



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**  
**CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**



**LARISSA MAYARA DA SILVA GOMES**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA A  
DETERMINAÇÃO ESPECTROFLUORIMÉTRICA DE NITRATO E NITRITO  
EM LEITE EXPLORANDO UM COMPOSTO DE COORDENAÇÃO À BASE  
DE EURÓPIO (III)**

**RECIFE**

**2020**

**LARISSA MAYARA DA SILVA GOMES**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA A  
DETERMINAÇÃO ESPECTROFLUORIMÉTRICA DE NITRATO E NITRITO  
EM LEITE EXPLORANDO UM COMPOSTO DE COORDENAÇÃO À BASE  
DE EURÓPIO (III)**

**Monografia apresentada como pré-requisito  
de conclusão do Curso de Licenciatura em  
Química, da Universidade Federal Rural de  
Pernambuco.**

**Orientador: Prof. Dr. André Fernando  
Lavorante**

**RECIFE**

**2020**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal Rural de Pernambuco  
Sistema Integrado de Bibliotecas  
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- G633d Gomes, Larissa Mayara da Silva  
Desenvolvimento de um procedimento analítico para a determinação espectrofluorimétrica de nitrato e nitrito em leite explorando um composto de coordenação à base de európio (III) / Larissa Mayara da Silva Gomes. - 2020.  
50 f. : il.
- Orientador: Andre Fernando Lavorante.  
Coorientadora: Monica Freire Belian.  
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Licenciatura em Química, Recife, 2020.
1. Composto de coordenação. 2. Nitrato. 3. Nitrito. 4. Análise de leite. 5. Fluorescência. I. Lavorante, Andre Fernando, orient. II. Belian, Monica Freire, coorient. III. Título

**LARISSA MAYARA DA SILVA GOMES**

**DESENVOLVIMENTO DE UM PROCEDIMENTO ANALÍTICO PARA A  
DETERMINAÇÃO ESPECTROFLUORIMÉTRICA DE NITRATO E NITRITO  
EM LEITE EXPLORANDO UM COMPOSTO DE COORDENAÇÃO À BASE  
DE EURÓPIO (III)**

**Monografia apresentada como pré-requisito  
de conclusão do Curso de Licenciatura em  
Química, da Universidade Federal Rural de  
Pernambuco.**

**APROVADA EM 23 / 10 / 2020**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. André Fernando Lavorante – DQ/UFRPE**  
**Orientador**

---

**Prof. Dr. Alex Souza Moraes – DQ/UFRPE**  
**Primeiro Examinador**

---

**Prof. Dr. José Euzebio Simões Neto – DQ/UFRPE**  
**Segundo Examinador**

**RECIFE**

**2020**

## RESUMO

---

O leite é um alimento muito importante para os seres humanos, sendo uma fonte de proteínas e minerais essenciais para a manutenção da vida. Devido a este fato, as políticas públicas enfatizam a necessidade da produção de produtos de qualidade. O leite passa por diversos processos de manuseio, desde sua ordenha até seu direcionamento para os devidos fins, que são fundamentais para a manutenção da sua qualidade. Geralmente são realizados investimentos em instalações climatizadas, reservatórios e equipamentos feitos de material antioxidante e capacitação dos envolvidos no processo de produção. Porém, estes pontos não mostram um fim lucrativo evidente para os empresários da indústria láctea. Com base nesse fato, algumas empresas podem recorrer à métodos mais práticos, como, por exemplo, a adição de adulterantes no leite, para que assim ele seja conservado. O ponto fundamental do emprego desses aditivos é a inibição da proliferação microbiana. Os nitritos e nitratos de sódio e potássio se encontram na lista de conservantes amplamente utilizados pela a indústria alimentícia. A utilização desses dois ânions em alimentos é referente ao seu poder conservante, porém, seu excesso no organismo pode causar problemas devido à toxicidade, ocasionando a formação endógena de nitrosaminas que apresentam potenciais carcinógenos, teratogênicos e mutagênicos. O objetivo desse trabalho é desenvolver uma metodologia para a determinação de nitrato e nitrito em amostras do leite consumido pela população do Recife, no Estado de Pernambuco, por meio da interação destes ânions com o composto de coordenação  $[Eu(12\text{-coroa-4})_2\text{fen}]\text{Cl}_3$ , responsável pela fluorescência do sistema, pois a interação com o nitrato e nitrito suprime parcialmente a sua fluorescência, possibilitando a realização da correlação linear entre a concentração dos analitos com o *quenching* do composto de coordenação. As respostas analíticas foram obtidas a partir do uso de padrões de concentrações entre 0,5 à 10,0 mg L<sup>-1</sup> {R<sub>NO<sub>3</sub></sub> = 0,994 / R<sub>NO<sub>2</sub></sub> = 0,995}, demonstrando a viabilidade do método proposto para a análise de nitrato e nitrito.

**Palavras-chave:** Composto de coordenação. Nitrato. Nitrito. Análise de Leite. Fluorescência.

## ABSTRACT

---

Milk is a very important food for humans, being a great source of proteins and minerals essential for maintenance of life. Due to this fact, public and private policies emphasize the need to produce quality products. The milk goes through several management processes, from milking until arrive at supermarket's shelves, which are fundamental for its quality maintenance. Usually investments are made in air-conditioned facilities, reservoirs and equipment made of antioxidant material and training of those involved in the production process. However, these points do not show an obvious profitable end for entrepreneurs in dairy industry. Based on this fact, some companies resort to more practical methods, such as addition of adulterants in milk, so that it is conserved. The fundamental point of using these additives is inhibition of microbial proliferation. Sodium and potassium nitrites and nitrates are on the list of preservatives widely used by the food industry. The use of these two anions in food is related to their preservative power, however, its excess in a body can cause problems due to their toxicity, causing an endogenous formation of nitrosamines that have potentials carcinogenic, teratogenic and mutagenic potentials. The objective of this work is to develop a methodology that aims to determine nitrate and nitrite in milk samples consumed by population of Recife in Pernambuco's state, through interaction of these anions with a coordination compound [Eu(12-crown-4).2phen].Cl<sub>3</sub>, responsible for system's fluorescence, since the interaction with nitrate and nitrite partially suppresses its fluorescence in this way, enabling the linear correlation between the concentration of the analytes and quenching of the coordinating compound. Those analytical answers were obtained by using with concentration from 0.5 to 10.0 mg.L<sup>-1</sup>, obtained a correlation coefficient readings were performed varying the concentration between 0.5 to 10.0 mg.L<sup>-1</sup> {R<sub>NO<sub>3</sub></sub> = 0.9941 / R<sub>NO<sub>2</sub></sub> = 0.995}, demonstrating the feasibility of the proposed method for analysis of nitrate and nitrite.

**Keywords:** Coordination compound. Nitrate. Nitrite. Milk analysis. Fluorescence.

## Agradecimentos

---

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por tornar possível a realização desse sonho que está se concluindo;

Gostaria de agradecer também ao meu Orientador Prof. Dr. André Fernando Lavorante pelo acolhimento, parceria e orientação durante todo esse período de desenvolvimento do projeto;

À Profa. Dra. Mônica Freire Belian por ter me guiado para a pesquisa na área que eu me identificava, e pela Coorientação;

À minha família, em especial à minha mãe e ao meu pai por todo apoio e suporte fornecido para sempre priorizar os meus estudos;

Aos amigos em geral, tanto de laboratório, como da graduação e da vida, por acreditarem em mim, por todo companheirismo e ajuda para que esse trabalho pudesse ser desenvolvido: Arthur, Amanda Laysa, Carol, Thayná, Julyana, Nathália, Bia, Lidiane, Renê, Amandinha, Rayane, Gabriel, Arthur Vinicius, Arielle, Jade, Thayná Carla, Maria Eduarda, Dudinha, Malu e Julia;

Aos profissionais que operaram algumas análises de Espectroscopia na Central Analítica da UFRPE (LABMAQ);

E por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento do projeto.

**Sometimes science is more art than science...**

**- Sanchez, Rick**

# SUMÁRIO

<b>1.0 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2.0 OBJETIVOS</b> .....	3
2.1 OBJETIVO GERAL .....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
<b>3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	4
3.1 LEITE BOVINO .....	4
3.2 ADULTERAÇÕES NO LEITE .....	4
<b>3.2.1 Agentes Reguladores de Acidez</b> .....	5
<b>3.2.2 Agentes Reconstituintes da Densidade</b> .....	5
<b>3.2.3 Agentes Conservantes</b> .....	5
3.3 NITRATOS E NITRITOS EM LEITE .....	6
3.4 FOTOLUMINESCÊNCIA .....	7
3.5 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA .....	10
3.6 ELEMENTOS TERRAS RARAS (ETR) .....	11
3.6 EURÓPIO .....	15
3.7 COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO .....	16
3.8 MÉTODOS DE ANÁLISE DE NITRATO E NITRITO .....	18
<b>4.0 METODOLOGIA EXPERIMENTAL</b> .....	20
4.1 SÍNTESE DO [Eu(12-coroa-4).4H <sub>2</sub> O].Cl <sub>3</sub> .....	21
4.2 SÍNTESE DO [Eu(12-coroa-4).2fen].Cl <sub>3</sub> .....	22
4.3 ANÁLISE INSTRUMENTAL .....	23
<b>4.3.1 Espectroscopia Vibracional (região do IV)</b> .....	23
<b>4.3.2 Espectroscopia de Absorção Eletrônica (região do UV-Visível)</b> .....	23
<b>4.3.3 Espectroscopia de Fluorescência (região do UV-Visível)</b> .....	23
<b>5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA .....	24
<b>5.1.1 Espectroscopia Vibracional (região do IV)</b> .....	24
<b>5.1.2 Espectroscopia de Absorção Eletrônica (região do UV-Visível)</b> .....	26
<b>5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência (região do UV-Visível)</b> .....	27
5.2 ESTUDO DA SENSIBILIDADE DO COMPOSTO DE COORDENAÇÃO .....	28
5.3 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS ANALÍTICAS .....	30
5.4 ESTUDO DA PROPORÇÃO EM VOLUME (ECF/NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) .....	32
5.5 ESTUDO DA PROPORÇÃO EM VOLUME (ECF/NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ) .....	33
5.6 ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DO pH .....	34

<b>6.0 CONCLUSÕES</b> .....	36
<b>7.0 PERSPECTIVAS</b> .....	37
<b>8.0 REFERÊNCIAS</b> .....	38

## 1.0 INTRODUÇÃO

---

O leite possui um enorme valor nutricional, pois se mostra uma fonte considerável de proteínas de alto valor biológico, além disso, contém vitaminas e minerais. Devido suas contribuições benéficas para o ser humano, este alimento é amplamente consumido entre a população brasileira e mundial, assim ocasionando uma alta demanda<sup>1</sup>. Desse modo, torna-se necessário o estabelecimento de padrões de controle de qualidade do produto que requer um procedimento cauteloso de manuseio até sua chegada à mesa dos consumidores.

Os testes de qualidade se baseiam em métodos capazes de detectar produtos fraudados. Quando é realizada a retirada de algum dos componentes *in natura* do leite ou a adição de alguma substância que vá além da sua composição natural, considera-se que o produto foi fraudado. A principal preocupação relacionada a este ponto são as adições de substâncias que possam causar danos à saúde, e não menos importante, os prejuízos devido a diminuição do valor nutricional do produto.

As adulterações comumente empregadas são: a adição de água (diluição), desnate, adição de neutralizantes, adição de reconstituintes, uso de conservantes, entre outros<sup>2</sup>. Estes adulterantes são propositalmente adicionados ao leite para interferirem em diversos parâmetros, como por exemplo, regular a acidez e o teor de sólidos não gordurosos, alterar a densidade ou para inibir a proliferação microbiana. Com isso, os produtos são determinados com fraudes quando apresentam substâncias estranhas à sua composição natural ou quando possuam parte de seus componentes retirados<sup>3</sup>.

---

<sup>1</sup>BRASIL. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. **A importância do consumo de leite no atual cenário nutricional brasileiro**. São Paulo, 2015. 28 p. Disponível em: [http://sban.cloudpainel.com.br/source/SBAN\\_Importancia-do-consumo-de-leite.pdf](http://sban.cloudpainel.com.br/source/SBAN_Importancia-do-consumo-de-leite.pdf) Acesso em: 14 de mar. de 2020.

<sup>2</sup>ABRANTES, M. R.; CAMPELO, C. S.; SILVA, J. B. A. Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 73, n. 3, p. 244-51, 2014.

<sup>3</sup>ALMEIDA, T. V. **Detecção De Adulteração Em Leite: Análises De Rotina E Espectroscopia De Infravermelho**. 2013. 26 f. Disciplina de Seminários Aplicados (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

Entre as substâncias amplamente utilizadas para a adulteração do leite podem ser citadas os nitratos e nitritos de sódio e potássio, devido suas propriedades conservantes. Eles são compostos inorgânicos que possuem alto grau de toxicidade se consumido em elevadas concentrações. Quando presente no organismo, estes ânions podem contribuir de forma significativa para a formação de compostos nocivos à saúde de quem os consome, como por exemplo, as nitrosaminas ( $R_2N-N=O$ ), que são potenciais causadoras de sintomas adversos ao metabolismo<sup>4</sup>.

Mediante ao fato, se faz importante o desenvolvimento de novas técnicas para a determinação qualitativa e quantitativa de nitrato e nitrito em leite, para que assim seja verificada a qualidade dos produtos consumidos pela população, e que cada vez mais esses métodos possuam pontos característicos relacionados à química sustentável.

Partindo dessa premissa, temos o seguinte problema de pesquisa: a aplicação de um procedimento analítico que faz o uso de um composto de coordenação à base de európio (III) favoreceria a determinação/quantificação de nitrato e nitrito em leite?

A partir do problema de pesquisa definido pretendeu-se desenvolver um procedimento analítico que emprega o composto de coordenação à base de európio (III), éter 12-coroa-4 e 1,10-fenantrolina (possuindo a fórmula molecular  $[Eu(12\text{-coroa-4}).2\text{fen}].Cl_3$ ), para a detecção espectrofluorimétrica qualitativa e quantitativa de nitrato e nitrito em leite. Partindo da ideia de que a interação destes ânions com o composto de coordenação é quimicamente viável e ocorrerá na segunda esfera de coordenação por meio da substituição dos contra-íons presentes na estrutura do composto ( $Cl^- \rightarrow NO_3^-$  ou  $NO_2^-$ ), esta mudança estrutural possivelmente ocasionaria uma perturbação na nuvem eletrônica dos ligantes presentes na estrutura afetando o seu comportamento fluorescente, permitindo o desenvolvimento de um estudo frente a esta condição.

---

<sup>4</sup>IAMARINO, L. Z.; OLIVEIRA, A. M. C.; ANTUNES, M. M.; OLIVEIRA, M. Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados o/ou embutidos. **Gestão em foco**, São Paulo, n. 7, p. 246-50, 2015. Disponível em: <https://docplayer.com.br/32629357-Nitritos-e-nitratos-em-produtos-carneos-enlatados-e-ou-embutidos.html>. Acesso em 14 de mar. 2020.

## 2.0 OBJETIVOS

---

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um procedimento analítico para a determinação espectrofluorimétrica de nitrato e nitrito em leite explorando um composto de coordenação à base de európio (III).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar o composto de coordenação [Eu(12-coroa-4).2fen].Cl<sub>3</sub>;
- Caracterizar o composto de coordenação proposto por Espectroscopia Vibracional na região do Infravermelho, Espectroscopia de Absorção na região do UV-Visível e Espectroscopia de Fluorescência na região do UV-Visível;
- Realizar o estudo da sensibilidade do composto de coordenação com os analitos de interesse;
- Realizar o estudo da proporção em volume do nitrato e nitrito;
- Determinar pH ideal para o procedimento das análises;
- Construir as curvas analíticas para o nitrato e nitrito a partir da interação destes ânions com o composto de coordenação.

### 3.0 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

#### 3.1 LEITE BOVINO

O leite é o produto oriundo da secreção das glândulas mamárias das fêmeas no período de lactação, sendo resultado da combinação de diversos elementos sólidos em água. Seus principais constituintes são lipídios (gordura), carboidratos, proteínas, sais minerais e vitaminas, que representam aproximadamente 12 a 13% do leite, e a água, aproximadamente 87%. As micelas de caseína (principal proteína do leite) e os glóbulos de gordura (fosfatos e citratos) são responsáveis pela maior parte das características físicas (estruturais e coloração) encontradas nos produtos lácteos<sup>5</sup>. A quantificação dos componentes do leite bovino é ilustrada na **Quadro 1**.

**Quadro 1** – Composição média de um litro de leite bovino

<b>Composição média de 1L de leite Bovino</b>	
<b>Substância</b>	<b>(%)</b>
Proteínas	3,3
Gordura	3,6
Minerais	0,9
Lactose	4,9
Água	87,3

FONTE: Adaptado de TRONCO (2010)

#### 3.2 ADULTERAÇÕES NO LEITE

Devido à alta escala de produção e consumo mundial de leite, algumas indústrias realizam procedimentos para mascarar os parâmetros de qualidade, aumentando a vida útil do produto. A ação de fraudar o leite pode possuir

---

<sup>5</sup>TRONCO, V. M. **Manual de Inspeção da Qualidade do Leite**, 4. ed. Rio Grande do Sul: Editora UFSM, 2010.

objetivos distintos, como por exemplo reduzir a acidez, reconstruir a densidade, controlar as alterações provocadas por microrganismos, entre outros<sup>3</sup>.

### 3.2.1 Agentes Reguladores de Acidez

Após a ordenha, o pH natural do leite se encontra em faixa ácida devido à processos de fermentação biológica, como por exemplo, a transformação da lactose em ácido láctico. A adição de soluções alcalinas principalmente aquelas compostas por sais de cálcio e sódio, são bastante comuns, pois essas substâncias já se mostram presentes na constituição natural do leite. Elas são adicionadas de forma intencional para aumentar a conservação ou diminuir a acidez, pois o pH médio em que o leite se encontra naturalmente se mostra favorável para a proliferação microbiana, o que ocasionaria uma diminuição da vida útil do produto<sup>3</sup>.

### 3.2.2 Agentes Reconstituintes da Densidade

Os agentes reconstituintes são adicionados ao leite para garantir seu aspecto viscoso ou para aumentar seu volume. Dentro dessa categoria encontram-se as adições de amido solúvel, sacarose, soro de leite e a ureia. Este último tem sido mais empregado, pois, além de aumentar o volume provoca uma alteração mínima por possuir densidade muito próxima à do leite<sup>3</sup>.

### 3.2.3 Agentes Conservantes

Os agentes conservantes são substâncias que impedem ou retardam a deterioração do produto provocada pela ação de microrganismos ou enzimas. Os mais utilizados são dióxido de enxofre, ácido benzoico, ácido sórbico, ácido propiônico, **nitritos** e **nitratos** de sódio e de potássio<sup>6</sup>.

---

<sup>6</sup> BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 1998. 318 p.

### 3.3 NITRATOS E NITRITOS EM LEITE

Amplamente utilizados como conservantes pela indústria alimentícia, os nitratos e nitritos podem ser encontrados desde produtos cárneos ao leite. Apesar do seu benefício, que abrange a questão da conservação do alimento, seu acúmulo no organismo, quando ultrapassam o limite permitido, pode causar diversos problemas de saúde a seus consumidores.

Os teores de nitrito e nitrato em alimentos devem se encontrar dentro da faixa de ingestão diária permitida conforme é sugerida pela legislação no Brasil e em todo Mercosul, que são iguais aos da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e da Organização Mundial de Saúde (OMS), em que temos 0,06 mg/kg/dia de nitrito e de 3,7 mg/kg/dia para nitrato, ambos como íons. Ao serem consumidos em altas quantidades, podem produzir no trato digestório, compostos *N*-nitrosos e nitrosaminas, que provocam no organismo condições tóxicas para o desenvolvimento de doenças cancerígenas, mutagênicas, teratogênicas e metemoglobinemia<sup>7</sup>.

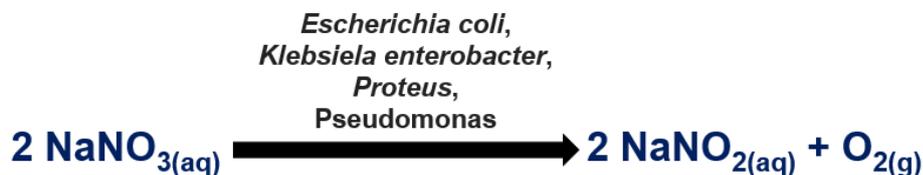
Quando ingerido, o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a  $\text{NO}_2^-$  devido à ação das enzimas bacterianas. O nitrito quando em excesso reage com a hemoglobina (Hb) que se oxida a meta-hemoglobina (MeHb). A partir da chegada do nitrito na corrente sanguínea ele oxida o ferro (II) da Hb para ferro (III), assim dando origem à MeHb, esta incapaz de transportar gás oxigênio para as células, porque não se liga reversivelmente ao  $\text{O}_2$ , como ocorre com a Hb<sup>8</sup>. A reação de redução do nitrato à nitrito devido à ação de enzimas bacterianas é demonstrada no **Esquema 1**.

---

<sup>7</sup>ARAÚJO, P. F.; RODRIGUES, R. S. Nitratos, nitritos, nitrosaminas e seus efeitos sobre o organismo humano. **Revista Higiene Alimentar**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 160, p. 54-58, 2008.

<sup>8</sup>OLIVEIRA, E. M. D. **Nitrato, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**. 2014. 40 f. Monografia (Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/124295/000834021.pdf?sequence=1>

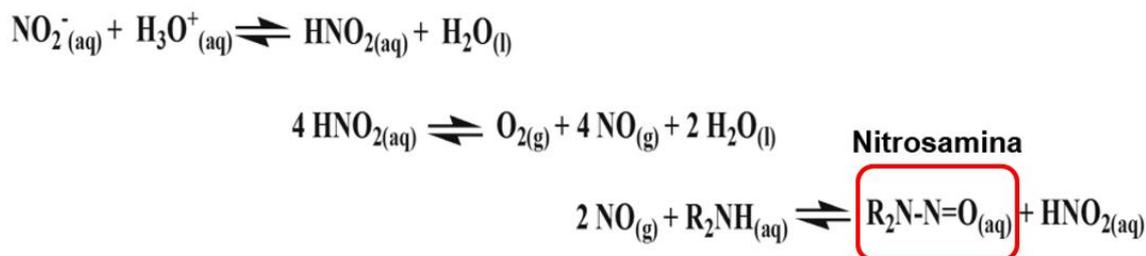
**Esquema 1** – Reação de redução do nitrato a nitrito por ação enzimática bacteriana



FONTE: PRÓPRIA (2020)

O nitrito se mostra mais agressivo que o nitrato, este último após ingestão não se acumula no organismo, sendo excretado pela urina. Já o nitrito é bioacumulativo e reage quimicamente com as aminas e amidas fisiológicas dando origem as nitrosaminas, por meio de uma reação reversível. A reação de formação da nitrosamina é demonstrada no **Esquema 2**.

**Esquema 2** – Reação de formação da nitrosamina



FONTE: PRÓPRIA (2020)

### 3.4 FOTOLUMINESCÊNCIA

Algumas espécies quando tem elétrons do nível fundamental excitadas por ação da radiação eletromagnética e promovidos para estados mais energéticos, tendem a retornar as condições iniciais liberando a energia absorvida por meio de processos não radiativos (movimento/vibrações) ou radiativos (pela emissão de fótons). Os fenômenos emissores podem ser caracterizados como fluorescentes ou fosforescentes, sendo diferenciados mediante a interação diferencial no que diz respeito às transições eletrônicas envolvidas e ao tempo de ocorrência do fenômeno.

Em processos fosforescentes ocorrem transições do tipo (singleto → tripleto), a mudança de multiplicidade confere a repulsão entre os elétrons de modo que o seu retorno para o estado fundamental se torne lento, caracterizando esse tipo de transição como proibida. Por outro lado, em processos fluorescentes as transições existentes mantêm sua multiplicidade (singleto → singleto) e, com isso, o tempo de retorno do elétron para o seu estado fundamental, com a consequente emissão de fótons, são mais curtos<sup>9,10</sup>.

Quando excitados, os compostos fluorescentes podem perder frações da energia absorvida de forma não radiativa (relaxamento vibracional, conversão interna, entre outros), mas parte desta é liberada pela emissão de fótons<sup>9,10,11</sup>. Em geral, esses compostos contêm algumas características em comum como estruturas planas e rígidas; sistemas pi ( $\pi$ ) conjugado, ciclos aromáticos e alto coeficiente de absorção. Sendo assim, excitando essas moléculas em comprimento de onda adequado ( $\lambda_{\text{excitação}}$ ), se torna possível medir a intensidade da radiação emitida ( $\lambda_{\text{emissão}}$ ). O diagrama de energia parcial de um sistema fotoluminescente é mostrado na **Figura 1**.

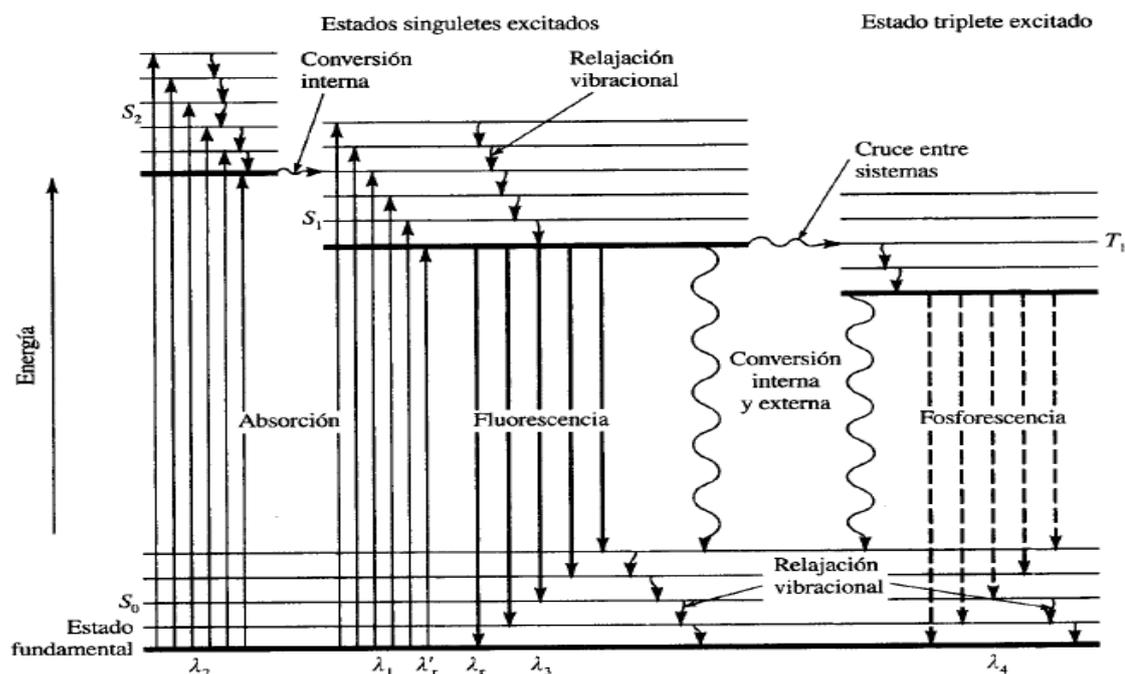
---

<sup>9</sup>SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos da Química Analítica**. 9. ed., São Paulo: Cengage Learning, 2012.

<sup>10</sup>GUSSO, P. K. **Caracterização Fluorimétrica Da Matéria Orgânica Dissolvida E Sua Relação Autóctone/Alóctone Na Baía De Paranaguá**, 2008, 97 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Federal do Paraná.

<sup>11</sup>VALEUR, B. LERAY, I. Design Principles of Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition, **Coordination Chemistry Reviews**, v. 205, p. 03-40, 2000.

**Figura 1** – Diagrama de energia parcial de um sistema fotoluminescente



FONTE: SKOOG (2012)

As espécies que não fluorescem possuem estruturas em que os caminhos de relaxação não-radiativa ocorrem mais rapidamente do que a emissão fluorescente. Aquelas que fluorescem normalmente mostram valores de rendimento quântico próximo da unidade sob certas condições, já as que não emitem fótons, apresentam rendimento quântico igual a zero. A razão entre a quantidade de moléculas que emitem em relação as que foram excitadas determina o que conhecemos como rendimento quântico de fluorescência ( $\Phi$ )<sup>9</sup>.

Os fenômenos de luminescência não são exclusivos para sistemas que possuem fonte de radiação. Por exemplo, a quimioluminescência é caracterizada como o processo de emissão de luz ao término da reação, por intermediários que possuem excesso de energia, como na reação entre o luminol e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Quando reações desse tipo ocorrem em meios vivos passam a ser conhecidas como bioluminescência. Como exemplo de algumas espécies que possuem o fenômeno da bioluminescência temos bactérias, crustáceos, vagalume e pepino-do-mar<sup>9,12</sup>.

<sup>12</sup>SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análisis Instrumental**, 5. ed., Madrid: MCGRAW-HILL, 2001.

### 3.5 ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA

A espectroscopia de fluorescência é uma técnica espectroscópica que se fundamenta na medida da intensidade da radiação eletromagnética que é emitida por determinadas espécies após serem excitadas por um dado comprimento de onda. Se mostrando uma técnica baseada na instrumentação analítica de grande utilização devido à diversas vantagens, como por exemplo, simplicidade, rapidez, sensibilidade, seletividade, reprodutibilidade, entre outros. Um ponto muito vantajoso dessa técnica é sua característica não destrutiva, pois não altera a composição química da amostra analisada, tornando possível a sua utilização em outras análises<sup>13</sup>.

Ao selecionar um comprimento de onda de excitação fixo obtemos o espectro de emissão da espécie a qual estamos analisando. Os dados espectrais nos fornecem um gráfico que relaciona a intensidade de fluorescência em função do comprimento de onda de emissão. A partir da interação do analito com a radiação envolvida nos processos fluorescentes nos é permitido a construção de curvas analíticas a partir dos espectros de varredura, para que se torne possível a determinação e quantificação das espécies presente na amostra<sup>14,15</sup>.

O espectrofluorímetro é o equipamento responsável pela quantificação da energia absorvida e emitida por compostos fluorescentes. Seus componentes são basicamente: a fonte de radiação que abrange a região do ultravioleta até o visível (lâmpada de arco de xenônio), dois monocromadores, um para selecionar o comprimento de onda de excitação e outro para emissão, posicionados em ângulo de 90° para evitar que a radiação incidente interfira na resposta adquirida, compartimento da amostra ao abrigo da luz e o detector<sup>12</sup>. A **Figura 2** ilustra a montagem dos componentes presentes no espectrofluorímetro.

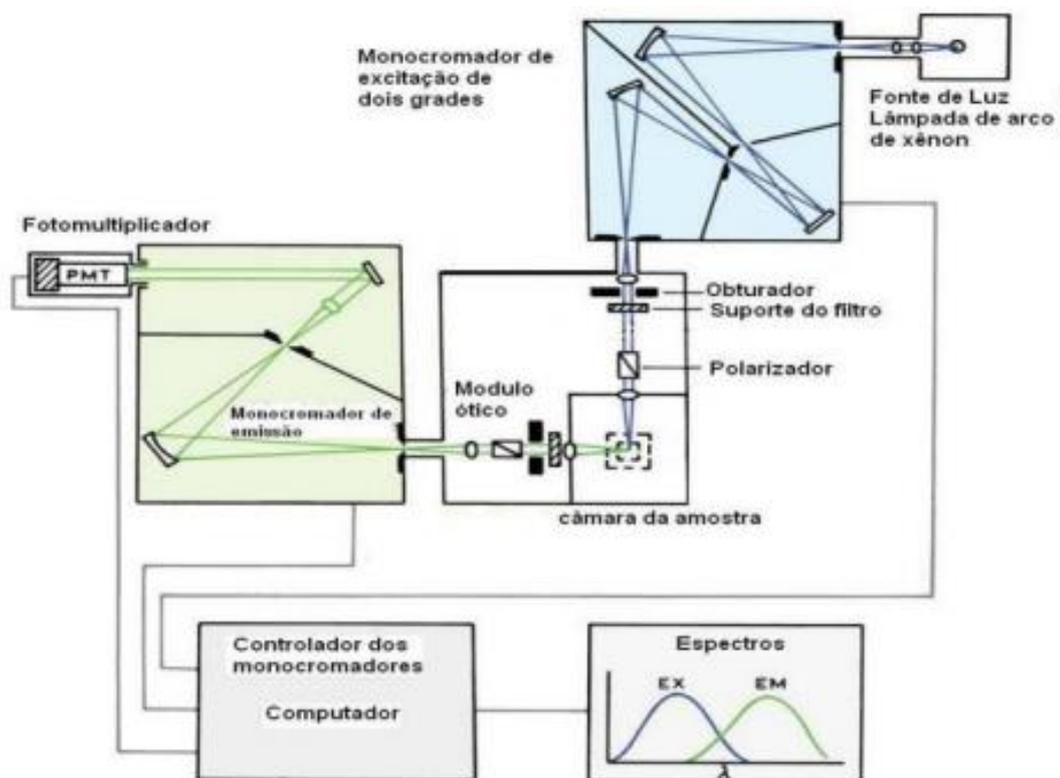
---

<sup>13</sup>MEIRA, M. *et al.* Identificação De Adulteração De Biocombustível Por Adição De Óleo Residual Ao Diesel Por Espectrofluorimetria Total 3d E Análise Das Componentes Principais, **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, 2011, p. 621-624, 2011.

<sup>14</sup>SUKHORUKOV, V. L. *et al.* Many-Electron Dynamics Of Atomic Processes Studied By PhotonInduced Fluorescence Spectroscopy. **Physics Reports**, v. 10, 2018.

<sup>15</sup>SCHNEIDER, L. B. **Fluoróforos Sintéticos Naturais Para Aplicações Em Diagnósticos**, 2014, 109 f. Tese (Doutorado em Física) – Universidade Federal do Paraná.

**Figura 2** – Componentes do Espectrofluorímetro



FONTE: SKOOG (2012)

### 3.6 ELEMENTOS TERRAS RARAS (ETR)

Os elementos terras raras (ETR), também conhecidos por “metais terras raras”, compreendem o escândio e o ítrio, dois elementos do grupo três, mais quinze elementos que compõem a série lantanídica, que possui seu início no lantânio, sendo o único que se encontra no bloco D, e o término no lutécio que se localiza no bloco F. O **Quadro 2** apresenta todos os elementos terras raras, seus respectivos números atômicos e configurações eletrônicas<sup>16</sup>.

<sup>16</sup>BRAGA, G. B. **A química das terras raras e suas potencialidades**. 2014. 36 f. Monografia (Graduação em Química) - Universidade Federal São João del-Rei.

**Quadro 2** – Elementos terras raras com seus respectivos números atômicos e configurações eletrônicas

Elemento	Número Atômico (Z)	Configuração Eletrônica
Escândio (Sc)	21	[Ar]3d <sup>1</sup> 4s <sup>2</sup>
Ítrio (Y)	39	[Kr]4d <sup>1</sup> 5s <sup>2</sup>
Lantânio (La)	57	[Xe]5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>
Cério (Ce)	58	[Xe]4f <sup>1</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>
Praseodímio (Pr)	59	[Xe]4f <sup>3</sup> 6s <sup>2</sup>
Neodímio (Nd)	60	[Xe]4f <sup>4</sup> 6s <sup>2</sup>
Promécio (Pm)	61	[Xe]4f <sup>5</sup> 6s <sup>2</sup>
Samário (Sm)	62	[Xe]4f <sup>6</sup> 6s <sup>2</sup>
Európio (Eu)	63	[Xe]4f <sup>7</sup> 6s <sup>2</sup>
Gadolínio (Gd)	64	[Xe]4f <sup>7</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>
Térbio (Tb)	65	[Xe]4f <sup>9</sup> 6s <sup>2</sup>
Disprósio (Dy)	66	[Xe]4f <sup>10</sup> 6s <sup>2</sup>
Hólmio (Ho)	67	[Xe]4f <sup>11</sup> 6s <sup>2</sup>
Érbio (Er)	68	[Xe]4f <sup>12</sup> 6s <sup>2</sup>
Túlio (Tm)	69	[Xe]4f <sup>13</sup> 6s <sup>2</sup>
Itérbio (Yb)	70	[Xe]4f <sup>14</sup> 6s <sup>2</sup>
Lutécio (Lu)	71	[Xe]4f <sup>14</sup> 5d <sup>1</sup> 6s <sup>2</sup>

FONTE: TEIXEIRA (2010)

Os lantanídeos que possuem em sua configuração eletrônica o subnível 4f são denominados como “elementos de transição interna” devido ao fato de que o seu nível mais energético não é o nível mais externo quando se realiza a distribuição eletrônica. Outra característica muito importante sobre os íons lantanídeos é relacionada à contração lantanídica que está diretamente ligada ao efeito de blindagem, penetração e com a carga nuclear efetiva do elemento ( $Z_{ef}$ ).

As interações eletrostáticas existentes em um átomo são aquelas de natureza atrativa (núcleo-elétron) e repulsiva (elétron-eletrón), de acordo com o modelo mecânico clássico para um núcleo polieletrônico qualquer. Em um modelo mecânico quântico as atrações entre cargas são desconsideradas e substituídas por uma translação do elétron em campo médio repulsivo, que se resulta dos demais elétrons que compõe o átomo, desse modo, a carga nuclear sofre uma blindagem por uma nuvem eletrônica<sup>16,17</sup>.

A blindagem ocorre quando cada elétron de um átomo é protegido do efeito de atração entre a carga nuclear e os elétrons do mesmo nível de energia ou pelos elétrons presentes nos níveis mais internos. Mediante a esse modelo mecânico quântico podemos empregar um novo conceito, a carga nuclear efetiva que é descrita como a carga que um elétron sofre em um átomo polieletrônico, sendo calculada por pela seguinte equação:

**Equação 1** – Equação para o cálculo da carga nuclear efetiva

$$Z_{ef} = Z - S$$

**Z<sub>ef</sub>** = carga nuclear efetiva  
**Z** = carga nuclear (número atômico)  
**S** = constante de blindagem

A partir dessa equação podemos considerar que, quando o número médio de elétrons protetores (S) aumenta, a carga nuclear efetiva diminui. Quando a distância entre o núcleo é aumentada, o (S) aumenta e Z<sub>ef</sub> diminui.

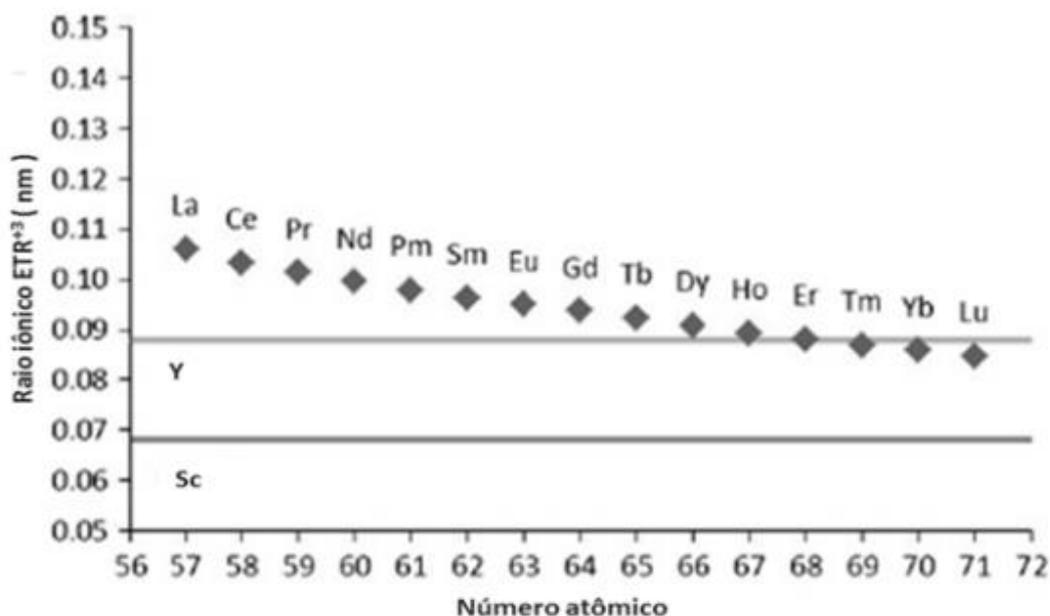
A capacidade que um elétron possui de penetrar na função radial de outro orbital é conhecida como a penetração. Os elétrons presentes nos orbitais *f* possuem uma elevada magnitude de blindagem e baixa penetrabilidade, o que torna justificável a distribuição eletrônica desses elementos. A penetração e a blindagem são duas propriedades que apresentam base suficiente para a explicação da distribuição eletrônica dos lantanídeos e à contração lantanídica

---

<sup>17</sup>QUIRINO, W. G. **Produção e caracterização de dispositivos orgânicos eletroluminescentes (OLEDs) baseados em complexos β-dicetonatos de terras-raras**. 2007. 258 f. Tese (Doutorado em Física) – PUC-Rio.

(Figura 3), que diz respeito a diminuição uniforme no tamanho do raio iônico com o aumento do número atômico<sup>16,17</sup>.

**Figura 3** – Relação destaque para a contração lantanídica



FONTE: BRAGA (2014)

As transições eletrônicas existentes no estado  $4f$  são explicadas basicamente pela teoria de Judd-Ofelt, na qual as transições existentes nos lantanídeos são oriundas da mistura entre os estados  $4f$  e  $5d$  do átomo<sup>18</sup>.

As propriedades espectroscópicas são elucidadas ao se observar efeitos de excitação e emissão óptica dos ETRs, se mostrando de grande valia como base teórica para os estudos da aplicação dos elementos terras raras para fenômenos químicos de luminescência<sup>16,17</sup>.

<sup>18</sup>TEIXEIRA, L. S. **Estudos das propriedades ópticas dos complexos európio tetraciclina e suas aplicações na detecção de lipoproteínas**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear) – Universidade de São Paulo.

A característica intrínseca aos espectros de absorção dos íons lantanídeos são as bandas estreitas e bem definidas resultantes das transições  $f-f$ . As transições isoladas dessa natureza são consideradas proibidas pela regra de seleção do espectro atômico, que se explica por meio da regra de Laporte, na qual é apontado que apenas as transições que envolvem troca de paridade nas funções de onda que representam os orbitais são permitidas, como por exemplo, a transição  $f-d$ <sup>16,17,18</sup>.

Os espectros de emissão são oriundos de transições radiativas entre os níveis de configurações eletrônicas  $4f^N$ . Nesse caso os níveis estariam degenerados na ausência de qualquer interação entre os elétrons, mas devido as interações coulombianas a degenerescência é removida e os níveis são separados, podendo atingir valores próximos à  $20.000 \text{ cm}^{-1}$ <sup>18</sup>.

Dentro do grupo dos ETRs temos o európio que é um metal que apresenta propriedades ópticas apreciáveis, principalmente na região do visível, com bandas de emissão bem características e conhecidas. Devido a essas características, neste trabalho foi utilizado o európio trivalente para a formação de um composto de coordenação estável com dois ligantes orgânicos (éter 12-coroa-4 e 1,10-fenantrolina).

### 3.6 EURÓPIO

O elemento európio inicialmente foi descoberto pelo cientista Paul Émile Lecoq de Boisbaudran em 1890 quando estudava os resultados de espectrometria de uma amostra que continha samário e gadolínio e observou que os espectros adquiridos não pertenciam a nenhum dos dois elementos. Posteriormente, o químico francês Eugène Anatole Demarçay inicia a pesquisa referente a origem dessa característica intrigante no espectro e aponta que a amostra de samário e gadolínio poderia estar contaminada por um elemento desconhecido. A partir desse levantamento ele isola tal elemento em 1901 e o nomeia como európio em homenagem ao continente europeu<sup>18,19</sup>.

---

<sup>19</sup>LUIZ, J. E. M. S. **Estudo das propriedades espectroscópicas de matrizes de urânio dopadas com európio. Transferência de energia entre  $\text{UO}_2^{2+}$  e o  $\text{Eu}^{3+}$ .** 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear) - Universidade de São Paulo.

O európio é um elemento químico do grupo três e pertencente ao sexto período da tabela periódica, sendo denominado como um metal de transição interna. Em sua forma metálica possui coloração cinza prateada, sendo dúctil e maleável. Sua densidade é igual a  $5,25 \text{ g/cm}^3$ , ponto de fusão  $822 \text{ }^\circ\text{C}$ , ponto de ebulição  $1529 \text{ }^\circ\text{C}$ . Seu número atômico é 63 e sua configuração eletrônica é dada por  $[\text{Xe}]4f^7 6s^2$ , podendo ser encontrado nos nox +2 e +3, sendo o íon trivalente com maior estabilidade relatada<sup>20</sup>.

As propriedades ópticas desse elemento lhe fornecem a possibilidade aplicação como luminóforos para iluminação, sondas marcadoras de biomoléculas e agente de contraste para ressonância magnética nuclear de imagem. Os compostos contendo  $\text{Eu}^{3+}$  têm despertado interesse de estudo devido sua característica de alta luminescência monocromática de cor vermelha. Os espectros obtidos a partir dos processos de emissão de complexos do íon európio (III) demonstram bandas oriundas das transições intraconfiguracionais  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_J$  (em que  $J = 0, 1, 2, 3, 4, 5$  e  $6$ ) sendo que as transições  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_5$  e  $^5\text{D}_0 \rightarrow ^7\text{F}_6$  apresentam intensidade muito baixa e dificilmente são observadas nos espectros dos compostos de coordenação<sup>18,19</sup>.

### 3.7 COMPOSTOS DE COORDENAÇÃO

Dentro do estudo sobre a química de coordenação temos dois grandes nomes Alfred Werner e Sophus Jørgensen, que trabalharam de formas distintas a fim de encontrar explicações sobre propriedades intrigantes que certas espécies químicas possuíam, como a possibilidade de exceder a sua valência ou a mudança de coloração quando em soluções similares, mas de concentrações distintas. Mediante ao caráter inexplicável, posteriormente, estas espécies foram nomeadas como íons complexos<sup>21</sup>.

---

<sup>20</sup>JONES, LORETTA; ATKINS, PETER **Princípios de Química - Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente** – 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.

<sup>21</sup>FARIAS, R. F. Werner, Jørgensen e o Papel da Intuição na Evolução do Conhecimento Químico. **Química Nova na Escola**, n. 13, p. 29-32, 2001. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc13/v13a06.pdf>

Com base em seus experimentos, Jørgensen tentava explicar fórmulas estruturais de complexos de platina se baseando em princípios de química orgânica (teoria da cadeia). Em contrapartida, Werner estudava compostos de cobalto (III) com amônia e íons cloreto, resultando no isolamento de quatro espécies com cores distintas. Ele percebeu que mesmo contendo composição química iguais, as espécies possuíam propriedades diferentes, como por exemplo, ao submetê-las a testes de precipitação com nitrato de prata. A sua teoria obteve superioridade, no que diz respeito às suas evidências experimentais relacionadas à condutividade e atividade óptica de uma série de novos compostos obtidos<sup>21</sup>.

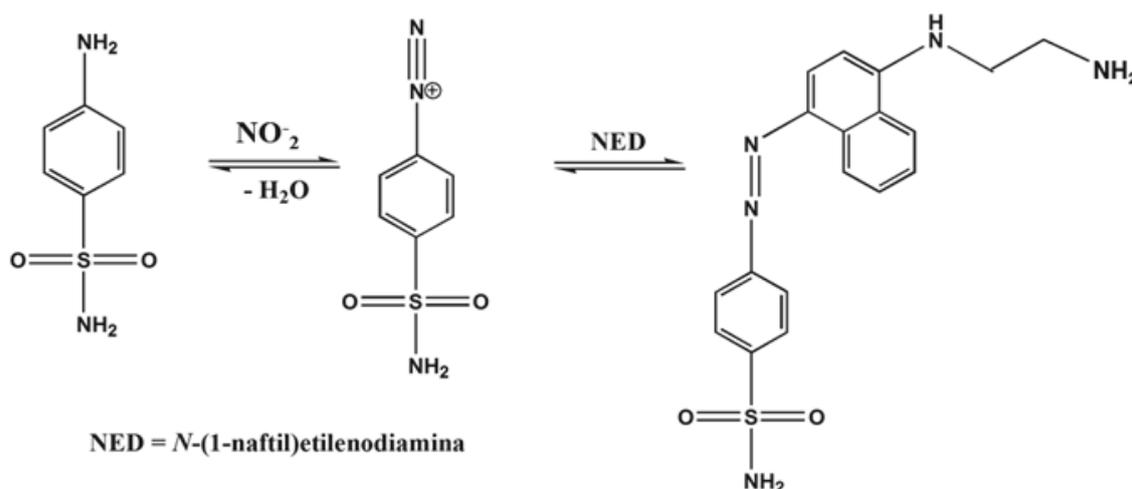
A partir de seus estudos Werner se tornou capaz de afirmar a existência de espécies que estariam diretamente ligadas ao centro metálico e outras que estavam ali apenas para estabelecer a neutralidade entre as cargas envolvidas. Então, com isso se inicia o processo de distinção entre íons complexos e compostos de coordenação. Ambos são formados por um íon metálico central e seus ligantes, que estão quimicamente ligados por uma reação típica ácido-base de Lewis, em que o metal (ácido) tende a aceitar os pares eletrônicos que são doados pelos ligantes (base), a única diferença é que os compostos de coordenação são compostos neutros e os íons complexos possuem carga<sup>9</sup>.

O indicativo de quantos ligantes estão diretamente ligados ao centro metálico foi nomeado como número de coordenação. Os principais fatores que podem alterar esse indicativo são: o tamanho do íon central, o impedimento estérico entre os ligantes e a interação eletrônica entre a espécie central e seus ligantes<sup>21</sup>.

### 3.8 MÉTODOS DE ANÁLISE DE NITRATO E NITRITO

Em 1879, Griess idealizou um procedimento de análise para  $\text{NO}_3^-$  e  $\text{NO}_2^-$  que ganhou espaço se tornando uma técnica oficial para a quantificação destes ânions. Tal procedimento se baseava na quantificação do produto resultante da reação entre o nitrito com sulfanilamida (**Esquema 3**) e etilenodiamina que forma compostos coloridos posteriormente analisados por espectrofotometria na região de suas absorções máximas. As principais desvantagens desse método são a necessidade de usar uma coluna de cádmio revestida de cobre para reduzir o nitrato à nitrito, regeneração desta coluna redutora, usar uma solução de cloreto de cádmio para extrair íons de amostras sólidas e geração de resíduos<sup>22</sup>.

**Esquema 3** – Mecanismo da reação de Griess (proposto por Suwicki)



FONTE: PRÓPRIA (2020)

Em 1965 surge um procedimento baseado na extração de nitrato presente em tecido vegetal. O material passava por uma extração em seguida era filtrado e destilado. Posteriormente, o  $\text{NO}_3^-$  era posto sobre uma liga de Devarda (liga de alumínio, cobre e zinco), convertendo todo nitrato em íon amônio em apenas uma etapa de destilação. O passo final consiste em quantificar o nitrogênio (N) na forma de amônio por meio da titulação com uma solução padronizada de ácido sulfúrico  $0,00263 \text{ mol L}^{-1}$ . Neste estudo foi considerado que a concentração

<sup>22</sup>BASTOS, A. L. *et al.* Determinação de nitrato e nitrito em chás de pele de pescados empregados para tratamento de asma brônquica na região sul do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 895-900, 2006.

de  $\text{N-NO}_2^-$  presente nas amostras não interferiam diretamente na análise, então os valores de  $\text{N-NO}_2^- + \text{N-NO}_3^-$  foram convertidos e expressos apenas como  $\text{N-NO}_3^-$ <sup>23</sup>.

Ao realizar uma pesquisa bibliográfica encontramos alguns estudos atuais baseados no desenvolvimento de novos procedimentos analíticos para a determinação e quantificação de nitrato e nitrito em diversos tipos de amostras que diferem do método de referência brasileiro determinado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que é baseado na técnica de Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do UV-Vísivel<sup>24</sup>, amplamente utilizada devido ao baixo limite de detecção, simplicidade, versatilidade dos reagentes cromóforos e rapidez de análise<sup>22</sup>. Um estudo atual foi realizado com base no desenvolvimento de um procedimento de análise de nitrato, nitrito e tiocianato em leite e extrato hidrossolúvel de soja, fazendo o uso da eletroforese capilar de zona, empregando capilar de sílica revestido com sal de quitosana quaternizada. Tendo como etapa inicial o simples preparo da amostra, passando por um processo de homogeneização e precipitação causada pela adição de acetonitrila e posterior análise por meio do método anteriormente citada<sup>24</sup>.

---

<sup>23</sup>MANTOVANI, J. R. *et al.* Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, n. 1, p. 53-59, 2005.

<sup>24</sup>SILVA, M. **Desenvolvimento de método para a análise de nitrato, nitrito e tiocianato em amostras de leite e extrato hidrossolúvel de soja por eletroforese capilar de zona, empregando capilar de sílica revestido com sal de quitosana quaternizada**. 2017. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

#### 4.0 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

---

A metodologia adotada por este estudo (**Figura 4**) consiste em sintetizar o composto de coordenação  $[\text{Eu}(12\text{-coroa-4})\cdot 2\text{fen}]\cdot \text{Cl}_3$  com base nos parâmetros estabelecidos pela literatura de referência, por meio de duas etapas, onde na primeira (**Etapa 1**) realizou-se a síntese do composto de coordenação intermediário por meio da reação do  $\text{EuCl}_3$  com éter 12-coroa-4 em uma solução de acetona/etanol 1:3 sob 4 horas reacionais. Em seguida, o produto da reação anterior perpassou por processos de filtração e secagem, subsequentemente foi posto para reagir com a *o*-fenantrolina em solução etanólica sob 24 horas reacionais (**Etapa 2**), obtendo-se o composto de coordenação alvo<sup>25,26</sup>.

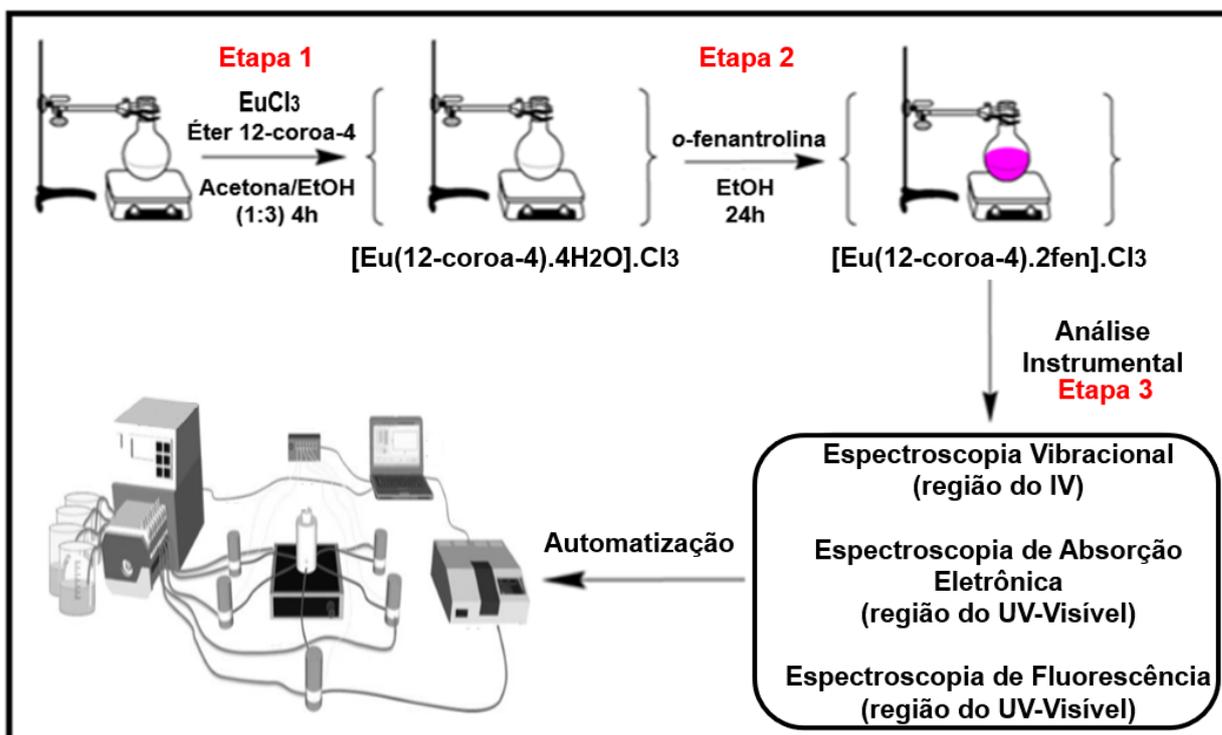
Posteriormente pretendeu-se realizar as técnicas espectroscópicas disponíveis (**Etapa 3**) para a comprovação da estrutura sintetizada e estudar a interação entre o composto de coordenação com os analitos de interesse, visando a aplicação desse procedimento analítico para determinação de nitrato e nitrito em leite e futuramente promover sua automatização por meio da análise em fluxo. Algumas das vantagens da implementação da análise em fluxo nesse procedimento analítico são a menor interferência do operador nas análises e a diminuição significativa na geração de resíduos.

---

<sup>25</sup>BELIAN, M. F. *et al.* Synthesis, characterization and thermogravimetric study of the complexes  $[\text{Eu}(12\text{-crown-4})\cdot \text{phen}_2]\cdot \text{X}_3$  (phen= 1,10-phenanthroline; X= F, Cl, Br, SCN,  $\text{ClO}_4$  and  $\text{NO}_3$ ): Effect of the counterion on the thermal degradation profile. **Thermochemica Acta**, n. 437, p. 59-61, 2005.

<sup>26</sup>BELIAN, M. F. **Éteres Coroa com Íons Lantanídeos: De Compostos de Coordenação a Novos Materiais Nanoestruturados de Sílica**. 2004. 150 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

**Figura 4** – Metodologia para o desenvolvimento do projeto

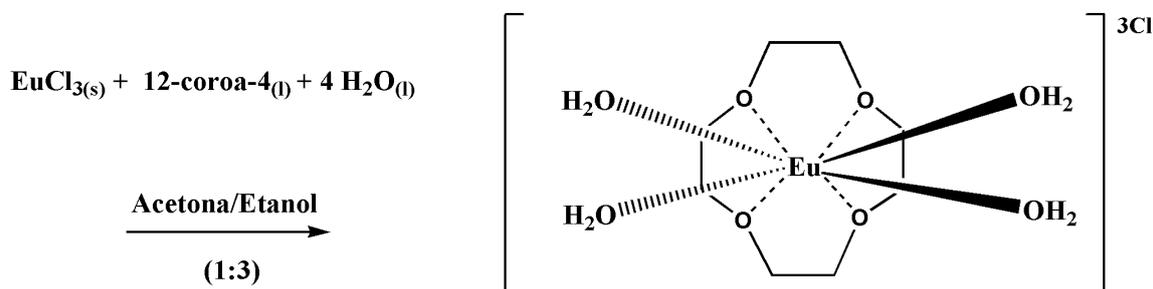


FONTE: PRÓPRIA (2020)

#### 4.1 SÍNTESE DO [Eu(12-coroa-4).4H<sub>2</sub>O].Cl<sub>3</sub>

Em um balão de fundo redondo de 50,0 mL adicionou-se 145,9 mg de EuCl<sub>3</sub>. Posteriormente, ao mesmo recipiente foram adicionados 91 µL do éter 12-coroa-4 e o solvente, uma mistura de acetona/etanol (1:3; v:v), e deixou-se sob agitação constante durante 4 h. Passado o tempo reacional, o solvente foi evaporado e o composto de coordenação resultante foi lavado com acetona e seco sob vácuo, obtendo-se um sólido de coloração branca em um rendimento de 45%. Segue a rota sintética na **Figura 5**.

**Figura 5** – Rota sintética para a formação do composto  $[\text{Eu}(\text{12-coroa-4})\cdot 4\text{H}_2\text{O}]\cdot\text{Cl}_3$

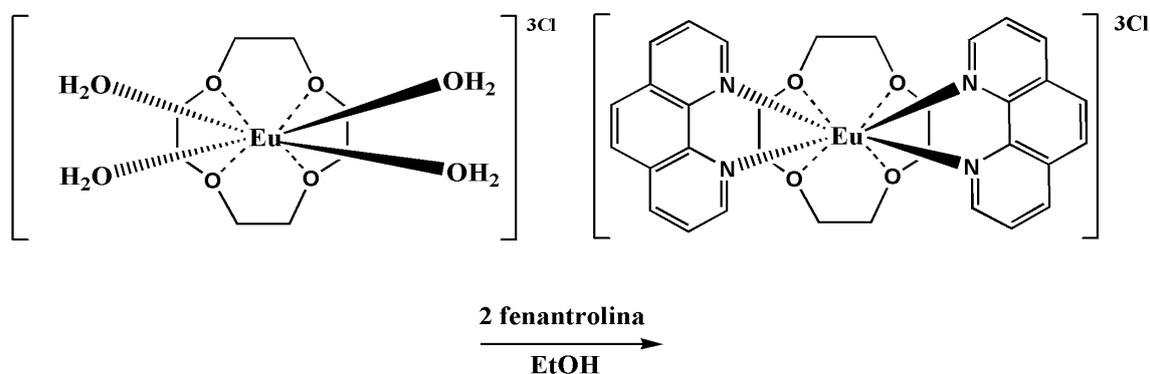


FONTE: PRÓPRIA (2020)

#### 4.2 SÍNTESE DO $[\text{Eu}(\text{12-coroa-4})\cdot 2\text{fen}]\cdot\text{Cl}_3$

Em um balão de 50,0 mL dissolveu-se em etanol 0,166g do compsto precursor. Em seguida, ao mesmo recipiente, foram adicionados 0,108g de 1,10-fenantrolina. A mistura foi deixada sob agitação constante por 24 h. Após o tempo reacional o solvente foi evaporado e o composto resultante foi lavado com acetona e seco sob vácuo, obtendo-se um sólido de coloração rósea com 52% de rendimento. Segue a rota sintética na **Figura 6**.

**Figura 6** – Rota sintética para a formação do composto  $[\text{Eu}(\text{12-coroa-4})\cdot 2\text{fen}]\cdot\text{Cl}_3$



FONTE: PRÓPRIA (2020)

## 4.3 ANÁLISE INSTRUMENTAL

### 4.3.1 Espectroscopia Vibracional (região do IV)

Os espectros vibracionais envolvidos na pesquisa foram realizados a partir da técnica de pastilha de KBr. O equipamento usado consistiu em um espectrofotômetro com transformada de Fourier, VARIAN®, modelo 660, abrangendo a região de 4000-400 $\text{cm}^{-1}$ , com a resolução espectral de 4 $\text{cm}^{-1}$ .

### 4.3.2 Espectroscopia de Absorção Eletrônica (região do UV-Visível)

Os espectros de absorção envolvidos na pesquisa foram realizados no equipamento Agilent, modelo 8453, utilizando cubetas de quartzo de 10 mm, como intervalo de varredura de 200-700 nm.

### 4.3.3 Espectroscopia de Fluorescência (região do UV-Visível)

Os espectros de excitação envolvidos na pesquisa foram realizados no equipamento RF-5301 PC da Shimadzu®, utilizando cubeta de plástico, com abertura de fenda de excitação 10; velocidade do scanner: fast, intervalo de varredura: 220-400 nm para obtenção  $\lambda_{\text{excitação}} = 305$  nm;

Os espectros de emissão envolvidos na pesquisa foram realizados no equipamento RF-5301 PC da Shimadzu®, utilizando cubeta de plástico, com abertura de fenda de excitação 10; velocidade do scanner: fast, intervalo de varredura: 400-700 nm para obtenção  $\lambda_{\text{emissão}} = 617$  nm.

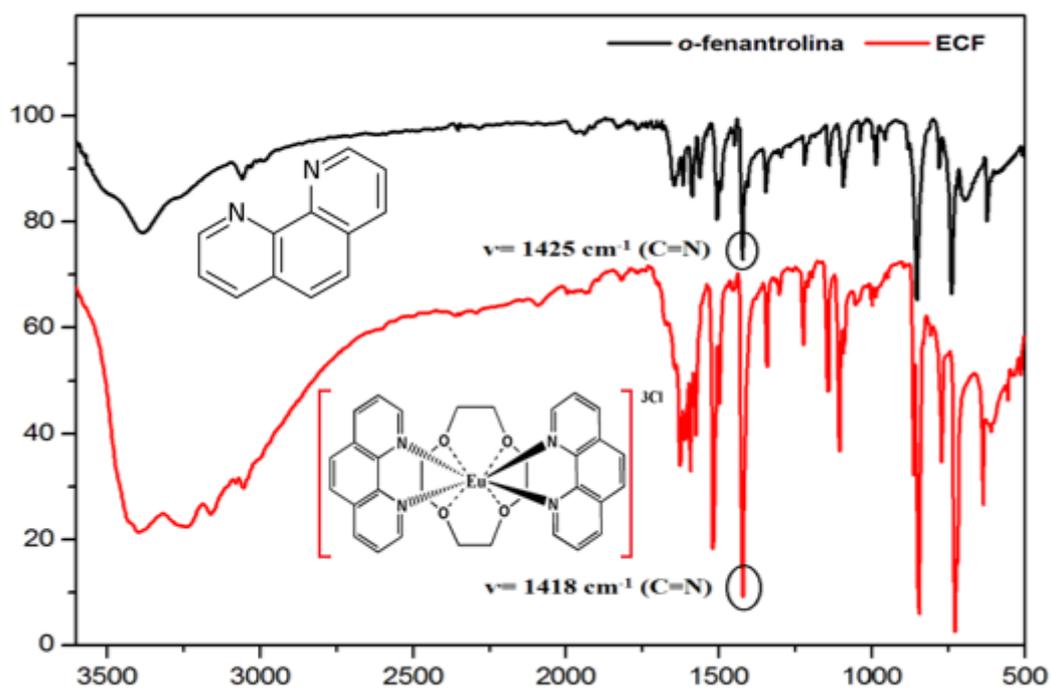
## 5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

#### 5.1.1 Espectroscopia Vibracional (região do IV)

Esse método de caracterização foi utilizado com a finalidade de identificar os grupos funcionais aos quais estão presentes nas estruturas do ligante isolado (*o*-fenantrolina) e do composto  $[\text{Eu}(\text{12-coroa-4})\cdot 2\text{fen}]\cdot\text{Cl}_3$  (ECF) (**Figura 7**), comparando seus respectivos deslocamentos afim de comprovar uma possível coordenação envolvida.

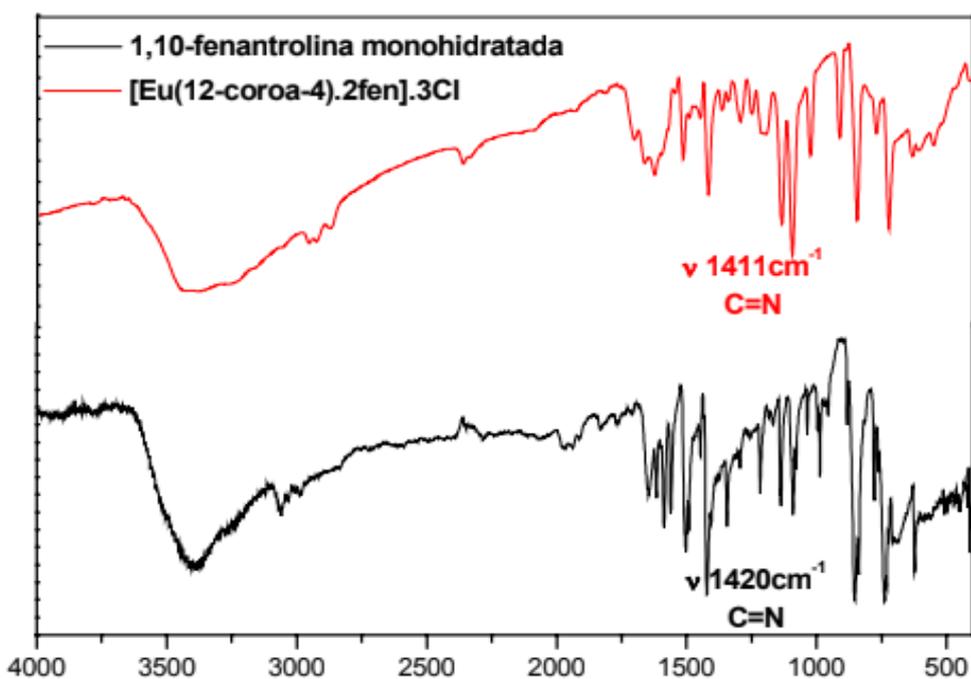
**Figura 7** – Espectros de Infravermelho da *o*-fenantrolina e do Composto ECF



FONTE: PRÓPRIA (2019)

Os dados espectrais nos fornecem um indicativo da formação do  $[\text{Eu}(\text{12-coroa-4})_2\text{fen}]\cdot\text{Cl}_3$ , pois é claramente observado uma diminuição na frequência referente a banda do estiramento C=N quando o composto de coordenação é formado. Em teoria, quando os lantanídeos se coordenam eles tendem a limitar o grau de liberdade do ligante, conferindo uma estrutura mais rígida e conseqüentemente diminuindo sua frequência de vibração, comportamento semelhante é observado (**Figura 8**) na formação do composto da literatura de referência<sup>26</sup>.

**Figura 8** – Espectros de Infravermelho da *o*-fenantrolina e do Composto ECF

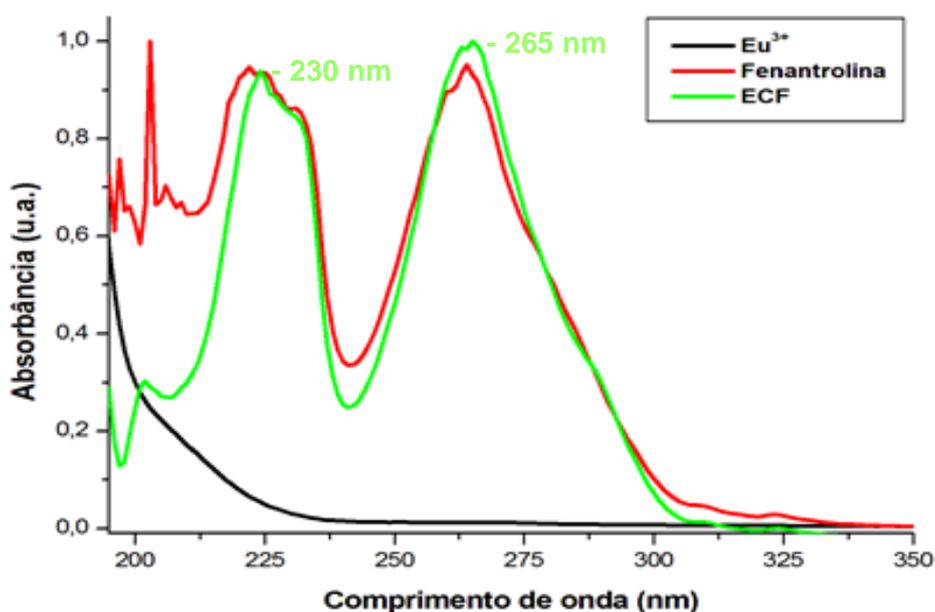


FONTE: BELIAN (2004)

### 5.1.2 Espectroscopia de Absorção Eletrônica (região do UV-Visível)

De acordo com os espectros da **Figura 9** é possível corroborar a formação do composto de coordenação de interesse, pois é visível o deslocamento da banda referente ao metal na sua forma livre quando comparado ao coordenado aos ligantes. Os comprimentos de onda característicos obtidos para o ECF foram de 230 e 265 nm, corroborando com o valor da literatura de referência<sup>25,26</sup>.

**Figura 9** – Espectros de absorção do metal, do ligante e do ECF



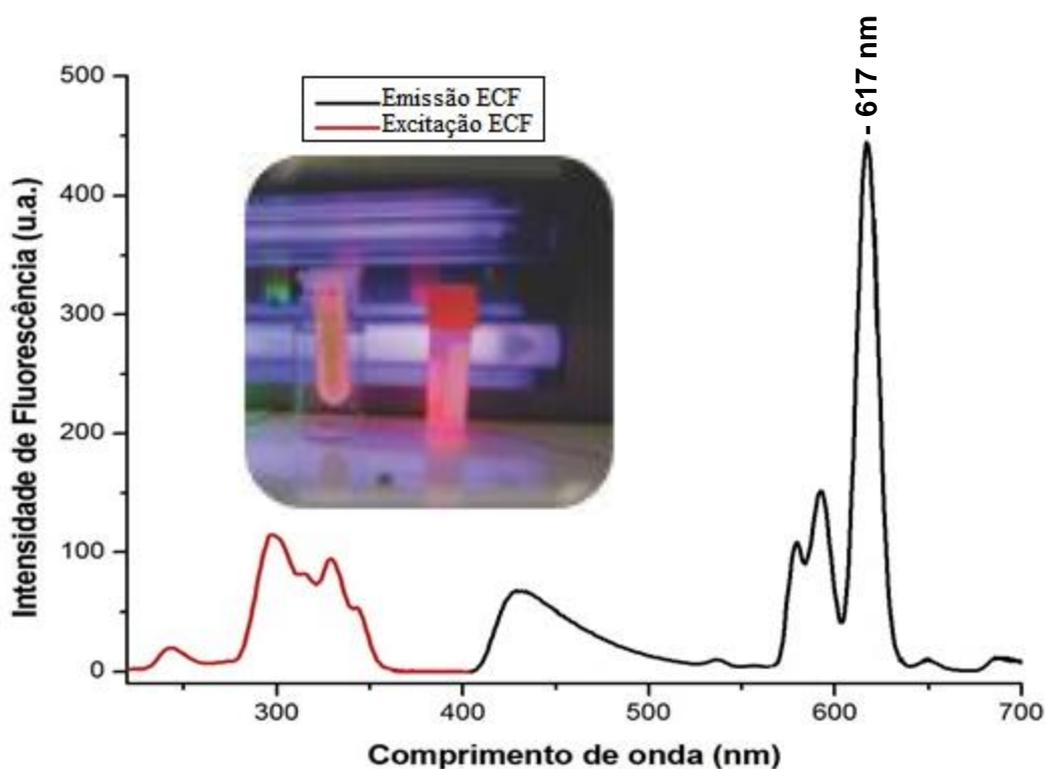
FONTE: PRÓPRIA (2019)

### 5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência (região do UV-Visível)

Os espectros de emissão de compostos de coordenação de íon lantanídeos são caracterizados por linhas finas, pois são resultado de uma fraca interação com o campo ligante e ao efeito de blindagem das camadas mais externas<sup>26</sup>.

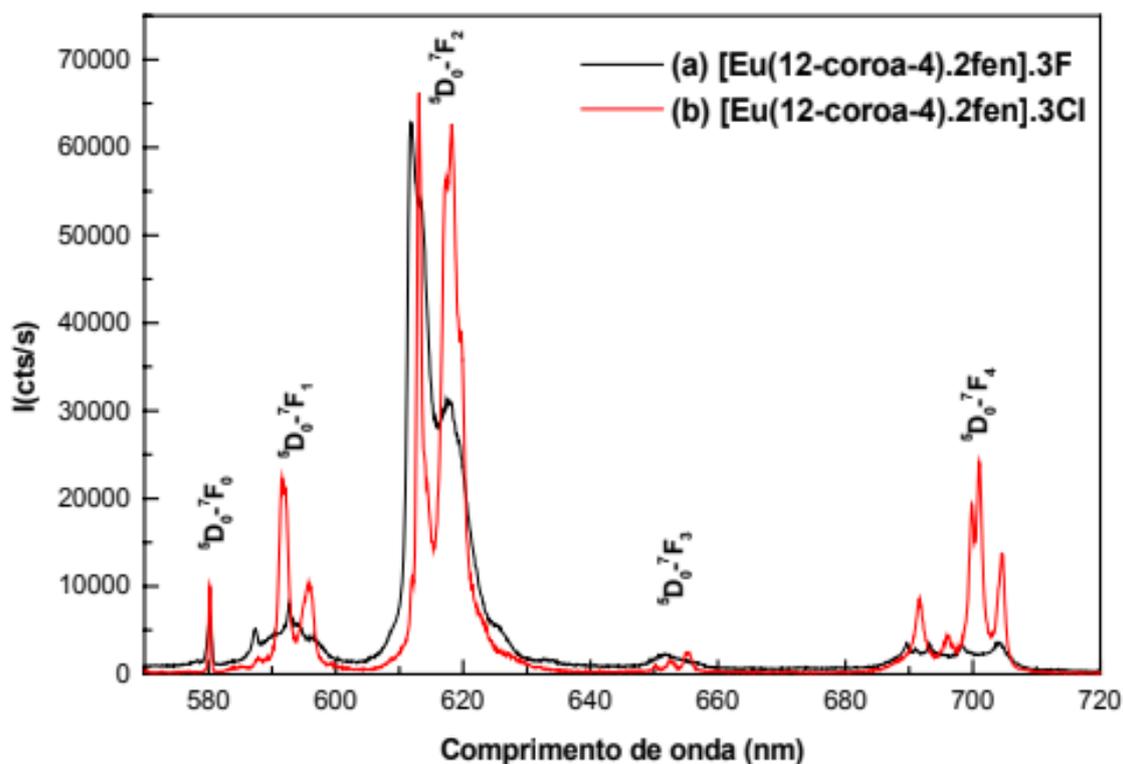
O espectro de varredura do composto de coordenação [Eu(12-coroa-4).2fen].Cl<sub>3</sub> (**Figura 10**) permite a observação de um pico máximo de emissão em torno de 617 nm (transição hipersensível característica do íon európio ( $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ ), na qual o ligante se polariza devido à ação do íon cloreto presente na segunda esfera de coordenação), que se encontra aproximado ao valor de referência da literatura ~ 612 nm (**Figura 11**)<sup>26</sup>.

**Figura 10** – Espectro de varredura do ECF



FONTE: PRÓPRIA (2019)

**Figura 11** – Espectro de emissão do ECF (em vermelho)

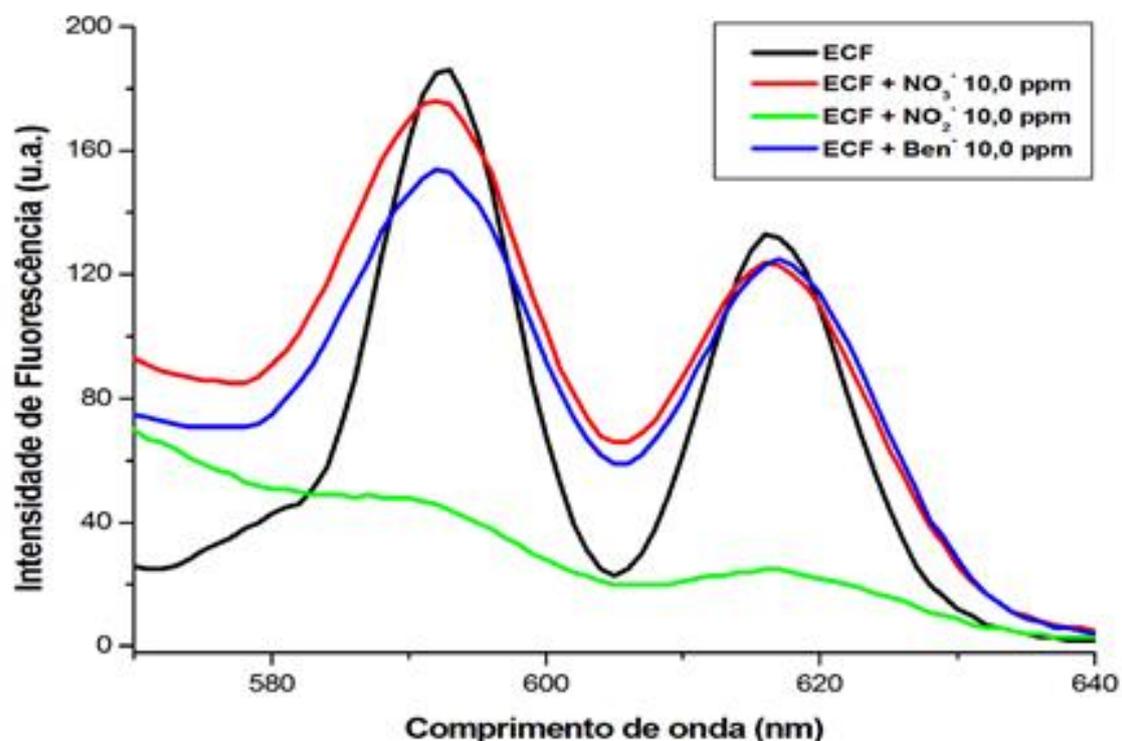


FONTE: BELIAN (2004)

## 5.2 ESTUDO DA SENSIBILIDADE DO COMPOSTO DE COORDENAÇÃO

Todos os espectros de emissão (**Figura 12**) foram realizados em comprimento de onda máximo de excitação de 305 nm, pois nesse comprimento de onda é obtido o máximo de emissão (617 nm) do composto de coordenação. Os ânions em estudo foram analisados em concentrações de 10 mg L<sup>-1</sup>.

**Figura 12** – Espectros de emissão do ECF e do ECF na presença de nitrato, nitrito e benzoato



FONTE: PRÓPRIA (2019)

O composto de coordenação se mostra sensível ao conjunto de ânions analisados, que entram na estrutura do ECF como contra-íons substituindo os íons cloretos. Essa mudança observada na regressão da intensidade de fluorescência do composto se baseia na polarização que estes ânions causam aos ligantes presentes na estrutura dele<sup>25,26</sup>. Desta forma tornando possível a realização de um estudo mediante a sua interferência em relação a sua interação com o composto de coordenação, o que também possibilita a construção de uma curva analítica, que será utilizada como parâmetro de referência para posterior análise desses analitos nas amostras.

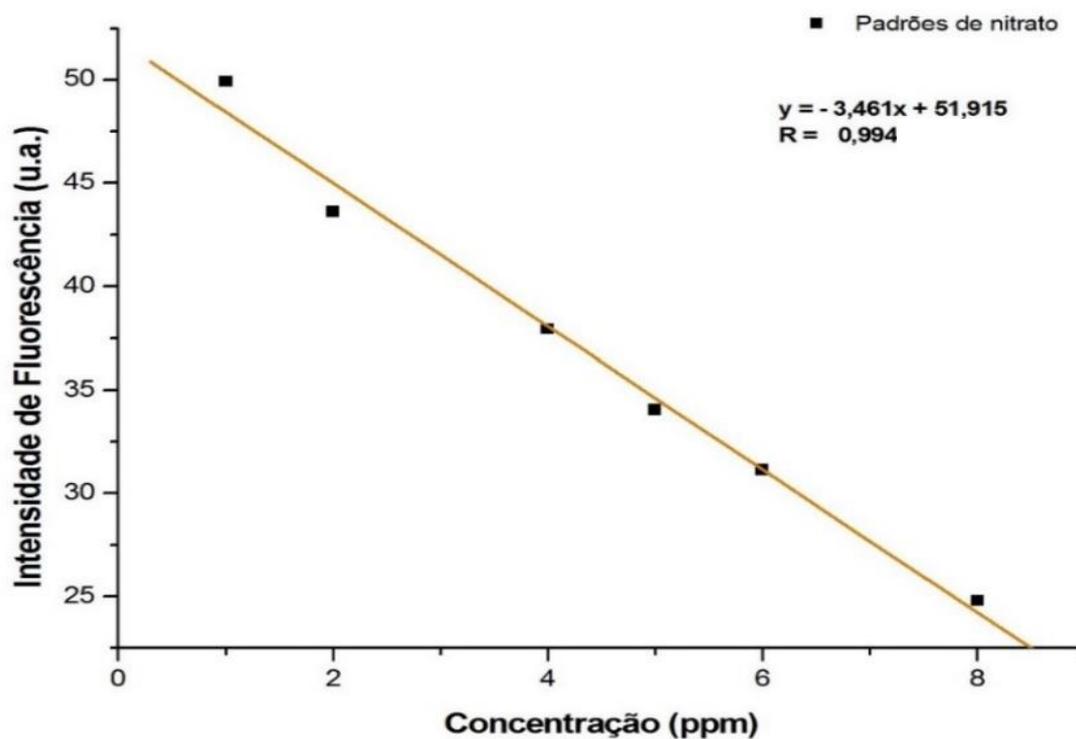
### 5.3 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS ANALÍTICAS

As curvas analíticas são construídas com base na regressão da intensidade de fluorescência do composto de coordenação quando tem seus contra-íons  $\text{Cl}^-$  trocados por  $\text{NO}_3^-$  ou  $\text{NO}_2^-$ . Tendo sido obtidas a partir da variação das concentrações dos analitos entre 0,5 à 10,0  $\text{mg L}^{-1}$ , por método de regressão linear.

Para o nitrato e nitrito (**Figura 13 e 14**) as curvas possuem tendências lineares, sendo possível observar uma maior sensibilidade do ECF quando submetido a soluções mais concentradas desses analitos. Os coeficientes de correlação destes ânions se mostraram adequados, pois os valores obtidos foram muito próximos a unidade.

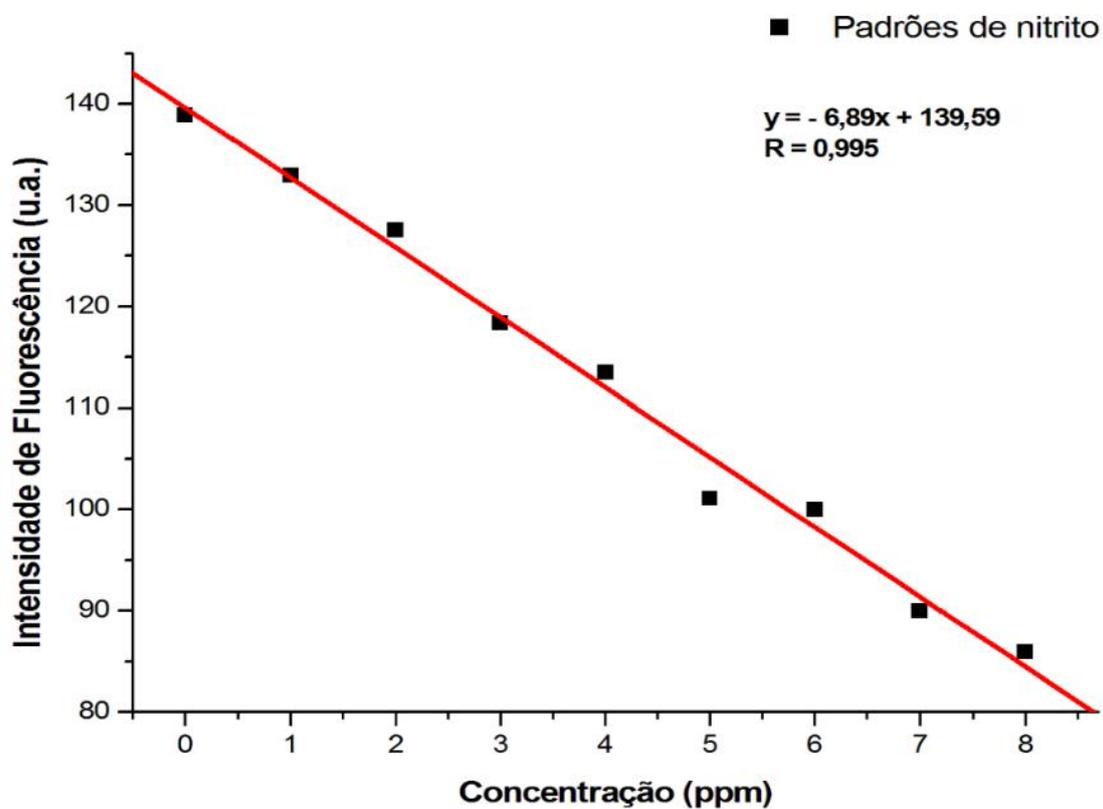
Aos resultados iniciais obtidos nota-se a possibilidade de aplicação do composto de coordenação estudado para fins analíticos na determinação de nitrato e nitrito. Como perspectiva, visamos realizar a montagem de um módulo de análise em fluxo para em seguida proceder os testes estatísticos (limite de quantificação, limite de detecção, adição e recuperação, adição de padrão, análise de amostras reais e o método comparativo) para a validação do método proposto.

Figura 13 – Curva analítica do nitrato



FONTE: PRÓPRIA (2020)

Figura 14 – Curva analítica do nitrito



FONTE: PRÓPRIA (2020)

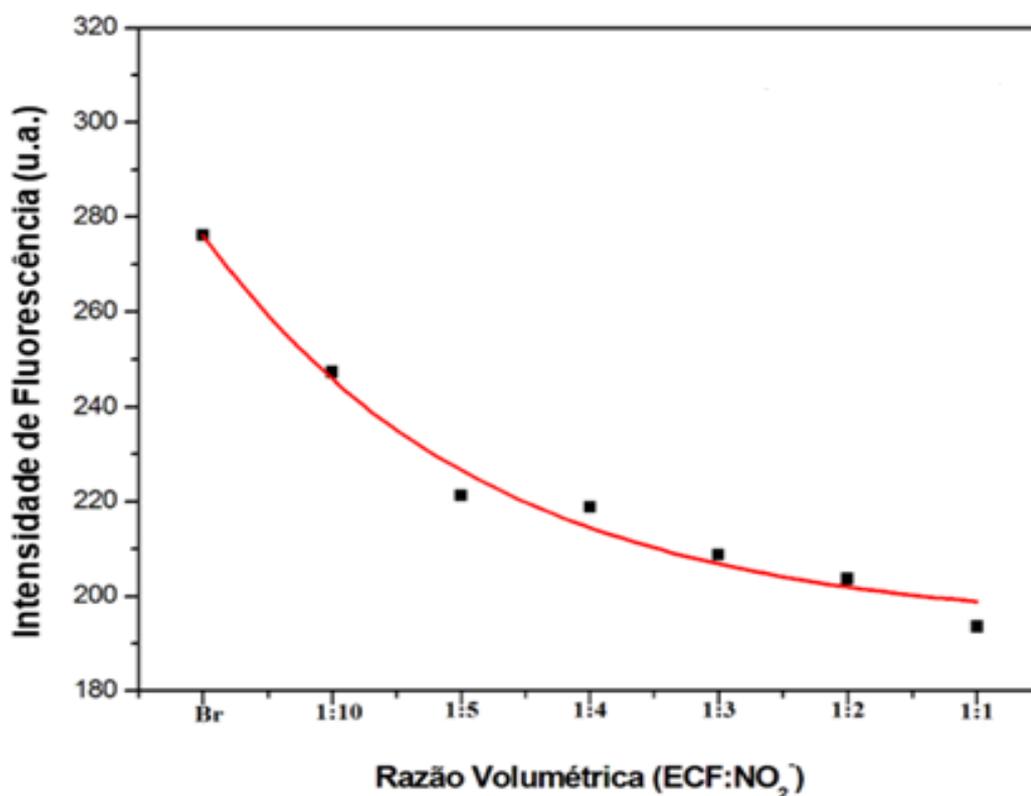
#### 5.4 ESTUDO DA PROPORÇÃO EM VOLUME (ECF/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

A proporção entre a quantidade do ECF e a amostra de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> foram estudadas. Seis diferentes proporções foram testadas (1:1; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5 e 1:10) (**Figura 15**), a partir das intensidades observadas foi possível definir qual seria a melhor proporção para o procedimento das análises.

As três primeiras proporções (1:10; 1:5 e 1:4) analisadas se mostram interessantes, pois seus valores de intensidade de fluorescência se mostram elevados. A partir dos dados adquiridos é possível definir que a proporção 1:10 se mostra ideal.

Ao elevar gradualmente a proporção de nitrito no meio reacional há uma diminuição na intensidade de fluorescência. Entre os analitos estudados, o nitrito é o que mostra uma maior sensibilidade quando substitui o íon cloreto na segunda esfera de coordenação, logo, quanto maior a parcela deste ânion no meio reacional, maior será a diminuição da intensidade de fluorescência do ECF.

**Figura 15** – Estudo da relação ECF/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> em volume



FONTE: PRÓPRIA (2020)

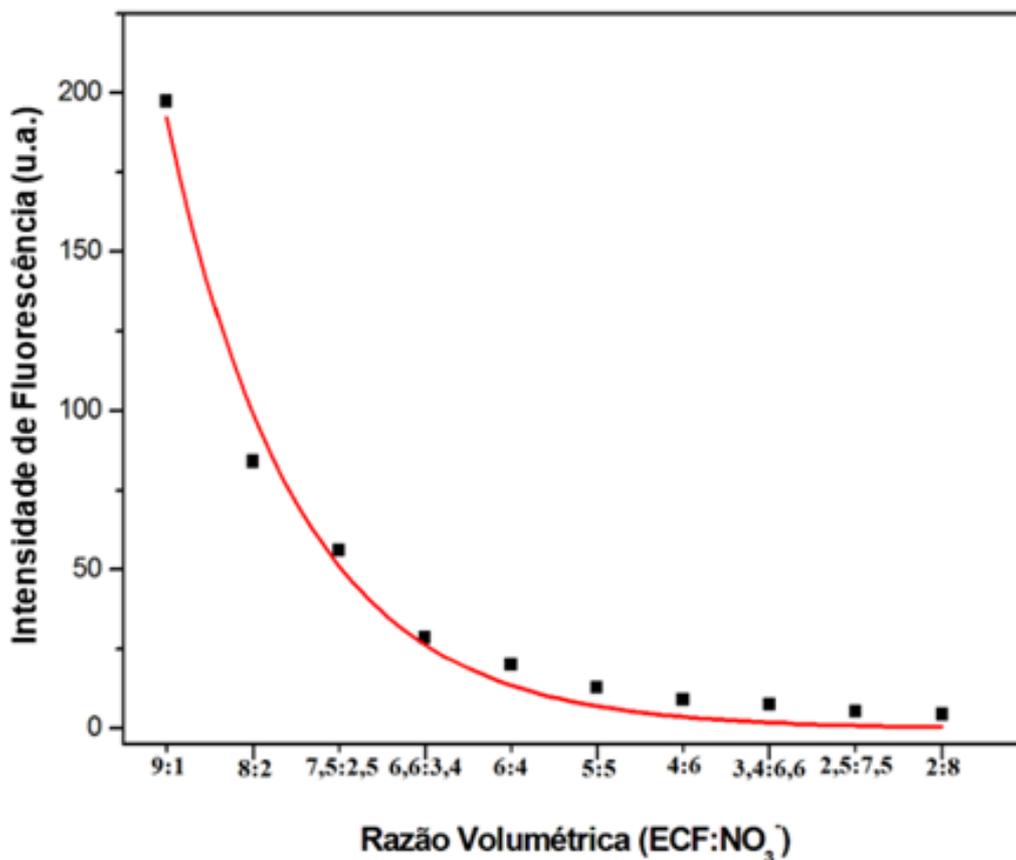
## 5.5 ESTUDO DA PROPORÇÃO EM VOLUME (ECF/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

Dez diferentes proporções (ECF/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) foram testadas (9:1; 8:2; 7,5:2,5; 6,6:3,4; 6:4; 5:5; 4:6; 3,4:6,6; 2,5:7,5 e 2:8) (**Figura 16**). Com base nas intensidades obtidas foi determinado qual seria a proporção ideal para o procedimento das análises. A partir do estudo dessas proporções conseguimos condições nas quais o ECF se mostra mais sensível para o nitrato, pois no tópico **5.2** referente ao estudo da sensibilidade do composto de coordenação, ele se mostrou pouco sensível a este ânion.

O primeiro ponto analisado (9:1) apresenta a maior resposta de luminescência, porém o (8:2) foi a proporção selecionada para realização dos futuros testes. A escolha se baseia no fato de que a proporção 9:1 ECF/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> não nos fornece uma resposta satisfatória referente a sua sensibilidade, em que basicamente este teor de ECF é bastante aproximado ao branco utilizado nas análises, o que dificultaria na construção das curvas analíticas.

Ao variar essas proporções do primeiro ao último ponto da curva, observamos uma redução da intensidade de fluorescência do ECF, pois ao diminuir o volume desse composto temos uma menor luminescência do sistema, considerando que ele é o responsável por esse processo, a regressão se acentua ainda mais pelo fato do aumento do volume do nitrato.

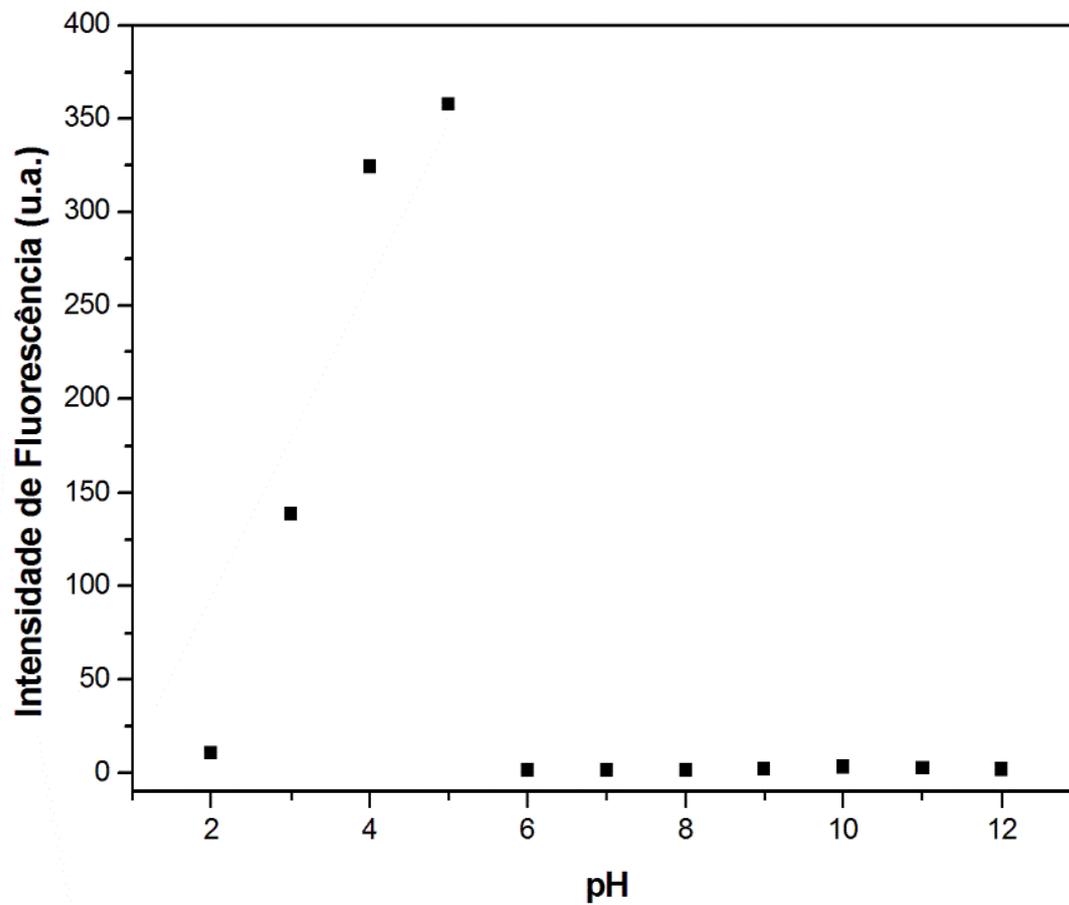
**Figura 16** – Estudo da relação ECF/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> em volume



FONTE: PRÓPRIA (2020)

## 5.6 ESTUDO DA INTERFERÊNCIA DO pH

Por meio deste estudo buscamos a otimização do nosso sistema luminescente, no qual foi possível observar o aumento na intensidade de fluorescência do nosso composto de coordenação (ECF) quando analisado em pH 5 (**Figura 17**). Em faixas de pH muito ácidas pode ocorrer a protonação (inserção de H<sup>+</sup>) nos nitrogênios da estrutura do nosso composto diminuindo assim o sistema ressonante, já em pH básico o európio pode ser precipitado como hidróxido destruindo a estrutura do composto de coordenação.

**Figura 17** – Gráfico da Intensidade de Fluorescência (ECF) *versus* pH

FONTE: PRÓPRIA (2020)

## 6.0 CONCLUSÕES

---

- ✓ A síntese do ECF se mostrou efetiva de acordo com as caracterizações químicas (Espectroscopia Vibracional na região do IV, Espectroscopia de Absorção Eletrônica na região do UV-Visível e Espectroscopia de Fluorescência na região do UV-Visível) quando comparados com os valores das bandas observados na literatura de referência;
- ✓ O composto sintetizado se mostra sensível aos analitos de interesse (nitrato, nitrito), sendo o nitrito o mais sensível, mostrando a viabilidade do procedimento analítico desenvolvido para a análise destes adulterantes em leite;
- ✓ A supressão de luminescência do ECF se dá pela polarização causada aos ligantes do composto por influência dos ânions encontrados na segunda esfera de coordenação;
- ✓ As curvas analíticas obtidas possuíram coeficientes de correlação satisfatórios ( $R_{\text{NO}_3} = 0,994$  /  $R_{\text{NO}_2} = 0,995$ ), por método de regressão linear;
- ✓ A partir do estudo da proporção em volume de ECF/ $\text{NO}_2^-$  observa-se que a proporção 1:10 fornece um valor de intensidade de fluorescência satisfatório para o procedimento das análises;
- ✓ A partir do estudo da proporção em volume de ECF/ $\text{NO}_3^-$  temos que a proporção 8:2 seria a ideal para o procedimento das análises, e nessas proporções conseguimos observar uma maior sensibilidade do composto de coordenação com este analito;
- ✓ O pH 5 proporciona um aumento na intensidade de fluorescência ECF.

## 7.0 PERSPECTIVAS

---

- Montar o módulo de análise para a determinação de nitrato e nitrito;
- Desenvolver um programa específico escrito em LabView para controle das variáveis do sistema e aquisição dos dados gerados;
- Realizar testes estatísticos (limite de quantificação; limite de detecção; adição e recuperação; adição de padrão; análise de amostras reais e o método comparativo);
- Determinar a quantidade de nitrato e nitrito em amostras de leite comercializadas no Estado de Pernambuco empregando o procedimento analítico proposto.

## 8.0 REFERÊNCIAS

---

- [1] BRASIL. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. **A importância do consumo de leite no atual cenário nutricional brasileiro**. São Paulo, 2015. 28 p. Disponível em: [http://sban.cloudpainel.com.br/source/SBAN\\_Importancia-do-consumo-de-leite.pdf](http://sban.cloudpainel.com.br/source/SBAN_Importancia-do-consumo-de-leite.pdf) Acesso em: 14 de mar. de 2020.
- [2] ABRANTES, M. R.; CAMPELO, C. S.; SILVA, J. B. A. Fraude em leite: Métodos de detecção e implicações para o consumidor. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo, v. 73, n. 3, p. 244-51, 2014.
- [3] ALMEIDA, T. V. **Detecção De Adulteração Em Leite: Análises De Rotina E Espectroscopia De Infravermelho**. 2013. 26 f. Disciplina de Seminários Aplicados (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
- [4] IAMARINO, L. Z.; OLIVEIRA, M. C.; ANTUNES, M. M.; OLIVEIRA, M. Nitritos e nitratos em produtos cárneos enlatados o/ou embutidos. **Gestão em foco**, São Paulo, n. 7, p. 246-50, 2015. Disponível em: <https://docplayer.com.br/32629357-Nitritos-e-nitratos-em-produtos-carneos-enlatados-e-ou-embutidos.html>. Acesso em 14 de mar. 2020.
- [5] TRONCO, V. M. **Manual de Inspeção da Qualidade do Leite**, 4. ed. Rio Grande do Sul: Editora UFSM, 2010.
- [6] BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M. N. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.
- [7] ARAÚJO, P. F.; RODRIGUES, R. S. Nitratos, nitritos, nitrosaminas e seus efeitos sobre o organismo humano. **Revista Higiene Alimentar**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 160, p. 54-58, 2008.
- [8] OLIVEIRA, E. M. D. **Nitrato, nitrito e sorbato em produtos cárneos consumidos no Brasil**. 2014. 40 f. Monografia (Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Universidade do Estado de São Paulo, São Paulo. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/124295/000834021.pdf?sequence=1>
- [9] SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos da Química Analítica**. 9. ed., São Paulo: Cengage Learning, 2012.
- [10] GUSSO, P. K. **Caracterização Fluorimétrica Da Matéria Orgânica Dissolvida E Sua Relação Autóctone/Alóctone Na Baía De Paranaguá**, 2008, 97 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Paraná.
- [11] VALEUR, B. LERAY, I. Design Principles of Fluorescent Molecular Sensors for Cation Recognition, **Coordination Chemistry Reviews**, v. 205, p. 03-40. 2000.
- [12] SKOOG, D. A.; HOLLER, F.J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análisis Instrumental**, 5. ed., Madrid: McGRAW-HILL, 2001.

- [13] MEIRA, M. *et al.* Identificação De Adulteração De Biocombustível Por Adição De Óleo Residual Ao Diesel Por Espectrofluorimetria Total 3d E Análise Das Componentes Principais, **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 621-624, 2011.
- [14] SUKHORUKOV, V. L. *et al.* Many-Electron Dynamics Of Atomic Processes Studied By Photon-Induced Fluorescence Spectroscopy. **Physics Reports**, v. 10, 2018.
- [15] SCHNEIDER, L. B. **Fluoróforos Sintéticos Naturais Para Aplicações Em Diagnósticos**, 2014, 109 f. Tese (Doutorado em Física) – Universidade Federal do Paraná.
- [16] BRAGA, G. B. **A química das terras raras e suas potencialidades**. 2014. 36 f. Monografia (Graduação em Química) – Universidade Federal São João del-Rei.
- [17] QUIRINO, W. G. **Produção e caracterização de dispositivos orgânicos eletroluminescentes (OLEDs) baseados em complexos  $\beta$ -dicetonatos de terras-raras**. 2007. 258 f. Tese (Doutorado em Física) – PUC-Rio.
- [18] TEIXEIRA, L. S. **Estudos das propriedades ópticas dos complexos európio tetraciclina e suas aplicações na detecção de lipoproteínas**. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear) – Universidade de São Paulo.
- [19] LUIZ, J. E. M. S. **Estudo das propriedades espectroscópicas de matrizes de urânio dopadas com európio. Transferência de energia entre  $UO_2^{2+}$  e o  $Eu^{3+}$** . 2007. 115 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear) – Universidade de São Paulo.
- [20] JONES, LORETTA; ATKINS, PETER. **Princípios de Química - Questionando a Vida Moderna e o Meio Ambiente** – 3. ed. Porto Alegre: Bookman, 2006.
- [21] FARIAS, R. F. Werner, Jørgensen e o Papel da Intuição na Evolução do Conhecimento Químico. **Química Nova na Escola**, n. 13, p. 29-32, 2001. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc13/v13a06.pdf>
- [22] BASTOS, A. L. *et al.* Determinação de nitrato e nitrito em chás de pele de pescados empregados para tratamento de asma brônquica na região sul do Rio Grande do Sul. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 5, p. 895-900, 2006.
- [23] MANTOVANI, J. R. *et al.* Comparação de procedimentos de quantificação de nitrato em tecido vegetal. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 40, n. 1, p. 53-59, 2005.
- [24] SILVA, M. **Desenvolvimento de método para a análise de nitrato, nitrito e tiocianato em amostras de leite e extrato hidrossolúvel de soja por eletroforese capilar de zona, empregando capilar de sílica revestido com sal de quitosana quaternizada**. 2017. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

[25] BELIAN, M. F. *et al.* Synthesis, characterization and thermogravimetric study of the complexes  $[\text{Eu}(\text{12-crown-4})\cdot\text{phen}_2]\cdot\text{X}_3$  (phen= 1,10-phenanthroline; X= F, Cl, Br, SCN,  $\text{ClO}_4$  and  $\text{NO}_3^-$ ): Effect of the counter-ion on the thermal degradation profile. **Thermochimica Acta**, n. 437, p. 59-61, 2005.

[26] BELIAN, M. F. **Éteres Coroa com Íons Lantanídeos: De Compostos de Coordenação a Novos Materiais Nanoestruturados de Sílica**. 2004. 150 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife.