

# **TÉCNICAS DE LABORATÓRIO 2021/2022**

Licenciatura em Bioquímica  
Licenciatura em Química Aplicada  
Mestrado Integrado em Engenharia Química e Bioquímica

Aulas teórico-práticas – Docente – Marco Gomes da Silva

Aulas práticas - Docentes

P1 e P6- Marco Silva ([mdr@fct.unl.pt](mailto:mdr@fct.unl.pt))

P3 e P5- Florbela Pereira ([florbela.pereira@fct.unl.pt](mailto:florbela.pereira@fct.unl.pt))

P2 e P4 - Marcia Ventura ([mm.ventura@fct.unl.pt](mailto:mm.ventura@fct.unl.pt))

Laboratórios 325 e 327 / Ed Dep Química

Contacto geral

**Gab 326 / Ed Dep Química**  
**[mdr@fct.unl.pt](mailto:mdr@fct.unl.pt)**

## Calendarização 2021 - 2022

Aula	Data	Trabalho
1ª TP	11 Out	
1ª p	11-15 Out	Apresentação do Laboratório – caderno e Segurança no Laboratório
2ª p	18-22 Out	Constantes físicas: densidade, índice de refração, ponto de fusão.
3ª p	25-29 Out	Soluções - ácidos e bases - titulação ácido-base.
4ª p	2-5 Nov	Purificação de sólidos – recristalização e sublimação.
5ª p	8-12 Nov	Purificação de líquidos – destilação.
2ª TP	15 Nov	
6ª p	15-19 Nov	Extração líquido-líquido e sólido-líquido.
7ª p	22-26 Nov	Cromatografia.
8ª p	29 Nov – 3 Dez	Doseamento de ácido benzóico em solução aquosa.
9ª p	6-10 dez	Extracção, isolamento e caracterização de pigmentos
8ª p	13-17 dez	Doseamento de ácido benzóico em solução aquosa. (Turnos 4ª feira)
9ª p	20-22 dez	Extracção, isolamento e caracterização de pigmentos (Turnos 4ª feira)
3ª TP	13 Dez	
<b>Teste Final</b>	<b>13 Jan</b>	<b>Teste final às 10H</b>

## Calendarização 2020 - 2021

Aula	Data	Trabalho
1ª TP	11 Out	

**NÃO É NECESSÁRIO ESTAREM INSCRITOS À AULA...BASTA APARECER  
NÃO HÁ LIMITE MÁXIMO DE ESTUDANTES  
17.00H ÀS 18.30**

Links a indicar oportunamente antes de cada aula



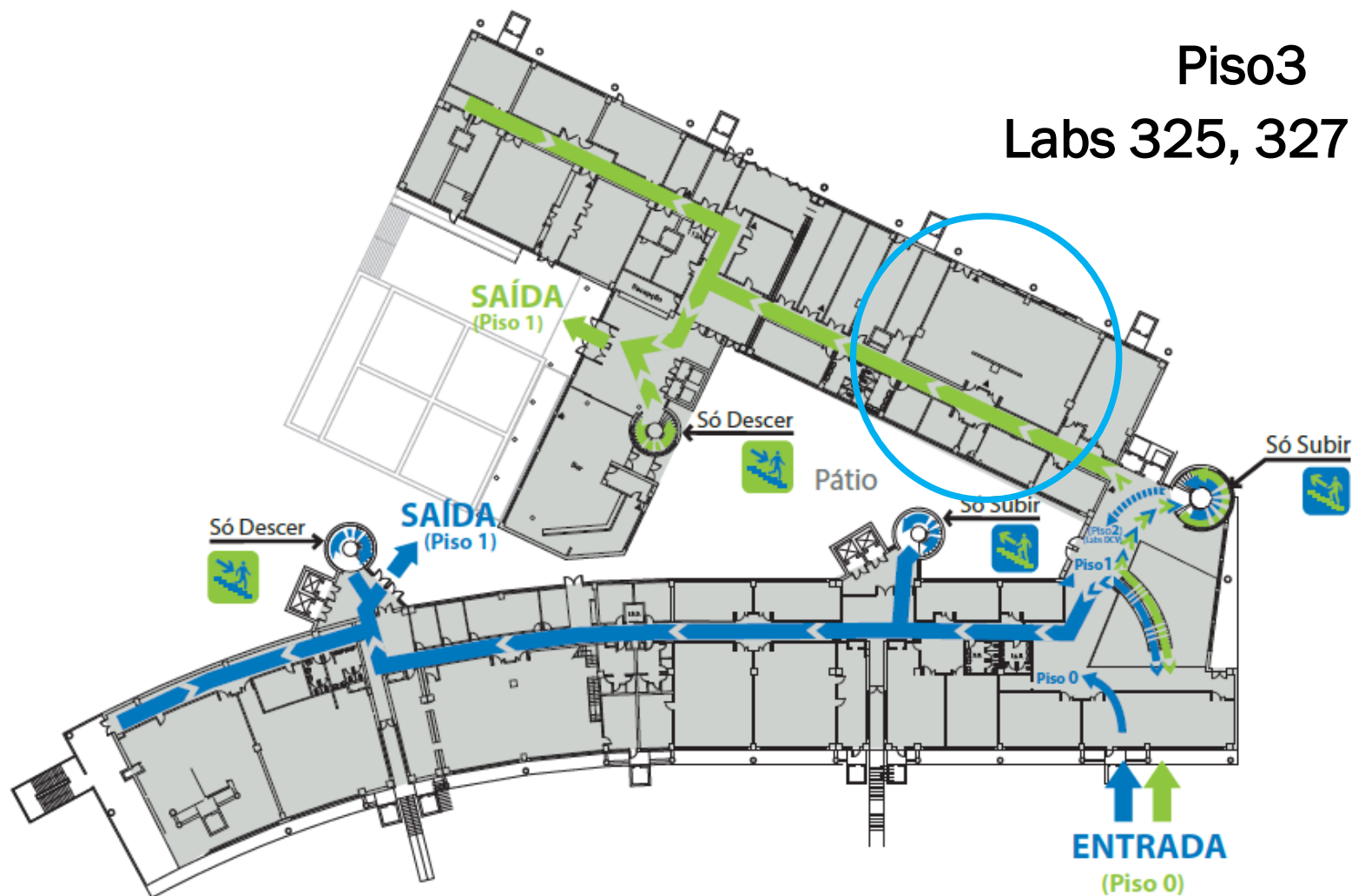
## Onde são as aulas P?

# Acesso Laboratórios 2021 - 2022

Onde são as aulas P?

Piso3

Labs 325, 327



## Obras de referência

1. *Introduction to Organic Laboratory Techniques, A Small Scale Approach*. R.G. Engel, G.S. Kriz, G.M. Lampman and D.L. Pavia, 3rd ed. Brooks/Cole 2011.
2. *Destruction of Hazardous Chemicals in the Laboratory*. George Lunn, Eric B. Sansone, Wiley Interscience; 2nd ed, 1994.
3. *Purification of Laboratory Chemicals*. D.D. Perrin, W.L. Armarego, Pergamon Press; 3rd ed, 1993.

## Endereços electrónicos

1. e-escola IST - Técnicas de Laboratório (2006).  
<http://www.e-escola.pt/ftema.asp?id=15&canal=quimica>
2. CU Boulder Organic Chemistry Undergraduate Courses – Organic Chemistry Laboratory Topics.  
<http://orgchem.colorado.edu/hndbksupport/ochemlabtech.html>
3. MIT OpenCourseWare | Chemistry | 5.301 Chemistry Laboratory  
<http://ocw.mit.edu/OcwWeb/Chemistry/5-301January--IAP-2004/CourseHome/>
4. Online Safety Library: Laboratory and Chemical Safety  
<http://ehs.okstate.edu/>
5. NIOSH Safety and Health Topic: Chemical Safety  
(<http://www.cdc.gov/niosh/topics/chemical-safety/default.html>)
6. ChemKeys  
<http://www.chemkeys.com/bra/index.htm>

## Método de avaliação

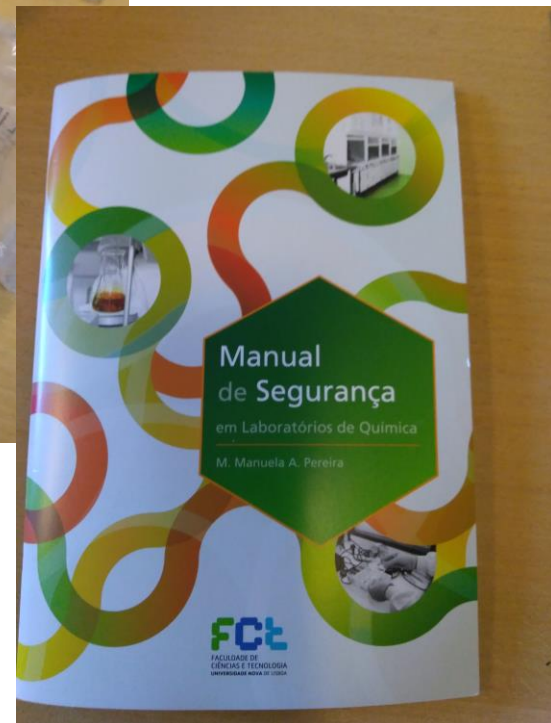
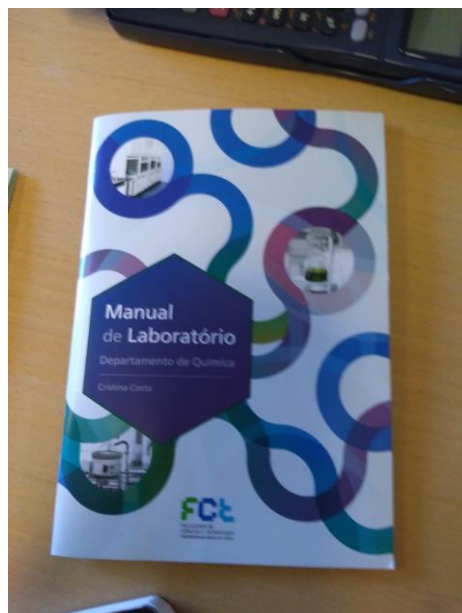
A avaliação é contínua segundo o regulamento de avaliação de conhecimentos da FCT-NOVA e inclui os seguintes elementos afectados da ponderação indicada:

- a) **Componente Prática (50%): Grupos de 3** em que apenas estão presentes 2 elementos por grupo em cada aula, tendo cada estudante de cada grupo que realizar 6 trabalhos práticos dos 9 existentes. Apesar de não poderem estar presentes nos 9 trabalhos, todos os alunos deverão efetuar o registo de todos os trabalhos, com a inclusão da preparação do trabalho e registo do trabalho efetuado com os dados fornecidos pelos colegas de grupo. **Caderno de laboratório individual.**
  - i) preparação e desempenho do estudante no laboratório ao longo das aulas práticas do semestre (30%),
  - ii) caderno de laboratório individual (20%).
- b) **Componente teórica-prática - Teste final (50%),**
- c) Cada estudante tem de comparecer a 2/3 das aulas práticas de acordo com o indicado na alínea a).
- d) Os elementos de avaliação da alínea a) são obrigatórios para obter **frequência, cuja nota tem de ser igual ou superior a 9,46.**
- e) A média ponderada da classificação de cada um dos dois elementos de avaliação – **Componente Prática + teste final** - terá que ser  $\geq 9,46$  valores para a aprovação na UC. **O teste final não tem nota mínima mas o estudante TEM de comparecer ao teste. Caso falte ao teste final, o estudante NÃO APROVA À UC, sendo admitido a exame de acordo com a alínea f).**
- f) Caso o estudante não aprobe em avaliação continua e tenha frequência à UC de acordo com as alíneas a) e d), é admitido a exame final em que a **Nota do Exame Final** corresponde à nota final na UC.
- g) Para os estudantes que obtenham frequência mas não aprovem à UC, mantêm a classificação da frequência para o ano lectivo seguinte podendo, se o desejar, realizar a UC no ano lectivo seguinte por avaliação contínua.

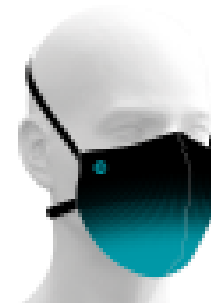


## À venda na papelaria solução

KIT  
Estudante DQ



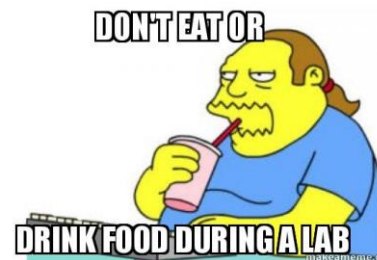
Uso obrigatório de óculos de protecção, bata e luvas e máscara.



Não usar sapatos abertos no laboratório.



Não comer.



Nunca pipetar com a boca.



Manter sempre a bancada de trabalho limpa e ordenada.



# Regras gerais de trabalho em laboratório

Antes de manusear um produto químico  
pesquisar as características do produto e os  
cuidados a ter no seu manuseamento

Conferir sempre os rótulos dos reagentes no  
momento imediatamente anterior à sua  
utilização.

Section 2: Composition and Information on Ingredients		
Nome	CAS#	% by Weight
Formaldeído	50-00-0	36.0-38
Água destilada	37-58-1	59-61
Water	7732-18-5	47.00-53

Fichas de dados de segurança: riscos e perigos das substâncias químicas  
(MSDS)

[http://www.merck-chemicals.com.pt/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/Merck-PT-Site/en\\_US/-/EUR/ViewSearch-SearchMSDS](http://www.merck-chemicals.com.pt/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/Merck-PT-Site/en_US/-/EUR/ViewSearch-SearchMSDS)



- Manter sempre tapados os frascos de produtos químicos. Após utilização verificar se ficaram bem limpos e recolocá-los no respetivo lugar, tendo o cuidado de os deixar com o rótulo virado para a frente.
- Nunca aproximar produtos inflamáveis de uma fonte de calor. Estão incluídos nesta classe: éter etílico, acetona, éter de petróleo, metanol, etanol, entre outros.
- Abrir as torneiras de água estritamente no momento de utilização, de resto mantê-las sempre fechadas.
- Em caso de acidente no laboratório, manter a calma, não sair do lugar se não for atingido, chamar a atenção do docente e deixar espaço de actuação.



Conhecer a localização e o modo de funcionamento dos extintores de incêndio, chuveiros de emergência, e ainda a localização do material de primeiros socorros existentes no laboratório.



Não despejar produtos químicos na pia. Para cada composto, verificar antecipadamente se existe frasco de descarte (recuperação ou eliminação como resíduo perigoso).

Nunca colocar material de vidro partido nos cestos para o papel. O material partido deve ser colocado no recipiente para este fim .

Manter os frascos dos reagentes limpos externamente e com os rótulos legíveis.

Não recolocar no frasco os produtos químicos que não chegou a usar. Nunca introduzir qualquer objecto no frasco dum reagente.

Nunca deixar que os solventes contactem a borracha das pompets ou tetinas, pois promovem acelerada deterioração de ambos.

Derramamentos devem ser imediatamente limpos, de acordo com o produto derramado.

Sempre que trabalhar com esmerilados verificar antecipadamente se estes estão limpos. Verificar depois a sua correcta adaptação.

Não mexer em equipamentos e aparelhos que não pertençam à aula em curso e mesmo os equipamentos da aula só poderão ser utilizados após explicação do funcionamento e autorização do docente.

### **Terminada a experiência:**

- tornar os reagentes ao local apropriado, limpar e desinfetar a bancada de trabalho
- depois de descartar os produtos nos seus respetivos contentores,
- deixar o material de vidro no tabuleiro a isso destinado.

Para o efeito passar água da torneira no material de vidro, lavar com detergente e ajuda do escovilhão, passar com água destilada e acetona, e finalmente deixá-lo no tabuleiro de alumínio.

O material poderá ser seco na estufa, tendo atenção à tolerância do material de medição analítico.

**Não esquecer de desencaixar todas as peças de vidro e retirar todas as peças de plástico ou de borracha quando colocar o material no tabuleiro que será levado à estufa para secagem.**



## **Se necessitar de lavar algum material de laboratório:**

- Passar água da torneira no material de vidro,
- lavar com detergente e ajuda do escovilhão,
- passar com água destilada e acetona,
- secar na estufa, tendo atenção à tolerância do material de medição analítico.

**Não esquecer de desencaixar todas as peças de vidro e retirar todas as peças de plástico ou de borracha quando colocar o material no tabuleiro que será levado à estufa para secagem.**

DEPARTMENT  
OF CHEMISTRY

índice

1

0 e 1

Nome: \_\_\_\_\_  
Instituição: \_\_\_\_\_  
Contacto em caso de perda: \_\_\_\_\_

2, 4 e 6

Preparação prévia do trabalho prático (bibliografia, esquema da sequência experimental, tópicos importantes para o desenrolar da experiência).  
Recolha dos dados físicos e segurança das substâncias a manipular  
Pesagens e cálculos

1

3, 5 e 7  
Notas descritivas ao  
longo do  
procedimento  
experimental

## Conclusões

### Informação recolhida fora do laboratório

## E pesagens e cálculos

### Informação recolhida no decorrer do trabalho experimental

!

### Transfection of modified CD8 siRNAs into E10 cells

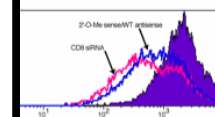
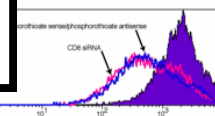
03.18.09  
Custom

e: to test the activity of modified CD8 siRNAs into E10 cells  
(times you will need a couple of sentences to describe...)

Is:

e manufacturers product numbers when appropriate...)

...d standard siRNA transfection conditions (notebook #44, MM617)...



glue data in notebook

### Conclusion:

ent on the results of the experiment; perhaps what the next steps



Cadernos  
analógicos

PREPARATION OF SALICYLIC ACID [AL DEHYDE]

Ref: Projects book, expt 24 m (p 23)

for sample:  
black = before  
red = product  
purple = during after

**PURPOSE:** Salicylic acid will be prepared by the reaction shown below, the base-promoted hydrolysis of methyl salicylate. The product will be isolated by filtration and purified by recrystallization. The purified product will be analyzed by <sup>13</sup>C NMR and by determination of its melting point.

CC(=O)Oc1ccccc1O  
 methyl salicylate  
 bp 223°C  
 MW = 152 g/mole  
 d = 1.179/mL

+ 2 NaOH(aq) →

[O-]C(=O)c1ccccc1O  
 + CH<sub>3</sub>OH

↓ X5 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(aq)

OC(=O)c1ccccc1O  
 salicylic acid  
 mp 160°C  
 MW = 138 g/mole

**HAZARD DATA**

- ★ NaOH is corrosive; causes burns. wear gloves; avoid contact
- ★ H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> is corrosive; causes burns. Avoid contact
- ★ methyl salicylate is toxic and an irritant. wear gloves and avoid contact
- Salicylic Acid Harmful if swallowed, inhaled or absorbed through skin. Irritant, including by inhalation. wear gloves

★ = from lab book      □ = JT Baker MSDS (online)

PROCEDURE/OBSERVATIONS

Lab Partner: ANN HODRIDGE  
Date: 9/25/08

wear gloves and safety goggles throughout experiment!

- ① Pour 3.5 mL H<sub>2</sub>O into 10-mL RB flask.
- ② Add 0.48g NaOH
- ③ Add 0.20 mL methyl salicylate  
observe
- ④ add boiling stone and water-cooled condenser to flask. observe

actual mass: 0.521g  
mass: 0.235g

13



## Cadernos Digitais

ENUser - EN1103 E-Notebook Instance

File Edit View Tools Help

Back Forward Home Copy Paste Note03-001 Browse Search Batch Explorer Work Offline Help

ENUser

- User Configur
- Offline
- Note01
- Note02
- Note03
  - Note03-01
  - Note03-0C
  - Note03-0E
- Combi
- Demo

New Section

Batch Explorer

Character Map

Reaction

Reaction

Reactants & Products

Reactant	MF	FM	Limit?	Eq	Moles	Sam
1 methyl 2-(4-aminophenyl)acetate	C9H11NO2	165.189	<input checked="" type="checkbox"/>	1.000		
2 formaldehyde	CH2O	30.026	<input type="checkbox"/>	1.000		
3 sodium cyanotrihydroborate	Na+ CH3BN-	62.842	<input type="checkbox"/>	1.000		

Product	MF	Actual Mass	Actual Mol	Yield	Purity	MW	Eq	Ther
1 methyl 2-(4-(dimethylamino)phenyl)acetate	C11H15NO2					193.242	1.000	

Preparation

Arial 8 B I U x²

Reaction

Solvents

Name	Ratio	Volume

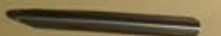
Reaction Conditions

Reaction Molarity	
Pressure	
Temperature	

espátula fina



espátula de meio  
cana



tubos de ensaio



vidro de relógio



copos ou goblés



pinça / noz



suportes



esguicho



erlenmeyers



exsicador

## Material de medição de volumes



pipetas  
graduadas



micropipetas



pipeta  
volumétrica



pipetadores



proveta

## Equipamento de pesagem



balança analítica

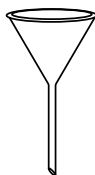


balança técnica

## Material de filtração gravítica



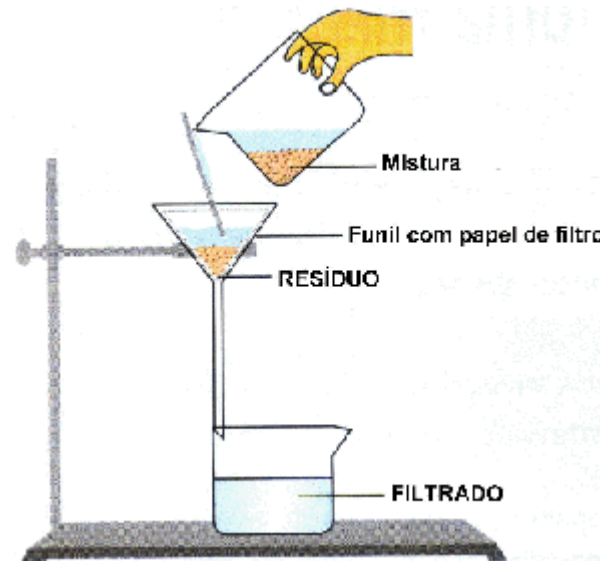
funil de sólidos



funil de líquidos



papel de filtro



## Material de filtração a pressão reduzida



Funis Büchner



Cones de filtração



kitasatos



## Material de extracção



ampolas de decantação

condensador de  
bolas



extractor de soxhlet

## Material para refluxo



montagem de refluxo



balão de fundo  
redondo  
de uma tubuladura



balão de  
fundo  
redondo  
de três  
tubuladuras



placa de  
aquecimento  
e agitação

condensado  
de Liebig



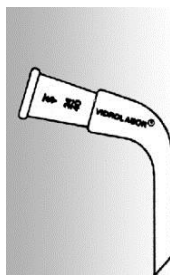
condensador de  
serpentina



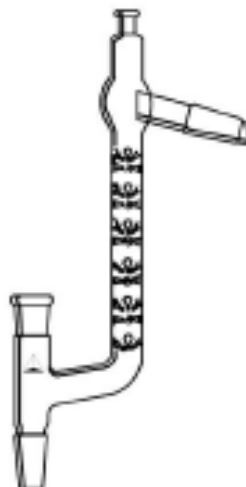
## Material de destilação



cabeça de destilação



alonga de destilação  
simples



Cabeça de destilação  
com coluna de Vigreux



Adaptador de  
termómetro



Aranha e balões



alonga de destilação a  
pressão reduzida



montagem de  
destilação simples

Temperatura de referência

Volume nominal



Limite de erro

Classe (qualidade)

DIN – Deutsches Institut für Normung  
(Regulation on European Standardisation)

Fabricante  
Marca registada  
Volume nominal  
Limite de erro



Símbolo de conformidade de acordo  
com (Eichordnung) órgão federal  
alemão de  
regulamentação sobre pesos  
e medidas e DIN 12 600

Tempo de espera

Temperatura de referência

Classe (qualidade)

País de origem

DIN – Deutsches Institut für Normung  
(Regulation on European Standardisation)

Fabricante

Volume nominal

Divisão da graduação

Classe (qualidade)

Tempo de espera

Temperatura de referência

Limite de erro

Símbolo de conformidade de acordo  
com (Eichordnung) órgão federal alemão de  
regulamentação sobre pesos  
e medidas e DIN 12 600



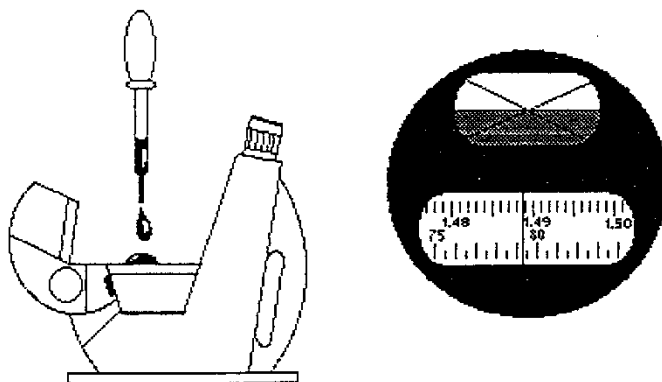
DIN – Deutsches Institut für Normung  
(Regulation on European Standardisation)

## Índice de refração ( $n_D^{20}$ )

$$n = V(\text{ar}) / V(\text{liq}) \text{ (função da temp. e de } \lambda \text{)}$$

constante física de líquidos que permite a sua identificação  
constante física que dá uma ordem de grandeza do grau de pureza do líquido

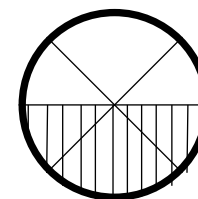
### Refractómetro de Abbé



Colocar algumas gotas líquido na superfície do prisma e fechar imediatamente o prisma.

Ajustar a divisão entre a calote de luz e a calote escura com o ponto em que se cruzam as bisettrizes do círculo.

Ler o valor do índice de refração até à quarta casa decimal.



## Ponto de fusão

**constante física de sólidos que permite a sua identificação**  
**constante física que dá uma ordem de grandeza do grau de pureza do sólido**

O valor de ponto de fusão deve sempre indicar qual o solvente de cristalização utilizado.

ex. pf. (ácido benzóico) = 122,1 °C (água)

Geralmente o pf. **não é um valor único** mas sim um intervalo de valores de temperatura

- temp. do início da fusão – temp. do final da fusão
- . quanto menor o intervalo de fusão maior a pureza do sólido
- . a presença de impurezas diminui sempre a temperatura de fusão

ex. pf. (ácido benzóico) = 119,2 - 121,5 °C (água)

**A presença de impurezas altera em maior ou menor grau o sistema de cristalização do sólido que enfraquece as interações entre as moléculas no estado sólido.**

## Ponto de fusão

Dependendo do equipamento de medida de p.f. uma pequena quantidade de amostra é colocada

num capilar, ou

numa lâmina coberta por uma lamela

Estes são aquecidos, a fusão é visualizada e a temp. lida no termómetro do equipamento.

A medição do p.f. deve ser sempre efectuada com aquecimento lento para que haja tempo para a transferência de calor e os valores não sejam registados erroneamente com incremento.

**Capilar**



**Microscópio de pf. (lâmina e lamela)**



## Massa específica $\rho$

**massa por unidade de volume expressa em  $\text{g}/\text{cm}^3$**

**constante que caracteriza os compostos e misturas de compostos**

utilizada para converter volume em massa e vice-versa.

### Determinação da massa específica de líquidos

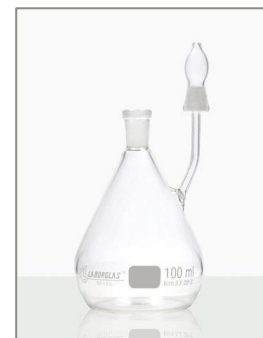
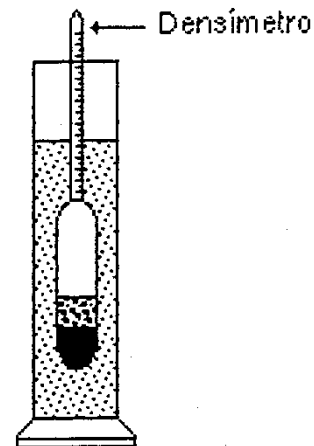
1. faz-se o cálculo com os valores da medição rigorosa de volumes e pesos

2. utilizando um densímetro - baseia-se no princípio de Arquimedes - método da flutuação (um corpo imerso perde aparentemente peso no mesmo valor ao peso do líquido deslocado)

A força  $I$  que provoca a flutuação é proporcional à densidade ( $d$ ), volume ( $V$ ) e gravidade ( $g$ ) da seguinte forma:

$$I = d \cdot V \cdot g$$

3. A massa específica relativamente à água a  $4^\circ \text{C}$  ( $\rho = 0,9999720 \text{ g}/\text{cm}^3$ ) permite obter o valor da **densidade**, que é um valor adimensional



picnómetro



# Preparação de soluções

Preparação em balão volumétrico com o volume pretendido

Pesagem do soluto em balança analítica



copo



espátula de meia cana

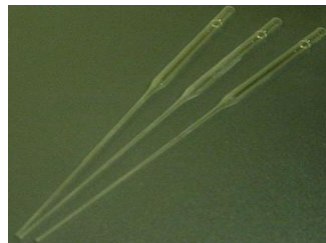


balança analítica



balões volumétricos

Aferição do balão volumétrico com o solvente adequado



Pipetas volumétricas



micropipetas

## Cálculo dos materiais a medir para preparação de soluções:

### Concentração em percentagem

Ex. Solução aquosa de NaCl 1% m/v,

ie a concentração é de 1% de massa de soluto na solução final.

Preparação da solução:

- . pesagem em balança analítica de 1 g de NaCl num copo pequeno
- . adição de pequena quantidade de água para dissolução do NaCl
- . transferência da solução para o balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de um funil
- . repetição deste processo até arrastamento completo do sólido para o balão volumétrico
- . aferição do balão volumétrico até a parte inferior do menisco tocar a marca do



## Cálculo dos materiais a medir para preparação de soluções:

### Concentração em molaridade

Ex. Solução aquosa de 100 mL de NaCl 0,1 M,

ie existe 0,1 mole de soluto por litro de solução.

Preparação da solução:

- .  $MM(\text{NaCl}) = 58,5 \text{ g/mole}$

- . 0,1 mole de NaCl corresponde a 5,85 g para a solução de 100 ml serão

necessários 0,585 g

- . adição de pequena quantidade de água para dissolução do NaCl

- . transferência da solução para o balão volumétrico de 100 mL com o auxílio de um funil

- . repetição deste processo até arrastamento completo do sólido para o balão volumétrico

- . aferição do balão volumétrico até a parte inferior do menisco tocar a marca do volume do balão.



**determine a massa de NaOH que necessita para preparar as seguintes soluções:**

1. 250 mL de NaOH 5%
2. 100 mL de NaOH 2 M
3. 50 mL de NaOH  $10^{-2}$  M
4. 100 mL de NaOH 0,5%

**determine o volume que necessita pipetar de ácidos comerciais para preparar as seguintes soluções:**

1. 100 mL de HCl 5%
2. 100 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,5 M
3. 250 mL de HCl 2%
4. 50 mL de HCl 2,5 %
5. 250 mL de HCl 4 M



## Preparação de uma solução concentrada (saturada)

Uma solução concentrada de um soluto consiste numa solução que contém a quantidade máxima deste soluto que o solvente é capaz de dissolver, i.e. está-se no limite de solubilidade.

### Método de preparação

ex. solução aquosa concentrada de NaCl

Deve recolher-se da literatura o valor da solubilidade do NaCl em água

Num erlenmeyer dissolve-se o NaCl devido no volume de água pretendido

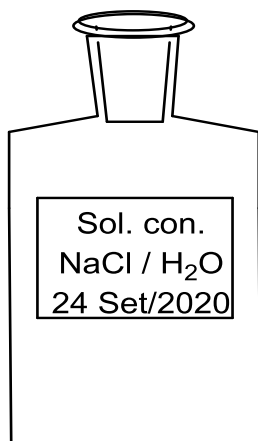
Aquece-se à ebulição com boa agitação

Adicionam-se pequenas quantidades de NaCl caso a dissolução seja total à temperatura de ebulição até se iniciar a deposição de sólido no fundo do erlenmeyer

Deixa-se arrefecer à temperatura ambiente e filtra-se o sólido depositado

Recolhe-se a solução para um frasco rolhado e rotula-se incluindo a data

de preparação da solução



## por diluição de uma solução mãe

Considere-se uma solução de concentração 2 M (seja qual for o soluto) que vai ser a solução mãe (ie a solução a partir da qual se preparam todas as restantes soluções de menor concentração).

uma solução 10 vezes menos concentrada tem que conter 10 vezes menos quantidade de soluto em relação ao volume final de solução que se pretende.

ex. para preparar 100 mL de uma solução 0,2 M ter-se-á que pipetar 10 vezes menos o volume de 100 mL para que depois de perfeito o volume, a solução final seja 10 vezes menos concentrada

(pipetam-se 10 mL para o volume final de 100 mL).

Diz-se que se diluiu de 1 para 10 (1/10).

Pode seguir a seguinte relação:

$$V_m \times \text{conc}_m = V_{\text{dil}} \times \text{conc}_{\text{dil}}$$



# Preparação de soluções

determine os volumes que deve pipetar da solução mãe para preparar as soluções referidas:

Solução mãe de concentração 5 M.

Solução a preparar	Volume a pipetar
--------------------	------------------

- |                       |         |
|-----------------------|---------|
| 1. 100 mL 0,5 M       | 10 ml   |
| 2. 250 mL 2 M         | 100 ml  |
| 3. 100 mL $10^{-2}$ M | 0,2 ml  |
| 4. 50 mL 1 M          | 10 ml   |
| 5. 100 mL $10^{-1}$ M | 2 ml    |
| 6. 250 mL $10^{-3}$ M | 0,05 ml |







***...por hoje!!!!***