

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CAMPUS PROFESSOR ALBERTO CARVALHO  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO:**

**Uma Proposta Metodológica para Utilização da Eletroforese  
Capilar no Curso de Licenciatura em Química**

**Discente: JEISIVÂNIA DE SOUZA TELES**

**Itabaiana – SE**

**2012**

# **Uma Proposta Metodológica para Utilização da Eletroforese Capilar no Curso de Licenciatura em Química**

**Discente: JEISIVÂNIA DE SOUZA TELES**

Trabalho realizado como pré-requisito obrigatório para obtenção do Título de Licenciado em Química pela Universidade Federal de Sergipe - Campus Professor Alberto Carvalho.

**Orientadora: Prof. Dra. Ana Paula Gebelein Gervasio**

**Itabaiana – SE**

**2012**

**JEISIVÂNIA DE SOUZA TELES**

**Uma Proposta Metodológica para Utilização da Eletroforese  
Capilar no Curso de Licenciatura em Química**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à banca examinadora como requisito  
obrigatório para a obtenção do Título de Licenciado em Química pela  
Universidade Federal de Sergipe, Campus Professor Alberto Carvalho.**

**Aprovada em: \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_**

**BANCA EXAMINADORA**

\_\_\_\_\_  
**NOTA**\_\_\_\_\_

**Prof. Dra. Ana Paula Gebelein Gervasio  
(Orientadora – UFS/DQCI)**

\_\_\_\_\_  
**NOTA**\_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento  
(Examinador – UFS/DQCI)**

\_\_\_\_\_  
**NOTA**\_\_\_\_\_

**Prof. Dra. Iramaia Corrêa Bellin  
(Examinadora – UFS/DQCI)**

\_\_\_\_\_  
**NOTA**\_\_\_\_\_

**Prof. Dr. Marcelo Leite dos Santos  
(Examinador (Suplente) – UFS/DQCI)**

**Este trabalho é dedicado aos meus Pais e a Eduardo Teles Vital.**

## **AGRADECIMENTOS**

- ❖ Agradeço a Deus pelo dom da existência, por estar sempre ao meu lado, por me dar forças quando mais precisei não me deixando fraquejar diante às dificuldades.
- ❖ Aos meus Super Pais, pessoas as quais transmitem aconchego e muita sabedoria: Rosilvânia espetacular, e super MÃE, minha Fortaleza e companheira, e Adroaldo, meu super Herói, meu porto seguro, que faz de mim uma pessoa de coragem e determinada, pensando sempre no meu futuro profissional, (estamos juntos em todos os momentos, e, sei que estará sempre torcendo por mim, me guiando com sua luz intensa.). Por me ensinarem a essência de ser humana, pelo apoio e força em minhas decisões, pela confiança em minha capacidade, e por terem investido na minha educação todo esse tempo. Amo-os Profundamente.
- ❖ A Eduardo, o qual me ensinou na prática o significado da palavra: ALEGRIA.
- ❖ A minha irmã Gleisi, grande companheira e amiga pelo apoio e incentivo.
- ❖ Aos meus avós, Lindinalva, quem me ensinou as primeiras letras, e Ranulfo, pessoa sábia. Jamais esquecerei seus ensinamentos.
- ❖ Ao meu namorado Odyr, pela paciência, ajuda, compreensão, e força nos momentos que mais precisei, pelos ensinamentos e pelo seu amor depositado.
- ❖ A Dona Tânia, pelas sábias palavras, a Priscilla, Michelle, Michell, pela força.
- ❖ Aos meus tios, em especial: “Baixinha”, “Fia” e “Lena”, pelo carinho. Aos meus primos, em especial: Waleska, pela paciência, carinho e dedicação. Débora pela força e amizade.
- ❖ Aos meus amigos de infância mais queridos quanto aos que se revelaram ao longo desse tempo, em especial, Nanda, Rosângela, Lidiane, Ray, Lay, Narita e Josi, A Aline, pela descontração e cuidar de mim. Marcos, pela paciência em me ensinar. Aos meus companheiros de todas as horas: Diego e Erenilson, pessoas incríveis. Ao Super Mário por acreditar em mim e sempre me motivar e ao Prof. Geraldo pelos ensinamentos e dedicação.
- ❖ A minha amiga, Roberta, pela força, por acreditar em mim, me orientar, e me ajudar a cada dia. Sem você não teria chegado aqui.
- ❖ A Tia Ravani, Francisco e Gladston, pela força e contribuição na desenvoltura deste trabalho.
- ❖ A minha Mega Orientadora e amiga, Ana Paula G. Gervásio, a quem sou imensamente grata por ter dedicado seu tempo me orientado, e por acreditar em mim mesmo quando mostrei-me muito insegura, mostrou que eu sou capaz.
- ❖ Aos professores, Dr. Victor Hugo, Dra. Iramaia Corrêa e Dr. Marcelo Leite pelas contribuições para melhor desenvolvimento do trabalho.

**MUITO OBRIGADA!**

## **RESUMO**

O presente trabalho descreve uma metodologia, bem como a teoria envolvida, em relação à eletroforese capilar, mencionando assim, a importância de conhecer como as mobilidades dos íons podem estar presentes numa solução, cujo conteúdo será ministrado para o Curso de Química Licenciatura da Universidade Federal de Sergipe, Campus de Itabaiana através da disciplina Tópicos Especiais em Química Analítica III.

**Palavras-chave: soluções, mobilidade de íons, eletroforese capilar de zona, metodologia de ensino.**

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Representação esquemática da superfície do capilar de sílica fundida. Fonte: TAVARES, Eletroforese capilar: conceitos básicos, (1996) 21
- Figura 2: Representação esquemática da dissociação dos grupos silanóis na superfície do capilar de sílica fundida. 21
- Figura 3: Representação esquemática da formação do fluxo eletroosmótico no modo normal 22
- Figura 4: Representação esquemática da formação de fluxo eletroosmótico considerado normal e determinação de ânions. 22
- Figura 5: (A-) Representação do fluxo eletroosmótico invertido pela adição de um agente surfactante (B) Esquema da interação do agente surfactante com a parede interna do capilar. Fonte: (COLOMBARA, Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações, 1997). 24
- Figura 6: Equipamentos utilizados para desenvolver o experimento. 32
- Figura 7: Esquema utilizado para a montagem do equipamento: A- fonte de alta tensão; B- eletrodos de platina; C- detector UV; D- capilar de sílica fundida; E- bomba peristáltica; F- sistema de aquisição de dados; G- soluções utilizadas para o pré-condicionamento do capilar. 35
- Figura 8: Esquema utilizado para o modo de injeção hidrodinâmico por gravidade. A e E- reservatórios contendo a solução tampão; D- reservatório contendo amostra; C e B- suportes de madeira utilizados para o apoio dos reservatórios. 36
- Figura 9: Esquema utilizado para o modo de injeção eletrocínética. A- reservatórios contendo amostra; B- reservatório contendo a solução tampão. 36
- Figura 10: Eletroferogramas obtidos para a separação das seguintes espécies: A- rutina; B- Quercetina; C- Rutina e Quercetina. 39
- Figura 11: Eletroferogramas obtidos para a separação das seguintes espécies: A- rutina  $2,62 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  ; B- 1mL do extrato obtido da maçã diluído com metanol para 5mL; C- 1mL do extrato obtido da maçã +  $2,62 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de rutina diluído com metanol para

5mL. 41

Figura 12: Representação esquemática da mobilidade eletroforética da rutina e da quercetina e modo normal do fluxo eletrosmótico. Abaixo têm-se o eletroferograma para a separação da rutina e quercetina 44

Figura 13: Representação esquemática da mobilidade eletroforética da rutina e quercetina em modo invertido de fluxo eletrosmótico. 45

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1: Potencial de redução para o ferro em diferentes números de oxidação.

**19**

## **LISTA DE ABREVIATURA**

CE- Eletroforese Capilar

CTAB- Cetyltrimethylammonium Bromide (BCTA – Brometo de Cetiltrimetilamônio)

CZE- Eletroforese Capilar de Zona

EOF- Fluxo eletrosmótico

(Si – O<sup>-</sup>)- Siloxano

(Si – OH)- Silanol

UV/VIS- Ultravioleta/Visível

## SUMÁRIO

### RESUMO

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	PREPARO DE SOLUÇÕES	15
1.2	A QUÍMICA DA ELETROQUÍMICA E A IMPORTÂNCIA DAS SOLUÇÕES	17
1.3	A ELETROFORESE CAPILAR DE ZONA: UMA TÉCNICA EMPREGADA EM QUÍMICA ANALÍTICA	20
1.3.1	O FLUXO ELETROOSMÓTICO	21
1.3.2	A MOBILIDADE DOS ÍONS	25
2	METODOLOGIA	28
2.1	AULAS OFERTADAS AOS ALUNOS DE LICENCIATURA EM QUÍMICA	28
2.1.1	1ª AULA	29
2.1.2	2ª AULA	29
2.1.3	3ª AULA	29
2.1.4	4ª AULA	29
2.1.5	5ª AULA	29
2.1.6	6ª AULA	29
2.1.7	7ª AULA	30
2.1.8	8ª AULA	30
2.1.9	9ª AULA	30
2.1.10	10ª AULA	30
2.1.11	11ª AULA	30
2.1.12	12ª AULA	31
2.1.13	13ª AULA	31
2.1.14	14ª AULA	31
2.1.15	15ª AULA	31
3	FORMULAÇÃO DO QUESTIONÁRIO	31
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1	1ª E 2ª AULAS	32

4.1.1	MONTAGEM DO SISTEMA ELETROFORÉTICO	32
4.1.2	PREPARO DO CAPILAR DE SÍLICA	32
4.1.3	MODOS DE INJEÇÃO	35
4.2	3ª AULA	37
4.3	4ª AULA: INFLUÊNCIA DA VOLTAGEM E DA CORRENTE ELÉTRICA EM CE. LEI DE OHM.	37
4.4	5ª AULA: ESTUDO DA INFLUÊNCIA DA VOLTAGEM DE SEPARAÇÃO SOBRE O TEMPO DE MIGRAÇÃO	38
4.5	6ª AULA: INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO DE SEPARAÇÃO	38
4.6	7ª AULA INFLUÊNCIA DO pH E DA ADIÇÃO DE CTAB À SOLUÇÃO DE SEPARAÇÃO NO ESTUDO DA RUTINA.	38
4.7	8ª AULA: SEPARAÇÃO DA RUTINA E DA QUERCETINA PELO MÉTODO ELETROFORÉTICO.	39
4.9	9ª AULA: INFLUÊNCIA DO TEMPO DE INJEÇÃO PARA ANÁLISE DE RUTINA.	39
4.10	10ª, 11ª, 12ª, 13ª, 14ª E 15ª AULAS: DETERMINAÇÃO DE RUTINA E QUERCETINA POR CZE.	40
5	RESPOSTAS DADAS ÀS PERGUNTAS DO QUESTIONÁRIO	42
6	CONCLUSÃO	51
7	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	55
8	ANEXOS	53

## 1- INTRODUÇÃO

O termo solução provém da matemática e está associada ao resultado de um problema. Em química, trata-se da obtenção de uma mistura entre duas substâncias, onde seu aspecto visível torna-se totalmente uniforme.

Convivemos com estas soluções contendo líquidos, sólidos ou gases, como por exemplo, o ar atmosférico, a água potável, a água com sal para o cozimento dos alimentos, como também o ouro de 18 quilates, dentre vários outros. Devido à presença das soluções em nosso dia-dia, e pensando quimicamente, torna-se necessário sua discussão em sala de aula como um dos principais alvos dos professores em qualquer nível de escolaridade, tornando fundamental o entendimento do que seja uma solução.

Soluções podem ser identificadas pelos seus estados físicos como sendo sólida, líquida ou gasosa. No caso da solução gasosa, soluto e solvente são gases. Uma solução sólida contém o solvente que é um sólido, o soluto que pode ser um sólido ou um gás. Já uma solução líquida, o soluto será líquido, gás ou sólido e seu correspondente solvente será um líquido.

A solução líquida, sólidos dissolvidos em solventes líquidos, terá um maior enfoque neste trabalho, devido às suas importantes contribuições em trabalhos, e sua vasta aplicação em química analítica quantitativa.

Como uma solução está diretamente relacionada com a dispersão homogênea das moléculas ou íons de uma substância, é importante entender que os solutos possuem partículas dispersas em uma solução de tamanhos que a caracterizam em dispersão homogênea, dispersão coloidal e a dispersão grosseira. A partícula em dispersão homogênea possui um diâmetro de  $10\text{Å}$ , nas dispersões o diâmetro situa-se entre 10 e  $1000\text{Å}$ . Acima de  $1000\text{Å}$  são favorecidas as dispersões grosseiras, e são classificadas como sistema heterogêneo, pois estas possuem ao menos duas fases distintas. Uma dessas fases está finamente dividida (sólido, líquido ou gás), denominada fase dispersa misturada com a fase contínua (sólido, líquido ou gás), denominada meio da dispersão. Os colóides são conhecidos como macromoléculas e estão diariamente presentes no cotidiano nos processos envolvidos para a obtenção da água potável como também os produtos gerados pelos processos industriais. A parte dispersa em uma solução determina os diferentes sistemas coloidais e estas são sensíveis à presença de eletrólitos e polieletrólitos em meio aquoso. (JUNIOR, 1999). As propriedades dos colóides se diferenciam através da interação das partículas coloidais e dependem da distância e da quantidade dessas partículas dispersas. A força de

interação que existe ocorre devido à natureza eletromagnética da matéria. Nas dispersões coloidais aquosas pode haver vários tipos de interação, sejam elas repulsivas de dupla carga, como interação de moléculas do solvente, dentre outras. Ao contato com um solvente polar adquirem cargas elétricas na superfície do sistema por diferentes mecanismos, tais como a dissociação de grupos da superfície como a dissolução dos íons da superfície podendo gerar uma diferença de potencial desde a superfície da partícula até o interior da solução. As propriedades elétricas desses colóides são governadas pelas interações repulsivas coulombianas. Existem alguns tipos de sistemas de colóides, como: sol, gel, espuma, detergente, emulsão e microemulsão. (JUNIOR, 1999).

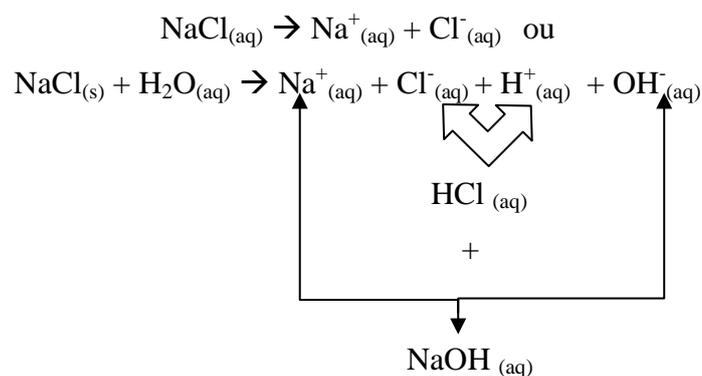
Em uma solução homogênea, o soluto e o solvente estão totalmente uniformes, ou seja, possui uma única fase. Compare isso ao olhar através de um copo cheio de água, ou seja, o que se vê é uma solução uniforme. Para que isso ocorra, deve haver a dissolução do soluto em um determinado solvente. É importante ressaltar que existe um limite para que uma quantidade do soluto seja dissolvida em uma quantidade de solvente. Assim, pode-se dizer que a uniformidade de uma solução preparada a partir de um soluto dissolvido em um copo com água mantém uma relação muito importante em química. Essa relação classifica as soluções em insaturada, saturada e supersaturada. Pense que um pacote de açúcar não cabe em um copo d'água. Mas se adicionado aos poucos, poderá observar-se o ponto exato que a quantidade de açúcar deixa de ser solúvel e passa para o fundo do copo. A quantidade de açúcar que se solubiliza num copo d'água será diferente da quantidade de sal de cozinha que se solubiliza num copo d'água. Ou seja, dissolver coisas em um solvente depende tanto do solvente quanto do soluto. Para explicar isso, os químicos usam o termo solubilidade dos compostos que dá informação da quantidade de um soluto que pode dispersar-se numa certa quantidade e tipo de solvente a uma dada temperatura. Um exemplo bastante típico no processo de solubilidade que está presente em nosso dia-dia é a dissolução do chocolate. Se compararmos a dissolução do chocolate em leite quente e frio, o processo de dissolução acontece mais rapidamente em leite quente, o que mostra que a temperatura tem significativa influência sobre a solubilidade dos compostos. Outros exemplos podem ser discutidos, tais como a dissolução de sal de cozinha e de açúcar em água. A quantidade de sal solúvel em água é de  $359\text{g.L}^{-1}$  de água, em metanol a solubilidade do mesmo sal é de  $14,9\text{g.L}^{-1}$ , ambos a  $25^\circ\text{C}$ . A partir desses dados tabelados, a solubilidade do sal em água é maior que a do sal em metanol. Essa diferença ocorre devido à liberação de seus íons sólidos em água poderem ter mais interação com íons provenientes da dissociação da água. Em metanol, a ligação entre os seus átomos é covalente, o que por sua vez promove uma menor interação entre os íons. O

coeficiente de solubilidade pode dar informações sobre a quantidade de um soluto que pode ser dissolvido em uma determinada quantidade fixa de solvente a uma dada temperatura, levando a classificação das soluções que podem ser preparadas. Em uma solução insaturada, a quantidade do soluto é menor que sua solubilidade. A solução saturada, a quantidade de soluto é igual à solubilidade. Já na solução supersaturada, a quantidade de soluto é superior a sua solubilidade e esta é considerada como uma solução metaestável devido à quantidade de soluto dissolvido variar de acordo com a temperatura.

### 1.1 Preparo de soluções

Conceitualmente, o tema soluções está relacionado com a existência de partículas denominadas íons ou moléculas, as quais estão associadas ao soluto e/ou ao solvente. Essas partículas se interagem através das forças eletrostáticas (interatômicas e intermoleculares) e são dotadas pela existência de cargas elétricas, dando origem a passagem de corrente elétrica através da solução.

A química dos íons foi estabelecida a partir da teoria da dissolução eletrolítica proposta por Arrhenius. O autor mostrou que a dissolução de substâncias em água gera íons, e pode ser mostrado pela reação de soluções aquosas de cloreto de sódio, formando íons sódio e íons cloro:



No processo de dissolução, o NaCl ao entrar em contato com a água, irá solvatar/hidratar os íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , através da atração de cargas opostas dos íons do soluto e do solvente. Afirmado a teoria de Arrhenius, Jaffe, em meados da década de 90, mostrou que os íons que possuem cargas elétricas, as quais permitem a passagem de corrente elétrica através da solução quando são submetidos a presença de eletrodos, esses íons tocam os eletrodos abandonando suas cargas e voltam aos seus estados fundamentais (CARMO, 2008).

Considerando este aspecto, não se torna fácil explicar o fenômeno que ocorre no processo de dissolução, pois explicar o comportamento dos íons em solução implica em compreender que os mesmos possuem cargas.

Segundo Carmo (2008), a ciência da solução química possui um elevado nível de abstração por parte dos alunos e é um dos mais importantes focos de estudo no currículo de química, mas requer um bom entendimento em termos microscópicos, pois temas mais complexos como eletroquímica, transformação química, equilíbrio químico, ligações químicas, entre outros, podem ser melhor compreendidos. Por estes motivos, este deverá ser cuidadosamente abordado.

Sabendo-se da importância das soluções em química, torna-se necessário o entendimento sobre seu preparo. Para isso, necessita-se estudar as propriedades químicas dos reagentes, o cálculo matemático envolvido, além de não se esquecer das regras de segurança que estão envolvidos nos procedimentos para tal tarefa. As principais etapas envolvidas também envolvem medição e diluição, homogeneização e a armazenagem. Ao preparar uma amostra para análise, também requer uma atenção para seu preparo, onde este deverá ser convertido em um analito de forma adequada para análise.

Já que preparar solução implica em dissolver solutos em solventes, torna-se necessário compreender que a condição para que isso ocorra envolve conhecimento sobre polaridade do solvente e do soluto para que a solução seja um sistema homogêneo. Uma vez conhecidas as condições de solubilidade, é necessário definir volume e concentração do soluto em solução. Os laboratórios são equipados com vidrarias para coleta de solução com adequada precisão e balanças analíticas para pesagens de reagentes.

A relação entre a quantidade de soluto e a quantidade do solvente está relacionada com a concentração da solução. A concentração de uma solução pode ser expressa em: massa/volume, quantidade de matéria/volume, entre outras.

As unidades de concentração devem ser sempre especificadas para que não haja confusão. As mais utilizadas são:

- $(\text{g.L}^{-1})$ , gramas (massa) por litro de solvente (volume).

$$C = m / V (\text{L})$$

- $(\text{mol.L}^{-1})$ , quantidade de matéria do soluto ( $n_{\text{soluto}}$ , mol) por litro de solvente (volume).

Sendo que para determinar a quantidade de matéria do soluto deverá expressar o número de mols do soluto em uma relação com a massa do soluto e a sua massa molar que é expressa em  $\text{g.mol}^{-1}$ . Logo,

$$C \text{ (mol.L}^{-1}\text{)} = n_{\text{soluto}} / V_{\text{solução}} \text{ (L)}$$

- **(mol.Kg<sup>-1</sup>)**, quantidade da matéria do soluto (mol) e da massa do solvente (kg). A Molalidade é utilizada geralmente em soluções que independem da temperatura.

$$\text{Molalidade} = n_{\text{soluto}} / m_{\text{solvente}}$$

- Fração em mol é a razão da quantidade da matéria do componente (mol), pela quantidade total de matéria envolvida na solução (mol). Não apresenta unidade de medida. A fração molar de todos os componentes de uma solução não ultrapassa 1.

$$X_A = n_A / (n_A + n_B + n_C + \dots)$$

- **(Eqg.L<sup>-1</sup>)**. Normalidade é a relação entre o número de equivalente-grama do soluto (Eqg) e o volume por litro da solução (volume).
- **(%)** Composição percentual (título). Esta unidade de concentração relaciona a massa (m) ou o volume (V) do soluto com a massa ou o volume do solvente ou da solução, conduzindo a notações tais como: % (m/m); % (m/V) ou % (V/V).
- **(ppm) e (ppb)**. Partes por milhão e partes por bilhão. Estas mostram a quantidade em gramas de uma substância por milhão ou bilhão de gramas em solução ou mistura.

## 1.2. A Química da eletroquímica e a importância das soluções

Numa solução, os átomos tentam adquirir estabilidade transferindo assim elétrons entre determinadas espécies, e estão combinados em sua grande maioria por ligações covalentes e iônicas. Em uma ligação iônica existem elementos os quais um cede e o outro recebe elétrons, e a existência dessa troca de elétrons faz com que haja formação de íons e suas respectivas cargas.

As cargas dos íons são determinadas como número de oxidação ou nox, os quais são derivados dos elementos quando estão combinados, transmitindo informações do número de elétrons numa dada reação. Estes elétrons que são transferidos estão presentes nos elementos como sendo a carga negativa, e migram em direção ao eletrodo positivo.

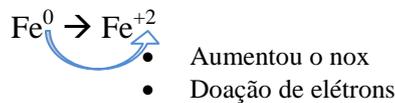
A variação de nox durante uma reação determina uma reação de óxido-redução devido à transferência de elétrons, sendo o agente oxidante receptor de elétrons de outro composto,

tornando-se reduzido, e, o agente redutor, doa elétrons para outro composto, sendo este oxidado no processo.

Estes processos da reação redox são de suma importância devido às suas intensas aplicações em diversos processos químicos surpreendentemente presentes em nossas vidas, dentre estes, têm-se a geração de eletricidade.

Um exemplo bastante rotineiro de uma reação de oxido-redução é o fenômeno de corrosão do ferro. Os seus estados de oxidação são o  $\text{Fe}^0$ ,  $\text{Fe}^{+2}$  e  $\text{Fe}^{+3}$  (WARTHA, 2007).

Em uma reação de oxidação: A oxidação do ferro a íon ferroso



Em uma reação de redução: a redução do íon ferroso a ferro



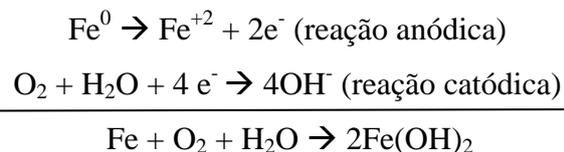
No processo de corrosão, ao entrar em contato com o ar, o ferro irá oxidar-se:



E o oxigênio presente em ar atmosférico será dissolvido em água e irá reduzir-se, como pode ser mostrado a seguir:



As duas reações geram:



Como o  $\text{Fe}^{+3}$  é mais estável que o  $\text{Fe}^{+2}$ , o  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  será oxidado a  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  em presença do oxigênio.

Os elementos possuem disponibilidades de doar e receber elétrons, o que é considerado como potencial de redução, de acordo com a Tabela 1:

**Tabela 1:** potencial de redução para o ferro em diferentes números de oxidação.

<b>Reação de redução para o Ferro</b>	<b>Potencial de Redução (E°)</b>
$\text{Fe}^{+3} + \text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^{+2}$	+ 0,77
$\text{Fe}^{+2} + 2\text{e}^- \rightarrow \text{Fe}^0$	- 0,44

Na Química, a produção da corrente elétrica decorrente da transferência de elétrons no processo de uma reação química é classificada como eletroquímica, e está englobada à parte da química que estuda a espontaneidade dessa reação.

Em um processo espontâneo, a energia química que está armazenada em algumas substâncias, as quais podem ser transformadas em energia elétrica, é conhecida como pilha. Em um processo não espontâneo, a utilização de corrente elétrica, através de uma fonte externa na produção da reação, faz com que os elétrons sejam transferidos de um elemento a outro e que pode ser transformada em reação química é conhecido como eletrólise.

O íon produzido pelo processo de eletrólise de um composto pelo uso de um campo elétrico faz com que haja passagem da corrente, ocasionando um processo de oxirredução entre o condutor e o condutor iônico numa solução, e, logo, obtêm-se os elementos químicos e/ou formação de novos compostos.

Durante a reação redox, os elétrons presentes fluem através do circuito elétrico. Alguns aspectos dessa reação podem ser medidos através de corrente elétrica e pela diferença de potencial elétrico. A corrente elétrica utilizada é denominada da quantidade de carga que flui a cada segundo através de um circuito. A unidade da corrente elétrica é o ampére (A). A diferença de potencial é aplicada através de uma fonte de alimentação elétrica, a qual relaciona dois pontos em suas extremidades, sendo um eletrodo positivo e o outro negativo, e a diferença de potencial aplicada pode ser utilizada para superar a energia de ativação de uma reação num eletrodo, onde entre eles há um trabalho necessário que pode ou não ser realizado para que uma carga elétrica possa se mover de um ponto ao outro, esta diferença pode ser medida em volts (V). O trabalho possui dimensões de energia, e sua unidade é o joule (J). Um Joule de energia é liberado ou absorvido quando um Coulomb de carga se move entre os dois pontos quando a diferença de potencial é aplicado e difere entre si em um volt, sendo 1 volt equivalente a 1J por coulomb. A relação direta entre o circuito elétrico e a diferença de potencial aplicada no circuito, é estabelecida como a Lei de Ohm, e este é inversamente proporcional a resistência do circuito (HARRIS, 2005).

A aplicação da diferença de potencial é utilizada em algumas técnicas para a identificação de espécies químicas, como por exemplo, a eletroforese capilar que é um método analítico que emprega a diferença de potencial e a corrente elétrica gerada para promover o deslocamento de partículas ou moléculas ionizadas sob o efeito do campo elétrico e a partir desse fenômeno, pode ser feitas medidas quantitativas através de suas diferentes mobilidades eletroforéticas em um meio condutor geralmente aquoso.

### **1.3. A eletroforese capilar de zona: uma técnica empregada em química analítica**

Todos os métodos de separação têm grande importância em química. Em química analítica, suas contribuições vão desde identificação até quantificação de diversas espécies químicas e seus respectivos compostos. Entre as técnicas de separação vamos destacar a Eletroforese. A modalidade que emprega solução aquosa, como uma solução eletrolítica, promove a separação das espécies carregadas sob o efeito de campo elétrico.

Na década de 30, a eletroforese foi competentemente explicitada por Arne Tiselius, onde ganhou o Prêmio Nobel em 1948. Este utilizou o método de fronteira móvel para separar proteínas do soro sanguíneo (TAVARES, *apud* TISELIUS, 1996).

Hoje, as principais modalidades da eletroforese envolvem o uso de tubos capilares, como foi introduzido por Hjerten em 1967, onde aplicou campos elétricos elevados utilizando capilares de 300µm de diâmetro interno (SAITO *apud* HJERTÉN, 2011). Virtanen em 1974 utilizou tubos de teflon (50 a 200µm) para diminuir o efeito Joule (SAITO *apud* VIRTANEN, 2011). Mikkers e colaboradores mostraram a separação de 16 ânions em 10 minutos utilizando um tubo de teflon com 200µm diâmetro interno (SAITO *apud* MIKKERS, 2011). Na década de 80, a alta eficiência da técnica para separação era evidente ao utilizar campos elétricos elevados em capilares de 100µm de diâmetro interno. (TAVARES, *apud* TERABE, 1996). Atualmente, os tubos capilares mais utilizados são de sílica fundida, os quais são revestidos internamente por grupos silanois (Si – OH).

Dentre as modalidades da eletroforese tem-se a eletroforese capilar de zona (CZE), que é a mais utilizada, pois mostra um grande desempenho para a separação de solutos iônicos, sejam eles, ânions ou cátions inorgânicos, como também em moléculas de alto peso molecular, podendo ser analisados mesmo possuindo cargas semelhantes, mas com raios iônicos diferentes (GERVASIO, *apud* KUHN, 2003). A separação das espécies é devido à mobilidade eletroforética de cada espécie, ou seja, cada uma migrará em tempo diferente devido à sua velocidade também ser distinta.

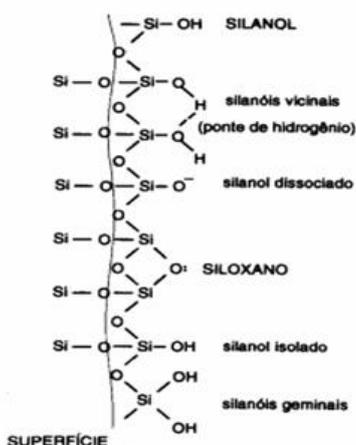
Com a evolução trazida por grandes contribuições para o aperfeiçoamento da técnica, hoje, a eletroforese está em destaque entre as técnicas analíticas mais citadas, podendo ser mencionada em várias linhas de pesquisa, atribuições em indústrias, entre outras.

A análise por eletroforese capilar de zona tem um consumo de soluções que vão desde nL para soluções de amostras até  $\mu\text{L}$  para soluções de reagentes, fazendo com que esse aspecto possa contribuir para química verde.

### 1.3.1 O fluxo eletrosmótico

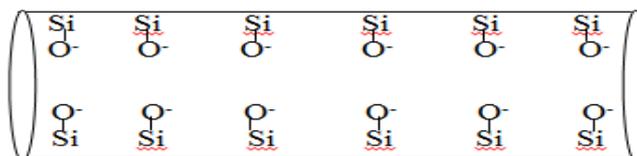
O fluxo eletrosmótico (EOF) é o responsável pela eficiência da técnica.

Em um capilar de sílica fundida, os grupos silanóis estão presentes na superfície interna do capilar. O grupo silanol possui caráter ácido e ao entrar em contato com solução de pH acima de 2,0 sofre dissociação. A camada de carga negativa, o  $(\text{Si-O}^-)$ , forma-se de acordo com as Figuras 1 e 2.



**Figura 1:** Representação esquemática da superfície do capilar de sílica fundida.

Fonte: (TAVARES, M. F. M. Eletroforese capilar: conceitos básicos, Química Nova, Vol. 19, n. 2, 1996).

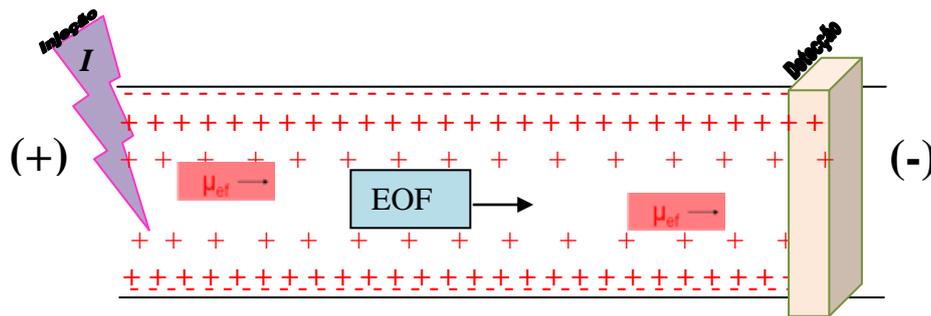


**Figura 2:** Representação esquemática da dissociação dos grupos silanóis na superfície do capilar de sílica fundida.

Os íons de carga positiva da solução tampão sofrem atração pela carga negativa e tornam a superfície neutra.

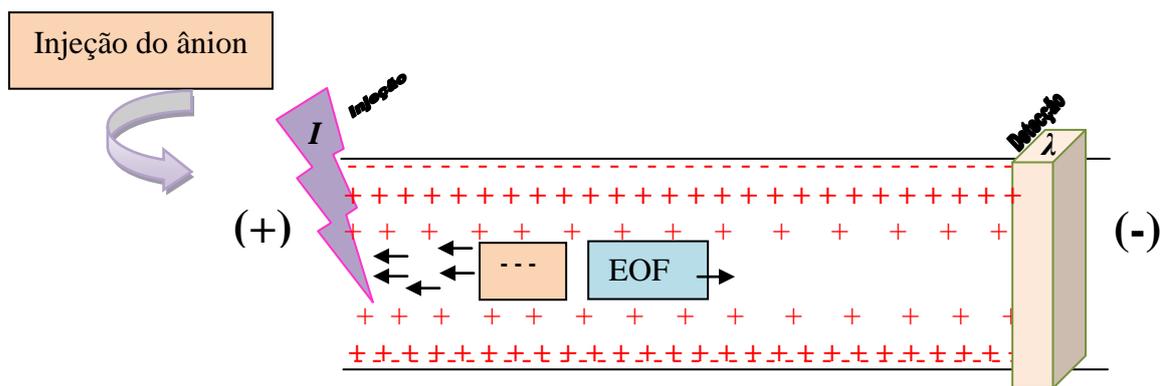
A movimentação dos íons do tampão bem como da camada que neutralizou as cargas negativas da parede ocorre quando uma fonte de alta tensão é acionada. Os íons se movimentarão em direção ao seu polo oposto, sendo que os de carga positiva migrarão em direção ao polo negativo, gerando assim um fluxo denominado de fluxo eletroosmótico.

Quando o fluxo é gerado do polo positivo (anodo) em direção ao polo negativo (catodo), o fluxo é considerado normal. Em função do fluxo eletroosmótico, as espécies podem ser analisadas em um tempo relativamente curto.



**Figura 3:** Representação esquemática da formação do fluxo eletroosmótico no modo normal.

O fluxo eletroosmótico será invertido quando a determinação de ânions é prioritária, se a análise fosse feita nesse fluxo considerado normal, a carga negativa seria fortemente atraída pelo eletrodo positivo, e não haveria migração de ânions pelo capilar para o polo de detecção.



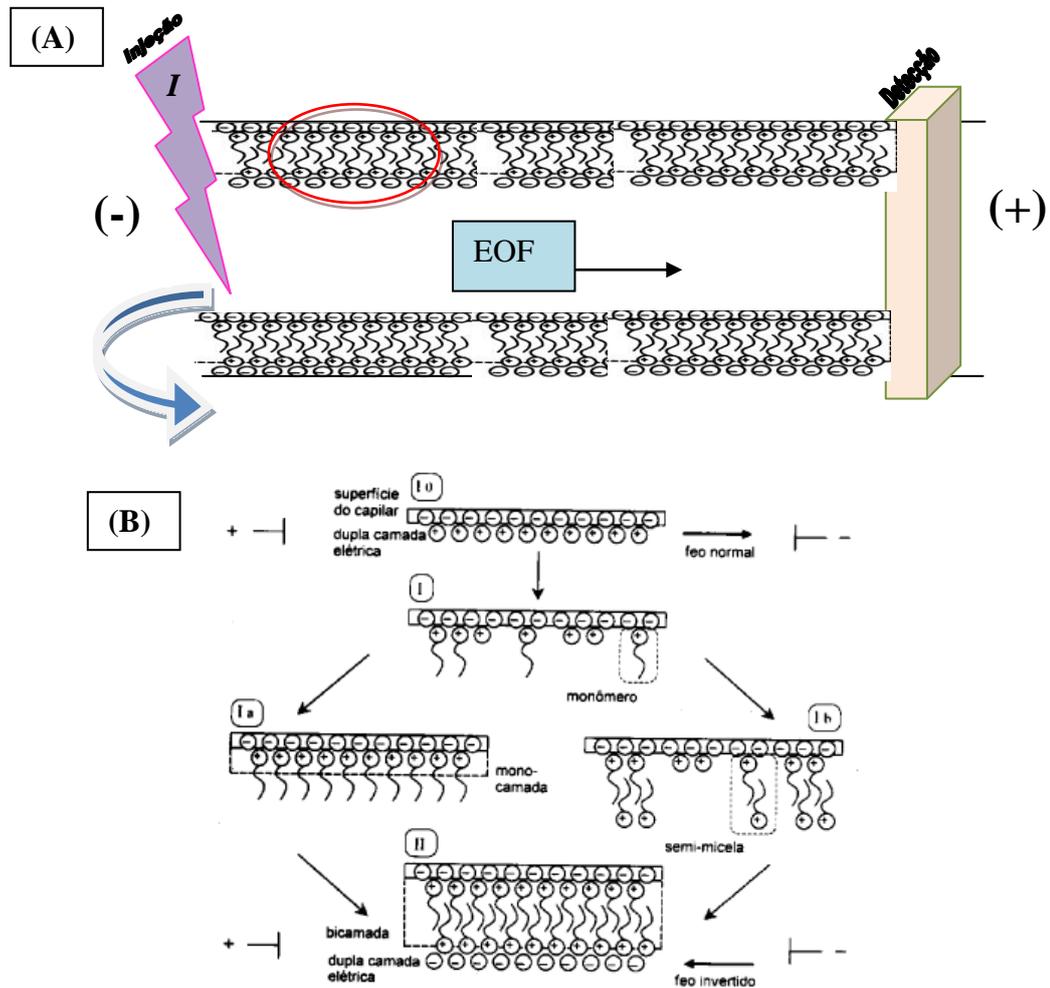
**Figura 4:** Representação esquemática da formação de fluxo eletroosmótico considerado normal e determinação de ânions.

A migração do ânion ocorrerá em direção ao pólo negativo se sua mobilidade eletroforética for menor que a do fluxo eletroosmótico.

O fluxo eletroosmótico pode ser invertido modificando a carga da superfície do capilar, fazendo com que os íons possam migrar em um tempo menor, e essa modificação pode ser feita através da adição de agente surfactante catiônico à solução tampão. Esses agentes surfactantes fazem com que haja formação de uma camada de semi-micelas na superfície interior do capilar, onde sua molécula possui uma carga positiva em uma das extremidades e a cadeia carbônica forma a cauda. Como a sílica ao se dissociar forma uma carga negativa, então a extremidade positiva da molécula se liga a sua superfície, e fica com sua calda em direção oposta, a qual outra camada do surfactante se direciona opostamente, fazendo com que haja uma bicamada de surfactante catiônico, formando uma camada hidrocarbônica apolar, logo outra extremidade positiva é gerada. Ao entrar em contato com os ânions da solução tampão, o fluxo eletroosmótico ocorrerá do polo negativo para o polo positivo em presença do campo elétrico, como pode ser mostrado na Figura 5.

A presença do EOF acarreta em grandes contribuições, como por exemplo, a determinação de ânions e cátions em uma mesma análise, pois sem esse fluxo, seria necessária uma polaridade negativa para atrair as espécies carregadas positivamente, e outro polo positivo para a análise de espécies carregadas negativamente, e as espécies neutras não iriam mover-se no capilar.

Um dos parâmetros muito importantes em CE é o pH da solução tampão. Este parâmetro influencia a boa seletividade da separação dos analitos, o fluxo eletroosmótico e a mobilidade eletroforética dos analitos. Outros fatores muito importantes são: concentração do tampão e a força iônica. É de suma relevância a escolha do eletrólito a ser utilizado, uma vez que não só a velocidade eletroosmótica será afetada, mas também a resolução dos componentes.



**Figura 5:** (A-) Representação do fluxo eletroosmótico invertido pela adição de um agente surfactante (B) Esquema da interação do agente surfactante com a parede interna do capilar.

Fonte: (COLOMBARA, R.; TAVARES, M. F. M. e MASSARO, S. Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações, Química Nova, Vol. 20, n. 5, 1997).

Como mencionado por Sánchez (2002), é necessário explicar aos alunos um dos fatores desfavoráveis para as análises eletroforéticas, o efeito Joule. Esse efeito ocorre quando o sistema é incapaz de dissipar calor gerado no interior do capilar, e é causado pela passagem de corrente quando há um meio condutor, daí torna-se usual o gráfico da lei de Ohm, que permite relacionar linearmente a voltagem em relação à corrente elétrica. Alta voltagem pode acarretar em um superaquecimento internamente da solução e causa efeitos em tempos de migração, e a falta de repetibilidade dos resultados. Assim, de posse do gráfico contendo as curvas obtidas a partir de  $I$  versus  $V$  para cada solução, pode observar-se a partir de qual valor a linearidade deixa de existir. Este ponto da curva indica o máximo de potencial que pode ser aplicado para cada solução utilizada.

### 1.3.2 A mobilidade dos íons

Quando presentes em uma solução, os íons movimentam-se aleatoriamente, e a velocidade que cada íon possui é independente de cada espécie. Esses íons tendem a migrar em direção à carga oposta, gerando uma corrente elétrica. Essa solução eletrolítica ao entrar em contato com um campo elétrico faz com que seus íons se movimentem em direção à carga oposta ao campo elétrico, e os movimentos desses íons são cada vez mais acelerados ao entrarem em contato com um maior potencial. Quando esse potencial é aplicado, os íons passam a possuir velocidades distintas, ou seja, se houver aumento da voltagem, maior será a corrente elétrica, logo, mais rápido será a mobilidade de um íon.

Os movimentos das partículas de um solvente também interferem na mobilidade dos íons, pois ao entrar em contato com um potencial elétrico, ocasionará um retardamento da velocidade desses íons, devido à força de atrito, proveniente da viscosidade do meio. As duas forças que entram em equilíbrio ao atuarem em direções opostas adquirem uma velocidade terminal, sendo proporcionalmente relacionada à força de um campo elétrico quando aplicado, denominando assim, a velocidade de migração. Esta velocidade é dominante da mobilidade com que estes íons atuam em uma solução bem como sua carga e a quantidade de íons presentes, gerando assim a condutância dos íons, ou seja, quanto maior a carga do íon, maior será sua mobilidade.

A mobilidade de um íon resulta da velocidade limite individual de cada íon e o valor do campo elétrico. As mobilidades podem ser medidas através da eletroforese capilar de zona.

A mobilidade iônica ( $\mu_i$ ) de cada espécie pode ser obtida através do comprimento total ( $L_{tot}$ ) e efetivo ( $L_{det}$ ) do capilar, da mobilidade do fluxo eletrosmótico ( $\mu_{osm}$ ) e a partir da diferença do potencial ( $Vt_i$ ) aplicado à espécie, ou pela condutância equivalente da espécie iônica ( $\lambda_{equiv}$ ) dividida pela constante de Faraday (F), o que pode ser mostrado na equação 1 e 2 (JAGER, 2001):

$$\mu_i = \frac{L_{det}L_{tot}}{Vt_i} - \mu_{osm} \quad (1)$$

$$\mu_i = \frac{\lambda_{equiv}}{F} \quad (2)$$

A mobilidade esta relacionada com a velocidade de cada íon, assim

$$v_i = \mu_i \frac{V}{L_{tot}} \quad (3)$$

$$v_{ap} = (\mu_i + \mu_{osm}) \frac{V}{L_{tot}} \quad (4)$$

Velocidade iônica ( $v_i$ ) está relacionada com a mobilidade de cada íon ( $\mu_i$ ), diferença do potencial ( $V$ ) e o comprimento total do capilar ( $L_{tot}$ ), equação 3, ou pela soma da mobilidade de cada íon ( $\mu_i$ ) e mobilidade do fluxo eletroosmótico ( $\mu_{osm}$ ) diferença do potencial ( $V$ ) e o comprimento total do capilar ( $L_{tot}$ ), equação 4.

Na eletroforese capilar de zona, os analitos frente a uma solução eletrolítica, possuem velocidades distintas para cada espécie na presença de um determinado campo elétrico, sendo consideradas mobilidades eletroforéticas que são distintas devido à sua razão carga/massa em determinado pH.

Na eletroforese capilar de zona, a solução de eletrólito é adicionada em dois reservatórios os quais estão em contato com eletrodos inertes, e fecha o circuito através de um capilar de sílica contendo a mesma solução. A amostra é introduzida em uma das extremidades da coluna, onde os íons irão migrar em diferentes velocidades e em sentidos opostos às suas cargas. Estas velocidades, como já mencionadas, dependem exclusivamente do tamanho e da carga de cada íon. A mobilidade se refere principalmente à carga do íon, pois se em uma solução houver moléculas de mesmo tamanho, a mobilidade será distinguida pela relação das cargas, pois quanto maior a carga, maior será a mobilidade. As espécies neutras irão migrar conjuntamente, pois estas não irão sofrer influência do campo elétrico. A migração eletroforética ocorre pela presença do fluxo eletroosmótico, e quando um campo elétrico é aplicado a este, será denominada mobilidade eletroosmótica.

As mobilidades eletroforéticas dos íons podem ser calculadas pelas seguintes equações:

$$\mu_{eof} = \frac{V_{eof}}{E}$$

$$\mu_{ef} = \mu_{ep} - \mu_{eof} \quad (6)$$

Onde, na equação 5, a velocidade do fluxo eletroosmótico ( $V_{eof}$ ) é dividido pela ação sofrida pela aplicação da diferença de potencial ( $E$ ), e também pela equação 6, pela diferença entre a mobilidade aparente do soluto  $\mu_{ef}$  e a mobilidade do fluxo eletroosmótico ( $\mu_{eof}$ ).

A migração eletroosmótica é caracterizada a partir do fluxo eletroosmótico presente no interior do capilar, e na presença deste, o íon irá migrar mais rapidamente.

As mobilidades envolvidas: eletroosmótica e eletroforética podem estar direcionadas em um mesmo sentido quando aplicado um campo elétrico, logo, podem ser considerados como mobilidade aparente. O tempo de migração de analitos com diferentes mobilidades aparentes passam pelo detector com diferentes velocidades, ou seja, quanto maior a mobilidade aparente, maior será a velocidade, logo, o tempo de migração será menor.

As espécies presentes numa solução eletrolítica possuem diversas formas, sejam elas como ácido ou base conjugados de seus ácidos e bases, como espécies em equilíbrio, e as não ionizadas. Essas diferentes formas acarretam na migração de um único soluto, na presença de um campo elétrico, podendo ser determinada como mobilidade efetiva. É o mais utilizado para descrever eletrólitos fracos, sendo assim dependente do pH.

A Eletroforese Capilar pode ser ressaltada como uma técnica analítica utilizada para explicar o comportamento dos íons em solução, tornando-se acessível ao público devido ao seu fácil manuseio, a sua simplicidade na instrumentação, e por apresentar essa eficiência para explicar o comportamento dos íons e das moléculas neutras em uma solução, bem como suas distintas velocidades de migração, tornando-a de fácil compreensão por parte dos alunos, fazendo dela uma surpreendente ferramenta analítica. Devido às essas surpreendentes vantagens, Sánchez (2002), discutiu a importância da técnica em nível de graduação, juntamente as técnicas cromatográficas mais tradicionais que estão presentes no currículo de química analítica instrumental.

Os alunos, em sua grande maioria, concluem o ensino médio com pouca base sobre o comportamento dos íons em solução. Em nível de graduação, os alunos deparam-se novamente com conteúdos relacionados. A eletroforese parece ser uma alternativa para que os alunos entendam como ocorre a mobilidade dos íons.

Visando melhorar o nível de conhecimento dos alunos de graduação em química sobre mobilidade de íons, neste trabalho, é proposta uma metodologia de ensino enfocando a eletroforese capilar de zona. A disciplina Tópicos Especiais em Química Analítica III fora introduzida no currículo do Curso de Licenciatura em Química. A metodologia utilizada fora desenvolvida tanto pela professora da disciplina quanto pelos alunos de iniciação científica envolvidos com as pesquisas em eletroforese capilar de zona.

O conceito de mobilidade de íons em uma solução fora abordado em aulas práticas e teóricas. Os experimentos mostraram a influência dos parâmetros envolvidos e aulas teóricas mostraram a fundamentação teórica, as tendências tecnológicas e metodológicas da técnica.

## **2- METODOLOGIA**

O presente trabalho fora desenvolvido e aplicado aos alunos da disciplina de Tópicos Especiais em Química Analítica III, na Universidade Federal de Sergipe, Campus Professor Alberto Carvalho, em Itabaiana SE entre 2011 e 2012, onde fora proposta e aprovada em reunião do conselho. Os alunos receberam aulas teóricas e práticas sobre eletroforese capilar de zona.

### **2.1. Aulas ofertadas aos alunos do curso de Licenciatura em Química**

As aulas foram ofertadas de acordo com o plano de ensino em anexo (anexo 1).

De acordo com o plano, foram ministradas 15 aulas teóricas e 15 aulas experimentais, estas eram alternadas entre uma aula teórica e outra prática. A partir das aulas pretendeu-se mostrar aos alunos o funcionamento da eletroforese capilar de zona. As aulas teóricas priorizaram a introdução do conceito sobre eletroforese, os desenvolvimentos relacionados à técnica e as principais aplicações em química analítica, além de possibilitar que os alunos preparem soluções analíticas envolvidas nos estudos. Durante as aulas, os alunos também desenvolveram seminários a partir de trabalhos publicados em revistas internacionais sobre as aplicações da eletroforese capilar de zona. Abaixo estão discriminadas as aulas (teóricas/práticas) ofertadas durante o curso. Cada uma deve ser multiplicada por 2, uma teórica de 2 horas e uma prática de 2 horas.

#### **2.1.1. 1ª Aula**

- Considerações gerais: Métodos analíticos.
- Discutir sobre a importância dos métodos analíticos para a determinação e quantificação das espécies.
- Montar um sistema eletroforético.

#### **2.1.2. 2ª Aula**

- Discutir sobre métodos instrumentais de análise.
- Discutir sobre os conceitos gerais de eletroforese. Introduzir eletroforese capilar de zona.
- Discutir sobre a importância da especificação.

- Verificar a Influência do pH e natureza das soluções tampão em CE.
- Modos de Injeção: testar a injeção eletrocinética e hidrodinâmica.

### 2.1.3. 3ª Aula

- Discutir sobre a Influência do pH e natureza das soluções tampão em CE.
- Discutir Modo de injeção hidrodinâmico e eletrocinética.

### 2.1.4. 4ª Aula

Discutir sobre:

- Modos de injeção: eletrocinética e hidrodinâmica.
- Importância do diâmetro do capilar.
- Preparo das soluções tampão.
- Obtenção da curva de corrente elétrica *versus* voltagem (VxI). A Lei de Ohm.

### 2.1.5. 5ª Aula

- Estudar a influência da voltagem sobre o tempo de migração das espécies.
- Discutir o uso de detectores em CE.

### 2.1.6. 6ª Aula

- Estudar a influência da concentração e da adição de inversores de fluxo em solução tampão sobre a separação de flavonóides.
- Discutir sobre a espectrofotometria UV/VIS.
- Discutir sobre determinação de metal e sua complexação.
- Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar. Características e aplicações.

### 2.1.7. 7ª Aula

- Estudar a influência do pH e do inversor de fluxo eletrosmótico da solução de separação sobre a determinação de flavonóides.

### 2.1.8. 8ª Aula

- Avaliação e discussão da influência do fluxo eletrosmótico na separação da rutina.

- Discutir a influência da concentração e do pH da solução de separação sobre a determinação de flavonóides.
- Avaliar a mobilidade iônica dos flavonoides estudados: rutina e quercetina.

#### **2.1..9 9ª Aula**

- Determinar o melhor tempo de injeção para a separação da rutina.
- Etapas de quantificação.
- Discussão da primeira etapa do relatório.

#### **2.1.10. 10ª Aula**

- Analisar ânions e cátions por eletroforese capilar. Discussão.
- Preparar soluções para obter curva analítica de calibração de flavonoides (rutina).

#### **2.1.11. 11ª Aula**

- Preparar solução de referência.
- Preparar solução para obtenção da curva analítica de flavonóides.
- Determinar o teor da rutina na amostra de maçã.
- Tratamento estatístico: Limite de detecção, Limite de quantificação, coeficiente de correlação e erros.
- Acoplamento: Análise em fluxo-CE.

#### **2.1.12. 12ª Aula**

- Acoplamento: Espectrometria de emissão atômica-CE.
- Tratamento de dados

#### **2.1.13. 13ª Aula**

- Discutir sobre a importância da análise de especiação.
- Discussão de trabalhos I.
- Tratamento de dados

#### **2.1.14. 14ª Aula**

- Especiação de metais.
- Discussão de trabalhos II.

### **2.1.15. 15ª Aula**

- Avaliação de trabalhos: preparação de relatórios.
- Avaliação de trabalhos: Seminários.

## **3. Formulação do Questionário**

Os alunos da disciplina de Tópicos Especiais em Química Analítica III foram incentivados a responder um questionário (Anexo 2). As perguntas instigavam os alunos a discutir sobre o tema eletroforese capilar. A partir das respostas, avaliou-se o quanto os alunos compreenderam sobre a mobilidade dos íons em solução e, principalmente, sobre os aspectos que podem alterar sua mobilidade.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. 1ª e 2ª Aula

O método eletroforético foi apresentado aos alunos para que estes pudessem entender a importância dos métodos instrumentais de análise, onde estes são muito importantes para análises em laboratórios para a determinação e quantificação das espécies tanto de pesquisas científicas, quanto suas vastas aplicações nas indústrias e na medicina, além de possibilitar-lhes a extrema relevância da validação dos métodos analíticos propostos para a otimização do processo. Os parâmetros avaliados incluíam influência da voltagem, da concentração da solução tampão, do efeito do pH e da adição do surfactante (CTAB), aplicados para a separação da rutina e quercetina.

A seguir será discutida e mostrada a importância de cada aula ministrada utilizando o método eletroforético para o estudo da mobilidade dos íons:

#### 4.1.1 Montagem do sistema eletroforético

Inicialmente, o equipamento de modo caseiro fora apresentado aos alunos para que estes pudessem se familiarizar à técnica.

Para a realização das aulas práticas foram necessários:

- Um sistema eletroforético de modo caseiro como mostrado na Figura 6:



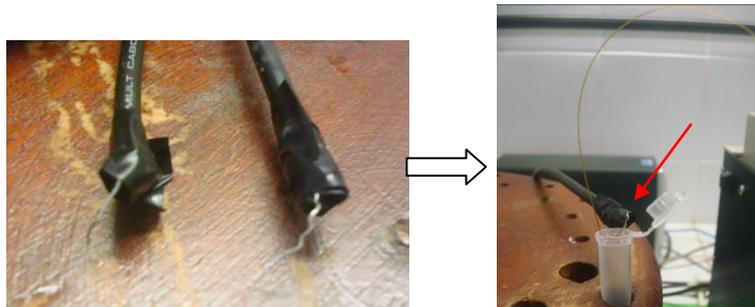
**Figura 6:** Equipamentos utilizados para desenvolver o experimento.

O sistema compreende basicamente de:

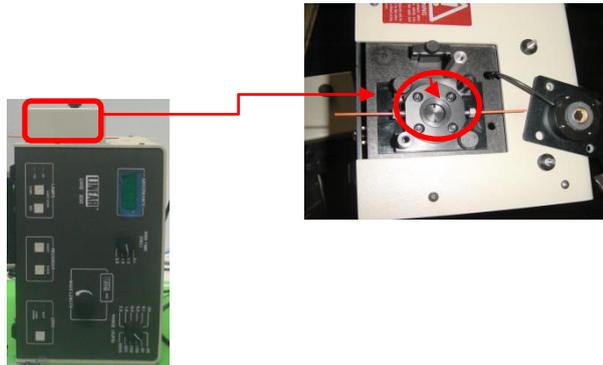
- Uma fonte de alta tensão.



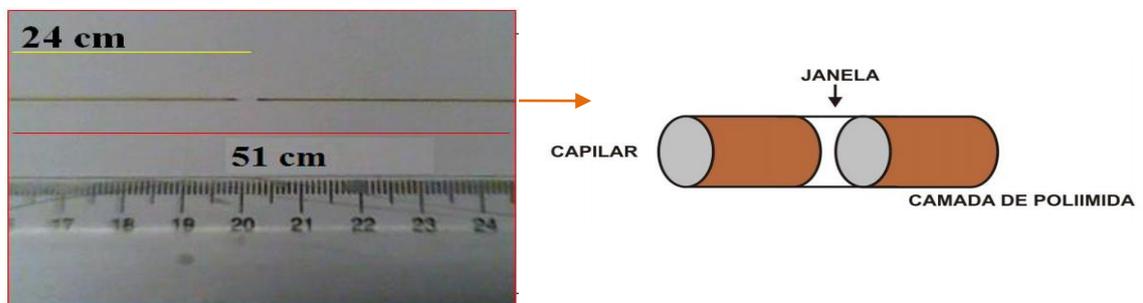
- Eletrodos de platina



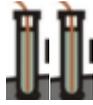
- Detector de absorção molecular na região UV na faixa de 190 e 214nm com detecção no modo *on-column*



- Capilar de sílica fundida.



- Reservatórios para a solução tampão e para a amostra

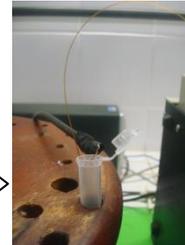


Solução Tampão



Amostra

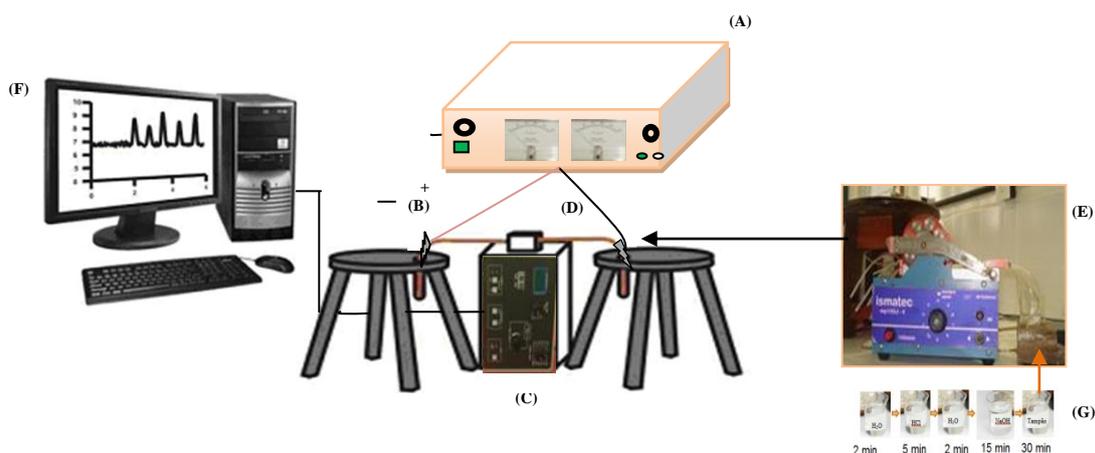
- Suportes de madeira para apoio dos reservatórios.



- Sistema de aquisição de dados.



Para a montagem de um sistema eletroforético em zona é necessário que uma fonte de alta voltagem seja ligada a dois eletrodos de platina fechando o circuito a partir do capilar de sílica fundida, neste caso, de  $75\mu\text{m}$  de diâmetro interno e  $375\mu\text{m}$  de diâmetro externo,  $51\text{cm}$  de comprimento total, sendo  $24\text{cm}$  efetivo. O capilar é preenchido com solução de eletrólito, ambas as extremidades são imersas em reservatórios conectados aos eletrodos, contendo a mesma solução eletrolítica para fechar o circuito. O sistema de detecção utilizado foi UV e  $\lambda=214\text{nm}$ , com detecção *on-column*. A saída analógica esta conectada a um computador equipado com um sistema de aquisição dados, como segue na figura abaixo:



**Figura 7:** Esquema utilizado para a montagem do equipamento: A- fonte de alta tensão; B- eletrodos de platina; C- detector UV; D- capilar de sílica fundida; E- bomba peristáltica; F- sistema de aquisição de dados; G- soluções utilizadas para o pré-condicionamento do capilar.

#### 4.1.2 Preparo do capilar de sílica

Para que houvesse a detecção das espécies, foi necessário que cada aluno aprendesse fazer uma janela no capilar e a coluna pudesse ser conectada ao sistema, como mostrado na figura 7 (D). A poliimida é removida com auxílio de fogo e acetona para limpá-la. É através dessa janela que a radiação UV será transmitida.

O condicionamento do capilar foi feito com o auxílio de uma bomba peristáltica (Figura 7 (E e G)), bombeando-se: 5 minutos de  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  de HCl, 2 minutos de água destilada, 15 minutos de  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  de NaOH, e 30 minutos a solução tampão.

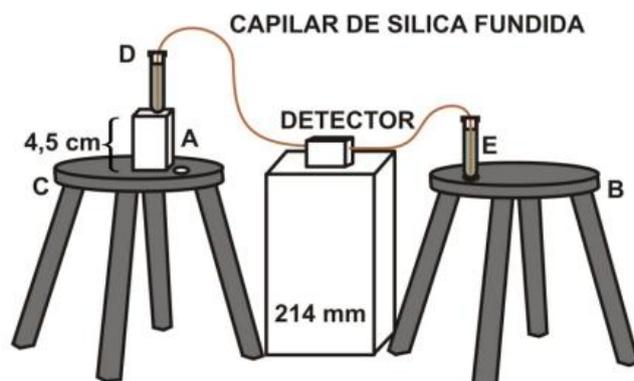
As etapas de condicionamento do capilar levam a compreensão dos alunos quanto à dissociação dos grupos silanóis e as cargas existentes na superfície interna do capilar, fazendo com que possa ocorrer a separação de diferentes espécies de acordo com a mobilidade existente de cada uma, e mostrar também que a separação ocorre dentro do capilar através da solução tampão.

#### 4.1.3 Modos de injeção

Foram feitas injeções de modo hidrodinâmico e eletrocínético.

Para a injeção hidrodinâmica foram utilizados reservatórios contendo a solução eletrolítica. Outro reservatório continha a solução a ser analisada, este, por sua vez, foi erguido e mantido a uma altura de 4,5cm por um determinado tempo para promover a injeção

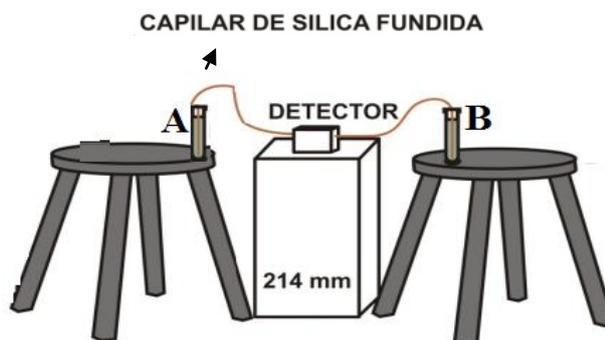
por gravidade (Figura 8). Após a injeção, a extremidade era retornada à mesma altura que o reservatório contendo o tampão.



**Figura 8:** Esquema utilizado para o modo de injeção hidrodinâmica por gravidade. A e E- reservatórios contendo a solução tampão; D- reservatório contendo amostra; C e B- suportes de madeira utilizados para o apoio dos reservatórios.

Para a realização deste modo de injeção, o aluno precisou desenvolver certa habilidade para o manuseio do capilar, pois, foi necessário que ele adotasse uma boa repetibilidade da forma de injeção para a aproximação dos resultados, fugindo assim da injeção do fluxo de ar durante o procedimento para que não ocorresse interferência na otimização do processo.

A injeção eletrocinética fora obtida quando um dos eletrodos era submerso em solução da amostra e o outro era imerso em solução tampão. A fonte era ligada durante 15s mantendo-se a voltagem em 10kV.



**Figura 9:** Esquema utilizado para o modo de injeção eletrocinética. A- reservatórios contendo amostra; B- reservatório contendo a solução tampão.

Em ambos os modos de injeção, o detector era ajustado em 0,0000 unidades de absorvância.

As determinações de flavonóides foram feitas a  $\lambda = 214\text{nm}$ .

#### 4.2. 3ª Aula

Fora estudado o tempo e o modo de injeção da solução de rutina.

A solução  $50\text{mmol.L}^{-1}$  de borato pH 9,00 fora empregada como solução de separação.

Empregando o modo hidrodinâmico (Figura 8), foram feitas injeções com altura de 4,5 e 2,0cm por 15 e 30s. Com este estudo, os alunos podem melhor compreender que ao aumentar a gravidade e ao aumentar o tempo de injeção, haverá introdução de um maior volume de amostra no capilar, conseqüentemente ele irá visualizar maior alargamento do pico das espécies detectadas. No modo eletrocinético (Figura 9) fora utilizado um tempo de injeção de 15 e 30s. Neste modo também haverá maior introdução de amostra no capilar, e que também nesse caso, a velocidade das espécies será maior e o tempo de migração será menor.

A partir dos testes realizados, os perfis dos picos foram avaliados para que se pudessem verificar os melhores resultados.

O aluno pôde comparar os modos de injeção e verificar as dificuldades inerentes de cada um.

#### 4.3. 4ª Aula. Influência da voltagem e da corrente elétrica em CE. Lei de Ohm

A fonte de alimentação utilizada no sistema eletroforético pode ser variada de 0 a 30kV e a corrente de 0 a  $200\mu\text{A}$ .

Foram preparadas soluções contendo 10; 20; 30; 40; 50 e  $100\text{mmol.L}^{-1}$  de ácido bórico e mantendo-se o pH = 9,00.

Para cada solução fora feita análise variando-se a voltagem de 2 em 2kV até 12kV.

Nesta aula, os alunos puderam identificar a variação da corrente elétrica em função da voltagem, se a Lei de Ohm é respeitada ou não, além de possibilitar que os mesmos tenham entendimento sobre preparo de soluções tampão contendo concentrações variadas.

A aula possibilitou que os alunos obtivessem dados para a construção do gráfico voltagem *versus* corrente elétrica. Esse gráfico é conhecido como gráfico da lei de Ohm, pois é através dele que os alunos podem visualizar a linearidade da curva. Mas existe um limite para que isso ocorra, pois a linearidade da curva deve ser respeitado, ou seja, se essa linearidade não mais existir, pode ocorrer o aquecimento da solução no interior do capilar, o efeito Joule, prejudicando a análise.

#### **4.4. 5ª Aula. Estudo da influência da voltagem de separação sobre o tempo de migração**

O capilar fora preenchido com solução tampão e em seguida foram feitas análises de solução  $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de rutina, utilizando um tempo de injeção de 15s e solução de ácido bórico  $50 \text{ mmol.L}^{-1}$  pH 9,00. A voltagem fora variada em 2; 5; 7; 10 e 15kV.

A variação da voltagem permitiu entender que os íons migram com diferentes velocidades, uma vez que o tempo de migração também variou. A velocidade de migração de íons também depende do campo elétrico aplicado.

#### **4.5. 6ª Aula. Influência da concentração da solução de separação**

Soluções contendo 30; 40; 50 e  $100 \text{ mmol.L}^{-1}$  de ácido bórico mantendo-se o pH em 9,00 foram empregadas.

As análises consistiram da injeção da solução  $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de rutina durante 15s empregando cada solução especificada acima. A partir dos quatro eletroferogramas obtidos, os alunos puderam avaliar a influência da concentração do tampão sobre o tempo de migração e o perfil do pico da espécie para cada solução estudada.

#### **4.6. 7ª Aula. Influência do pH e da adição de CTAB da solução de separação, na separação eletroforética de rutina**

Foram utilizadas soluções de ácido bórico variando-se o seu pH entre 8,50 e 9,50, além de uma solução contendo inversor de fluxo ( $50 \text{ mmol.L}^{-1}$  e  $0,5 \text{ mmol.L}^{-1}$  de CTAB pH 9,00).

Com esse estudo, o aluno avaliou o tempo de migração e o perfil do pico para a solução contendo  $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de Rutina. Essa aula ajuda ao aluno compreender o fluxo eletroosmótico de modo normal e de modo invertido (utilização do inversor de fluxo eletroosmótico, CTAB). Além de poder avaliar o efeito da variação do pH da solução de separação.

O pH da solução eletrolítica é de grande importância para o controle da seletividade e eficiência de separação iônica, já que estes influenciam no comportamento desses íons. Deste modo, a solução contendo  $50 \text{ mmol.L}^{-1}$  e pH 9,00 mostrou melhor área e altura e boa resolução dos picos.

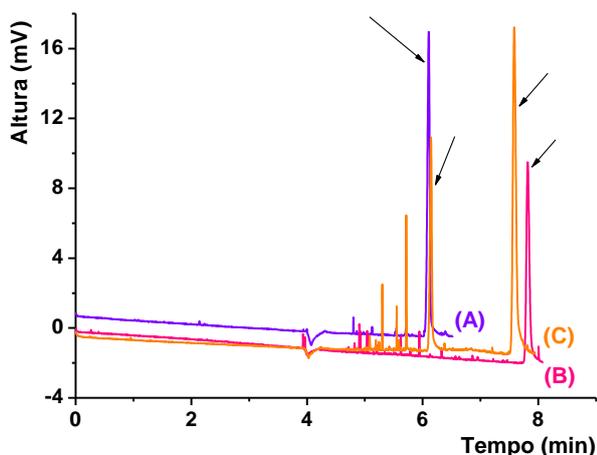
#### 4.7. 8ª Aula. Separação da Rutina e da Quercetina pelo método eletroforético

Foram utilizadas soluções de rutina e quercetina para avaliar o tempo de migração de cada espécie.

Para esse teste, solução contendo  $50\text{mmol.L}^{-1}$  de tampão borato pH 9,00 fora utilizada injetando-se a solução durante 15s por gravidade. Foram feitas análises das seguintes soluções:

- 1-  $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de Rutina;
- 2-  $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de Quercetina;
- 3-  $2,4 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$  de rutina e  $2,4 \times 10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$  de quercetina.

Esta aula possibilitou que os alunos pudessem melhor compreender a mobilidade dos íons, já que estes foram avaliados separadamente e conjuntamente, verificando a migração e a importância da razão carga/tamanho de cada espécie.



**Figura 10:** Eletroferogramas obtidos para a separação das seguintes espécies: A- rutina; B- Quercetina; C- Rutina e Quercetina.

#### 4.8. 9ª Aula. Influência do tempo de injeção para análise da rutina

Fora avaliado o tempo de injeção para a solução  $2,4 \times 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  de Rutina, variando-o em 5; 10; 15; 20; e 30s. A solução de separação:  $50\text{mmol.L}^{-1}$  de ácido bórico pH 9,00.

Esta respectiva aula mostrou que o tempo de injeção influencia sobre o perfil do pico, pois ao aumentar o tempo de injeção houve maior introdução do volume do analito dentro do capilar, conseqüentemente, alterando o perfil do pico.

#### **4.9. 10<sup>a</sup>; 11<sup>a</sup>; 12<sup>a</sup>; 13<sup>a</sup>; 14<sup>a</sup>; e 15<sup>a</sup> Aula. Determinação de rutina e quercetina em maçãs por ECZ**

O sistema permitiu determinar flavonóide (rutina) em amostra de maçã.

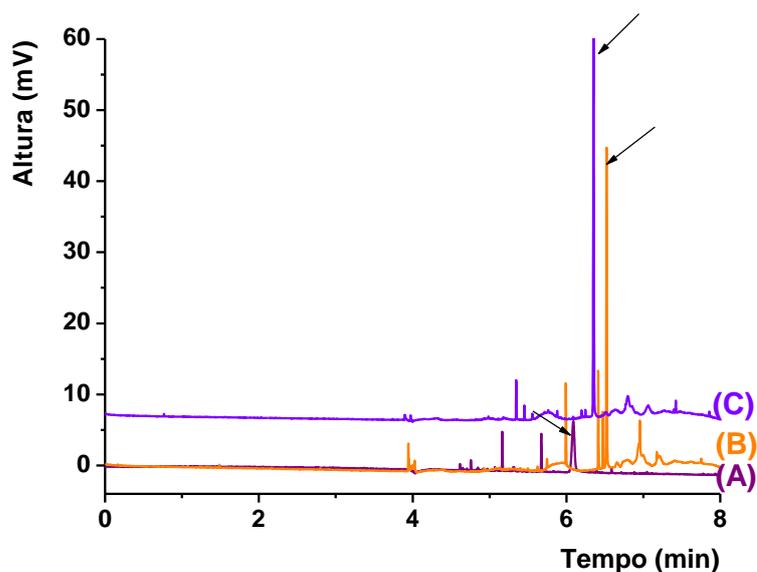
Inicialmente a coluna fora pré-condicionada para a análise. A análise empregou as condições otimizadas, ou seja, 50mmol.L<sup>-1</sup> de ácido bórico pH 9,00, injeção hidrodinâmica 15s, voltagem 10kV (12µA) e comprimento de onda em 214nm.

Nessas aulas, os alunos puderam construir curva analítica de calibração a partir das soluções 1,31x10<sup>-5</sup>; 2,62x10<sup>-5</sup>; 7,86x10<sup>-5</sup>; 1,31x10<sup>-4</sup> e 2,62x10<sup>-4</sup>mol.L<sup>-1</sup> de rutina. As injeções sempre foram realizadas em triplicata.

Os alunos utilizaram os softwares Excel e/ou Origin para tabelar os resultados e obter o gráfico da curva analítica de calibração para as análises de maçã. Os coeficientes de correlação obtidos foram avaliados pelos alunos.

Foram empregados os seguintes procedimentos para a determinação da rutina em maçã:

- 1- Lavaram-se as amostras com água da torneira e água destilada;
- 2- Pesaram-se aproximadamente 150,00g da amostra de maçã;
- 3- Adicionaram-se 50,00mL de metanol à maçã;
- 4- Maceraram-se até obter casca sem coloração;
- 5- Filtraram-se diretamente em papel de filtro quantitativo;
- 6- Mediram-se o volume recuperado e pesar;
- 7- Prepararam-se as soluções para análise:
  - 1mL do extrato obtido da maçã em 5mL de metanol.
  - 1mL do extrato obtido da maçã, 2,62x10<sup>-4</sup>mol.L<sup>-1</sup> de rutina em 5 mL de metanol.
- 8- As amostras foram analisadas.



**Figura 11:** Eletroferogramas obtidos para a separação das seguintes espécies: A-  $2,62 \times 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup> de rutina; B- 1mL do extrato obtido da maçã diluído em 5mL de metanol; C- 1mL do extrato obtido da maçã +  $2,62 \times 10^{-4}$  mol.L<sup>-1</sup> de rutina diluído em 5mL de metanol.

Essas aulas possibilitaram que os alunos pudessem preparar soluções analíticas com concentrações conhecidas. Os alunos também puderam empregar softwares para a análise dos resultados e compreender sobre o coeficiente de correlação, além de determinar o teor de rutina presente na amostra. A utilização da amostra faz com que o aluno possa avaliar o comportamento da espécie em solução avaliando assim o tempo de migração da espécie padrão e comparando-a com a amostra, bem como sua concentração.

Os alunos entregaram um relatório contendo o desenvolvimento das práticas, os resultados e a discussão sobre todas as aulas.

Através dos seminários pode-se observar que os alunos tornam-se mais familiarizados com a técnica, pois vários modos de separação e diferentes problemas foram discutidos durante as aulas. O seminário levou-os a compreender a utilização da técnica aplicada para determinação de diferentes espécies em diferentes matrizes.

## 5. Respostas dadas às perguntas do questionário.

### 1) Em sua concepção, como os íons se comportam em uma solução aquosa?

1	Em constante movimento gerado pelas interações iônicas das espécies envolvidas (soluto- soluto) e (soluto-solvente)
2	Eles se comportam dispersos na solução, ou seja, livres
3	Se comportam livremente na solução
4	Os íons são espécies que possuem cargas negativas e positivas que se unem ou se separam para a formação de um composto.
5	As cargas negativas irão ficar próximas das positivas, ou seja, um ânion irá ficar próximo de um cátion.
6	Os íons se encontram dissociados e livres para se moverem, um fato a ser destacado é a atração das cargas opostas: um catiônico está rodeado de íons aniônicos e vice-versa.
7	
8	Estão dissociados na solução, possuindo cargas.
9	Estão dissociados na solução.
10	Eles se comportam como cargas elétricas.
11	Eles estão separados e dissolvidos na solução.
12	Se comportam de forma dissociada, livre onde são atraídos por cargas opostas.
13	Os íons se comportam em uma solução aquosa de forma livres.
14	
15	

De acordo com a concepção dos alunos, os íons se comportam livremente em uma solução, estão dissociados e possuindo cargas elétricas (9 e 13). A resposta 1, mostra que os íons estão em constante movimento gerado pelas interações iônicas das espécies envolvidas (soluto-soluto) e (soluto-solvente). As 2 e 3 mostram que estes estão livres em solução. As respostas 4, 5 e 12, mostraram que estes por possuírem cargas se atraem ou separam para a formação de um novo composto. A resposta 10 mostra que se comportam como cargas elétricas e a 11 mostra que são separados em solução.

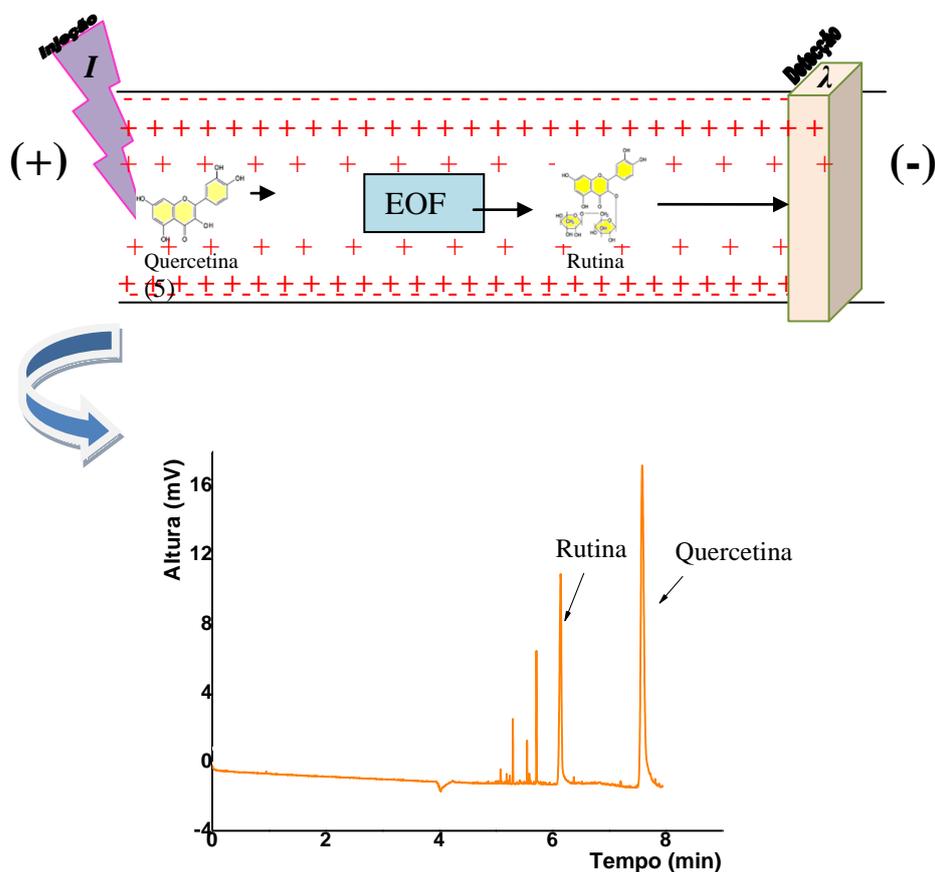
2) A rutina tem massa molar  $664,27\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  e a quercetina  $302,20\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , considerando isso, qual composto migrará primeiro pela coluna eletroforética?

1	A quercetina, porquê os métodos eletroforéticos são baseados na diferença carga/raio. Quanto menor a massa das espécies envolvidas, mais rápido será sua migração.
2	A quercetina migrará primeiro, pois apresenta uma massa molar menor que a rutina
3	Irá deslocar-se primeiro a rutina.
4	Vai depender da corrente que for aplicada em cada um.
5	Quercetina
6	A quercetina migra primeiro, menor MM.
7	A rutina.
8	Quercetina por ter menor massa molar.
9	A quercetina, possui massa menor.
10	A quercetina.
11	A quercetina.
12	Quem migrará primeiro será a quercetina porque sua mobilidade é maior e será mais rápido se mover.
13	A quercetina migrará mais rápido, devido a sua baixa massa molar.
14	
15	

Diante das respostas, pode observar-se que dez alunos mostraram que o composto quercetina migrará primeiro. A justificativa dada foi devido à massa molar da quercetina, que é menor em relação à rutina, logo sua mobilidade será maior. Assim, a quercetina possuirá maior facilidade em passar pelo capilar até o detector. Dentre os dez alunos, somente um especificou a razão carga/tamanho do analito, mas mesmo assim não enfatizou a carga do composto.

Uma demonstração do comportamento da rutina e da quercetina é mostrado a seguir:

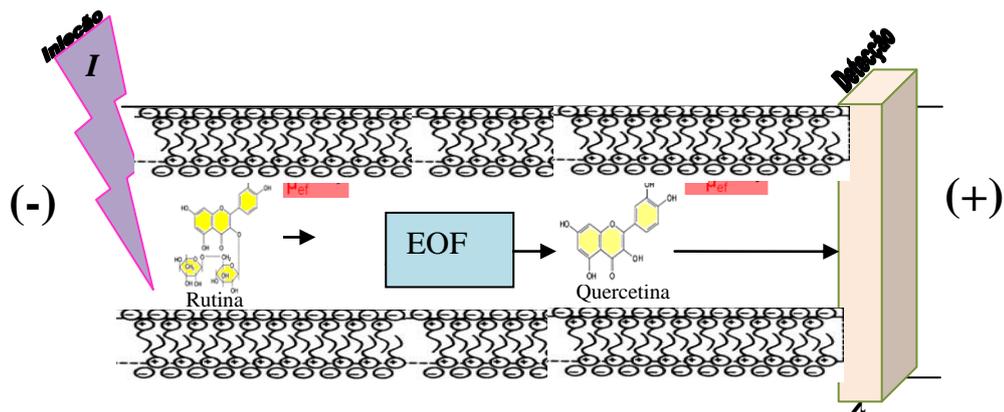
Em um fluxo eletrosmótico considerado normal:



**Figura 12:** Eletroferograma obtido a partir da solução contendo rutina e quercetina mantendo-se o modo normal do fluxo eletrosmótico.

Na condição acima mostrada na figura 12, rutina e quercetina migram para o polo oposto ao de suas cargas, o polo positivo. Assim quando são injetadas próximo ao polo positivo e detectadas próximo ao polo negativo, diz-se que a eletroforese está no modo normal. Os eletroferogramas das soluções individuais e mistas dos compostos mostram que rutina tem o menor tempo de migração. O fluxo eletrosmótico tem dificuldade em arrastar a quercetina para o polo negativo. De acordo com o tempo de migração, a rutina é mais facilmente arrastada pelo fluxo eletrosmótico em direção ao polo negativo. Ambas as espécies são arrastadas pelo fluxo, mas como tamanho e carga são diferentes, cada composto migrará com tempo diferente.

Se o fluxo eletrosmótico fosse invertido, facilitando a análise de ânions, a migração das espécies rutina e quercetina seria diferente. De acordo com a Figura 13, a ordem de migração é alterada, facilitando a análise das espécies com menor massa, neste caso a quercetina.



**Figura 13:** Representação esquemática da mobilidade eletroforética da rutina e quercetina em modo invertido de fluxo eletrosmótico.

Neste caso, pode ser considerado o tamanho da molécula, pois com o fluxo eletrosmótico invertido, a prioridade de migração será da espécie que tem maior mobilidade em um campo elétrico. Uma vez que ambas as espécies possuem cargas negativas, os alunos tiveram suas considerações dentro do fenômeno ocorrido para o fluxo eletrosmótico invertido, sendo aceitáveis suas considerações, pois o questionário não argumentou quanto ao fluxo eletrosmótico.

**3) A separação de dois compostos, quercetina e rutina, fora suficiente para a compreensão dos fenômenos (diferença entre razão carga/massa) envolvidos em eletroforese?**

1	Sim
2	Sim, pois a separação por eletroforese é através dessa migração dos íons em solução que tem influência do campo elétrico, a qual neste caso as duas substâncias possui uma diferença na massa, fazendo com que a quercetina se separe da rutina.
3	Ficou bem claro
4	Foi. Pois cada um obteve resultados diferentes, tornando claro a diferença.
5	Sim
6	Sim. A diferença entre os compostos se dá no tempo de migração, desde que aplicadas as mesmas condições.
7	Não.
8	Foi.
9	Foi.
10	Sim. Essa diferença entre a razão carga/massa é o que faz uma migrar antes da outra.
11	Sim.
12	Sim. Porque cada um terá suas características que irá determinar a identificação.
13	Sim. Porque tem tamanhos diferentes, com isso mostra a diferença do tempo de migração.
14	
15	

A maioria (13 alunos) respondeu que a utilização da rutina e da quercetina foi suficiente para compreender a importância da relação carga/tamanho envolvidos na eletroforese capilar de zona. Aqui pode destacar-se a observação do tempo de migração das espécies serem diferentes devido ao tamanho da molécula, como mostrado nas respostas: 2, 4, 6, 10, 12 e 13. Uma resposta mostrou que a utilização dessas duas espécies não foi suficiente para a compreensão do mesmo.

**4) O tempo de migração de uma espécie é diretamente proporcional ao campo elétrico envolvido (V/cm). O estudo utilizado para mostrar o efeito do campo elétrico foi suficiente para você entender a importância da corrente aplicada nos experimentos?**

1	Sim, pois altas voltagens aplicadas ao sistema eletroforético produz o efeito Joule que aquece a solução tampão e forma gases no interior do capilar, prejudicando a análise.
2	Sim, pois através do campo elétrico pode-se observar as diferentes mobilidades que as substâncias possuem, ou seja, a “corrida” que acontece com o tempo de migração
3	Sim
4	Foi, porque quando fizemos o experimento variando a voltagem modificava a passagem da corrente.
5	Sim. Porque ao variar a corrente irá interferir no tempo de migração da espécie.
6	Sim. Este estudo permite mostrar a faixa de trabalho a ser empregada com maior linearidade.
7	Não.
8	Sim.
9	Sim.
10	Sim. Pois são opostas do efeito do campo elétrico que ocorre a migração das espécies.
11	Sim.
12	Sim. Pois a corrente é fornecida para formação do campo elétrico e aumentar o fluxo.
13	Sim. Porque com o estudo do campo elétrico aprendemos que podem separar substâncias com diferentes mibilidades.
14	
15	

Apesar de uma resposta ser contrária, 12 respostas mostraram que a corrente elétrica afetará o tempo de migração das espécies. A resposta 1 mostrou que o estudo do campo elétrico é importante para que se possa melhor compreender o efeito Joule. As respostas 2, 4, 5 e 13, mostram que ao aumentar a voltagem irá aumentar o fluxo da corrente elétrica, com isso, influenciará na mobilidade dos analitos.

**5) A migração da espécie iônica só ocorre na presença da corrente elétrica? Justifique sua resposta.**

1	Não. A migração iônica em solução ocorre normalmente, porém com menor velocidade das espécies envolvidas e maior tempo de análise (detecção)
2	Sim, pois, para que ocorra a “corrida”, para que possa diferenciar as substâncias, teria que ter uma fonte: que seria a diferença de potencial elétrico e o campo elétrico, e isso se resultaria no campo elétrico.
3	Sim. Pois com a corrente elétrica vai ser possível a criação de pólos positivos e negativos.
4	Sim, porque o aparelho só funciona na presença da corrente elétrica.
5	Não, porque ela pode ocorrer sem a presença da corrente, mas a diferença é que o tempo será muito maior.
6	Não. A corrente elétrica aplicada vem a diminuir o tempo de análise.
7	Sim, é através da corrente elétrica que vai facilitar.
8	Sim. Porque as cargas não interagem.
9	Sim. Pois o campo elétrico vai haver interação de cargas.
10	Sim. Porque é a partir da fonte de corrente elétrica que os íons se dissociam e migram.
11	A corrente faz com que haja a mobilidade.
12	Não. Porque este pode ser injetado por gravidade em uma coluna carregada de elétrons e prótons. A corrente elétrica é para acelerar o processo.
13	Sim. Porque está presentes íons, com isso a migração com corrente elétrica.
14	
15	

Alguns mostraram que a diferença de potencial e o responsável pela diferenciação das substâncias. Outros mostram que é a partir da fonte de alta tensão que os íons podem se dissociar, sendo responsável também pelas interações de cargas.

As respostas 1, 5, 6 e 12 mostraram que a presença da corrente elétrica só acarretará numa maior mobilidade dos íons, fazendo com que estes possam migrar em um tempo relativamente curto.

**6) Ao compararmos duas colunas capilares, uma com 50cm e outra com 80cm, o tempo de migração de um dado composto será o mesmo nas duas colunas? Justifique.**

1	Se, 50 e 80 cm, ocorrem referentes ao comprimento total do capilar de dióxido de sílica amorfo, revestida com poliimida, vai depender do comprimento referente ao tempo de detecção pré-determinado pelo pesquisador.
2	Não. Pois, o tempo de migração com 80cm será maior que a de 50cm, pois passaria em maior percurso em corrida com 80cm do que 50cm.
3	Sim. Pois o tempo não irá depender do tempo da coluna.
4	Não. Porque quanto maior o espaço, mais rapidamente a solução será arrastada e identificada.
5	Não. Porque o tamanho da coluna também irá influenciar no tempo de migração.
6	Não. Dentro da coluna de 80 cm a corrente aplicada tende a passar mais tempo para chegar de um eletrodo a outro.
7	Sim. Não importa quantos centímetros tem, o tempo será o mesmo.
8	Não. As colunas com tamanhos diferentes influenciarão no tempo.
9	Não. Pois o diâmetro do capilar influencia diretamente no tempo de migração.
10	Não. Pois na coluna de menor espessura a migração ocorre mais lenta.
11	Não. Porque o tempo de migração vai depender também do caminho que ele vai percorrer.
12	Será semelhante porque irá depender da corrente utilizada. Mas a 50cm será mais rápido a migração porque o percurso é menor.
13	O de 80 cm o tempo é maior, pois vai ter um maior percurso, com isso vai ter mais interação pra chegar no detector.
14	
15	

Três de treze respostas mostraram que o tamanho do capilar não irá influenciar no tempo de migração. A resposta 12 mostra que o aluno estava confuso, mas aparentemente quis mostrar que o capilar de 50cm possui um percurso menor. A resposta 10 discutiu sobre a espessura do capilar, e disse que quem possuir maior espessura, a migração ocorrerá mais lentamente. Os demais mostraram que o comprimento do capilar afeta o tempo de migração, sendo o capilar de 80cm com maior tempo de migração, pois este passará maior tempo para chegar ao eletrodo de carga oposta, devido ao percurso dos analitos dentro destes.

### 7) Quer dar alguma sugestão? (Parecer do aluno)

1	Agentes surfactantes, quelantes, solventes, sistema tampão entre outros, são importantes para a otimização dos parâmetros eletroforéticos. O conteúdo eletroforese capilar (CE) envolve conceitos desenvolvidos em termoquímica, porém os pólos elétricos recebem terminologias diferentes, podendo interligá-los: termoquímica > ânodo (-) e cátodo(+). CE > anaforese (-) e catoforese (+).
2	
3	É possível entender o processo da eletroforese, mas deve ser mais claro para os alunos conseguirem enxergar o processo por um todo.
4	Deveríamos ter uma avaliação teórica, antes das práticas, pra que os alunos chegassem no laboratório com maior entendimento.
5	
6	Nada a considerar
7	Não
8	
9	Não.
10	
11	Não.
12	A eletroforese capilar pode ser utilizada como detecção de muitas substâncias. Abre portas para muitos estudos na educação e pesquisa.
13	Sim. Deveria ter mais aulas pra melhorar o aprendizado.
14	
15	

## 6. CONCLUSÃO

Este trabalho pôde caracterizar a investigação do estudo de mobilidade iônica, já que esta apresenta grande importância para que se possa entender o que seja uma solução.

Partindo do pressuposto de que o conceito envolvido sobre a mobilidade dos íons não seja muito claro para diversos alunos, foram escolhidas para mostrar a separação de duas espécies (rutina e quercetina) através da técnica eletroforética, para que os alunos pudessem avaliar o comportamento destas em uma determinada solução, o que mostrou-se eficiente para o aprendizado dos alunos avaliados.

Pôde-se verificar a partir dos dados coletados através da pesquisa que alguns alunos mostram dificuldades em relacionar a migração com o potencial aplicado, pois a grande maioria dos alunos respondeu que a migração só ocorrerá em presença de um campo elétrico. Um dos grandes questionamentos também avaliado fora determinado pela razão carga/ massa do analito, onde este pode ser mais aprofundado durante as aulas.

É nítido que os procedimentos adotados para as aulas foram eficientes e suficientes para o entendimento de vários conceitos que estão associados à eletroforese capilar. Os alunos também puderam visualizar a eficácia da teoria da técnica através dos experimentos adotados para as aulas. O preparo de soluções durante as aulas também foi importante para a prática laboratorial dos alunos.

O relatório fora bem delineado e bem executado pelos alunos, contendo os eletroferogramas bem como as discussões envolvidas em cada etapa.

A apresentação do seminário permitiu que os alunos interagissem para sanar dúvidas sobre a técnica. No entanto, é evidente a dificuldade em tratar do texto em inglês. A disciplina atingiu suas metas, a sua introdução no curso de graduação em química foi viável e pertinente.

## 7- REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ATKINS, P. e PAULA, J. **Físico- Química**, Vol. 3, 7ª ed., LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora, Rio de Janeiro, 2002.

CARMO, M.P. e MARCONDES, M.E.R. **Abordando soluções em sala de aula – uma experiência de ensino a partir das idéias dos alunos**. Química nova na escola, n. 28, p. 37-41, 2008.

COLOMBARA, R.; TAVARES, M. F. M. e MASSARO, S. **Determinação simultânea de ânions por eletroforese capilar: características e aplicações**, Química Nova, Vol. 20, n. 5, 1997).

de OLIVEIRA, R.J. **O ensino das ciências e a ética na escola: Interfaces possíveis**. Química Nova na Escola, Vol. 32, n. 4, p. 227-232, 2010.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 6ª ed. LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora, Rio de Janeiro, 2005.

JAGER, A. V. e TAVARES, M. F. M. **Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar: fundamentos e aplicações**, Química Nova, Vol. 24, n. 3, p. 363-373, 2001

JUNIOR, M. J. e VARANDA, L. C. **O mundo dos colóides**, Química nova na escola, n. 9, Maio, 1999.

SÁNCHEZ, J.M., and SALVADÓ, V. **Capillary electrophoresis of water-soluble vitamins: Na undergraduate experimente**, Chem. Educator, Vol. 7, n.1, p. 23-26, 2002.

SAITO, R. M. **Utilização da eletroforese capilar com eletrólito não tamponado para estudo do comportamento dos íons hidrônio e hidroxila e seu desdobramento analítico**. Tese de mestrado, Universidade de São Paulo, Instituto de química, SP, 2007.

TAVARES, M. F. M. **Eletroforese capilar: conceitos básicos**, Química Nova, Vol. 19, n. 2, 1996.

WARTHA, E. J.; REIS, M.S.; SILVEIRA, M. F.; FILHO, N. J. G. e JESUS, R. M. **A maresia no ensino de química**, Química Nova na Escola, n. 26, 2007.

## 8. ANEXOS

### ANEXO 1- Plano de Ensino.

**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL**  
**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO PROF. ALBERTO CARVALHO**

<b>PLANO DE ENSINO</b>			
<b>DEPARTAMENTO (OU NÚCLEO): Química</b>			
<b>CURSO: Licenciatura em Química</b>		<b>SEMESTRE LETIVO:</b>	
<b>DISCIPLINA: Tópicos Especiais em Química Analítica III</b>		<b>CÓDIGO: 509162</b>	
<b>CARGA HORÁRIA: 60</b>	<b>TEÓRICA: 2</b>	<b>CRÉDITOS: 4</b>	<b>PEL: 2.00.2</b>
	<b>PRÁTICA: 2</b>		
<b>PRÉ-REQUISITO: 509152</b>			
<b>CURSOS: Licenciatura em Química</b>			
<b>PROFESSOR: ANA PAULA GEBELEIN GERVASIO</b>			
<b>EMENTA</b> A disciplina deve ser desenvolvida associando e correlacionando teoria e experimentação: conceitos gerais de eletroforese capilar por zona. Modos de injeção e detecção em eletroforese capilar. Colunas capilares em eletroforese. Análise qualitativa e quantitativa. Especificação de metais por eletroforese capilar. Hifenação de técnicas: análise em fluxo e espectrometria de emissão atômica com plasma induzido.			
<b>OBJETIVO GERAL</b> Fornecer uma visão geral de eletroforese; Diferenciar as várias formas de separação em solução aquosa e utilizá-la na análise química de espécies metálicas. Propiciar aos estudantes os conhecimentos da técnica de eletroforese e capacitá-lo ao uso e manuseio do equipamento montado em laboratório.			
<b>OBJETIVO ESPECÍFICO</b>			
<b>CONTEÚDO PROGRAMÁTICO</b>			
<b>1- Teórica</b>	Considerações gerais. Método analítico		
<b>2- Prática</b>	Montagem do sistema CE.		
<b>3- Teórica</b>	Métodos instrumentais de análise. Conceitos gerais de eletroforese. Importância da especificação. A influência do pH e natureza das soluções tampão em CE. Modos de injeção. Injeção eletrocínica e hidrodinâmica.		
<b>4-Prática</b>	Manuseio do capilar em sistemas CE. Injeção.		

<b>5-Teórica</b>	A influência do pH e natureza das soluções tampão em CE. Modos de injeção. Injeção eletrocinética e hidrodinâmica.
<b>6-Prática</b>	Modos de injeção.
<b>7-Teórica</b>	Modos de injeção. Injeção eletrocinética e hidrodinâmica. Importância do diâmetro do capilar. Preparo de Soluções Tampão e obtenção da curva de I x V.
<b>8-Prática</b>	Influência da concentração da solução tampão e obtenção da curva de I x V.
<b>9-Teórica</b>	Influência da voltagem sobre o tempo de migração das espécies. Detectores em CE.
<b>10-Prática</b>	Influência da voltagem sobre o tempo de migração.
<b>11-Teórica</b>	Influência da adição de inversores de fluxo a solução de separação Espectrofotometria UV/Vis. Determinação de metais e complexação. Determinação simultânea de cátions e ânions por eletroforese capilar: características e aplicações.
<b>12-Prática</b>	Influência da adição de inversores de fluxo a solução de separação Determinação de metais e complexação. Detecção Direta e Indireta por CE.
<b>13-Teórica</b>	Influência da concentração e do pH da solução tampão na separação de metais.
<b>14-Prática</b>	Influência do pH na separação de flavonóides
<b>15-Teórica</b>	Influência do pH da solução tampão na separação de flavonóides. Avaliação e Discussão dos resultados.
<b>16-Prática</b>	Discussão dos resultados - Relatórios
<b>17-Teórica</b>	Etapas de Quantificação - Preparo de curva analítica de flavonóides.
<b>18-Prática</b>	Preparo de curva analítica para flavonóides. Análise quantitativa em CE. Determinação de flavonóides em amostras de frutas.
<b>19-Teórica</b>	Análise de ânions e cátions por CE.
<b>20-Prática</b>	Identificação do sinal de flavonóides
<b>21-Teórica</b>	Soluções de referência. Preparo de curva analítica de flavonóides. Tratamentos estatísticos. Limites de detecção. Erros. Acoplamentos: Análise em fluxo-CE
<b>22- Prática</b>	Influência do tempo de injeção na determinação de flavonóides.
<b>23- Teórica</b>	Acoplamentos: Espectrometria de emissão atômica-CE
<b>24- Prática</b>	Influência do pH da solução tampão na determinação de flavonóides.
<b>25- Teórica</b>	Especiação de metais. Discussão de trabalhos I.
<b>26- Prática</b>	Avaliação e Discussão dos resultados
<b>27- Teórica</b>	Especiação de metais. Discussão de trabalhos II.
<b>28- Prática</b>	Avaliação e Discussão dos resultados
<b>29- Teórica</b>	2ª avaliação. Seminários
<b>30- Prática</b>	2ª avaliação. Seminários
<b>METODOLOGIA</b>	
O aluno será julgado: pelo seu trabalho prático individual realizado cada semana e que constituirá da execução de um experimento e por um seminário oral da prática realizada, pelo desenvolvimento de uma	

metodologia analítica e pela apresentação de um seminário referente ao trabalho científico pesquisado. As notas serão dadas conforme: a) Duas referentes às avaliações dos relatórios orais das práticas (média dos relatórios: nota 0-10 pontos). c) Uma referente ao desenvolvimento de metodologia de análises (0-10). d) e uma referente a seminário (0-10).

#### **BIBLIOGRAFIA BÁSICA**

1. Harris, D. C. **Quantitative Chemical Analysis**. 4<sup>o</sup> ed., W. H. Freeman and Company, 1995.
  2. Marina F. M. Tavares. **Mecanismos de separação em eletroforese capilar**. Química Nova, 20, 5, 1997. (artigo de revisão).
  3. Marina F. M. Tavares. **Eletroforese capilar: Conceitos Básicos**. Química Nova, 19, 2, 1996. (artigo de divulgação).
  4. Rosana Colambara, Marina F. M. Tavares e Sergio Massaro. **Análise simultânea de ânions por Eletroforese capilar: Características e aplicações**. Química Nova, 20, 5, 1997. (artigo de revisão).
  5. Alessandra V. Jager e Marina F. M. Tavares. **Determinação simultânea de cátions por eletroforese capilar**. Química Nova, 24, 3, 2001. (artigo de revisão).
- Referência Complementar:** 6- D. R. Baker, **Capillary Electrophoresis**, John Wiley & Sons: New York, 1995. 7- R. Kuhn e S. Hoffstetter-Kuhn, **Capillary Electrophoresis: Principles and Practice**, Springer-Verlag: Berlin, 1993.

**Aprovado pelo Colegiado do Curso de Química em 14/03/2012.**

---

**Ana Paula G Gervasio**  
**Professora da disciplina**

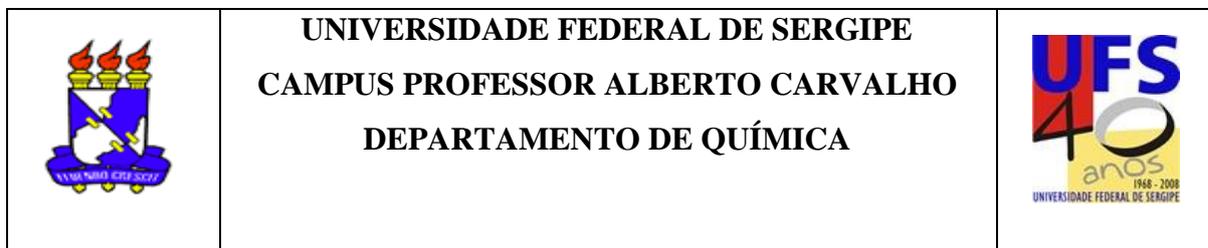
**Victor Hugo Vitorino Sarmento**  
**Coordenador do Núcleo de Química**

[www.ufs.br/campusitabaiana](http://www.ufs.br/campusitabaiana)

e-mail: campusitabaiana@ufs.br

Universidade Federal de Sergipe  
Campus Universitário Prof. Alberto Carvalho  
Av. Vereador Olimpio Grande s/n Telefone: (79) 3432-8200 Itabaiana – Sergipe

**ANEXO 2** – Questionário aplicado aos alunos da disciplina Tópicos Especiais em Química analítica III.



### PESQUISA TEMÁTICA

## Uma Proposta Metodológica para Utilização da Eletroforese Capilar no Curso de Licenciatura em Química

### QUESTIONÁRIO PARA ALUNOS DE GRADUAÇÃO EM QUÍMICA LICENCIATURA

Em qual período você está?

1º - ( ); 2º- ( ); 3º- ( ); 4º-( ); 5º( ) 6º- ( );7º -( ); 8º-( ).

- 1) Em sua concepção, como os íons comportam-se em uma solução aquosa?
- 2) A rutina tem massa molar  $664,27\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  e a quercetina  $302,20\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ , considerando isso, qual composto migrará primeiro pela coluna eletroforética?
- 3) A separação de dois compostos, quercetina e rutina, fora suficiente para a compreensão dos fenômenos (diferença entre razão carga/massa) envolvidos em eletroforese?
- 4) O tempo de migração de uma espécie é diretamente proporcional ao campo elétrico envolvido (V/cm). O estudo utilizado para mostrar o efeito do campo elétrico foi suficiente para você entender a importância da corrente aplicada nos experimentos?
- 5) A migração da espécie iônica só ocorre na presença da corrente elétrica? Justifique sua resposta.
- 6) Ao compararmos duas colunas capilares, uma com 50 cm e outra com 80 cm, o tempo de migração de um dado composto será o mesmo nas duas colunas? Justifique.
- 7) Quer dar alguma sugestão? (Parecer do aluno)

