um estudo baseado nos métodos utilizados em uma aula de química para a realização da análise do álcool 70% com o intuito de verificar contaminantes no álcool, como também estimar a qualidade e pureza do álcool produzido no Brasil, levando em consideração que essa é considerada a melhor concentração para que haja uma ação antisséptica.

Diante de tal conjuntura, a análise da qualidade do álcool 70% em uma aula prática de química analítica pode ser relevante não apenas pelo aspecto teórico-prático do processo de aprendizagem, mas também pela contextualização desse conteúdo com a situação do cotidiano da sociedade neste momento.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Propor métodos de análise da qualidade do álcool 70% para uma aula prática de análise instrumental.

3.2 Objetivos Específicos

- 1 - Revisar os princípios básicos de funcionamento de espectrofotômetro UV-VIS;
- 2 - Revisar os princípios básicos de funcionamento de cromatógrafo a gás;
- 3 - Fazer uma triagem de artigos e normas da farmacopéia sobre a análise de etanol por UV-VIS e cromatografia gasosa;
- 4- Propor um roteiro experimental a ser testado para análise de impurezas do etanol por espectrofotometria UV-VIS e CG.

4. CAPÍTULO 1 - PRODUÇÃO DE ETANOL NO BRASIL

O álcool ou etanol é uma substância química representada pela fórmula $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, e é considerado um composto orgânico, sua obtenção pode ser feita a partir do processamento e fermentação de cana-de-açúcar, milho, beterraba, batata, entre outros, sendo a cana a matéria-prima mais utilizada para este fim (NOVACANA, 2020). As etapas da produção de etanol por meio da cana-de-açúcar se baseiam na colheita da cana-de-açúcar, moagem, pré-tratamento do bagaço, hidrólise da cana, posteriormente ocorre a fermentação do caldo e a destilação do etanol, como são representadas na Figura 1.

Figura 1 – Processo de produção de etanol a partir da cana-de-açúcar

O futuro na segunda geração de etanol

Após o uso do caldo da cana na primeira geração, utilizam-se o bagaço e as folhas no processo de hidrólise. Na etapa final, ocorre a fermentação tradicional por leveduras que transformam os açúcares em etanol



Fonte: OLIVEIRA, 2012

O etanol é considerado um composto leve, miscível em água em qualquer

proporção, isso se explica pelas suas interações intermoleculares e pela presença da hidroxila (OH) em sua composição molecular, fazendo com que o etanol se comporte como uma substância polar. Possui propriedade inflamável e em seu estado puro, o álcool é tóxico. Dentre os álcoois, o etanol é o mais comum. A composição em massa da molécula de etanol é de 52,24 % de Carbono, 13,13 % de Hidrogênio e 34,73 % de Oxigênio (NOVACANA, 2020).

O etanol é bastante comercializado como líquido, gel, álcool combustível e as concentrações de soluções alcoólicas líquidas mais comuns de se produzir e comercializar são:

- Álcool etílico 46° INPM (referente a 46% em massa de álcool e 54% em massa de água), mais utilizado para limpeza de superfícies e não possui ação desinfetante;
- Álcool etílico 70° INPM (referente a 70% em massa de álcool e 30% em massa de água), utilizado como bactericida;
- Álcool etílico 92,6° ou 92,8° INPM (referente a 92,6% ou 92,8% em massa de álcool e 7,4% ou 7,2% em massa de água), comumente utilizado na indústria química e na assistência à saúde;
- Álcool etílico Absoluto ou PA (referente a 99,9% em massa de álcool e 0,1% em massa de água), possui sua utilização voltada a laboratórios e na indústria química; e
- Álcool isopropílico 99,6° INPM (referente a menos de 1% em massa de água), utilizado na indústria e para limpeza de eletrônicos. (CRQ-III, 2020).

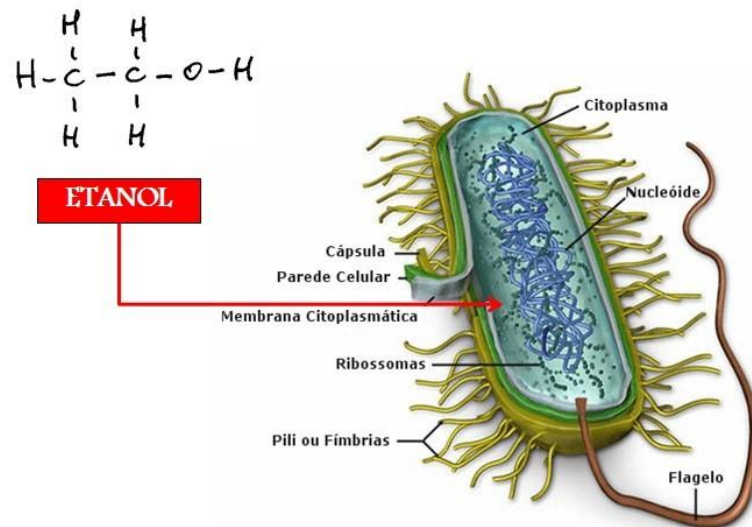
O °INPM significa Instituto Nacional de Pesos e Medidas. O grau INPM é a fração em massa. Já o grau GL é a fração em volume e também esta representação poderá ser encontrada em alguns fracos – °Gay Lussac (°GL= %V) (CRQ-III, 2020).

4.1 - Propriedades antissépticas do álcool

O álcool apresenta ação antisséptica e um fator importante para definir sua atividade antimicrobiana é a quantidade de água presente no álcool.

Segundo Cunha (2016), o álcool destrói a membrana celular externa da bactéria por meio da desidratação (Figura 2), isso acontece devido ao álcool possuir propriedades higroscópica e hidrofílica. Em seguida, as moléculas de álcool penetram no citoplasma e, com isso, precipitam as proteínas por meio da desnaturação. Posteriormente, ocorre a coagulação de enzimas responsáveis por atividades celulares essenciais. Ao utilizar o álcool (etanol) com concentração de 99,6% para desinfecção, há uma coagulação extremamente rápida, e isso faz com que não haja penetração no interior da célula e, portanto, não ocorre a ação de matar o micróbio. Essa ineficácia se dá devido à alta volatilização do álcool em altas concentrações.

Figura 2 – Ação do etanol na bactéria



Fonte: CUNHA (2016)

Logo, o álcool não possui maior ação bactericida pelo fato de apresentar uma porcentagem maior de concentração em massa de álcool (por exemplo, o álcool 99,6%). Por conseguinte, quanto maior a concentração do álcool, mais difícil será sua penetração no interior da célula, devido à rapidez de sua evaporação, explicada pela propriedade de volatilidade. Deste modo, perderá sua eficácia na ação antimicrobiana (CRQ-III, 2020).

Diante disso, o álcool 70% é considerado o de melhor concentração para o objetivo antisséptico, isso pois, a quantidade de água facilita a entrada do álcool na

bactéria e também retarda a evaporação, permitindo maior tempo de contato (CRQ-III, 2020).

Conforme exposto anteriormente, devido à pandemia de COVID 19, em 2020, várias indústrias que não tinham experiência na produção de álcool em gel foram autorizadas pela ANVISA a utilizar suas instalações para produção de sanitizantes. Com isso, a probabilidade de fraude e produtos fora das recomendações da ANVISA aumentou, desta forma, o monitoramento da qualidade desses produtos torna-se indispensável (PASQUINI; HESPANHOL; CRUZ; PEREIRA, 2020). Para realizar esse monitoramento de sanitizantes à base de etanol podem ser aplicados diversos métodos, dentre eles a espectrofotometria, por meio de UV-VIS e a técnica de cromatografia gasosa.

Posto isso, vale salientar alguns princípios de técnicas utilizadas em análises químicas, a fim de revisar e entender os princípios básicos de funcionamento de espectroscopia UV-VIS e também da cromatografia gasosa, com o intuito de propor um roteiro experimental a ser testado para análise de impurezas do etanol por esses métodos citados.

5. CAPÍTULO 2 - PRINCÍPIOS DA ESPECTROSCOPIA UV-VIS

A espectroscopia pode ser definida como toda técnica analítica que usa a luz para medir as concentrações das soluções, através da interação da energia radiante com a matéria (SILVA, 2015).

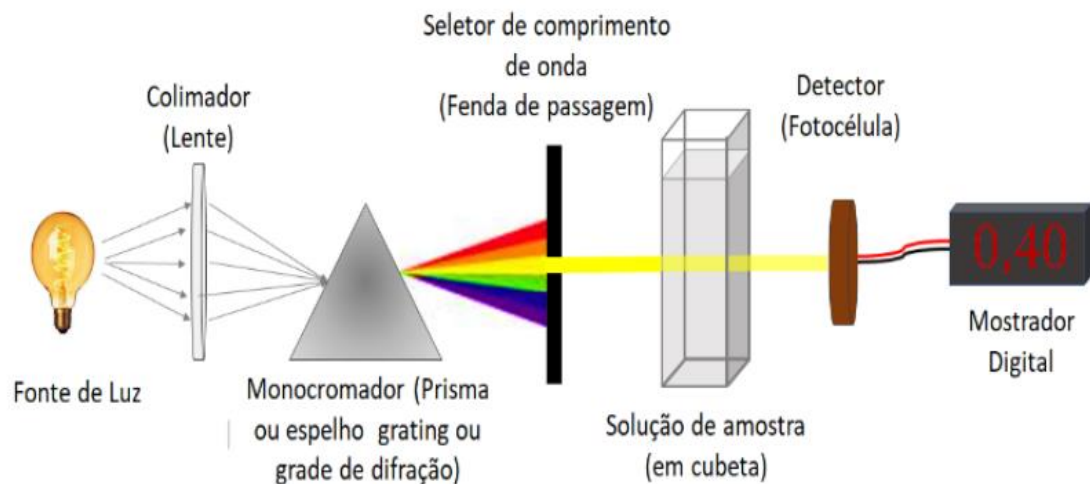
De acordo com Vogel (2002, p. 351), para realizar a análise espectrofotométrica, utiliza-se uma fonte de radiação, a qual alcança a região ultravioleta do espectro. A espectrofotometria é, então, um método usado para estimar o nível de um analito em solução. Ele se baseia no princípio de que os materiais absorvem a luz de um determinado comprimento de onda à medida que passa pela solução.

O espectrofotômetro de UV-VIS é um instrumento que apresenta um sistema óptico, no qual dispersa a radiação eletromagnética incidente, e permite medir a quantidade de radiação que é transmitida em certos comprimentos de onda

selecionados da faixa espectral (VOGEL, 2002, p.351). Esse equipamento determina os valores de transmitância e absorbância, luz transmitida e luz absorvida, respectivamente, de uma solução em determinados comprimentos de onda. Ele mede a quantidade de fótons absorvida depois de passar pela amostra, dando assim sua intensidade luminosa. Segundo Skoog et al. (2015), o espectrofotômetro utiliza um monocromador ou um policromador em conjunto com transdutor com o intuito de converter as intensidades radiantes em sinais elétricos.

A estrutura do espectrofotômetro UV-VIS é constituída por uma fonte de luz, um monocromador e um detector (Figura 3). Essa fonte de luz costuma ser uma lâmpada de deutério que emite radiação eletromagnética na região ultravioleta do espectro. Há uma segunda fonte de luz, essa por sua vez é comumente uma lâmpada de tungstênio e é utilizada para comprimentos de onda na região visível do espectro. O monocromador realiza o trabalho de separar o feixe de luz nos comprimentos de onda componentes, sendo uma rede de difração, enquanto o detector é um tubo fotomultiplicador (PAVIA et al., 2010, p. 368).

Figura 3 - Diagrama demonstrando o funcionamento interno do espectrofotômetro.

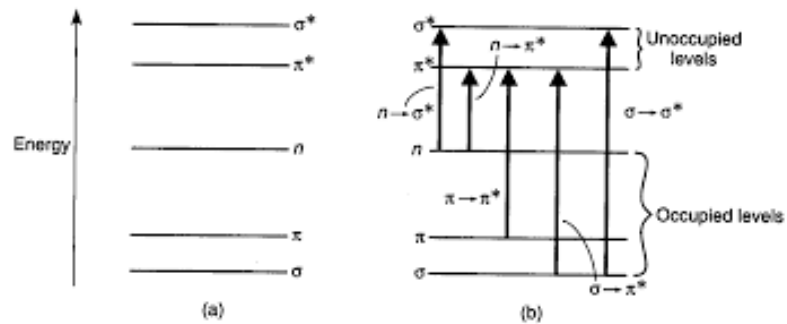


Fonte: Rosa, C. et al. 2019

O princípio do espectrômetro UV-VIS está relacionado a transições eletrônicas em átomos e moléculas (Figura 4). O espectro é produzido quando moléculas ou

átomos se movem de um nível de energia menor para outro de maior energia. A energia absorvida é igual ao intervalo entre os dois níveis.

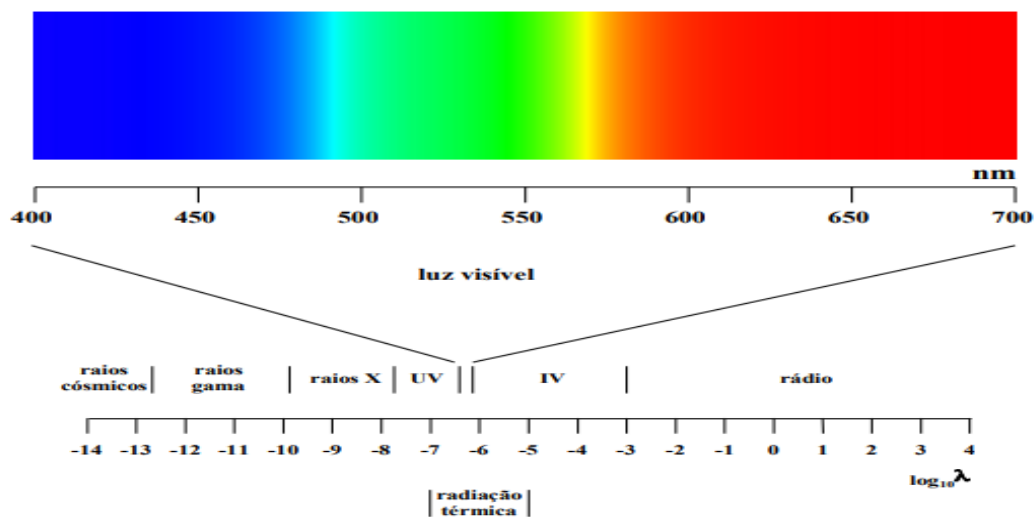
Figura 4 - Níveis de energia eletrônica e transições.



Fonte: PAVIA et al. (2010, p. 366)

Cada energia absorvida ou emitida corresponde a um comprimento de onda. Os diferentes comprimentos de onda correspondem a cores diferentes. Por exemplo, o vermelho corresponde a 700 nm e o azul a 450 nm, o que pode ser mostrado na Figura 5. Comprimentos de onda menores que 350 nm são chamados de luz UV e não são visíveis a olho nu (PAVIA et al., 2010, p. 393). Os comprimentos de onda menores possuem maior energia, o que pode ser comprovado pela relação $E = \frac{h.c}{\lambda}$ (SILVA, 2015).

Figura 5 - Espectro da luz com medidas de comprimento de onda

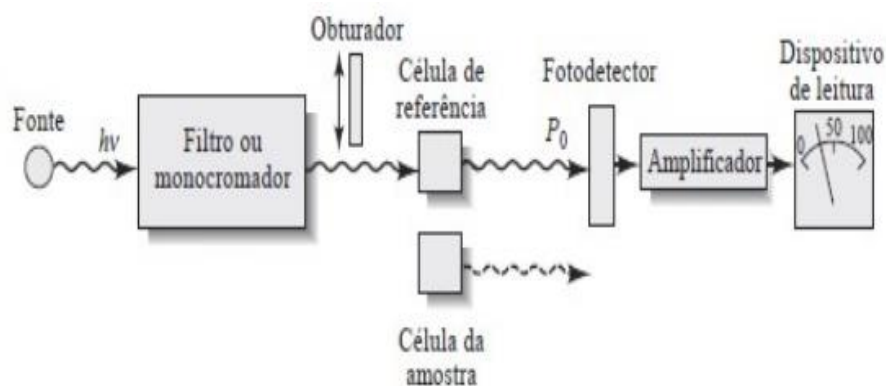


Fonte: LOPES, 2013

Pavia et al. (2010, p.393) ressalta que a luz ultravioleta é a radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 180 e 400 nm, já a luz visível apresenta o comprimento de onda na região entre 400 e 750 nm, sendo a cor violeta mais próxima de 400 nm e a cor vermelha próximo ao comprimento de 750 nm. A luz ultravioleta, assim como a luz visível fornecem energia levando às transições eletrônicas, que consistem na promoção de um elétron para um orbital de maior energia. A molécula pode absorver na região do ultravioleta ou no visível, dependendo da energia que se faz necessária para realizar a transição eletrônica.

Os espectrofotômetros podem ser de feixe simples - primeiramente registra o espectro da referência e somente em seguida o da amostra, ou seja, amostra e referência são alternadas (Figura 6) - ou de feixe duplo - em que um feixe de luz passa por um divisor de feixe, o qual direciona este para a amostra e para a cela de referência várias vezes por segundo, sendo assim, compensa variações da fonte e detector. (SILVA, 2013)

Figura 6 - Esquema do funcionamento de UV-VIS feixe único



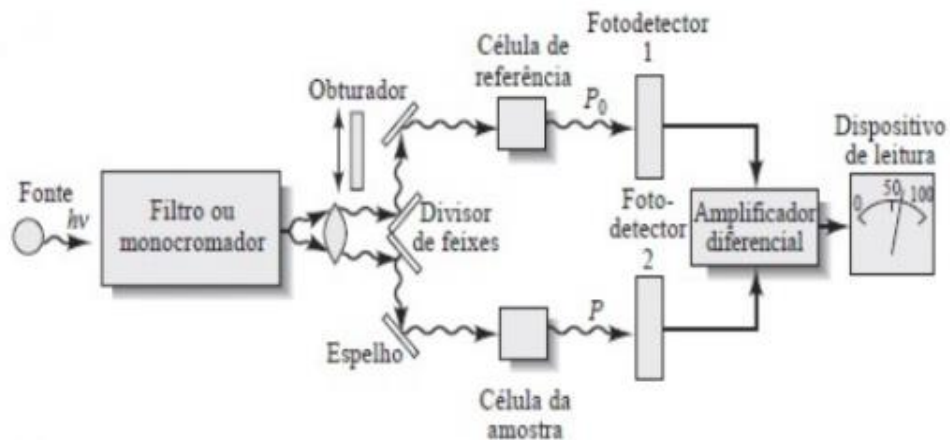
Fonte: SKOOG et al. (2009, p.366)

De acordo com Skoog et al. (2015), o espectrofotômetro de feixe único (Figura 6) lê a transmitância e absorbância em um LCD (Visor de Cristal Líquido), que possui um obturador que cai entre o detector e o feixe assim que a célula cilíndrica é removida do suporte. Para que ocorra a leitura da porcentagem de transmitância, o dispositivo de leitura deve ser inicialmente zerado e o compartimento da amostra deve estar vazio, a fim de que o obturador bloqueie o feixe para que assim nenhuma radiação alcance o

detector. Esse processo denomina-se calibração ou ajuste de 0% T. Tais instrumentos de feixe único são comumente adequados para medir quantitativamente a absorção em um único comprimento de onda.

Os instrumentos de feixe duplo (Figura 7) possuem um espelho em forma de V que se chama divisor de feixe, nesse espectrofotômetro um dos feixes passa através da solução de referência até um fotodetector, enquanto o outro feixe passa ao mesmo tempo pela amostra até outro fotodetector casado. As duas saídas são amplificadas gerando eletronicamente uma razão entre elas. Esses instrumentos de feixe duplo compensam flutuações rápidas na saída radiante da fonte, assim como compensam variações na intensidade da fonte de acordo com o comprimento de onda. (SKOOG et al., 2015, p. 705).

Figura 7 - Esquema do funcionamento de UV-VIS feixe duplo



Fonte: SKOOG et al. (2009, p.366)

A fonte no espectrofotômetro produz luz branca que contém todos os comprimentos de onda, todas as cores. O instrumento de UV-VIS escaneia através da amostra usando diferentes comprimentos de onda em sequência, isto é feito pela rede de difração. Um único comprimento de onda passa pelo modulador, que consiste em um "roteador" onde há espelhos nele, e isto divide a luz em dois raios, um deles passa pela célula com a amostra e o outro pela célula de referência (branco). Neste caso, o instrumento é chamado de duplo feixe (como já foi explicado anteriormente), ambos os raios são direcionados para um detector que compara suas intensidades e manda um

sinal proporcional às "taxas" desses raios para o computador que controla o instrumento. O logaritmo dessa taxa nos dá uma quantidade chamada absorvância, que é uma medida de quanta luz é absorvida pela amostra, em um comprimento de onda particular e pode ser representado por: (SKOOG et al.,2009, p.350).

$$A = -\log T = \log P_0/P \quad (\text{Eq. 1})$$

Em que A se refere a Absorvância, T a transmitância, P_0 potência radiante incidente e P a potência radiante transmitida.

5.1 - A lei de Lambert -Beer

A técnica de UV-VIS se fundamenta na lei de Lambert-Beer, que propõe que quando a luz é absorvida por uma amostra, a energia radiante do feixe de luz diminui, em um determinado comprimento de onda. A absorvância depende da concentração de espécies absorventes no meio em que a luz atravessa. Essa lei é representada pela seguinte equação:

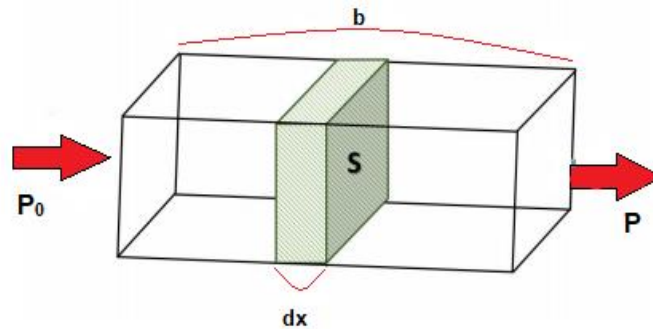
$$A = \epsilon bc \quad (\text{Eq. 2})$$

Sendo A a absorvância, ϵ a absorvidade molar, b o caminho ótico e C a concentração da espécie absorvente.

A Figura 6 mostra uma potência inicial (P_0) que ao percorrer uma distância b decresce para P, devido à absorção. Ao considerar a secção S com espessura dx, evidencia-se que há uma quantidade dn de partículas absorventes. Quando um fóton alcança uma área da superfície ocorre então a sua absorção. Com isso, levando em consideração que a área total projetada é denominada dS , a razão da área total de captura é representada por dS/S , ou seja, essa razão traduz a probabilidade de captura dos fótons dentro da secção (SKOOG et al.,2009, p.351).

P_x representa a potência do feixe que alcança a secção, essa potência é equipolente ao número de fótons encontrado em cada unidade de área, dP_x é a potência que é absorvida na secção.

Figura 8 - Luz incidindo sobre amostra absorvedora.



Fonte: Journal of Experimental Techniques and Instrumentation (2018) adaptada pela autora

Logo, a razão $-dP_x/P_x$ representa a fração absorvida. Completa-se à razão o sinal negativo, o qual aponta que a potência radiante P decresce ao passo que o feixe passa pela região absorvente. Tal razão é igual à probabilidade média de captura de fótons, e com isso pode-se obter a igualdade: (SKOOG et al., 2009, p.352)

$$\frac{-dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S} \quad (\text{Eq. 3})$$

Em que dP_x representa a potência absorvida dentro da seção S , P_x a potência do feixe que atinge a seção S . Por sua vez, razão $-dP_x/P_x$ representa a razão absorvida, S descreve a seção e dS a soma das áreas de captura para partículas dentro da seção.

Levando em consideração que dS é a soma das áreas de captura de partículas dentro da seção, é necessário ser equivalente ao número de partículas, logo:

$$dS = a \cdot dn \quad (\text{Eq. 4})$$

Em que a representa uma constante de proporcionalidade (seção transversal de captura), e dn o número de partículas. Ao combinar as duas equações e integrar no intervalo de 0 e n , obtém-se:

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{a \cdot dn}{S} \quad (\text{Eq. 5})$$

Resolvendo a equação 5, obtém-se:

$$-\ln \frac{P}{P_0} = \frac{a \cdot n}{S}. \quad (\text{Eq. 6})$$

Convertendo para logaritmo na base 10 e invertendo a fração a fim de mudar o sinal, resulta em:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a.n}{2,303.S} \quad (\text{Eq. 7})$$

Em que n é o número de partículas dentro do bloco. S pode ser representada por: $S = \frac{V}{b} \text{ cm}^2$, podendo substituir na equação, resultando então na Eq. 8:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{a.n.b}{2,303.V} \quad (\text{Eq. 8})$$

n/V retrata o número de partículas por cm^3 , isto representa a unidade de concentração. Logo, partindo do princípio de que: (SKOOG et al., 2009, p. 352)

$$\text{número de mols} = \frac{n \text{ partículas}}{6,02 \times 10^{23} \text{ partículas/mol}} \quad (\text{Eq. 9})$$

e que c , em mol/L é:

$$c = \frac{n}{6,02 \times 10^{23}} \text{ mol} \times \frac{1000 \text{ cm}^3/\text{L}}{V \cdot \text{cm}^3} \quad (\text{Eq. 10})$$

$$= \frac{1000n}{6,02 \times 10^{23} V} \text{ mol/L}$$

Ao juntar com a equação anterior tem-se:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6,02 \times 10^{23} abc}{2,303 \times 1000} \quad (\text{Eq. 11})$$

E, por fim, reúne-se em único termo (ϵ) as constantes da equação, gerando a representação da lei de Beer:

$$\log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc = A \quad (\text{SKOOG et al., 2009, p.352})$$

Na lei de Beer, “encontram-se discrepâncias, usualmente, quando o soluto colorido se ioniza, se dissocia, ou se associa em solução, porque, neste caso, a natureza da espécie que absorve varia com a concentração” (VOGEL, 2002, p.354).

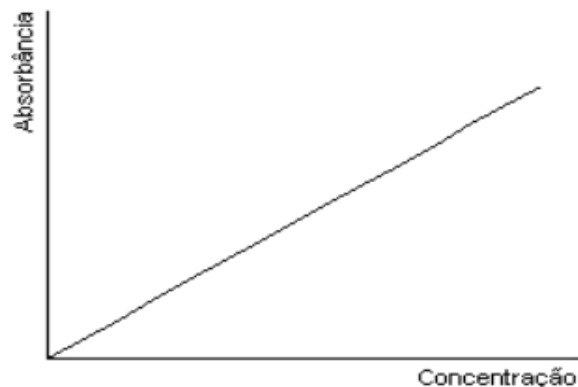
Sendo assim, a lei de Beer não é válida na ocasião em que o soluto forma complexos dos quais a composição depende da concentração.

A Lei de Beer-Lambert é rigorosamente obedecida quando uma única espécie gera a absorção observada. No entanto, essa lei pode não ser obedecida quando diferentes formas de moléculas absorventes estão em equilíbrio, quando o soluto e o solvente formam complexos por meio de algum tipo de associação, quando existe equilíbrio térmico entre o estado eletrônico fundamental e um estado excitado de baixa energia, ou quando compostos fluorescentes ou compostos que são modificados pela irradiação estão presentes. (PAVIA et al., 2010, p. 368)

Segundo Vogel (2002, p. 354) “se a solução-teste não obedece a lei de Beer, é melhor preparar uma curva de calibração usando um conjunto de padrões de concentração conhecida.” Para que haja uma precisão, a curva de calibração necessita cobrir a faixa de diluição em que ocorrerá a comparação com o desconhecido.

A curva de calibração corresponde à relação gráfica entre os valores de absorbância e os de concentração de uma determinada substância, como pode ser ilustrada na Figura 9. Através do gráfico é possível verificar a linearidade da reação e calcular um fator de conversão de valores de absorbância em concentração.

Figura 9 – Exemplo gráfico da curva de calibração



Fonte: BASQUES (2016)

Desta forma, a técnica de espectroscopia de UV-VIS como técnica analítica permite identificar e quantificar o analito na amostra, uma vez que a quantidade de analito está relacionada com a quantidade de luz absorvida.

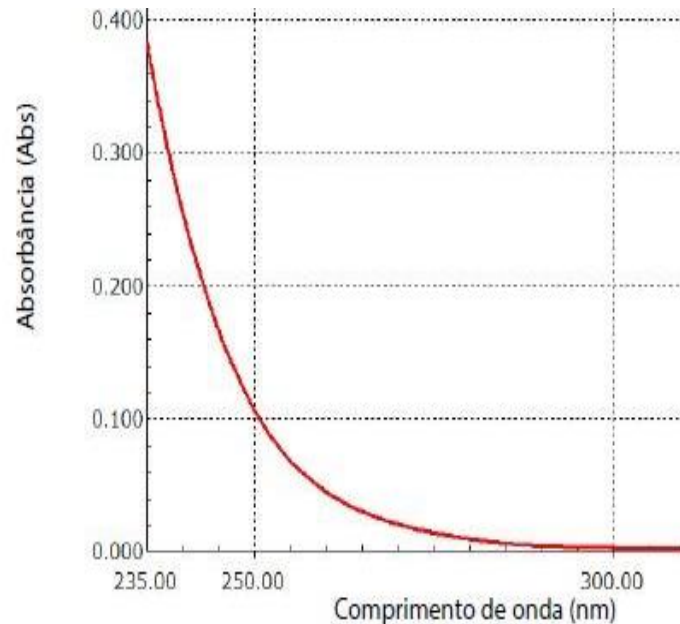
Saad e colaboradores (2017) analisaram misturas de etanol e água em diferentes concentrações por UV-VIS. A concentração de etanol nas amostras variou de 0 a 50%. A faixa de espectro analisada foi de 180 a 580 nm. Como resultado observou-se que a absorbância aumentou com a concentração de etanol e foram identificadas três bandas, a saber: 214 nm, 218 nm e 268 nm. No entanto, as duas últimas absorções não foram significativas para amostras com concentrações menores que 25% de etanol. (SAAD; RAHMAN; YASSIN; MUAD, 2018)

Andrea et al (2015) publicou no *World Journal of Chemical Education* uma análise quantitativa de bebidas alcoólicas por UV-VIS. A proposta era usar método de curva de calibração para determinar o teor alcoólico do destilado da família Grappa. A análise foi realizada na região do infravermelho próximo, onde moléculas de água podem ser medidas nesta região. As moléculas de água mostram um *overtone* na região do infravermelho próximo na faixa entre 970 -980 nm. Quando misturada com substâncias como o etanol, que não absorve nesta região, a absorbância medida é, na verdade, referente à água presente na amostra. Portanto, o autor mediu, através da linha de calibração, o grau alcoólico das bebidas analisadas por meio da determinação da quantidade de água contidas nestas bebidas. O autor tinha como objetivo principal desenvolver atividades didáticas práticas para alunos, além de mostrar o uso de laboratório para os estudantes do ensino médio. (CHECCHETTI, 2015)

É vasta a literatura que utiliza o UV-VIS para analisar o etanol em misturas alcoólicas. Com isso, o objetivo desse trabalho é propor um roteiro para aulas práticas de laboratório que possam analisar a pureza do etanol 70%. De acordo com a Farmacopéia Brasileira (2019) há vários ensaios para pureza para álcool etílico, dentre eles: limpidez da solução, cor da solução, acidez e alcalinidade e absorção de luz. No caso da absorção, é necessário registrar o espectro de absorção no ultravioleta entre 200 nm e 400 nm, empregando uma cubeta de 1 cm de caminho óptico e utilizando a água como branco. Para ser aprovado nesta análise de UV, a absorbância máxima do etanol deve ser de 0,08 em 240 nm, 0,06 entre 250 e 260 nm e 0,02 entre 270 e 340 nm. (ANVISA, 2019). Por sua vez, a farmacopéia europeia (2009) emprega uma cubeta de 5 cm de caminho óptico e considera que o máximo de absorção deve ser 0,40 em

240 nm, 0,30 entre 250 e 260 nm e 0,10 entre 270 e 240 nm. E ainda, o espectro deve corresponder a uma curva de absorção suave, conforme pode ser visto na Figura 10.

Figura 10 - Resultado de Medição de etanol anidro por UV-VIS



Fonte: SHIMADZU (2020)

Devido ao contexto atual, medidas de desinfecção são propostas a todo momento, diante disso, é importante realizar testes para identificar a pureza desse produto e a espectroscopia de UV-VIS pode ser utilizada para identificar se o etanol contém impurezas ou não. No entanto, não é a única técnica para esse fim. Sabe-se que cromatografia gasosa também é utilizada para determinar a pureza de compostos orgânicos. Nela, é possível prever se há contaminantes em vários produtos de forma qualitativa e quantitativa, além de ser uma técnica rápida e simples. Desta forma, é possível associar as duas técnicas (UV-VIS e cromatografia gasosa) para determinar se o etanol utilizado na prevenção da COVID-19 contém ou não impurezas.

6. CAPÍTULO 3 - PRINCÍPIOS BÁSICOS DA CROMATOGRAFIA GASOSA.

A cromatografia gasosa baseia-se no princípio da realização de separação de componentes de uma mistura vaporizada por meio da interação diferencial dos componentes entre fase móvel e fase estacionária. Insere-se uma solução de amostra no injetor de um cromatógrafo a gás, essa amostra é transportada por um gás, definido como gás de arraste, através de um tubo de separação chamado de “coluna”, onde os componentes presentes na amostra são separados. Para quantificação de amostra de concentração desconhecida, utiliza-se um padrão conhecido, e haverá a comparação do tempo de retenção do padrão e sua área com os da amostra, que por fim serão utilizados para o cálculo da concentração (SHIMADZU, 2020).

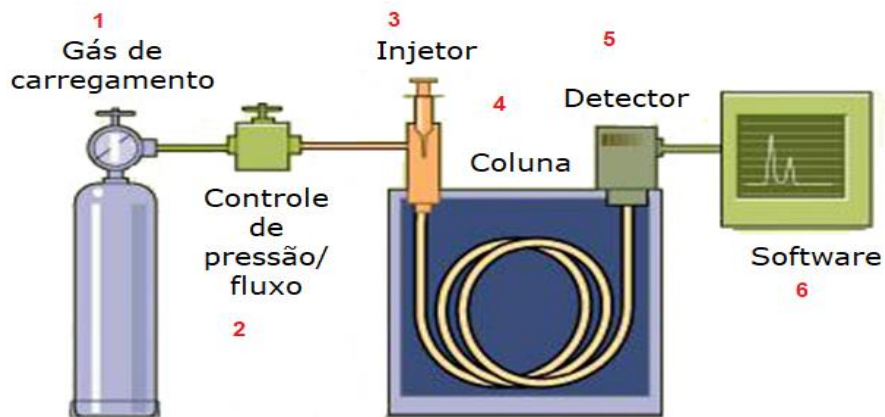
A cromatografia a gás apresenta vantagens em sua utilização, entre elas se pode apontar o alto poder de resolução e separação, sendo possível realizar a análise de diversos componentes de uma única amostra; necessita de pequenas quantidades de amostra para realizar análise; é considerada uma técnica sensível, sendo possível analisar substâncias que se encontram em baixas concentrações. (SILVA, 2014) É uma técnica utilizada para separar e quantificar diversos produtos e entre suas aplicações pode citar-se: análise ambiental, análise de alimentos, análise de fármacos, química industrial, petroquímica e também na área de química forense e toxicologia, entre outras. (SANTOS, 2018)

A cromatografia gasosa realiza-se da seguinte maneira: efetua-se a desagregação dos componentes de uma amostra vaporizada como efeito de suas disseminações entre uma fase móvel gasosa e uma fase estacionária líquida ou sólida. Neste tipo de cromatografia, a fase móvel não interage com as moléculas do analito, funcionando apenas para transportar o analito através da coluna. (SKOOG et al., 2015, p. 879). Segundo Skoog et.al (2015), são encontrados dois tipos de cromatografia de gás: cromatografia gás-sólido e cromatografia gás-líquido. A cromatografia gás-sólido baseia-se em uma fase estacionária em que a retenção de analitos se dá devido à adsorção, enquanto a cromatografia gás-líquido baseia-se na partição do analito em que fase móvel gasosa e fase líquida é imobilizada na superfície de um sólido inerte ou nas paredes de um tubo capilar.

A fase móvel em cromatografia gasosa é denominada gás de arraste e deve ser quimicamente inerte. O hélio é a fase móvel mais comumente usada, embora o argônio, o nitrogênio e o hidrogênio sejam também empregados. Esses gases estão disponíveis em cilindros pressurizados. Reguladores de pressão, manômetros e medidores de vazão são necessários para se controlar a vazão do gás. Além disso, o sistema de gás de arraste frequentemente contém uma peneira molecular para remover água e outras impurezas. (SKOOG et al., 2009, p.804)

Os componentes de um cromatógrafo gasoso e o seu funcionamento básico podem ser vistos na Figura 11.

Figura 11 - Composição de um cromatógrafo de gás típico



Fonte: DCtech (2018) adaptada pela autora

A amostra é injetada na cabeça da coluna cromatográfica, localizada no injetor (3) em uma região aquecida em média 50°C acima do ponto de ebulição do componente menos volátil presente na amostra. Isso, para garantir que a amostra, em sua totalidade, seja volatilizada de forma rápida. Na coluna (4), onde há a fase estacionária, a qual pode estar na fase líquida ou gasosa, ocorre a interação de maneira diferenciada de compostos com a fase estacionária, que posteriormente serão eluídos pelo gás de arraste (fase móvel). Deste modo, singularmente os componentes atingirão o detector (5) em diferenciado tempo, e, logo apresentarão um tempo de retenção próprio, que será identificado por meio do resultado do cromatograma, apresentado no software (6) (SKOOG, 2015, p.881).

A realização da separação dos componentes de uma amostra se opera na coluna (Figura 8). Alguns fatores são importantes para resolução desejada, entre eles: a natureza do suporte sólido, a quantidade e o tipo da fase líquida, o método de empacotamento, a temperatura e o tamanho da coluna (VOGEL, 2012, p.163). Dentre esses fatores, destaca-se a temperatura da coluna, que obrigatoriamente, será controlada na média de poucos décimos de grau, a fim de se obter uma maior precisão. Para isso, a coluna será abrigada em um forno termostaticado, de forma que a temperatura ideal da coluna dependa do ponto de ebulição encontrado na amostra e o grau de separação pretendido. Destarte, as colunas se diferenciam entre colunas recheadas e colunas capilares. (SKOOG, 2015, p. 883)

As colunas recheadas apresentam características como tubos de até 5 metros de comprimento, constituídos de vidro, metal ou plástico, com recheio sendo um suporte de material inerte, geralmente terra diatomácea, que passou por lavagem e desativação com ácido, e peneiração para uma faixa estreita de tamanhos de partículas. Para tal categoria de coluna o suporte preserva a fase líquida na forma de uma película de alta superfície, proporcionando o rápido estabelecimento do equilíbrio entre as fases gasosa e líquida. (VOGEL, 2012, p.163).

As colunas capilares utilizam da relação entre mistura e fase estacionária na forma de um filme fino que é disposto na parede interna de um tubo, que, por sua vez, é fino e longo – podendo chegar a 100 metros de comprimento, chamado de capilar. São produzidas em vidro ou aço inoxidável e são dois os tipos de colunas capilares mais utilizadas: colunas capilares com paredes recobertas e colunas capilares com suporte recoberto. Nas colunas capilares com paredes recobertas, a fase estacionária conecta-se diretamente à parede interna do tubo, enquanto que nas colunas capilares com suporte recoberto uma camada de suporte sólido é depositada na parede interna do tubo e é recoberta com a fase estacionária. (VOGEL, 2012, p. 164). Para a escolha da coluna ideal, utilizam-se alguns critérios, dentre eles: semelhantes separam semelhantes, colunas longas têm tempos longos de eluição e alta resolução, menor diâmetro leva a maior eficiência, assim como a espessura do filme é um critério levado em consideração para a escolha da coluna a ser utilizada. (VOGEL, 2012, p.164-165).

Por fim, outro ponto relevante no instrumento utilizado na técnica de cromatografia a gás são os detectores. Os tipos mais empregados na técnica são: detector de ionização em chama (DIC), detector de condutividade térmica (DCT), detector de captura de elétrons (DCE), espectrometria de massas (CG-MS). No entanto, há outros tipos de detectores. (SKOOG, 2015, p.888)

O detector mais adotado em cromatografia gasosa é o detector por ionização em chama, nele o efluente da coluna é conduzido para uma pequena chama de ar/hidrogênio, levando os compostos orgânicos a produzir íons e elétrons. Este tipo de detecção consiste em monitorar a corrente produzida pela coleta dos portadores de carga. Um eletrodo coleta íons e elétrons e a corrente resultante é mensurada com um picoamperímetro de alta impedância. Apresenta uma sensibilidade na análise de amostras orgânicas e possuem alta detectabilidade. No entanto, apresenta a desvantagem de destruir a amostra durante a combustão. (SKOOG, 2009, p.807-808)

Outro tipo de detector bastante utilizado é o detector por condutividade térmica, este possui uma fonte aquecida em que a temperatura depende da condutividade térmica do gás que a cerca. A condutividade térmica possui uma maior utilidade para colunas empacotadas, e o gás de arraste mais utilizado para este tipo de detector é o gás hélio. É considerado um detector com características não-destrutivas, o que permite a coleta dos solutos após a detecção, e esse detector faz a medida da variação da diferença de potencial. (HARRIS, 2012, p.621)

Um detector muito utilizado para amostras ambientais é o detector por captura de elétrons, isso porque apresenta sensibilidade a moléculas que contenham halogênios, carbonilas conjugadas, nitrilas, nitrocompostos e compostos organometálicos. Seu funcionamento consiste na passagem de uma amostra eluída sobre uma fonte radioativa que emite partículas β (comumente níquel-63). A ionização do gás de arraste é ocasionada por elétron provindo do emissor. O gás de arraste mais utilizado é o N_2 , e também uma mistura de 5% de metano em argônio. (HARRIS, 2012, p.622)

De acordo com Skoog (2015, p.887), um espectrômetro de massas faz a medição da razão massa/carga, através da varredura repetida das massas. No

espectrômetro de massas, o papel do detector de íons é gerar imagens para realizar o estudo do analito a partir das informações do analisador. O detector espectrométrico de massas converte feixe de íons em sinal elétrico que posteriormente será exibido no sistema de registro de dados. (BUSTILLOS, 2017)

Para o Skoog (2015), os detectores ideais utilizados em CG devem apresentar características como as descritas abaixo:

Sensibilidade adequada. Em geral, as sensibilidades dos detectores atuais situam-se na faixa de 10^{-8} a 10^{-15} g. s^{-1} do soluto; boa estabilidade e reprodutibilidade; resposta linear aos solutos que se estenda a várias ordens de grandeza; faixa de temperatura desde a ambiente até pelo menos 400°C ; um tempo de resposta curto e independente da vazão; uma alta confiabilidade e facilidade de uso. Na medida do possível, o detector deve ser à prova de acidentes nas mãos de operadores inexperientes; similaridade de resposta a todos os solutos ou, alternativamente uma resposta altamente previsível e seletiva a uma ou mais classes de solutos; não deve destruir a amostra. (SKOOG, 2015, p.884)

Apesar da necessidade dos detectores apresentarem tais características, é sabido que não existe um detector que apresente todas essas descrições, sendo necessário escolher o tipo de detector baseado no tipo de amostra a ser analisada.

Para o êxito de uma separação, a escolha adequada de uma fase estacionária também é um fator de extrema importância. Entre as propriedades almejadas para a fase líquida imobilizada em uma coluna cromatográfica gás-líquido estão: baixa volatilidade; estabilidade térmica; inércia química. O grau de compatibilidade (solubilidade) entre a fase estacionária e o analito é um fator para obtenção de um tempo de permanência razoável na coluna. As fases estacionárias consideradas polares compreende grupos como -CN, -CO e -OH (os analitos alcoóis, ácidos e aminas são considerados polares). As fases estacionárias do tipo hidrocarbonetos apresentam características apolares, e as fases de poliésteres são altamente polares; éteres, cetonas e aldeídos entram na categoria de solutos de polaridade média. Comumente, os componentes da amostra e a fase estacionária devem possuir polaridade semelhante. (SKOOG, 2015, p.892)

A cromatografia gasosa permite identificar a presença de contaminantes nas amostras investigadas por meio do surgimento de picos adicionais. É uma ótima técnica para prever a presença ou ausência de compostos interferentes de uma mistura, supondo que ao analisar a mistura tenha-se uma amostra da substância pura. Nenhum pico deve aparecer no cromatograma da mistura a não ser a do composto conhecido, e, além disso, o aumento do pico, se houver, deve ser investigado (SKOOG, 2015).

A cromatografia gasosa tem sido amplamente utilizada para determinar a pureza dos compostos orgânicos por meio da detecção de contaminantes que, se presentes, aparecerão pelo aspecto de picos adicionais no cromatograma. Portanto, a evidência é concludente na condição do efeito poder apresentar duplicata em colunas distintas e em diferentes temperaturas. (SKOOG, 2015, p.895)

Em contrapartida, a análise quantitativa fundamenta-se em comparações entre altura ou área de um pico analítico em detrimento de um ou mais padrões. Em caso das condições apresentarem um controle adequado, ambos os parâmetros apresentarão variação linear de acordo com a concentração. (SKOOG, 2015, p.897)

Gomes et al, em um recente estudo, realizou a determinação de álcoois em bebidas comerciais por meio do método de cromatografia gasosa e amostragem por *headspace*. Neste estudo, foi utilizado um cromatógrafo gasoso da marca PerkinElmer, modelo Clarus 600, com detector de ionização de chama (*flame ionization detector* - FID). Utilizou-se uma coluna capilar PerkinElmer modelo Elite-WAX com dimensões de 30 m x 0,25 mm x 0,5 µm. O gás de arraste empregue foi nitrogênio a uma vazão de 1,20 mL/min, do hidrogênio foi 45 mL/min e do ar sintético foi 450 mL/min, todos com alto grau de pureza (99,999%). O volume de injeção da amostra foi de 300 µL a uma velocidade de 250 µL/s, empregando-se o "split" de 1:18. O forno teve sua temperatura em 100 °C por 5 minutos. A temperatura do injetor foi de 150°C e o detector a 300°C. O cromatógrafo possui um amostrador automático da marca Combipal, modelo CTC Analytics, Pal System, com o forno para *headspace* (HS). Foram utilizadas amostras de bebidas comerciais, cerveja (4,6% de etanol); Vinho Fino Tinto (10,0% de etanol); Rum (40,0% de etanol); Tequila (38,0% de etanol); Uísque (40,0% de etanol); Aguardente de cana-de-açúcar (38,0% de etanol) e Vodca (37,5% de etanol). Todas as amostras foram

incubadas no forno do amostrador automático para utilização da extração *headspace* a 60°C por 5 min com uma agitação de 500 rpm. Em seguida, uma de cada vez, foi injetada no cromatógrafo, e realizaram-se as análises em duplicata.

Dentre as amostras estudadas, observou-se que as concentrações de metanol e etanol em 3 amostras não condizem com o limite estabelecido pela legislação brasileira (Tabela 1). A Tabela 2 mostra os valores das concentrações obtidas no experimento do autor. Nela, é possível observar que as amostras de vinho tinto, uísque e cachaça apresentaram concentrações de metanol superiores aos valores permitidos pela ANVISA (aproximadamente 2 a 4 vezes maiores que os valores recomendados pelo órgão regulador) (GOMES et al., 2015).

Tabela 1 - Concentrações de metanol e etanol permitidas em bebidas, segundo legislação brasileira.

Bebida	Metanol (mg/L)		Etanol (%(v/v))	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Cerveja	NI*	NI*	0,5	54
Vinho fino tinto	-	400	8,6	14
Rum	-	2000	35	54
Tequila	300	3000	35	55
Uísque	-	200	38	54
Aguardente de cana-de-açúcar	-	200	38	54
Vodca	-	200	36	54

Fonte: (GOMES; YOSHINAGA; BORTOLETO, 2020)

Tabela 2 - Valores obtidos das análises em cromatografia gasosa

Bebida	Metanol (mg/L)*	Etanol (%(v/v))*
Cerveja	ND**	4,5 ± 0,1
Vinho fino tinto	863 ± 51	12 ± 0,8
Rum	716 ± 11	40 ± 0,3
Tequila	980 ± 191	40 ± 0,5
Uísque	818 ± 28	39 ± 0,1
Aguardente de cana-de-açúcar	581 ± 1	39 ± 0,1
Vodca	ND**	38 ± 0,6

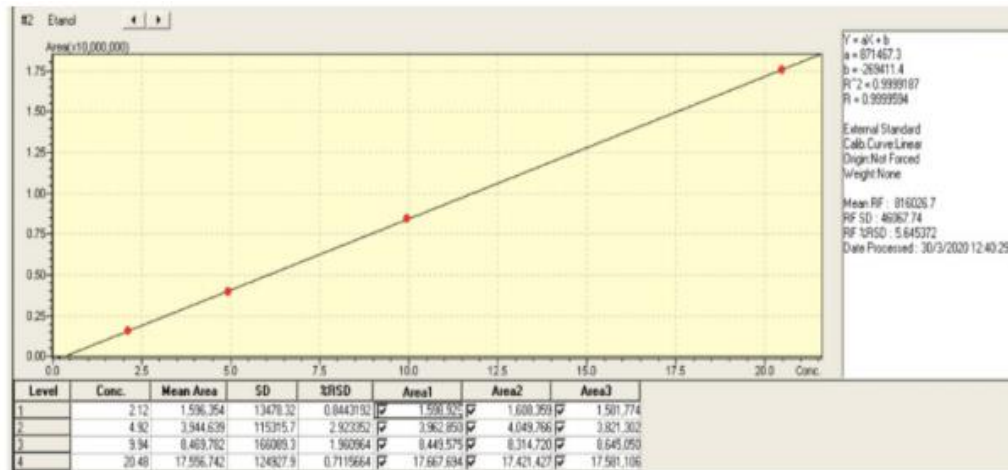
Fonte: (GOMES; YOSHINAGA; BORTOLETO, 2020)

Para este estudo, a partir do método de cromatografia gasosa foi possível determinar o controle de qualidade dos componentes voláteis presente nas amostras de bebidas comerciais, oportunizando a obtenção de dados quantitativos e qualitativos dos analitos em questão.

Lacerda, et al., em um estudo recente (2020), utilizaram a técnica de cromatografia gasosa para determinar o teor de etanol em álcool em gel. Para isso utilizaram 7 amostras comerciais de álcool em gel 70%. Realizaram a calibração com 4 soluções de etanol na faixa de concentração de 2.0% a 20.0% de massa em n-butanol, em um cromatógrafo CG 2010, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan, com detector de ionização de chama, temperatura de entrada 250°C, gás de arraste utilizado foi o hélio (3,0 mL/min), coluna *poraplot* Q (10 mm 0,32 x 0,10 µm, Agilent, Santa Clara, EUA); temperatura do forno: 85 °C, inicial para 2 min, rampa de 35 °C/min até 260 °C, mantida por 5 min (com um tempo total de corrida de 15 minutos); temperatura do detector: 280°C; volume injetado: 0,5 µL.

A curva de calibração obtida é apresentada na Figura 12, o coeficiente de regressão para a curva foi de 0,9999 e o desvio padrão foi de 5,64%. Com isso, denota-se boa linearidade para a faixa de trabalho proposta por Lacerda e colaboradores.

Figura 12- Curva de calibração



Fonte: (LACERDA; OLIVEIRA; MARCANTE, 2020)

Não foi possível visualizar nenhum composto interferente, o que indica uma boa especificidade do método utilizado. No entanto, todas as amostras apresentaram concentração de etanol na faixa de 53,9 % a 65,3 %, valores que se encontram abaixo do especificado no rótulo e das recomendações da ANVISA (LACERDA; OLIVEIRA; MARCANTE, 2020). De acordo com o autor, essa divergência de valores obtidos e os esperados pode ser atribuída ao processo de fabricação do produto que demanda longos tempos de etapa de homogeneização para incorporar o etanol na matriz de gel. O etanol é volátil, e, se essa perda de etanol por volatilização não for levada em consideração durante o processo de produção, a concentração final pode ser inferior ao resultado esperado.

Teresa Cristina Epifânio Diógenes Rego (2008), em sua dissertação, avaliou um método de cromatografia em fase gasosa *-headspace* no estudo da estabilidade do etanol em amostras de sangue. Neste estudo, foi utilizado um cromatógrafo gasoso modelo CP 3800 equipado com detector de ionização de chama (Varian, Califórnia, EUA), coluna capilar de sílica (CP-WAX 57) fundida com fase estacionária de polietilenoglicol com 50 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro, gases: nitrogênio,

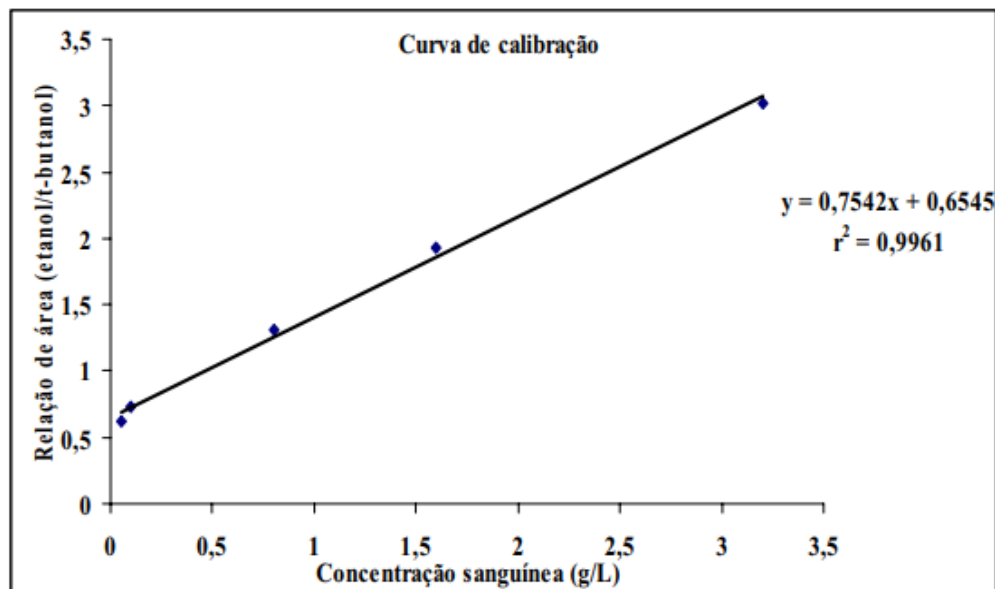
hidrogênio, hélio e ar sintético (White Martins), e uma microsseringa *Gas Tight* 500 μ l com agulha *Gas Tight* estilo 2 (SGE, Austrália).

As condições cromatográficas utilizadas para analisar o etanol foram: coluna à temperatura de 50°C, injetor a 150°C, detector a 250°C. Fluxo da coluna de 2 mL/min, modo de injeção split, com sua razão 1:25, e tempo de corrida de 12 minutos.

A partir das relações entre concentração do etanol nas amostras de sangue e a razão entre as áreas dos picos cromatográficos (etanol/t-butanol) foi possível obter uma equação de reta, ao criar o gráfico da curva de calibração.

A curva de calibração foi obtida a partir da análise de amostras de sangue adicionadas de etanol nas concentrações (0,05; 0,1; 0,8; 1,6 e 3,2 g/L). Construiu-se a curva a partir da média dos valores encontrados para cada concentração. Essa curva de calibração apresentou o quadrado do coeficiente de correlação linear igual a 0,9961, sendo considerada uma linearidade satisfatória (Figura 13).

Figura 13 - Gráfico da curva de calibração para determinação da concentração de etanol em amostras de sangue.



Fonte: REGO, 2008.

Foi considerado um método exato, e a precisão foi verificada pelos coeficientes de variação, que apresentaram valores máximos de 7,3%. Este valor, por sua vez,

encontra-se dentro da faixa esperada - aceita-se uma imprecisão menor que 15% (critério determinado pela ANVISA).

Com isso, a análise do etanol em amostras de sangue, por meio do uso da técnica de cromatografia gasosa, comprovou a confiabilidade do método nas condições estabelecidas. (REGO, 2008)

Sangiorge e Braga (2006) aplicaram a técnica de quantificação cromatográfica para analisar o teor de metanol na cachaça. Para a realização deste estudo, foi utilizado um cromatógrafo gasoso de alta resolução, HP 6890, com detector de ionização de chama e coluna capilar Innowax, a temperatura do injetor em 180°C, e do detector 200°C, programação de 60 °C, 2 minutos, 10°C/min até 150°C. Analisaram 3 amostras de cachaças com a finalidade de selecionar a que possuía maior quantidade de metanol.

Para a padronização externa realizou-se a análise com soluções padrão de metanol (0,05; 0,1; 0,2 e 0,3)% em acetona. Para a padronização interna adicionou-se uma quantidade conhecida de um padrão interno (propanona e n-butanol, a 10%, em etanol a 50%) tanto no padrão quanto na amostra. Com isso, obteve-se a curva de calibração e através da razão de áreas obtidas, a concentração da substância na amostra. Não houve variação nas concentrações de metanol com os padrões propanona e n-butanol. Através das técnicas de quantificação utilizadas, encontrou-se um valor de 0,08 mL/100 mL de concentração de metanol na cachaça. Este valor, por sua vez, apresenta-se dentro dos limites permitidos pela legislação brasileira, que apresenta um valor de 0,25 mL/ 100 mL de álcool anidro (SANGIORGE; BRAGA, 2006).

Apesar dos trabalhos apresentados por meio da análise de etanol por cromatografia gasosa serem baseados na determinação da concentração de etanol em misturas alcólicas, sabe-se que a cromatografia gasosa permite a identificação de impurezas a partir do surgimento de picos adicionais no cromatograma.

Baseado no levantamento bibliográfico realizado até o momento dos princípios de funcionamento das técnicas de UV-VIS e cromatografia gasosa, bem como a revisão

de artigos e notas técnicas que permitiram verificar os métodos empregados no monitoramento e na quantificação de etanol em misturas alcoólicas, propõe-se um roteiro experimental para aula de Laboratório de Análise Instrumental do curso de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Brasília (IFB), campus Gama.

Devido às restrições estabelecidas pelas medidas de segurança da pandemia da COVID-19, o método não foi testado e nem validado, sendo, portanto, a sugestão de instrumento para viabilizar o aprendizado das técnicas citadas no ensino superior.

7. CAPÍTULO 4 – IMPORTÂNCIA DAS AULAS PRÁTICAS NO ENSINO DE QUÍMICA

As aulas de laboratório facilitam o aprendizado, pois integram a teoria com a parte prática. Essa interação ocorre não somente na verificação experimental do que foi aprendido na teoria, mas também na verificação de como as ferramentas que derivam de princípios e modelos teóricos surgem através da experiência. (CHECCHETTI, 2015)

A aula prática no ensino de Química é considerada uma estratégia pedagógica dinâmica permite gerar problematizações, questionamentos, discussões, e procura de respostas e explicações para aquilo que é observado durante a experimentação, o que possibilita a evolução do aspecto fenomenológico (macroscópico) observado para o teórico (microscópico), até chegar ao representacional (MACHADO et al., 2007).

As atividades de laboratório são avaliadas em relação ao conhecimento básico dos princípios analíticos, habilidades organizacionais dos alunos na concepção e realização dos experimentos, na capacidade dos alunos de registrar os dados obtidos do experimento e na capacidade de validação. (CHECCHETTI, 2015)

8. ROTEIRO PROPOSTO PARA UMA AULA DE LABORATÓRIO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL.

Título: Determinação de impurezas em amostras de álcool 70% na forma líquida e gel por UV-VIS e CG.

Instrumentação: espectrofotômetro UV-VIS e um cromatógrafo gasoso.

Materiais:

2 Pipeta de Pauster	1 micropipeta
1 Balança analítica	1 pipeta volumétrica de 1 mL
2 espátulas	6 balões volumétricos de 10 mL
1 Erlenmeyer de boca larga com tampa	1 béquer de 250 mL (para descarte de soluções residuais.)
1 Banho ultrassônico	1 vidro de relógio
4 béqueres de 100 mL	1 pipeta graduada de 5 mL

Reagentes:

Álcool 70 % líquido de várias marcas;

Álcool em gel 70% de várias marcas;

n-butanol.

Procedimento Experimental**8.1 Determinação de impurezas em álcool 70% líquido por UV-VIS (Farmacopéia Brasileira)**

1. Transfira 2,5 mL da solução de etanol 70% para cubeta do UV-VIS
2. Trace os espectros de absorção entre 200 - 400 nm, com velocidade média e largura da fenda 1 nm.
3. Utilize água como branco.
4. Anote as absorbâncias em 240 nm, entre 250-260 nm e entre 270 e 340 nm.
5. Repetir o experimento em triplicata.

8.1.2 Determinação de impurezas de álcool em gel 70% por UV-VIS

1. Pese 1g de álcool em gel 70%
2. Transfira para um frasco com tampa de rosca de boca larga.

3. Adicione o n-butanol na proporção de 1:10 de álcool em gel, ou seja, 1 g de álcool em gel em 10 mL de butanol. (O solvente também pode ser pesado)
4. Metade das amostras devem ser misturadas manualmente por 2 min e a outra metade colocada em banho ultrassônico por 2 minutos em 25 KHz. Não ultrapasse esse tempo para não provocar a volatilização do etanol.
5. Transfira 2,5 mL de cada amostra para a cubeta de UV-VIS. Considere o n-butanol como branco.
6. Anote as absorvâncias em 240 nm, entre 250-260 nm e entre 270 e 340 nm para as amostras misturas manualmente e para aquelas homogeneizadas no banho ultrassônico.
7. Repetir o experimento em triplicata

8.2 Determinação de impureza orgânica voláteis do etanol 70% via cromatografia gasosa (Lacerda e colaboradores (2020)).

8.2.1 – Calibração do equipamento

1. O cromatógrafo utilizado será o CLARUS 600/680 da PerkinElmer. Considere, a priori, a programação do CG como: temperatura de entrada 250°C, injeção modo Split (1:50), gás de arraste: hélio (3,0 mL/min), coluna capilar (5% Fenil, 95% Dimetilpolisiloxano), temperatura do forno: 85°C inicial por 2 minutos, rampa de 35°C/min até 260°C, mantida por 5 minutos, tempo de corrida equivalente a 15 minutos, temperatura do detector 280°C.
Como relatado anteriormente, devido as medidas de restrição impostas para o combate à pandemia de COVID-19, o experimento não foi testado, portanto, as configurações propostas para o cromatógrafo podem ser alteradas para obter picos com melhores resoluções.
2. Faça a calibração do cromatógrafo com 6 soluções de etanol na concentração de 2,0; 5,0; 8,0; 10,0; 15,0 e 20% de massa em n-butanol preparados em laboratório (injeção de 0,5 µL de cada padrão).
3. Todos os pontos da calibração devem ser analisados em triplicata.

8.2.2 - Determinação de impureza orgânica voláteis do álcool em gel 70%.

1. Pese 1g de álcool em gel 70%
2. Transfira para um frasco com tampa de rosca de boca larga.
3. Adicione o n-butanol na proporção de 1:10 de álcool em gel, ou seja, 1 g de álcool em gel em 10 mL de butanol. (O solvente também pode ser pesado)
4. Metade das amostras devem ser misturadas manualmente por 2 min e a outra metade colocada em banho ultrassônico por 2 minutos em 25 KHz. Não ultrapasse esse tempo para não provocar a volatilização do etanol.
5. Filtre todas as amostras com um filtro de seringa de PTFE para um frasco de 1,5 mL.
6. Injete 0,5 μ L de cada amostra amostra no cromatógrafo com as mesmas especificações descritas no item 7.3.
7. Analise os picos presentes e o tempo de retenção
8. Compare os picos da amostra com os do padrão.

OBS: A identificação do pico do etanol pode ser realizada por comparação com o tempo de retenção da (RT) das soluções padrão.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas de UV-VIS e cromatografia gasosa mostraram-se realmente úteis e amplamente utilizadas na determinação de concentração de etanol em misturas alcólicas. Sendo possível, então, por meio dessas técnicas determinar o teor de etanol assim como detectar possíveis impurezas em misturas alcólicas.

Infelizmente, devido ao estado de emergência declarado no ano letivo de 2020 em decorrência da pandemia de COVID-19, as habilidades práticas adquiridas nas aulas experimentais foram prejudicadas por causa da impossibilidade do ensino presencial. Diante disso, esse trabalho se resume a propor um roteiro (não testado) para aula de Laboratório de análise Instrumental baseado na revisão bibliográfica de trabalhos que visaram análises semelhantes. Espera-se que em momento oportuno, o roteiro permita que o aluno tenha familiaridade com as duas técnicas utilizadas, bem como visualize o conhecimento teórico aprendido em sala de aula na rotina de um

laboratório.

10. REFERÊNCIAS

A. I. VOGEL - **Análise Analítica Quantitativa**, LTC, 6ª ed., Rio de Janeiro.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Farmacopeia Brasileira, 6ª edição, Volume II – Monografias, Insumos Farmacêuticos e Especialidades, Disponível em:

<<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/arquivos/7987json-file-1>>. Acesso em 20 fev. 2021

BASQUES, J.C., Fotometria e Padronização. 2016. Disponível em:

https://labtest.com.br/wpcontent/uploads/2016/09/FOTOMETRIA_E_PADRONIZACAO.pdf. Acesso em: 07 mar. 2021

BERNARDES, C. D., **Métodos Analíticos para Cachaças Utilizando Técnicas Espectrométricas, Cromatográficas e Quimiométricas**. 2015. Disponível em:

<https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/SFSA-9WHMSC/1/tese_cristina_d_bernardes.pdf>. Acesso em: 11 fev. de 2021.

BUSTILLOS, Oscar Vega. O detector de íons na espectrometria de massas. **Analytica**, São Paulo, v. 1, n. 103, p. 31-32, nov. 2017. Disponível em:

<<https://revistaanalytica.com.br/analytica-103/>>. Acesso em: 18 fev. 2021.

CANASSA, T. A.; LAMONATO, A. L.; RIBEIRO, A. V. Utilização da lei de Lambert-Beer para determinação da concentração de soluções. **Journal of Experimental Techniques and Instrumentation**, v.1, n.2, 2018.

CHECCHETTI, Andrea. Quantitative Analysis of Alcoholic Drinks. Use of Calibration Curve Method to Determine the Alcoholic Degree of Samples of Paesanella, a Distillate of the Family of Grappa. **World Journal Of Chemical Education**, [S.L.], v. 3, n. 3, p. 70-73.

CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA - III REGIÃO (Rio de Janeiro) (org.). **Por que o álcool 70% é mais eficaz como bactericida?** 2020. Disponível em: <[CUNHA, Humberto Vinícius Faria da. **Afinal, por que o álcool 70% é mais eficaz como bactericida que o álcool absoluto?** 2016. Disponível em: <\[D. A. SKOOG, D. M. WEST e F. J. HOLLER, **Fundamentos de Química Analítica**, Tradução da 9ª Edição norte-americana, Cengage learning, 2015.\]\(https://foodsafetybrazil.org/afinal-por-que-o-alcool-70-e-mais-eficaz-como-bactericida-que-o-alcool-absoluto/>. Acesso em: 20 ago. 2020</p></div><div data-bbox=\)](https://crq3.org.br/por-que-o-alcool-70-e-mais-eficaz-como-bactericida/#:~:text=A%20resposta%20%C3%A9%20n%C3%A3o!&text=O%20%C3%A1lcool%2070%25%20possui%20o,permitindo%20maior%20tempo%20de%20contato.>. Acesso em: 20 ago. 2020.</p></div><div data-bbox=)

D. A. SKOOG, F. J. HOLLER e T. A. NIEMAN – **Princípios de Análise Instrumental**, 6a ed., Saunders, 2009.

D. A. SKOOG, D.M. WEST, F.J, HOLLER, S.R. CROUCH. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª edição – São Paulo: Cengage Learning, 2010

D.L. PAVIA, G.M. LAMPMAN, G.S. KRIZ E J.R. VYVYAN, **Introdução à Espectroscopia**, Tradução da 4ª Edição norte-americana, Cengage Learning, 2010.

Entendendo o sistema de um Cromatógrafo Gasoso (CG). **DCtech**, 2018. Disponível em: <[Espectrofotometria: Análise da concentração de soluções. **KASVI**, 2018. Disponível em: <\[Etanol. **ANP**, \\[s.d.\\]. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/producao-de->\]\(https://kasvi.com.br/espectrofotometria-analise-concentracao-solucoes/>. Acesso em: 29 set. 2020.</p></div><div data-bbox=\)](https://www.dctech.com.br/entendendo-um-sistema-de-cromatografia-gasosa-cg/>. Acesso em: 19 fev. de 2021.</p></div><div data-bbox=)

[biocombustiveis/etanol](#)>. Acesso em: 28 set. 2020.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 7.0. Disponível em:

<<http://www.fptl.ru/biblioteka/farmacop/EP-7.0-2.pdf>>. Acesso em 20 fev. 2021

Farmacopéia Brasileira, capítulo 5.2.17.5. 6ª Ed. 2019.

GOMES, Winston Pinheiro Claro; YOSHINAGA, Fabiana; BORTOLETO, Gisele Gonçalves. Determinação de álcoois em bebidas comerciais por cromatografia gasosa e amostragem por headspace. **Bioenergia em Revista: DIÁLOGOS**, São Paulo, v. 10, n. 1, p. 111-124, jun. 2020. Semestral. Disponível em:

<<http://www.fatecpiracicaba.edu.br/revista/index.php/bioenergiaemrevista/article/view/371/373782>>. Acesso em: 10 fev. 2021.

HARRIS, Daniel C. **Análise Química Quantitativa**. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2012.

LACERDA, João Paulo Amorim de; OLIVEIRA, Sandra Souza de; MARCANTE, Amanda. **A rapid and effective method for determination of ethanol content in hand sanitizers (alcohol gel)**. São Paulo: Revista Ipt, 2020. Disponível em: <<http://revista.ipt.br/index.php/revistaIPT/article/view/118/125>>. Acesso em: 10 fev. 2021.

LOPES, João Manuel Brisson. **Cor e Luz**. 2013. 47 f. Curso de Licenciatura em Engenharia Informática e de Computadores, Departamento de Engenharia Informática, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2003. Disponível em: <<http://disciplinas.ist.utl.pt/~leic-cg.daemon/textos/livro/Cor.pdf>>. Acesso em: 24 fev. 2021.

LORDELLO, Ana L. L., Análise elementar, espectrofotometria UV-Vis e infravermelho. Paraná: Universidade Federal do Paraná (UFPR), 2017. 68 slides. Disponível em: <<http://www.quimica.ufpr.br/paginas/ana-lordello/wp-content/uploads/sites/7/2017/08/aula-01-Introdu%C3%A7%C3%A3o-a-M%C3%A9todos-Espectrosc%C3%B3picos.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2021

MACHADO, P. F. L.; MÔL, G. S. **Experimentando química com segurança**. Química Nova na Escola. N° 27, p. 57-60, 2007.

Medição de Impurezas em Etanol utilizando o Espectrofotômetro UV- 1900i. **SHIMADZU**, 2020. Disponível em: <<https://shimadzu.com.br/analitica/literatura/uv/aplicacoes/A626.pdf>>. Acesso em: 17 fev. 2021.

OLIVEIRA, Marcos. Entre açúcares e genes. Revista Pesquisa, n. 200, out. 2012. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/entre-acucares-e-genes/>. Acesso em: 7 mar. 2021.

PASQUINI, Celio; HESPANHOL, Maria C.; CRUZ, Kaíque A.M.L.; PEREIRA, Alexandre F.. Monitoring the quality of ethanol-based hand sanitizers by low-cost near-infrared spectroscopy. **Microchemical Journal**, [S.L.], v. 159, p. 105421, dez. 2020.

Propriedades Físico-Químicas do etanol. **NovaCana**, [s.d.]. Disponível em: <<https://www.novacana.com/etanol/propriedades-fisico-quimicas>>. Acesso em: 28 set. 2020.

REGO, Teresa Cristina Epifânio Diógenes. **Avaliação de um método de cromatografia em fase gasosa - headspace e estudo da estabilidade do etanol em amostras de sangue**. 2008. 79 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2008. Disponível em: <<https://repositorio.ufrn.br/handle/123456789/13439>>. Acesso em: 12 fev. 2021.

ROSA, C. et al. **Construção de espectrofotômetro visível para fins didáticos**. Journal of Exact Sciences. V.21, n.1. pp.20-25.

SAAD, H.; RAHMAN, M.K. A.; YASSIN, I.; MUAD, A. M.. Characterization of ethanol concentrations at ultraviolet wavelength region. **Journal Of Fundamental And Applied Sciences**, [S.L.], v. 9, n. 4, p. 384-400, 23 jan. 2018. African Journals Online (AJOL).

SANGIORGE, C. L.; BRAGA, J.V. **APLICAÇÃO DAS TÉCNICAS DE QUANTIFICAÇÃO NA AVALIAÇÃO DO TEOR DE METANOL NA CACHAÇA POR CROMATOLOGRAFIA GASOSA**. In: XLVI CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA,

46., 2006. Minas Gerais: Abq, 2006. p. 1-1. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/cbq/2006/trabalhos2006/4/565-758-4-T2.htm>>. Acesso em: 15 fev. 2021.

SANTOS, Valéria. Análise Instrumental - **Aula 12 - Cromatografia Gasosa**. 2018. (20m14s). Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=uoBAKoNpPv0>>. Acesso em: 02 de fev. de 2021.

SILVA, Julio C. J.. Tópicos em Métodos Espectroquímicos. **Aula 2 - Revisão Conceitos Fundamentais**. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) Instituto de Ciências Exatas - Depto. de Química, 2015. 30 slides, color. Disponível em: <https://www.ufjf.br/baccan/files/2010/10/Aula-2-Introdu%C3%A7%C3%A3o_UV-Vis-2015.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2021

SILVA, Julio C. J.. **Aula 4 - Espectrometria Molecular UV-VIS**. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) Instituto de Ciências Exatas - Depto. de Química, 2013. 41 slides, color. Disponível em: <https://www.ufjf.br/baccan/files/2010/10/Aula-4-2-Sem-2013_UV-VIS.pdf>. Acesso em: 31 out. 2020

SILVA, Julio C. J.. **Aula 10 – Cromatografia Gasosa**. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) Instituto de Ciências Exatas - Depto. de Química, 2014. 38 slides, color. Disponível em: <https://www.ufjf.br/baccan/files/2010/10/Aula-10-GC_27-01-14.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2021

VALDERRAMA L., **Proposta experimental didática para o ensino de análise de componentes principais**. Disponível em: <https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422016000200245&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 11 de fev. de 2021.

VOLCHKO, Jeannine. **Visible Light Spectrum: From a Lighting Manufacturer's Perspective**. 2018. Disponível em: <https://www.lumitex.com/blog/visible-light-spectrum>. Acesso em: 22 fev. 2021.