3.ª Edição

GUIA DO LABORATÓRIO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA

José A. Martinho Simões
Miguel A. R. Botas Castanho
Isabel M. S. Lampreia
Fernando J. V. Santos
Carlos A. Nieto de Castro
M. Teresa Pamplona
Manuel E. Minas da Piedade

LIDEL

ÍNDICE

XI **Prefácio**

1

1 **Introdução**

2

3 **No laboratório**
3 As boas práticas de laboratório
6 O caderno de laboratório
12 Procedimentos de segurança
12 Cuidados gerais
12 Manuseamento de produtos químicos
13 Eliminação de resíduos perigosos
13 Manipulação de reagentes potencialmente inflamáveis ou explosivos
14 Realização de uma separação ou extração
14 Utilização de uma garrafa de gás comprimido
14 Medidas de primeiros socorros

3

17 **A difusão do conhecimento científico**
19 Esquema de um relatório
19 Título e autores
19 Resumo
20 Introdução
20 Parte experimental
23 Resultados
24 Discussão
25 Apêndice(s)
25 Bibliografia
27 Apresentação de um trabalho em *poster*
28 Apresentação de uma comunicação oral

4

31 **Informação científica: onde e como está disponível**
32 A procura de informação
33 A obtenção de documentos
34 As referências bibliográficas
35 A publicação de um trabalho científico
36 Recomendações finais
37 Bibliografia

5

39 **Aquisição automática de dados**
39 Sistemas de aquisição de dados
39 Aquisição manual (humana)
40 Aquisição mecânica/elétrica
40 Aquisição informática
41 Sistemas informáticos de aquisição de dados
45 Bibliografia

6

47 **Análise e tratamento de dados experimentais**
47 Conceitos e definições
49 Algarismos significativos
51 Distribuições e quantificação da incerteza
56 Que confiança devemos ter na média estimada?
58 Exemplo numérico do cálculo de um intervalo de incerteza
59 Propagação das incertezas: a influência das incertezas no resultado final
61 Conselhos úteis
62 Ajuste de equações pelo método dos mínimos quadrados
63 Aplicação do método dos mínimos quadrados a uma equação linear
67 Medidas da qualidade do ajuste
69 Pontos anómalos
70 Exemplo numérico de uma regressão linear
72 Notas finais
73 Bibliografia

7

75 **Apresentação de dados em gráficos**
75 As variáveis são numéricas e pontuais
75 Existe uma expectativa teórica da relação entre as variáveis
76 Não existe uma expectativa teórica para a variação, mas os dados são suficientes para admitir uma determinada relação entre as variáveis
78 Não existe uma expectativa teórica para a variação, nem os dados são suficientes para admitir uma relação entre as variáveis
79 As variáveis não são numéricas ou não são pontuais
80 Notas finais
82 Bibliografia

8

83 **Medida de propriedades: massa e densidade**
83 Massa
84 Definição e unidades

85 Determinação de massa
88 Processo de pesagem
89 Correção da impulsão
91 Densidade
91 Definições e unidades
92 Escalas de densidade
92 Medida de densidade
97 Bibliografia
98 Anexos

9

103 **Medida de propriedades: temperatura**
103 Escalas de temperatura
104 Escala Celsius
106 Escala Kelvin
107 Outras escalas
107 Escalas Internacionais de temperatura: a ITS-90
110 Medida de temperatura
111 Termómetros de expansão
114 Termómetros de resistência
116 Termopares
118 Termómetros clínicos
119 Controlo de temperatura
121 Bibliografia

10

123 **Medida de propriedades: pressão**
123 Unidades de pressão
124 Medida de pressão
126 Manómetros mais comuns (secundários)
133 Manómetros primários
134 Outros manómetros
135 Bibliografia

11

137 **Medida de propriedades: pH**
137 Definição de pH
139 Determinação de pH por potenciometria
142 Indicadores de pH
146 Bibliografia

12

149 **Segurança**
149 Sinais e símbolos
152 Rótulos de produtos químicos
154 Advertências de perigo e recomendações de prudência no manuseamento de produtos químicos
156 Fichas de dados de segurança
157 Manuseamento de gases comprimidos
157 Reagentes incompatíveis
159 Solventes inflamáveis
160 Códigos LER para eliminação de resíduos
162 Normas de utilização de radioisótopos
162 Regras a observar na manipulação de radioisótopos
163 Eliminação de resíduos e descontaminação
163 Manipulação de nanomateriais
164 Bibliografia

Apêndice

165 Nomenclatura, unidades e fatores de conversão
166 Grandezas e unidades de base do SI
166 Regras essenciais para a escrita de nomes e de símbolos de unidades
167 Prefixos do SI
168 Nomenclatura dos grandes números
168 Constantes fundamentais
170 Fatores de conversão
170 Massas atómicas dos elementos

175 **Índice Remissivo**

LISTA DE AUTORES

José A. Martinho Simões
Professor Catedrático, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Miguel A. R. Botas Castanho
Professor Catedrático, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

Isabel M. S. Lampreia
Professora Associada com Agregação (aposentada), Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Fernando J. V. Santos
Professor Auxiliar, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Carlos A. Nieto de Castro
Professor Catedrático, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

M. Teresa Pamplona
Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

Manuel E. Minas da Piedade
Professor Associado com Agregação, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa

PREFÁCIO

A primeira edição do *Guia do Laboratório de Química e Bioquímica* foi publicada em 2000. Decorridos cerca de seis anos, autores e editor concordaram em preparar e publicar uma segunda edição, revista e aumentada, o que se concretizou em 2008. O exercício repetiu-se alguns anos depois: em finais de 2013, decidiu-se aprontar uma terceira edição. É o resultado deste trabalho que agora apresentamos.

Todos os capítulos e o apêndice foram novamente revistos. Reescreveram-se partes do texto, alteraram-se conteúdos e tentou-se aumentar a clareza da exposição e de alguns exemplos apresentados. Introduziu-se um novo capítulo, sobre a medida de pH. O capítulo sobre segurança foi reformulado.

Algumas das fontes de informação recomendadas ao longo dos vários capítulos são portais da Internet. Para facilitar a sua consulta foi mantido um portal (http://quimica.fc.ul.pt/guia) inteiramente dedicado ao *Guia do Laboratório de Química e Bioquímica*, que contém não só os *links* para os portais mencionados, mas também outras informações consideradas úteis para o leitor e que não constam na versão impressa do livro.

O principal objetivo da obra foi mantido: abordar um conjunto de temas relacionados com a atividade de ensino laboratorial de Química e de Bioquímica que, embora úteis e importantes, raramente são incluídos, de forma sistemática, nos programas das disciplinas. Manteve-se também o nível científico da primeira edição: o livro continua a ser essencialmente destinado a estudantes universitários.

Os Autores

© LIDEL – EDIÇÕES TÉCNICAS

aumentar a proteção da saúde humana e do ambiente. É dada especial atenção às propriedades mais tóxicas, que causam cancro, esterilidade masculina e feminina, mutações genéticas e malformações congénitas. Esta legislação é conhecida pelo acrónimo REACH (do inglês *Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals*; 1907/2006/CE) e, como o nome indica, visa o registo, numa base de dados, das substâncias químicas e das suas propriedades mais relevantes para o manuseamento em segurança, a avaliação das implicações da sua utilização para o ambiente e para a saúde humana e a autorização formal de fabrico ou de importação para o espaço europeu. A Agência Europeia dos Produtos Químicos, conhecida pelo acrónimo ECHA (do inglês *European Chemicals Agency*), é a entidade, a nível comunitário, responsável pela gestão dos aspetos técnicos, científicos e administrativos dessa legislação, bem como da vasta base de dados sobre inventário de classificação e rotulagem, disponibilizando ao público informação que permite manter atualizados os rótulos e as fichas de segurança dos produtos aí registados. A REACH aplica-se a substâncias/misturas produzidas em larga escala e/ou colocadas no mercado; não se aplica a substâncias/misturas destinadas a atividades de investigação e de desenvolvimento, nem a substâncias intermédias não isoladas.

A REACH recomenda também a substituição progressiva dos produtos químicos mais perigosos, à medida que forem sendo encontradas alternativas. Devemos sempre optar pela utilização de reagentes menos tóxicos (materiais de partida e solventes), bem como escolher processos que levem à formação de produtos e de resíduos de menor toxicidade (a diminuição da produção de resíduos tóxicos evita a necessidade do seu posterior tratamento), o que contribuirá para uma menor contaminação do ambiente. Esta nova prática química, que tem em particular atenção a qualidade de vida e o meio ambiente, é chamada química sustentável ou química verde e é regida pelos chamados **doze princípios da química verde**:

1. É melhor prevenir a formação de subprodutos do que tratá-los posteriormente.
2. Devem ser desenvolvidos métodos de síntese para maximizar a incorporação dos átomos dos reagentes nos produtos finais desejados, levando à máxima economia de átomos.
3. Sempre que possível, deve substituir-se compostos de alta toxicidade por compostos de menor toxicidade.
4. Devem ser desenvolvidos compostos mais seguros, com a menor toxicidade possível.
5. A utilização de solventes e de agentes de separação, deve ser evitada, sempre que possível.

© LIDEL – EDIÇÕES TÉCNICAS

PROCEDIMENTOS DE SEGURANÇA

Cuidados gerais

- Vestir sempre uma bata que o proteja adequadamente, não a usando fora da área dos laboratórios;
- Usar sempre óculos de segurança;
- Usar luvas, quando necessário;
- Evitar em absoluto fumar, beber, comer ou guardar alimentos no laboratório;
- Conhecer a localização dos equipamentos de emergência (saídas de emergência, extintores de incêndio, lava-olhos, chuveiro e outros equipamentos de segurança existentes em cada laboratório);
- Nunca trabalhar sozinho no laboratório;
- Nunca realizar experiências não autorizadas;
- Deixar o laboratório com segurança, desligando todo o equipamento elétrico e fechando as trompas de água.

Manuseamento de produtos químicos

- Nunca pipetar líquidos com a boca;
- Nunca ingerir, inalar ou tocar com as mãos nos produtos químicos. Se tal acontecer, tomar imediatamente medidas de primeiros socorros relacionadas com o risco e a segurança dos produtos;
- Identificar claramente todos os recipientes. Nunca usar algum em relação ao qual se tenha dúvidas quanto ao conteúdo;
- Evitar a abertura simultânea de vários frascos do mesmo produto;
- Nunca usar maior quantidade de um reagente do que a necessária para a experiência. Caso exceda essa quantidade, não recolocar o excesso no frasco original, mas antes numa embalagem separada;
- Reagentes como o sódio ou o potássio devem ser acondicionados em contentores especiais e usados sempre com grande cuidado;
- Adicionar sempre qualquer reagente lentamente e nunca de uma vez só, observando qualquer ocorrência que tenha lugar. Observar o que acontece quando a primeira pequena quantidade é adicionada e esperar uns segundos antes de adicionar mais quantidade (algumas reações levam tempo a iniciar!). Reações que necessitem de temperatura elevada para ser iniciadas devem igualmente ser controladas;
- Adicionar sempre lentamente soluções concentradas a água ou a soluções mais diluídas, para evitar reações violentas.

ESQUEMA DE UM RELATÓRIO

Título e autores

O título não deve conter um número excessivo de palavras (mas deve ser suficientemente informativo) e tem de chamar a atenção para o assunto tratado. O *marketing* também é importante em ciência!

Exemplos: Entalpia de Vaporização do Isooctano. (☺)
Estudo da Variação da Pressão de Vapor do Tolueno com a Temperatura, pelo Método do Ponto de Ebulição. (😐)
Transition Metal-Hydrogen and Metal-Carbon Bond Strengths. (😐)
Transition Metal-Hydrogen and Metal-Carbon Bond Strengths. The Keys to Catalysis. (☺)
Cromatografia de Filtração em Gel. (☹)
Determinação da Massa Molecular de uma Proteína por Cromatografia de Filtração em Gel. (☺)

Resumo

Já se referiu como deve ser redigido. Com a maior concisão possível, tem de se incluir o que se fez, como se fez e que conclusões e/ou valores principais foram obtidos. Nunca se utilizam tabelas ou gráficos.

Exemplos: Determinou-se, pelo método do ponto de ebulição, o valor da entalpia de vaporização padrão do isooctano. O valor encontrado, 35.0±1.2 kJ mol^{-1}, está em boa concordância com os resultados obtidos por outros autores. (☺)
Determinou-se a entalpia de vaporização padrão do isooctano. O valor encontrado foi comparado com resultados da literatura. (☹)
Determinou-se a massa molecular de uma proteína, através da filtração em gel de uma mistura de proteínas, de massas moleculares conhecidas, e de uma proteína desconhecida, através dos respetivos volumes de eluição. (☹)
Fez-se passar por uma coluna de cromatografia (com um enchimento para filtração em gel) uma mistura de proteínas com massas moleculares conhecidas e a solução da proteína desconhecida e determinaram-se os respetivos volumes de eluição. Traçou-se uma curva de calibração, que se obteve representando a constante de distribuição K_{av} (que é função do volume de eluição) de cada proteína em função do logaritmo das respetivas massas moleculares. Sabendo o volume de eluição da proteína desconhecida, a partir da curva de calibração determinou-se a respetiva massa molecular. O valor obtido, 21300 Da, é bastante aproximado do valor da α-quimiotripsina (22500 Da), que constituía a amostra. (☺)

© LIDEL – EDIÇÕES TÉCNICAS

Nunca se inclui material trivial de laboratório, como balões aferidos, pipetas, etc., desligados dos aspetos essenciais do trabalho. Embora importantes para uma boa prática laboratorial, o uso destes materiais de forma correta é tido como pressuposto, de tão básico e fundamental que é.

A informação sobre os reagentes usados deve conter a sua origem ou marca e o respetivo grau de pureza. Caso se trate de uma substância preparada no laboratório, devem indicar-se as referências bibliográficas sobre o método de síntese e de purificação. Se o objetivo da experiência tiver sido a síntese e a caracterização de compostos, esta última informação não é suficiente (ver página 23). Se for usado material biológico, indicar a proveniência e detalhar espécies e estirpes.

O texto sobre o método experimental seguido não é uma cópia do protocolo fornecido. Pode ser mais sucinto, eliminando alguns pormenores, ou detalhar algumas modificações, feitas pelos experimentadores, em relação ao procedimento usual.

Caso se use um método de análise de dados que não tenha sido especialmente deduzido no âmbito do trabalho em causa e já esteja disponível publicamente, basta mencionar a fonte da informação (de preferência, o artigo científico original) e as equações mais importantes (aquelas que são diretamente usadas). Se as equações tiverem uma aplicação limitada a determinadas condições (por exemplo, quando só forem válidas admitindo pressupostos sobre uma determinada estequiometria, condição padrão, baixas concentrações, etc.), é conveniente indicar isso mesmo ao leitor. A equação de Lambert-Beer, por exemplo, só é válida para soluções diluídas. Quando se use *software* comercial para análise estatística de dados, deve indicar-se quais os programas, a sua versão e as opções da sua operação.

Caso se faça uma dedução de uma equação especificamente para o trabalho em causa, a mesma faz parte integrante do estudo e pode optar-se por fazer-lhe menção e apresentar a sua dedução na secção de métodos, na discussão ou mesmo num anexo. A opção a tomar depende sempre daquilo que resultar mais claro para o leitor. Uma dedução detalhada em apêndice, combinada com uma informação sucinta no texto, costuma ser uma boa opção para aliar detalhe e rigor a uma escrita simples e eficaz. Uma nota importante: as deduções devem mencionar clara e explicitamente os passos que envolvem pressupostos ou limitações, para que o leitor se aperceba das condições de validade das equações, mesmo que não acompanhe passo a passo as deduções.

As diferentes secções que compõem esta parte podem ser tratadas separadamente, como, por exemplo:

© LIDEL – EDIÇÕES TÉCNICAS

- É necessário ter cuidado com a nomenclatura utilizada. É hábito ver-se palavras indevidamente traduzidas "à letra";
- Usar, sempre que possível, o Sistema Internacional de Unidades (SI);
- Numerar e legendar figuras e tabelas. Caso alguma tenha sido copiada da literatura, indicar a referência e pôr a legenda em português;
- A elaboração do relatório será, em geral, mais fácil se obedecer à seguinte ordem: Parte Experimental, Resultados, Discussão, Introdução, (Apêndice), Resumo, Bibliografia;
- Numerar as páginas do relatório;
- Assinar e datar o relatório.

APRESENTAÇÃO DE UM TRABALHO EM *POSTER*

Comunicar um trabalho sob a forma de um *poster* é, hoje, o método mais utilizado em reuniões científicas. Nos congressos de maior dimensão, é hábito encontrarem-se várias dezenas de *posters* afixados simultaneamente, o que, desde logo, coloca alguma dificuldade na seleção dos que merecem ser lidos com (mais) atenção. Por sua vez, tal sugere que, antes de se fazer um *poster*, é essencial selecionar cuidadosamente os conteúdos e a apresentação gráfica, para captar a atenção de outras pessoas. Há que ter presente que um *poster* é, essencialmente, um método visual de comunicação.

É fácil encontrar na Internet conselhos úteis para se fazer um (bom) *poster*. Basta usar um motor de busca e digitar, por exemplo, *how to make a poster*. Aparecem muitas respostas. A nossa seleção recaiu em três textos, que podem também ser encontrados no portal dedicado a este manual (http://quimica.fc.ul.pt/guia). Segue-se uma breve seleção das principais recomendações:

- Obter informação sobre as dimensões do *poster* (ou do suporte no qual o *poster* será afixado);
- Optar por construir o *poster* como um conjunto de folhas A4 ou por usar uma aplicação informática adequada (por exemplo, Microsoft Office PowerPoint). Neste caso, o *poster* é impresso como um todo, usando uma impressora de grandes dimensões (uma *plotter*);
- Usar um título curto e incisivo e imprimi-lo numa só linha, com um tamanho de letra legível a cerca de 10 metros (tamanho mínimo: 72). Não usar apenas letras maiúsculas, pois são mais difíceis de ler;
- Colocar o(s) nome(s) do(s) autor(es) e a sua afiliação logo abaixo do título, usando tamanhos de letra menores do que o usado para o título;

© Lidel – edições técnicas

O erro associado a cada medida é, simplesmente, a diferença entre os valores exato e medido ($\Delta x_i = x_e - x_i$). A **precisão** do método experimental será boa se os erros tiverem valores bastante próximos nas várias determinações, ou seja, se a sua **função de distribuição** estiver concentrada em torno de um dado valor, ainda que distinto de x_e. Assim, um conjunto de medidas mais preciso (ou com menor **dispersão**) do que outro terá uma função de distribuição mais "estreita". Tal é ilustrado na Figura 6.1, na qual a função de distribuição é representada pelo número de vezes (n) que um dado valor de X foi medido. Por outro lado, como também se mostra nessa figura, a **exatidão** do método experimental depende da posição do máximo da função de distribuição em relação a x_e.

A exatidão de um método, ao contrário da precisão, não é determinável apenas pela análise estatística de um conjunto de medidas e exige a comparação com o resultado de métodos bem estabelecidos (*i. e.*, de exatidão muito elevada) ou a utilização de padrões (amostras com valor

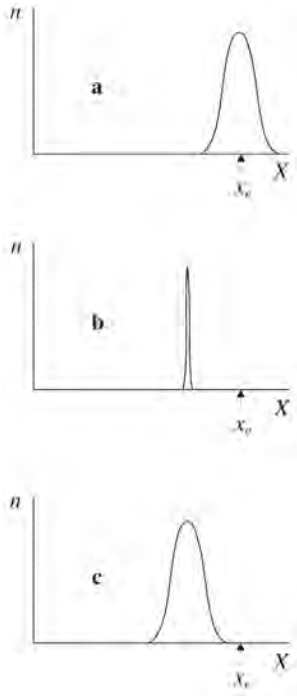

Figura 6.1 Erros aleatórios e sistemáticos. Os gráficos mostram os resultados de medidas repetidas da grandeza X, cujo verdadeiro valor (x_e) é indicado pelas setas. No eixo das ordenadas representa-se o número de vezes (n) que um dado valor de X foi medido. (**a**) O efeito dos erros aleatórios é produzir uma dispersão de valores de medidas centradas em x_e. (**b**) Os erros sistemáticos podem deslocar os resultados, não levando necessariamente a uma dispersão. (**c**) Efeito conjunto de erros sistemáticos e aleatórios. A medida em **b** é mais precisa mas menos exata do que em **a**.

Com frequência, as distribuições são usadas para resolver problemas nos mais diversos domínios científicos, sendo essenciais à avaliação das incertezas associadas a determinações experimentais. Por isso, a sua descrição gráfica é largamente insuficiente, sendo necessária a sua descrição matemática. A descrição mais simples de uma distribuição, como a apresentada na Figura 6.2, considera o valor ao redor do qual a distribuição está centrada, bem como a sua largura. A média, μ, e a média dos quadrados dos desvios em relação à média, σ^2 (também designada por **variância**), são muitas vezes indicadas para este fim. A raiz quadrada da variância, σ, é conhecida como o **desvio padrão** da distribuição.

Tal como referido anteriormente, as quantidades μ e σ^2 referem-se aos verdadeiros valores da distribuição e são as determinações que se obteriam no caso (completamente irreal) de termos um número infinito de observações ideais (*i. e.*, sem erros sistemáticos). Para um número finito de N observações reais ($n = N$), as estimativas para μ e σ^2 são, respetivamente:[1]

$$\overline{x} = \frac{\sum x_i}{N} \tag{6.6}$$

e

$$s^2 = \frac{\sum (x_i - \mu)^2}{N} \tag{6.7}$$

Uma vez que, geralmente, a verdadeira média, μ, não é conhecida, a equação 6.7 não pode, na prática, ser usada para estimar a variância. Esta equação é, então, substituída por:

$$s^2 = \frac{1}{N-1} \sum (x_i - \overline{x})^2 \tag{6.8}$$

em que o fator $1/(N - 1)$ é necessário para tornar s^2 uma estimativa correta da variância. Uma consequência deste fator é que ele impede estimar a largura da distribuição com uma só medida, caso o "verdadeiro valor" da média seja desconhecido.

A definição de s^2 dada pela equação 6.8 pode ainda parecer desnecessariamente complicada. Uma vez que o desvio de cada medida individual em relação à média estimada é $(x_i - \overline{x})$, poderíamos pensar que

[1] Obviamente, a equação 6.6 coincide com a equação 6.4 para $n = N$.

$$Y = f(x_1, x_2, x_3) \tag{6.16}$$

em que x_i (i = 1, 2, 3) são as variáveis de entrada do sistema, consideradas independentes, cada uma tendo uma incerteza associada. A incerteza em Y originada por uma incerteza em x_i pode ser calculada fazendo:

$$\delta Y_i = \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)_{j \neq i} \delta x_i \tag{6.17}$$

A derivada é o chamado **coeficiente de sensibilidade** em relação à variável x_i. Fazendo o tratamento em termos de variância, obtém-se:

$$\sigma_Y^2 = \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)_{j \neq i}^2 \sigma_i^2 \tag{6.18}$$

Esta equação dá-nos o valor de σ_Y em função das incertezas de medida associadas a σ_i (*i. e.*, os σ_m correspondentes a cada x_i), que são mensuráveis.

Vejamos agora a aplicação deste método a casos particulares:

1. Relação linear $y = mx + b$

$$\sigma_Y = |m| \sigma_x; \quad \sigma_Y^2 = m^2 \sigma_x^2 \tag{6.19}$$

2. Relação inversa $y = a/x$

$$\sigma_Y = \frac{|a| \sigma_x}{\bar{x}^2}; \quad \sigma_Y^2 = \frac{a^2}{\bar{x}^4} \sigma_x^2 \tag{6.20}$$

3. Relação logarítmica $y = \ln x$

$$\sigma_Y = \frac{\sigma_x}{\bar{x}}; \quad \sigma_Y^2 = \frac{\sigma_x^2}{\bar{x}^2} \tag{6.21}$$

4. Média entre vários valores com σ_i diferentes

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i / \sigma_i^2}{\sum_i 1/\sigma_i^2}; \quad \frac{1}{\sigma^2} = \sum_i \frac{1}{\sigma_i^2} \tag{6.22}$$

trata-se de calcular os valores de *b* e de *m* que minimizam a soma *S*:

$$S = \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{y_i - mx_i - b}{\sigma_i} \right)^2 \qquad (6.24)$$

em que y_i são os valores medidos experimentalmente.

Se imaginarmos que desenhamos um conjunto de linhas retas no gráfico em que estão representados os resultados (Figura 6.5), o nosso julgamento sobre como qualquer uma delas descreve os dados é baseado na sua proximidade a cada um dos pontos individualmente. É claro que, quanto mais próximos os y_i teóricos (= $mx_i + b$) estiverem dos y_i experimentais, mais reduzido será *S*. De facto, *S* é zero se a teoria e a experiência estiverem em perfeito acordo para todos os dados. Assim, vamos ter uma ideia da qualidade do ajuste para cada "linha teórica" conhecendo o valor de *S* para essa linha (concretamente, conhecendo quão reduzido ele é).

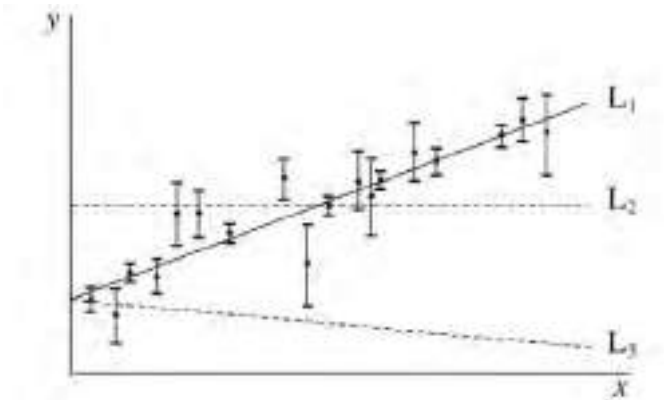

Figura 6.5 Ajuste de uma função linear a dados experimentais. A linha L_1 está razoavelmente próxima dos dados experimentais (*i.e.*, os desvios têm uma grandeza comparável à dos erros individuais) e, portanto, conduz a um pequeno valor de *S* (equação 6.24). As outras linhas apresentam grandes desvios de alguns dos dados e conduzem, assim, a grandes valores de *S*.

A primeira reação à equação de definição de *S* (equação 6.24) é questionar o motivo de conter um termo quadrático e constar no denominador. Porque não se usa simplesmente

$$S' = \sum_i \left(y_i - mx_i - b \right) \qquad (6.25)$$

que também é nulo quando os y_i teóricos (= mx_i + b)) são iguais aos y_i experimentais? O problema com esta equação é que os termos que

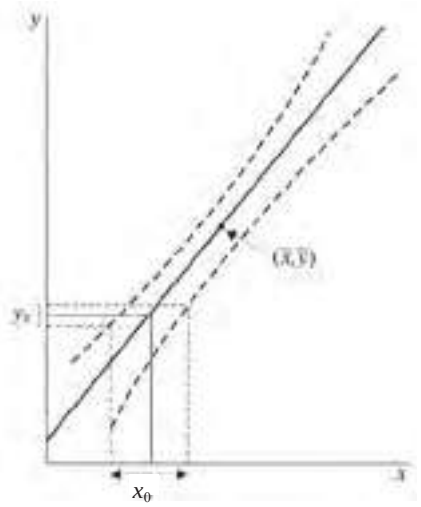

Figura 6.7 Hipérbole de incerteza (tracejado longo) e intervalo de incerteza de x_0 para um dado y_0, conhecido com uma dada incerteza. A hipérbole resulta do cálculo de $s^2_{y_0}$ para cada valor de y.

Medidas da qualidade do ajuste

Não basta saber quais os valores dos parâmetros que otimizam uma equação que descreve a variação de um determinado conjunto de dados experimentais. Há também que avaliar o resultado final global. Após a otimização dos parâmetros, é necessário confirmar se, de facto, o resultado alcançado (no caso em consideração, m e b) permite descrever satisfatoriamente aquela variação. Para esta avaliação usam-se critérios quantitativos e qualitativos.

Critério do χ^2

Este método tem como base a função denominada qui-quadrado reduzido do ajuste:

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i-\bar{x})^2\sum_{i=1}^{n}(y_i-\bar{y})^2-\sum_{i=1}^{n}[(x_i-\bar{x})(y_i-\bar{y})]^2}{(n-2)\sigma_y^2} \qquad (6.33)$$

O ajuste é considerado perfeito se $\chi^2 = 1$ e será tanto pior quanto mais afastado da unidade este parâmetro estiver. Geralmente, o valor de σ_y não é conhecido, usando-se, neste caso, o valor de s_y.

Critério dos resíduos

Um critério de qualidade do ajuste, complementar do anterior e não numérico (na sua forma mais simples), é o da representação dos resíduos

© LIDEL – EDIÇÕES TÉCNICAS

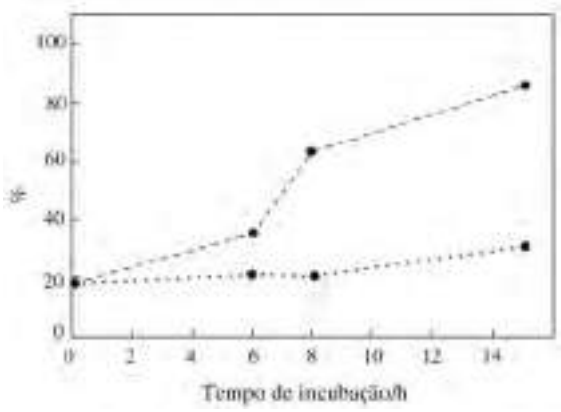

Figura 7.4 Influência do tempo de incubação de membranas de eritrócitos humanos com vesículas de fosfolípidos ricos em colesterol na percentagem desta molécula que está presente na camada externa das membranas dos eritrócitos [3]. Além do tempo de cada incubação com as vesículas ricas em colesterol, cada medida experimental envolveu um período adicional de 18 horas, o que poderá justificar (em função do objetivo que se deseja alcançar, claro) o número reduzido de determinações experimentais. A conclusão a obter é qualitativa: existe uma tendência para enriquecer a camada externa das membranas quando se aumenta o tempo de incubação. A linha ponteada une os pontos relativos a medidas obtidas no controlo da experiência (*i. e.*, incubação com vesículas sem colesterol), enquanto a linha tracejada diz respeito aos restantes pontos experimentais.

NOTAS FINAIS

Em termos de elaboração gráfica, existem aspetos óbvios a respeitar. Talvez o mais importante seja a escolha de escalas que permitam uma leitura fácil e clara. As escalas devem, por exemplo, ser escolhidas de modo a que as retas se situem formando um ângulo de cerca de 45º com cada eixo. Por outro lado, não convém aglomerar dados numa zona restrita da superfície definida pelos dois eixos (isto é, deve escolher-se a escala de modo a tirar o máximo partido de toda a superfície). Finalmente, é também importante usar tamanhos de letra suficientemente grandes para designar as ordenadas e as abcissas e para os valores das escalas.

Outros aspetos, como a legendagem, são usualmente definidos pelos editores da publicação a que se destina o texto e obedecem a normas internas dessa publicação. A única regra comum é o local de legendagem: em baixo da figura, no caso de gráficos, e no topo, no caso de tabelas.

$$m_1 - m_2 = k\Delta\theta + \rho_m (V_1 - V_2) \quad (8.13)$$

sendo V_1 e V_2 os volumes dos objetos de massa m_1 e m_2, respetivamente, e $\Delta\theta = \theta_1 - \theta_2$ a diferença das indicações da balança correspondentes às pesagens dos mesmos objetos. A equação 8.13 é uma das equações fundamentais da pesagem, valendo a pena referir que, utilizando balanças de precisão, é possível determinar $\Delta\theta$ com bastante maior rigor do que com θ_1 ou θ_2 individualmente.

Processo de pesagem

Tal como foi referido, a balança ideal não apresenta imprecisão de leitura. Infelizmente, este não é o caso das balanças reais, que apresentam valores finitos de **resolução** e de **reprodutibilidade**.

A resolução de uma balança é representada pelo dígito menos significativo da leitura. A repetibilidade de uma pesagem representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas efetuadas nas mesmas condições. A repetibilidade das medições feitas com qualquer balança nunca pode ser melhor do que a sua resolução.

A reprodutibilidade de uma balança representa a concordância entre os resultados das medições efetuadas com alteração das condições de medição, como a forma de utilização, o observador e o tempo. A reprodutibilidade de uma observação realizada com uma dada balança não pode ser melhor do que a sua repetibilidade.

A reprodutibilidade de uma balança é a sua característica mais importante, mas, como se depreende da sua definição, não é uma característica totalmente intrínseca a essa balança: pode depender do tipo de mesa onde o instrumento está instalado e das condições de condicionamento de ar da sala onde a pesagem se efetua. Uma medida adequada da reprodutibilidade, que inclui todos estes efeitos, é o **desvio padrão** (ver Capítulo 6), estimado a partir de repetições da pesagem, com acerto do zero da balança entre cada operação.

Dos vários métodos possíveis para determinar a massa de um objeto, apenas nos vamos referir ao mais utilizado em laboratório: o processo de substituição numa **balança mecânica monoprato**, mais conhecida por **balança analítica de leitura direta** (Figura 8.2). Neste tipo de balança, o prato, conjuntamente com várias massas padrão que podem ser manipuladas por cursores exteriores, é contrabalançado com um peso fixo (**contrapeso**),[5] constituindo uma alavanca interfixa de braços desiguais. Cada pesagem é o resultado da soma das massas retiradas através dos cursores, mais a massa correspondente a uma leitura complementar, a qual, na maioria das balanças, é dada pela posição de

[5] Quando, no texto, nos referirmos a "peso", é para designar um objeto produzido para ter uma massa de determinado valor nominal.

Escala Kelvin

A escala Celsius estabeleceu-se com base em dois pontos fixos. É, contudo, possível construir uma escala tendo como referência um único ponto. Este é, aliás, o método "oficial", decidido em 1954, na 10.ª Conferência Geral de Pesos e Medidas. A escolha do **ponto fixo de referência** caiu sobre o ponto triplo da água. Como se sabe, o ponto triplo de uma substância pura, em que coexistem as três fases sólido, líquido e vapor −, é um ponto invariante, verificando-se apenas a uma dada pressão e a uma dada temperatura. Feita esta opção, é fácil construir uma escala. Considere-se que, à temperatura do ponto triplo da água, T_3, o nível do mercúrio no capilar da Figura 9.1a é L_3. Mais geralmente, se X for a propriedade termométrica, o seu valor àquela temperatura será X_3. Pode fazer-se

$$T / T_3 = X / X_3 \qquad (9.5)$$

em que T é a temperatura correspondente ao valor X da propriedade termométrica. À semelhança do que se afirmou sobre a expressão 9.2, a relação 9.5 é arbitrária. Poder-se-iam ter escolhido outras formas para o segundo membro da equação 9.5: $\sqrt{X / X_3}$, 1n (X / X_3), etc. A forma adotada é, porém, a mais simples para servir como ponto de partida para a construção de uma escala de temperaturas.

O modelo do gás perfeito fornece um meio para se determinar T_3 sem necessidade de se introduzirem mais convenções. Pela equação $pV_m = RT$, verifica-se que a medida da pressão a volume constante, ou a medida do volume a pressão constante, de um gás perfeito dariam uma verdadeira medida da temperatura. Embora não haja qualquer gás que, em rigor, verifique a equação anterior, é possível, como se verá adiante, fundamentar a medida de T na idealidade de um gás. E o que se verifica experimentalmente é que, para reduzir o volume de um gás ideal a zero, mantendo a pressão constante, é necessário que a temperatura seja de −273.15 °C. Ou seja, por cada grau que se diminua à temperatura de um gás perfeito, inicialmente a 0 °C e ocupando um volume por mole V_m, verifica-se uma contração de volume dada por 1/273.15 (Figura 9.2). É este o motivo pelo qual, para passar da escala Celsius para a escala absoluta, é preciso adicionar 273.15.

Uma outra conceção da escala absoluta é a chamada **escala termodinâmica**, devida a Lord Kelvin. Este cientista definiu incrementos iguais de T como intervalos entre os quais um motor, que funciona conforme o ciclo de Carnot, realiza quantidades idênticas de trabalho. Não é difícil demonstrar que as duas escalas referidas se identificam. Por isso, a escala absoluta é, normalmente, designada de **escala Kelvin**.

barómetros aneroides (a deformação de um fole metálico é utilizada para fazer mover um ponteiro sobre uma escala) – menos exatos, de baixa resolução e sujeitos a efeitos de histerese – ou por barómetros digitais (a deformação de uma membrana metálica é amplificada por meios eletrónicos) – de grande exatidão e resolução. Ambos necessitam de estar corretamente instalados em posição vertical e de ser calibrados anualmente em laboratório acreditado para o efeito, mas são dispositivos práticos, de leitura direta e sem o risco de derrame de mercúrio por acidente que quebre a cisterna ou a coluna. A influência da temperatura ambiente nos valores lidos é, geralmente, compensada de forma automática nos dispositivos eletrónicos e manualmente, com recurso a tabelas fornecidas pelo fabricante, no caso dos barómetros aneroides.

Manómetros de tubo de Bourdon

Os manómetros de tubo de Bourdon, utilizados para pressões entre 100 Pa e 1 GPa, baseiam-se na deformação de um tubo de metal, ou outro material, por ação da diferença de pressão entre o interior e o exterior do tubo, existindo para este muitos tipos diferentes de formas e de arranjos tridimensionais. A deformação do tubo aciona diretamente o deslocamento do ponteiro sobre a escala do mostrador – caso do manómetro mecânico de baixa sensibilidade, que se pode observar na Figura 10.5. Existem algumas implementações destes instrumentos com mostrador com duas ou mais voltas, o que permite maior resolução na leitura da pressão. Em alternativa, a deformação do tubo pode ser medida recorrendo a diversos efeitos, dos quais o capacitivo, o indutivo ou o ótico são os mais frequentes.

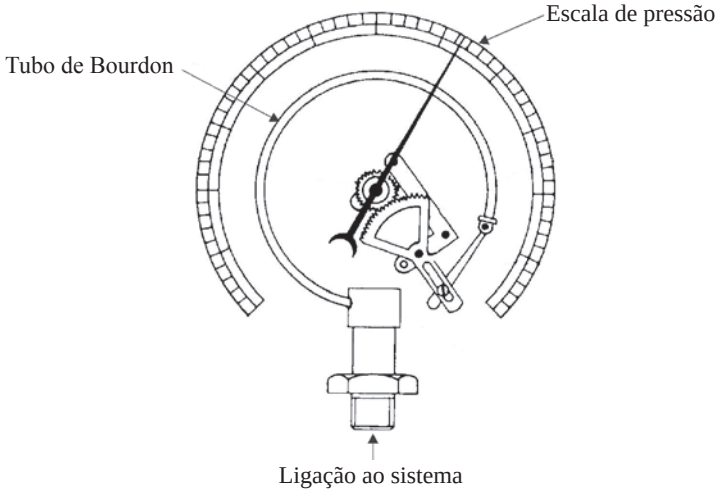

Figura 10.5 Manómetro de tubo de Bourdon (adaptado de [5]).

© LIDEL – EDIÇÕES TÉCNICAS

$$\mathrm{pH} = \mathrm{pH_s} + \frac{(E - E_s)}{b} \qquad (11.13)$$

A calibração baseada num único padrão implica admitir que a igualdade $b = -2.303RT/F$ é válida. É normal observarem-se desvios no comportamento dos elétrodos que conduzem a valores de *b* ligeiramente diferentes dos previstos pela igualdade anterior. Por isso, é recomendado que a calibração seja baseada em, pelo menos, dois padrões.

A determinação de pH abaixo de ~2.5 e acima de ~11 exige cuidados especiais, porque algumas das permissas subjacentes à aplicação da equação 11.12 deixam de ser válidas. Nessas condições, é, por exemplo, difícil garantir que o termo E' é independente da variação de pH. Além disso, a pH elevado o elétrodo de vidro pode ainda ser afetado pelo "erro de alcalinidade". Neste caso, a sua resposta torna-se sensível não só à concentração de H^+, mas também à presença em solução de catiões como Na^+ e K^+. Existem elétrodos, especialmente construídos para trabalharem em condições de pH extremas, que permitem minorar estes problemas.

INDICADORES DE pH

Um método muito simples de determinação aproximada de pH baseia-se no uso de indicadores ácido-base [7,11,12]. Estes correspondem a moléculas orgânicas cuja forma ácida (HInd) e a base conjugada (Ind^-) apresentam cores diferentes [13,14].

O estudo sistemático de indicadores corados para reconhecer ácidos e bases parece ter sido introduzido no século XVII por Robert Boyle [15]. No seu livro *Experimental History of Colours*, publicado em 1664, Boyle descreve a aplicação de vários extratos de produtos naturais à deteção da presença de ácidos e de bases. Indica, por exemplo, que um extrato azul obtido das violetas (flores) adquiria uma cor vermelha em meio ácido e verde em meio básico [15]. Desde os trabalhos de Boyle, diversos outros indicadores naturais e sintéticos foram estudados e aplicados com objetivos analíticos, incluindo a determinação de pH.

As formas ácida e básica de um indicador, em solução aquosa, estão relacionadas pelo equilíbrio:

$$\mathrm{HInd(aq)} \rightleftharpoons \mathrm{H^+(aq) + Ind^-(aq)} \qquad (11.14)$$

Este equilíbrio é dependente do pH e caracterizado pela constante:

$$K_{\mathrm{Ind}} = \frac{a_{\mathrm{H^+}} a_{\mathrm{Ind^-}}}{a_{\mathrm{HInd}}} \qquad (11.15)$$

acetona. Atendendo a que a acetona apresenta perigos físicos – pertence à classe dos líquidos inflamáveis, categoria 2 (H225), deve figurar no rótulo a advertência de perigo "líquido e vapor facilmente inflamáveis". Apresenta igualmente perigos para a saúde: pertence à classe de irritação ocular, categoria 2 (H319), e à classe de toxicidade para órgãos-alvo específicos – exposição única, categoria 3 (H336). Assim, deverão figurar no rótulo, respetivamente, as advertências de perigo "provoca irritação ocular grave" e "pode provocar sonolência ou vertigens". Como informação suplementar sobre risco, deverá ainda ser incluído o texto relativo à frase de risco EUH066 – "pode provocar pele seca ou gretada, por exposição repetida". A palavra-sinal aplicável a estas categorias de perigos de média gravidade é "PERIGO". No que respeita a recomendações de prudência, deverão ser indicadas medidas de prevenção (P210, P233, P261, P280), de resposta a uma emergência (P305+P351+P338) e instruções de armazenamento (P403).

ADVERTÊNCIAS DE PERIGO E RECOMENDAÇÕES DE PRUDÊNCIA NO MANUSEAMENTO DE PRODUTOS QUÍMICOS

As advertências de perigo são identificadas pela letra H (do inglês, *hazard statement*), seguida de três algarismos, e indicam a natureza dos perigos específicos que a substância/mistura envolve (exemplo: H200 – "explosivo instável"; ver lista completa das advertências de perigo no portal de apoio a este *Guia*). O conhecimento destes perigos decorre da realização de testes padronizados que avaliam a natureza e o grau de severidade de perigos físicos, para a saúde e para o ambiente. O regulamento CRE define 28 classes de perigo (16 classes de perigo físico, 10 classes de perigo para a saúde e 2 classes de perigo ambiental). Estas classes podem ser divididas em categorias, que especificam a gravidade do perigo – por exemplo, toxicidade aguda, categoria 1 (a mais gravosa) a 4 (a menos gravosa). A classificação permite a atribuição das respetivas advertências de perigo, nas quais o primeiro algarismo do código identifica o tipo de perigo (2, perigo físico; 3, perigo para a saúde; 4, perigo para o meio ambiente) e os restantes dois algarismos permitem a numeração sequencial (01, 02, …) dos perigos que decorrem das propriedades intrínsecas da substância/mistura; exemplos: propriedades explosivas (códigos 200 a 210), de inflamabilidade (códigos 220 a 230), etc.

As advertências de perigo H substituem as antigas frases de risco (frases R, disponibilizadas no portal de apoio a este *Guia*). Há grande semelhança entre ambas, mas não uma correspondência direta. As novas advertências são mais específicas ou contêm mais informações do que as frases R. Algumas frases R que não apresentam advertências H equivalentes foram mantidas pela regulamentação CRE e denominadas advertências de perigo suplementares usadas na UE. Mantêm a nume-

GUIA DO LABORATÓRIO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA

3.ª Edição

O ensino experimental da Ciência deve ser uma componente importante nos planos curriculares de qualquer escola, universitária ou não. No caso da Química e Bioquímica, as **aulas de laboratório**, ou **aulas práticas**, são essenciais para a formação dos estudantes e deve ser-lhes dedicada a maior atenção.

Este livro inclui algumas regras gerais de "comportamento" num laboratório e aborda um conjunto de tópicos que raramente são tratados nas aulas com um nível adequado: elaboração de relatórios, pesquisa bibliográfica, aquisição automática de dados, análise e tratamento de dados experimentais, apresentação de dados em gráficos e métodos de medida de algumas propriedades.

Nesta 3.ª edição, todos os capítulos e o apêndice foram revistos. Reescreveram-se partes do texto, alteraram-se conteúdos e tentou-se aumentar a clareza da exposição e de alguns exemplos apresentados. Introduziu-se um novo capítulo sobre a medida de pH. O capítulo sobre segurança foi reformulado.

Acredita-se que as informações aqui contidas serão úteis não só para os estudantes e docentes do ensino superior, e docentes do ensino secundário, mas também para todos os que trabalham em laboratórios de Química e Bioquímica.

Algumas das fontes de informação recomendadas ao longo dos vários capítulos são portais da Internet. Para facilitar a sua consulta foi mantido um portal (http://quimica.fc.ul.pt/guia) inteiramente dedicado ao *Guia do Laboratório de Química e Bioquímica*, que contém não apenas os *links* dos portais mencionados, mas também outra informação considerada útil para o leitor e que não consta na versão impressa do livro.

LIDEL

ISBN 978-989-752-208-6

9 789897 522086

www.lidel.pt

complementos na web

http://quimica.fc.ul.pt/guia *disponível até o livro se esgotar ou ser publicada nova edição atualizada ou com alterações*