

**UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TÉCNICAS DE LABORATÓRIO

TRABALHOS PRÁTICOS, CALENDARIZAÇÃO, BIBLIOGRAFIA, MÉTODO DE AVALIAÇÃO

**LICENCIATURA EM QUÍMICA APLICADA
LICENCIATURA BIOQUÍMICA
MESTRADO INTEGRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA e BIOQUÍMICA**

ANO LECTIVO 2021-2022

DOCENTES: Marco Gomes da Silva, Márcia Ventura, Florbela Pereira

Descrição geral

A Unidade Curricular (UC) tem carácter experimental sobre o trabalho em laboratório de química, apoiado nos conceitos fundamentais que permitem a aquisição de conhecimentos para a boa realização das técnicas experimentais e interpretação de resultados. A UC decorre ao longo do semestre com a realização de três aulas teórico-práticas e de nove sessões laboratoriais. Toda a informação necessária para o decorrer das aulas está contida neste documento “Técnicas de Laboratório 2021-2022” que inclui regras gerais de funcionamento do trabalho em laboratório, calendarização das aulas, bibliografia, método de avaliação e protocolos dos trabalhos práticos.

Programa

Organização de um laboratório de química. Regras de segurança e boas práticas laboratoriais. Proteção ambiental e gestão de resíduos no laboratório. Metodologia de trabalho no laboratório: preparação do trabalho, execução experimental, elaboração do caderno de laboratório e elaboração de relatórios. Técnicas gerais de laboratório: medição, mistura, dissolução, aquecimento/arrefecimento, agitação. Montagens para trabalho laboratorial. Preparação de soluções. Diluição de soluções. Titulação. Medição de constantes físicas. Processos de purificação de sólidos: recristalização e sublimação. Processos de purificação e de separação de líquidos: destilação. Processos de extração: liq – liq e sól – liq. Filtração. Cromatografia: cromatografia em coluna e cromatografia em camada fina. Cromatografia analítica e preparativa. Doseamento.

Métodos de ensino

Nas aulas teórico-práticas são expostos os conceitos teóricos fundamentais associados à realização dos trabalhos práticos com o apoio de apresentações em Power Point. Em cada uma das aulas práticas é feita a exposição dos conceitos específicos do trabalho a realizar em escrita directa no quadro, seguida da realização do trabalho experimental pelos estudantes no laboratório.

Bibliografia

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

4. Online Safety Library: Laboratory and Chemical Safety

<http://ehs.okstate.edu/>

5. ChemKeys

<http://www.chemkeys.com/bra/index.htm>

Calendarização (todas as aulas são presenciais)

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	Extração, 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	Extração, isolamento e caracterização de pigmentos (Turnos 4ª feira)
3ª TP	13 Dez	
Teste Final	13 Jan	Teste final às 10H

A componente prática da UC terá 9 sessões de 3h, incluindo a aula de Apresentação do Laboratório. Os estudantes trabalharão individualmente. É obrigatório que cada estudante possua o seu Caderno de Laboratório [Laboratory notebook https://www.youtube.com/watch?v=MMiIVfh7k_Q; <https://www.youtube.com/watch?v=QrUiUGrBwlc>]. Neste deverá fazer todos os registos respeitantes à preparação e execução de cada sessão prática, bem como dar resposta às questões, se indicadas, para cada sessão. **Notar, que a preparação de cada sessão prática deve constar do Caderno de Laboratório, sendo este da responsabilidade individual de cada estudante. Em cada sessão prática cada estudante tem de fazer os registos no caderno de laboratório.**

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 contínua 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.

Regras gerais de trabalho no laboratório

1. Uso obrigatório de óculos de proteção, bata e luvas.
2. Não usar sapatos abertos no laboratório.
3. Não comer.
4. Nunca pipetar com a boca.
5. Manter sempre a bancada de trabalho limpa e ordenada.

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

Para consultar fichas de dados de segurança: riscos e perigos das substâncias químicas (MSDS):

<http://www.sigmaaldrich.com/united-kingdom/technical-services/material-safety-data.html>

<http://www.merckmillipore.com/PT/en/documents/Z.qb.qB.tecAAAFDDJUsznLq.nav>

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

8. 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.

9. Nunca aproximar produtos inflamáveis de uma fonte de calor. Estão incluídos nesta classe: éter etílico, acetona, éter de petróleo, metanol, etanol, entre outros.

10. Abrir as torneiras de água estritamente no momento de uso, de resto mantê-las sempre fechadas.

11. 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 atuação.

12. 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.

Cuidados a ter no laboratório

1. Evitar despejar produtos químicos na pia. Na eventualidade de o fazer, utilizar a hotte. Para cada composto, verificar antecipadamente se existe frasco de descarte (recuperação).

2. Nunca colocar material de vidro partido nos cestos para o papel. O material partido deve ser colocado no recipiente para este fim e registada a baixa na lista que existe para o efeito.

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

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

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

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

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

8. 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.

9. Terminada a experiência, retornar os reagentes ao local apropriado, limpar a bancada de trabalho e, depois de descartar os produtos nos seus respetivos contentores, lavar todo o material de vidro. 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. Durante a aula poderá ser indicado um procedimento diferente com vista à lavagem do material na máquina.

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.

O caderno de laboratório

Cada estudante tem que possuir o seu caderno de laboratório no qual efetua os registos relativos à preparação e execução dos trabalhos experimentais por ordem cronológica.

O caderno de laboratório é um objecto pessoal que tem que estar devidamente identificado.

Todos os resultados devem ser registados diretamente no caderno, **a caneta**. Deverão também ser feitas todas as anotações, cálculos e esquemas, que considera necessários ao desempenho da experiência.

As páginas devem ser numeradas e usadas consecutivamente.

Nesta UC é obrigatório o uso do Caderno de Laboratório, **que é individual**. Pode consultar informações adicionais aqui

<http://web.mit.edu/me-ugoffice/communication/labnotebooks.pdf>

<http://guides.lib.purdue.edu/c.php?g=352816&p=2377935>

<https://study.com/academy/lesson/what-is-a-laboratory-notebook-types-best-practices.html>

<https://www.labfolder.com/blog/7-reasons-you-need-a-laboratory-notebook/>

https://pt.wikipedia.org/wiki/Caderno_de_laborat%C3%B3rio

<https://www.youtube.com/watch?v=il9l03gWCJw>

<https://www.youtube.com/watch?v=-MAIuaOL64I>

O registo de cada trabalho prático deve seguir os seguintes tópicos:

1. Notas recolhidas antes da execução do trabalho experimental necessárias para o seu entendimento incluindo: dados físicos dos materiais a manipular (reagentes, solventes e produtos em tabela indicando: fórmula molecular, massa molecular, ponto de ebulição, ponto de fusão, índice de refração, densidade, solubilidade), esquemas reacionais (caso existam), técnicas experimentais, referências da literatura.
2. Segurança dos reagentes e produtos (notas importantes sobre manipulação, efeitos tóxicos, precauções, primeiros socorros, inflamabilidade).

Os dois *itens* acima devem estar elaborados antes de cada aula e os quatro *itens* a seguir devem ser registados durante a aula.

3. Data de execução e título da experiência.
4. Material e montagem com as respetivas legendas.
5. Procedimento do decorrer da execução experimental. Observações e registos necessários (tempo de reação ou de aquecimento, temperatura, pH, mudança de cor, libertação de gás, etc...).
6. Resultados e conclusões incluindo crítica em relação aos objetivos da experiência.

TRABALHOS PRÁTICOS

1ª sessão – Apresentação do laboratório e Segurança no laboratório

É de seguida apresentado algum do material corrente de laboratório. São indicadas as respetivas designações, devendo os estudantes apreendê-las para as aulas de laboratório que se seguirão. Pode ainda consultar aqui algum deste equipamento

Equipamento de laboratório

<https://www.youtube.com/watch?v=ICpIBtDAwrl>

<https://www.youtube.com/watch?v=mlxzcPtkVo>

https://www.youtube.com/watch?v=g99_Yt8dWPU

<https://www.youtube.com/watch?v=vuLvgXF7Zs4>

Como estar seguro no laboratório

<https://www.youtube.com/watch?v=vuLvgXF7Zs4>

Material corrente de laboratório



funil de sólidos



funil de líquidos



erlenmeyers



copos de precipitação



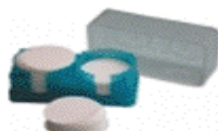
proveta



funil de Buchner



borrachas de filtração



papel de filtro



kitsatos



exsicador



balões



pipetas



pipeta volumétrica

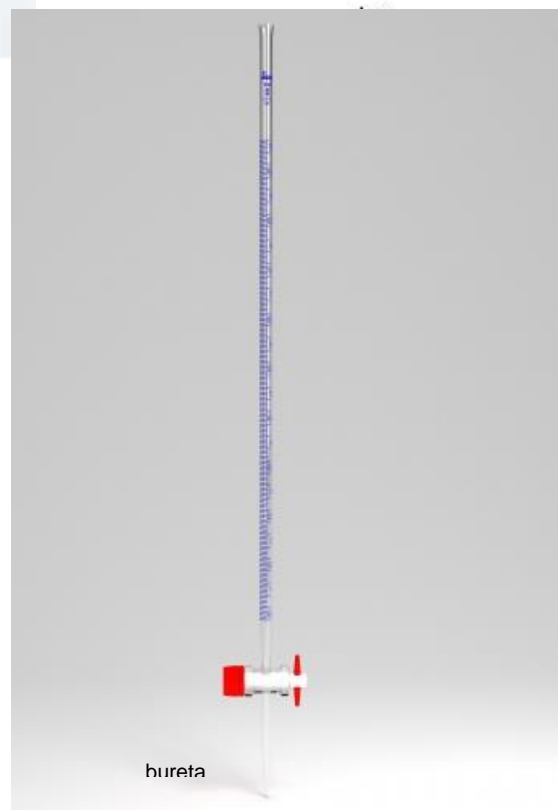


micropipetas

E



esguicho



bureta



vidro de relógio



espátula

espátula de meia



Pipetadores

pipetadores



balão de fundo redondo de uma tubuladora



rolha de vidro



balão de fundo redondo de três tubuladoras



condensador de Liebig



tubos de ensaio



pinça / noz

condensador de serpentina

condensador de bolas



extrator de soxhlet



suportes

placa de aquecimento e agitação



montagem de refluxo



Cabeça de destilação
com coluna de Vigreux



Adaptador de
termómetro



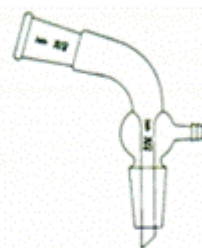
Aranha e balões



cold finger para
sublimação



cabeça de destilação



alonga de destilação a
pressão reduzida



alonga de destilação
simples



montagem de
destilação simples



balança analítica



balança técnica



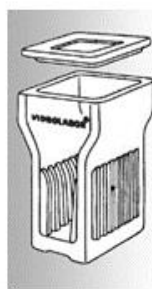
aparelho para medição de pontos de fusão



refractômetro



ampolas de decantação



câmara de eluição



coluna cromatográfica



manta de aquecimento

Segurança no laboratório

(ver ainda ANEXO 2)

Noções breves de segurança em laboratórios de química orgânica com relevância para:

- 1 – Regras essenciais de segurança no trabalho laboratorial. Localização do equipamento de primeira intervenção.
- 2 – Manual de segurança.
- 3 – As propriedades das substâncias perigosas. Os rótulos.
- 4 – As fichas de dados de segurança. Equipamento de proteção individual: proteção dos olhos, da roupa e do corpo.
- 5 – Boas práticas no laboratório: equipamento e montagens, manuseamento de compostos químicos, salpicos e derrames.
- 6 – Eliminação dos resíduos.

Os dados de segurança relativos ao trabalho em laboratório devem ser consultados no manual de segurança disponibilizado.

2ª sessão - Determinação de constantes físicas

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas e recolher da literatura as constantes físicas que vai medir no trabalho prático.

Caracterização e identificação de uma substância

No processo de identificação de compostos orgânicos a determinação das constantes físicas, tais como, ponto de fusão e ponto de ebulição constitui um passo essencial, pois não só fornece informações úteis na caracterização de um composto bem como pode ser fundamental na avaliação do seu grau de pureza. Outras constantes físicas que são usadas para a caracterização e identificação dos líquidos, são o índice de refração e a densidade. O índice de refração pode ser obtido facilmente e constitui boa indicação de pureza, servindo, às vezes, de suporte na identificação. Em ambos os casos os valores determinados são dependentes da temperatura, devendo esta ser registada sempre que é feita a sua medição.

Pureza de uma substância

Muitas substâncias orgânicas apresentam um amplo intervalo de fusão ou ebulição a valores inferiores aos $^{\circ}\text{C}$ experimentais tabelados. Este facto reflecte uma amostra impura. Um composto puro deve apresentar em geral um intervalo de fusão ou ebulição de 1-2 $^{\circ}\text{C}$.

Pode ainda consultar aqui informação adicional

Medição do Índice de Refracção de um líquido

<https://www.youtube.com/watch?v=g8NPufvZEU>

<https://www.youtube.com/watch?v=FqevY8CjIAk>

<https://www.youtube.com/watch?v=FqevY8CjIAk>

<https://www.youtube.com/watch?v=CW9gOyH8HIA>

Determinação do ponto de fusão

<https://www.youtube.com/watch?v=9aQio1KQKrs>

https://www.youtube.com/watch?v=zVSk2m4I8_E

<https://www.jove.com/science-education/11189/melting-points>

Execução Experimental

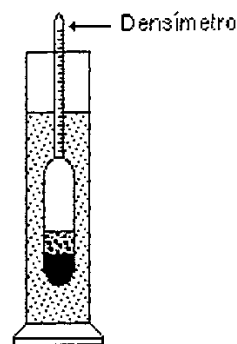
a) Determinação da densidade com densímetro

Amostras: água, diclorometano, *n*-hexano.

Material de laboratório necessário

- Densímetro
- Proveta de volume adequado

- 1 - Coloque a amostra na proveta.
- 2 - Introduza, cuidadosamente, o densímetro teste (escala intermédia).
- 3 - Escolha o densímetro apropriado. Justifique.



- 4 - Faça a leitura (não deixe o densímetro encostar às paredes).
- 5 - Registe o resultado e a temperatura de trabalho.
- 6 - Compare com valores tabelados. Comente.

b) Determinação do índice de refração (n_D^t)

Amostras: ciclo-hexanol, diclorometano, *n*-hexano

- 1 - Limpe cuidadosamente as duas superfícies da célula com papel embebido em etanol.
- 2 - Com uma pipeta Pasteur introduza uma a duas gotas de amostra na célula do refractómetro (sem tocar na célula). Fechar a célula.

Este procedimento deverá ser particularmente rápido quando se trata de amostras muito voláteis.

- 3 - Abrir a entrada de luz e focar a ocular. Levar a linha de separação ao campo visual e, eventualmente, eliminar as tonalidades coradas com o botão de compensação (grande).

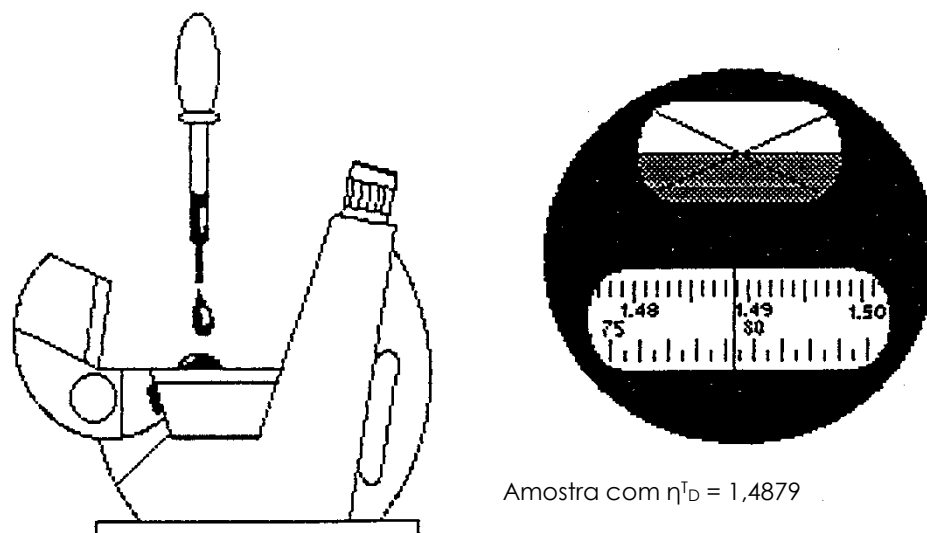


Fig.1 Visualização da medida de índice de refração.

- 4 - Acertar a linha de separação da zona claro-escuro ao centro do campo (cruzamento das linhas).
- 5 - Na escala superior do aparelho, leia e registe o índice de refração (o valor lido até 4 casas decimais sendo a 4ª lida por estimativa). Registe a temperatura de trabalho.
- 6 - Após a leitura, limpe cuidadosamente as duas superfícies da célula com papel embebido em etanol.
- 7 - Compare os resultados com valores tabelados (valores obtidos experimentalmente que se encontram na literatura).

c) Determinação do ponto de fusão do ácido benzóico

Avaliação do grau de pureza de amostras de ácido benzóico pelo método capilar.

Serão fornecidas duas amostras de ácido benzóico: amostra A e amostra B de diferentes purezas.

1 - Coloque a substância num capilar para pontos de fusão de modo a ocupar 1-3 mm de altura. O enchimento pode ser facilitado deixando cair o capilar através de um tubo de vidro pousado numa superfície sólida.

Se a substância tem tendência a sublimar ou é higroscópica deve fechar-se o tubo capilar à chama.

2 - Coloque o capilar no aparelho de pontos de fusão e inicie o aquecimento. Aqueça até cerca de 10 °C abaixo do ponto de fusão previamente recolhido da literatura. A partir dessa temperatura, regule o aquecimento de modo a que a temperatura aumente apenas a uma velocidade de 1-2 °C/min.

3 - Observar, caso existam, os fenómenos de sublimação ou decomposição, registando as temperaturas.

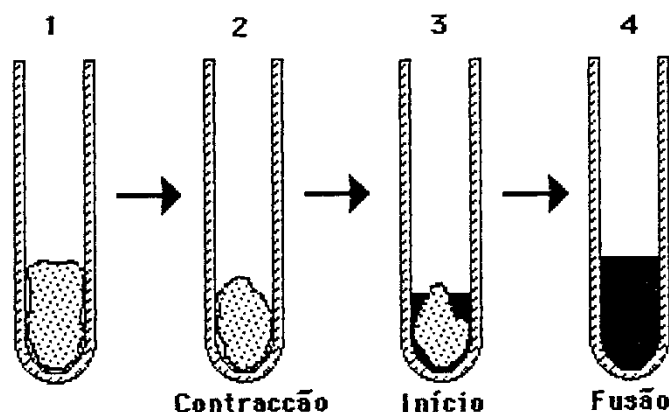


Fig.2 Sequência de fusão em capilar.

4 - Registe o intervalo de fusão (ΔT) entre a temperatura de início de fusão (T_i) e a temperatura de fim de fusão (T_f). Faça esta determinação para cada uma das amostras A e B.

5 - Comente os resultados.

3ª sessão - Soluções de ácidos e de bases – titulação ácido-base

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas.

Execução Experimental

a) Preparação de 100 mL de uma solução de NaOH 0,1M

1 - Determine qual a quantidade de NaOH que deve pesar para preparar 100 mL de uma solução aquosa de NaOH 0,1M (estes cálculos devem ser realizados antes de iniciar a sessão prática).

Material de laboratório necessário:

- Balões volumétricos de 100 mL e 250 mL
- Espátula de meia cana
- Copo
- Provetas de 50 ou 100 mL
- Funil de líquidos
- Pipetas Pasteur
- Pipetador adequado

2 - Pese numa balança analítica a quantidade calculada de NaOH para um copo. Registe o peso com uma precisão de 0,1 mg.

3 - Adicione água destilada ao sólido de modo a solubilizá-lo.

A quantidade de água deve ser inferior a ca. de 50 mL.

A solubilização é exotérmica pelo que a solução vai aquecer.

Antes de iniciar o próximo passo deve amparar o colo do balão com uma pinça suportada ao suporte da bancada.

4 - Inicie a transferência para um balão volumétrico de 100 mL, utilizando para esse efeito um funil.

5 - O copo deve ser lavado várias vezes com água destilada e esta deitada para o balão volumétrico.

Nunca ultrapassar o limite do balão.

Realize a próxima operação após arrefecimento do balão.

6 - Afira o balão volumétrico observando o menisco formado e tendo o cuidado de adicionar gota a gota a água na fase final de modo a que a parte inferior do menisco fique ao nível da linha correspondente ao volume de 100 mL do balão.

b) Preparação de 100 mL de uma solução de NaOH a 4% (m/v)

1 - Determine qual a quantidade de NaOH que deve pesar para preparar 100 mL de uma solução NaOH 4% (estes cálculos devem ser realizados antes de iniciar a sessão prática).

Material de laboratório necessário:

- Copo de 250 mL.
- Espátula de meia cana
- Proveta de 100 mL ou 200 mL
- Funil de líquidos
- Pipetas Pasteur
- Pipetador adequado

2 - Pese em balança analítica a quantidade calculada de NaOH para um copo. Registre no caderno de laboratório o peso com uma precisão de 0,1 mg.

3 - Adicione água destilada ao sólido de modo a solubilizá-lo.

A quantidade de água deve ser inferior a ca. de 50 mL.

A solubilização é exotérmica pelo que a solução vai aquecer.

Antes de iniciar o próximo passo deve amparar o colo do balão com uma pinça suportada ao suporte da bancada.

4 - Inicie a transferência para um balão volumétrico de 100 mL, utilizando para esse efeito um funil.

5 - O copo deve ser lavado várias vezes com água destilada e esta deitada para o balão volumétrico.

Nunca ultrapasse o limite do balão.

Realize a próxima operação após arrefecimento do balão.

6 - Aferir o balão volumétrico observando o menisco formado e tendo o cuidado de adicionar gota a gota a água na fase final de modo a que a parte inferior do menisco fique ao nível da linha correspondente ao volume de 100 mL do balão.

c) Preparação de 250 mL de uma solução de HCl 0,1 M a partir de uma solução de HCl concentrado comercial

1 - Determine qual a quantidade de HCl concentrado (HCl a 37% (p/p) e $d=1,19$) que deve medir para preparar 250 mL de uma solução de HCl 0,1 M (estes cálculos devem ser realizados antes da sessão prática, devendo confirmar com o docente a partir de que volume de HCl concentrado será preparada a solução pretendida).

Material de laboratório necessário:

- Balão volumétrico de 250 mL.
- Pipeta volumétrica
- Funil de líquidos
- Pipetas Pasteur
- Pipetador adequado.

2 - Meça cerca de 20 mL de água destilada para dentro do balão volumétrico.

3 - Meça com uma pipeta graduada o volume calculado de HCl concentrado.

4 - Transfira para o interior do balão volumétrico.

Realize a próxima operação após arrefecimento do balão.

5 - Afira o balão volumétrico observando o menisco formado e tendo o cuidado de adicionar gota a gota a água na fase final de modo a que a parte inferior do menisco fique ao nível da linha correspondente ao volume de 250 mL do balão.

d) Titulação das soluções de NaOH preparadas nas alíneas a) e b)

Material de laboratório necessário:

- Bureta
- Erlenmeyer de 100 mL
- Solução de indicador de fenolftaleína
- Funil de líquidos

Titulação da solução de NaOH 0,1 M da a)

- 1 - Coloque numa bureta solução padrão de HCl 1 M.
- 2 - Num erlenmeyer de 100 mL coloque 20 mL da solução NaOH 0,1 M preparada na a).
- 3 - Adicione 2 a 3 gotas de solução de fenolftaleína. Coloque uma folha de papel branco por baixo do erlenmeyer que contém a solução de NaOH. Proceda à titulação por adição da solução de HCl 1 M da bureta até observar a mudança de cor púrpura para incolor. Registe o volume utilizado e proceda aos cálculos para determinar a concentração rigorosa da solução de hidróxido de sódio.

Titulação da solução de NaOH 4% (p/v) da b)

- 1 - Coloque numa bureta solução padrão de HCl 1 M.
- 2 - Num erlenmeyer de 100 mL coloque 20 mL da solução de NaOH 4% (p/v) da b).
- 3 - Proceda à titulação tal como na titulação anterior.
- 4 - Faça uma análise crítica do resultado com o obtido na titulação anterior.

4ª sessão - Purificação de sólidos - Recristalização e Sublimação

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas e recolher da literatura os dados necessários para o seu trabalho.

(consultar solubilidade em, por exemplo, *Handbook of Chemistry and Physics*, 63rd ed. ou em <http://old.oru.edu/ccda/sl/solubility/allsolvents.php?solute=benzoic%20acid>).

Recristalização

A recristalização é um dos processos mais utilizados para purificação de substâncias sólidas e envolve a variação de solubilidade dessa substância sólida num dado solvente ou mistura de solventes. O processo de recristalização inclui, normalmente, a execução das seguintes etapas:

- Dissolução da substância impura a uma temperatura próxima do ponto de ebulição do solvente previamente seleccionado;
- Filtração da solução quente por gravidade de modo a eliminar qualquer impureza insolúvel. Esta operação deve ser efectuada rapidamente, a fim de evitar a cristalização da substância no filtro ou no funil (utiliza-se um funil pré-aquecido e provido de papel de filtro dobrado em pregas, que ao aumentar a área superficial disponível promove a rapidez do processo de filtração);
- Recristalização por arrefecimento gradual do filtrado. O arrefecimento rápido resulta na formação de cristais pequenos que tendem a incluir impurezas com facilidade. Após a cristalização da maior parte do soluto a mistura deve ser arrefecida em banho de gelo para completar o processo de cristalização;
- Separação dos cristais formados por filtração a vácuo;
- Secagem ao ar ou caso as amostras sejam sensíveis à humidade e à oxidação é necessário proceder a esta secagem em atmosfera seca e inerte.

A escolha do solvente de recristalização é essencial. Além do requisito óbvio de que não deve reagir com a amostra, outros factores, como a facilidade de manipulação, a volatilidade, a inflamabilidade e o custo devem ser também considerados.

Um bom solvente de recristalização

- deve dissolver grande quantidade da substância a temperatura elevada e pequena quantidade a baixa temperatura.
- deve dissolver as impurezas a frio ou não dissolvê-las mesmo a quente.

Ou seja, a amostra sólida deve ser muito solúvel no solvente quente e pouco solúvel no solvente frio (para que ocorra a precipitação final).

Pode consultar informação adicional aqui

Recristalização

<https://www.youtube.com/watch?v=YDOvYm3L26w>

<https://www.youtube.com/watch?v=FMKtztz0ZoaI>

<https://www.youtube.com/watch?v=1oO-fQvMrkE&t=35s>

Filtração a pressão reduzida

<https://www.youtube.com/watch?v=mjv0Ca9npqw>

Execução Experimental

a) Recristalização do ácido benzóico

Material de laboratório necessário

- Vidro de relógio
- Funil
- Espátula
- Balão
- Condensador de serpentina / bolas
- Proveta
- Copo de precipitação
- Funil de Buchner e kitasato

- 1 - Verificar que a água é um bom solvente.
- 2 - Introduza o produto previamente pesado ($P_1 = 1g$) num balão esmerilado de 100 mL de fundo redondo equipado com condensador de refluxo (tendo o cuidado de não sujar os bordos dos esmerilados).
- 3 - Adicione um volume de solvente apenas até cobrir o produto e aquecer à ebulição para solubilizar o produto.
- 4 - Aqueça na estufa um funil de sólidos e o filtro de pregas.

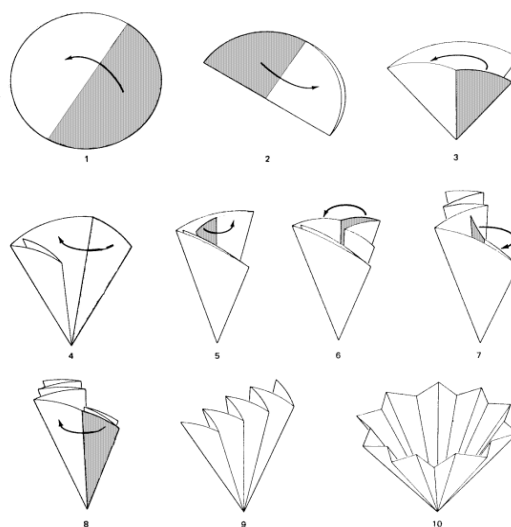


Fig.1 Modo de dobragem de um filtro de pregas.

- 5 - Se necessário, adicione pequenas quantidades de solvente através do topo do condensador, até que o produto se dissolva (até cerca de 30 mL de volume total).
- 6 - Filtre a solução a quente, através dum filtro de pregas, para um copo de precipitação.

- 7 - Deixe arrefecer. Filtre o precipitado por sucção (usar a trompa de vácuo) com funil de Buchner e kitasato.
- 8 - Seque os cristais por prensagem entre folhas de papel de filtro.
- 9 - Coloque num frasco devidamente rotulado e de seguida em exsiccador de vácuo.
- 10 - Pese a quantidade de cristais depois da secagem (P_2). Calcule o rendimento da recristalização.
- 11 - Determine o ponto de fusão dos cristais.
- 12 - Compare os seus valores de ponto de fusão do ácido benzóico com o que recolheu da literatura. Avalie a eficácia da recristalização quanto ao rendimento e quanto ao grau de pureza das amostras.

Sublimação

A sublimação é a designação dada à mudança de estado de uma substância do estado sólido para vapor. A pressão de vapor do sólido varia com a temperatura e alguns sólidos passam directamente a vapor sem passar pelo estado líquido. Este método pode ser utilizado para purificar sólidos nos casos em que as impurezas tenham pressões de vapor significativamente inferiores ao material que se quer sublimar. Neste método, o sólido é aquecido, os vapores formados do composto contactam com uma superfície fria e aqui solidificam e cristalizam. Muitos sólidos não vaporizam à pressão normal ($1 \text{ atm} = 760 \text{ mmHg}$), sendo necessário trabalhar a pressão reduzida. A redução da pressão pode ser conseguida por utilização de bombas de vácuo ou simplesmente por trompa de água. A redução de pressão é também uma forma de prevenir a decomposição térmica de substâncias que requerem temperatura elevada para sublimarem à pressão normal. Esta técnica por não utilizar solventes torna-a mais limpa para efectuar a purificação de compostos. É um método de purificação de sólidos normalmente mais rápido do que a recristalização, no entanto, é mais difícil de controlar o sucesso do resultado final (poderão ser necessárias várias sublimações) já que não é fácil lidar com a similaridade de pressão de vapor entre as restantes matérias sólidas eventualmente sublimáveis e presentes na amostra original como impurezas.

b) Sublimação do ácido benzóico em forno de sublimação

Material de laboratório necessário

- Forno de sublimação
- Tubo de amostra
- Tubo de sublimação
- Vidro de relógio
- Espátula

- 1 - Num pequeno tubo de amostra ($2 \times 0,5 \text{ cm}$) colocar 50 mg do composto a sublimar.
- 2 - Colocar este tubo no fundo de um tubo de sublimação ($25 \times 1 \text{ cm}$) e introduzir o conjunto no forno de sublimação. Fechar o forno.
- 3 - Ligar o tubo de sublimação a uma trompa de água e aumentar gradualmente a temperatura do forno até que se comece a formar um depósito de amostra sublimada na metade superior do tubo.

- 4 - Manter então a temperatura constante até cessar a formação de cristais.
- 5 - Para terminar a operação, desligar o aquecimento e muito lentamente deixar entrar ar no sistema.
- 7 - Retirar os cristais com uma espátula.
- 8 - Determinar o ponto de fusão do composto sublimado e compará-lo com o valor antes da sublimação.
- 9 - Comente os resultados.

c) Sublimação do ácido benzóico em *cold finger*

Material de laboratório necessário:

- *Cold finger*
- Tubo esmerilado com saída lateral para vácuo
- Vidro de relógio
- Espátula

- 1 - Ligar a refrigeração de água ao tubo de imersão *cold finger*.
- 2 - No tubo esmerilado com saída lateral para vácuo, colocar cerca de 200 mg do composto a sublimar e adaptar o *cold finger*.
- 3 - Ligar ao sistema de vácuo (trompa de água).
- 4 - Num banho de areia ou de óleo de silicone, aquecer muito suavemente o fundo do tubo até que se formem os cristais no tubo de condensação.
- 5 - Restabelecer a pressão atmosférica no sistema e deixar arrefecer.
- 6 - Com uma espátula retirar os cristais do cold finger para um pequeno vidro de relógio.
- 7 - Determinar o ponto de fusão do composto sublimado.
- 8 - Comentar os resultados referindo-se à eficiência dos processos de purificação – recristalização e sublimação.

5ª sessão - Purificação de líquidos - Destilação

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas e recolher da literatura os dados necessários para o seu trabalho.

Purificação no estado líquido

A destilação é uma técnica geralmente utilizada para remover um solvente, purificar um líquido ou para separar os componentes de uma mistura de líquidos. Na destilação a mistura a ser destilada é colocada no balão de destilação (balão de fundo redondo) e aquecida fazendo com que o líquido de menor ponto de ebulição seja vaporizado e em seguida condensado (denominado destilado ou condensado) para um frasco de recolha. Idealmente, o componente de menor ponto de ebulição é recolhido num recipiente, e os restantes componentes da mistura de pontos de ebulição superiores permanecem no balão original de destilação como resíduo.

O ponto de ebulição de um líquido pode ser definido como a temperatura à qual a sua pressão de vapor iguala a pressão exterior. O líquido entrando em ebulição, ou seja, ao vaporizar, forma bolhas que se desenvolvem no seio do líquido, constituindo esse facto a manifestação visual do “borbulhar” do líquido. As bolhas assim formadas não são mais que o composto na fase de vapor.

Com líquidos de pontos de ebulição muito próximos, o destilado será uma mistura destes líquidos com composição e ponto de ebulição variáveis, contendo um excesso do componente mais volátil (menor ponto de ebulição) no final da separação.

Para evitar a ebulição tumultuosa de um líquido durante a destilação à pressão atmosférica, adicionam-se fragmentos de “porcelana porosa” ou agita-se continuamente a mistura com um agitador magnético. Os fragmentos de porcelana permitem libertar pequenas bolsas de ar promovendo uma ebulição mais regular.

Os tipos mais comuns de destilação são: destilação simples, destilação fraccionada, destilação a pressão reduzida e ainda a destilação azeotrópica.

A - Destilação simples

É uma técnica utilizada na separação de um líquido volátil de uma substância não volátil ou de um líquido volátil de outro muito menos volátil cuja diferença de pontos de ebulição seja pelo menos superior a 80 °C. Não é uma forma muito eficiente para separar líquidos com diferença de pontos de ebulição próximos.

B- Destilação fraccionada

É utilizada para a separação de dois ou mais líquidos de diferentes pontos de ebulição cujos respetivos pontos de ebulição difiram em menos de 80 °C. A montagem de uma destilação deste tipo é muito semelhante à destilação simples, sendo que apenas inclui adicionalmente uma coluna de fraccionamento, que consiste essencialmente num tubo longo vertical com enchimento através do qual o vapor ascendente é parcialmente condensado. O condensado escorre ao longo da coluna e retorna ao balão. Dentro da coluna, porém, o líquido que escorre

contacta directamente com o vapor ascendente e ocorre uma permuta de calor, na qual o vapor é enriquecido com o componente mais volátil. Uma coluna de fraccionamento é desenhada para fornecer uma série contínua de condensações parciais de vapor e vaporizações parciais do condensado e o seu efeito é realmente comparável a um certo número de destilações simples separadas.

C- Destilação a pressão reduzida

É bastante utilizada na purificação de líquidos de ponto de ebulição elevado ou de líquidos que se decompõem a temperaturas elevadas. Ao diminuir a pressão à qual o líquido está submetido, a temperatura à qual esse líquido entra em ebulição também diminui. Para que seja possível trabalhar a pressões inferiores à pressão normal utilizam-se bombas de vácuo ou trompas de água. De forma a poder prever qual a temperatura à qual é destilado o composto de interesse para um determinado valor de pressão de trabalho, utiliza-se a equação de Clausius-Clapeyron que relaciona temperatura com pressão de vapor em equilíbrio e que aqui não vai ser desenvolvida.

Uma forma rápida e simples de prever a temperatura de ebulição de uma substância em função da pressão do sistema, consiste em utilizar o nomógrafo. Num nomógrafo, duas das escalas apresentam valores conhecidos e a terceira escala o valor a calcular. Desenha-se uma linha entre os valores conhecidos nas respetivas escalas, e a intersecção dessa linha com a terceira escala permite obter o valor pretendido (<http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/solvents/learning-center/nomograph.html>). Porém, não é uma forma rigorosa de proceder, sendo, contudo, útil quando não são conhecidos os valores da literatura da temperatura vs. pressão para a construção do gráfico.

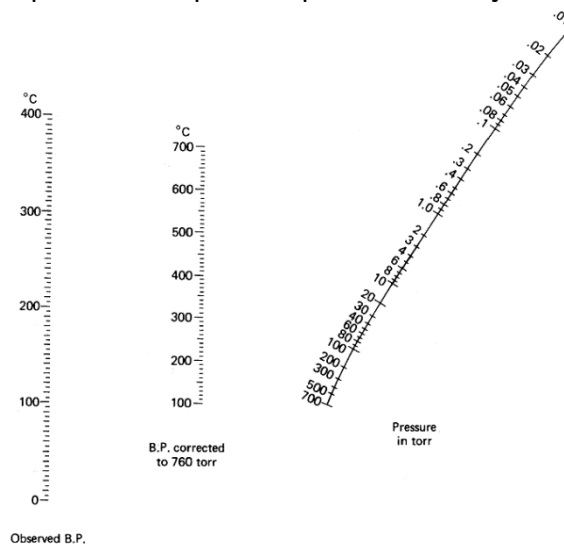


Fig.1 Monógrafo.

Na figura está representada uma montagem de destilação a pressão reduzida tal como é exemplificada na aula prática.

Devem tarar-se os balões de recolha para posterior pesagem do destilado.

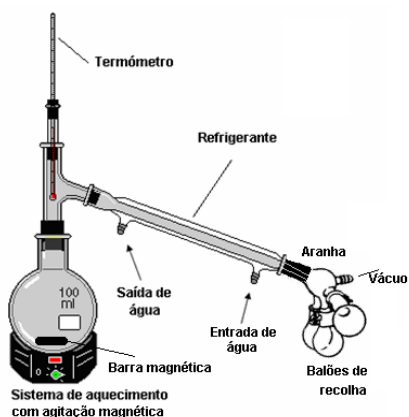


Fig.2 Destilação a pressão reduzida.

Para determinar o ponto de ebulição do destilado à pressão de trabalho, representa-se a variação do ponto de ebulição do referido composto em função da pressão. Estes valores de temperatura e pressão podem ser recolhidos de um Handbook (p. ex., *Handbook of Chemistry and Physics*, 63rd Ed.).

A equação de Clausius-Clapeyron permite determinar a pressão a que decorre a destilação.

D- Destilação por arrastamento de vapor

As destilações simples, fraccionada e a pressão reduzida são aplicadas a líquidos miscíveis. Quando dois líquidos são imiscíveis podem também ser destilados. A mistura dos líquidos imiscíveis entram em ebulição a uma temperatura inferior aos pontos de ebulição dos componentes quando puros. Quando o vapor de água é utilizado como uma das fases imiscíveis o processo denomina-se por destilação por arrastamento de vapor. A vantagem desta técnica consiste na destilação do material desejado a temperatura inferior a 100 °C. As substâncias instáveis, ou com ponto de ebulição muito elevado, podem ser separadas evitando a decomposição por destilação. Como todos os gases são miscíveis, as duas substâncias podem misturar-se no estado de vapor e co-destilar. Por arrefecimento após a condensação do destilado o componente desejado, que é imiscível com a água, separa-se formando-se duas fases. A destilação por arrastamento de vapor é muito utilizada no isolamento de líquidos a partir de fontes naturais.



Fig.3 Montagem de destilação por arrastamento de vapor.

No laboratório estão montados um sistema de destilação a pressão reduzida (ciclo-hexanol) e um sistema de destilação por arrastamento de vapor (destilação dos óleos essenciais da canela), para exemplificação.

Das várias destilações descritas vai realizar a destilação fraccionada para separar uma mistura de *n*-hexano e diclorometano.

Pode consultar informação adicional aqui.

Destilação: simples, fraccionada, sob atmosfera inerte, a pressão reduzida. Evaporação Rotativa

<https://www.youtube.com/watch?v=mrA1OawpeNk>

<https://www.youtube.com/watch?v=Z6OyNB8V7Hc>

<https://www.youtube.com/watch?v=HgJIZde8PGg>

<https://www.youtube.com/watch?v=3pL2X-8-eVk>

<https://www.youtube.com/watch?v=E7neWsdIUlA>

<https://www.youtube.com/watch?v=hf6nPZjOTXo>

<https://www.youtube.com/watch?v=NFdHEyq-1pA>

<https://www.youtube.com/watch?v=FkBhsZy39Ck>

Execução Experimental

Destilação fraccionada de uma mistura de *n*-hexano/diclorometano

Material de laboratório necessário

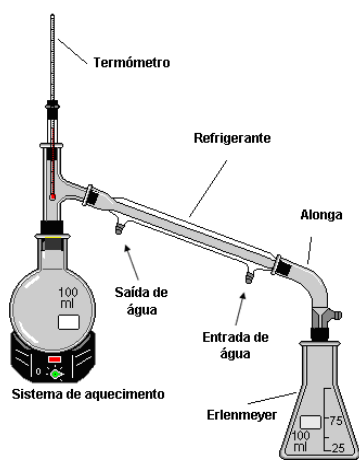
- balão de fundo redondo
- condensador de Liebig

- coluna de fraccionamento com enchimento
- cabeça de destilação
- adaptador de termómetro
- termómetro
- alonga
- erlenmeyers
- proveta
- funil de líquidos

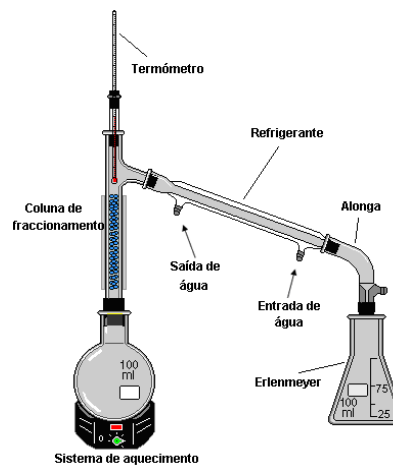
1 - Faça a montagem para uma destilação fraccionada com balão esmerilado de fundo redondo de 250 mL tal como representado na Figura.

2 - No balão de fundo redondo de 250 mL introduza 90 mL de uma mistura de *n*-hexano/diclorometano (2:1).

3 - Introduza uma barra magnética no balão e aqueça o sistema com uma placa de aquecimento/agitação.



Destilação simples



Destilação fraccionada

4 - Logo que a mistura entre em ebulição regule o aquecimento de modo a que o líquido destile lenta e regularmente a uma velocidade de 2 a 3 mL por minuto e recolha o destilado em erlenmeyers esmerilados. Transfira o volume recolhido para uma proveta e registre o volume.

Deve sempre desprezar as primeiras gotas que recolhe.

5 - Mude de recipiente de recolha sempre que se verificar uma alteração acentuada de temperatura de destilação (≥ 3 °C).

6 - Pare o aquecimento quando o balão que está a aquecer apresentar cerca de 5 mL de líquido.

Nunca deixe o balão a ser aquecido secar completamente.

7 - Faça um gráfico da temperatura *versus* volume recolhido.

8 - Meça o índice de refração das fracções de líquido recolhido a temperatura constante.

9 - Determine a eficiência da destilação relativamente a cada um dos componentes da mistura.

6ª sessão - Extracção líquido-líquido e sólido-líquido

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas e recolher da literatura os dados necessários para o seu trabalho.

Extracção líquido-líquido

O processo de extracção com solventes é um método simples, utilizado na separação e isolamento de componentes de uma mistura, ou ainda na remoção de impurezas solúveis indesejáveis. Neste último caso o processo é geralmente designado por lavagem. A técnica da extracção envolve a separação de um composto, presente na forma de uma solução ou suspensão num determinado solvente, através da agitação com um segundo solvente, no qual o composto de interesse é mais solúvel em comparação com o solvente em que inicialmente está solubilizado. Quando as duas fases são líquidos imiscíveis, o método é conhecido como extracção líquido-líquido. Neste tipo de extracção o composto estará distribuído entre os dois solventes. O sucesso da separação depende da diferença de solubilidade do composto nos dois solventes. Quando nas extracções um dos solventes é água e o outro um solvente orgânico, a fase da água é denominada fase aquosa e a fase do solvente orgânico é denominada fase orgânica. Para uma extracção líquido-líquido, o composto encontra-se dissolvido num solvente A e para extraí-lo, utiliza-se um outro solvente B, devendo estes ser imiscíveis e salvo algumas excepções (ver adiante) ambos inertes relativamente ao composto a extrair. Os solventes A e B são agitados e o composto distribui-se entre os dois solventes de acordo com a sua solubilidade em cada um deles. A razão entre as concentrações do soluto em cada solvente é denominada coeficiente de distribuição ou de partição K, por vezes designada por K_D .

Para o caso em que um solvente orgânico A é utilizado para extrair um soluto de uma solução aquosa B, tem-se:

$$K = \frac{C_A}{C_B}$$

C_A = concentração do composto no solvente A (em g/mL);

C_B = concentração do composto no solvente B (em g/mL).

De uma forma geral, para deduzir a expressão que traduz o processo de extracção, supõem-se que, sendo:

S = quantidade inicial em gramas do soluto no solvente B;

V_A = volume do solvente A (em mL);

V_B = volume do solvente B (em mL);

X = quantidade, em gramas do soluto não extraído

depois de uma extracção tem-se:

concentração de S no solvente A:

$$C_A = \frac{S - X}{V_A}$$

concentração de S no solvente B:

$$C_B = \frac{X}{V_B}$$

Uma consequência da lei de distribuição é a sua importância prática ao proceder a uma extracção. Para um dado volume total V_A do solvente extractor pode mostrar-se que é mais eficiente efectuar várias extracções sucessivas, isto é, dividir o volume V_A em n fracções. Designa-se por extracção múltipla sendo mais eficiente do que a extracção simples.

Numa extracção pode usar-se uma solução ácida ou básica que reaja quimicamente com o composto a ser extraído. Esta técnica geralmente é utilizada para remover pequenas quantidades de impurezas de um composto orgânico ou para separar os componentes de uma mistura. Neste grupo incluem-se: soluções básicas (soluções aquosas de hidróxido de sódio ou de bicarbonato de sódio) e soluções ácidas (soluções aquosas de ácido clorídrico). A solução aquosa básica remove um ácido orgânico da sua solução num solvente orgânico ou remove impurezas ácidas presentes. Esta extracção é baseada no facto do sal de sódio do ácido ser solúvel em solução aquosa básica. Da mesma maneira, um composto orgânico básico pode ser removido de sua solução num solvente orgânico, pelo tratamento com solução aquosa ácida.

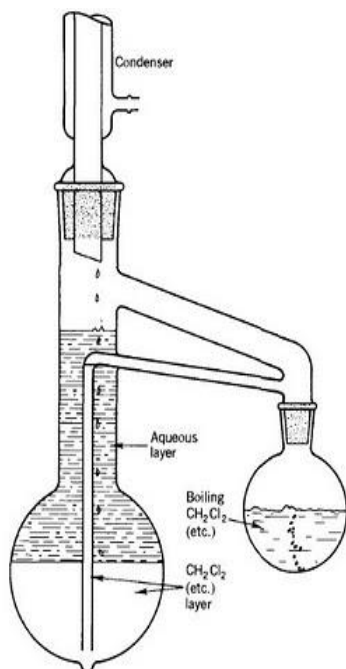
Uma extracção líquido-líquido pode ser:

a) Descontínua: repetição sucessiva do procedimento de extracção como foi descrito anteriormente. Normalmente não são efectuadas mais de 3 ou 4 extracções, no entanto o número dependerá do coeficiente de partição da substância que está a ser extraída, entre os dois líquidos. As extracções realizam-se numa ampola de decantação (ou de extracção) tal com representado no material da 1ª sessão.

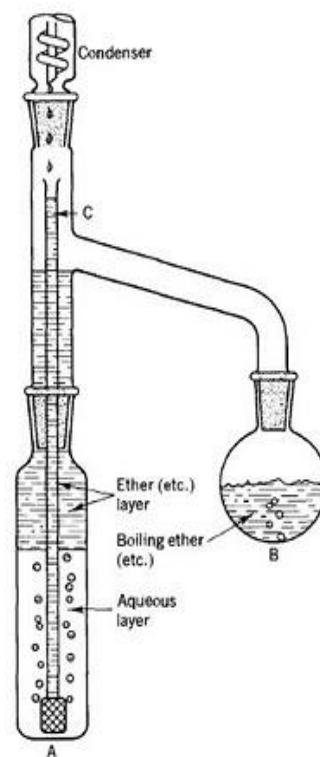
b) Contínua:

Utiliza-se quando o composto orgânico é mais solúvel no solvente inicial (geralmente água) do que no solvente extractor. Neste caso o coeficiente de distribuição entre o solvente orgânico e a água é pequeno, sendo, portanto, necessárias grandes quantidades de solvente orgânico para se extraírem pequenas quantidades da substância.

Na figura estão representadas duas extracções contínuas liq-liq. Na a) o solvente orgânico é mais denso que a água. Na b) o solvente orgânico é menos denso que a água. Nestes sistemas o solvente orgânico é destilado e obrigado a passar através da fase aquosa arrastando consigo o soluto. O facto do solvente orgânico ser destilado torna máxima a solubilidade do soluto.



a) Extracção contínua liq-liq com solvente orgânico mais denso do que a água.



b) Extracção contínua liq-liq com solvente menos denso do que a água.

Fig.1 Sistemas de extracção contínua liq-liq.

Extracção sólido-líquido

A extracção sol-liq pode realizar-se de diferentes modos dependendo da temperatura do solvente extractor. Numa extracção à temperatura ambiente o sólido é posto em contacto com o solvente extractor sob agitação. O processo pode ser repetido várias vezes substituindo o solvente da extracção por solvente fresco. Na extracção a quente o solvente extractor é circulado pelo sólido utilizando um extractor próprio tal como o extractor de Soxhlet, que é um equipamento geralmente utilizado na extracção contínua de matrizes sólidas. Neste sistema apenas uma quantidade relativamente pequena de solvente é necessária para uma extracção eficiente em comparação com a extracção anterior que requer maiores quantidades de solvente.

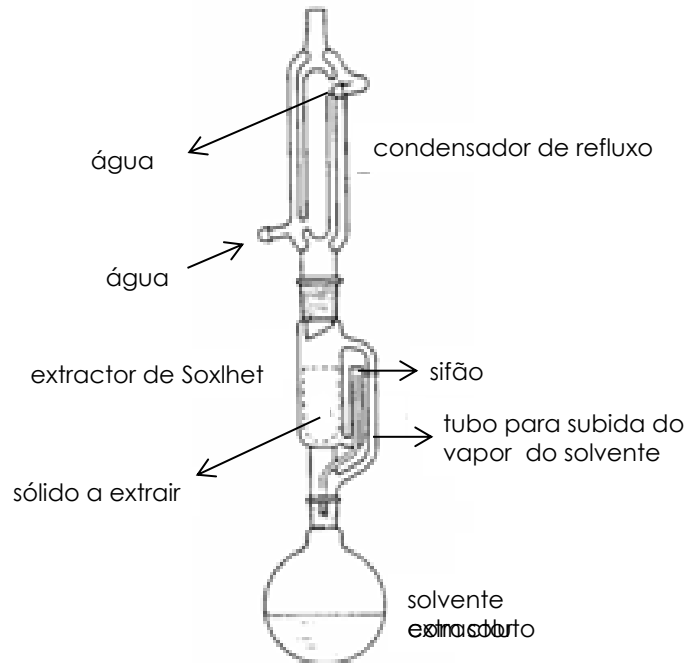


Fig.2 Montagem de extracção com extrator de Soxhlet.

A amostra sólida é colocada num cilindro poroso de papel filtro resistente (ou envolta em papel de filtro) e este é inserido no tubo interno do extrator de Soxhlet. O extrator é ajustado a um balão (contendo um solvente extrator). Na parte superior é colocado o condensador de refluxo. O solvente é levado à ebulição suave. O vapor do solvente ascende pelo tubo lateral que condensa no condensador. O solvente condensado cai no cilindro do extrator de Soxhlet, enche lentamente o corpo do extrator e também o tubo que comunica com o corpo do extrator pela base. Quando o solvente alcança o topo deste tubo dá-se a descarga do solvente por efeito de sifão para o balão, transpondo assim, a substância extraída da amostra sólida. Cada descarga de solvente é um ciclo de extracção. O processo é repetido automaticamente até que a extracção se complete. Após a extracção o processo é interrompido e a mistura do balão é destilada, recuperando-se o solvente. No balão obtém-se o sólido extraído que se denomina por extracto.

Pode consultar informação adicional aqui

Extracção líquido-líquido

<https://www.youtube.com/watch?v=udDDQuO4Mh8>

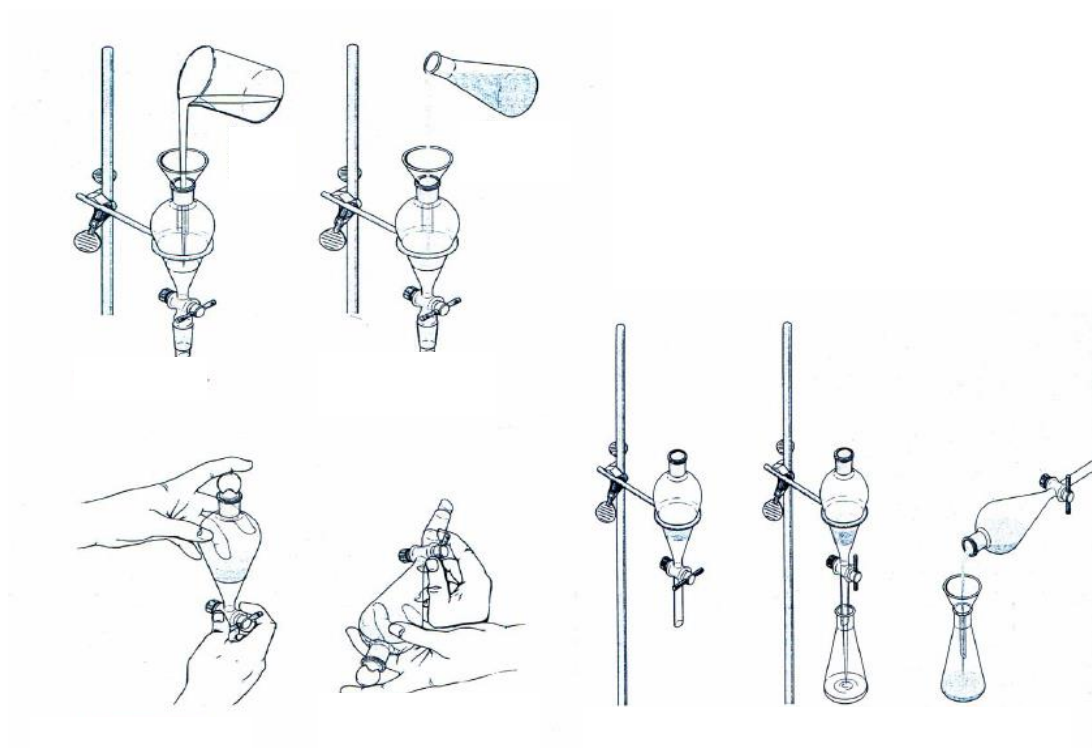
<https://www.youtube.com/watch?v=2GuDxHAAuaw>

Execução Experimental

a) Extração descontínua líquido-líquido de cafeína em solução aquosa

Material de laboratório necessário

- ampola de decantação
- erlenmeyers
- balão esmerilado de fundo redondo
- funil de líquidos
- proveta
- papel de filtro



- 1 - Coloque numa ampola de decantação 50 mL de uma solução aquosa de cafeína (concentração 10 g/L).
- 2 - Extraia com 30 mL de diclorometano (ver Fig.9).
- 3 - Seque a fase orgânica com sulfato de sódio anidro.
- 4 - Filtre para um balão de fundo redondo (previamente tarado, *ie* balão do qual sabe o peso) e evapore o solvente no evaporador rotativo. Pese o balão e por diferença retire a massa de cafeína extraída.
- 5 - Repita os passos anteriores utilizando 2 x 15 mL de diclorometano como solvente de extração.
- 6 - Repita os passos anteriores utilizando 3 x 10 mL de diclorometano como solvente de extração.

7 - Determine as massas cafeína extraídas em 2, 5 e 6, calcule os rendimentos de extracção para os três casos e compare os valores.

8 - Responda às seguintes questões:

- Após o equilíbrio das duas fases, qual a concentração de cafeína na fase orgânica?
- Após o equilíbrio das duas fases, qual a concentração de cafeína na fase aquosa?
- Qual o K_D da cafeína neste sistema de solventes?
- Qual o rendimento da extracção efectuada?
- Calcule quantas extracções teria que efectuar para obter um rendimento de 99%.

b) Extracção contínua sólido-líquido de trimiristina da noz moscada

A noz-moscada é uma especiaria do género *Myristica* (Myristicaceae). A trimiristina é o triglicérido representado na figura e constitui um dos componentes principais do óleo da noz-moscada (cerca de 70% da massa do óleo). A trimiristina é uma molécula apolar, solúvel em solventes orgânicos. Por esta razão pode ser extraída quando um solvente orgânico entra em contacto com a noz-moscada num processo de extracção sólido-líquido que vai realizar neste trabalho prático.

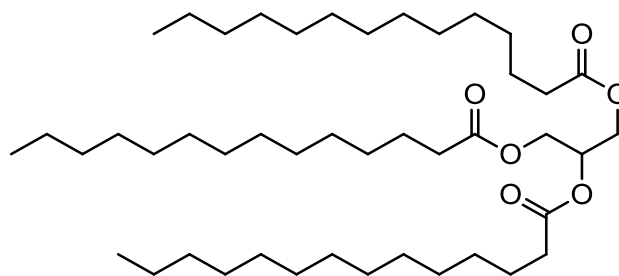


Fig.4 Estrutura da trimiristina.

Material de laboratório necessário

- balão esmerilhado de fundo redondo
- extractor de Soxhlet
- condensador de refluxo
- funil de líquidos
- proveta
- papel de filtro

É montado um sistema de extracção por bancada de laboratório

- Faça uma montagem para uma extracção com um extractor de Soxhlet. Estabeleça a circulação de água no refrigerante para verificar as boas condições da circulação da água e de seguida suspenda a circulação.
- Coloque 5 g de noz moscada já moída em papel de filtro e dobre de modo a ficar bem fechado. Coloque o conjunto no interior do corpo do extractor de Soxhlet.
- Deite no balão do extractor 130 ml de diclorometano e um regularizador de ebulição, adapte o extractor ao balão e o refrigerante ao extractor. Restabeleça a circulação de água no refrigerante e aqueça o balão a refluxo.

- 4 - Após três extracções cesse o aquecimento e deixe o balão arrefecer. Feche a circulação de água. Separe o balão do tubo extractor. Transfira a solução para um balão tarado rejeitando o regulador de ebulição e leve à secura no evaporador rotativo.
- 5 - Transfira o resíduo para um frasco de amostra tarado e guarde para a aula seguinte.

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas e recolher da literatura os dados necessários para o seu trabalho.

Cromatografia

Misturas de compostos podem ser separados nos seus constituintes através de cromatografia. Nesta técnica, são utilizadas duas fases que contactam mutuamente constituindo uma a fase estacionária, que poderá ser sólida ou líquida e a outra a fase móvel que poderá ser líquida ou gasosa. A separação decorre entre as duas fases em função da diferente interacção que cada constituinte terá com ambas as fases durante o processo. Dependendo da natureza das fases, a cromatografia poderá ser sólido-líquido, líquido-líquido ou gás líquido. Dependendo também da escala, ou seja, das quantidades de analitos a separar e da matriz a analisar, a cromatografia é designada, respetivamente, de preparativa ou analítica. Os analitos separados eluem no sistema cromatográfico diferentemente, em função da sua interacção com a fase estacionária e fase móvel, bem como, da temperatura, humidade, condições de eluição, etc. A grandeza que permite caracterizar essa diferente eluição designa-se por factor de retenção (R_f). Em cromatografia de camada delgada esse valor é calculado da seguinte forma:

$$R_f = \frac{\text{Distância percorrida pela mancha de analito (cm)}}{\text{Distância percorrida pela frente do eluente (cm)}}$$

Cromatografia de adsorção

A fase estacionária ou adsorvente é um sólido poroso capaz de reter solvente e soluto. Os materiais mais comuns são a sílica (SiO_2) e a alumina (Al_2O_3) de alta pureza e na forma de pó fino.

Ambas podem estar impregnadas com uma substância fluorescente (sulfito de zinco) o que é útil para a visualização dos compostos nas placas de cromatografia. Se as placas contêm F_{254} darão uma fluorescência verde quando observadas sob a luz de comprimento de onda de 254 nm.

A cromatografia pode ser realizada em placa (ccd – cromatografia em camada delgada) ou em coluna. Após a aplicação da mistura a separar, a fase estacionária terá que ser percorrida por um líquido (puro ou uma mistura), o sistema eluente, por capilaridade. Sistemas de eluentes de polaridade diferente têm capacidade diferente de deslocar o soluto através do adsorvente (fase estacionária). Quanto mais polar for o sistema de eluentes maior a distância percorrida pelo soluto. Podemos assim agrupar os eluentes em séries eluotrópicas.

Série eluotrópica para a sílica

menos polar	ciclo-hexano <i>n</i> -pentano tetracloroeto de carbono tolueno
mais polar	clorofórmio diclorometano éter dietílico acetato de etilo metanol ácido acético

O objetivo da técnica cromatográfica é usar uma combinação de suporte e solventes (fase estacionária e fase móvel, respetivamente) que promova a eluição dos diferentes componentes de uma mistura a velocidade diferente no suporte e assim realizar a sua separação.

Visualização (revelação) da cromatografia

Numa placa cromatográfica, a não ser que o material a observar seja corado, é necessário tratar a placa de forma a ser possível visualizar os componentes após a separação (cada zona de separação é designada por mancha). Existe uma grande diversidade de agentes reveladores para os vários compostos. O procedimento mais comum é a análise das placas de ccd à luz de UV e posterior revelação com um revelador universal ou específico.

NUNCA OLHAR DIRECTAMENTE PARA A LÂMPADA.

A radiação de UV provoca lesões nos olhos e na pele.

Sob a lâmpada de UV assinalam-se os compostos (manchas) com um lápis e posteriormente faz-se a revelação com um agente universal ou específico.

O adsorvente (fase estacionária) está colocado sobre uma superfície plana que pode ser de vidro, alumínio ou plástico, normalmente comercializadas com as dimensões de 20 x 20 cm e que deve ser cortada cuidadosamente segundo as dimensões pretendidas.

A dimensão mais adequada para uma placa de cromatografia é de cerca de 7 x 2,5 cm que permite colocar duas ou três gotas da amostra na linha de base. Esta linha fica cerca de 1 cm acima do extremo inferior da placa, tal como representado:

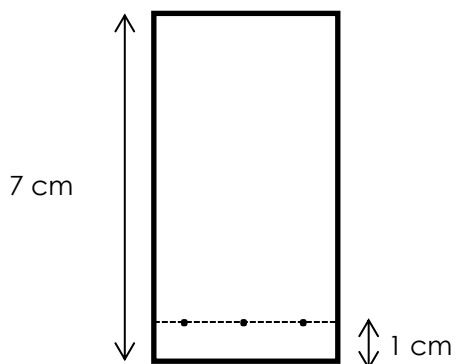


Fig.1 Placa cromatográfica (ccd).

Pode consultar informação adicional aqui

Cromatografia

<https://www.jove.com/science-education/11208/thin-layer-chromatography>

<https://www.jove.com/science-education/5499/performing-1d-thin-layer-chromatography>

<https://www.youtube.com/watch?v=QBQuDoqFy9k>

<https://www.youtube.com/watch?v=SnbXQTTHGs4>

<https://www.youtube.com/watch?v=5gKU6vYMENs>

<https://www.youtube.com/watch?v=e99nsCAsJrw>

https://www.youtube.com/watch?v=l4u_1ST7Ezk

Execução Experimental

Separação dos componentes de um antigripal por TLC

Pode encontrar informação adicional aqui:

https://www.youtube.com/watch?v=m3_BVdoS9s

(O/A estudante, caso pretenda, pode trazer um antigripal ou então será fornecido na aula)

1. Desenhe uma linha a lápis a cerca de 1 cm do fim da placa de TLC. Não toque na placa com os dedos, segurando-a pelos lados.
2. Nesta linha, identifique aspirina, paracetamol, ibuprofeno e cafeína (ou outro composto que possua no antigripal que vai estudar), e que estão disponíveis como padrões de referência.
3. Use um capilar diferente para cada aplicação que deverá ser tão pequena quanto possível, de preferência inferior a 0,5 mm de diâmetro.
4. Examine a placa sob luz ultravioleta (UV) para ver se uma quantidade suficiente de cada composto foi aplicada; se não, adicione mais.
5. Em outra placa, separada, execute o desconhecido e um ou mais dos padrões. A amostra desconhecida é preparada esmagando uma parte de um comprimido, adicionando este pó a um tubo de ensaio ou frasco pequeno, juntamente com uma quantidade adequada de etanol, misturando a suspensão. Nem todo o comprimido triturado se dissolverá (em virtude dos aglutinantes, amido ou sílica ou outros), mas todos os desconhecidos se dissolverão em quantidade suficiente para permitir a sua detecção. Pesem apenas parte do comprimido para tentar preparar uma solução de cerca de 1% do/s desconhecido/s. Normalmente, por exemplo, os comprimidos de ibuprofeno contêm 200 mg do ingrediente ativo, os comprimidos de aspirina contêm 325 mg e os comprimidos de paracetamol, 500 mg.
6. À câmara de eluição, adicione 4 mL de a fase móvel, uma mistura de 95% de acetato de etilo e 5% de ácido acético.
7. Insira a placa com uma pinça na câmara de eluição. Quando o solvente atingir 0,5 cm do topo da placa (subindo por capilaridade), remova a placa da câmara de eluição, marque a frente do solvente com um lápis, e deixe o solvente secar.

7. Examine a placa sob luz UV para ver os componentes como pontos escuros contra um fundo azul esverdeado brilhante³. Contorne os pontos com um lápis. As manchas também podem ser visualizadas colocando a placa numa câmara de iodo⁴ feito colocando alguns cristais de iodo no fundo de um frasco tampado.
8. Calcular os valores de R_f para os pontos e identificar os componentes no desconhecido por comparação com as soluções de padrões.

Cromatografia em coluna e controlo por TLC

Preparação da coluna

- 1 - Introduza, sem calcar, um pouco de algodão na extremidade inferior de uma coluna de cromatografia e adicione areia até obter uma camada de cerca de 0,5 cm de altura.
- 2 - Coloque uma proveta de 25 mL na parte inferior da coluna de cromatografia durante todo o processo de preparação da coluna para recolha do eluente que vai utilizar.

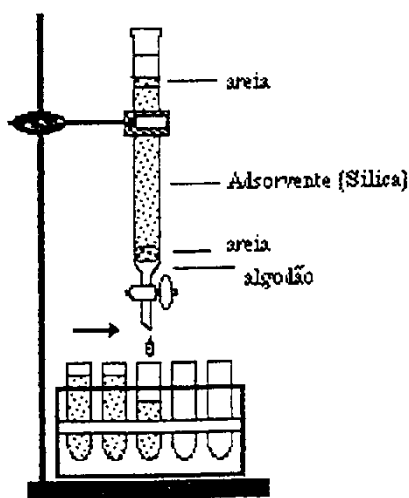


Fig.2 Coluna de cromatografia.

- 3 - Num erlenmeyer pese 1 g de sílica para cromatografia flash e verta esta na coluna usando um funil. Deixe assentar.
- 4 - Adicione areia de modo a obter uma camada com cerca de 0,5 cm de altura.

Separação da trimiristina

- 5 - Pese para um tubo de amostra 100 mg de extrato da noz-moscada que lhe é fornecido, dissolva em 1 mL de n-hexano:CH₂Cl₂ (1:1) e aplique no topo da coluna.
- 6 - Deixe correr o eluente até que o extrato fique adsorvido no topo da coluna de sílica.
- 7 - Iniciar sem interrupções a eluição da coluna, usando como eluente n-hexano:CH₂Cl₂ (1:1). Recolha para tubos de ensaio numerados de 1 a 5, cinco frações adicionando no topo da coluna 3 mL de eluente para cada recolha.

Nunca deixar secar a coluna

- 8 - Numa placa de cromatografia em camada delgada aplique cada uma das frações recolhidas (8 a 10 gotas de cada fração aplicadas com um capilar) e um padrão de trimiristina.
- 9 - Proceda à eluição da placa utilizando n-hexano: CH_2Cl_2 (1:1) como eluente.
- 10 - No fim da eluição retire a placa da câmara de eluição e seque-a.
- 11 - Visualize a placa sob a lâmpada de UV e revele a placa em câmara de iodo.
- 12 - Calcule o valor de R_f da trimiristina e avalie o grau de pureza de cada fração.
- 13 - Evapore a fração mais pura num balão tarado e leve à secura no evaporador rotativo.
- 14 - Pese o balão depois de evaporado o solvente e registe o peso de trimiristina que obteve.

8ª sessão - Doseamento de ácido benzóico em solução aquosa

Na preparação do trabalho prático deve analisar as fichas de dados de segurança de todas as substâncias que vão ser utilizadas e recolher da literatura os dados necessários para o seu trabalho.

Curva padrão baseada na Lei de Lambert-Beer

A determinação da concentração de um dado composto ou elemento numa amostra é uma tarefa que se executa com frequência no laboratório. O composto ou elemento em estudo denomina-se por analito. Um método de determinação de concentração de um analito consiste no tratamento da amostra para a preparação de uma solução no solvente adequado. Esta será analisada segundo um dado parâmetro e comparada com um conjunto de soluções de concentrações conhecidas do mesmo analito – soluções padrão.

A absorção de radiação medida num espectrofotómetro na gama do UV-VIS é o método de análise mais usado em estudos físico-químicos e biológicos. Para tal é necessário que o analito absorva radiação nessa gama do espectro electromagnético (UV-VIS). O tratamento quantitativo da absorção de energia radiante depende da lei geral, conhecida por lei de Lambert-Beer. O parâmetro a medir é a absorvância que tem uma relação linear com a concentração num dado intervalo de concentrações para cada analito. Preparam-se soluções padrão de concentrações conhecidas no mesmo solvente da solução em estudo. Com base na lei de Lambert-Beer relaciona-se a absorvância lida no espectrofotómetro com a concentração, o que permite determinar a concentração desconhecida de um analito numa solução em função da sua absorvância.

Para um comprimento de onda λ , fixo, a Lei de Lambert-Beer expressa-se por:

$$A = \epsilon \cdot c \cdot l$$

A – absorvância

ϵ - absortividade *

c – concentração *

l – percurso óptico em cm (espessura da célula que contém a solução da amostra)

*se c é expresso em concentração molar (M) a absortividade ϵ denomina-se por absortividade molar e é expressa em $M^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Como $l = 1 \text{ cm}$ (espessura da célula que se utiliza) a expressão pode resumir-se a $A = \epsilon \cdot c$, e a absorvância A a λ fixo é directamente proporcional à concentração do analito na solução contida na célula. Numa relação linear o valor de ϵ corresponde ao declive da recta. Para um dado analito pode traçar-se a recta de calibração a λ fixo por medição das absorvâncias de soluções padrão de concentrações conhecidas (é fundamental ter em consideração que esta linearidade deixa de existir a concentrações elevadas). A medição da absorvância da solução em estudo permite o cálculo da sua concentração através da equação da recta.

O valor de λ a que se devem efetuar as leituras de absorvância é o valor ao qual o analito tem maior capacidade de absorção da radiação, *ie* absorção máxima, para maior exactidão do valor final. Este valor designa-se por $\lambda_{\text{máx}}$ (lambda máximo).

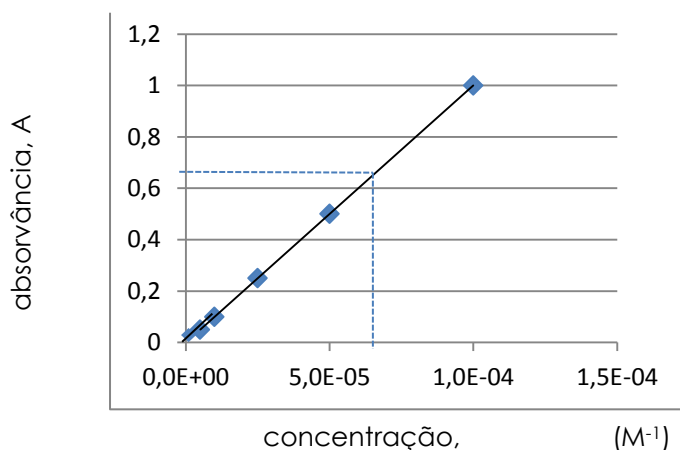


Fig.1 Representação de uma recta de calibração de absorvância A , a um $\lambda_{\text{máx}}$, em função da concentração de soluções padrão.

Na Fig.1 está representada uma recta de calibração de equação: $A = 10000 c$. Sendo $l = 1 \text{ cm}$ o valor de absortividade molar é $10000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Como exemplo está representada a relação entre um valor de leitura de $A = 0,625$ de uma solução desconhecida que assim corresponde à concentração de $6,25 \cdot 10^{-5} \text{ M}$.

A preparação de soluções padrão de diferentes concentrações pode fazer-se por diluições a partir de uma solução mãe de concentração conhecida. Para tal é necessário calcular o volume necessário da solução mãe para efectuar estas diluições. Sendo C_p e V_p respetivamente a concentração e o volume da solução diluída, e C_m a concentração da solução mãe, o volume V_m que é necessário pipetar desta (toma) é dado pela relação:

$$V_m \times C_m = C_p \times V_p$$

Execução Experimental

Determinação da concentração de uma solução de ácido benzóico

Material de laboratório necessário:

- Balões volumétricos de 50, 100 ou 250 mL
- Espátula fina
- Copo
- Funil de líquidos
- Pipetas volumétricas, micropipetas
- Pipetas Pasteur
- Pipetador adequado

Preparação de uma solução mãe de ácido benzóico

1. Numa balança analítica pese, para um copo, a quantidade necessária de ácido benzóico para preparar uma solução aquosa $5 \cdot 10^{-3}$ M, em balão de 100 mL ou 250 mL. Registrar o peso com uma precisão de 0,1 mg.

2. Adicione água destilada ao sólido de modo a solubilizá-lo.

A quantidade de água deve ser inferior a ca. de 2/3 do volume da solução que vai preparar.

Antes de iniciar o próximo passo deve amparar o colo do balão com uma pinça suportada ao suporte da bancada.

3 - Iniciar a transferência da solução para o balão volumétrico, utilizando para esse efeito um funil.

4 - O copo deve ser lavado várias vezes com pequenas quantidades de água destilada e esta deitada para o balão volumétrico.

Nunca ultrapassar o limite do balão.

5 - Aferir o balão volumétrico observando o menisco formado e tendo o cuidado de adicionar gota a gota a água na fase final de modo a que a parte inferior do menisco fique ao nível da linha correspondente ao volume do balão.

Preparação de soluções padrão de ácido benzóico

Determine os volumes de solução mãe que deve pipetar para preparar cada uma das soluções padrão consoante os volumes dos balões volumétricos que tiver disponíveis.

Para preparar as soluções padrão utilize pipetas volumétricas ou micropipetas consoante os volumes a pipetar. Para volumes inferiores a 1 mL utilize micropipeta.

6 - Prepare 5 soluções padrão de ácido benzóico de concentrações entre $5 \cdot 10^{-6}$ M e 10^{-4} M a partir da solução mãe que preparou anteriormente de $5 \cdot 10^{-3}$ M. Rotule todos os balões com as respetivas concentrações.

7 - No espectrofotómetro trace a linha de base entre 200 nm e 320 nm colocando água destilada na célula de amostra (branco).

8 - Trace o espectro de UV, no mesmo intervalo de comprimentos de onda, da solução padrão mais concentrada.

9 - Verifique qual o valor de $\lambda_{\text{máx}}$ a que deve efectuar as suas leituras seguintes.

10 - Registe os valores de absorvância lidos ao $\lambda_{\text{máx}}$ de cada solução padrão.

11 - Leia ao mesmo $\lambda_{\text{máx}}$ o valor de absorvância da solução de concentração desconhecida.

12 - Trace a recta de calibração representando os valores de absorvância em função das concentrações das soluções padrão.

13 - Determine a concentração da solução desconhecida.

9ª sessão - O verde das folhas

A vida na Terra depende da energia solar. Os cloroplastos das plantas captam energia luminosa do sol e convertem-na em energia química que é armazenada em açúcar e outras moléculas orgânicas, num processo designado por fotossíntese. Direta ou indiretamente, a fotossíntese suporta quase todo o mundo vivo.

Os cloroplastos localizam-se nas células mesofílicas, o tecido interno das folhas, num total de 30 a 40 cloroplastos por célula.

A fotossíntese é um processo endergónico (requer energia, neste caso, solar) que compreende uma série de reações complexas, em que ocorre a oxidação da H_2O com libertação de O_2 e onde o CO_2 é convertido em glucose (reação de redução), de acordo com a equação:



A cor verde das folhas deve-se à presença de clorofilas nos cloroplastos. Estes funcionam como fábricas que convertem a luz solar em energia química, na forma de ATP e de NADPH, que é posteriormente consumida no processo complexo de síntese de açúcares. Nestas fábricas, os pigmentos fotossintéticos absorvem a luz solar da região do visível do espectro eletromagnético (pigmentos diferentes absorvem a diferentes comprimentos de onda; os comprimentos de onda não absorvidos são refletidos ou transmitidos). Desta forma, as folhas das plantas são verdes porque as clorofilas refletem e transmitem luz verde (Figura 1).

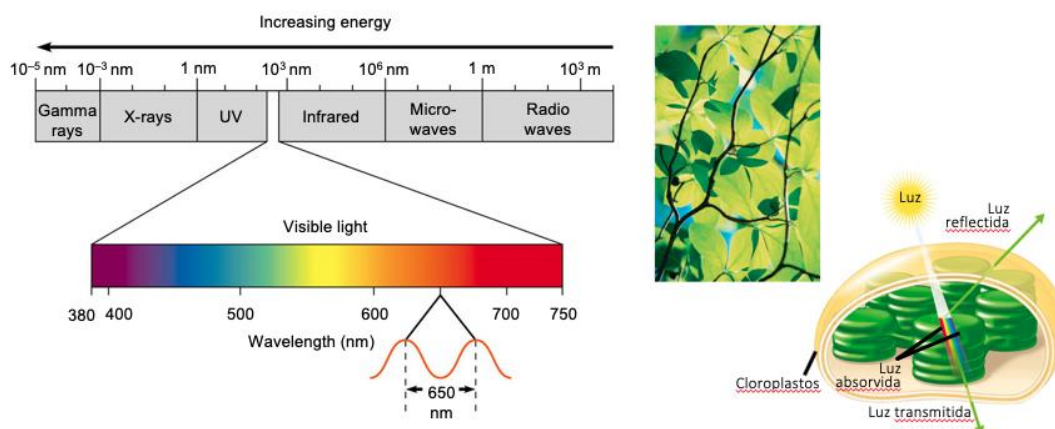


Figura 1 – Conversão da energia solar em energia química no processo fotossintético.

A clorofila a é o pigmento fotossintético predominante; para além deste há ainda a clorofila b que contribui para uma maior absorção da energia solar (espectro mais largo) e os carotenoides que têm o papel de absorver o excesso de luz que poderia danificar as clorofilas. As estruturas das clorofilas são apresentadas na Figura 2.

A análise do espectro de absorção dos diferentes pigmentos permite concluir que as clorofilas a e b possuem bandas de absorção que se situam nas regiões azul-violeta e vermelho-alaranja do espectro de luz visível.

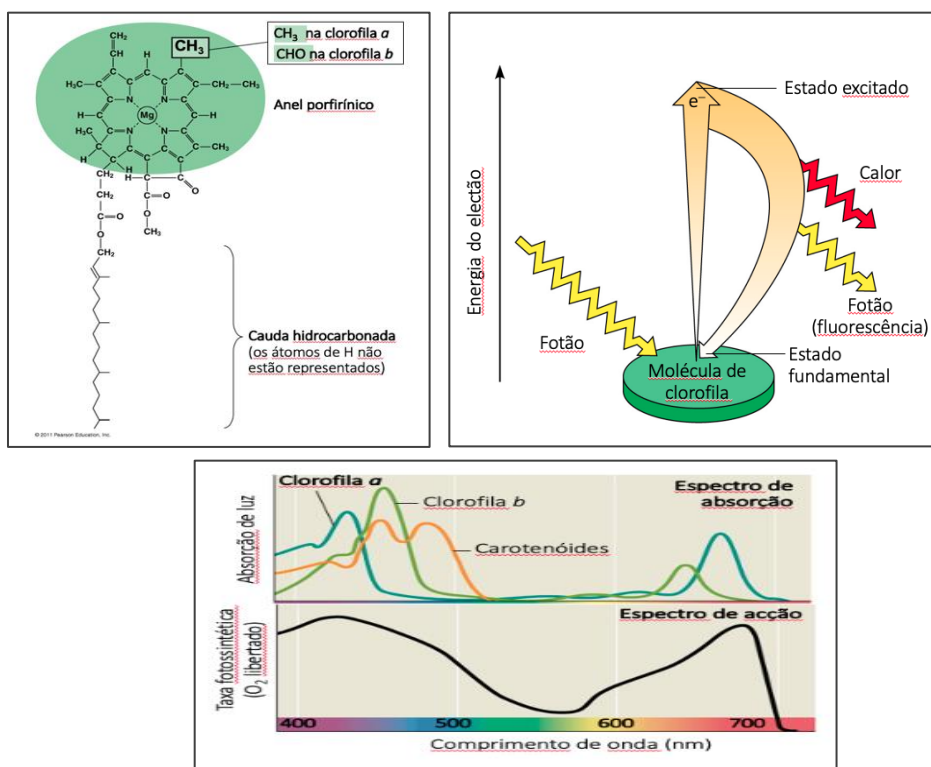


Figura 2 – Estrutura das clorofilas a e b (à esquerda); espectros de absorção dos pigmentos fotossintéticos (ao centro) e excitação de uma molécula de clorofila (à direita).

Quando os pigmentos fotossintéticos absorvem luz, os seus eletrões passam para níveis de energia superiores instáveis, passando de um estado fundamental para um estado excitado. Os eletrões excitados podem, seguidamente, regressar ao nível energético inicial libertando energia sob a forma de calor ou de luz, sendo este último processo designado por fluorescência.

Objetivos

Neste trabalho pretende-se: 1) Extrair os pigmentos fotossintéticos das folhas de espinafre com acetona; 2) Separar os diferentes pigmentos por cromatografia em camada fina; e 3) Isolar e caracterizar espectrofotometricamente os pigmentos mais abundantes

Execução Experimental

Material e equipamento:

- folhas de espinafre fresco
- Acetona
- Sulfato de magnésio (MgSO₄)
- Almofariz com pilão
- Algodão num frasco
- Mistura de Éter de petróleo : Acetona (2:1)

- Coluna de vidro
- Placa de sílica de cromatografia em camada fina (Thin layer Chromatography – TLC) em suporte de alumínio, 5×10 cm
- 1 câmara de cromatografia
- 2 cuvettes UV-visível
- Pinça de garras e noz
- Tesoura
- Parafilm
- Evaporador rotativo
- Material corrente de laboratório

Procedimento experimental

1. Extracção dos pigmentos fotossintéticos

- 1.1. Começar por preparar a montagem para a filtração em coluna. Introduzir um pedaço de algodão na coluna de acordo com a montagem ao lado
- 1.2. Prender a coluna ao suporte usando uma pinça de garras
- 1.3. Colocar um balão de fundo redondo com esmerilado, de 25 mL, por baixo da coluna para recolha
- 1.4. Pesar cerca de 1 g de folhas de espinafre (registar o valor exacto) e colocar no almofariz
- 1.5. Utilizando uma tesoura cortar as folhas de espinafres da amostra em pedaços pequenos
- 1.6. Adicionar 1,5 g de MgSO_4 às folhas cortadas e esmagar com o pilão até se obter uma pasta homogénea
- 1.7. Utilizando uma pipeta de Pasteur de plástico, adicionar 10 mL de acetona e continuar a esmagar durante mais 1-2 minutos
- 1.8. Transferir rapidamente a mistura do almofariz para a coluna de filtração utilizando uma pipeta de Pasteur; evitar aspirar demasiado sólido. Filtrar toda a mistura, esperando até toda a solução passar para o balão
- 1.9. Concentrar a solução até cerca de 1/3 do volume inicial (aproximadamente 5-10 minutos) no evaporador rotativo.



2. Separação dos pigmentos por cromatografia em camada fina

- 2.1. Com um lápis traçar levemente uma linha fina ao longo da parte mais estreita da placa, aproximadamente a 10-12 mm da extremidade da placa (linha de aplicação, Figura 3i)
- 2.2. Com uma pipeta de Pasteur aplicar a solução extraída na linha de aplicação, deixando que a solução seja absorvida por capilaridade. Para tal aproximar a pipeta da placa cromatográfica e tocar levemente na linha de aplicação a 3-5 mm da placa arrastando a pipeta sobre a linha de aplicação (com cuidado para não danificar a camada de sílica). Deixar secar brevemente e repetir o procedimento as vezes necessárias até aplicar 3-4 camadas de amostra (Figura 3ii). Deixar que a solução de pigmentos aplicada seque completamente.
- 2.3. Transferir para a câmara cromatográfica 10 mL da fase móvel: mistura de Éter de petróleo : Acetona (2:1). Tapar e equilibrar a câmara deixando-a na bancada durante 1-2 minutos.

2.4. Introduzir a placa cromatográfica na câmara (Figura 3iii); tapar e deixar eluir a placa até a fase móvel atingir 1-2 cm da parte superior. Durante o processo não abrir nem mover a câmara.

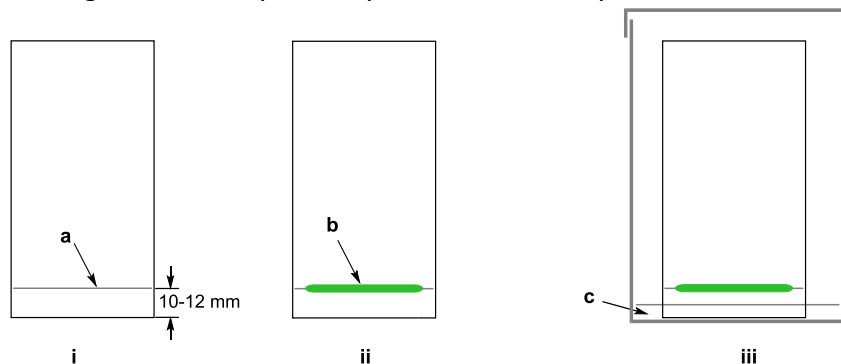


Figura 3 – i) Preparação da placa cromatográfica; ii) Aplicação da solução de pigmentos; iii) Placa na câmara de eluição. a) linha de aplicação; b) solução de pigmentos; c) fase móvel.

2.5. Remover a placa da câmara, secar com um secador e registar o resultado (usar o telemóvel para fotografar o cromatograma obtido)

2.6. Com uma tesoura cortar todas as bandas da placa; cortar cada banda em pedaços pequenos e transferi-los para tubos de ensaio. Numerar/identificar cada tubo de acordo com a ordem de separação dos pigmentos

2.7. A cada tubo de ensaio adicionar 2 mL de acetona e tapar com parafilm.

3. Caracterização espectroscópica dos pigmentos de plantas

3.1. Transferir cerca de 1 mL de solução de cada tubo para uma cuvette de espectrofotómetro

3.2. Traçar o espectro de UV-visível, entre 400 e 700 nm (linha de base traçada com acetona)

3.3. Identificar os pigmentos isolados por comparação com a literatura.

ANEXO 1

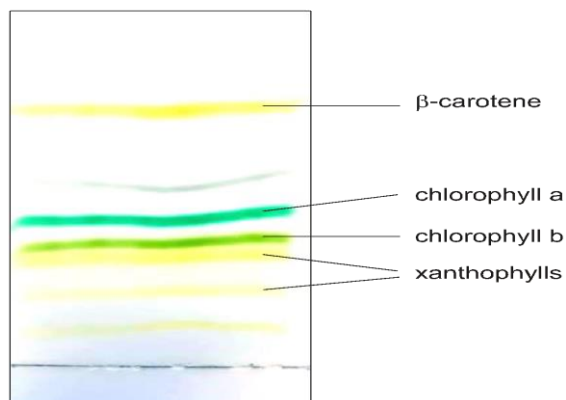


Figura A - Cromatograma dos pigmentos de plantas típico.

ANEXO 2

SEGURANÇA

I - NORMAS DE SEGURANÇA NO LABORATÓRIO

1. Uso **obrigatório** de óculos de protecção e bata.
2. Não fumar.
3. Não comer.
4. Antes de manusear um produto químico pesquisar as características do produto e os cuidados a ter no seu manuseio.
5. Manter sempre limpa e ordenada a bancada de trabalho.
6. 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.
7. Nunca pipetar com a boca.
8. Nunca aquecer produtos inflamáveis em bico de Bunsen (à chama). Estão incluídos nesta classe: éter, metanol, etanol, acetona, benzeno, éter de petróleo, etc.
9. Manter sempre tapados os frascos com produtos químicos. Após utilização verificar se ficaram bem limpos e recolocá-los no respectivo lugar, tendo o cuidado de os deixar com o rótulo virado para a frente.
10. Abrir as torneiras de gás e água estritamente no momento de uso, de resto mantê-las sempre fechadas. Sempre que o bico de Bunsen estiver em permanente utilização deixá-lo com chama amarela.

IMPORTANTE - Conhecer a localização e o modo de funcionamento dos extintores de incêndio, chuveiros de emergência, torneiras gerais de gás e água, quadro de primeiros socorros existentes no laboratório e saídas de emergência.

II - A MANUTENÇÃO DO LABORATÓRIO

1. Evitar despejar produtos químicos na pia. Na eventualidade de o fazer, utilizar a hotte. Para cada composto, verificar antecipadamente se existe frasco de descarte (recuperação).
2. Papéis contaminados com produtos químicos têm cesto próprio de descarte.
3. Nunca colocar material de vidro partido nos cestos para o papel. Existe local adequado para o efeito.
4. Manter os frascos dos reagentes limpos externamente.
5. Não recolocar no frasco os produtos químicos que não chegou a usar. Nunca introduzir qualquer objecto no frasco dum reagente.
6. Nunca deixar que os solventes contactem a borracha das pompets ou tetinas, pois promovem acelerada deterioração de ambos.
7. Derramamentos devem ser imediatamente limpos, de acordo com o produto

derramado.

8. 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.
9. Sempre que trabalhar com esmerilados verificar antecipadamente se estes estão limpos. Verificar depois a sua correcta adaptação.
10. Terminada a experiência, retornar os reagentes ao local apropriado, limpar a bancada de trabalho e, depois de descartar os produtos nos seus respectivos contentores e lavar todo o material de vidro. Para o efeito passar água da torneira no material de vidro, lavar com detergente e ajuda do escovilhão, passar com água destilada e finalmente deixá-lo no tabuleiro de alumínio. O material poderá ser seco na estufa ou recorrendo ao sistema de ar comprimido.

Nota: Não esquecer, desencaixar todas as peças de vidro e retirar todas as peças de plástico ou de borracha do tabuleiro.

III - PERIGOS E CONSELHOS DE SEGURANÇA

Os rótulos dos reagentes Merck obedecem às directrizes da Comunidade Europeia que exigem para produtos perigosos as seguintes indicações de perigo: símbolo de perigo com a legenda correspondente de perigo, perigos específicos conselhos de segurança para a sua manipulação. Com estas indicações que se podem ler no texto do rótulo já estão dadas as mais importantes indicações para a manipulação livre de perigo com os nossos produtos.

Por motivo de espaço não nos é possível acrescentar também os conselhos de segurança. Daí termos usado a indicação de **perigos específicos R** e a recomendações de **segurança S** de forma abreviada numa barra vermelha na parte inferior do rótulo. O significado desta informação codificada está contida no capítulo "Perigos específicos" e "Conselhos de segurança" abaixo indicado.

As diferentes classes de perigo de acordo RID ("*Règlement international concernant le transport des marchandises dangereuses*".) estão igualmente anotadas no rótulo e tem o seguinte significado:

Classe 2	Gases comprimidos, liquidificados ou dissolvidos sob pressão
Classe 3	Líquidos inflamáveis
Classe 4.1	Sólidos inflamáveis
Classe 4.2	Matérias auto-inflamáveis
Classe 4.3	Substâncias cujo contacto com a água formam gases inflamáveis
Classe 5.1	Substâncias com acção inflamável (oxidante)
Classe 5.2	Peróxidos orgânicos
Classe 6.1	Substâncias tóxicas
Classe 8	Substâncias corrosivas

Os nossos reagentes são exclusivamente destinados para o trabalho de laboratório. Parte-se portanto do princípio que as pessoas que trabalham com estes produtos possuam os conhecimentos essenciais e experiência necessária para poder obedecer às medidas de segurança adequadas. O uso de reagentes não é de modo algum permitido na medicina humana. Dado que no laboratório normalmente são manuseadas quantidades reduzidas o perigo para a saúde é praticamente nulo se se tiver em atenção as recomendações do rótulo. Se não estiver já indicadas no rótulo, ter em atenção os seguintes cuidados na manipulação das substâncias químicas.

Em todos os trabalhos colocar óculos de protecção e se necessário luvas de protecção. Evitar o contacto com a pele, olhos e mucosas. Se caírem pingos sobre a pele limpar primeiro com um pano seco e depois lavar abundantemente com água fria. Se no entanto caírem pingos nos olhos lavar imediatamente e abundantemente com água, se aparecerem irritações locais recomendamos uma ida ao médico especialista. Os trabalhos devem ser feitos numa hotte, ou pelo menos numa sala bem arejada.

Outras valiosas recomendações pela manipulação livre de perigo encontram-se nas monografias seguintes:

1. Marc J. Lefèvre, *Manuel de premiers soins d'urgence*, Edition Duculot, Gembloux, Belgique
2. E. Weil, *Éléments de toxicologie industrielle*, Masson et Cie, Éditeurs Paris
3. *Manual de Toxicologia Industrial*, Ediciones Urmo, Bilbao
4. N. Irving Sax, *Dangerous Properties of Industrial Materials*, Van Nostrand Reinhold Company, New York Toronto, London, Melbourne
5. *Registry of Toxic Effects of Chemical Substances*, U.S., Departement of Health, Education And Welfare, Cincinnati, Ohio.

PERIGOS ESPECÍFICOS

- R1 Explosivo no estado seco.
- R2 Risco de Explosão por choque, fricção, fogo ou outras fontes de ignição.
- R3 Grande risco de explosão por choque fricção ou outras fontes de ignição.
- R4 Forma compostos metálicos explosivos muito sensíveis.
- R5 Perigo de explosão por aquecimento.
- R6 Explosivo em contacto e sem contacto com o ar.
- R7 Pode provocar um incêndio.
- R8 Perigo de incêndio em contacto com substâncias combustíveis.
- R9 Perigo de explosão quando misturado com substâncias explosivas.
- R10 Inflamável.
- R11 Muito inflamável.
- R12 Altamente inflamável.
- R13 Gás liquefeito altamente inflamável.
- R14 Reage violentamente com a água.

R15 Reage com a água libertando gases muito inflamáveis.
 R16 Explosivo quando misturado com substâncias comburentes.
 R17 Espontaneamente inflamável no ar.
 R18 Durante o uso pode formar misturas vapor-ar muito inflamáveis/explosivas.
 R19 Pode formar peróxidos explosivos.
 R20 Nocivo por inalação.
 R21 Nocivo por contacto com a pele.
 R22 Nocivo por ingestão.
 R23 Tóxico por inalação.
 R24 Tóxico em contacto com a pele.
 R25 Tóxico por ingestão.
 R26 Muito tóxico por inalação.
 R27 Muito tóxico em contacto com a pele.
 R28 Muito tóxico por ingestão.
 R29 Em contacto com a água liberta gases tóxicos.
 R30 Pode tornar-se muito inflamável durante o uso.
 R31 Em contacto com ácidos liberta gases tóxicos.
 R32 Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.
 R33 Perigo de efeitos cumulativos.
 R34 Provoca queimaduras.
 R35 Provoca queimaduras graves.
 R36 Irritante para os olhos.
 R37 Irritante para as vias respiratórias.
 R38 Irritante para a pele.
 R39 Perigo de efeitos irreversíveis muito graves.
 R40 Riscos possíveis de efeitos irreversíveis.
 R42 É possível uma sensibilização por inalação.
 R43 É possível uma sensibilização por contacto com a pele.
 R14/15 Reage violentamente com água libertando gases muito inflamáveis.
 R14/29 Reage com a água libertando gases tóxicos e muito inflamáveis.
 R20/21 Nocivo por inalação e em contacto com a pele.
 R21/22 Nocivo em contacto com a pele e por ingestão.
 R20/22 Nocivo por inalação e ingestão.
 R20/21/22 Nocivo por inalação, ingestão e em contacto com a pele.
 R23 /24 Tóxico por inalação e em contacto com a pele.
 R24/25 Tóxico em contacto com a pele e por ingestão.
 R23/25 Tóxico por inalação e ingestão.
 R23/24/25 Tóxico por inalação, ingestão e em contacto com a pele.
 R26/27 Muito tóxico por inalação e em contacto com a pele.
 R27/28 Muito tóxico em contacto com a pele e por ingestão.
 R26/28 Muito tóxico por inalação e ingestão.
 R26/27/28 Muito tóxico por inalação, ingestão e em contacto com a pele.
 R36/37 Irritante para os olhos e vias respiratórias.

R37/38	Irritante para as vias respiratórias e pele.
R36/38	Irritante para os olhos e pele.
R36/37/38	Irritante para os olhos, vias respiratórias e pele.
R42/43	É possível uma sensibilização por inalação e em contacto com a pele.

CONSELHOS DE SEGURANÇA

- S1 Conservar fechado.
- S2 Não deve estar ao alcance das crianças.
- S3 Conservar em lugar fresco.
- S4 Deve estar longe dos locais de habitação.
- S5 Conservar dentro de ...(líquido apropriado a especificar pelo fabricante).
- S6 Conservar dentro de ...(gás inerte a especificar pelo fabricante).
- S7 Conservar o recipiente bem fechado.
- S8 Conservar o recipiente ao abrigo da humidade.
- S9 Conservar o recipiente em local bem ventilado.
- S10 Manter húmido o conteúdo.
- S11 Evitar o contacto com o ar.
- S12 Não fechar o recipiente hermeticamente.
- S13 Guardar afastado de alimentos, bebidas e rações para animais.
- S14 Guardar afastado de ...(Substâncias incompatíveis a indicar pelo fabricante)
- S15 Conservar longe do calor.
- S16 Conservar longe de fontes de ignição - Não fumar.
- S17 Conservar longe de substâncias combustíveis.
- S18 Abrir e manipular o recipiente com cautela.
- S20 Não comer nem beber durante o trabalho.
- S21 Não fumar durante o trabalho.
- S22 Não respirar o pó.
- S23 Respirar gás / fumo / vapor / aerossóis.
- S24 Evitar o contacto com a pele.
- S25 Evitar o contacto com os olhos.
- S26 Em caso de contacto com os olhos, lavar logo com muita água e procurar um médico.
- S27 Despir imediatamente todas as peças de vestuário atingidas.
- S28 Em caso de contacto com a pele, lavar imediatamente e abundantemente com ... (produtos apropriados a indicar pelo fabricante).
- S29 Não atirar para os esgotos.
- S30 Não derramar nunca água sobre o produto.
- S31 Conservar afastado de substâncias explosivas.
- S33 Tomar medidas contra as cargas electrostáticas.
- S34 Evitar o choque e a fricção.
- S35 Os resíduos e o recipiente devem ser eliminados com a devida precaução.
- S36 Usar vestuário de protecção adequado durante o trabalho.
- S37 Usar luvas de protecção apropriadas.
- S38 Em caso de ventilação insuficiente, usar um aparelho respiratório apropriado.

- S39 Proteger os olhos / cara.
- S40 Para limpar o pavimento e objectos contaminados, usar...(a precisar pelo fabricante).
- S41 Em caso de incêndio ou explosão, não respirar os fumos.
- S42 Durante as fumigações / pulverizações usar um aparelho respiratório apropriado.
- S43 Em caso de incêndio usar... (meios de extinção a indicar pelo fabricante. Se a água aumentar os riscos, acrescentar ainda - "não usar água").
- S44 Em caso de má disposição consultar um médico (se possível mostrar-lhe este rótulo).
- S45 Em caso de acidente ou má disposição consultar imediatamente um médico(se possível mostrar-lhe este rótulo).
- S1/2 Conservar fechado e fora do alcance das crianças.
- S3/9 Conservar o recipiente em lugar fresco e bem ventilado.
- S3/7/9 Conservar o recipiente bem fechado em lugar fresco e bem ventilado.
- S7/9 Conservar o recipiente bem fechado em lugar bem ventilado.
- S7/8 Conservar o recipiente bem fechado ao abrigo da humidade.
- S20/21 Não comer, nem beber, nem fumar durante o trabalho.
- S24/25 Evitar o contacto com os olhos e com a pele.
- S36/37 Usar luvas e vestuário de protecção adequados durante o trabalho.
- S36/39 Usar vestuário de protecção apropriado e proteger os olhos / a cara durante o trabalho.
- S37/39 Usar luvas de protecção apropriadas e proteger os olhos / a cara durante o trabalho.
- S36/37/39 Usar luvas e vestuário de protecção adequados e proteger os olhos / a cara durante o trabalho.

SÍMBOLOS DE PERIGO E O SEU SIGNIFICADO

Em primeiro lugar, prestar sempre atenção aos perigos específicos e conselhos de segurança indicados nos rótulos. O resumo seguinte só pode abranger indicações de carácter geral.

SUBSTÂNCIAS EXPLOSIVAS



E

Perigo: Este símbolo indica substâncias que podem explodir sob

determinadas condições.

Exemplos: dicromato de amónio.

Cuidado: Evitar contusão, choque, fricção, formação de faísca e acção do calor.

SUBSTÂNCIAS COMBURENTES



O

Perigo: Substâncias comburentes podem inflamar substâncias combustíveis ou acelerar fogos declarados, dificultando o combate do incêndio.

Exemplos: permanganato de potássio, peróxido de sódio.

Cuidado: Evitar qualquer contacto com substâncias combustíveis.

SUBSTÂNCIAS FACILMENTE INFLAMÁVEIS

1. Substâncias auto-inflamáveis



F

Exemplos: alquilos de alumínio, fósforo.

Cuidado: Evitar contacto com o ar.

2. Gases facilmente inflamáveis Exemplos:

butano, propano.

Cuidado: Evitar a formação de misturas inflamáveis gás-ar e manter afastadas fontes de ignição.

3. Substâncias sensíveis à humidade

Produtos químicos que em contacto com a água, produzem gases

facilmente inflamáveis.

Exemplos: lítio, hidreto de boro e sódio.

Cuidado: Evitar o contacto com humidade ou água.

4. Líquidos inflamáveis

Líquidos com um ponto de inflamação inferior a 21 °C

Exemplos: acetona, benzeno.

Cuidado: Manter afastado de chamas vivas, fontes de calor e faíscas.

SUBSTÂNCIAS TÓXICAS



T

Perigo: A inalação, ingestão ou absorção através da pele provoca, na maior parte das vezes, lesões muito graves ou mesmo a morte.

Exemplos: trióxido de arsénio, cloreto de mercúrio (II).

Cuidado: Evitar qualquer contacto com o corpo humano e, no caso de indisposição, chamar o médico.

SUBSTÂNCIAS NOCIVAS



Xn

Perigo: Absorvidas pelo corpo, estas substâncias provocam lesões pouco graves.

Exemplos: piridina, tricloroetileno.

Cuidado: Evitar qualquer contacto com o corpo humano, inclusive inalação de vapores; no caso de indisposição chamar o médico.

SUBSTÂNCIAS CORROSIVAS



C

Perigo: Por contacto, estes produtos químicos destroem o tecido vivo, bem como utensílios.

Exemplos: bromo, ácido sulfúrico.

Cuidado: Não respirar os vapores e evitar o contacto com a pele, olhos e vestuário.

SUBSTÂNCIAS IRRITANTES



Xi

Perigo: Este símbolo indica substâncias que podem desenvolver

uma acção irritante sobre a pele, olhos e órgãos da respiração.

Exemplos: solução de amoníaco, cloreto de benzilo.

Cuidado: Não respirar os vapores e evitar o contacto com a pele e olhos.

SEGURANÇA - CONTACTOS DE EMERGÊNCIA

Emergência INEM	112
Portaria FCT – Segurança / Emergência	18112 (Tlm: 91 602 5546)
Portaria Edifício Departamental	13105
Gabinete de Segurança, FCT	13191
Unidade de Saúde - Monte Caparica	21 295 0660 (das 8h às 22h)
FCT EMERGÊNCIA – Segurança	Ext: 18 112; Tlm: 91 602 5546

HOSPITAIS

Almada - Garcia da Horta	21 294 0294
	21 295 7400
Santa Maria	21 796 1181
	21 790 1200
São José	21 886 0131
	21 884 1000
Centro de Informação Anti-Venenos	21 795 0143

BOMBEIROS

Almada	21 274 3541
Trafaria	21 294 0142
Caparica	21 290 0030
	21 290 5422/66
Cacilhas	21 272 2520