

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

SILVANA OLIVEIRA CARVALHO

MATHEUS EDUARDO TEODORO FERREIRA

**ESPECTROSCOPIA UV-VIS: DESENVOLVIMENTO DE UM  
EXPERIMENTO DIDÁTICO PARA A DISCIPLINA DE  
ANÁLISE INSTRUMENTAL**

CAMPINAS, SP  
2024

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA  
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS  
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

SILVANA OLIVEIRA CARVALHO  
MATHEUS EDUARDO TEODORO FERREIRA

**ESPECTROSCOPIA UV-VIS: DESENVOLVIMENTO DE UM  
EXPERIMENTO DIDÁTICO PARA A DISCIPLINA DE  
ANÁLISE INSTRUMENTAL**

Trabalho de Graduação II apresentado por **Silvana Oliveira Carvalho** e **Matheus Eduardo Teodoro Ferreira**, como pré-requisito para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em **Processos Químicos**, da Faculdade de Tecnologia de Campinas, elaborado sob a orientação do Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. **Fabiana Cristina Andrade Corbi**.

CAMPINAS, SP  
2024

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
**CEETEPS - FATEC Campinas - Biblioteca**

C331e

CARVALHO, Silvana Oliveira

Espectroscopia UV-Vis: desenvolvimento de um experimento didático. Silvana Oliveira Carvalho e Matheus Eduardo Teodoro Ferreira. Campinas, 2024.

38 p.; 30 cm.

Trabalho de Graduação do Curso de Processos Químicos  
Faculdade de Tecnologia de Campinas.

*Orientador: Profa. Dra. Fabiana Cristina Andrade Corbi.*

1. Espectroscopia UV-Vis. 2. Espectrofotômetro. 3. Cafeína. I. Autor.  
II. Faculdade de Tecnologia de Campinas. III. Título.

CDD 544

Catálogo-na-fonte: Bibliotecária: Aparecida Stradiotto Mendes – CRB8/6553

TG PQ 24.1

**SILVANA OLIVEIRA CARVALHO E  
MATHEUS EDUARDO T. FERREIRA**

**Espectroscopia UV-Vis: desenvolvimento  
de um experimento didático para a  
disciplina de Análise Instrumental**


Trabalho de Graduação apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos, pelo CEETEPS / Faculdade de Tecnologia – Fatec Campinas.

Campinas, 26 de junho de 2024.

**BANCA EXAMINADORA**

*fca corbi*

\_\_\_\_\_  
Fabiana C. A. Corbi  
Fatec Campinas

  
\_\_\_\_\_  
Nelson Maniasso  
Fatec Campinas

*Celso M. Hara*  
\_\_\_\_\_  
Celso Hara  
Fatec Campinas

## **AGRADECIMENTOS**

O desenvolvimento deste trabalho foi possível devido ao comprometimento da Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Fabiana Cristina Andrade Corbi que, desde o início do projeto propôs que o tema a se explorar fosse a Espectroscopia UV-Vis, oferecendo orientações acerca da relevância do estudo desta metodologia analítica e estimulando o interesse quanto a ela, portanto, por meio da presente seção expõe-se a devida gratidão por todo apoio e dedicação oferecidos. Pode-se também agradecer a um colega que esteve envolvido no desenvolvimento do projeto, mas teve de deixá-lo por circunstâncias especiais, Pedro Henrique Araújo foi quem, primeiramente buscou a orientação da docente quanto a melhor escolha de assunto a tratar no trabalho, sendo assim, é registrado o devido agradecimento.

## RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um experimento de determinação de cafeína em chá e, a partir deste experimento, elaborar um guia de uso prático do Espectrofotômetro UV-Vis, alocado no Laboratório de Físico-Química da Fatec Campinas. A Espectroscopia UV-Vis é um dos tópicos da disciplina de Análise Instrumental e, por esse motivo, a necessidade do desenvolvimento de um procedimento de operação do equipamento, para que o mesmo possa ser utilizado nesta e em outras disciplinas e, até mesmo, no desenvolvimento de diferentes Trabalhos de Graduação. A cafeína é um composto químico que pode ser definido como um dos alcaloides mais consumidos do planeta, apesar de algumas vezes, ser obtido em forma de pílulas na maioria das ocasiões é ingerido em bebidas. Sendo assim, investigou-se a presença de cafeína em uma amostra de chá mate. Para as análises, inicialmente, foi obtido o espectro de absorção do padrão de cafeína e uma curva de calibração utilizando-se o mesmo padrão. Uma vez analisado o padrão de cafeína, foram lidas amostras do chá preparado por infusão em água e, a partir da amostra de chá, a cafeína foi extraída em diclorometano dando origem a uma segunda amostra contendo cafeína. Os resultados obtidos mostram, qualitativamente, que é possível determinar a presença de cafeína em amostras de chá mate por espectroscopia de absorção UV-Vis. Com a realização do experimento foi possível compreender o funcionamento do equipamento, explorar suas potencialidades e desenvolver o manual para uso prático no laboratório.

**Palavras-chave:** espectroscopia UV-Vis; espectrofotômetro; cafeína.

## **ABSTRACT**

The present work aimed to develop an experiment to determine caffeine in tea and, based on this experiment, develop a guide for practical use of the UV-Vis Spectrophotometer, located in the Physical-Chemistry Laboratory of Fatec Campinas. UV-Vis Spectroscopy is one of the topics of the Instrumental Analysis discipline and, for this reason, the need to develop an operating procedure for the equipment, so that it can be used in this and other disciplines and, even, in the development of different Undergraduate Works. Caffeine is a chemical compound that can be defined as one of the most consumed alkaloids on the planet, although it is sometimes obtained in pill form and is ingested in drinks on most occasions. Therefore, the presence of caffeine in a sample of mate tea was investigated. For the analyses, initially, the absorption spectrum of the caffeine standard and a calibration curve were obtained using the same standard. Once the caffeine pattern was analyzed, samples of the tea prepared by infusion in water were read and, from the tea sample, the caffeine was extracted in dichloromethane, giving rise to a second sample containing caffeine. The results obtained show, qualitatively, that it is possible to determine the presence of caffeine in mate tea samples by UV-Vis absorption spectroscopy. By carrying out the experiment it was possible to understand how the equipment works, explore its potential and develop the practical use manual for use in the laboratory.

**Key words:** UV-Vis spectroscopy; spectrophotometer; caffeine.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Equações da Lei de Lambert-Beer .....	11
Figura 2 – Estrutura Química da Cafeína .....	14
Figura 3 – Esquema Simplificado das Etapas da Metodologia .....	20
Figura 4 – Espectro de Absorção do Padrão de 50 ppm de Cafeína .....	21
Figura 5 – Curva de Calibração da Cafeína em Água .....	22
Figura 6 – Espectro de Absorção do Chá Mate em Água .....	22
Figura 7 – Espectro da Cafeína Extraída por Diclorometano .....	23
Figura 8 – Espectro de Absorção do Diclorometano .....	24



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1 O ESTUDO DA QUÍMICA .....</b>	<b>3</b>
<b>2.2 IMPORTÂNCIA DE EXPERIMENTOS NO APRENDIZADO DA QUÍMICA .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 MÉTODOS DE ESTUDO DA QUÍMICA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>6</b>
<b>2.4 DISCIPLINA DE ANÁLISE INSTRUMENTAL .....</b>	<b>8</b>
<b>2.5 ESPECTROSCOPIA UV-VIS NO ENSINO PRÁTICO DA QUÍMICA EXPERIMENTAL .....</b>	<b>10</b>
<b>2.6 ASPECTOS GERAIS DA CAFEÍNA .....</b>	<b>13</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
<b>3.1 MATERIAIS E REAGENTES .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2 DESCRIÇÃO DA METODOLOGIA .....</b>	<b>16</b>
<b>3.3 MÉTODOS .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3.1 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE A PARTIR DA CAFEÍNA EM PÓ .....</b>	<b>17</b>
<b>3.3.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE CHÁ-MATTE PARA ANÁLISE NO UV-VIS ...</b>	<b>17</b>
<b>3.3.3 LEITURA DAS AMOSTRAS NO ESPECTROFOTÔMETRO .....</b>	<b>19</b>
<b>3.3.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>3.3.5 LEITURA DO CHÁ EM ÁGUA E DO CHÁ EM DICLOROMETANO .....</b>	<b>19</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>4.1 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO DA CAFEÍNA EM ÁGUA ULTRA PURA .....</b>	<b>21</b>
<b>4.2 DETERMINAÇÃO DA CAFEÍNA NAS AMOSTRAS DE CHÁ .....</b>	<b>22</b>
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>25</b>
<b>APÊNDICES</b>	
<b>APÊNDICE 1</b>	
<b>ROTEIRO DE USO PRÁTICO DO ESPECTROFOTÔMETRO .....</b>	<b>28</b>

# 1 INTRODUÇÃO

O presente trabalho aborda o desenvolvimento de um roteiro prático de uso eficiente para o espectrofotômetro disponível na FATEC Campinas a partir da experiência de análise por Espectroscopia UV-Vis, com o intuito de demonstrar a importância das aplicações práticas de teorias estudadas na disciplina de Química, deseja-se comprovar que os experimentos em laboratório enriquecem o aprendizado e facilitam a compreensão de determinados temas, despertando o interesse dos estudantes e facilitando a visualização dos fenômenos estudados, naturalmente que o presente trabalho não busca afirmar que o único modo de se aprender é a partir da experimentação, mas que esta é uma ferramenta de ensino eficaz e útil, isto será feito através da determinação de concentração em amostras de cafeína utilizando o espectrofotômetro, de modo que amostras com diferentes concentrações de cafeína serão submetidas a leitura para verificação e quantificação, a ideia central é conhecer as funcionalidades de um equipamento de espectroscopia e todos os seus potenciais para aulas práticas tanto em ambientes escolares quanto acadêmicos.

Pesquisas voltadas para o benefício do ensino e a obtenção de vantagens no aprendizado são comuns assim como para melhor absorção dos conteúdos transmitidos em classe por parte de alunos e docentes, isto é positivo uma vez que este tema enriquece a experiência didática e aumenta o aproveitamento do período de estudo.

A disciplina de Química não costuma ser considerada fácil pelas pessoas, especialmente quando se tem o contato inicial com esta, muitas vezes os estudantes assistem as aulas teóricas em classe, mas tem dificuldade de visualizar o que de fato está sendo explicado ali, isto cria um ciclo desvantajoso para o ensino, no qual o aluno memoriza conceitos específicos e os mantém na mente por um determinado período de tempo em que estabelece contato com a teoria, esquecendo-a quando este contato diminui ou acaba. Os experimentos práticos são uma boa forma de estimular o melhor entendimento e absorção de conteúdos pois reforça assuntos descritos por oratória e recursos audiovisuais em observações reais dos fenômenos em questão. É essencial que os indivíduos que se propõe a estudar a Química compreendam aquilo que estão de fato estudando, pois, além de utilizada no cotidiano esta disciplina também está presente no desenrolar de várias outras.

A Espectroscopia é utilizada para analisar amostras de diversas naturezas, portanto, permite ao estudante compreender uma série de conceitos relevantes, ademais, os experimentos

realizados no desenvolver do trabalho poderão ser replicados em aula e oferecerão valiosas informações sobre o uso adequado do espectrofotômetro.

Quando se trata de experimentos em laboratórios para aulas práticas de Química, um bom modo de despertar a atenção e o interesse dos estudantes é utilizando elementos que lhes são conhecidos, pois isto facilita a compreensão dos objetivos da análise, no caso deste experimento serão utilizadas amostras de cafeína, além do próprio café este composto está presente em inúmeros outros alimentos como energéticos, chocolates, chás, alguns tipos de doces e até refrigerantes, sendo que esta substância é popular por seus efeitos estimulantes e muitas vezes consumidas pelos alunos, isto capta a atenção e aguça a curiosidade quanto aos dados que serão obtidos em uma análise instrumental desta.

No caso do experimento, uma vez que envolve a tecnologia da espectroscopia UV-Vis, alimentos como o café, chás, chocolates e outros apresentam cores, e estas cores no momento da leitura irão interferir na análise fazendo com que o equipamento quantifique substâncias que não são do interesse do experimento, devido a isso será abordada a possibilidade de explorar uma técnica de separação

O objetivo geral do presente trabalho foi desenvolver um experimento didático para a disciplina de Análise Instrumental do curso de Processos Químicos da Fatec Campinas. Este experimento envolverá a utilização da Espectroscopia de absorção no UV-Vis na determinação qualitativa e quantitativa de cafeína em amostras preparadas. Para tanto, seguem os objetivos específicos do trabalho:

- a) Compreender o funcionamento do espectrofotômetro disponível na Fatec Campinas e explorar todas as suas potencialidades como ferramenta analítica na determinação de diferentes compostos;
- b) Desenvolver um método de determinação de cafeína em amostras comerciais;
- c) Desenvolver um roteiro de uso do espectrofotômetro, de forma que qualquer docente e/ou aluno tenha condições de utilizar o equipamento.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 O ESTUDO DA QUÍMICA

A Química é a ciência que estuda as propriedades da matéria e suas transformações. Enquanto disciplina, é vista como base para o desenvolvimento de pesquisas em diferentes áreas do conhecimento como biologia, geologia, física, ecologia dentre outras (Chang; Goldsby, 2013). A Química como ciência é muito importante no que se refere a qualidade de vida humana, visto que é uma área de pesquisa abrangente, que possibilita o desenvolvimento de diversos itens considerados essenciais para a sociedade, como: energia elétrica, veículos automotores, dispositivos eletrônicos, medicações, alimentos e tantas outras coisas que são consideradas como básicas pela população comum (*Ibidem*, 2013).

Há quem questione a razão por trás da importância do estudo da Química, especialmente nos períodos de estudo mais básicos, para crianças e adolescentes, fundamentando a dúvida numa visão limitada das diferentes disciplinas da área da química, uma perspectiva que não percebe que este campo de estudo favorece o desenvolvimento da visão crítica do indivíduo, que possibilita analisar, compreender e explorar o uso destes conhecimentos em seu dia a dia (Cardoso; Colinvaux, 2000). O conhecimento na área da Química revela que é possível avaliar, reparar e intervir em situações que afetam a qualidade de vida das pessoas, destacando-se, por exemplo, questões ambientais de poluição da água, do ar e do solo por atividades industriais, por exemplo (*Ibidem*, 2000).

Muitos alunos consideram o estudo da Química muito complexo, um dos motivos desta consideração se deve, provavelmente, ao fato de que a área da Química possui um vocabulário muito especializado (Chang; Goldsby, 2013). No entanto o conhecimento científico é o conjunto de conhecimentos sobre um tema específico que foram obtidos através de estudos teóricos e/ou experimentais, no caso da Química em especial, percebe-se uma necessidade de adotar conceitos particulares para adquirir a capacidade de compreender, interpretar e descrever os fenômenos de transformação da matéria, é deste ponto que surge a linguagem química (Roque; Silva, 2008).

Apesar disso, o entendimento desta área de pesquisa está mais próximo de todos do que se imagina, uma vez que ela está fortemente presente no cotidiano comum da maior parte das pessoas, em expressões como “equilíbrio”, “reação em cadeia” e, até mesmo, “eletrônico”, além de atividades simples como cozinhar, por exemplo (Chang; Goldsby, 2013).

Esta Química do dia a dia é muito importante para estabelecer uma ligação entre as noções prévias que um indivíduo possui com o conhecimento científico que este precisa, deve ou quer obter, e que necessita ser construída em coletivo a partir de discussões, debates, observações e outros meios que estimulem a interação entre aqueles que estudam para instigar o desejo de investigar as motivações e formas pelas quais os fenômenos ocorrem ao seu redor (Constantino; Silva; Donate, 2004).

## 2.2 IMPORTÂNCIA DE EXPERIMENTOS NO APRENDIZADO DA QUÍMICA

A experimentação no ensino da química é defendida por diferentes autores, uma vez que constitui um valioso recurso pedagógico capaz de auxiliar grandemente na construção de conceitos, os experimentos em aulas podem ser conduzidos com diversos intuitos como demonstrar fenômenos, ilustrar princípios teóricos, testar hipóteses e outros (Ferreira; Hartwig; Oliveira, 2009). No ensino que explora o mecanismo investigativo os estudantes são colocados em situações que exigem realizar pequenas pesquisas de modo a combinar conteúdos conceituais, procedimentais e atitudinais (*Ibidem*, 2009).

Assim como em outras áreas do conhecimento, a Química evolui a partir de pesquisas e atividades científicas, também chamadas métodos científicos de trabalho, que se desenvolvem de modo a observar fatos ou fenômenos ocorridos na natureza, em laboratórios, indústrias e outros, além de realizar experiências práticas que possam ser replicadas muitas vezes por outros pesquisadores, de modo que a metodologia faça sentido independentemente de onde seja aplicada. (Bueno; *et al*, 2008). No entanto, é importante apontar que a Química não se resume a algo complexo que só pode ser explorado por especialistas em laboratórios controlados com o uso de instrumentação refinada, pelo contrário, como já mencionado anteriormente esta disciplina faz parte do cotidiano das pessoas, podendo ser dividida em duas atividades: prática e teoria (*Ibidem*, 2008).

A Química prática é a manipulação e transformação dos compostos em laboratórios e até indústrias, neste momento se trabalha em nível macroscópico, sendo assim, os elementos de trabalho são visíveis, já a Química teórica busca apresentar e explicar a matéria em nível microscópico, ou seja, não visível (*Ibidem*, 2008).

Os principais fundamentos nos quais a Química se baseia são experimentais, deste modo conclui-se que o estudante deve dedicar uma parcela significativa de seu esforço a aprendizagem e aperfeiçoamento de métodos de execução de trabalho experimental (Constantino; Silva; Donate, 2004).

Os experimentos práticos em laboratório se caracterizam como um método sugerido para possibilitar que os estudantes participem de forma mais ativa do processo de aprendizagem, uma vez que se eles mesmos realizarem a coleta de dados, análises e discussões podem começar a formular hipóteses e buscar soluções para os problemas estudados, estimulando assim o desenvolvimento e crescimento de seu raciocínio lógico e de suas habilidades cognitivas mais importantes para a construção de seu conhecimento químico e também sua formação como cidadão (Suart; Marcondes, 2009).

## 2.3 MÉTODOS DE ESTUDO DA QUÍMICA EXPERIMENTAL

Os métodos da Química se dividem em clássicos e instrumentais (Murito; Finete, 2009). Os métodos clássicos são aqueles que não fazem uso de equipamentos elétricos complexos, se limitando a vidrarias comuns de laboratório e equipamentos simples, como exemplo pode-se citar volumetria e gravimetria (Matos, 2014). Já os métodos instrumentais usam equipamentos sofisticados que exigem aparatos eletrônicos mais complexos, são mais vantajosos em comparação aos clássicos por oferecerem maior precisão às análises e possibilitarem determinação de concentrações cada vez menores de analito, em menor tempo e simultaneamente (Murito; Finete, 2009).

As técnicas de análises químicas são consideradas a base para o desenvolvimento de novas substâncias, novos equipamentos e novas tecnologias, a partir do momento em que a Química passa a se sustentar em análises específicas a ciência passa a apresentar um caráter investigativo mais significativo (Matos, 2014).

A análise química não necessariamente é Química Analítica (ramo da Química que estuda os componentes e as quantidades que estes possuem em um meio desconhecido), uma vez que se caracteriza por ser um conjunto de técnicas que auxiliam o estudo analítico, sendo assim, ambas dependem uma da outra já que pode-se interpretar que as análises são desenvolvidas com base nas teorias da Química Analítica que, por sua vez, precisa da mesma para investigar, descobrir e validar novas teorias fundamentadas na aplicação de técnicas no decorrer dos estudos (*Ibidem*, 2014).

Existem algumas propriedades físicas que são aplicáveis nas análises químicas e podem se dividir em alguns grupos como: propriedades extensivas (massa e volume), propriedades mecânicas (peso/densidade, tensão superficial, viscosidade e velocidade do som), propriedades que envolvem interação com energia radiante (absorção/dispersão/emissão da radiação, efeito Raman, índice de refração e dispersão de refração, rotação do plano de luz e dispersão rotatória, dicroísmo circular, fluorescência e fosforescência, difração e ressonância magnética), propriedades elétricas (potências meia-cela, corrente-voltagem, condutividade elétrica, constante dielétrica e susceptibilidade magnética), propriedades térmicas (temperaturas de transição, calores de reação e condutividade térmica) e propriedades nucleares (radioatividade e massa isotópica), cada grupo terá métodos de análise específicos (Ewing, 1972).

Entre as inúmeras análises químicas classificadas como instrumentais podem-se citar os métodos ópticos, a absorção da radiação: ultravioleta e visível, fluorimetria e fosfometria,

absorção da radiação: infravermelho, espectroscopia de emissão, espectroscopia de chama, métodos de raios-x, polarimetria, entre outros (*Ibidem*, 1972).



## 2.4 DISCIPLINA DE ANÁLISE INSTRUMENTAL

A disciplina de Análise Instrumental tem por objetivo apresentar aos estudantes as bases teóricas e experimentais dos métodos instrumentais quantitativos e qualitativos mais comumente usados na Química, abordando inclusive preparação de amostras e análise crítica de resultados obtidos a partir das técnicas aplicadas (Serra; Barboza, 2019). Uma vez cursada esta disciplina o estudante obterá a capacidade de selecionar, determinar e empregar a metodologia mais apropriada para solucionar problemas de cunho analítico em geral e, também, fazer a devida interpretação de resultados adquiridos em análises químicas (*Ibidem*, 2019).

As técnicas de análise química instrumental podem ser divididas em três grupos, sendo estes: cromatografia, eletroquímica e espectroscopia e de modo que cada uma se caracteriza por apresentar suas próprias especificidades além, é claro, das espécies químicas que constituem o analito que será analisado, dependendo do grupo será possível ou não a detecção e/ou quantificação almejada (Junior, 2010). As técnicas analíticas instrumentais mais utilizadas para análises químicas em laboratórios são cromatográficas, eletroquímicas e espectroscópicas, tanto para controle de qualidade quanto para aplicações industriais e ambientais (*Ibidem*, 2010). Será possível fazer o correto entendimento destas técnicas com o auxílio de aspectos técnico-científicos e econômicos que envolvem a seleção de algum método para determinação de analitos orgânicos ou inorgânicos (*Ibidem*, 2010).

A necessidade de se determinar concentrações muito baixas de espécies químicas com rapidez depende da disponibilidade de equipamentos modernos, a disciplina de análise instrumental tem como principal intuito ensinar o modo correto de utilização destes aparelhos, assim como qual a função de cada um de seus componentes para que, posteriormente seja possível realizar as determinações de espécies químicas (Sefstrom, 2011).

A disciplina de análise instrumental procura expressar aos estudantes conceitos importantes de segurança em laboratório, além disso, traz metodologias de análise química importantes sendo que entre as principais técnicas abordadas em cursos desta matéria estão condutimetria e potenciometria, espectroscopia de absorção molecular no ultravioleta e visível, fotometria de chama e espectrometria de absorção atômica, espectrometria de absorção óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) e espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP MS) além de outras (UFPEL, 2023).

Na disciplina de análise instrumental ministrada no curso de tecnologia em processos químicos da Fatec Campinas o objetivo principal é identificar os princípios e técnicas de análise química instrumental e aplicá-los à análise e ao controle de qualidade de produtos diversos. E

com relação a ementa, traz como assuntos relevantes os fundamentos de amostragem e de calibração, técnicas espectroscópicas (ultravioleta-visível, infravermelho e fluorescência de raios-x), técnicas espectrofotométricas (absorção e emissão atômica), técnicas de análise térmica (termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial), técnicas cromatográficas (cromatografia líquida e gasosa), técnicas eletroanalíticas (amperometria e voltametria), difração de Raios-X e aplicações analíticas em matrizes orgânicas e inorgânicas. Conforme estes campos de pesquisa demonstram, os conteúdos abordados neste centro de educação superior se relacionam com os já anteriormente citados e, portanto, estão de acordo com a literatura da área.

## 2.5 ESPECTROSCOPIA UV-VIS NO ENSINO PRÁTICO DA QUÍMICA EXPERIMENTAL

A Espectroscopia (do latim “*spectrum*”) que significa imagem e/ou aparição, faz referência a “observação da imagem oculta” ou algo semelhante) é uma metodologia de análise experimental que se fundamenta no uso da luz para o estudo da composição, estrutura e propriedades da matéria (Claro, 2017). Inicialmente a técnica se baseava na observação da luz visível dispersa por um prisma, porém, atualmente o conceito engloba qualquer interação radiação-matéria em função da energia de radiação (*Ibidem*, 2017).

Quando se trata de uma experiência de espectroscopia, a amostra é irradiada com o feixe de luz incidente e é a luz transmitida que permite a realização da análise, tendo sido emitida ou transmitida pela amostra, o que se apresenta como resultado é um registro que compara a composição de luz incidente na amostra com a luz transmitida, emitida ou difundida, sendo designado “espectro” da amostra, o registro de um espectro é feito a partir de equipamentos experimentais chamados de espectrômetro, espectrofotômetro e espectrógrafo (*Ibidem*, 2017).

As medidas de radiação produzidas ou absorvidas por uma determinada molécula em análise são a base das técnicas espectroscópicas (Mota, 2022). Pode-se descrever a radiação eletromagnética como uma onda com propriedades de comprimento (comprimento de onda é a distância linear entre dois máximos ou mínimos sucessivos de uma onda), frequência (é o número de oscilações que ocorrem em um segundo), velocidade (comumente chamado período, é o tempo em segundos necessário para que a onda realize uma oscilação completa) e amplitude (é uma quantidade que fornece a medida do campo elétrico ou magnético no ponto de máximo da onda), quanto maior a frequência, maior a energia (*Ibidem*, 2022).

Muito do conhecimento que se tem a respeito da estrutura da matéria se deve a investigações espectroscópicas, dados sobre estrutura molecular e interação de moléculas com outras próximas são derivadas de diversos modos através dos espectros de emissão e absorção gerados quando a radiação interage com os átomos ou moléculas de uma matéria, os métodos experimentais de espectroscopia oferecem contribuições consideráveis ao estudo da física atômica, da química e da biologia molecular (Junior, 2022).

O espectro eletromagnético de radiações eletromagnéticas se estende em ordem crescente de energia, desde as ondas de rádios que possuem longos comprimentos de onda ( $10^3$  -  $10^0$ m), até radiações de energias elevadíssimas (raios x e raios  $\lambda$ ) que apresentam comprimentos de onda mais curtos ( $10^{-10}$  e  $10^{-15}$ m) e, além disso, inclui regiões com radiações de energia intermediárias entre microondas e ultravioleta de vácuo (*Ibidem*, 2022). Cada região

tem sua própria maneira de ser gerada e detectada e deve-se considerar o fato de que não existe uma interface perfeitamente definida entre as regiões próximas, portanto, o espectro é contínuo do ponto de vista macroscópico (*Ibidem*, 2022).

A espectroscopia do ultravioleta e visível é um dos métodos analíticos mais aplicados em análises que buscam determinação tanto de compostos orgânicos quanto de inorgânicos, sendo que depende do número e do arranjo de elétrons nas moléculas ou íons absorventes, deste modo, entende-se que o pico de absorção se relaciona com o tipo de ligação presente na espécie estudada (UFJF, 2016). A técnica é excelente para identificação de grupos funcionais na molécula e também para determinação quantitativa de compostos que possuem grupos absorventes ou cromóforos (*Ibidem*, 2022).

Um dos conceitos responsáveis por fundamentar a espectroscopia UV-Vis é a Lei de Lambert-Beer, que estabelece uma relação entre a absorbância de uma solução e a sua concentração quando atravessada por uma radiação luminosa monocromática (raios luminosos paralelos), a compreensão desta lei é essencial para realização deste tipo de pesquisa (Lima, 2013). A absorbância ( $A$ ) corresponde ao simétrico do logaritmo decimal do inverso [ou simétrico do logaritmo] da transmitância ( $T$ ), que é o quociente entre a potência radiante de saída (depois de ter atravessado uma amostra em análise) e a de entrada, respectivamente  $P_\lambda$  e  $P_\lambda^o$ , sendo assim, a absorbância é uma medida da “quantidade” de luz que é absorvida pela amostra (*Ibidem*, 2013).

Abaixo, na Figura 1, é possível observar a descrição proposta para Lei de Lambert-Beer representada nas equações.

**Figura 1:** Equações da Lei de Lambert-Beer

$$T = \frac{P_\lambda}{P_\lambda^o} \quad (1)$$

$$A = \log\left(\frac{P_\lambda^o}{P_\lambda}\right) = -\log T = \log\left(\frac{1}{T}\right)$$

FONTE: Lima (2013).

A expressão que representa a Lei de Lambert-Beer é:  $A = \epsilon bc$ , onde  $A$  é a absorbância,  $\epsilon$  é a absorvidade molar;  $b$  é o comprimento do feixe de luz e;  $c$  é a concentração (*Ibidem*, 2013).

Foi o astrônomo, matemático e geofísico francês Pierre Bouguer (1698-1758) que, em 1729, descobriu esta lei pela primeira vez, no entanto, em 1760 o também francês Johann Lambert (1728-1777) que era físico e astrônomo utilizou sua descoberta quando constatou que a fração de luz absorvida por uma amostra é independente da potência radiante ( $P \lambda_0$ ), e assim a lei se tornou conhecida como Lei de Lambert-Beer (*Ibidem*, 2013).

As regiões UV-Vis possuem radiações eletromagnéticas que demonstram comprimentos de onda com dimensões comparáveis às de vírus e bactérias, no caso entre 40 – 700nm, estas medidas de comprimentos de onda são correspondentes a energias suficientes para promover rotação, vibração e transições eletrônicas em espécies absorventes (Filho; *et al*, 2010). Quando se trata de espectroscopia UV-Vis, apenas as radiações com  $\lambda > 200\text{nm}$  apresentam aplicações reais, uma vez que as radiações que detêm comprimentos de onda menores demonstram risco de ser absorvidas pela água ou por outras espécies existentes no ar, portanto, espectrômetros para medidas inferiores a 200 nm exigem sistemas ópticos purgados para que seja possível remover espécies absorventes (*Ibidem*, 2010).

A interação entre fótons e elétrons que estão presentes na geração de uma ligação química é responsável pela absorção por moléculas orgânicas na região dos comprimentos de onda entre 180 e 790nm (Mariano, 2018). A região ultravioleta do espectro se encontra na faixa de 200 a 400nm, já a visível se localiza aproximadamente de 400 a 800nm (*Ibidem*, 2018).

Neste trabalho, foi investigada a presença da cafeína em uma amostra de chá mate. O máximo de absorção da cafeína fica entre 272 e 275nm, portanto, para fazer uma análise de cafeína, a região ultravioleta do espectro é a mais adequada. (*Ibidem*, 2018).

## 2.6 ASPECTOS GERAIS DA CAFEÍNA

A cafeína é um composto químico que pode ser definido como um dos alcaloides mais consumidos do planeta, apesar de algumas vezes, ser obtido em forma de pílulas na maioria das ocasiões é ingerido em bebidas. O alimento onde mais se encontra esta substância é o grão de café (*Coffeesp.*) de onde se fabrica o pó moído para o preparo da bebida, mas também pode-se encontrar este composto nas folhas de chá verde (*Camilla sinensis*) e no cacau (*Theobroma cocoa*) utilizado na fabricação de chocolates, além de outras plantas como guaraná (*Paullinia cupana*) que é popularmente aplicado na indústria de bebidas gaseificadas e na erva-mate (*Ilex paraguayensis*) muito apreciada para o preparo de chás (Maria; Moreira, 2007).

A cafeína apresenta inúmeros efeitos no corpo humano relacionados a sua capacidade de alteração no sistema nervoso central, sistema cardiovascular, homeostase de cálcio, entre outros, sua ação farmacológica é constantemente explorada em estudos e pesquisas uma vez que pode trazer sintomas positivos como aumento das capacidades de alerta, melhora de desempenho em funções de vigilância e diminuição da fadiga, além de sintomas negativos como redução da qualidade do sono e alteração do controle motor, além de aumento da irritabilidade de indivíduos que possuem quadro de ansiedade (*Ibidem*, 2007).

A cafeína é capaz de causar dependência nas pessoas se consumida em excesso por uma determinada frequência, sendo que se ingerida constantemente e, de repente, se fizer ausente, causa sensação de inquietação, nervosismo, dores de cabeça, cefaléia e outros (Guerra; Bernardo; Gutiérrez, 2000). Já no caso de uma alta dose única da substância, podem surgir sintomas como insônia, confusão mental, vertigem, transtornos visuais e auditivos e até mesmo palpitações, isto também se aplica em casos de pessoas que habitualmente não consomem café e, inesperadamente, ingere doses menores (*Ibidem*, 2000).

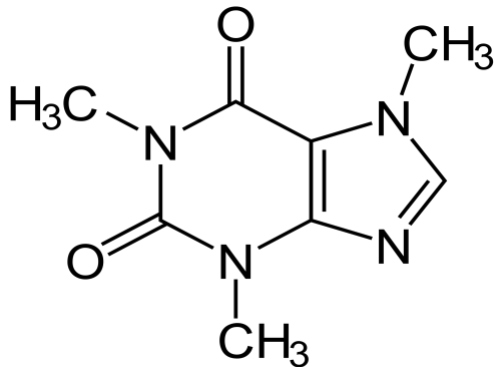
A cafeína é uma droga psicotrópica do grupo dos estimulantes do sistema nervoso central, o termo “droga” se refere a todas as substâncias psicoativas que podem ser objeto de abuso por possuírem capacidade de modificar uma ou várias funções do organismo humano, de acordo com a OMS (Organização Mundial da Saúde) a cafeína pode ser considerada uma droga estando junto de outras como a nicotina e a cocaína, além de anfetaminas também (*Ibidem*, 2000). A cafeína apresenta efeitos reforçadores que podem ser parcialmente devidos à ativação do sistema dopaminérgico (*Ibidem*, 2000).

Existem múltiplas hipóteses das razões pelas quais a cafeína provoca efeitos fisiológicos diversos no corpo humano, sendo que o consenso científico considera como uma das mais plausíveis a teoria de que a cafeína impede o efeito da adenosina, que é uma substância cuja

função é reduzir as descargas nervosas espontâneas, a cafeína ocupa os receptores da adenosina em outras partes do corpo além do cérebro o que impossibilita a adenosina de cumprir com sua responsabilidade de causar sono o que resulta na sensação de estar “ligado” (Santos, 2013).

Abaixo, na Figura 2, é apresentada a fórmula estrutural da cafeína:

**Figura 2:** Estrutura química da cafeína.



FONTE: Chemistry Stack Exchange (2016).

No entanto, existem outras aplicações médicas para a cafeína como tratamento de enxaquecas, controlador de pressão sanguínea e até mesmo diuréticos, pesquisas recentes demonstram que a substância pode vir a ser utilizada em tratamentos de Parkinson no futuro (Santos, 2013).

Porém, um fato inegável quanto ao composto químico da cafeína é que este é tóxico, isto porque uma única dose de 10 g da droga aplicada a um ser humano adulto de peso e altura média é capaz de provocar um resultado fatal (*Ibidem*, 2013).

## 3 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1 MATERIAIS E REAGENTES

- Água ultra-pura (é uma água que após passar por processos com alto nível de especificação, foi purificada para se tornar apta em aplicações que exigem ausência de microrganismos como bactérias, além de minerais e outras impurezas, como por exemplo fabricação de medicamentos, análises de laboratório etc);
- Balão volumétrico (é um recipiente, usualmente de vidro, cuja finalidade é realizar a medição de soluções e líquidos com extrema exatidão e precisão, tendo formato de uma bola achatada na base e um cano estreito da parte superior até o topo);
- Béquer (é um recipiente típico de vidraria de laboratório, semelhante a um copo que serve para manipulação de soluções e trabalho com elementos líquidos);
- Cafeína (substância química com princípios psicoativos, classificada como droga estimulante, está presente em bebidas como cafés, chás, refrigerantes, etc);
- Chá-matte (é um produto feito à base de folhas tostadas e picadas de erva-mate, planta *Ilex Paraguariensis*, que é preparado por infusão em água quente e cuja composição, além da cafeína também possui alcaloides, proteínas, glicídios e lipídios);
- Cubeta (é um recipiente pequeno, em formato de tubo quadrangular ou circular e transparente, que é utilizado para análises de laboratório, podendo ser de diferentes materiais, a depender da exigência do experimento);
- Diclorometano (é um solvente orgânico utilizado para realizar separações líquido-líquido a partir da diferença de solubilidade, imiscível com água, incolor, não inflamável e de odor doce);
- Espátula (é uma haste achatada semelhante a uma colher utilizada para retirar materiais de frascos, dosar quantidades e encaminhar transferências de amostras entre diferentes frascos);
- Espectrofotômetro (é um equipamento de análises que mede a intensidade de luz absorvida ao passar por uma amostras, oferecendo os valores de transmitância (luz transmitida) e absorbância (luz absorvida));
- Funil de separação (é uma vidraria de laboratório cuja finalidade é a separação de líquidos imiscíveis com densidades diferentes);



- Pipeta graduada (é um instrumento de medição utilizado para transferir líquidos de um recipiente para o outro com precisão de volume);
- Sulfato de sódio (é um composto químico, o sal de sódio do ácido sulfúrico, possui várias aplicações industriais e tem potencial como agente secante, para remover umidade de amostras);
- Suporte universal (é uma haste metálica vertical utilizada em laboratórios científicos para dar sustentação a vidrarias, peças, pinças e outros materiais);

### **3.2 DESCRIÇÃO DA METODOLOGIA**

Pesquisas realizadas em laboratório (como a do presente trabalho) utilizam-se comumente de métodos experimentais, nesta categoria de pesquisa é determinado um objeto de análise que será o objeto central do estudo, para que, na sequência, sejam selecionadas as variáveis que apresentam influência sobre este objeto, por fim definem-se as formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto.

A pesquisa realizada pode ser classificada como quanti-qualitativa, isto se deve ao fato de que os métodos apresentam um caráter exploratório e investigativo, cuja a descrição dos resultados da análise se encaminha para uma perspectiva indutiva, onde os dados obtidos são uma mistura de variáveis, palavras e imagens, no entanto também são expressos resultados numéricos que são apresentados graficamente e analisados, desta forma, misturando os tipos de pesquisa quantitativa e qualitativa.

No que se refere a natureza da pesquisa, pode-se considerar básica (fundamental) pois visa realizar uma análise específica de uma questão em estudo para apresentar resultados explicativos e científicos, usualmente os resultados de pesquisas desta natureza servem de base para outros trabalhos, não apenas de pesquisas básicas (fundamentais) como também de pesquisas aplicadas. Os objetivos de pesquisas desta natureza são: aplicar o aprendizado de um caso em outro similar, buscar explicar a razão por trás da ocorrência de fenômenos a partir da obtenção de fatos e validar procedimentos básicos.

### **3.3 MÉTODOS**

Para cumprir o objetivo geral do trabalho, ou seja, desenvolver um experimento didático para a disciplina de Análise Instrumental a partir do uso da Espectroscopia UV-Vis, fez-se necessário determinar qual seria o composto que viria a originar as amostras que seriam submetidas a leituras quantitativas e qualitativas pelo espectrofotômetro. Para este trabalho foi selecionada a cafeína, esta escolha foi realizada por ser um produto comercial relativamente acessível que se encontra facilmente em lojas, farmácias e outros estabelecimentos tanto em pílulas quanto em outros formatos como pó ou líquido. Ademais é um composto químico relativamente conhecido e, portanto, o entendimento de sua aplicação é simplificado.

Na espectroscopia, absorção de luz por uma determinada matéria é utilizada para se obter a concentração de uma substância em solução, no caso da presente pesquisa, sendo a cafeína a substância em análise, a fonte escolhida foi o chá mate, portanto busca-se verificar a presença de cafeína em uma solução de chá, a relevância da absorbância no experimento é que este é o indicativo que determinará se há ou não o composto buscado na bebida.

As amostras de chá foram preparadas por infusão e a cafeína foi extraída da amostra em diclorometano.

#### **3.3.1 PREPARO DA SOLUÇÃO ESTOQUE A PARTIR DA CAFEÍNA EM PÓ**

Para o preparo dos padrões utilizados na obtenção da curva de calibração, partiu-se de uma solução estoque de cafeína de 100 ppm. Esta solução foi diluída para concentrações iguais a 10, 20, 30, 40 e 50 ppm. O solvente utilizado no preparo da solução estoque e na diluição dos padrões foi água ultra pura.

#### **3.3.2 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE CHÁ MATTE PARA ANÁLISE NO UV-VIS**

A primeira parte da metodologia consistiu no preparo da amostra de chá mate tostado da marca Leão, para isto foi realizada a pesagem de dois sachês e uma vez que o peso foi registrado pôde-se realizar a infusão em água ultra pura fervente por dez minutos. Em seguida, a solução descansou durante alguns minutos para diminuir a temperatura, uma vez resfriada foi filtrada e transferida para um balão volumétrico cujo volume foi completo até o menisco.

O fato é que a análise por espectroscopia UV-Vis não permite que o chá seja submetido a leitura diretamente, isto porque no equipamento os outros componentes presentes no chá acabam interferindo na leitura espectrofotométrica e oferecendo resultados inconsistentes,

devido a isto, será utilizado a metodologia de extração da cafeína do chá mate por diclorometano no funil de separação.

Devido a isto houve a necessidade de extrair a cafeína, neste processo um funil de separação foi colocado num suporte universal e, com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 20mL foram retiradas duas alíquotas do chá preparado, totalizando 40mL. Na sequência, com o auxílio de uma pipeta volumétrica de 10mL em uma capela foi retirado um volume de 10mL de diclorometano que foi acrescentado no funil também, para agitá-lo posteriormente e aguardar a decantação, que uma vez completa apresentou duas fases: a fase aquosa, na parte superior do funil e a fase orgânica de diclorometano, contendo a cafeína, na parte inferior. Todo este processo foi repetido, acrescentando-se mais uma alíquota de 10mL de diclorometano.

Após a separação das fases, a fase orgânica foi recolhida em um béquer, e neste acrescentou-se uma pequena quantidade de sulfato de sódio, que atuou como agente secante na remoção da água, finalizado este processo, a solução foi filtrada e a amostra contendo diclorometano em cafeína foi obtida.,

Com uma pipeta automática, colocou-se 2,5 mL de diclorometano numa cubeta de quartzo e 0,5mL da amostra extraída no funil de separação buscando obter-se uma leitura plausível no espectrofotômetro, utilizando o diclorometano como branco a amostra diluída foi submetida a leitura e ofereceu resultados, demonstrando que o experimento desenvolvido cumpriu com seu objetivo.

A extração da cafeína da amostra de chá preparada como descrito acima, foi realizada com base nos experimentos de ATOMSSA, T; GHOLAP, A. V., 2011.

### **3.3.3 LEITURA DAS AMOSTRAS NO ESPECTROFOTÔMETRO**

O equipamento utilizado na realização das análises foi o Espectrofotômetro da marca YOKE Instruments, modelo K9000, operando na faixa de 190 a 1100 nm, alocado no Laboratório de Físico-Química da Fatec Campinas. As leituras das diferentes amostras - padrões de cafeína, cafeína em água e cafeína em diclorometano – foram realizadas utilizando-se cubetas de quartzo.

O espectrofotômetro possui duas lâmpadas, uma de deutério e outra de tungstênio, a de deutério realiza as leituras na região do ultravioleta (190 a 390nm) enquanto que a de tungstênio realiza as leituras da região visível (400 a 800nm), estas características influenciam diretamente na escolha da cubeta utilizada na análise. Cubetas são tubos de tamanho pequeno que podem ser quadrangulares ou circulares, produzidas de plástico, vidro, quartzo ou outros materiais, são utilizadas para guardar a amostra em análise, a principal diferença entre as cubetas de diferentes materiais são suas capacidades de absorção e os custos envolvidos. As cubetas de plástico servem para ensaios simples, rápidos e que não exigem muita precisão, as de vidro são para região visível pois absorvem radiação, sendo assim impróprias para leituras no ultravioleta, neste último caso são aplicadas as de quartzo.

### **3.3.4 CURVA DE CALIBRAÇÃO**

Para a construção da curva de calibração foram lidos os padrões obtidos por diluição da solução estoque de 100 ppm foram obtidos padrões de 10, 20, 30 e 40 ppm. As leituras foram feitas fixando-se o comprimento de onda máximo de absorção em 275 nm. Foi utilizada água ultra pura como branco. O comprimento de onda de máxima absorção foi determinado a partir da obtenção do espectro de absorbância do padrão de cafeína em água ultra pura.

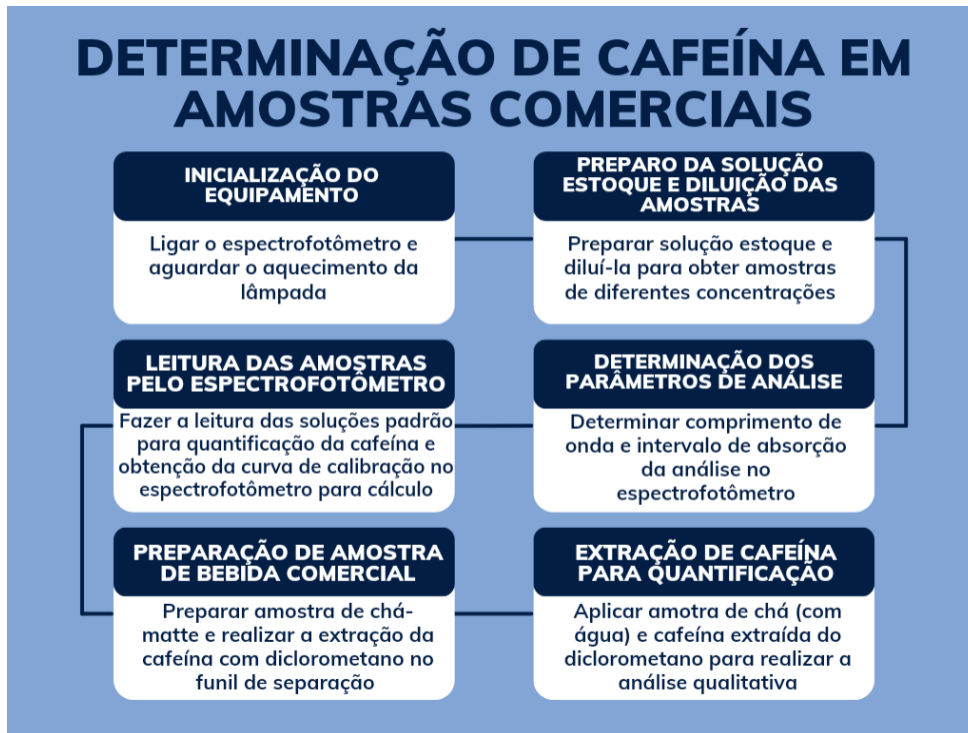
### **3.3.5 LEITURA DO CHÁ EM ÁGUA E DO CHÁ EM DICLOROMETANO**

O espectro da amostra do chá em água foi obtido definindo-se uma faixa de comprimento de onda de 240 a 350 nm. Foi utilizada água ultra pura como branco.

Para a amostra de cafeína em diclorometano, foi utilizada a mesma faixa de comprimento de onda e diclorometano foi utilizado como branco.

A Figura 3, a seguir, apresenta um fluxograma da metodologia utilizada no trabalho.

**Figura 3:** Esquema simplificado das etapas da metodologia



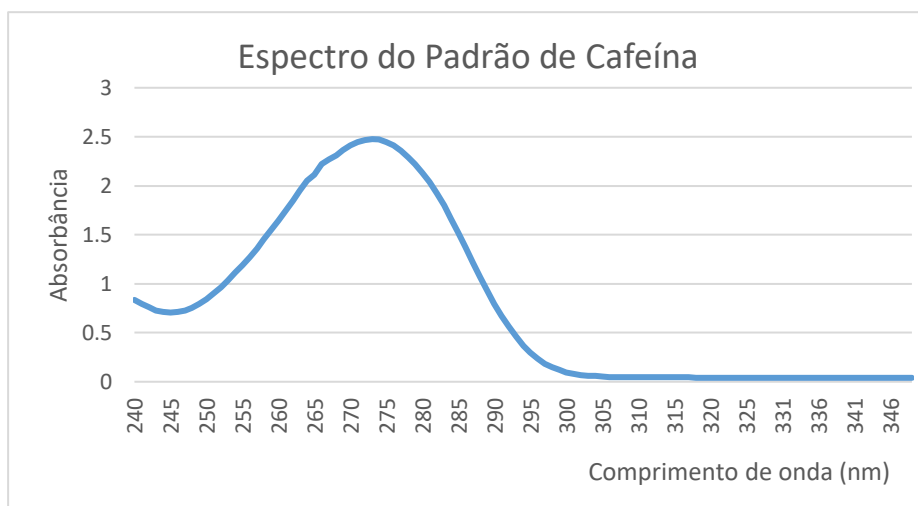
**FONTE:** Autor (2024).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO DA CAFEÍNA EM ÁGUA ULTRA PURA

Inicialmente, para determinação do comprimento de onda de máxima absorção da cafeína, utilizado na obtenção da curva de calibração, foi obtido o espectro da amostra de padrão de 50 ppm. A Figura 4 apresenta o espectro de absorção do padrão de 50 ppm.

**Figura 4:** Espectro de absorção do padrão de 50 ppm de cafeína.



**FONTE:** Autor (2024).

Observa-se no espectro da Figura 3, que o máximo de absorção da cafeína está definido em 275 nm. Este foi o comprimento de onda de absorção fixado nas leituras dos padrões.

As leituras de absorbância, em 275 nm, obtidas para os padrões estão listados na Tabela 1.

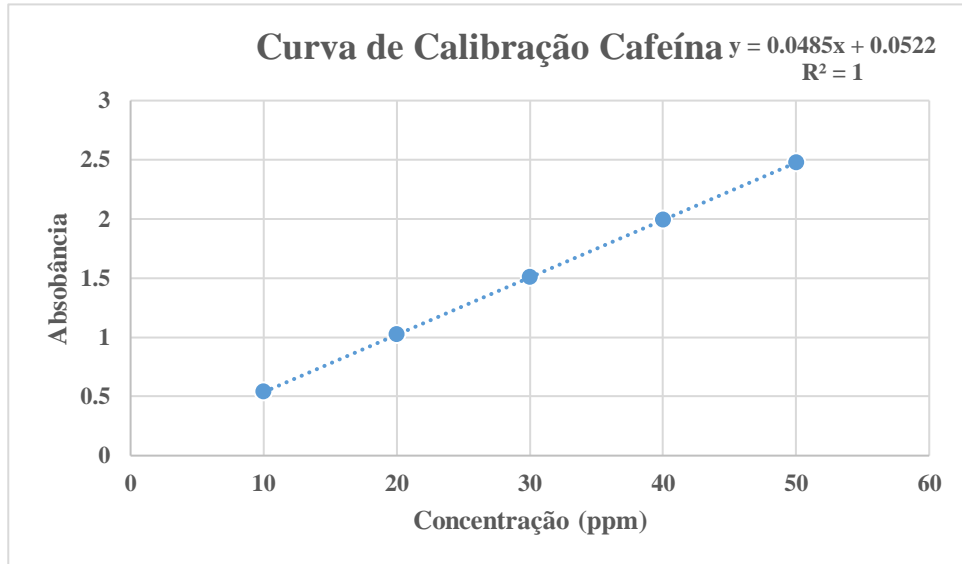
**Tabela 1:** Absorbância das amostras padrão de cafeína em diferentes concentrações.

Absorbância	Concentração (ppm)
0.537	10
1.021	20
1.507	30
1.989	40
2.476	50

**FONTE:** Autor (2024).

Com as absorbâncias lidas para cada concentração, foi possível obter uma curva de calibração, como mostrado na Figura 5.

**Figura 5:** Curva de calibração da cafeína em água.

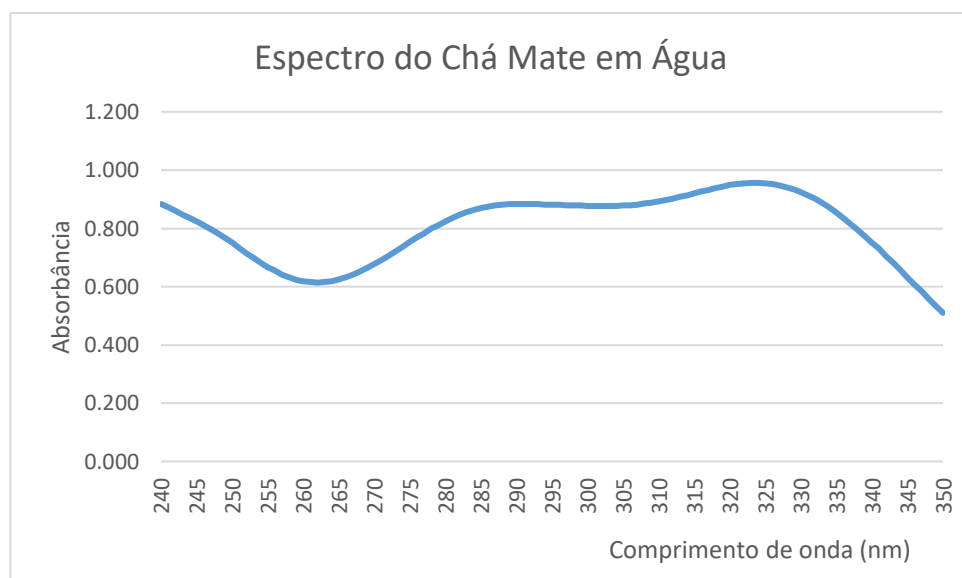


**FONTE:** Autor (2024).

## 4.2 DETERMINAÇÃO DE CAFEÍNA NAS AMOSTRAS DE CHÁ

O gráfico da Figura 6, apresenta o espectro de absorção da cafeína na amostra de chá em água ultrapura.

**Figura 6:** Espectro de absorção do chá mate em água.



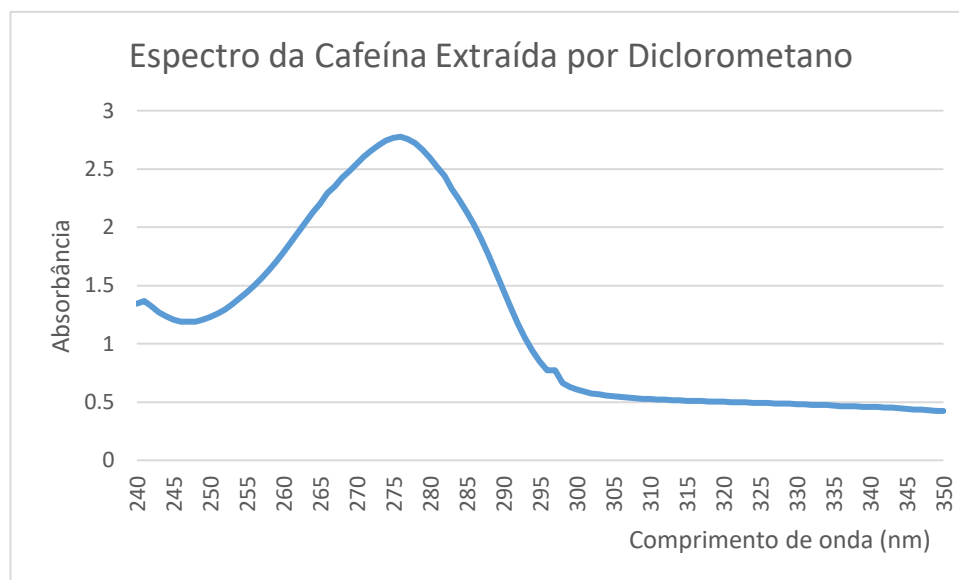
**FONTE:** Autor (2024).

Pode-se observar nesta figura que o perfil do espectro de absorção obtido para a amostra é bem diferente do esperado para a cafeína (vide Figura 4). Esta diferença no perfil do espectro

está associada aos outros compostos orgânicos presentes no chá que, como observado no espectro da Figura 6, também absorvem na mesma região da cafeína.

Desta forma, foi realizada a extração da cafeína, presente na amostra do chá em água, utilizando-se diclorometano. Após a extração, o espectro obtido para amostra de cafeína em diclorometano, é apresentado na Figura 7.

**Figura 7:** Espectro da cafeína extraída por diclorometano.



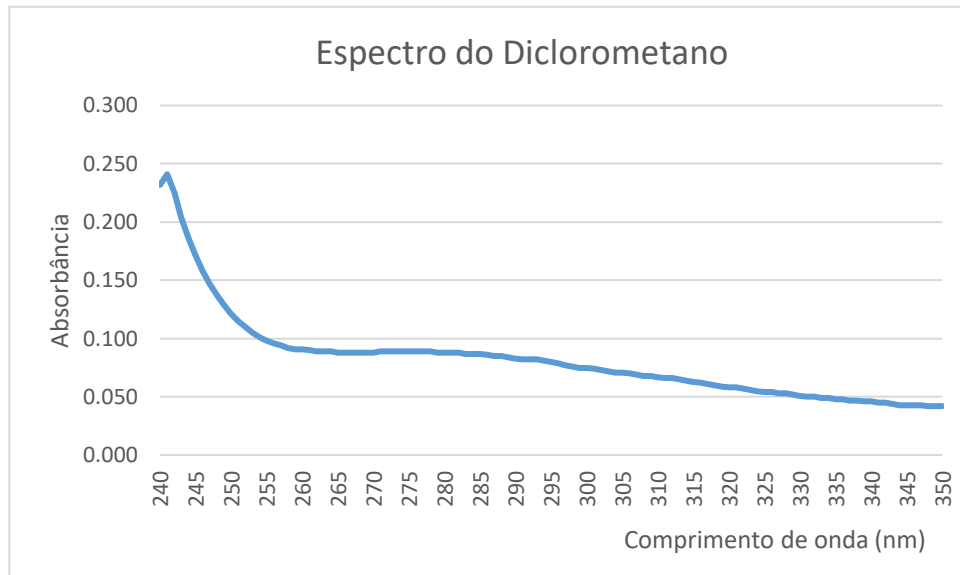
**FONTE:** Autor (2024).

No entanto, se analisar o espectro do mesmo chá mate preparado com água após o procedimento de extração, vê-se que o mesmo é muito semelhante ao do padrão, e que, desta forma sim é possível identificar a cafeína e apenas a cafeína, sem interferência de outras substâncias presentes na composição do chá.



Para evidenciar que no espectro de absorção da amostra de cafeína em diclorometano não houve interferência do solvente, foi analisado apenas o diclorometano no espectrofotômetro (Figura 8). Pelo perfil do espectro, pode-se inferir que o diclorometano não apresenta absorção na mesma faixa de absorção da amostra, portanto não há influência do solvente no espectro de absorção da cafeína em diclorometano.

**Figura 8:** Espectro de absorção do diclorometano.



**FONTE:** Autor (2024).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho propunha o desenvolvimento de um experimento didático para a disciplina de Análise Instrumental, que exploraria as funcionalidades do espectrofotômetro disponível na Fatec Campinas a partir de análises cujo objetivo era a quantificação de cafeína em amostras de bebidas comerciais. O desenvolvimento do projeto, especialmente no que se refere a metodologia foi muito enriquecedor e eficiente, pois permitiu o contato com muitos conceitos relevantes da Química Geral e Experimental, da Química Analítica e obviamente da Análise Instrumental.

Todos os objetivos do trabalho foram cumpridos, sendo estes: compreender o funcionamento do espectrofotômetro disponível na Fatec Campinas e explorar todas as suas potencialidades como ferramenta analítica na determinação de diferentes compostos, desenvolver um método de determinação de cafeína em amostras comerciais (extração da cafeína por diclorometano) e desenvolver um roteiro de uso do espectrofotômetro, de forma que qualquer docente e/ou aluno tenha condições de utilizar o equipamento.

No entanto, o trabalho não foi capaz de cumprir com sua proposta inicial de quantificação de cafeína em amostras comerciais, tendo feito uma análise qualitativa somente em chá, e buscando outros exemplos na literatura, ademais a análise realizada que permite verificar a presença da cafeína no chá-mate não expressa a quantidade em que a substância se encontra na bebida.

Apesar disso, o trabalho foi eficiente em aplicar as capacidades do espectrofotômetro e demonstrar a eficiência de um método de extração de cafeína para análise, e não ter sido capaz de realizar todas as quantificações por questões de prazo não se mostra em um todo ruim, pois, com a metodologia e os resultados desenvolvidos e apresentados o projeto deixou uma porta aberta para que, no futuro, outros estudantes repliquem a técnica e consigam, efetivamente quantificar a substância em amostras, ou seja, a proposta do presente trabalho dá margem para futuras análises de natureza semelhante e oferece contribuição a comunidade acadêmica, demonstrando relevância e valor educativo, especialmente no que se refere a experimentação da disciplina de análise instrumental.

Por fim, com relação a proposta do desenvolvimento de um roteiro de uso prático do espectrofotômetro, isto também foi realizado com sucesso e é apresentado no Apêndice 1 do presente trabalho, logo após as referências bibliográficas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ATOMSSA, Tadelech; GHOLAP, A. V. **Characterization of Caffeine and Determination of Caffeine in Tea Leaves Using Uv-Visible Spectrometer**. African Journal of Pure and Applied Chemistry Vol. 5(1), pp. 1-8, jan. 2011. Department of Physics, Faculty of Science, Addis Ababa University, P.O. Box 1176, Addis Ababa, Ethiopia.
- BUENO, Lígia *et al.* **O Ensino de Química por Meio de Atividades Experimentais: A Realidade do Ensino nas Escolas**. 8p. São Paulo, 2008. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente.
- CARDOSO, P. S.; COLINVAUX, Dominique. **Explorando a Motivação para Estudar Química**. Rio de Janeiro, 2000. 4p. Escola Técnica Federal de Química. Faculdade de Educação - Universidade Federal Fluminense.
- CHANG, Raymond; GOLDSBY, A. K. **Química**. 11ed. Rio Grande do Sul: AMGH Editora, 2013.
- CLARO, P.R. **Espectroscopia**, Rev. Ciência Elem., 2017. v.5(4):052, n.4.
- CONSTANTINO, G. M.; SILVA, J. V. G.; DONATE, M. P. **Fundamentos de Química Experimental**. São Paulo: Editora da Universidade Estadual de São Paulo, 2004.
- EWING, W. G. **Métodos Instrumentais de Análise Química**. 1ed. São Paulo: Editora Blucher, 1972.
- FERREIRA, H. L.; HARTWIG, R. D.; OLIVEIRA, C. R. **Ensino Experimental de Química: Uma Abordagem Investigativa Contextualizada**. Rev. Química Nova na Escola. v. 32, n. 2, 2010.
- FILHO, B. H. *et al.* **Espectrofotometria no Ultravioleta e Visível**. São Paulo, 2010. 21p. Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade Estadual de São Paulo.
- GUERRA, O. R.; BERNARDO, C. G; GUTIÉRREZ, V. C. Cafeína e Esporte. **Revista Brasileira de Medicina e Esporte**, p.1, Granada, 2000.
- JUNIOR, A. P. **Espectroscopia Molecular**. Pará, 2022. 5p. Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Departamento de Física.
- JUNIOR, V. S. **Análise Química Instrumental e sua Aplicação no Controle de Qualidade de Biocombustíveis**. 7p. Brasília – DF, Embrapa Agroenergia, 2010.
- LIMA, L.S. **Lei de Lambert–Beer**. Rev. Ciência Elem., V1(01):047. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Casa das Ciências. Porto (Portugal), 2013.

MARIA, B. A. C.; MOREIRA, A. F. R. **Cafeína: Revisão Sobre Métodos de Análise**. Rio de Janeiro, 2007. 7p. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Ciências Fisiológicas, Instituto Biomédico.

MARIANO, S. R. **Determinação de Cafeína em Bebidas Estimulantes por Cromatografia Líquida e Espectrofotometria**. Paraná, 2018. 63p. Tese (Licenciatura em Química) — Departamento Acadêmico de Química, Universidade Tecnológica do Paraná. Londrina (PR), 2018.

MATOS, P. S. **Técnicas de Análise Química: Métodos Clássicos e Instrumentais**. 1ed. São Paulo: Editora Érica - Saraiva, 2014.

MOTA, R. A. A. **Espectroscopia UV-Vis: Princípios Básicos**. Distrito Federal: Uniceplac – Centro Universitário, 2022. 55p.

MURITO, C. M. M.; FINETE, M. L. V. Capítulo 5. *In*: MURITO, C. M. M. **Fundamentos em Química Experimental**. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 223-286.

ROQUE, F. N.; SILVA, B. P. J. L. **A Linguagem Química e o Ensino da Química Orgânica**. Salvador – BA, 2008. 3p. Universidade Federal da Bahia, Campus Universitário de Ondina.

SANTOS, N. L. **Café e Cafeína: Uma Abordagem Contextualizada e Interdisciplinar**. Universidade de Brasília, Instituto de Química. Brasília, 2013.

SEFSTROM, Carolina. **Elaboração de Material Didático para Disciplina de Análise Instrumental**. Paraná, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Coordenação de Química, 2011.

SERRA, A. A.; BARBOZA, S. C. J. **Análise Instrumental: Introdução / Diretrizes / Recordações**. São Paulo, Universidade de São Paulo, 2019.

SUART, C. R.; MARCONDES, R. E. M. **As Habilidades Cognitivas Manifestadas por Alunos do Ensino Médio de Química em uma Atividade Experimental Investigativa**. Revista Brasileira de Educação e Ciências. v. 8; n. 2. Instituto de Química, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

Universidade Federal de Juiz de Fora, Espectrometria UV-Vis. Disponível em: <https://www.ufjf.br/quimica/files/2016/08/Espectrometria-UV-vis.pdf>. Acesso em: 21 out. 2023.

Universidade Federal de Pelotas, Análise Instrumental Forense. Disponível em: <https://institucional.ufpel.edu.br/disciplinas/cod/D000388>. Acesso em: 01 nov. 2023.

## APÊNDICE 1

**ROTEIRO DE USO PRÁTICO DO ESPECTROFOTÔMETRO**ESPECTROFOTÔMETRO YOKE INSTRUMENTS (MODELO K9000)

## A) LIGANDO O EQUIPAMENTO

1. Ligar o equipamento acionando o botão presente na parte de trás do mesmo e aguardar até que a lâmpada aqueça, por 20 minutos que serão cronometrados no painel do próprio equipamento.
2. Clicar em “Wavelength Scan” no painel do equipamento, e, em seguida, clicar em “configurações” para determinar as variáveis da análise, selecionar a faixa de leitura do comprimento de onda da análise (de 190 a 1100 nm), se optará por analisar absorbância ou transmitância, intervalo, quantidade de amostras e outros dados pertinentes.
3. Selecionar a cubeta que será utilizada na análise, levando-se em consideração seu material em detrimento da faixa de comprimento de onda utilizada, considerando-se que plástico e vidro só leem no espectro visível e quartzo lê no ultravioleta.

## B) CALIBRAÇÃO DO EQUIPAMENTO

1. Manusear a cubeta com responsabilidade e cautela, utilizando um papel macio para que a mão não esteja em contato direto com o material, independente de qual seja este, para garantir que a gordura natural da mão não manche a mesma, pois isto interferiria na leitura espectrofotométrica quando o feixe de luz atravessá-la.
2. Abrir o porta-amostras do equipamento e, no espaço isolado dos outros espaços para amostras aplicar o branco, ou seja, colocar uma cubeta preenchida com uma solução onde não há a presença da substância de interesse, portanto, do analito.
3. Fechar o porta-amostras, apertar a opção “Zero” no painel do equipamento e aguardar até que o espectrofotômetro produza a leitura do branco para que, desta forma, esteja devidamente calibrado no comprimento de onda anteriormente selecionado.

**Figura 1:** Espectrofotômetro da marca YOKE Instruments modelo K9000.



**FONTE:** Autor (2024).

### C) LEITURA DAS AMOSTRAS

1. Selecionar uma cubeta, manuseá-la em papel macio e preenchê-la com o analito, em seguida abrir o porta-amostras e colocá-la em algum dos espaços disponíveis, é possível ler mais de uma amostra ao mesmo tempo a depender da disponibilidade de cubetas e da vontade do responsável pela análise.
2. Clicar em “Test” no painel do equipamento e aguardar até que a máquina esboce o espectro de absorção e, ao final, indique qual foi a absorbância obtida em cada faixa do comprimento de onda selecionado para análise.
3. Clicar em “cancel” caso não haja interesse em salvar a leitura realizada, quando a análise tiver sido encerrada e o equipamento expor no painel a opção de salvamento.
4. Salvar a leitura realizada pelo equipamento, levando-se em consideração que as teclas são compartilhadas em várias opções de números e letras, portanto, no 1 estão também as opções de “a, b, c” e assim por diante nas outras teclas do painel.
5. Fazer a próxima leitura caso todas as amostras não tenham sido analisadas simultaneamente, em caso de reutilização da cubeta fazer a ambientação com a próxima amostra.

### D) CURVA DE CALIBRAÇÃO

1. No painel do espectrofotômetro, clicar em “Quantitation” e, na tela que se abrirá a seguir, clicar em “Create Curve” e determinar o intervalo, o comprimento de onda, a quantidade de amostras e a unidade de medida (ppm) das soluções a serem analisadas.
2. Selecionar a primeira solução a ser analisada e colocá-la em uma cubeta, sendo que esta deve ser a que possui menor concentração, para, na sequência, depositá-la em um dos espaços destinados a amostra no equipamento e clicar em “Test”.
3. Realizar esta leitura em duplicata para garantir a confiabilidade do resultado, e, posteriormente, efetuar a análise nas outras amostras em ordem crescente (da menor para a maior).
5. Observar o gráfico fornecido pelo equipamento, se atentando ao fato de que a concentração corresponde ao Y e a absorbância ao X, considerar que o gráfico expressa a posição de cada amostra em sequência, da menor concentração para a maior formando assim uma reta.
6. Verificar a Equação da Reta e o  $R^2$  fornecidos pelo equipamento, utilizar tais dados para confirmar as estimativas iniciais e obter a informação buscada.