

FRANCIELLE DE OLIVEIRA CHAGAS

**MÉTODO POTENCIOMÉTRICO NÃO TITULOMÉTRICO (MÉTODO DE 2
PONTOS) PARA DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM BEBIDAS E GÁS
CARBÔNICO EM ATMOSFERA CONTROLADA**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica, para
obtenção do título de Magister Scientiae.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C433m
2016 Chagas, Francielle de Oliveira, 1991-
Método potenciométrico não-titulométrico (método de 2 pontos) para determinação de acidez em bebidas e gás carbônico em atmosfera controlada / Francielle de Oliveira Chagas. – Viçosa, MG, 2016.
xv, 107f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: André Fernando de Oliveira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f.103-107.

1. Química analítica. 2. Sucos de frutas - Análise. 3. Sucos de frutas - Acidez. 4. Ph. 5. Dióxido de carbono. 6. Carbonatação (Bebidas). I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química. Programa de Pós-graduação em Agroquímica.
II. Título.

CDD 22. ed. 543

FRANCIELLE DE OLIVEIRA CHAGAS

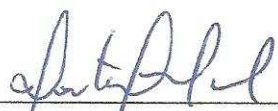
**MÉTODO POTENCIOMÉTRICO NÃO TITULOMÉTRICO (MÉTODO DE 2
PONTOS) PARA DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM BEBIDAS E GÁS
CARBÔNICO EM ATMOSFERA CONTROLADA**

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Programa de Pós-
Graduação em Agroquímica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

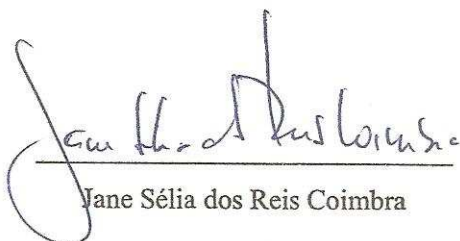
APROVADA: 18 de fevereiro de 2016.



Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Coorientadora)



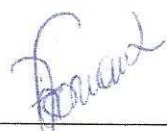
Antônio Augusto Neves
(Coorientador)



Jane Sélia dos Reis Coimbra



Renata Pereira Lopes Moreira



André Fernando de Oliveira
(Orientador)

Aos meus pais e minha irmã, minha família,
meu alicerce, dedico.

“Não to mandei eu? Esforça-te e tem bom ânimo; não temas, nem te espantes; porque o Senhor teu Deus é contigo, por onde quer que andares. ”

Josué 1:9

AGRADECIMENTOS

A aquele que é o primeiro e único em minha vida: Deus e ao seu filho, nosso Senhor Jesus, pelo amparo nos momentos de desespero, pelo conforto nas horas de angústia, por sua fidelidade.

À minha mãe Maria, meu pai, Adalberto e minha irmã Francyse, por acreditarem em mim mesmo quando eu não acreditava, pelo apoio, pela força e por me lembrarem que há um Deus no céu que ampara a quem o ama.

Ao meu noivo Vanderlei pelo carinho, amor e compreensão.

A todos os meus familiares, e em especial a uma pessoa que infelizmente não está aqui para compartilhar de minha alegria, mas que sempre acreditou em meus sonhos e fez dos meus os sonhos dela: minha amada Claudinéia (Néia).

Ao meu orientador Professor André Fernando de Oliveira, por toda ajuda e dedicação durante o tempo do mestrado. Obrigada pela paciência, incentivo e pelo exemplo de profissionalismo dado pelo senhor. Estas competências serão levadas comigo ao longo de minha caminhada acadêmica da qual o senhor sempre fará parte.

Aos meus co-orientadores Professora Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Professor Antônio Augusto Neves, pelas colocações pertinentes na construção deste trabalho, incentivo e carinho com o qual me acolheram no Laqua.

Aos membros da banca, Professora Jane Sélia e Professora Renata Pereira por se disporem tão prontamente a participarem deste momento tão importante em minha vida.

A toda equipe da secretaria do Programa de Pós-graduação, em especial ao Gabriel, por todo o auxílio prestado durante o mestrado.

Aos meus amigos Luiz Felipe, Jussara, Yara e Mariane pela amizade, apoio e momentos de descontração, tão importantes para conclusão desta etapa.

Ao meu amigo Jaderson por toda a ajuda concedida na construção do trabalho, auxílio no laboratório e principalmente pela amizade.

Aos amigos do Laquam: Fernanda, Isadora, Danilo, José Neto, Taís, Dudu, Camila, Lorryne, Stefania, Jeferson e Renata. Obrigada pelos ensinamentos e pela amizade.

A todos os amigos do Laqua pelo companheirismo, apoio e pela amizade.

A Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica pela oportunidade concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ - pela bolsa concedida.

Sem todos vocês nada disso seria possível.

BIOGRAFIA

Francielle de Oliveira Chagas, filha de Adalberto Custódio das Chagas e Maria Elesbão Neves de Oliveira Chagas, nasceu na cidade de Viçosa, estado de Minas Gerais, em 26 de maio de 1991.

Iniciou o curso de Licenciatura em Química em março de 2008 pela Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), em Ubá, MG, diplomando-se como licenciada em Química em janeiro de 2013. Em março de 2014 iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, com área de concentração em Química Analítica, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em 18 de fevereiro de 2016.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	IX
LISTA DE TABELAS	XIII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT	XV
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO I.....	3
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
1. SUCOS DE FRUTAS.....	3
1.1. Vinhos.....	5
1.2. Titulação	7
1.3. Método de Dois Pontos (M2P).....	11
1.3.1. Soluções tampão	11
1.4. Eletrodos íon-seletivos	16
1.5. Carbonatação	18
1.6. Otimização por estratégia multivariada utilizando a Matriz de Doehlert 20	
CAPÍTULO II.....	23
DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DE NÉCTARES DE LARANJA	23
1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS.....	25
2.1. Objetivo Geral	25
2.2. Objetivos específicos	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
3.1. Preparo das soluções	26
3.1.1. Solução de hidróxido de sódio	26
3.1.2. Solução estoque de ácido cítrico	26
3.2. Otimização do Método	26
3.3. Preparo das amostras	27
3.3.1. Sucos de frutas	27
3.4. Procedimento Experimental.....	28
3.5. Determinação do valor do pH	28
3.6. Titulação volumétrica com detecção potenciométrica.....	28
3.7. Figuras de mérito	28
3.7.1. Sensibilidade Mínima.....	29
3.7.2. Limite de detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ).....	29
3.7.3. Exatidão.....	30

3.7.4. Precisão.....	30
3.8. Tratamento dos dados	31
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. Avaliação da otimização	32
4.2. Otimização utilizando o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas como resposta	35
4.3. Otimização utilizando a sensibilidade mínima das curvas analíticas como resposta	39
4.4. Limite de detecção (LOD)	43
4.5. Coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}) e Número de noves (N9).....	46
4.6. Determinação da acidez por titulação potenciométrica	48
4.7. Validação.....	50
CAPÍTULO III	57
AVALIAÇÃO DO ELETRODO DE PBO_2 COMO SENSOR PARA O MÉTODO DOS DOIS PONTOS	57
1. INTRODUÇÃO	57
2. OBJETIVOS.....	60
2.1 OBJETIVO GERAL	60
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	60
3. MATERIAIS E MÉTODOS	61
3.1 Construção do eletrodo.....	61
3.2 Preparo das soluções	62
3.3 Solução tampão fosfato.....	62
3.3.1 Solução ácido sulfúrico.....	62
3.3.2 Efeito da composição das membranas do suporte	62
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.1 Efeito da composição das membranas do suporte	64
5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO	70
CAPÍTULO IV	71
APLICAÇÃO DO M2P NA DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DE VINHOS.....	71
1. INTRODUÇÃO	71
2. OBJETIVOS.....	72
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	73
3.1. Preparo das soluções	73
3.1.1. Solução de ácido tartárico.....	73
3.2. Determinação das condições experimentais.....	73
3.3. Preparo das amostras	74

3.3.1. Vinhos	74
3.4. Procedimento Experimental.....	74
3.5. Titulação volumétrica com detecção potenciométrica.....	74
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.1. Avaliação da otimização	75
4.2. Otimização multivariada pela Matriz de Doehlert	76
4.2.1. Otimização utilizando o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas como resposta	76
4.2.2. Otimização utilizando a sensibilidade mínima das curvas analíticas como resposta	78
4.3. Validação.....	81
5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO	86
CAPÍTULO V	87
DETERMINAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO (CO ₂) EM CÂMARAS DE CARBONATAÇÃO	87
1. INTRODUÇÃO	87
2. OBJETIVOS.....	89
2.1. OBJETIVO GERAL	89
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	89
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	90
3.1. Câmaras de carbonatação	90
3.2. Curva analítica	91
3.3. Retirada e injeção das amostras	92
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	93
4.1. AVALIAÇÃO DA CURVA ANALÍTICA.....	93
4.2. MONITORAMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE CO ₂ NAS CÂMARAS DE CARBONATAÇÃO	94
5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO	100
CONCLUSÕES GERAIS	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do ácido cítrico.	4
Figura 2. Fórmula estrutural plana do ácido tartárico.	6
Figura 3. Curva de derivada primeira da titulação de 10 mL de ácido acético com 0,084 mol L⁻¹ com NaOH 0,0943 mol L⁻¹.	8
Figura 4. Curva da segunda derivada da titulação de 10 mL de ácido acético 0,084 mol L⁻¹ com NaOH 0,0943 mol L⁻¹.	9
Figura 5. Poder tamponante (β) do sistema citrato em função do pH	13
Figura 6. Diagrama de distribuição de espécies para o ácido cítrico em diferentes valores de pH.	13
Figura 7. Comportamento da carga efetiva do sistema citrato em função do pH ..	16
Figura 8. Representação dos pontos do Planejamento pela matriz de Doehlert com 3 variáveis (Fonte: Borges, 2011).	21
Figura 9. Diagrama esquemático da construção da curva analítica para o Ensaio 1 da Tabela 3.	33
Figura 10. Curva analítica do ácido cítrico referente ao Ensaio 1: concentração do tampão citrato 112,5 mmol L⁻¹, pH 6,8 com a adição de 1 mL do padrão – obtida pelo software Origin 8.0 Pro.	34
Figura 11. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 sobre a estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.	36
Figura 12. Coeficientes do modelo stepwise regression para avaliação da influência da concentração, pH do tampão e volume de amostra sobre a estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.	37
Figura 13. Influência do pH inicial do tampão citrato sobre o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.	38
Figura 14. Influência da concentração do tampão citrato sobre o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.	39
Figura 15. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.	40
Figura 16. Coeficientes do modelo stepwise para a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.	41

Figura 17. Influência do pH inicial do tampão citrato sob a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.	42
Figura 18. Superfície de resposta da influência do pH inicial e da concentração do tampão sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.	43
Figura 19. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 sobre o LOD das curvas analíticas.	44
Figura 20. Coeficientes do modelo de regressão múltipla após o procedimento stepwise para o LOD das curvas analíticas do ácido cítrico.	44
Figura 21. Influência do pH do tampão sobre o LOD do M2P.	45
Figura 22. Influência da concentração do tampão sobre o LOD do M2P.	46
Figura 23. Influência da concentração do tampão citrato no N9 do coeficiente de determinação ajustado.	48
Figura 24. Influência do pH inicial do tampão no parâmetro N9 do coeficiente de determinação ajustado.	48
Figura 25. Curva de titulação de 1 mL do suco de fruta A em 10 mL de água com hidróxido de sódio 0,1893 mol L ⁻¹	49
Figura 26. Gráfico da primeira derivada dos dados potenciométricos da titulação de 1 mL de néctar de laranja com NaOH 0,1893 mol L ⁻¹ . No inserto a tabela dos valores fornecidos pelo software Origin 8.0 Pro.	50
Figura 27. Porcentagem de erro relativo em relação ao teor de ácido cítrico nas amostras.	53
Figura 28. Correlação da concentração de ácido cítrico (% m/m) obtido pelo M2P e por titulação potenciométrica das amostras de néctar de laranja.	54
Figura 29. Gráfico dos resíduos dos resultados obtidos para o M2P e a titulação potenciométrica na análise das amostras de néctar de laranja.	54
Figura 30. (I) - Diagrama esquemático da obtenção dos eletrodos de PbO ₂ de acordo com a metodologia descrita por Lima et al. (2005). (II) - Representação esquemática do eletrodo de PbO ₂ : (A) suporte de grafite; (B) membrana de parafina; (C) fita de teflon; (D) região de contato elétrico.	61
Figura 31. Eletrodos de PbO ₂ construídos com membrana de parafina sobre suporte de grafite de 60, 70, 75 e 80% (m/m) de PbO ₂ (esquerda para direita).	62
Figura 32. Curva analítica do tampão fosfato com eletrodo de PbO ₂ (60%).	64
Figura 33. Curva analítica do tampão fosfato com eletrodo de PbO ₂ (70%).	64
Figura 34. Curva analítica do tampão fosfato com eletrodo de PbO ₂ (75%).	65

Figura 35. Curva de titulação do tampão fosfato com eletrodo de PbO_2 (80 %).	65
Figura 36. Curva analítica do eletrodo de PbO_2 obtida através da adição de 1 mL do padrão sob 10 mL do tampão citrato pH 6,8 com concentração 25 mmol L^{-1} .	68
Figura 37. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido tartárico.	76
Figura 38. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando o conceito de stepwise regression para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido tartárico.	77
Figura 39. Superfície de resposta da influência do pH do tampão inicial e da concentração do tampão sobre o desvio padrão dos resíduos.	77
Figura 40. Comportamento do desvio padrão dos resíduos em relação ao pH do tampão inicial do tampão citrato.	78
Figura 41. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando o conceito de stepwise regression para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido tartárico.	79
Figura 42. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando o conceito de stepwise regression para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido tartárico.	80
Figura 43. Comportamento da sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido tartárico em relação ao pH inicial do tampão citrato.	80
Figura 44. Gráfico da sensibilidade mínima e do desvio padrão dos resíduos das curvas do ácido tartárico para os treze ensaios realizados no planejamento experimental pela Matriz de Doehlert.	81
Figura 45. Curva analítica do ácido tartárico obtida pela adição de 1 mL do padrão tartarato sobre 10 mL de tampão citrato de concentração 25 mmol L^{-1} e pH inicial 6,8.	82
Figura 46. Curvas de titulação das amostras de vinho 1 e 7 utilizando solução de $\text{NaOH } 0,0183 \text{ mol L}^{-1}$.	84

Figura 47. Curvas de titulação das amostras de vinho 1 e 8 utilizando solução de NaOH 0,0183 mol L ⁻¹	84
Figura 48. Curvas de titulação das amostras de vinho 3 e 4 utilizando solução de NaOH 0,0183 mol L ⁻¹	85
Figura 49. (A) Croqui da câmara de carbonatação para avaliação da influência de dióxido de carbono sobre a resistência do concreto; (B) câmara de carbonatação construída; (C) Detalhe expandido do item ④ na Figura 49 (B); (D) Detalhe expandido do item ⑤ da Figura 49 (B).	90
Figura 50. Esquema para obtenção da curva analítica do dióxido de carbono através do bombeamento de ar por uma bomba de aquário até o recolhimento do CO ₂ na solução tampão.	92
Figura 51. Curva analítica para o dióxido de carbono em tampão citrato pH 6,8 concentração 25 mmol L ⁻¹	93
Figura 52. Curva analítica para o dióxido de carbono em tampão borato pH 10,0 concentração 25 mmol L ⁻¹	94
Figura 53. Avaliação da concentração de CO ₂ durante os ciclos de bombeamento para câmara.	97
Figura 54. Gráfico da distribuição de dióxido de carbono ao longo dos dias na fase superior e inferior da câmara de carbonatação. AC: antes do ciclo; DC: depois do ciclo.	98
Figura 55. Gráfico da taxa de consumo de dióxido de carbono na fase superior e inferior da câmara ao longo dos dias de estudo.	99

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Número de experimentos e os valores codificados para a matriz de Doehlert usando três variáveis.....	22
Tabela 2. Códigos e valores reais das variáveis experimentais analisadas para montagem do planejamento experimental via Matriz de Doehlert.....	27
Tabela 3. Valores reais das condições experimentais dos 13 ensaios.	32
Tabela 4. Ensaio 1: Δ pH da solução tampão de ácido cítrico com concentração de $112,5 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 6,8, após a adição de $1000 \mu\text{L}$ do padrão de ácido cítrico na faixa de 5 a 50 mmol L^{-1}	33
Tabela 5. Comparação dos resultados da determinação da concentração de ácido cítrico por titulação potenciométrica e pelo M2P com adição de 1 mL de amostra concentrada sobre 10 mL de tampão citrato 25 mmol L^{-1} pH 6,8.	52
Tabela 6. Inclinação, coeficiente de determinação (R^2), número de nove (N9) e potencial elétrico condicional ($E^{\circ'}$) das curvas analíticas.....	66
Tabela 7. Valores de pH obtidos pelo eletrodo de vidro (pH_{EV}) e pelo eletrodo de PbO_2 (pH_{EC}) para as amostras comerciais de néctares de laranja.....	67
Tabela 8. Concentração de ácido cítrico nas amostras de néctares de laranja pelo M2P usando eletrodo de vidro (EV) e o eletrodo de PbO_2 (EC).....	69
Tabela 9. Valores reais das condições experimentais dos 13 ensaios	75
Tabela 10. Comparação dos resultados da quantificação de ácido tartárico por titulação potenciométrica e pelo M2P com adição de 1 mL de amostra concentrada sobre 10 mL de tampão citrato 25 mmol L^{-1} pH 6,8.	83
Tabela 11. Concentração de dióxido de carbono nas câmaras de carbonatação antes e após o 1º, 2º, 3º e 4º ciclos, determinação realizada pelo M2P.	96

RESUMO

CHAGAS, Francielle de Oliveira. Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2016. **MÉTODO POTENCIOMÉTRICO NÃO TITULOMÉTRICO (MÉTODO DE 2 PONTOS) PARA DETERMINAÇÃO DE ACIDEZ EM BEBIDAS E GÁS CARBÔNICO EM ATMOSFERA CONTROLADA.** Orientador: André Fernando de Oliveira. Coorientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Antônio Augusto Neves.

O desenvolvimento e aplicação de um método analítico para determinação da acidez de néctares de laranja, vinhos e para o controle da concentração de dióxido de carbono em câmara de carbonatação foi proposto neste trabalho. O método denominado Método de Dois Pontos (M2P) é fundamentado na variação de pH de uma solução tampão citrato de concentração e pH inicial conhecidos. A otimização do método foi realizada através de Planejamento Experimental pela Matriz de Doehlert, onde o pH inicial do tampão, sua concentração e volume de amostra foram estudados. A construção de um eletrodo de PbO_2 para aumento da sensibilidade do M2P também foi avaliada. O eletrodo apresentou inclinação nerstiana de $-100,8 \text{ mV dec}^{-1}$ e os resultados para a determinação da acidez em néctares de laranja apresentaram-se análogos ao do eletrodo de vidro, com erros entre 4,24 e 16,82%. Em ambas as bebidas a condição ótima foi em pH inicial do tampão 6,8 e concentração do tampão 25 mmol L^{-1} pela adição de 1 mL de amostra. Para o néctar de laranja a faixa analítica foi de 5 a 50 mmol L^{-1} , no estudo da precisão o método apresentou coeficiente de variação entre 0,57 e 5,00%. Para o vinho a faixa analítica foi de 5 a 75 mmol L^{-1} , a exatidão apresentou erros entre 0,55 e 9,25%, para a precisão o coeficiente de variação esteve entre 0,80 e 2,94%. O controle da concentração de dióxido de carbono em uma câmara de carbonatação do Departamento de Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa também foi avaliado. Isso foi realizado através da injeção de determinado volume de gás presente na câmara em soluções de tampão borato com pH 10. As concentrações exibidas pelo M2P estiveram entre 42,45 e $402,68 \text{ mg L}^{-1}$ de CO_2 . O método proposto é simples, rápido e de baixo custo, com resultados semelhantes aos do método titulométrico, com a vantagem de não depender da decisão do analista para determinação do ponto de viragem e sim da resposta de um instrumento analítico.

ABSTRACT

CHAGAS, Francielle de Oliveira. Universidade Federal de Viçosa, February, 2016. **METHOD POTENTIOMETRIC NON-TITRATION (METHOD OF 2 POINT) FOR DETERMINATION OF ACIDITY IN BEVERAGES AND CARBON DIOXIDE IN A CONTROLLED ATMOSPHERE.** Advisor: André Fernando de Oliveira. Co-advisors: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and Antônio Augusto Neves.

The development and application of an analytical method for determining the acidity of orange nectars, wines and control of carbon dioxide concentration in carbonation chambers was proposed in this paper. The method called Two Points Method (M2P) is based on the pH variation of a citrate buffer concentration and initial pH know. The optimization method was performed by the Doehlert Experimental Design where the initial pH of the buffer, concentration and sample volume were studied. The construction of a PbO₂ electrode to increase the sensitivity M2P was also evaluated. The electrode showed slope of -100.8 mV dec⁻¹ and the results for the determination of the acidity present in orange nectar is similar to the glass electrode with errors between 4.24 and 16.82%. In both drinks optimum condition was the initial pH 6.8 and buffer concentration of 25 mmol L⁻¹ by adding 1 mL of sample. For orange nectars analytical range was 5-50 mmol L⁻¹, the accuracy of the study method showed coefficient of variation between 0.57 and 5.00%. For wine the analytical range was 5-75 mmol L⁻¹, accuracy errors between 0.55 and 9.25%, for the precision coefficient of variation was between 0.80 and 2.94%. The control of carbon dioxide concentration in a carbonation chamber of the Civil Engineering Department of the Universidade Federal de Viçosa was also evaluated. This was done by injecting a given volume of gas present in the chambers in borate buffer at pH 10. The concentration shown by M2P were between 42.45 and 402.68 mg L⁻¹ of CO₂. The proposed method is simple, fast and low cost, with results similar to the titration method, with the advantage of not depend on the decision of the analyst to determine the turning point, but the response of an analytical instrument.

INTRODUÇÃO GERAL

A acidez de bebidas é um parâmetro de qualidade avaliado industrialmente durante as etapas de produção até chegar ao produto final visando a sua adequação aos padrões exigidos pela legislação. A acidez usualmente está associada ao conteúdo de ácidos orgânicos naturalmente presentes na matéria-prima original, como o ácido cítrico, málico, láctico e gálico.

A correta quantificação da acidez é necessária pois ela está associada à conservação e às características organolépticas de algumas bebidas bem como aos riscos do desenvolvimento de erosões dentárias, principalmente quando as mesmas são destinadas ao público infantil.

O método oficial estabelecido pelo Instituto Adolfo Lutz (2008) para a determinação da acidez de bebidas é realizado por titulação volumétrica com detecção do ponto de equivalência com uso de indicador visual ou por medidas potenciométricas. Embora a titulação envolvendo o uso de indicadores visuais do ponto de equivalência sejam de simples execução e baixo custo, há um problema sério relacionado com a garantia da qualidade dos resultados, uma vez que o ponto de viragem depende fortemente de uma avaliação subjetiva feita pelo analista, e, portanto, não pode ser confirmada ou rastreada. O segundo método não apresenta essa deficiência, mas é laborioso e demorado a menos que tituladores automáticos sofisticados sejam utilizados e muitas vezes, a relação custo/benefício não justifica sua aquisição.

Sob essa perspectiva, o desenvolvimento de metodologias que ofereçam a garantia da qualidade dos resultados e que, ao mesmo tempo, sejam de execução simples e de baixo custo é desejável.

Assim, neste trabalho, o Método dos Dois Pontos (M2P) que é um método potenciométrico não titulométrico, foi otimizado e validado para determinação da acidez de amostras de néctares de laranja e vinhos. Adicionalmente foi também utilizado para o monitoramento de CO₂ em uma câmara de ensaio de carbonatação de concretos e materiais similares.

Esse método se baseia na variação de pH de uma solução tampão de determinado volume pela adição de uma quantidade definida de amostra. A acidez da amostra é calculada com auxílio de uma curva analítica. Uma vez que a determinação do pH é uma

etapa crítica do M2P, é desejável estabilidade e sensibilidade analítica adequadas para que seja obtida uma maior precisão e exatidão do método.

No intuito de elevar a sensibilidade analítica do método estudado foi proposto o uso do eletrodo de PbO_2 disperso em matriz de parafina, pois este sensor apresenta uma sensibilidade analítica cerca de 112 mV dec^{-1} , duas vezes maior que a sensibilidade analítica apresentada pelo eletrodo de membrana de vidro (cerca de $59,6 \text{ mV dec}^{-1}$, a 25°C). Além disso, o eletrodo de PbO_2 exibe características interessantes, tais como: fácil construção, repetitividade e robustez elevadas.

A aplicação do M2P na determinação da concentração de dióxido de carbono (CO_2) em câmaras de carbonatação foi realizada a fim de resolver um problema analítico específico no Departamento de Engenharia Civil da UFV.

As câmaras de carbonatação são utilizadas para realizar estudos da resistência a carbonatação de cimentos, ou seja, resistência à difusão de gás carbônico nos poros do concreto, que poderá reagir com hidróxidos e silicatos de cálcio, formando carbonatos menos solúveis. O problema analítico apresentado foi o monitoramento do CO_2 em tais câmaras utilizando procedimentos simples, com frequência analítica ao redor de 1 amostra por hora.

CAPÍTULO I

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Sucos de frutas

A indústria de suco de frutas é um dos setores de maior crescimento no ramo de bebidas em todo o mundo. Sucos de frutas são amplamente consumidos e ocupam um importante espaço da dieta humana em razão da ampla faixa de benefícios trazidos a saúde, como: conteúdo mineral, vitaminas essenciais, auxílio na prevenção do câncer e na digestão, além de possuir propriedades anti-inflamatórias (NAVARRO-PASCUAL-AHUIR et al., 2015).

Suco ou sumo de fruta é a bebida não fermentada, não concentrada e não diluída, destinada ao consumo, obtida por processamento adequado da fruta madura e sã, ou de parte do vegetal de origem, submetida a tratamento que assegure a sua apresentação e conservação até o momento do consumo (MAPA, 2000). O mesmo não pode conter substâncias estranhas à fruta, sendo proibida a adição de aromas e corantes artificiais, assim como a associação de açúcares e edulcorantes hipocalóricos na fabricação de suco (ALMEIDA, 2013).

Suco de laranja é bebida não fermentada e não diluída, obtida da parte comestível da laranja (*Citrus sinensis*), através de processo tecnológico adequado (MAPA, 2000). Esta bebida possui alto valor nutricional e é considerada como uma fonte rica em vitamina C (ácido ascórbico) que implica no crescente consumo deste produto (SILVA et al., 2005).

A determinação de acidez, pH, sólidos solúveis, ácido ascórbico, óleo essencial, cor e viscosidade são parâmetros comumente analisados pelas indústrias processadoras de sucos cítricos, durante o processamento e no produto final, com o objetivo de garantir que os padrões estabelecidos pela legislação brasileira e pelo mercado externo sejam atendidos (ALMEIDA, 2013).

A acidez dos sucos é um parâmetro associado à concentração de vários ácidos orgânicos presentes no mesmo. Esse parâmetro é importante na apreciação do estado de conservação de um produto alimentício, para manutenção da natureza organoléptica e para evitar processos de decomposição tais como hidrólise ou fermentação que usualmente alteram o pH do meio. Tais propriedades fazem a determinação deste

parâmetro de grande interesse para indústria e para o consumidor final (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A acidez em sucos de frutas é devida a presença de ácido orgânicos tais como o ácido ascórbico, tartárico, cítrico, málico e gálico. Suas respectivas concentrações dependem de fatores como espécie, solo e circunstâncias de estresse em que as plantas foram submetidas (CARVALHO, 2010). Os ácidos orgânicos desempenham um papel muito importante na manutenção da autenticidade dos sucos de fruta, isso porque cada suco apresenta um perfil específico de ácidos, de maneira que eles podem ser usados como impressões digitais para garantir a legitimidade dessa bebida (NAVARRO-PASCUAL-AHUIR et al., 2015).

Geralmente, os métodos de determinação da acidez são os que avaliam a acidez titulável e resumem-se na titulação com indicador (fenolftaleína) ou potenciométrica com solução de hidróxido de sódio até a verificação do ponto final da titulação (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

A acidez titulável retrata a capacidade tampão de uma bebida, mensurada pela quantidade de base necessária para que uma bebida geralmente atinja valores de pH entre 5,5 e 7,0 (VIANNA et al., 2012). Em bebidas cítricas ela é expressa em % m/m de ácido cítrico (Figura 1). Este é um ácido orgânico fraco presente na maioria das frutas, sobretudo em cítricas como o limão e a laranja. Sua acidez é devido aos três grupos carboxílicos que podem perder prótons em solução.

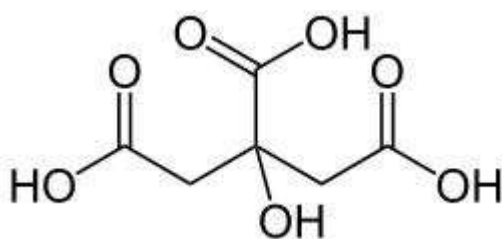


Figura 1. Fórmula estrutural do ácido cítrico.

A acidez em bebidas, como néctares de frutas, é principalmente determinada pela titulação ácido-base de Bronsted com uso de indicador ou pela titulação potenciométrica (OLIVEIRA, 2014). A titulação potenciométrica fundamenta-se na variação súbita do potencial próximo ao ponto de equivalência (detectada por um eletrodo), que permite a determinação do ponto final da titulação (ARICETTI, 2010).

Dentre as vantagens oferecidas pelo uso da titulação potenciométrica frente a titulação convencional (uso de indicadores), pode-se enfatizar a confiabilidade dos resultados fornecidos, uma vez que a detecção do ponto final da titulação não depende do analista, além da possibilidade de seu emprego em matrizes coloridas (SKOOG et al., 2013).

1.1. Vinhos

Os vinhos estão presentes tradicionalmente na história da humanidade desde tempos antigos e podem ser definidos como a bebida que resulta da fermentação alcoólica completa ou parcial de uvas frescas, esmagadas ou não, do mosto simples, com conteúdo alcoólico de, no mínimo, 7% (v/v a 20 °C) (EMBRAPA, 2009).

Assim como em todas as áreas de produção de alimentos e bebidas, a análise dos vinhos desempenha papel efetivo e, o controle preciso em todas as etapas do processo de vinificação é necessário para que o produto possa ser consumido (VILLIERS et al., 2012).

Nos últimos anos, a avaliação da rastreabilidade e autenticidade do vinho tornou-se um pré-requisito para importação em muitos países do mundo. É cada vez maior o interesse do consumidor por obter informações a respeito das características e qualidade do objeto de consumo, principalmente a composição, valor nutricional e origem (CHARLTON et al., 2010). Graças à facilidade com que os vinhos podem ser adulterados, a investigação de autenticidade desta bebida altamente consumida é garantida por estritas diretrizes elaboradas por órgãos como Organização Internacional de Vinhos (OIV – Paris, França).

Portanto, o mercado de consumo dos vinhos está sujeito a qualidade e certificação do produto processado, que por sua vez está relacionada a satisfação de parâmetros de qualidade, como: teor alcoólico, teor de açúcar, acidez total, acidez volátil, cinzas e razão isotópica de carbono.

Dentre os vários compostos presentes nos vinhos os ácidos orgânicos apresentam-se em destaque. Eles apresentam papel fundamental na composição desta bebida por influenciar nas propriedades organolépticas como cor, sabor e aroma, e até mesmo na sua estabilidade (ZERAVIK et al., 2016). A acidez dos vinhos é capaz de influenciar sua coloração, além de ser considerada uma das características gustativas mais importantes.

Para o vinho de mesa, a legislação brasileira estabelece o limite de 65 mmol L^{-1} de acidez total (INMETRO, 2007).

Os ácidos presentes nos vinhos podem ser aqueles que naturalmente encontram-se no ciclo vegetativo da videira, como o tartárico, málico e em menor concentração o cítrico, ou ainda aqueles formados durante o processo de fermentação como o ácido succínico, acético e láctico (IRINA et al., 2016). O conteúdo e a predominância dos ácidos presentes nos vinhos são direcionados pela região e o clima durante o crescimento e maturação das uvas. Em geral, vinhos de regiões mais quentes possuem maior teor de ácido tartárico, enquanto vinhos de regiões mais frias o ácido málico (ZERAVIK et al., 2016).

A acidez em vinhos em geral é expressa em níveis de ácido tartárico pois este é o ácido que pode ser encontrado em maior teor nesta bebida, com concentrações entre 3 a 9 g L^{-1} no mosto (RIZZON; SGANZERLA, 2007). Sua acidez decorre de dois hidrogênios ionizáveis presentes em sua estrutura (Figura 2).

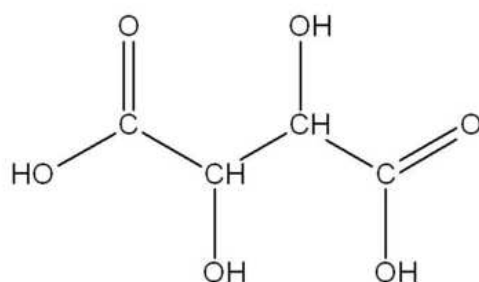


Figura 2. Fórmula estrutural plana do ácido tartárico.

A determinação da acidez em vinhos pode ser efetuada de várias formas. Atualmente várias metodologias têm sido propostas com o objetivo de simplificar esta medida, diminuindo custos e aumentando a frequência analítica (TÔRRES et al., 2011).

No Brasil, o método recomendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) se baseia na titulação de neutralização dos ácidos com solução de hidróxido, pelo uso de indicadores para soluções claras de vinhos ou por titulação potenciométrica para vinhos escuros. Neste procedimento uma alíquota da amostra é titulada com solução de hidróxido de sódio até pH próximo a 8,2 – 8,4.

1.2. Titulação

A titulação é uma técnica analítica utilizada para determinação de várias espécies químicas pela medida da quantidade de reagente titulométrico que reage estequiometricamente com o analito (SKOOG et al., 2013; OLIVEIRA, 2009).

As curvas de titulação permitem observar o comportamento do analito ao longo de toda a titulação através do sinal analítico monitorado e a quantidade de titulante. O volume do ponto de equivalência da titulação é usualmente estimado por uma descontinuidade que ocorre numa determinada região da curva (GAIAO et al., 2006).

Em 1658 Glauber realizou o que é considerada a primeira titulação ácido-base. Ele investigou a adição de gota a gota de solução de carbonato de potássio (K_2CO_3) em uma solução de ácido nítrico, e o ponto final da titulação era caracterizado pelo fim da efervescência. O mesmo foi feito por Geoffroy em 1729, que estudava a acidez em amostras de vinagre através da adição de K_2CO_3 sobre alíquotas das amostras até o final da efervescência (FATIBELLO, 2013).

A detecção do ponto final de uma titulação ácido-base pode ser feita de várias maneiras, por exemplo: por condutometria, espectrofotometria, potenciometria, amperometria, biamperometria, termometria, dentre outras (FATIBELLO, 2013; SKOOG et al., 2013). Em titulações potenciométricas a detecção do ponto final é determinada pelo ponto de inflexão da curva ao plotar-se a diferença de potencial elétrico ou pH (ou logaritmo negativo da concentração do analito no equilíbrio) em função do volume (COSTA, 1989).

A determinação deste ponto pode ser encontrada de forma gráfica através do método da derivada primeira, derivada segunda, método de Soresen, método de Gran I ou método de Gran II (FATIBELLO, 2013; OLIVEIRA, 2009). Antes do advento de recursos computacionais, quando as curvas eram lançadas em gráfico em papel, outros métodos também eram utilizados, tais como o método da mediana, da bissetriz ou das circunferências.

$$D' = \frac{dpH}{dV} \quad (1)$$

Esse método é bastante conhecido, ainda que, na prática, apresente algumas desvantagens, pois é muito influenciado por oscilações nas medidas de pH, assim como, dependendo dos valores obtidos, é difícil estimar precisamente o ponto de equivalência. Na Figura 3 é apresentado o gráfico da derivada primeira para uma curva de titulação simulada no TitGer® para 10 mL de ácido acético 0,084 mol L⁻¹ titulado com hidróxido de sódio 0,0943 mol L⁻¹.

Duas alternativas são usadas para melhorar essa estimativa, a derivada segunda e o ajuste do modelo não-linear lorentziano.

No método da derivada primeira, é calculada a derivada numérica do volume médio entre dois pontos da curva de titulação, como pode ser observado na Equação 1, (pH versus volume, por exemplo). No ponto de inflexão da curva de titulação, o gráfico da derivada primeira, tanto a curva antes do ponto de equivalência quanto após, tende ao infinito.

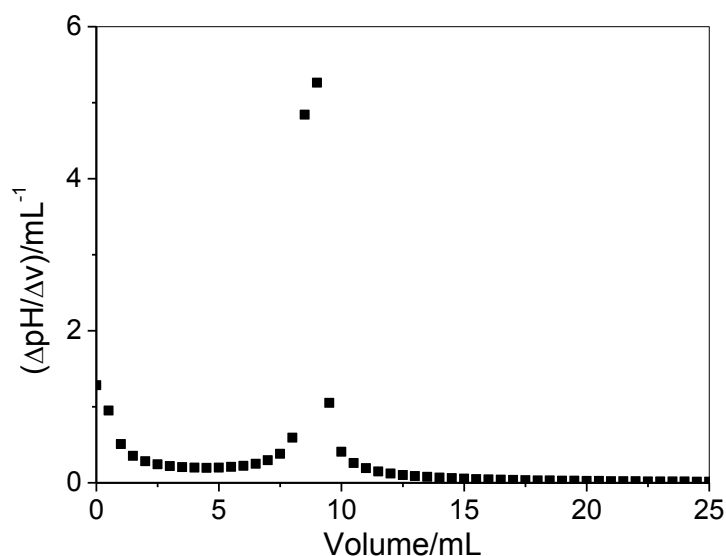


Figura 3. Curva de derivada primeira da titulação simulada no TitGer® de 10 mL de ácido acético com 0,084 mol L⁻¹ com NaOH 0,0943 mol L⁻¹.

No método da Derivada Segunda, a curva da derivada primeira é novamente derivada (Equação 2). Nesse caso, no ponto de equivalência, a curva antes do ponto de equivalência tende ao infinito, mas a curva após tende ao infinito negativo (ou vice-versa). Nesse caso, o ponto de equivalência é obtido no cruzamento de uma reta que ligam os pontos máximo e mínimo com o eixo das abscissas (Figura 4). Na prática, esse método pode ser tão inadequado quanto o Método da Derivada Primeira.

$$D'' = \frac{\Delta^2 \text{pH}}{\Delta V^2} \quad (2)$$

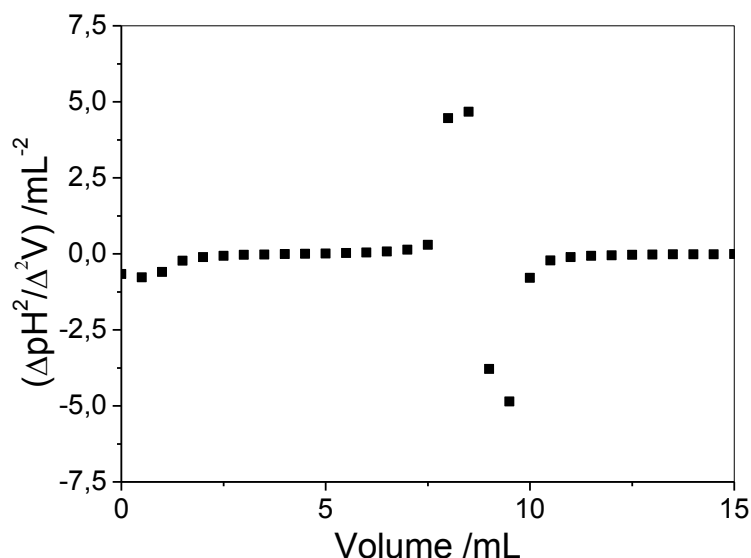


Figura 4. Curva da segunda derivada da titulação de 10 mL de ácido acético 0,084 mol L⁻¹ com NaOH 0,0943 mol L⁻¹.

O ajuste do modelo de regressão não-linear de Lorentz ao gráfico da derivada primeira, proposto por Capelato (OLIVEIRA, 2014) compensa algumas oscilações no sinal analítico e estima melhor o ponto de equivalência próximo aos valores máximos. Usualmente o software Origin é utilizado para esse tratamento de dados.

O método de Gran I proposto por Gunar Gran em 1950, consiste em plotar em um gráfico em função do volume a derivada do volume do titulando em relação ao pH, ou seja, o inverso da derivada primeira (OLIVEIRA, 2009). O perfil obtido permite identificar o ponto de equivalência com maior facilidade que a derivada primeira em algumas situações.

No método de Sorensen, proposto em 1951, gráfico de $[H^+]$ (ou $[OH^-]$) versus volume de titulante, o volume de equivalência é obtido quando a concentração tende a zero (OLIVEIRA, 2009). Ele apresenta-se melhor que os métodos anteriormente citados. Uma desvantagem é que a extrapolação não é linear.

O método de Gran II desenvolvido em 1952 novamente pelo próprio Gran, consiste na união das vantagens do método de Sorensen e de Gran I. A estratégia consiste em criar uma função $F(V)$ que seja função linear do volume do titulante e que permita a extrapolação do volume do titulante, obtendo-se o volume de equivalência (OLIVEIRA, 2009). O método baseia-se, fundamentalmente no rearranjo matemático da equação do balanço de carga. Há inúmeras variações e adaptações, como por exemplo, a Equação 3:

$$F(V) = (10^{pH - pK_w} + 10^{-pH})V_T \quad (3)$$

Ainda que usualmente o gráfico $F(V)$ versus volume do titulante seja utilizado, a proposta do prof. Eduardo Neves (OLIVEIRA, 2009) é mais conveniente para o tratamento computacional, pois o volume de equivalência é igual ao termo constante de um modelo de regressão da faixa linear.

Outra maneira de determinar o volume de equivalência é realizada pela utilização de indicadores visuais (ácido-base) que, na verdade, é o principal método de determinação. Indicadores ácido-base são sistemas ácido-base de Bronsted onde o ácido e a base conjugados têm cores diferentes. Dessa maneira, se o intervalo de pH em que ocorre uma variação acentuada na concentração dessas duas espécies (alterando da predominância de uma para a predominância da outra) ocorrer para uma pequena variação de volume, esse ponto é chamado de ponto de viragem. Se o ponto de viragem estiver dentro do intervalo do salto potenciométrico da titulação, o indicador será adequado para identificar o ponto de equivalência. (FATIBELLO, 2013; OLIVEIRA, 2009; SKOOG et al., 2013).

Os indicadores naturais são substâncias coradas extraídas de uma matéria-prima animal ou vegetal através de processos físico-químicos (dissolução, precipitação) ou bioquímicos (fermentação). Como exemplo pode-se citar o extrato de repolho roxo, do pau-brasil, da flor de hibisco, tornassol ou do corante cochonilha, extraído do inseto conchonilha (ANTUNES, 2013).

O primeiro indicador sintético (fenolftaleína) foi empregado em 1877 e no ano seguinte o alaranjado de metila foi sintetizado. O interesse pelo desenvolvimento de novos indicadores fez com que em 1893, 14 novos indicadores tivessem sido sintetizados (OLIVEIRA, 2009).

1.3. Método de Dois Pontos (M2P)

O M2P é um método potenciométrico não titulométrico para determinação de acidez baseado na variação do pH de um tampão devido a adição da amostra (OLIVEIRA, 2014). O comportamento quasi-linear da variação do pH com a acidez da amostra é obtido no intervalo de pH em que a força do tampão (capacidade tamponante efetiva) também é linear (ou próximo ao linear) com o pH (OLIVEIRA, 2014). O sistema citrato tem a característica interessante de apresentar uma ampla faixa linear da força do tampão em função do pH.

O sucesso na aplicação do M2P para determinação da acidez em amostras de vinagre usando amostras diluídas e concentradas (OLIVEIRA, 2014), além da facilidade de implementação, rapidez e menor custo levaram a um estudo mais aprofundado do método, aplicado neste estudo em outras matrizes.

1.3.1. Soluções tampão

A acidez pode ser considerada como uma medida da capacidade de uma solução de liberar prótons, enquanto que o pH é visto como uma medida da intensidade, por estar relacionado com a concentração no equilíbrio de íons H^+ na solução (STUMM; MORGAN, 1995).

Soluções tampão são soluções que apresentam pequena variação de pH quando a elas são adicionados ácidos ou bases de Bronsted, quando comparadas às soluções não-tamponantes. Vários fatores influenciam o comportamento do tampão, como: o pH do tampão, sua concentração analítica e faixa de pH que deve ser tamponada ou, a quantidade de ácido ou base que estará em contato com a solução tampão.

Soluções com grande concentração de prótons ou de hidroxila também apresentam comportamento tampão e são chamadas de soluções pseudo-tampão, como por exemplo aquelas com valores de pH menores que 2,0 ou maiores que 13,0 (BATES, 1964).

O comportamento dos sistemas tampão pode ser avaliado pelo poder tamponante de Van Slyke (β) ou capacidade tamponante de Kolthoff, ou mesmo pela força do tampão (OLIVEIRA, 2009).

O poder tamponante de Van Slyke (β) se refere a concentração de ácido ou base forte que pode ser adicionada à solução para uma variação infinitesimal de pH. Matematicamente este conceito foi introduzido por Van Slyke em 1922 e expresso pela Equação 4:

$$\beta = \frac{dC_b}{dpH} = -\frac{dC_a}{dpH} \quad (4)$$

onde, C é a concentração de uma base (b) ou ácido (a) fortes adicionado ao meio (SLYKE, 1922). Portanto, este é um parâmetro de intensidade, e sua principal aplicação é avaliar a faixa de pH em que há maior tamponamento do meio.

A interpretação de Kolthoff para capacidade tamponante que é aceita pela IUPAC, considera o mesmo como a quantidade necessária de base forte para alterar o pH em uma unidade (OLIVEIRA, 2014). É bastante similar ao poder tamponante de Van Slyke, mas também tenta ser um parâmetro de capacidade, embora de aplicação limitada. Uma definição alternativa, mas pouco precisa é “uma indicação da quantidade de ácido ou base que pode ser adicionada antes do tampão perder sua habilidade de resistir à mudança de pH” (SILVA; SIMONI, 2000).

Na Figura 5 é possível observar o gráfico do poder tamponante (β) para o sistema citrato. O tampão citrato possui uma característica muito interessante, suas constantes de dissociação possuem valores muito próximos e esta propriedade permite que este tampão seja eficiente em uma ampla faixa de pH, conforme pode ser observado na Figura 6.

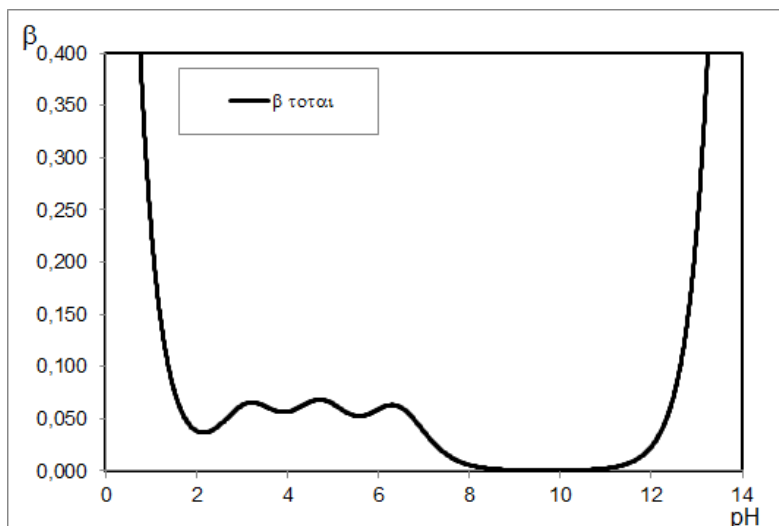


Figura 5. Poder tamponante (β) do sistema citrato em função do pH

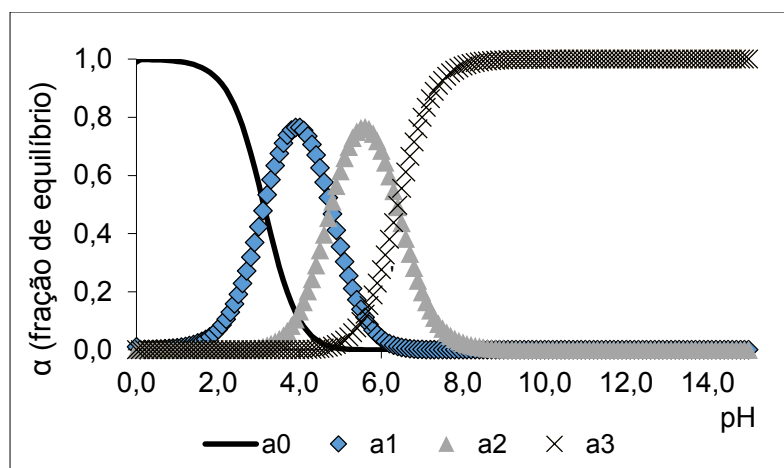


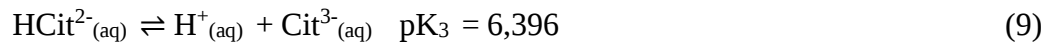
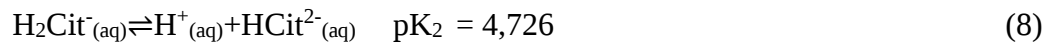
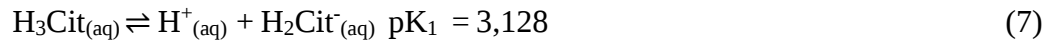
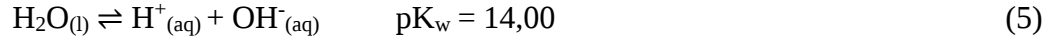
Figura 6. Diagrama de distribuição de espécies para o ácido cítrico em diferentes valores de pH.

Contudo, o conceito de poder tamponante é pouco útil, sendo apenas utilizado quando se deseja saber em qual faixa de pH um determinado tampão será mais eficiente, sendo complexa a determinação da concentração de ácido ou base necessário para uma variação não infinitesimal no pH, devido à necessidade de integração da expressão de poder tamponante.

No entanto Oliveira (2009) apresentou uma forma objetiva de tratar a força do tampão, que pode ser interpretada como a quantidade de ácido ou base necessária para uma variação do pH em uma determinada faixa. A força do tampão permite avaliar a variação da concentração de ácido ou base forte necessário para variar o pH de uma solução tampão até um valor pré-estabelecido (OLIVEIRA, 2009).

O cálculo é realizado mediante a avaliação do balanço de carga da solução tampão no pH “antes” da adição da solução que causará a alteração do pH e o balanço de carga da solução “após” essa adição.

Para uma solução tampão citrato formado pela mistura de ácido cítrico e hidróxido de sódio, as seguintes equações químicas representadas pelas Equações 5 a 9 descrevem o sistema:



O balanço de carga desta solução tampão pode ser expresso por (Equação 13):

$$[\text{Na}^+] + [\text{H}^+] - [\text{OH}^-] - [\text{H}_2\text{Cit}^-] - 2[\text{HCit}^{2-}] - 3[\text{Cit}^{3-}] = 0 \quad (10)$$

$$\text{Wat} = [\text{H}^+] + [\text{OH}^-] = 10^{-\text{pH}} - 10^{\text{pK}_w - \text{pH}} \quad (11)$$

$$\text{C}_b + \text{Wat} + \alpha_1 \cdot c(\text{Cit}_T) - 2 \cdot \alpha_2 \cdot c(\text{Cit}_T) - 3 \cdot \alpha_3 \cdot c(\text{Cit}_T) = 0 \quad (12)$$

$$\text{C}_b + \text{Wat} + q_e \cdot c(\text{Cit}) = 0 \quad (13)$$

Onde ‘C_b’ é a concentração da base forte adicionada ao meio para ajuste do pH, c(Cit) é a concentração analítica de citrato e α₁, α₂ e α₃ são as frações de equilíbrio do citrato no pH da solução e ‘q_e’, sua carga efetiva.

A fração de equilíbrio é a razão entre a concentração no equilíbrio de uma espécie química e sua concentração analítica do sistema em equilíbrio, enquanto que a carga efetiva de um sistema ácido-base de Bronsted é a soma da contribuição de carga de cada espécie química “i” desse sistema (Equação 14). Também pode ser interpretada como a média ponderada das cargas do sistema.

Assim para um sistema ácido-base de Bronsted, a carga efetiva depende apenas do pH do meio e de seus valores de pK_a (OLIVEIRA, 2009; OLIVEIRA, 2014):

$$q_{ef} = \sum q_i \alpha_i \quad (14)$$

Onde, 'qi' é a carga do íon 'i' e 'ai' a fração de equilíbrio do íon 'i' do sistema ácido-base de Bronsted.

Assim, ao considerar o balanço de carga da solução antes e após a adição do ácido ou base sobre o sistema tampão e, portanto, no valor de pH dessa solução, pode-se deduzir a força do tampão ΔqC , ou seja, a quantidade de ácido ou base adicionada ao meio para alteração do pH do tampão (Equação 17):

$$- C_b^A = Wat^A + \alpha_1^A c(Cit_T) - 2\alpha_2^A c(Cit_T) - 3\alpha_3^A c(Cit_T) = 0 \quad (15)$$

$$- C_b^D = Wat^D + \alpha_1^D c(Cit_T) - 2\alpha_2^D c(Cit_T) - 3\alpha_3^D c(Cit_T) = 0 \quad (16)$$

$$- \Delta qC = \Delta Wat + \Delta qec(Cit) \quad (17)$$

E para um sistema envolvendo vários sistemas ácido-base de Bronsted (solução tampão mista), a equação pode ser generalizada (Equação 18):

$$- \Delta qC = \Delta Wat + \sum \Delta qe_y c_y \quad (18)$$

Onde 'y' se refere a cada sistema ácido-base de Bronsted existente na solução.

A força do tampão é intensificada pelo aumento da concentração analítica dos sistemas ácido-base presentes, pela região do pH onde há maior variação de carga efetiva e pela região onde as concentrações de H^+ ou OH^- são elevadas, (regiões pseudo-tampão). No sistema citrato a carga efetiva se comporta de forma linear em uma ampla faixa de pH (2,7 – 6,8) como pode ser observado na Figura 7.

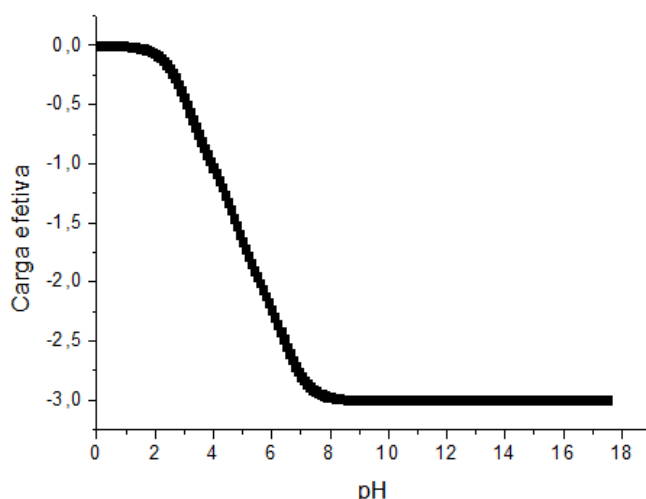


Figura 7. Comportamento da carga efetiva do sistema citrato em função do pH

1.4. Eletrodos íon-seletivos

A potenciometria é uma das técnicas eletroanalíticas mais simples empregada inicialmente para realizar medidas de pH. O primeiro sensor potenciométrico usado para medir a concentração de uma solução aquosa foi o eletrodo de hidrogênio, proposto por Nernst em 1897, mas é um método muito moroso e complexo. Em 1906, Cremer propôs o uso de um eletrodo de membrana de vidro para medidas de pH, sendo posteriormente aperfeiçoado por Haber e Klemensiewicz (FERNANDES; KUBOTA; NETO, 2001).

O fundamento da medida potenciométrica baseia-se na diferença de potencial elétrico (E) entre o eletrodo indicador e o eletrodo de referência em condições de corrente elétrica desprezíveis, com o objetivo principal de obter informações sobre a composição química da solução (BARBOSA, 2012).

Os Eletrodos Íon Seletivos (EIS) são eletrodos cujos potenciais elétricos são em função da concentração do analito, de acordo com a Equação de Peters-Nerst (Equação 19) (TROJANOWICZ; ALEXANDER; HIBBERT, 1998).

$$E = E^{0'} + \frac{S}{n} \log a_i \quad (19)$$

Onde 'S' é a inclinação nernstiana (59,16 mV década⁻¹, a 25 °C), 'a_i' é a atividade do analito, 'n', sua carga elétrica e 'E°', o potencial elétrico padrão condicional, que considera os potenciais padrão, do eletrodo de referência, de junção, etc.

A interferência de alguns íons pode ser explicada pela Equação de Nikolskii-Eisemann (Equação 20) (BUCK; LINDNER, 1994).

$$E = E^0 - \frac{0,0591}{n} \log(a_i + \sum k_{i,j} a_j) \quad (20)$$

Onde 'k_{ij}' é coeficiente de seletividade para o íon 'j', e 'a_j', sua atividade.

Em condições de força iônica constante, pode-se aplicar o Princípio da Força Iônica Constante de Bronsted-Bjerrum e relacionar diretamente a diferença de potencial elétrico com a concentração do analito.

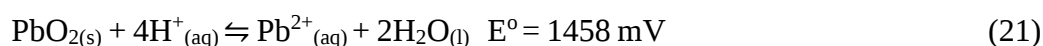
A simplicidade da instrumentação, a estabilidade e seletividade dos EIS torna-os particularmente indicados para processos de controle analítico, como alternativa às metodologias convencionais (normalmente laboriosas e dispendiosas). Ademais, são de fácil construção e suas medições não são afetadas pela coloração ou turvação das amostras.

O controle do pH de bebidas e condimentos é de suma importância para monitoramento de diversos processos químicos, tais como oxidação e fermentação. Este controle é geralmente realizado com o eletrodo de membrana de vidro sensível ao pH, também conhecido como eletrodo de pH. O eletrodo de vidro é EIS mais utilizado, seletivo aos íons H⁺ (e OH⁻) (CHENG, 1989; CHENG; ZHU, 2005) e vastamente empregado em laboratórios de pesquisa e indústrias (BARBOSA, 2012). Entretanto, o eletrodo de vidro apresenta algumas desvantagens como dificuldade de miniaturização e fragilidade (TEIXEIRA et al., 2001).

A introdução de outros eletrodos tão sensíveis quanto o eletrodo de vidro, porém mais robustos, é uma alternativa para contornar algumas dificuldades do emprego do mesmo em controles analíticos de rotina. O eletrodo de PbO₂ para determinação da pH de soluções foi inicialmente estudada por Kaehler; Zahlout; Brito (1970). Estes avaliaram a resposta potenciométrica do eletrodo de PbO₂ eletrodepositado sobre um fio de platina, no qual o monitoramento da atividade hidrogeniônica foi feito em soluções contendo íons Pb²⁺.

Cassiano; Ramos; Capelato (2001) utilizando um eletrodo de PbO₂ eletrodepositado sobre grafite, demonstraram a aplicabilidade deste como sensor potenciométrico a íons H⁺, Pb²⁺ e SO₄²⁻ em titulações ácido-base e de precipitação. O uso do PbO₂ incorporado em matriz de PVC (75% m/m de PbO₂ e 25% m/m PVC) também foi estudado para titulações coulométricas de neutralização (RAMOS; CASSIANO; CAPELATO, 2004).

A resposta potenciométrica do eletrodo PbO₂ baseia-se, em princípio, na semi-reação (Equação 21)



E, portanto, na Equação de Peters-Nernst (Equação 22):

$$E = E^0 + \frac{S}{2} \log[\text{Pb}^{2+}] - 2S\text{pH} \quad (22)$$

Entretanto, as sensibilidades obtidas nos trabalhos citados sempre foram ao redor de 59,16 mV década⁻¹, ou seja, metade do valor previsto.

Lima et al., (2005) no entanto, demonstraram que é possível obter um ISE baseado em PbO₂ com inclinação superior a 59,16 mV década⁻¹ utilizando parafina como suporte do pó de PbO₂. Eles alcançaram inclinação nerstiana de cerca de 112 mV década⁻¹, ou seja, 94% da resposta prevista pela Equação 22.

Algumas vantagens podem ser observadas quando o eletrodo de PbO₂ é utilizado frente ao eletrodo de vidro, dentre elas: a facilidade para construção do mesmo, seu baixo custo, resistência mecânica, longa vida útil, estabilidade, reprodutibilidade e possibilidade de utilização em meios não aquosos (LIMA et al., 2005).

1.5. Carbonatação

O dióxido de carbono (CO₂) é um gás presente naturalmente na atmosfera do planeta apresentando papel fundamental na manutenção da vida aeróbia do planeta devido a sua importância na fotossíntese. Contudo, a atividade humana tem causado aumento na emissão desse gás ao longo das últimas décadas, intensificando por sua vez o efeito estufa e fazendo dele um problema ambiental (SHENG; GUO, 2016).

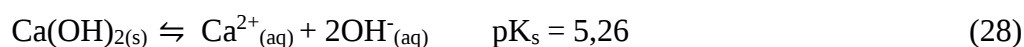
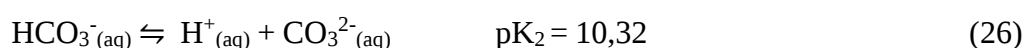
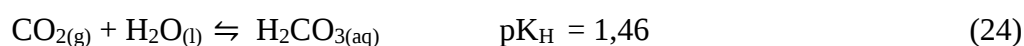
Além de estar presente na atmosfera, o CO₂ é empregado na indústria de alimentos para a carbonatação de bebidas como refrigerantes e água, sendo também aplicado na agronomia pela solubilização do gás na água de irrigação das plantas, obtendo-se melhora no metabolismo e no equilíbrio hormonal nas mesmas. Desta forma a fotossíntese e absorção de nutrientes é aumentada e frutos de melhor qualidade são obtidos, além da maior resistência ao ataque de pragas (PINTO; BOTREL; MACHADO, 2000).

A carbonatação é um fenômeno onde há formação de carbonatos sólidos devido a reação do gás carbônico em um filme de solução (formado devido a umidade do ar) na superfície do concreto com compostos alcalinos presentes no mesmo (PAULETTI, 2004).

No concreto estão presentes compostos alcalinos tais como o hidróxido de potássio, de sódio e de cálcio (KOH, NaOH e Ca(OH)₂), de maneira que seu pH é de cerca de 12,6. Esse valor é considerado importante para evitar processos de corrosão desde que permaneça em valores acima de 11,0 (KULAKOWSKI, 2002).

A carbonatação diminui o pH do concreto para valores próximos a 9,4 em razão do consumo dos compostos básicos citados, formando carbonatos sólidos e assim diminuição da estabilidade da película passivadora (PAULETTI, 2004).

As equações químicas que descrevem esse processo podem ser observadas pelas equações 23 a 29, primeiramente pelo processo de difusão do CO₂ da atmosfera na fase gasosa e sua posterior dissolução na água presente nos poros, formando as espécies do sistema carbonato em solução. Com a dissolução dos compostos álcalis presentes no concreto em água, como o Ca(OH)₂, e o deslocamento dos equilíbrios, há formação do carbonato de cálcio, que gradualmente causa a diminuição do volume dos poros e/ou um escoamento da solução, formando os sólidos em outras regiões com a evaporação da água.



A avaliação da influência da carbonatação em amostras de concretos é realizada através das câmaras de carbonatação. Há várias maneiras de construí-las, e diferentes tipos de controle de temperatura, umidade e concentração de CO₂ presente no ar, além de sensores para esses parâmetros, ainda que concentração do CO₂ não seja determinada.

A determinação da concentração de CO₂ pode ser realizada de várias maneiras, através do método de Pettenkofer, onde a amostra é borbulhada em uma solução contendo bário e posteriormente titulada com ácido clorídrico (HCl), ou ainda com o detectores de gás no infravermelho e/ou por cromatografia gasosa (COSTA et al., 2006). Contudo nem sempre os laboratórios de pesquisas contam com esses instrumentos analíticos, ou ainda, tempo para realização de inúmeras titulações.

1.6. Otimização por estratégia multivariada utilizando a Matriz de Doehlert

Planejamentos experimentais são metodologias efetivas para eliminar fontes de tendências conhecidas ou aleatórias e asseguram que os experimentos forneçam informações precisas e exatas sobre as respostas de interesse.

O planejamento de experimentos é uma estratégia importante para a otimização de um sistema químico. Usualmente, há o interesse que o número de experimentos a serem realizados seja minimizado e que haja garantia de que cada experimento reproduza o melhor resultado possível, sendo, portanto, uma importante ferramenta.

As vantagens fornecidas pelo uso de planejamentos multivariados contribuíram para sua difusão na Química, devido principalmente ao baixo número de experimentos realizados, onde simultaneamente várias variáveis podem ser estudadas e há possibilidade de avaliação de efeitos de interação entre elas. Dentre suas desvantagens pode-se citar a dificuldade em definir previamente os intervalos adequados de estudo de cada variável, fazendo com que, muitas vezes, vários planejamentos sejam realizados. Além disso, o pequeno número de informações nem sempre permite a compreensão dos processos envolvidos, sendo necessário a complementação com planejamentos univariados.

O planejamento pela matriz de Doehlert é baseado no espaçamento uniforme dos pontos experimentais círculos, esferas ou hiperesferas concêntricas. Embora a matriz não seja ortogonal nem rotativa, este planejamento possui estrutura propícia para a aplicação de modelo de superfície de resposta (MSR, que utilizam modelos de regressão múltipla

linear) permitindo a estimativa dos parâmetros do modelo quadrático (FERREIRA et al., 2004).

Uma das principais vantagens da aplicação da matriz de Doehlert para otimização de experimentos é que o desenho do número de níveis não é o mesmo para todas as variáveis. Em um planejamento de três variáveis, por exemplo, cada um dos fatores será estudado em sete, cinco e três níveis (Figura 8). Esta propriedade possibilita a escolha livre dos fatores a ser atribuído a um grande ou pequeno número de níveis, permitindo que haja maior estudo da variável com efeito mais forte sob a resposta para que mais informações possam ser obtidas (FERREIRA et al., 2004).

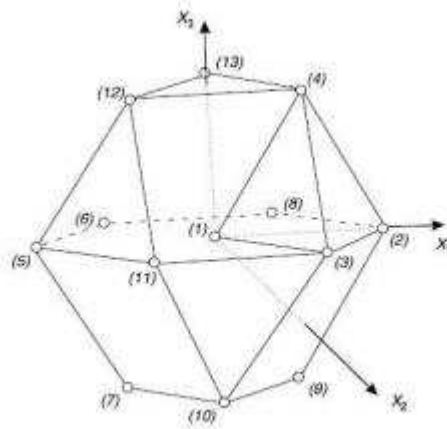


Figura 8. Representação dos pontos do Planejamento pela matriz de Doehlert com 3 variáveis (Fonte: Borges, 2011).

Cada planejamento é definido considerando o número de variáveis e os valores codificados (x_i) da matriz experimental. A relação entre os valores experimentais e os valores codificados é dada pela Equação 30.

$$x_i = \left(\frac{z_i - z_i^0}{\Delta z_i} \right) \beta_d \quad (30)$$

Onde o termo ' x_i ' é o valor codificado para o nível do fator ' i '; ' z_i ' é o seu valor experimental; ' Δz_i ' é a distância entre o valor experimental no ponto central e o experimental no nível superior ou inferior, ' β_d ' é o maior valor limite codificado na matriz para cada fator e ' z_i^0 ' é o valor experimental no ponto central. Na Tabela 1 pode ser

observada os valores codificados da matriz do planejamento Doehlert para três variáveis (TEÓFILO, 2007).

Na química analítica, a primeira aplicação da matriz de Doehlert envolveu a otimização de um processo de separação utilizando HPLC (HU; MASSART, 1989), desde então, vários trabalhos têm aparecido envolvendo as determinações por espectrometria (NECHAR; MOLINA; BOSQUE-SENDRA, 1999; REBOUCAS; FERREIRA; NETO, 2003;), cromatográficas (ARAUJO, 2000) e métodos eletroanalíticos (FURLANETTO et al., 2000), (FERREIRA et al., 2004).

Tabela 1. Número de experimentos e os valores codificados para a matriz de Doehlert usando três variáveis

Ensaio	Variáveis experimentais		
	A (5 níveis)	B (7 níveis)	C (3 níveis)
1	0,000	0,000	0,000
2	1,000	0,000	0,000
3	0,500	0,866	0,000
4	0,500	0,289	0,817
5	-1,000	0,000	0,000
6	-0,500	-0,866	0,000
7	-0,500	-0,289	-0,817
8	0,500	-0,866	0,000
9	0,500	-0,289	-0,817
10	-0,500	0,866	0,000
11	0,000	0,577	-0,817
12	-0,500	0,289	0,817
13	0,000	-0,577	0,817

Fonte: Adaptado de Teófilo, 2013.

CAPÍTULO II

DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DE NÉCTARES DE LARANJA

1. INTRODUÇÃO

A indústria brasileira de sucos de frutas industrializados vem se expandindo rapidamente nos últimos anos, graças principalmente aos sucos de fruta prontos para beber. Sucos de frutas processados devem satisfazer à legislação específica e estar de acordo com a definição, classificação, registro, padronização e requisitos de qualidade, além de atender à legislação sobre rotulagem de alimentos embalados (FERRAREZI; SANTOS; MONTEIRO, 2010).

A legislação brasileira estabelece parâmetros para análise da qualidade dos sucos de frutas, dentre esses a acidez, devida principalmente à presença de ácido cítrico. O índice de acidez é específico para cada sabor de suco e é capaz de contribuir com informações importantes para avaliar a constituição e o estado de conservação de bebidas e alimentos (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Atualmente a determinação da acidez titulável em bebidas de frutas é conduzida usando a titulação potenciométrica ou com o indicador fenolftaleína (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Contudo, alguns problemas são observados: a titulação com uso do indicador apresenta desvantagens tal como o fato dos resultados serem dependentes do analista, por determinar visualmente o ponto de viragem, enquanto que a titulação potenciométrica é demorada ou exige o uso de tituladores automáticos que são instrumentos de custo relativamente elevado (OLIVEIRA, 2014).

Objetivando contornar tais desvantagens encontradas nos métodos convencionais, Oliveira (2014) propôs um método potenciométrico não titulométrico rápido, de baixo custo e simples para determinação de acidez em amostras de vinagre, denominado Método dos Dois Pontos (M2P).

O método dos Dois Pontos (M2P) é baseado na determinação da acidez pela variação de pH causada pela adição de um volume definido de amostra sobre um volume de tampão (citrato) em concentração analítica e pH definidos, o resultado é obtido usando uma curva analítica externa.

A acidez de néctares é um parâmetro devidamente associado ao conteúdo de vários ácidos orgânicos presentes nos mesmos. Esse indicador é relevante para manutenção da

natureza organoléptica e para evitar processos de fermentação. Esta característica reforça a necessidade da determinação deste parâmetro tanto para indústria quanto para o consumidor final. Portanto, pretende-se nesta etapa do trabalho aplicar um método potenciométrico não-titulométrico para determinação do índice de acidez em néctares de laranja.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Desenvolver um método analítico potenciométrico não titulométrico para a determinação da acidez em amostras de néctares de laranja.

2.2. Objetivos específicos

- Otimizar o M2P através de planejamento multivariado utilizando a Matriz de Doehlert.
- Avaliar as figuras de mérito do M2P na condição otimizada.
- Aplicar o método em amostras de néctares de laranja para determinação da acidez.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Preparo das soluções

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e não houve nenhuma etapa de purificação. As soluções utilizadas foram preparadas em água Milli-Q.

3.1.1. Solução de hidróxido de sódio

A solução de hidróxido de sódio $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada a partir da dissolução de 4,0 g do respectivo hidróxido (Vetec) e o volume completado para 500 mL. Esta solução foi padronizada com ftalato ácido de potássio (Vetec) previamente seco a 105°C por 2 horas e mantido em dessecador até o momento do uso. A solução de hidróxido de sódio foi armazenada em frasco plástico e mantida à temperatura ambiente.

3.1.2. Solução estoque de ácido cítrico

Uma solução estoque de ácido cítrico ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) foi preparada a partir da dissolução de 96,062 g de ácido cítrico (Vetec) em água e padronizada com a solução de NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ padronizada.

Todas as soluções de ácido cítrico usadas na construção da curva analítica foram preparadas no mesmo dia de uso a partir da diluição adequada da solução estoque citada e mantidas à temperatura ambiente.

3.2. Otimização do Método

As condições experimentais de trabalho ótimas foram determinadas através de Planejamento Multivariado utilizando a Matriz de Doehlert. Foram realizados 13 experimentos com três variáveis experimentais (pH do tampão, concentração do tampão e volume de amostra) e um ponto central. Os valores de concentração do tampão variaram entre 25 e 200 mmol L^{-1} , os valores de pH entre 4,3 e 9,3 e o volume de amostra entre 500 e $2000 \mu\text{L}$.

O pH foi o fator de maior nível escolhido (sete variações), seguido pela concentração (cinco variações), e volume de amostra (três variações). Os experimentos foram realizados em triplicata. Os dados para realização do experimento na Matriz de Doehlert são mostrados na **Tabela 2**.

Tabela 2. Códigos e valores reais das variáveis experimentais analisadas para montagem do planejamento experimental via Matriz de Doehlert.

Ensaio	Código das variáveis experimentais			Valores reais		
	Conc. Tampão/ (mmol/L)	pH	Vol. Amostra/(μL)	Conc. Tampão (mmol/L)	pH	Vol. Amostra/(μL)
1	0,000	0,000	0,000	112,5	6,8	1000
2	1,000	0,000	0,000	200,0	6,8	1000
3	0,500	0,866	0,000	156,3	9,3	1000
4	0,500	0,289	0,817	156,3	7,6	2000
5	-1,000	0,000	0,000	25,0	6,8	1000
6	-0,500	-0,866	0,000	68,8	4,3	1000
7	-0,500	-0,289	-0,817	68,8	6,0	500
8	0,500	-0,866	0,000	156,3	4,3	1000
9	0,500	-0,289	-0,817	156,3	6,0	500
10	-0,500	0,866	0,000	68,8	9,3	1000
11	0,000	0,577	-0,817	112,5	8,5	500
12	-0,500	0,289	0,817	68,8	7,6	2000
13	0,000	-0,577	0,817	112,5	5,1	2000

3.3. Preparo das amostras

3.3.1. Sucos de frutas

As amostras de néctares de laranja de cinco marcas diferentes foram obtidas nos mercados da cidade de Viçosa – MG e mantidas em geladeira à temperatura de 4° C.

3.4. Procedimento Experimental

No método otimizado o volume de 1 mL da amostra sem tratamento prévio ou diluição foi adicionada sobre 10 mL de tampão citrato (25 mmol L^{-1} pH 6,8) e o valor de pH medido. A resposta analítica foi a diferença nos valores de pH antes e após a adição da amostra sobre a solução tampão (ΔpH). A acidez foi determinada com auxílio da equação da curva analítica obtida por modelo de regressão.

3.5. Determinação do valor do pH

As medidas de pH foram realizadas com um medidor de pH Tecnopon modelo mPA-210, com eletrodo combinado de vidro (utilizando $\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$ como ponte salina). A calibração foi realizada diariamente no início dos procedimentos experimentais, utilizando soluções padrão de pH (Digimed) em valores de pH 4,0 e de 7,0.

3.6. Titulação volumétrica com detecção potenciométrica

Todas as amostras utilizadas no presente trabalho foram tituladas potenciometricamente com solução de $\text{NaOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$ padronizada.

Para a titulação potenciométrica 1 mL das amostras de sucos eram adicionadas sobre 10 mL de água destilada em um béquer sob agitação magnética. O eletrodo combinado foi posicionado adequadamente e alíquotas entre 10-100 μL de $\text{NaOH } 0,2 \text{ mol L}^{-1}$ foram adicionadas.

O volume de equivalência foi determinado pelo ponto central (x_c) definido pelo ajuste da função não-linear de Lorentz.

3.7. Figuras de mérito

Para validação do Método dos Dois Pontos foram avaliados os seguintes parâmetros: sensibilidade mínima do método, faixa analítica, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão pela comparação do método com a titulação potenciométrica e precisão, pelas medidas de repetitividade.

3.7.1. Sensibilidade Mínima

Considerando equação da curva analítica quadrática, Equação 31,

$$R = Qc^2 + Ic + B \quad (31)$$

Onde 'R' é a resposta do método, 'B' é o termo constante, 'I' é a inclinação, 'c' a concentração e 'Q' o fator de curvatura.

A sensibilidade foi calculada a partir da definição de inclinação da curva analítica (CURRIE, 1999). Entretanto, em modelos não lineares a sensibilidade analítica é uma função da concentração do analito (Equação 32), obtida pela derivada da Equação 31.

$$S_{\text{mínima}} = I + 2Qc \quad (32)$$

A sensibilidade mínima foi calculada considerando a maior concentração da faixa analítica. A porcentagem de sensibilidade mínima, por sua vez, utilizando a Equação 33.

$$\%S_{\text{mínima}} = \frac{S}{I} 100 \quad (33)$$

Onde 'S' é a sensibilidade mínima encontrada pela Equação 32 e 'I' a inclinação da curva quadrática, obtida pela Equação 31.

3.7.2. Limite de detecção (LOD) e Limite de Quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) foi obtido a partir da estimativa do desvio padrão do branco (S_B) e da inclinação (I) (Equação 34) (INMETRO, 2010).

$$LOD = 3,3 \frac{S_B}{I} \quad (34)$$

Similarmente, o limite de quantificação foi calculado usando o fator 10 ao invés de 3,3 empregado para o cálculo de LOD (Equação 35).

$$LOQ = 10 \frac{S_B}{I} \quad (35)$$

3.7.3. Exatidão

A exatidão do método foi obtida pela comparação dos resultados de acidez de néctares de laranja industrializados de diferentes marcas comerciais, obtidos pelo M2P utilizando ácido cítrico como padrão para a curva analítica, e a acidez determinada por titulação potenciométrica para as mesmas amostras.

O erro relativo (ER) para cada amostra foi calculado com a Equação 36.

$$ER = \frac{X_{M2P} - X_{TP}}{X_{TP}} 100 \quad (36)$$

Onde X_{M2P} é o valor da concentração obtida para o M2P e X_{TP} é o valor da concentração obtida pela titulação potenciométrica.

3.7.4. Precisão

A precisão foi estimada utilizando-se a repetibilidade do método, ou seja, foram realizadas sete medidas de acidez para cada amostra ($N = 7$), calculando o Coeficiente de Variação (ou desvio padrão relativo, CV%), ou seja, a razão entre a estimativa do desvio padrão (s) e a média das medidas (Equação 37) (ANVISA, 2012).

$$CV(\%) = \frac{S100}{X_{média}} \quad (37)$$

Onde S é o desvio padrão e $X_{média}$ a concentração de ácido cítrico média obtida experimentalmente.

3.8. Tratamento dos dados

O tratamento dos dados experimentais foi realizado com auxílio dos softwares OriginPro 8.0 (LabOrigin), Matlab (2008) e através das planilhas eletrônicas Microsoft Excel (2010). As simulações foram realizadas usando a planilha TitGer 2.5.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da otimização

Avaliou-se o efeito da concentração do tampão, pH inicial do tampão e volume da amostra utilizando um planejamento de experimentos baseado na matriz de Doehlert, usando como resposta diferentes parâmetros da curva analítica, obtidas a partir dos modelos de regressão linear quadrática. Para cada condição experimental (os valores efetivamente usados são apresentados na Tabela 3) foi obtida uma curva analítica.

Tabela 3. Valores reais das condições experimentais dos 13 ensaios.

Ensaio	Valores reais		
	Con. Tampão (mmol L ⁻¹)	pH	Vol. Padrão/μL
1	112,5	6,8	1000
2	200,0	6,8	1000
3	156,3	9,3	1000
4	156,3	7,6	2000
5	25,0	6,8	1000
6	68,8	4,3	1000
7	68,8	6,0	500
8	156,3	4,3	1000
9	156,3	6,0	500
10	68,8	9,3	1000
11	112,5	8,5	500
12	68,8	7,6	2000
13	112,5	5,1	2000

Cada curva analítica foi realizada medindo-se a variação de pH (Δ pH) após adicionar, sobre 10 mL de determinado tampão citrato, um volume de padrão de ácido cítrico (Tabela 3), um diagrama esquemático (Figura 9) foi construído para a melhor compreensão desta etapa do trabalho.

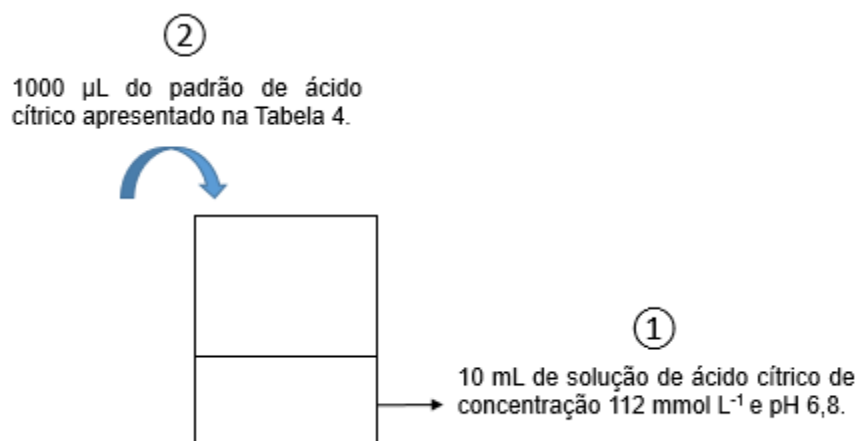


Figura 9. Diagrama esquemático da construção da curva analítica para o Ensaio 1 da Tabela 3.

Na Tabela 4 é apresentado, como exemplo, o conjunto de dados obtidos para o Ensaio 1 e na

Figura 10 a curva analítica obtida a partir desses dados.

Tabela 4. Ensaio 1: ΔpH da solução tampão de ácido cítrico com concentração de $112,5 \text{ mmol L}^{-1}$, pH 6,8, após a adição de $1000 \text{ }\mu\text{L}$ do padrão de ácido cítrico na faixa de 5 a 50 mmol L^{-1} .

Concentração do padrão de ácido cítrico (mmol L^{-1})	pH inicial	pH final	ΔpH
5	6,87	6,79	0,08
10	6,87	6,64	0,23
15	6,85	6,56	0,29
20	6,89	6,54	0,35
25	6,89	6,47	0,42
35	6,89	6,38	0,51
50	6,88	6,26	0,62

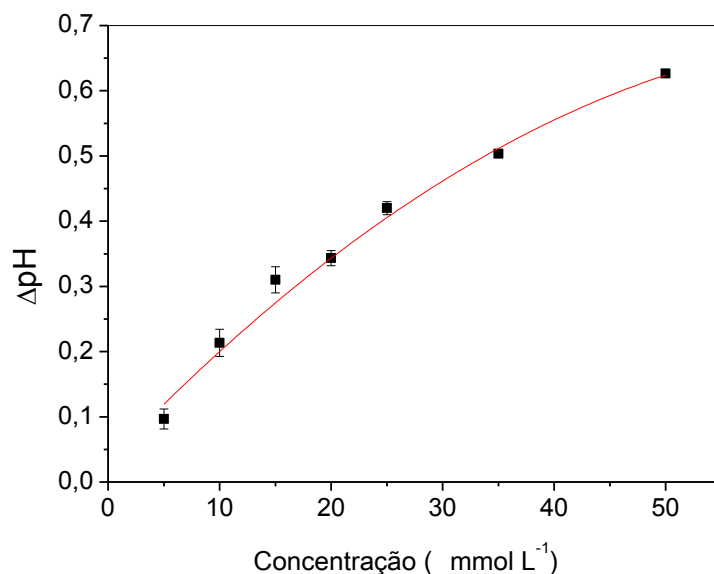


Figura 10. Curva analítica do ácido cítrico referente ao Ensaio 1: concentração do tampão citrato 112,5 mmol L⁻¹, pH 6,8 com a adição de 1 mL do padrão – obtida pelo software Origin 8.0 Pro.

As curvas analíticas obtidas para todos os ensaios apresentaram comportamento quadrático, ou seja, a equação da curva analítica foi expressa pela Equação 38:

$$\Delta pH = Qc^2 + I.c + B \quad (38)$$

Onde ‘ΔpH’ é a resposta do método, ou seja, a variação de pH da solução tampão, ‘B’, o termo constante, ‘I’, a inclinação e ‘Q’, a curvatura. Esse padrão de comportamento também foi observado por Oliveira (2014) para concentrações mais baixas de ácido acético na determinação de acidez em vinagre.

Foi utilizado o modelo de regressão múltipla para cada uma das respostas utilizadas na otimização (Equação 39), que considera os termos lineares (com coeficientes a₁, a₂ e a₃), os termos quadráticos (com coeficientes a₄, a₅ e a₆), os termos de interação de segundo nível (com coeficientes a₇, a₈ e a₉) e um termo constante (com o coeficiente a₀).

$$\hat{y} = a_0 + a_1.x_1 + a_2.x_2 + a_3.x_3 + a_4.x_{12} + a_5.x_{13} + a_6.x_{23} + a_7.x_1^2 + a_8.x_2^2 + a_9.x_3^2 \quad (39)$$

Onde ' $\hat{y}$ ' é o valor da resposta estimada pelo modelo, ' a_i ' o coeficiente estimado e ' x_i ' o valor codificado das variáveis.

Como nem todos os termos de um modelo com tantas variáveis podem exibir uma diferença significativa em relação a zero, por apresentarem desvio padrão relativamente elevados, suas presenças causam uma distorção no modelo, pois parte da variância total dos dados é distribuída entre os termos sem realmente estar explicando o comportamento dos dados, e assim, a qualidade do ajuste pode ser falsamente apresentada como melhor do que realmente ocorre.

O planejamento fatorial multivariado (DoE) foi avaliado usando a sensibilidade analítica mínima do método ($S_{\min}$) e o desvio padrão dos resíduos do modelo de regressão da curva analítica como respostas. Isso para obter um método com a maior sensibilidade analítica e maior precisão. Como em modelos quadráticos a sensibilidade analítica varia com a concentração do analito, ao selecionar a sensibilidade mínima, garante-se a escolha do método com maior sensibilidade.

Para avaliar a precisão, o desvio padrão dos resíduos do modelo de regressão da curva analítica foi escolhido pois resume a qualidade do ajuste, que considera também a dispersão da resposta em cada concentração. Dessa maneira busca-se o método mais sensível e com menor desvio padrão dos resíduos. Além disso, ambos valores influenciam diretamente outros parâmetros, tais como o LOD e LOQ.

Dessa maneira, o DoE baseado na matriz de Doehlert é a escolha mais adequada, pois além de ter essas condições, não aumenta o número de experimentos, quando comparado com outros métodos de superfície de resposta, como o Planejamento Composto Central (VANDEGINSTE; MASSART, 1998).

4.2. Otimização utilizando o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas como resposta

O resíduo (r_i) de um ponto ' i ' de um modelo de regressão é a componente da resposta experimental (' y_i ') que não é explicada pelo modelo (' $\hat{y}_i$ '), como é observado na Equação 40. O conjunto de resíduos permite avaliar a adequação do modelo aos dados experimentais assim como a qualidade (repetibilidade) dos próprios dados.

$$r_i = y_i - \hat{y}_i \quad (40)$$

Quanto menores os resíduos, melhores o ajuste e a repetibilidade do conjunto de dados experimentais. Embora a análise de resíduos permita distinguir os dois tipos de ajuste, para a avaliação de vários modelos, o desvio padrão dos resíduos de cada curva analítica é mais adequado como resposta do planejamento.

O modelo obtido com todas as variáveis estudadas apresentou um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,8469 e a estimativa o desvio padrão dos resíduos do modelo de 0,021 mmol L⁻¹. Os coeficientes do modelo de regressão, com suas respectivas estimativas de desvio padrão representadas como barras de erro podem ser observados na Figura 11.

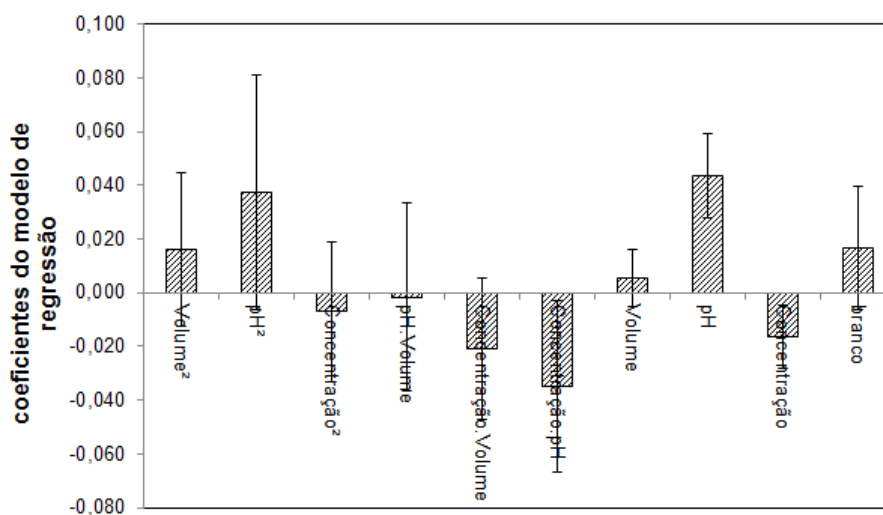


Figura 11. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 sobre a estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.

Neste modelo, após a aplicação do teste t-Student, verificou-se que nenhum dos termos foi significativo, ou seja, o modelo não conseguiu explicar a influência da concentração do tampão, pH do tampão e volume da amostra sobre os coeficientes observados. Isso porque há muitas variáveis para a distribuição da variância total dos dados.

Para determinar quais seriam as variáveis para compor o modelo e que melhor explique os dados experimentais, utilizou-se a técnica stepwise regression (DRAPER & SMITH, 1965; RAWLINGS; PANTULA; DICKEY, 1998). Nesta técnica de regressão linear múltipla o modelo começa inicialmente com todas as variáveis e posteriormente

aquelas não significativas (avaliadas por teste t-Student) são suprimidas e novo modelo é obtido. Isso ocorre até que não haja melhora no modelo ou variáveis para serem retiradas (SILVA; MOITA; ALMEIDA, 2010).

Após o procedimento stepwise, apenas o termo linear do pH inicial do tampão influenciou o desvio padrão dos resíduos (Figura 12).

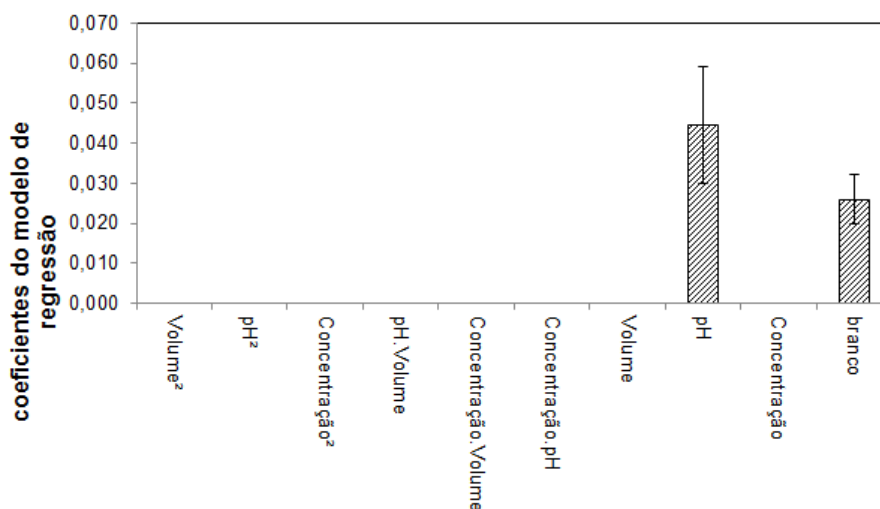


Figura 12. Coeficientes do modelo stepwise regression para avaliação da influência da concentração, pH do tampão e volume de amostra sobre a estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.

O comportamento do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas pode então ser descrito pelo modelo apresentado na Equação 41, onde ‘pH’ se refere ao valor codificado. O coeficiente de determinação foi igual a 0,8300 e desvio padrão dos resíduos igual a 0,022 mmol L⁻¹.

Com o procedimento stepwise obteve-se, portanto, um modelo bastante útil e simples, e com uma qualidade de ajuste similar àquela obtida para o modelo com várias variáveis. De acordo com o Princípio da Parcimônia (“a Navalha de Occam”), como os dois modelos explicam praticamente a mesma variância, esse modelo deve ser escolhido por ser mais simples. Além disso, do ponto de vista estatístico, se um termo não é significativo, ele deve ser omitido sem prejuízo.

$$\hat{y} = (0,026 \pm 0,006) + (0,045 \pm 0,015)\text{pH} \quad (41)$$

O aumento do pH causa aumento do desvio padrão dos resíduos e, portanto, uma menor precisão (ou ajuste dos dados). É possível observar que os desvios padrão são menores em valores de pH menores que 6,8 (Figura 13) embora o comportamento não seja linear, conforme sugere o modelo. Para valores de pH maiores, parece que outras variáveis podem influenciar o comportamento do modelo.

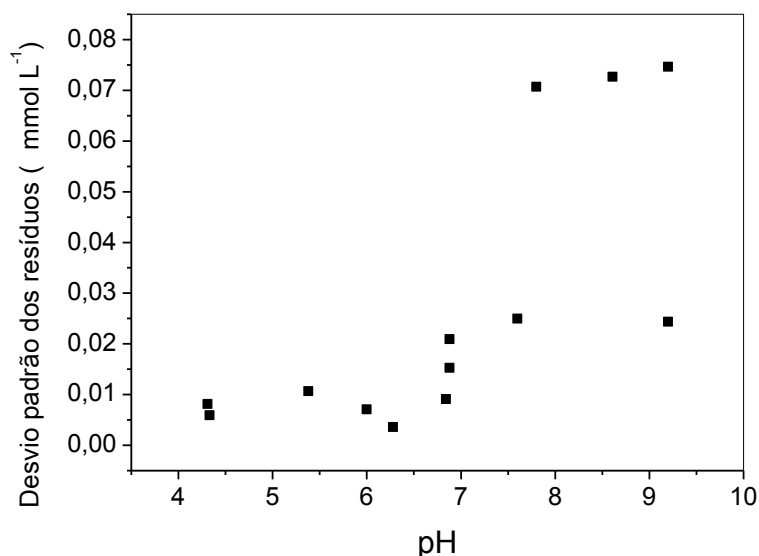


Figura 13. Influência do pH inicial do tampão citrato sobre o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.

Esse resultado parece sugerir que fora da região mais tamponante do sistema citrato (acima de pH 7,0), há uma maior dispersão dos dados, pois pequenos erros no volume de amostra, absorção de gases do ambiente, etc. podem alterar o pH do meio. Essa diferença no tamponamento pode ser observada tanto pelo gráfico de poder tamponante (Figura 5), quanto de carga efetiva (que expressa parcialmente o comportamento da força do tampão, Figura 7) em função do pH.

A ausência de uma correlação entre a concentração do tampão e o desvio padrão dos resíduos pode ser visto na Figura 14. Há dois conjuntos de dados, um com valores elevados de desvio padrão dos resíduos com apenas três condições experimentais e outro com valores razoavelmente constantes. O primeiro conjunto está associado a baixas concentrações do tampão em pH maiores que 6,8. Nessas condições a força do tampão é baixa para pequenas variações de pH (tanto a variação da carga efetiva quanto a concentração do tampão são baixas).

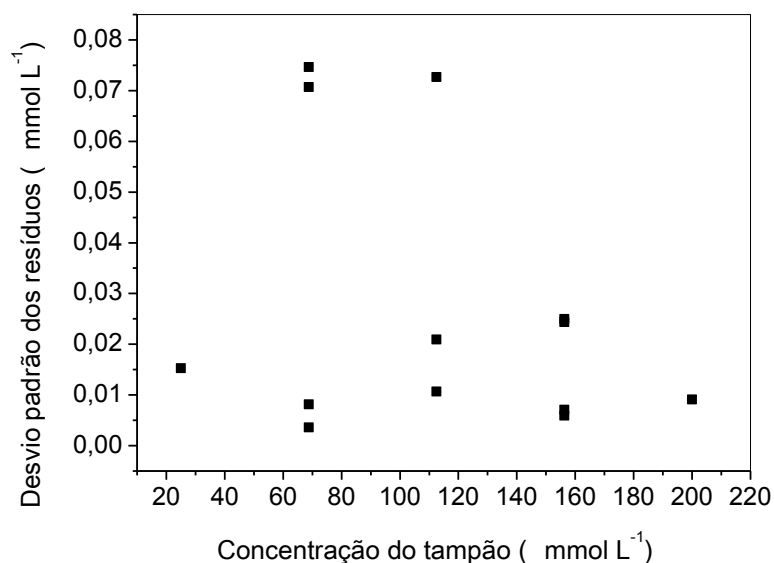


Figura 14. Influência da concentração do tampão citrato sobre o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido cítrico.

4.3. Otimização utilizando a sensibilidade mínima das curvas analíticas como resposta

A sensibilidade analítica expressa a capacidade do método em distinguir com determinado nível de confiança, duas concentrações próximas (CURRIE, 1999). Desta forma, em métodos considerados muito sensíveis pequenas alterações na concentração da propriedade estudada resultam em intensas variações no sinal analítico medido.

Do ponto de vista matemático, a sensibilidade representa a inclinação da curva analítica (Equação 42). Em modelos lineares, ela é independente da concentração do analito, o que não acontece em modelos quadráticos.

$$S = I \quad (42)$$

Onde 'S' é a sensibilidade e 'I' a inclinação da curva analítica.

Considerando a equação geral da curva analítica quadrática, Equação 31, onde 'ΔpH' é a resposta analítica, 'c' é a concentração do analito, 'I' a inclinação e 'Q' a curvatura, a sensibilidade é encontrada pela derivação da Equação 31.

Usualmente os modelos analíticos quadráticos apresentam valores negativos de curvatura. Assim a medida que a concentração aumenta a curva analítica “perde” linearidade, pois há um aumento da curvatura, com o termo quadrático tornando-se mais negativo e assim, há diminuição na sensibilidade. Portanto, na otimização de um método analítico que apresente uma curva analítica quadrática, não é possível utilizar a sensibilidade máxima (I') como parâmetro de otimização, mas sim a sensibilidade mínima, que será o limite superior da curva analítica. Ao ser definida então a sensibilidade analítica mínima ou uma porcentagem mínima da sensibilidade analítica, pode-se definir também a faixa analítica.

Com o modelo de regressão quadrática utilizando todas as variáveis, nenhum coeficiente foi estatisticamente diferente de zero (Figura 15), mas o modelo apresentou um coeficiente de determinação igual a 0,8760 e o desvio padrão dos resíduos de 0,0067 L⁻¹ mmol.

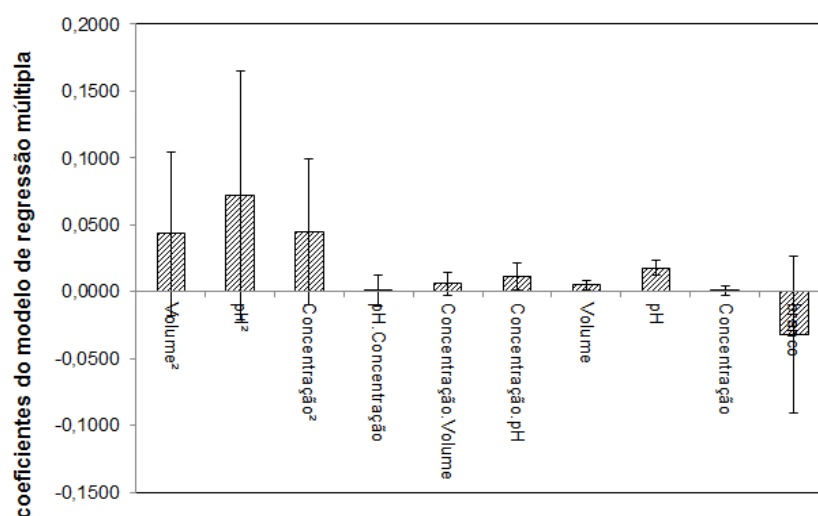


Figura 15. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.

Após o procedimento stepwise, tanto o termo linear do pH inicial quanto o termo de interação entre o pH inicial e a concentração do tampão foram significativos (Figura 16).

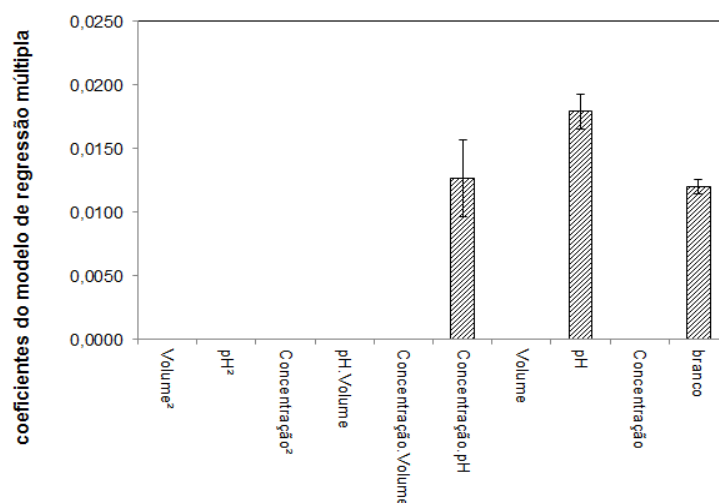


Figura 16. Coeficientes do modelo stepwise para a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.

O modelo (Equação 43) com valores codificados, apresentou um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9878 e desvio padrão dos resíduos de 0,0021 mmol L⁻¹.

$$\hat{y} = (0,012 \pm 0,001) + (0,0179 \pm 0,001)\text{pH} + (0,0127 \pm 0,003) \quad (43)$$

O comportamento do pH sobre a sensibilidade (Figura 17) apresentou um perfil similar àquele observado para o desvio padrão dos resíduos. Nos experimentos em que o pH inicial foi maior que 6,8, foram observadas maiores sensibilidades.

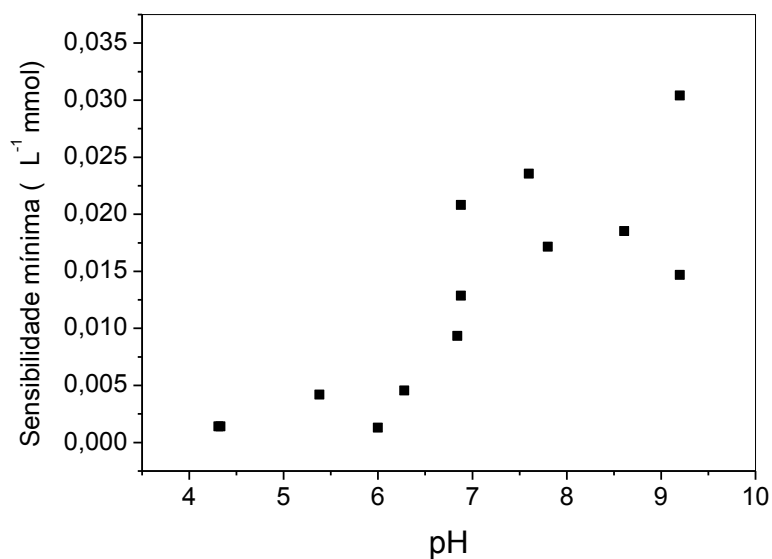


Figura 17. Influência do pH inicial do tampão citrato sob a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.

O termo de interação positivo implica que o aumento do pH inicial e da concentração do tampão favorecem o aumento da sensibilidade analítica. A Equação 17 permite observar que o acréscimo da concentração analítica dos sistemas ácido-base de Bronsted que compõe o tampão tende a elevar a força do tampão diminuindo sua sensibilidade, que torna o resultado encontrado intrigante.

Na Figura 18 é apresentada a superfície de resposta da influência do pH inicial do tampão e da concentração do tampão sobre a sensibilidade. Pode ser observado que a máxima sensibilidade é alcançada nas faixas extremas estudadas, ou seja, em pH 9,3 e concentração de tampão de 200 mmol L⁻¹.

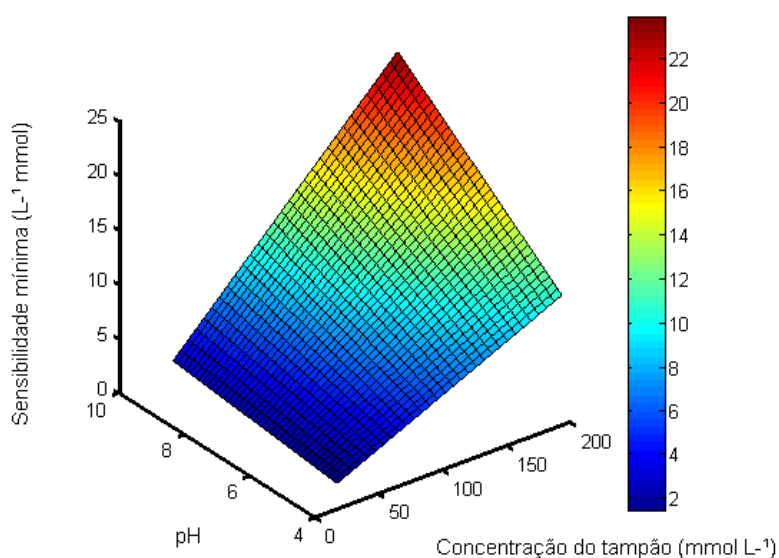


Figura 18. Superfície de resposta da influência do pH inicial e da concentração do tampão sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido cítrico.

Contudo nesta região são obtidos os maiores desvios padrão dos resíduos. Para que ambos os parâmetros alcançassem respostas satisfatórias frente ao estudo do método, a condição para trabalho, ou seja, aquela que possuía menores desvios e maior sensibilidade analítica foi obtida em pH 6,8 e concentração de tampão 25 mmol L^{-1} , para a faixa analítica ao redor de $5,0$ a 50 mmol L^{-1} de ácido cítrico.

Ainda que a otimização tenha sido realizada considerando a maximização da sensibilidade mínima e minimização do desvio padrão dos resíduos, foram observados os comportamentos do limite de detecção e coeficiente de determinação das curvas analíticas obtidas.

4.4. Limite de detecção (LOD)

Os coeficientes do modelo usando o LOD como resposta podem ser observados na Figura 19. Este modelo apresentou coeficiente de determinação de 0,7655 e estimativa do desvio padrão dos resíduos de $4,5604 \text{ L}^{-1} \text{ mmol}$.

Neste modelo nenhuma variável foi estatisticamente diferente de zero, ou seja, o modelo não foi capaz de explicar a influência do pH, concentração do tampão e volume da amostra sobre o LOD das curvas analíticas.

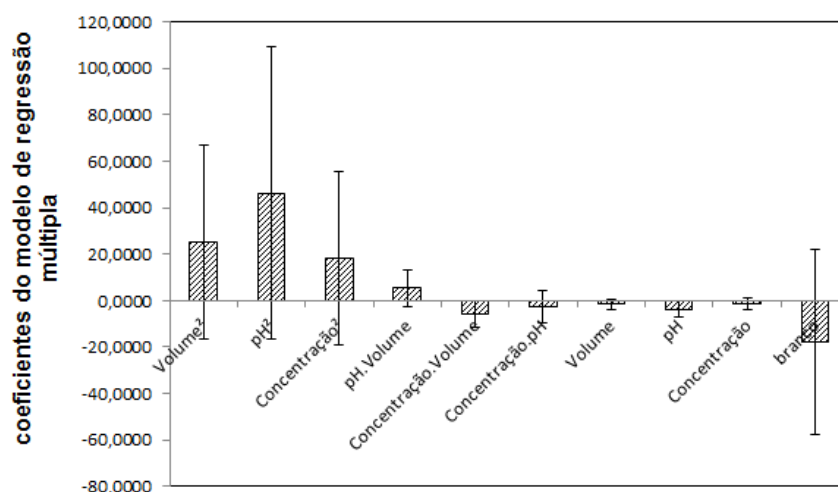


Figura 19. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 sobre o LOD das curvas analíticas.

Na Figura 20 é possível observar os coeficientes do modelo de regressão obtidos após o procedimento stepwise. O modelo (Equação 44) com valores codificados, apresentou um coeficiente de determinação (R^2) igual a 0,9701 e desvio padrão dos resíduos de 1,6275 mmol L⁻¹. É possível constatar que apenas o pH teve influência sobre o LOD das curvas analíticas.

$$\hat{y} = 4,380 \pm 0,630 + 12,0299 \pm 2,46)pH^2 \quad (44)$$

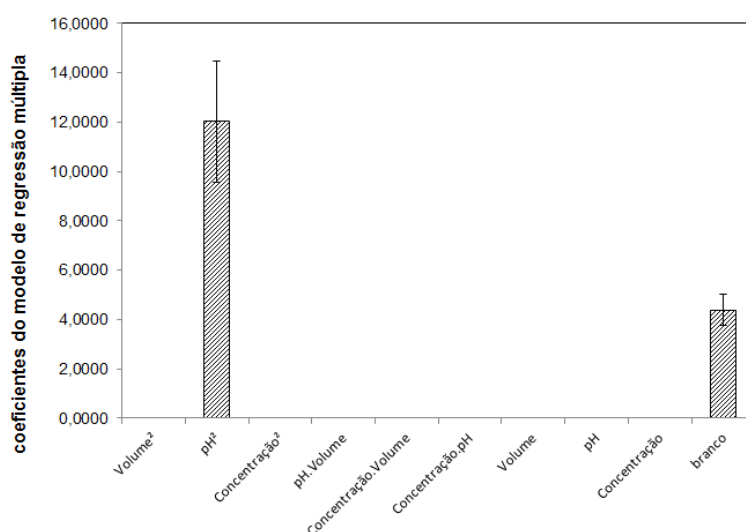


Figura 20. Coeficientes do modelo de regressão múltipla após o procedimento stepwise para o LOD das curvas analíticas do ácido cítrico.

Dessa forma através da análise das Figura 21 e 22 a influência da concentração do tampão e do seu pH inicial sobre o LOD das 13 condições experimentais pode ser avaliada.

Menores valores de LOD podem ser encontrados na faixa de pH entre 6 e 7,5, porém, a concentração do tampão não aparentemente não influencia de forma direta o comportamento do LOD, visto que, para concentrações mais altas como 200 mmol L⁻¹ e menores como 25 mmol L⁻¹ são encontrados menores limites.

O termo quadrático positivo sugere que o aumento do pH leva ao aumento do LOD do M2P, contudo, o objetivo era encontrar os menores LOD's possíveis. Esta condição foi alcançada no tampão citrato 25 mmol L⁻¹ em pH 6,8, ou seja, o quinto ensaio, com LOD de 1,945 mmol L⁻¹.

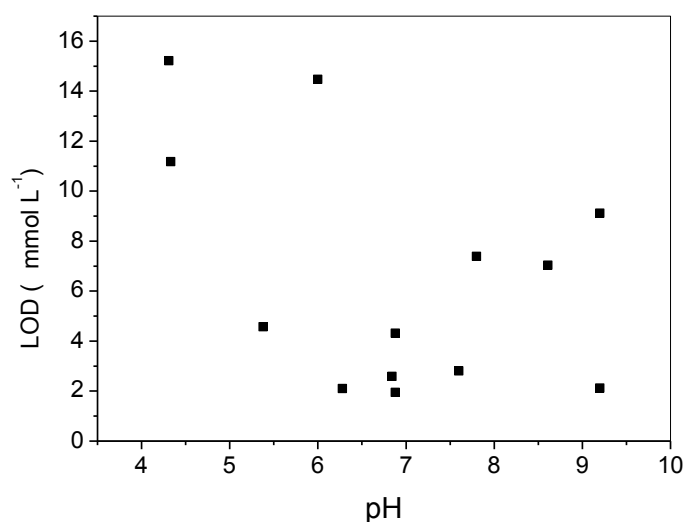


Figura 21. Influência do pH do tampão sobre o LOD do M2P.

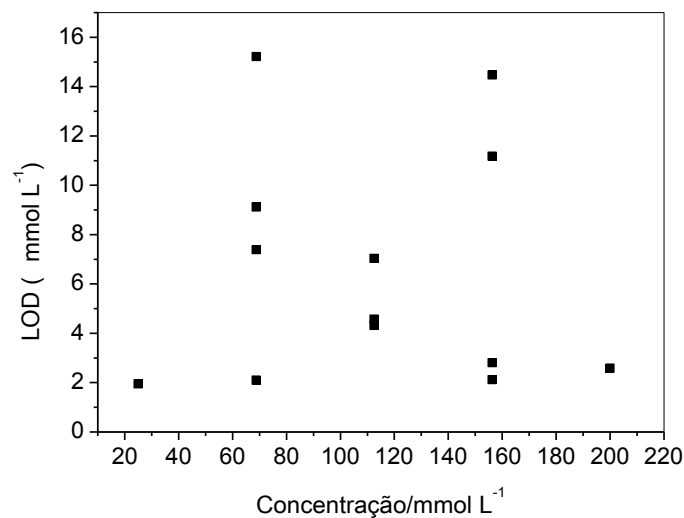


Figura 22. Influência da concentração do tampão sobre o LOD do M2P.

4.5. Coeficiente de determinação ajustado (R^2_{aj}) e Número de nove (N9)

O coeficiente de determinação (R^2) é um dos parâmetros para avaliar a qualidade de ajuste de um método analítico, melhor que o coeficiente de correlação por exprimir a fração de variância explicada em relação à variância total dos dados (CRQ – SP, 2010).

O coeficiente de determinação possui propriedade crescente a medida que mais variáveis explicativas são adicionadas ao modelo ainda que estas variáveis em nada influenciem a resposta. Por esta propriedade pode-se inferir que adicionando co-variáveis ao modelo, mesmo que estas não tenham relação nenhuma com a resposta, artificialmente é possível que haja melhora no coeficiente de determinação. Devido a isso, para confrontar modelos com número de variáveis distintos não é recomendado que se use o

R^2 , mas sim o R^2 ajustado, que pode ser observado na Equação 45 (NASCIMENTO, 2009).

A Equação 45 mostra como o coeficiente de determinação ajustado pode ser obtido, onde ' R^2 ' corresponde ao coeficiente de determinação obtido pelo modelo de regressão, ' n ' é o tamanho amostral e ' p ' o número de variáveis independentes (x).

$$R_{\text{adj}}^2 = 1 - (1 - R^2) \frac{n - 1}{n - p - 1} \quad (45)$$

O valor de R_{adj}^2 é importante quando é interessante avaliar modelos com diferentes números de variáveis. Além disso, a Equação 45 mostra que quanto maior o número de variáveis, o valor de R^2 se torna falsamente mais elevado.

A dificuldade na avaliação do coeficiente de determinação (assim como coeficiente de correlação e de determinação ajustado) está no fato de não haverem valores de referência claros. Testes estatísticos avaliam se esses coeficientes são significativamente diferentes de zero, mas não permitem avaliar se dois coeficientes são significativamente diferentes entre si.

Na química analítica, a prática tem determinado que valores aceitáveis devem estar acima de 0,9 ou 0,99. A avaliação usual é considerar o "número de noves" que o coeficiente apresenta. Assim, curvas com R^2 iguais a 0,999 têm melhor ajuste que 0,99.

Dessa maneira, para facilitar a comparação entre grandes conjuntos de coeficientes, Almeida (2015) propôs o uso do número de noves (N9), um parâmetro que expressa a quantidade de casas decimais de números nove existentes no coeficiente de determinação (Equação 46).

$$N9 = -\log (1-R^2) \quad (46)$$

As curvas analíticas apresentaram modelos com R_{aj}^2 entre 0,9 (N9 maior que 1,26) e 0,99 (N9 maior a 2,6). Não é possível perceber nenhuma correlação entre a concentração do tampão e o N9 (Figura 23). Entretanto, pode-se observar que os maiores valores de N9 ocorrem com algumas condições com pH ao redor de 6,5 (Figura 24). Para a condição selecionada nas avaliações anteriores (tampão 25 mmol L⁻¹ em pH 6,8), o valor de N9 foi um dos maiores registrados, 2,6 ($R_{\text{aj}}^2 = 0,9974$).

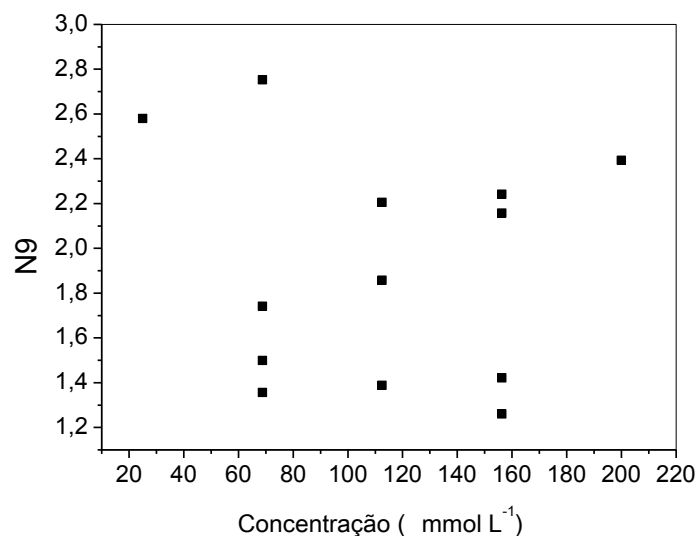


Figura 23. Influência da concentração do tampão citrato no N9 do coeficiente de determinação ajustado.

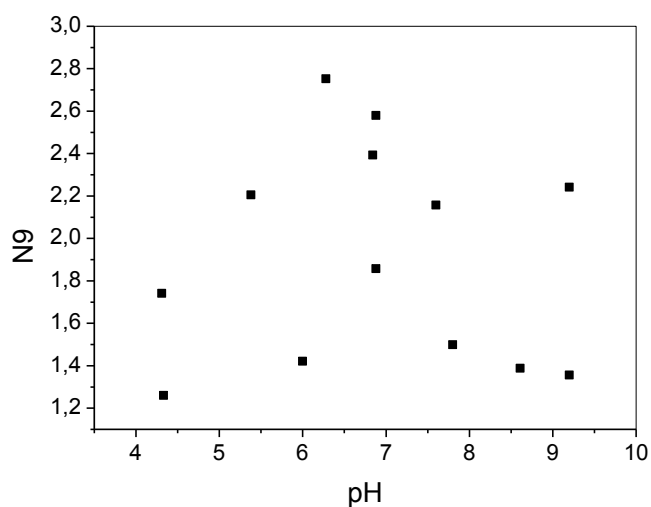


Figura 24. Influência do pH inicial do tampão no parâmetro N9 do coeficiente de determinação ajustado

4.6. Determinação da acidez por titulação potenciométrica

A titulação potenciométrica das amostras de sucos de fruta foi realizada com o a finalidade de comparação com o método desenvolvido. Um exemplo pode ser observado na Figura 25 onde uma amostra de suco foi titulada com a utilização de hidróxido de sódio padronizado.

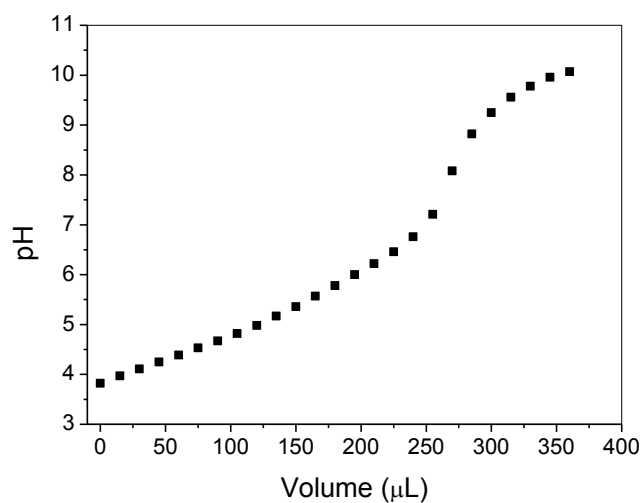


Figura 25. Curva de titulação de 1 mL do suco de fruta A em 10 mL de água com hidróxido de sódio 0,1893 mol L⁻¹.

Para a estimativa do volume de equivalência, foi obtido o gráfico de derivada primeira (utilizando a função derivative do software Origin). Para esses dados foi ajustado o modelo de regressão não linear de Lorentz (Equação 47). O procedimento para o exemplo descrito é apresentado na Figura 26.

$$y = y_0 + \frac{2A}{\Pi} \cdot \frac{w}{4(x - x_c)^2 + w^2} \quad (47)$$

O valor central (x_c) é a estimativa do volume de equivalência, ‘y’, ‘ y_0 ’, A, w são os parâmetros estimados pelo modelo de regressão.

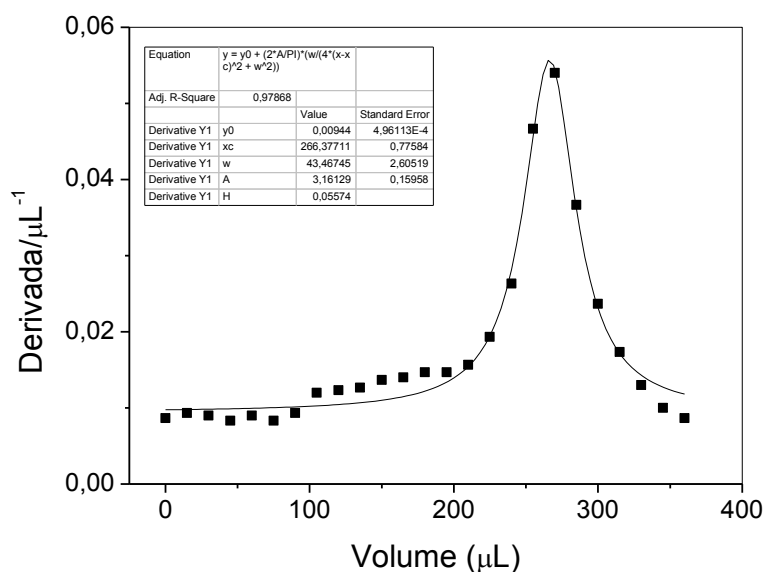


Figura 26. Gráfico da primeira derivada dos dados potenciométricos da titulação de 1 mL de néctar de laranja com NaOH 0,1893 mol L⁻¹. No inserto a tabela dos valores fornecidos pelo software Origin 8.0 Pro.

4.7. Validação

A partir dos experimentos de otimização foi escolhida a condição onde é feita adição de 1 mL de amostra sobre 10 mL de tampão citrato 25 mmol L⁻¹ de pH inicial 6,8.

A Equação 48 representa a curva analítica obtida para esta condição:

$$\Delta\text{pH} = (-0,000248 \pm 1,9\text{e}^{-5})c^2 + (0,03258x \pm 0,0011)c + (0,0759 \pm 0,0127) \quad (48)$$

Onde “ΔpH” é a resposta do método e “c” é a concentração, em mmol L⁻¹. Para a validação os seguintes parâmetros foram avaliados: sensibilidade mínima do método, faixa analítica, LOD, LOQ, exatidão e precisão.

O LOD é o menor valor de concentração do analito que pode ser detectado pelo método. O desvio-padrão do branco da curva analítica foi utilizado para o cálculo do LOD, enquanto que a sensibilidade foi considerada como o coeficiente de inclinação quando a concentração tende a zero.

Embora o LOQ seja a concentração que pode ser determinada com um coeficiente de variação menor que um valor limite pré-estabelecido, na falta desse valor, foi utilizado a expressão descrita na Equação 35, recomendada pela ANVISA.

Assim, o limite de quantificação foi igual a 3,7 mmol.L⁻¹. Nessa concentração a precisão (N= 3) foi de 3,36%, um valor razoável para medidas de acidez. O limite de detecção obtido foi igual a 1,20 mmol L⁻¹ e a faixa analítica utilizada para o método proposto foi de 5 a 50 mmol L⁻¹.

A exatidão foi avaliada pela comparação da acidez determinada pelo M2P com aquelas determinadas por titulação potenciométrica para as mesmas amostras comerciais de néctares de laranja (Tabela 5). O erro do método proposto variou de 0,34 a 15,14% (Tabela 5), evidenciando que o mesmo apresenta bom desempenho quando comparado a titulação potenciométrica.

A precisão foi estudada através da repetitividade, esta apresentou desvio padrão relativo entre 0,71% e 5,00%. O método proposto apresentou um coeficiente de determinação ajustado de 0,995 e desvio padrão dos resíduos de 0,0177 unidades de pH.

Tabela 5. Comparação dos resultados da determinação da concentração de ácido cítrico por titulação potenciométrica e pelo M2P com adição de 1 mL de amostra concentrada sobre 10 mL de tampão citrato 25 mmol L⁻¹ pH 6,8.

Amostras (Néctar)	Ácido Cítrico (%m/m)		Exatidão (%Erro)	Precisão (CV%)
	Titulação Potenciométrica	M2P		
1 (Laranja)	0,318 ± 0,007	0,342 ± 0,008	+ 7,67	1,64
2 (Laranja)	0,314 ± 0,010	0,343 ± 0,015	+ 9,55	3,04
3 (Laranja)	0,343 ± 0,001	0,355 ± 0,007	+ 3,50	1,30
4 (Laranja)	0,352 ± 0,015	0,355 ± 0,010	+ 0,69	1,97
5 (Laranja)	0,305 ± 0,007	0,371 ± 0,012	+15,14	2,25
6 (Laranja)	0,461 ± 0,006	0,477 ± 0,017	+ 3,46	2,44
7 (Laranja)	0,382 ± 0,009	0,413 ± 0,026	+ 8,18	4,58
8 (Laranja)	0,383 ± 0,014	0,379 ± 0,019	- 0,96	3,67
9 (Laranja)	0,209 ± 0,008	0,183 ± 0,013	- 12,41	4,99
10 (Laranja)	0,402 ± 0,011	0,410 ± 0,014	+1,90	2,50
11 (Laranja)	0,285 ± 0,019	0,286 ± 0,0003	+ 0,34	2,25
12 (Laranja)	1,083 ± 0,001	1,032 ± 0,0012	- 4,71	0,71
13 (Laranja)	0,996 ± 0,0007	0,975 ± 0,004	- 2,10	0,92
14 (Laranja)	1,211 ± 0,005	1,180 ± 0,0003	- 2,56	0,71
15 (Padrão)	0,391 ± 0,001	0,398 ± 0,0015	+ 1,86	0,57

4.7.1. Exatidão

A exatidão expressa a concordância entre os resultados obtidos pelo método testado e pelo método de referência. Para estima-la foi utilizada a comparação de métodos, uma vez que não há padrões de referência para acidez em néctares de fruta. Os resultados do M2P foram então comparados com aqueles obtidos em titulações potenciométricas.

A exatidão pode ser expressa pelo cálculo do erro relativo (ANVISA, 2012), e foi calculada a partir da Equação 36. Pode-se observar que os maiores erros na comparação dos métodos ocorreram para as concentrações mais baixas (Figura 27).

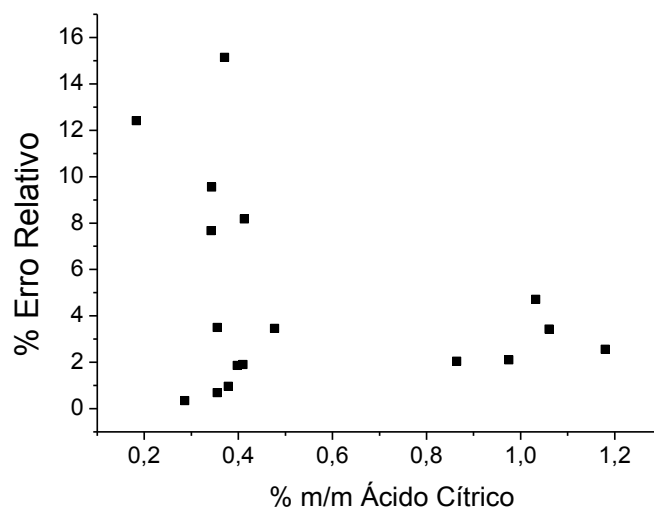


Figura 27. Porcentagem de erro relativo em relação ao teor de ácido cítrico nas amostras.

Entretanto, o erro relativo não é um parâmetro muito adequado pois não é capaz de distinguir entre dois tipos de erros sistemáticos entre métodos: erros aditivos e erros sistemáticos. Os resultados obtidos por dois métodos distintos (R_1 e R_2) devem ser relacionados através de uma expressão geral (Equação 49):

$$R_1 = a + bR_2 \quad (49)$$

Onde o termo 'a' representa o erro aditivo e idealmente é igual a zero, enquanto que termo 'b' explica a proporcionalidade entre os resultados de ambos métodos, e, portanto, deve idealmente ter o valor igual a um. Desvios significativos nesse valor indicam erro sistemático (ou matricial) entre os métodos.

A comparação entre os resultados dos dois métodos é adequada com R^2 igual a 0,9941 e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,0266 (Figura 28). O termo constante ('a') não foi estatisticamente diferente de zero e o termo 'b' não é estatisticamente diferente de um (teste t-Student, 95% confiança), de maneira que não são observados, no conjunto, erros aditivos ou sistemáticos entre os métodos.

Apesar da curva de correlação (Figura 28), apresentar um bom R^2 (0,9941), a distribuição dos pontos ao longo da curva sugere que o modelo poderia ser tendencioso, devido à grande concentração de pontos em uma determinada região. A verificação de

que a função de regressão é adequada aos dados pode ser feita através do gráfico dos resíduos versus valores ajustados.

A observância do gráfico da Figura 29, demonstra que os resíduos estão distribuídos aleatoriamente, e não se encontram concentrados em uma determinada região.

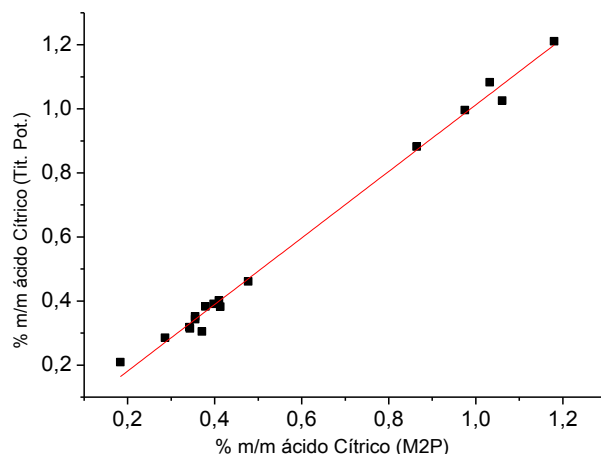


Figura 28. Correlação da concentração de ácido cítrico (% m/m) obtido pelo M2P e por titulação potenciométrica das amostras de néctar de laranja.

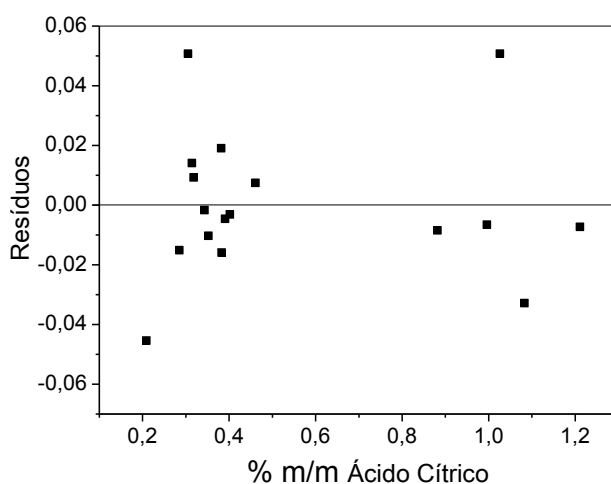


Figura 29. Gráfico dos resíduos dos resultados obtidos para o M2P e a titulação potenciométrica na análise das amostras de néctar de laranja.

Os valores de erro consideravelmente altos para algumas amostras podem ser explicados pela complexidade das amostras em razão dos sucos de fruta apresentarem em

sua composição uma gama de ácidos como o ácido cítrico, tartárico, málico, que afetam de forma direta as respostas obtidas.

5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

O M2P foi otimizado através de Planejamento Multivariado pela Matriz de Doehlert e validado para a determinação da acidez em amostras de néctar de laranja.

A condição ótima para trabalho este foi obtida considerando-se tanto a maior sensibilidade analítica mínima assim como o menor desvio padrão dos resíduos da curva analítica.

Na condição selecionada, 1 mL de amostra sem nenhum pré-tratamento ou diluição foi adicionada sobre 10 mL de tampão citrato 25 mmol L⁻¹ em pH 6,8 e a variação de pH foi medida. A acidez foi determinada com auxílio de modelo de regressão quadrática na faixa analítica de 5 a 50 mmol L⁻¹, com R² ajustado de 0,995 e a estimativa de desvio padrão dos resíduos igual a 0,018 unidades de pH.

O LOD e o LOQ foram de 1,20 mmol L⁻¹ e 3,7 mmol L⁻¹, respectivamente. Na comparação com o método titulométrico na determinação da acidez em amostras de néctares de laranja, o M2P apresentou erros entre 0,35 e 15,14 %. A precisão, avaliada pelo coeficiente de variação (%CV) esteve entre 0,57 e 5,00% e a repetitividade avaliada para a concentração de 20 mmol L⁻¹ foi de 0,35%.

O método proposto apresentou-se simples, de baixo custo e rápido para determinação da acidez em amostras de néctares de laranja, além de proporcionar resultados similares ao do método titulométrico.

CAPÍTULO III

AVALIAÇÃO DO ELETRODO DE PBO₂ COMO SENSOR PARA O MÉTODO DOS DOIS PONTOS

1. INTRODUÇÃO

Os sensores potenciométricos têm sido usados em diferentes áreas. Como exemplos, pode-se citar a determinação da concentração de dióxido de enxofre em vinhos (CUARTERO et al., 2013), a determinação de traços de íon cianeto no meio ambiente (CHEN; ZOU; BU, 2012), e até mesmo na indústria farmacêutica para determinação da concentração de medicamentos, como o ibuprofeno (RIBEIRO, 2006). O sensor mais utilizado, entretanto, é o eletrodo combinado de membrana de vidro sensível a $H^+_{(aq)}$ (e OH^-), ou seja, o eletrodo de vidro para pH, seguido pelo eletrodo para fluoreto, baseado no monocristal de fluoreto de lantânio dopado com európio.

A medida do pH de uma solução aquosa é capaz de fornecer informações importantes, uma vez que o íon H^+ participa dos equilíbrios ácido-base de Bronsted, que é o tipo de equilíbrio em solução mais comum. Assim, o pH influencia diversos sistemas químicos e é, por sua vez, influenciado por eles (OLIVEIRA, 2009).

Águas de diferentes fontes, tais como lagos, rios e oceanos possuem diferentes valores de pH pois dependem das espécies de plantas e animais (inclusive microscópicos tais como fitoplâncton ou zooplânctons) que habitam naquele ecossistema, além do solo, rochas e sedimento com os quais têm contato. Na agricultura o controle do pH do solo é de suma importância para o desenvolvimento das plantas e em praticamente todas as indústrias que utilizam a água necessitam que este controle seja realizado (STUMM; MORGAN, 1995; YUQING; JIANRONG; KEMING, 2005)

Na indústria química, o controle deste parâmetro é capaz de otimizar reações e evitar a formação de produtos indesejáveis, além disso ele é capaz de controlar a solubilidade de diversos produtos químicos ou biomoléculas. Até mesmo no corpo humano a manutenção do pH do sangue é necessária. A variação em menos ou mais que 0,3 unidades de pH prejudica seu funcionamento (YUQING; JIANRONG; KEMING, 2005).

A determinação de pH é portanto de grande importância e diversos sensores têm sido desenvolvidos, buscando alternativas em relação ao eletrodo de vidro para pH para

contornar algumas dificuldades do emprego do mesmo em controles analíticos de rotina ou condições adversas ao eletrodo de vidro.

Abolghasemi; Sobhi; Piryaei (2016) propuseram um novo sensor óptico de pH baseado na imobilização de antocianinas de uvas sobre membrana de agarose, enquanto Zuliani; Matzeu; Diamond (2014) foram os responsáveis pelo desenvolvimento de um sensor potenciométrico descartável para medir pH da saliva.

O eletrodo de dióxido de chumbo (PbO_2) para determinação do pH de soluções foi inicialmente estudada por Kaehler et al. (1970). A resposta potenciométrica do eletrodo de PbO_2 eletrodepositado sobre um fio de platina, no qual o monitoramento da atividade hidrogeniônica foi feito em soluções contendo íons Pb^{2+} foi avaliada.

Cassiano et al. (2001), utilizando um eletrodo de PbO_2 eletrodepositado sobre grafite, demonstraram aplicabilidade deste como sensor potenciométrico a íons H^+ , Pb^{2+} e SO_4^{2-} em titulações ácido-base e de precipitação, além disso a aplicabilidade do PbO_2 incorporado em matriz de PVC também foi estudada (CASSIANO et al., 1998).

A resposta potenciométrica do eletrodo de PbO_2 baseia-se, em princípio, na semi-reação (Equação 50) :



E, portanto, na Equação de Peters-Nernst (Equação 51):

$$E = E^o + \frac{S}{2} \log[\text{Pb}^{2+}] - 2SpH \quad (51)$$

Entretanto, as sensibilidades obtidas nos trabalhos citados sempre foram ao redor de $59,16 \text{ mV década}^{-1}$, ou seja, metade do valor previsto.

No entanto, Lima et al. (2005), desenvolveram um ISE para pH incorporando o PbO_2 em matriz de parafina, obtendo sensibilidades de até $112 \text{ mV década}^{-1}$, ou seja, 94% da resposta prevista pela Equação 51.

Algumas vantagens podem ser observadas quando o eletrodo de PbO_2 é utilizado frente ao eletrodo de vidro, dentre elas: a facilidade para construção do mesmo, seu baixo custo, resistência mecânica, longa vida útil, estabilidade, reprodutibilidade e possibilidade de utilização em meios não aquosos (LIMA et al., 2005).

O eletrodo de PbO_2 apresenta-se como alternativa viável para substituição do eletrodo de vidro em algumas situações pois, além de apresentar robustez nas medidas,

tem uma melhor resistência mecânica, facilidade de miniaturização e pode ser utilizado soluções com pH inferiores a 2,0.

Devido a estas vantagens, a aplicação do eletrodo de PbO_2 foi avaliada, com o intuito de aumentar a sensibilidade do Método Dois Pontos.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Aplicar o eletrodo de PbO_2 de alta sensibilidade para determinação da acidez de amostras de néctares de laranja.

2.2 Objetivos específicos

- Construir o eletrodo de PbO_2 de alta sensibilidade.
- Aplicar o eletrodo para determinação da acidez de amostras de néctares de laranja.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Construção do eletrodo

A construção dos eletrodos foi realizada conforme sugerido por Lima et al. (2005), através da dispersão de uma quantidade conveniente de pó de PbO_2 (Merck) e parafina para obter o total de 2,00 g de composto em um béquer de 5 mL. Essa mistura ficou sob aquecimento sobre um agitador magnético com aquecimento (Biomixer Modelo 78HW-1).

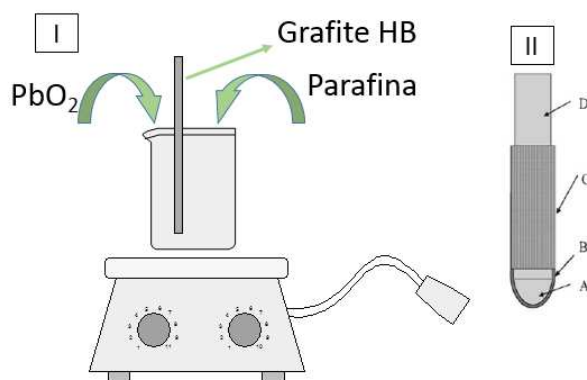


Figura 30. (I) - Diagrama esquemático da obtenção dos eletrodos de PbO_2 de acordo com a metodologia descrita por Lima et al. (2005). (II) - Representação esquemática do eletrodo de PbO_2 : (A) suporte de grafite; (B) membrana de parafina; (C) fita de teflon; (D) região de contato elétrico.

Adaptado Lima et al. (2005)

O fluido obtido foi espalhado sobre grafite através da imersão do suporte no fluido. O grafite utilizado possuía 2 mm de diâmetro, dureza HB, utilizado para lapiseiras. Fitas de Teflon[®] foram usadas para definição da área do eletrodo e para o isolamento do grafite livre em relação à solução. A representação esquemática do eletrodo é mostrada na Figura 30.

3.2 Preparo das soluções

Todas as soluções foram preparadas com água Milli-Q e com reagentes de grau analítico (P.A), além de terem sua força iônica ajustada com nitrato de sódio (NaNO_3) para $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (Lima, et al. 2005).

3.3 Solução tampão fosfato

Uma solução tampão fosfato 8 mmol L^{-1} pH 7,5 foi preparada pela dissolução de 0,5678 g de fosfato de sódio monobásico (Na_2HPO_4) e 20,3988 g de nitrato de sódio em água, esta solução teve seu pH ajustado com uma solução de ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$.

3.3.1 Solução ácido sulfúrico

A solução de ácido sulfúrico 60 mmol L^{-1} foi preparada pela dissolução de 3,0 mL do ácido concentrado e de 13,5992 g de NaNO_3 em água.

3.3.2 Efeito da composição das membranas do suporte

Para avaliar o efeito da composição do suporte de grafite sobre a resposta do eletrodo, foram estudadas composições de PbO_2 de 60 a 80% (m/m) (Figura 31).

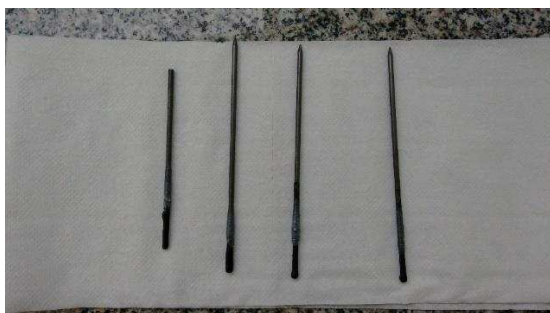


Figura 31. Eletrodos de PbO_2 construídos com membrana de parafina sobre suporte de grafite de 60, 70, 75 e 80% (m/m) de PbO_2 (esquerda para direita).

O eletrodo proposto e o eletrodo de referência (Ag/AgCl com ponte salina de cloreto de potássio 3 mol L⁻¹) foram acoplados a um pHmetro e imersos em 25 mL de solução tampão fosfato 8 mmol L⁻¹. Alíquotas da solução de H₂SO₄ com concentração de 60 mmol L⁻¹ foram adicionadas e as medidas de potencial anotadas.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito da composição das membranas do suporte

As curvas analíticas realizadas para avaliação da resposta do eletrodo de PbO_2 com diferentes composições de membranas podem ser vistos nas Figura 32 a Figura 35. Observou-se o aumento na sensibilidade analítica (inclinação do modelo), assim como do coeficiente de determinação com o aumento do teor de PbO_2 na matriz de parafina.

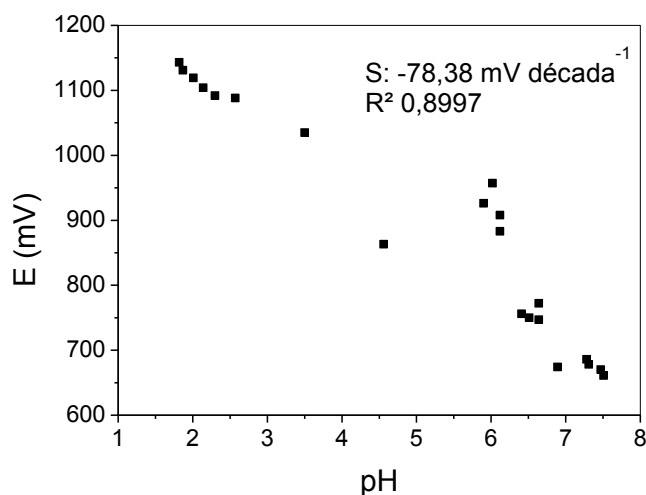


Figura 32. Curva analítica do tampão fosfato com eletrodo de PbO_2 (60%).

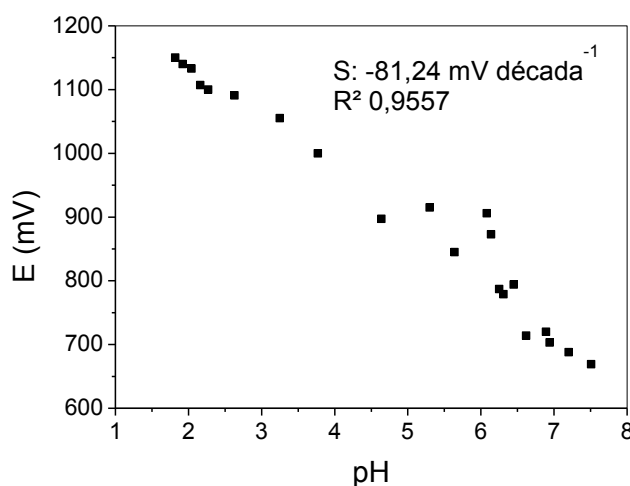


Figura 33. Curva analítica do tampão fosfato com eletrodo de PbO_2 (70%).

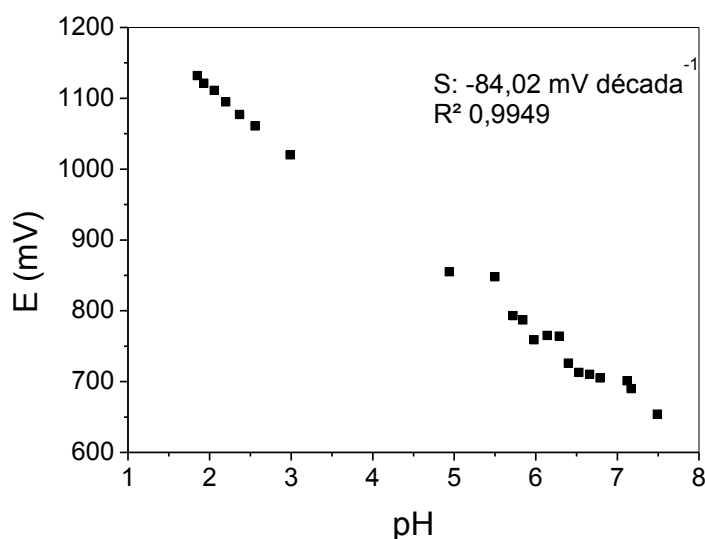


Figura 34. Curva analítica do tampão fosfato com eletrodo de PbO₂ (75%).

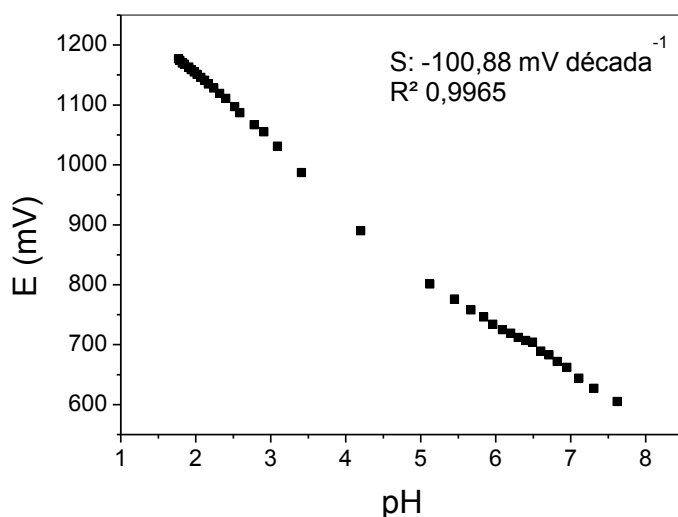


Figura 35. Curva de titulação do tampão fosfato com eletrodo de PbO₂ (80%).

No trabalho de Lima et al. (2005) também foi observada a alteração da sensibilidade analítica (inclinação) com o teor de PbO₂ na matriz de parafina. Entretanto neste trabalho houve um aumento da sensibilidade analítica com o aumento do teor de PbO₂ a partir de 75% (m/m), mas a maior inclinação (em módulo) obtida foi 100 mV década⁻¹, valor inferior ao máximo observado na literatura (112 mV década⁻¹ para 85% de PbO₂).

Portanto o eletrodo escolhido foi aquele com concentração de 80% de PbO₂ em razão da maior sensibilidade obtida para o mesmo. Este resultado sugere que o tipo de parafina utilizada, assim como a procedência do PbO₂, ou mesmo o tempo que o reagente

permaneceu exposto à atmosfera podem influenciar no comportamento do eletrodo produzido.

Na Tabela 6 pode-se observar que a qualidade do ajuste também melhorou com o aumento do teor de PbO₂ na matriz de parafina.

Tabela 6. Inclinação, coeficiente de determinação (R^2), número de nove (N9) e potencial elétrico condicional (E^o) das curvas analíticas.

Concentração PbO ₂ /(‰m/m)	Inclinação /(mV.dec ⁻¹)	R ² (N9)	E ^o /mV
60	-78,38	0,8997 (1,0)	1289,3
70	-81,24	0,9577 (1,3)	1301,9
75	-84,02	0,9949 (2,3)	1279,5
80	-100,88	0,9965 (2,5)	1349,2

4.2 Aplicação do eletrodo de PbO₂

A avaliação da aplicabilidade do eletrodo proposto foi realizada mediante a comparação dos valores de pH obtidos experimentalmente na determinação da acidez fornecido pelo M2P através do eletrodo de vidro (EV) e de PbO₂ (EC).

Os valores de pH dos néctares de laranja fornecidos por ambos os eletrodos (Tabela 7) apresentaram erros relativos inferiores a 5%. Observa-se também uma maior precisão nas medidas com o eletrodo de PbO₂, onde as estimativas do desvio padrão formam inferiores para várias amostras.

Resultados semelhantes foram encontrados por Lima et al. (2005) quando se trabalhou com eletrodo de PbO₂ para determinação do pH de bebidas industrializadas, com diferenças máximas de 0,28 unidades de pH.

Tabela 7. Valores de pH obtidos pelo eletrodo de vidro (pH_{EV}) e pelo eletrodo de PbO₂ (pH_{EC}) para as amostras comerciais de néctares de laranja.

Amostras de néctares de laranja	pH _{EV}	pH _{EC}	ER(%)
1	3,81 ±0,02	3,96 ±0,005	3,93
2	4,12 ±0,01	4,05 ±0,01	1,69
3	3,77 ±0,02	3,70 ±0,01	1,85
4	3,17 ±0,02	3,01 ±0,005	5,04
5	3,85 ±0,01	3,92 ±0,01	1,81
6	3,83 ±0,01	3,80 ± 0,005	0,78
7	3,74 ±0,01	3,71 ±0,005	0,80

O teste F foi aplicado para comparar as amostras quanto a sua variância. A um nível de 95% de confiança não há diferença estatística entre o pH obtido com o eletrodo de PbO₂ e o eletrodo de vidro para as amostras 2,3,5,6 e 7. As variâncias das amostras 1 e 4 para o eletrodo de vidro são estatisticamente maiores que o eletrodo proposto, ou seja, o eletrodo de PbO₂ nestas condições é mais preciso.

Para avaliar a influência do eletrodo proposto sobre a sensibilidade do M2P foram realizadas determinações da acidez pela aplicação do método com o eletrodo de vidro e com o eletrodo de PbO₂.

4.3 Curva analítica

A curva analítica do M2P (Figura 36) foi construída pela adição de 1 mL de solução padrão de ácido cítrico (5 e 50 mmol L⁻¹) sobre o tampão citrato pH 6,8 de concentração 25 mmol L⁻¹, que foi a condição ótima escolhida no capítulo anterior.

O modelo obtido pode ser observado na Equação 52, com desvio padrão dos resíduos de 0,93 mmol L⁻¹ e coeficiente de determinação ajustado de 0,999. O LOD e o LOQ estimados pela curva analítica foram de 1,59 e 4,83 mmol L⁻¹, respectivamente, e sensibilidade mínima de 1,555 mmol L⁻¹.

$$\Delta E = (-0,0141 \pm 0,003)c^2 + (2,5655 \pm 0,16)c + (11,336 \pm 1,73) \quad (52)$$

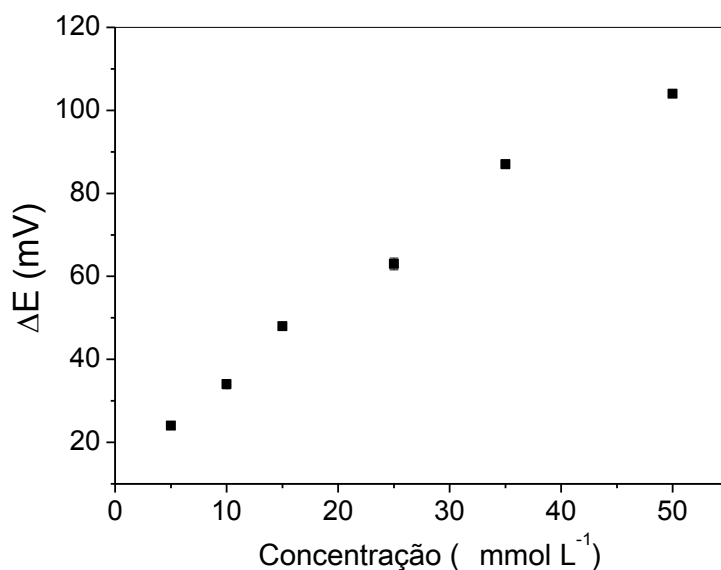


Figura 36. Curva analítica do eletrodo de PbO₂ obtida através da adição de 1 mL do padrão sob 10 mL do tampão citrato pH 6,8 com concentração 25 mmol L⁻¹.

A acidez dos néctares de laranja foi determinada usando a curva analítica construída para o eletrodo proposto bem como foram realizadas quantificações das concentrações de ácido cítrico pelo M2P através dos dois eletrodos. Os resultados são evidenciados na Tabela 8.

Pode-se observar a concordância entre os resultados obtidos para a concentração de ácido cítrico utilizando ambos os eletrodos, com o método exibindo varrições de erro entre 4,24 e 16,82%, indicando a possibilidade de utilização do eletrodo como provável substituto do eletrodo de vidro.

Um modelo de regressão entre os resultados obtidos para o método utilizando o eletrodo de PbO₂ para pH (R(EC)) e para o eletrodo de vidro (R(EV)) é apresentado na Equação 53, com desvio padrão dos resíduos igual a 0,02 unidades de pH e coeficiente de determinação igual a 0,96.

$$R(EC) = (1,05 \pm 0,12)R(EV) + (-0,03 \pm 0,04) \quad (53)$$

Considerando as incertezas dos coeficientes do modelo de regressão, não há erros aditivos ou sistemáticos entre os resultados observados para ambos os métodos.

Tabela 8. Concentração de ácido cítrico nas amostras de néctares de laranja pelo M2P usando eletrodo de vidro (EV) e o eletrodo de PbO₂ (EC).

Amostra de néctares de laranja	Ác.Cítrico (%m/m) (EV)	Ác.Cítrico (%m/m) (EC)	Exatidão (%Erro)
1	0,377 ± 0,001	0,361 ± 0,012	4,24
2	0,208 ± 0,002	0,243 ± 0,017	16,82
3	0,222 ± 0,0003	0,235 ± 0,001	5,85
4	0,429 ± 0,001	0,449 ± 0,003	4,66
5	0,341 ± 0,002	0,364 ± 0,001	6,74

5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

O eletrodo de vidro para pH tem inclinação de aproximadamente $-59,6 \text{ mV década}^{-1}$ e como já citado é o eletrodo íon seletivo mais utilizado no mundo. Contudo, este sensor apresenta algumas características que limitam sua utilização, principalmente a fragilidade do próprio sensor. Sua faixa analítica (entre 2,0 e 12 a 14, dependendo da composição da membrana) também pode ser uma limitação em alguns casos.

O eletrodo de PbO_2 desenvolvido apresentou inclinação igual a $-100,9 \text{ mV década}^{-1}$ que é 70% maior que a sensibilidade do eletrodo de vidro. Contudo, não foi observada diferença entre os resultados da determinação da acidez e medição de pH pela utilização do sensor de PbO_2 , de maneira que o mesmo apresentou resultados análogos ao do eletrodo de pH.

O uso do eletrodo de vidro ou do sensor de PbO_2 não afetou a qualidade dos resultados de acidez para néctares de laranja.

CAPÍTULO IV

APLICAÇÃO DO M2P NA DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ DE VINHOS

1. INTRODUÇÃO

A acidez em vinhos é considerada uma de suas propriedades mais importantes, pois participa das características sensoriais além de influenciar sua estabilidade e cor (TÔRRES et al., 2011). Vários ácidos orgânicos podem estar presentes em um vinho formando o seu perfil ácido, dentre eles: o ácido tartárico, o ácido málico, cítrico, gálico, entre outros.

A determinação da acidez em vinhos pode ser realizada através de diversos procedimentos. Na Europa a Office International de la Vigne et du Vin (OIV) normatiza que acidez deve ser determinada pela titulação potenciométrica com solução de 0,1 mol L⁻¹ de NaOH até pH 7,0 ou através da titulação com azul de bromotimol como indicador, especialmente no caso do vinho branco.

Em contrapartida, a Association of Official Analytical Chemists nos Estados Unidos (EUA) determina que a titulação deve ser realizada até pH próximo a 8,2 através da titulação com indicador fenolftaleína (VAHL et al., 2013).

Contudo, as titulações ácido-base com indicadores visuais, além de serem demoradas e requererem a avaliação do analista para determinação do ponto final, ainda não fornecem o verdadeiro valor de acidez, pois cada vinho terá um ponto final da titulação em razão da composição e da concentração dos ácidos presentes nos mesmos (VAHL et al., 2013).

O desenvolvimento de novas metodologias visando reduzir as desvantagens das titulações convencionais é objeto de estudo de vários autores. Vahl et al. (2013) usaram Análise por Injeção em Fluxo (FIA) para determinação da acidez e do pH de vinhos brancos e tintos. Tôrres et al. (2011) utilizaram imagens digitais para determinar a acidez de vinhos tintos através da titulação sem indicador.

Em razão das limitações dos métodos existentes há demanda por novas metodologias rápidas e eficientes para determinação da acidez em amostras de vinhos. Portanto um novo método para determinação da acidez de bebidas foi proposto neste trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1.Objetivo geral

Aplicar um método analítico potenciométrico não titulométrico (Método dos Dois Pontos) para a determinação da acidez em vinhos.

2.2.Objetivos específicos

- Otimizar o M2P através de planejamento multivariado utilizando a Matriz de Doehlert.
- Avaliar as figuras de mérito do M2P na condição otimizada e aplicar em amostras de vinhos comerciais para determinação da acidez.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Preparo das soluções

3.1.1. Solução de ácido tartárico

O ácido tartárico é aquele que se encontra em maior concentração nos vinhos, por esta razão as curvas analíticas foram construídas pela adição de determinado volume dos padrões deste ácido nas soluções tampão de ácido cítrico.

A solução estoque de 500 mmol L^{-1} de ácido tartárico foi preparada pela dissolução de 37,71 g do respectivo ácido (Vetec) em água, completando-se o volume em um balão de 500 mL.

As demais soluções de ácido tartárico utilizadas para construção da curva analítica foram obtidas pela diluição da solução estoque, preparadas no mesmo dia em que foram usadas.

3.1.2. Solução de ácido cítrico

A solução estoque de ácido cítrico ($1,0 \text{ mol L}^{-1}$) foi preparada a partir da dissolução do respectivo ácido (Vetec) em água e padronizada com a solução de NaOH $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ padronizada e mantidas à temperatura ambiente.

3.2. Determinação das condições experimentais

A otimização do M2P para obtenção da região de trabalho ótima foi realizada da mesma forma que o néctar de laranja, ou seja, pela aplicação do Planejamento Experimental Doehlert. Neste planejamento foram avaliadas as variáveis: pH inicial do tampão citrato, concentração do tampão e o volume de amostra nos mesmos níveis estudados anteriormente: as concentrações do tampão variaram entre 25 e 200 mmol L^{-1} , os valores de pH entre 4,3 e 9,3 e o volume de amostra entre 500 e $2000 \mu\text{L}$.

O pH foi estudado em sete níveis, a concentração em cinco níveis e o volume de amostra em três níveis, como pode ser observado na Tabela 2.

3.3. Preparo das amostras

3.3.1. Vinhos

As amostras de vinhos tinto e branco de sete marcas diferentes foram obtidas nos mercados da cidade de Viçosa – MG e mantidas à temperatura ambiente durante o tempo de estudo.

3.4. Procedimento Experimental

No método otimizado, o volume de 1 mL da amostra in natura foi adicionado sobre 10 mL de tampão citrato (25 mmol L⁻¹ pH 6,8) e o pH medido. A resposta analítica foi a diferença nos valores de pH antes e após a adição da amostra sobre a solução tampão (Δ pH).

3.5. Titulação volumétrica com detecção potenciométrica

Todas as amostras de vinho utilizadas no trabalho foram tituladas potenciometricamente com solução de NaOH 0,02 mol L⁻¹ padronizado.

Para a titulação potenciométrica 1 mL das amostras de vinhos foram adicionadas sobre 10 mL de água destilada em um béquer com agitação magnética seguida por sucessivas adições de 100 µL de solução de NaOH 0,02 mol L⁻¹.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da otimização

As condições experimentais reais do trabalho para avaliar o efeito da concentração do tampão, pH inicial e volume da amostra podem ser observadas na Tabela 9. As respostas usadas para a avaliação do planejamento experimental foram a sensibilidade mínima e o desvio padrão dos resíduos, conforme apresentado no item 4.1 do Capítulo II do presente trabalho.

Tabela 9. Valores reais das condições experimentais dos 13 ensaios

Ensaio	Valores reais		
	Con. Tampão (mmol L ⁻¹)	pH	Vol. Am./(μL)
1	112,5	7,13	1000
2	200,0	6,86	1000
3	156,3	9,24	1000
4	156,3	7,64	2000
5	25,0	6,95	1000
6	68,8	4,30	1000
7	68,8	6,12	500
8	156,3	4,46	1000
9	156,3	6,13	500
10	68,8	9,08	1000
11	112,5	8,52	500
12	68,8	7,65	2000
13	112,5	5,13	2000

4.2. Otimização multivariada pela Matriz de Doehlert

4.2.1. Otimização utilizando o desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas como resposta

Utilizando o desvio padrão dos resíduos como resposta do modelo de regressão múltipla, foram obtidos os coeficientes do modelo de regressão observados na Figura 37, dos quais apenas os termos linear e quadrático do pH apresentaram coeficientes que não diferem estatisticamente de zero. O coeficiente de determinação foi igual a 0,9837 e o desvio padrão dos resíduos igual a 0,0074 mmol L⁻¹.

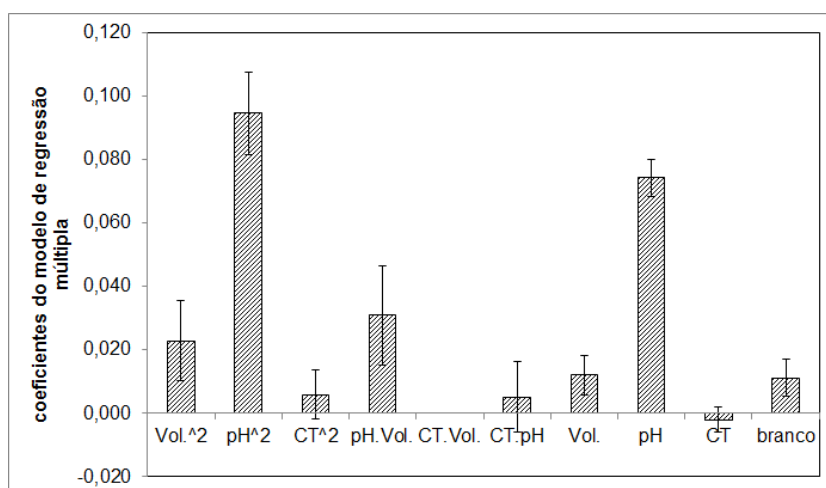


Figura 37. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando todos os termos da Equação 39 para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido tartárico.

Através da aplicação do procedimento stepwise, o modelo foi refinado, confirmando a aplicabilidade da Equação 54.

$$\hat{y} = (0,017 \pm 0,008) + (0,066 \pm 0,013) \text{pH} + (0,082 \pm 0,030) \text{pH}^2 \quad (54)$$

A Figura 38 apresenta os coeficientes do modelo otimizado pelo procedimento stepwise e uma superfície de resposta mostra a relação prevista pelo modelo para o pH e concentração do tampão (

Figura 39).

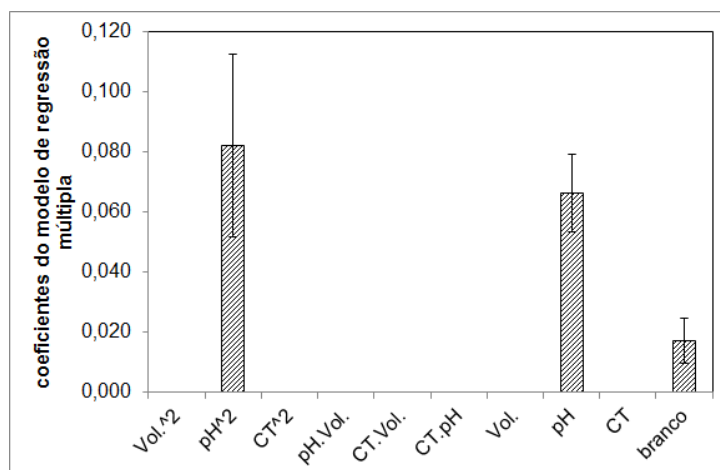


Figura 38. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando o conceito de stepwise regression para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre estimativa do desvio padrão dos resíduos das curvas analíticas do ácido tartárico.

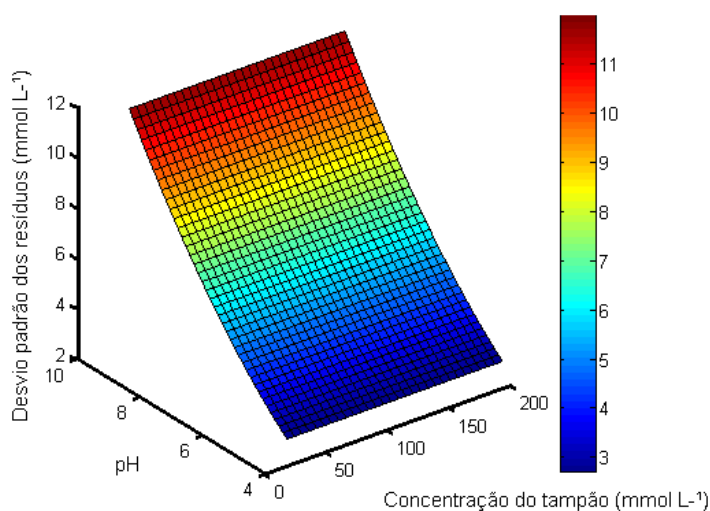


Figura 39. Superfície de resposta da influência do pH do tampão inicial e da concentração do tampão sobre o desvio padrão dos resíduos.

É possível constatar que em valores de pH elevados são encontrados altos desvios, isso pode estar associado ao fato das regiões de valores mais altos de pH estarem fora da faixa tamponante no citrato, desta forma os desvios observados nas respostas (ΔpH) foram maiores. Esta observação conduziu a uma região de trabalho na faixa de pH entre 4,3 – 7,0, onde os desvios eram menores ou aceitáveis, como pode ser observado na Figura 40.

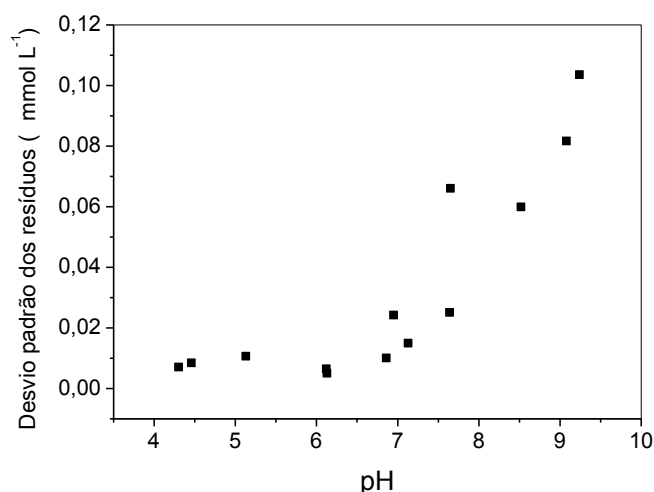


Figura 40. Comportamento do desvio padrão dos resíduos em relação ao pH do tampão inicial do tampão citrato.

4.2.2. Otimização utilizando a sensibilidade mínima das curvas analíticas como resposta

Quando a sensibilidade mínima foi utilizada como resposta para a obtenção dos modelos foram obtidos os coeficientes de regressão observados na

Figura 41. Neste modelo apenas o pH foi significativo, o coeficiente de determinação obtido foi de 0,9503 e a estimativa do desvio padrão dos resíduos de 0,0038 mmol L⁻¹.

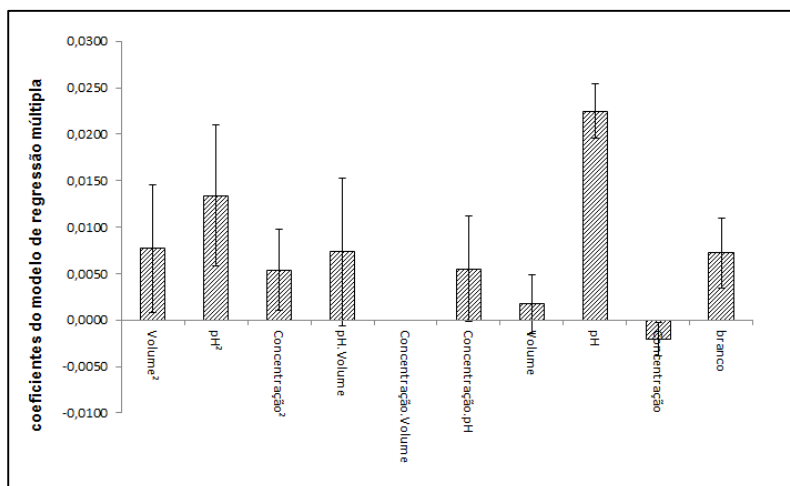


Figura 41. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando o conceito de stepwise regression para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido tartárico.

Aplicando-se o procedimento stepwise regression, após a eliminação gradual das variáveis não significativas, confirmou-se a importância apenas do termo linear envolvendo o pH (Figura 42). O modelo (Equação 55) apresentou coeficiente de determinação igual a 0,9703 e a estimativa de desvio padrão dos resíduos de 0,0033 mmol L⁻¹.

$$\hat{y} = 0,013 \pm 0,001 + (0,0208 \pm 0,002) \cdot \text{pH}$$

(55)

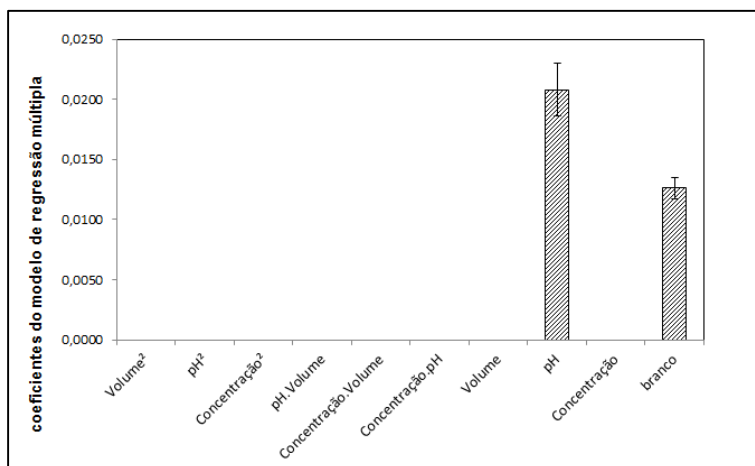


Figura 42. Coeficientes do modelo de regressão múltipla utilizando o conceito de stepwise regression para avaliação da influência do pH, concentração do tampão e volume de amostra sobre a sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido tartárico.

É possível constatar pela Figura 42 que o pH é a única variável que tem influência sobre a sensibilidade mínima, de maneira que o seu aumento leva ao aumento da sensibilidade. A Figura 43 evidencia a similaridade entre o comportamento do desvio padrão dos resíduos e da sensibilidade mínima das curvas analíticas. A elevação do pH leva ao aumento da sensibilidade mínima (Figura 43) e dos desvios padrão das curvas analíticas (Figura 40).

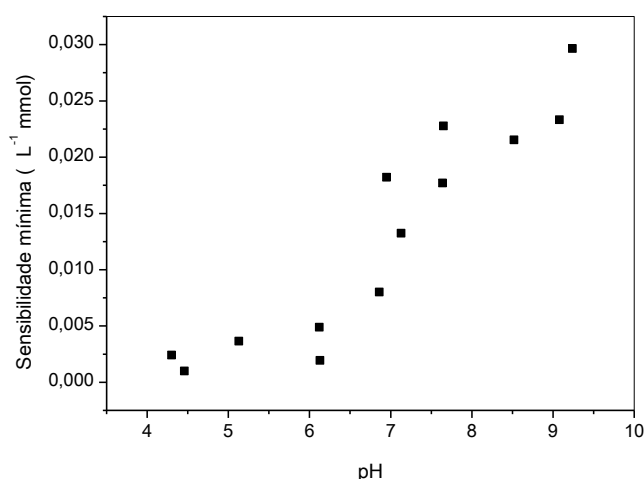


Figura 43. Comportamento da sensibilidade mínima das curvas analíticas do ácido tartárico em relação ao pH inicial do tampão citrato.

Na Figura 44 o gráfico do comportamento da sensibilidade mínima e do desvio padrão dos resíduos é observado em função do ensaio (cuja condição experimental é descrita na Tabela 9). Nota-se que em regiões de maior pH (7,6 e 9,3, ensaios 3, 4 e 10) encontram-se as maiores sensibilidades, porém, os mais altos resíduos. As regiões com pH entre 4,3 e 6,13 (ensaios 6,7 e 8) apresentam os menores resíduos, contudo a sensibilidade mínima nesta região apresenta valores baixos.

Desta forma a escolha da condição de estudo esteve em uma região onde menores desvios pudessem ser observados e a sensibilidade mínima alcançasse valores consideravelmente altos. Esta condição pôde ser encontrada no ensaio 5, ou seja, em pH 6,8 e concentração de tampão de 25 mmol L^{-1} , onde a sensibilidade mínima era de $0,0182 \text{ mmol L}^{-1}$ e o desvio padrão dos resíduos de $0,0242 \text{ mmol L}^{-1}$.

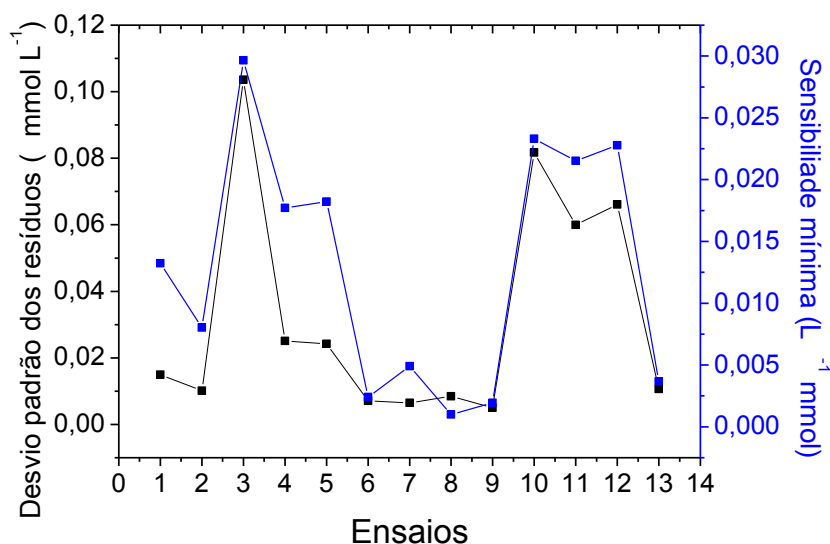


Figura 44. Gráfico da sensibilidade mínima e do desvio padrão dos resíduos das curvas do ácido tartárico para os treze ensaios realizados no planejamento experimental pela Matriz de Doehlert.

4.3. Validação

Através da otimização, a condição ótima de trabalho foi encontrada para o ensaio onde houve a adição de 1 mL de amostra sobre 10 mL de tampão citrato de concentração 25 mmol L^{-1} e pH inicial 6,8. A Equação 56 representa a curva analítica obtida.

$$\Delta\text{pH} = (-0,0001 \pm 8\text{e}^{-6})c^2 + (0,0240 \pm 0,0006)c + (0,0890 \pm 0,0106) \quad (56)$$

Em que “ ΔpH ” é a resposta do método e “ c ” é a concentração, em mmol L^{-1} . Na Figura 45 a curva analítica para esta condição pode ser observada.

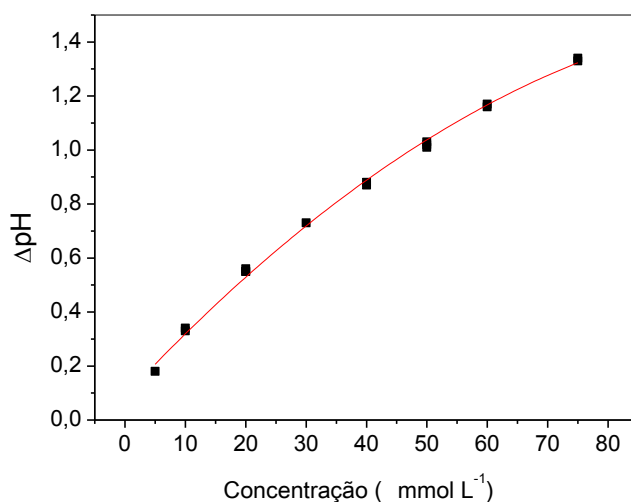


Figura 45. Curva analítica do ácido tartárico obtida pela adição de 1 mL do padrão tartarato sobre 10 mL de tampão citrato de concentração 25 mmol L^{-1} e pH inicial 6,8.

A faixa analítica do método esteve entre 5 e 75 mmol L^{-1} , o LOD e LOQ foram de $1,44$ e $4,35 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente, e a sensibilidade mínima de $0,016 \text{ mmol L}^{-1}$.

A exatidão, expressa em porcentagem de erro, apresentou variações entre $0,55$ e $9,25\%$. A precisão, expressa pelo coeficiente de variação (%CV) esteve entre $0,80$ e $2,94\%$. O método apresentou coeficiente de determinação ajustado de $0,997$ e desvio padrão dos resíduos de $0,02 \text{ mmol L}^{-1}$.

Tabela 10. Comparação dos resultados da quantificação de ácido tartárico por titulação potenciométrica e pelo M2P com adição de 1 mL de amostra concentrada sobre 10 mL de tampão citrato 25 mmol L⁻¹ pH 6,8.

Amostras	Ácido Tartárico (%m/m)		Exatidão (%Erro)	Precisão (CV%)	pH inicial vinhos
	Titulação	M2P			
	Potenciométrica				
1 ^(T)	0,405 ± 0,002	0,432 ± 0,017	+ 6,70	2,94	3,63
2 ^(T)	0,690 ± 0,012	0,696 ± 0,008	+ 0,80	0,80	3,47
3 ^(T)	0,384 ± 0,008	0,402 ± 0,013	+ 3,09	2,31	3,62
4 ^(T)	0,300 ± 0,0004	0,469 ± 0,008	+ 59,69*	1,20	3,21
5 ^(T)	0,384 ± 0,014	0,397 ± 0,004	+ 3,62	0,82	3,73
6 ^(T)	0,368 ± 0,008	0,402 ± 0,041	+ 9,25	2,46	3,53
7 ^(B)	0,587 ± 0,010	0,552 ± 0,009	- 5,98	1,17	3,41
8 ^(B)	0,528 ± 0,003	0,525 ± 0,009	- 0,55	1,21	3,37
9 ^(B)	0,511 ± 0,008	0,502 ± 0,005	- 1,75	0,97	3,35

*outlier; (B) – vinho branco; (T) – vinho tinto.

Os erros apresentados pelo método (entre 0,55 e 9,25%) podem estar relacionados a forte influência da matriz sobre a resposta, já que os vinhos podem ser constituídos não apenas pelo ácido tartárico, mas pela mistura de vários ácidos orgânicos, como: o málico, cítrico, gálico, succínico, láctico, etc., contudo, apesar de erros relativamente altos como os encontrados nesta avaliação, o método poderia ser utilizado para determinação da acidez de amostras de vinhos.

As curvas de titulação das amostras 1 e 7 e 1 e 8 podem ser observadas nas Figura 46 e Figura 47. Dois perfis distintos de curvas são obtidos, indicando que outros sistemas ácido-base de Bronsted podem estar participando do equilíbrio, como por exemplo o ácido cítrico ou o fosfórico. É interessante ressaltar que as amostras 1 e 8 são correspondentes a vinhos tinto e branco da mesma marca e ambos possuem o mesmo perfil de curva de titulação, com pontos de equivalências próximos um do outro.

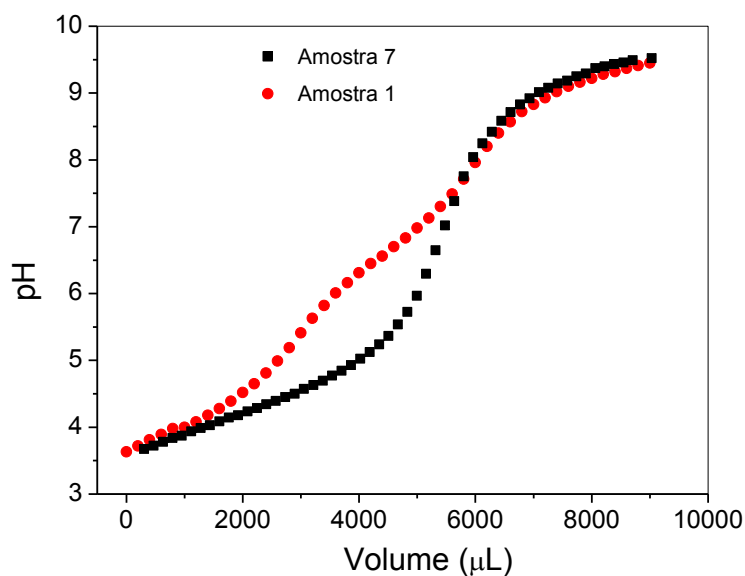


Figura 46. Curvas de titulação das amostras de vinho 1 e 7 utilizando solução de NaOH $0,0183 \text{ mol L}^{-1}$.

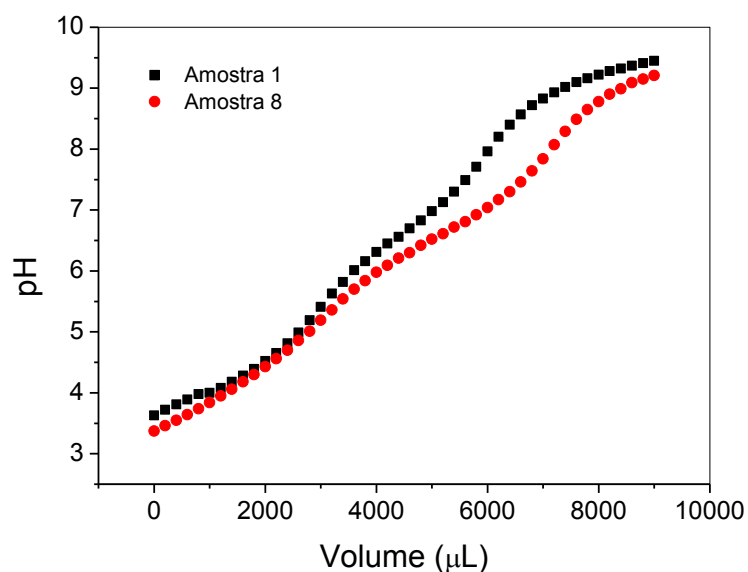


Figura 47. Curvas de titulação das amostras de vinho 1 e 8 utilizando solução de NaOH $0,0183 \text{ mol L}^{-1}$.

As curvas de titulação das amostras 3 e 4 podem ser observadas na Figura 48. A amostra 4 corresponde a uma classificação de bebida chamada sangria, que segundo o MAPA (2009) deve conter no mínimo 50% de vinho de mesa e no mínimo 10% de suco natural de uma ou mais frutas cítricas. Portanto, a baixa precisão do M2P para esta

amostra (que foi denominada de outlier) pode estar relacionada a presença de vários sistemas ácido-base participantes, principalmente em razão da gama de compostos que podem estar presentes nesta bebida.

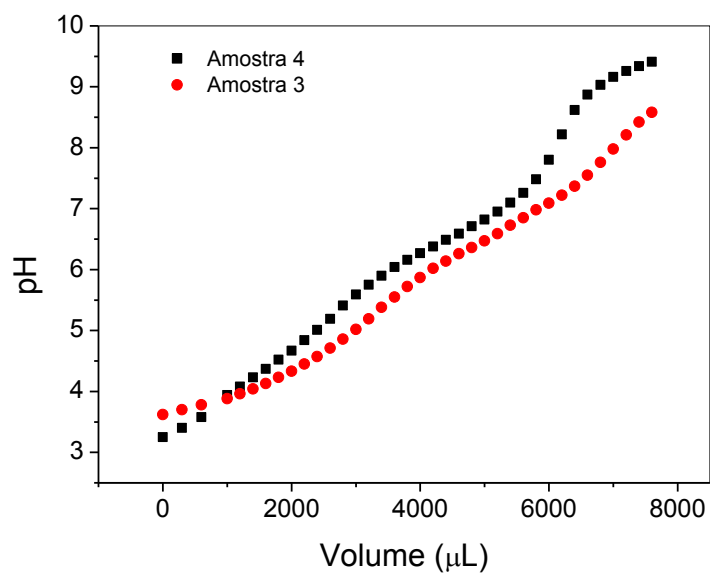


Figura 48. Curvas de titulação das amostras de vinho 3 e 4 utilizando solução de NaOH 0,0183 mol L⁻¹.

5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

Um novo método para determinação da acidez de amostras de vinhos através da realização de um planejamento multivariado pela Matriz de Doehlert foi proposto nesta etapa.

As variáveis pH inicial do tampão, concentração do tampão e volume da amostra foram estudados em sete, cinco e três níveis, respectivamente, para determinação da condição ótima de trabalho.

A melhor condição experimental foi obtida utilizando-se um tampão citrato de 25 mmol L⁻¹ com pH inicial de 6,8, pela adição de 1 mL de amostra. A exatidão do método apresentado foi obtida pela comparação dos resultados com o método titulométrico e exibiu erros entre 0,55 e 9,25%. A precisão, expressa pelo coeficiente de variação esteve entre 0,80 e 2,94%, com faixa analítica entre 5 e 75 mmol L⁻¹ e coeficiente de determinação ajustado de 0,997. O LOD e LOQ foram de 1,44 e 4,35 mmol L⁻¹, respectivamente, e a sensibilidade mínima foi de 0,016 mmol L⁻¹.

Os altos valores de erro encontrados na determinação da acidez em amostras de vinhos podem estar relacionados com a complexidade da matriz, que além de ser constituída pela ácido tartárico pode também apresentar outros ácidos orgânicos em sua composição.

A determinação da acidez em vinhos revelou concentrações de ácido tartárico entre 0,402 e 0,696%, ou seja, cerca de 52,92 a 92,77 meq L⁻¹, estas concentrações encontram-se dentro da faixa aceitável que é até 130,0 meq L⁻¹.

CAPÍTULO V

DETERMINAÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO (CO₂) EM CÂMARAS DE CARBONATAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A carbonatação é um fenômeno físico-químico que ocorre em razão da reação entre o dióxido de carbono (CO₂) presente no ar e os compostos básicos presentes no concreto, como o hidróxido de cálcio (Ca(OH)₂), formando carbonatos insolúveis e água (LO et al., 2016).

A durabilidade das estruturas de concreto é uma das maiores preocupações dos proprietários de edifícios, uma vez que está relacionada com a segurança e economia da edificação construída. Em condições normais, o reforço de aço incorporado dentro do concreto comum é protegido contra a corrosão pela elevada alcalinidade do concreto. Contudo a carbonatação interfere diretamente na resistência, uma vez que durante esse processo o pH do concreto que é relativamente alto (cerca de 12) cai para menos que 9, essa diminuição do pH expõe a estrutura de aço presente no interior do concreto a corrosão (LO et al., 2016; NEVES et al., 2015; DUPRAT; VU; SELLIER, 2014).

Uma forma de avaliar como o fenômeno da carbonatação afeta o concreto é o uso de câmaras de carbonatação, esse processo de aceleração da carbonatação é realizado adicionando concentrações de CO₂ superiores à encontrada na atmosfera em ambientes controlados. Portanto, a determinação da concentração de CO₂ presente nas câmaras é de suma importância para estudo e avaliação o processo.

A determinação da concentração de CO₂ pode ser realizada de diversas formas, através de cromatografia gasosa ou infravermelho. Contudo a presença destes equipamentos em laboratórios de rotina é limitada, tornando o desenvolvimento de métodos para determinação da concentração de CO₂ um objeto de estudo de grande interesse na academia.

O M2P desenvolvido ao longo deste trabalho pode ser uma alternativa útil para este fim, uma vez que depende apenas da variação de pH de um tampão para fornecer a concentração de uma espécie. Portanto, a aplicabilidade do método desenvolvido foi novamente avaliada mediante a investigação da concentração de CO₂ em câmaras de carbonatação.

A versatilidade do M2P também foi investigada nesta etapa pela aplicabilidade do método para determinação do analito em amostras gasosas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Determinar a concentração de dióxido de carbono em câmaras de carbonatação pela aplicação de um método potenciométrico não titulométrico.

2.2. Objetivos específicos

- Aplicar o M2P para monitoramento da concentração de CO₂ em câmara de carbonatação.
- Monitorar o tempo de duração de cada ciclo para avaliação da estabilização do sistema.
- Avaliar o consumo de CO₂ ao longo dos dias na câmara estudada.
- Avaliar a homogeneização da câmara através do acompanhamento da concentração de CO₂ ao longo de dois pontos de coleta: superior e inferior.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Câmaras de carbonatação

A câmara de carbonatação utilizada para o presente trabalho foi construída por uma discente do programa de pós-graduação em Engenharia Civil da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa – MG, o croqui bem como a câmara construída podem ser visualizados na Figura 49 (A) e (B).

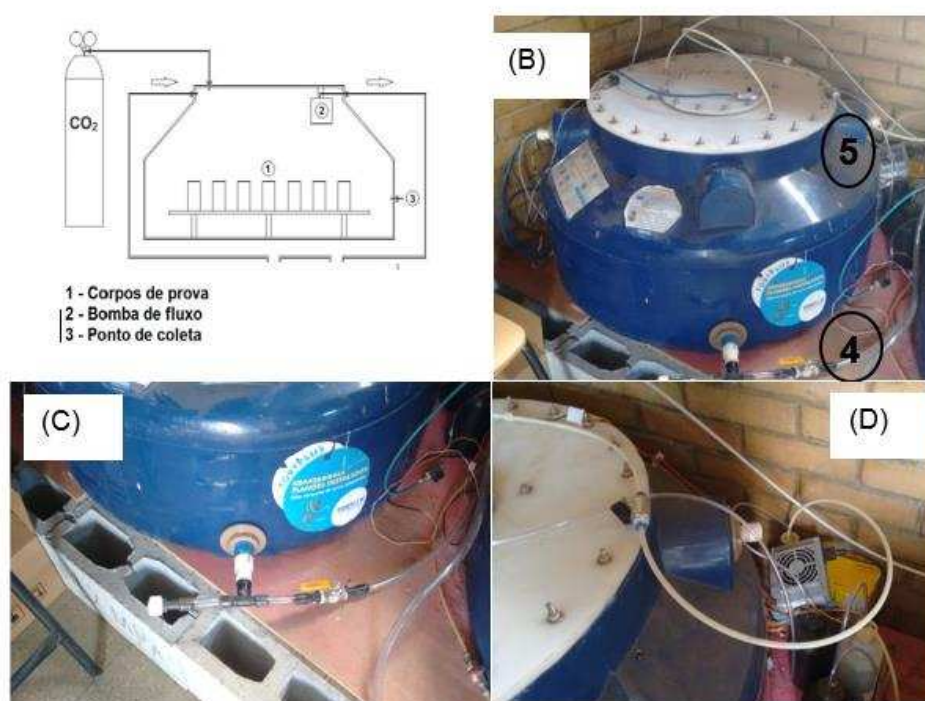


Figura 49. (A) Croqui da câmara de carbonatação para avaliação da influência de dióxido de carbono sobre a resistência do concreto; (B) câmara de carbonatação construída; (C) Detalhe expandido do item ④ na Figura 49 (B); (D) Detalhe expandido do item ⑤ da Figura 49 (B).

Os corpos de prova (blocos de concreto) foram inseridos no interior da câmara (Etapa 1) e o cilindro contendo o gás foi acionado. Através da bomba de fluxo (Etapa 2) o dióxido de carbono foi bombeado para o interior da câmara, e após alguns minutos o cilindro era desligado. Essa etapa foi realizada inúmeras vezes, e cada uma delas é chamada de ciclo. O tempo de duração de cada ciclo e a concentração de CO_2 dentro da câmara foram avaliados mediante a retirada de amostras através da mangueira de saída inferior (4) ou na mangueira de saída superior (5) na Figura 49 (B).

A câmara também continha em seu interior um culler responsável por acelerar a circulação do ar dentro da mesma. O controle da umidade e temperatura eram constantemente avaliados através de um termohigrômetro.

3.2. Curva analítica

A curva analítica foi obtida através da montagem do sistema da Figura 50. Na entrada para o frasco 1 uma bomba de aquário foi acoplada para bombear ar para o respectivo frasco (Etapa “A”) que continha uma solução de hidróxido de cálcio. O contato da solução com o dióxido de carbono presente no ar levou a formação de carbonato de cálcio, dessa forma o ar isento de CO_2 foi conduzido para o frasco 2 (Etapa “B”).

O frasco 2 continha massa de carbonato de sódio para formação estequiométrica de CO_2 de um ponto da curva analítica, sobre essa massa foi adicionado através da válvula de entrada certo volume de ácido sulfúrico, para formação do CO_2 . O ar isento de CO_2 obtido pelo frasco 1 exerceu a função de conduzir o CO_2 obtido no frasco 2 para a saída, a fim de que fosse recebido na solução tampão (Etapa “C”). Mediante o borbulhamento do dióxido de carbono obtido no frasco 2 o pH inicial da solução tampão foi alterado para um novo valor. A variação do pH foi utilizada para construção da curva analítica.

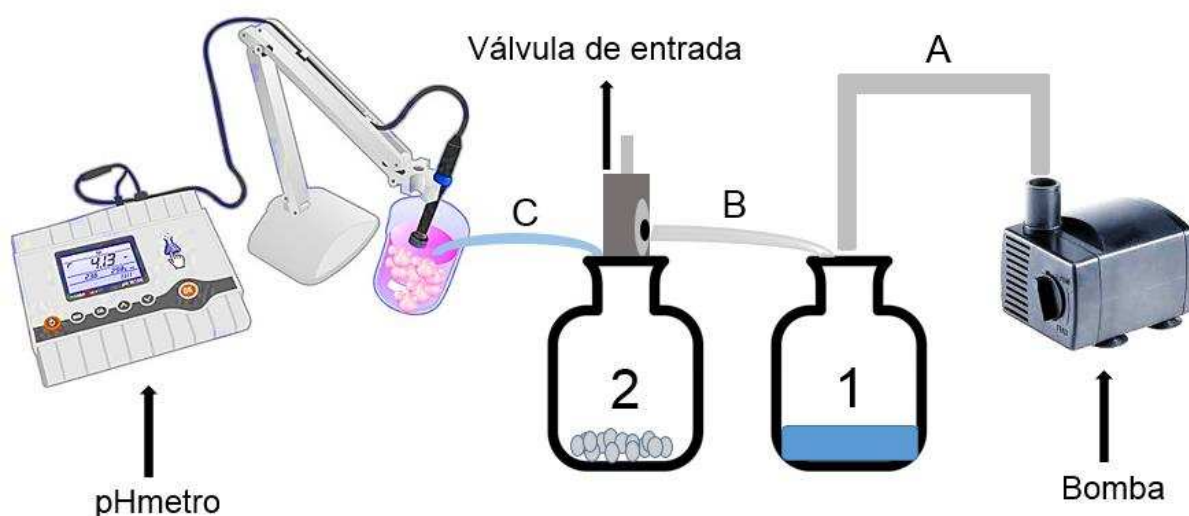


Figura 50. Esquema para obtenção da curva analítica do dióxido de carbono através do bombeamento de ar por uma bomba de aquário até o recolhimento do CO_2 na solução tampão.

3.3. Retirada e injeção das amostras

Após a realização dos ciclos na câmara de carbonatação foram realizadas retiradas das amostras contendo CO_2 através de uma seringa de 60 mL. A seringa era posicionada na saída (4) da Figura 49 (B) e então extraído o gás presente nas câmaras. Cada ciclo durou entre 4 a 12 minutos com vazão de dióxido de carbono de 15 L min^{-1} , após a realização de cada ciclo o culler era acionada.

A injeção das amostras ocorreu com auxílio de uma sonda que foi acoplada a seringa, e posteriormente foi realizado borbulhamento de certo volume do gás na solução tampão. A variação de pH, ou seja, a diferença entre o pH antes e o pH depois do borbulhamento foi utilizada como resposta.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Avaliação da curva analítica

A avaliação do tampão utilizado foi realizada mediante o estudo do tampão citrato e borato 25 mmol L⁻¹ em pH 6,8 e 10,0, respectivamente. As curvas analíticas obtidas para ambos os estudos apresentam ajuste quadrático e podem ser observadas na Figura 51 e Figura 52.

No estudo do tampão citrato o coeficiente de determinação apresentado foi de 0,9454, a sensibilidade mínima de 0,024 mmol e estimativa do desvio padrão dos resíduos de 0,0853 mmol. Durante a avaliação deste tampão, os pontos de maior concentração na curva apresentaram as maiores dispersões entre os resultados obtidos, como pode ser visto pelas barras de erro.

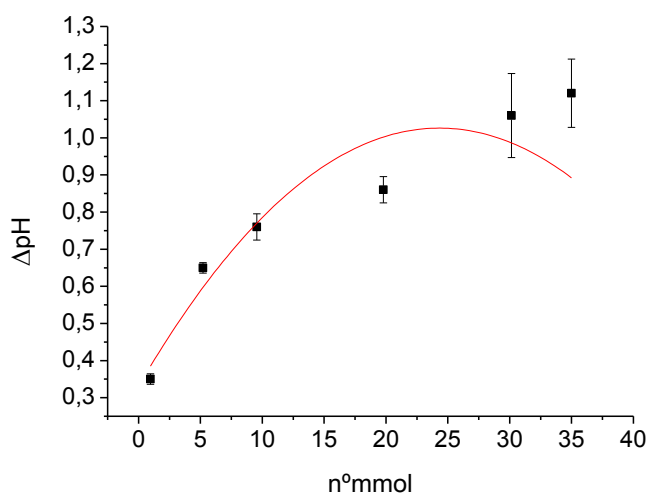


Figura 51. Curva analítica para o dióxido de carbono em tampão citrato pH 6,8 concentração 25 mmol L⁻¹.

A curva analítica obtida para o tampão borato apresentou coeficiente de determinação de 0,9948, sensibilidade mínima de 1,053 mmol e estimativa do desvio padrão dos resíduos de 0,0079. A avaliação da sensibilidade mínima para ambas as curvas e desvio padrão dos resíduos foram utilizadas para escolha da condição de trabalho.

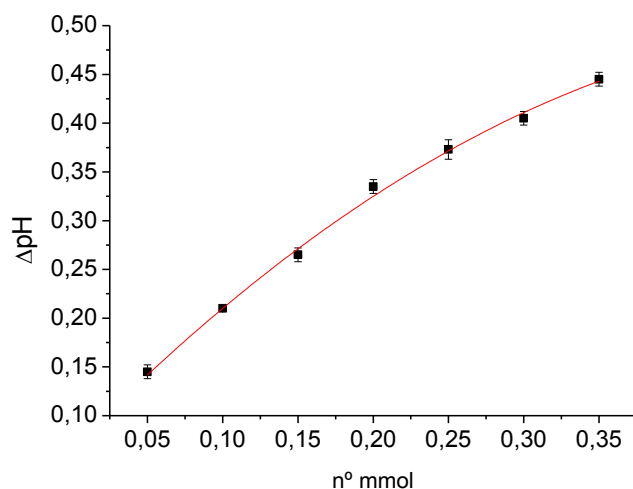


Figura 52. Curva analítica para o dióxido de carbono em tampão borato pH 10,0 concentração 25 mmol L⁻¹.

A estimativa do desvio padrão dos resíduos para o tampão citrato é cerca de dez vezes maior que a observada no tampão borato, enquanto a sensibilidade mínima do tampão borato é superior a do tampão citrato. Além disso o coeficiente de determinação que indica quanto o modelo explica os valores observados na reta de regressão, é superior para o borato, 0,9948. A observância destes parâmetros permitiu a escolha do tampão borato 25 mmol L⁻¹ em pH 10,0 como região de estudo para determinação das concentrações de CO₂.

4.2. Monitoramento da concentração de CO₂ nas câmaras de carbonatação

Os resultados encontrados para as concentrações de CO₂ nas câmaras podem ser visualizados na Tabela 11. Na

Figura 53 é possível observar o gráfico da concentração de CO₂ ao longo dos 6 dias de estudo.

Foram realizados ciclos de forma diferenciada em cada um dos seis dias de estudo, com o objetivo de avaliar em qual haveria maior concentração de CO₂ no interior da câmara. Dois ciclos de oito minutos foram realizados no “Dia 1” e no “Dia 5”, um único ciclo de dezesseis minutos foi realizado no “Dia 2”, “Dia 4” e “Dia 6” e quatro ciclos de

quatro minutos foram realizados no “Dia 3”, totalizando dezesseis minutos para todos os ciclos.

Tabela 11. Concentração de dióxido de carbono nas câmaras de carbonatação antes e após o 1º, 2º, 3º e 4º ciclos, determinação realizada pelo M2P.

Dia	Antes do ciclo		1º Ciclo		2º Ciclo		3º Ciclo		4º Ciclo	
	[CO ₂] (mg.L ⁻¹)		[CO ₂] (mg.L ⁻¹)		[CO ₂] (mg.L ⁻¹)		[CO ₂] (mg.L ⁻¹)		[CO ₂] (mg.L ⁻¹)	
1	ND ^a	ND ^b	346,78 ^a	286,49 ^b	372,89 ^a	402,68 ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b
2	294,16 ^a	247,12 ^b	363,99 ^a	203,72 ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b
3	104,09 ^a	42,45 ^b	100,58 ^a	58,77 ^b	179,44 ^a	95,94 ^b	289,01 ^a	119,76 ^b	221,94 ^a	161,93 ^b
4	205,42 ^a	165,13 ^b	274,67 ^a	182,00 ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b
5	195,68 ^a	89,70 ^b	227,31 ^a	178,19 ^b	227,31 ^a	189,05 ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b
6	128,91 ^a	148,70 ^b	157,19 ^a	160,62 ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b	NR ^a	NR ^b

* NR: não realizado; ND: não detectado; ^a: fase superior; ^b: fase inferior

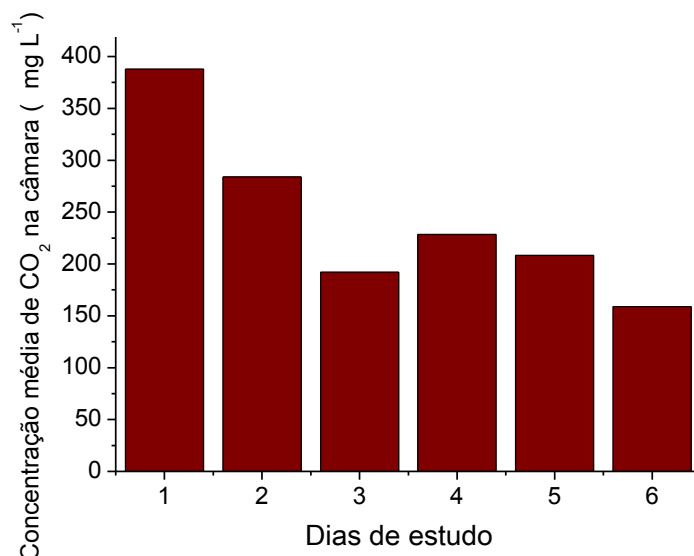


Figura 53. Avaliação da concentração de CO₂ durante os ciclos de bombeamento para câmara.

A concentração máxima obtida de dióxido de carbono dentro da câmara foi a referente ao conjunto de ciclos realizados no “Dia 1”, com concentração média de 387,79 mg L⁻¹ de CO₂. Também é possível observar que a menor concentração encontrada para o dióxido de carbono foi a referente ao “Dia 3” de aplicação dos ciclos, onde a concentração foi de aproximadamente 158,91 mg L⁻¹.

O gráfico da Figura 54 mostra a distribuição de dióxido de carbono ao longo dos dias na câmara de carbonatação. Após o primeiro bombeamento a concentração do respectivo gás alcança 372,89 mg L⁻¹ na fase superior, e 402,68 mg L⁻¹ na fase inferior do sistema. Ao longo dos ciclos as concentrações nas fases são afetadas pelo consumo de CO₂ devido a carbonatação dos corpos de prova.

A fase superior apresenta na maioria das medições realizadas maiores concentrações de dióxido de carbono do que a fase inferior. Uma possível explicação para esse fenômeno é que o ponto de coleta na fase superior fica próximo à entrada de gás na câmara.

Apesar do culler ser ligado para dissipação do gás em toda a câmara, é possível que um tempo maior tenha que ser esperado para que a homogeneização do gás seja realizada em todo o interior.

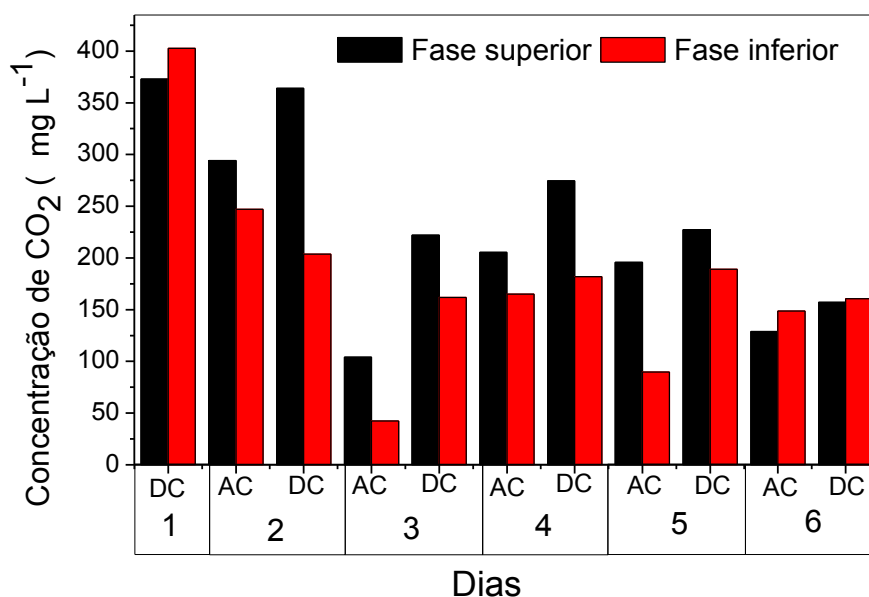


Figura 54. Gráfico da distribuição de dióxido de carbono ao longo dos dias na fase superior e inferior da câmara de carbonatação. AC: antes do ciclo; DC: depois do ciclo.

A Figura 55 retrata a taxa de consumo de CO₂ ao longo dos dias de estudo. Percebe-se que o segundo dia é o maior responsável pelo consumo na fase superior, com cerca de 270 mg L⁻¹ de dióxido de carbono. Na fase inferior o primeiro e segundo dia apresentam taxas de consumo de cerca de 160 mg L⁻¹.

Como a concentração inicialmente bombeada para o interior da câmara foi alta, é possível que consumo do respectivo gás tenha ocorrido para a carbonatação dos corpos de prova. A medida que a carbonatação d e alcança o estado de equilíbrio há redução na taxa de consumo de dióxido de carbono.

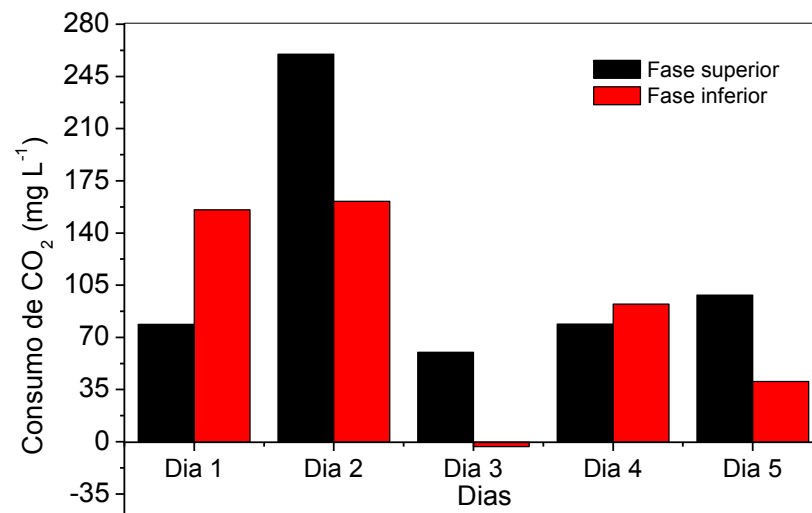


Figura 55. Gráfico da taxa de consumo de dióxido de carbono na fase superior e inferior da câmara ao longo dos dias de estudo.

5. CONCLUSÕES DO CAPÍTULO

A aplicação de um método potenciométrico para monitoramento da concentração de dióxido de carbono em câmaras de carbonatação foi avaliada.

As concentrações encontradas para o respectivo gás estiveram entre 100,58 e 372,89 mg L⁻¹ na saída superior e 42,45 e 402,68 mg L⁻¹ na saída inferior da câmara.

A taxa de consumo de dióxido de carbono na câmara alcançou os maiores níveis no segundo dia de acompanhamento, e o menor consumo no terceiro dia de estudo.

A homogeneidade do gás carbônico na câmara também pôde ser avaliada através do monitoramento das concentrações de CO₂ nas fases superior e inferior. Na maioria das avaliações realizadas a maior concentração de dióxido de carbono foi encontrada na fase superior, isso pode ter ocorrido em razão da proximidade entre a válvula de bombeamento do gás para a câmara e o orifício de retirada das amostras na fase superior.

O método apresentou LOD e LOQ de 0,0184 e 0,0557 mmol L⁻¹, respectivamente. A estimativa do desvio padrão dos resíduos foi de 0,0079 mmol L⁻¹ com coeficiente de determinação ajustado de 0,9921. A sensibilidade mínima encontrada foi de 1,053 mmol L⁻¹.

O método foi capaz de fornecer a concentração de CO₂ e monitorar outros parâmetros de interesse para o estudo de forma rápida, barata e eficiente, fazendo do método aplicado uma ótima alternativa para aumento da frequência analítica de laboratórios de rotina.

CONCLUSÕES GERAIS

O desenvolvimento e a aplicação de um método potenciométrico não titulométrico para determinação da acidez em amostras de néctares de laranjas e vinhos foi proposto.

A otimização do método foi realizada por planejamento experimental pela Matriz de Doehlert onde os parâmetros pH inicial do tampão, concentração do tampão e volume de amostra foram estudados em sete, cinco e três níveis.

Para ambas as matrizes a melhor condição experimental foi em pH inicial do tampão 6,8 e a concentração do tampão em 25 mmol L⁻¹ pela adição de 1,0 mL de amostra.

Para a matriz néctar de laranja o método apresentou erros entre 0,35 e 15,14%, a precisão avaliada pelo coeficiente de variação esteve entre 0,57 e 5,00%, o LOD e LOQ foram de 1,20 e 3,7 mmol L⁻¹, respectivamente. A faixa analítica foi de 5 a 50 mmol L⁻¹ com coeficiente de determinação ajustado de 0,995. A determinação da acidez pelo M2P exibiu concentrações de ácido cítrico entre 0,183 e 1,180%, a legislação para sucos de laranja não determina concentrações máximas ou mínimas para a acidez, contudo este parâmetro é usado para determinação do ratio, portanto sua obtenção é de suma importância.

A aplicação de um sensor para pH feito a partir de PbO₂ com o objetivo de aumentar a sensibilidade do método proposto para determinação da acidez em néctares de laranja também foi avaliada. O eletrodo construído com 80% (m/m) de PbO₂ apresentou inclinação nerstiana de -100,83 mV dec⁻¹, e as respostas obtidas quanto a determinação da acidez utilizando-se o eletrodo proposto conduziram a erros entre 4,24 e 16,82%.

Para a matriz vinhos o método exibiu erros entre 0,55 e 9,25%, a precisão expressa pelo coeficiente de variação esteve entre 0,80 e 2,94%. A faixa analítica foi de 5 a 75 mmol L⁻¹ com coeficiente de determinação ajustado de 0,997. O LOD e LOQ foram de 1,44 e 4,35 mmol L⁻¹, respectivamente, com sensibilidade mínima de 0,016 mmol L⁻¹.

A determinação da acidez nos vinhos revelou concentrações entre 52,92 a 92,77 meq L⁻¹, estando dentro da legislação vigente para vinhos.

A versatilidade do método proposto também foi avaliada ao aplicá-lo para determinação da concentração de dióxido de carbono em câmaras de carbonatação. A determinação foi realizada de forma simples e rápida através do tampão borato, e as concentrações encontradas estiveram entre 42,45 e 402,68 mg L⁻¹.

O método apresentado mostrou-se rápido, simples e barato, seus resultados apresentam-se análogos aos encontrados pela titulação potenciométrica, justificando

portanto o uso do mesmo em laboratórios de análise de rotina para determinação da acidez, ou ainda na determinação da concentração de dióxido de carbono, aumentando a frequência analítica das análises.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOLGHASEMI, M. M.; SOBHI, M.; PIRYAEI, M. Preparation of a novel green optical pH sensor based on immobilization of red grape extract on bioorganic agarose membrane. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 224, p. 391–395. 2016.
- ALMEIDA, C.A. Estudo da liberação controlada de citrato no solo. 2015. Dissertação (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ALMEIDA, M. M. C. DE. **Suco concentrado de laranja e seus subprodutos**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.
- ANTUNES, A. DOS S. **Volumetria Ácido-Base**. Disponível em: <[https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/3682/1/Relatório de Estágio - Anabela Antunes.pdf](https://ubibliorum.ubi.pt/bitstream/10400.6/3682/1/Relatório%20de%20Estágio%20-%20Anabela%20Antunes.pdf)>. Acesso em: 9 jan. 2016.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 27 de 17 de maio de 2012**, v. 2014, n. 30/01/2014, 2012.
- ARAÚJO, P. A new high performance liquid chromatography multifactor methodology for systematic and simultaneous optimisation of the gradient solvent system and the instrumental/experimental variables. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 19, n. 9, p. 524–529, 2000.
- ARICETTI, J. A. **Métodos titulométricos alternativos para a avaliação da qualidade do biodiesel**. Universidade de Campinas, 2010.
- BARBOSA, E. M. DE O. **Desenvolvimento de um eletrodo quimicamente modificado em materiais de sílica para a detecção de ácido fólico**. [s.l.] Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2012.
- BATES, R. G. **Determination of pH: theory and practice**. J. Wiley & ed. New York: New York: London: Sydney: John Wiley & Sons, Inc., 1964.
- BORGES, T.A. Degradação do fungicida tiofanato metílico pelo processo fotofenton em reatores anular e solar. 2011. 134f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal.
- BUCK, R. P.; LINDNER, E. Recommendations for nomenclature of ionselective electrodes (IUPAC Recommendations 1994). **Pure and Applied Chemistry**, v. 66, n. 12, p. 2527–2536, 1994.
- CARVALHO, J. M. V. **Desenvolvimento de um método para a determinação de ácidos orgânicos em sucos de frutas utilizando eletroforese capilar de zona (ECZ)**. Universidade Federal de Sergipe, 2010.
- CASSIANO, N. M.; RAMOS, L. A.; CAPELATO, M. D. Dióxido de chumbo eletrodepositado sobre grafite como sensor potenciométrico à ions chumbo e sulfato. **Eclética Química**, v. 26, p. 111–123, 2001.
- CHARLTON, A. J. et al. Multivariate discrimination of wines with respect to their grape

varieties and vintages. **European Food Research and Technology**, v. 231, n. 5, p. 733–743, 2010.

CHEN, L. D.; ZOU, X. U.; BU, P. Cyanide-Selective Electrode Based on Zn(II) Tetraphenylporphyrin as Ionophore. **Analytical chemistry**, v. 84, p. 9192–9198, 2012.

CHENG, K. L. **pH glass electrode and its mechanism.**

CHENG, K. L.; ZHU, D.-M. On Calibration of pH Meters. **Sensors**, v. 5, p. 209–219, 2005.

COSTA, W. F. DA. **Estudos sobre linearização de curvas de titulações potenciométricas.** Universidade Estadual de Campinas, 1989.

COSTA, F. D. S. et al. Métodos para avaliação das emissões de gases do efeito estufa no sistema solo-atmosfera. **Ciência Rural**, v. 36, n. 01038478, p. 693–700, 2006.

CUARTERO, M. et al. A SO₂-selective electrode based on a Zn-porphyrin for wine analysis. **Analytica Chimica Acta**, v. 787, p. 57–63, 2013.

CURRIE, L. A. Detection and qualification limits: origins and historical overview. **Analytica Chimica Acta**, v. 391, p. 127–134, 1999.

DUPRAT, F.; VU, N. T.; SELLIER, A. Accelerated carbonation tests for the probabilistic prediction of the durability of concrete structures. **Construction and Building Materials**, v. 66, p. 597–605, 2014.

EMBRAPA. **Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos.** Disponível em: <<http://www.cnpqv.embrapa.br/publica/documentos/doc048.pdf>>. Acesso em: 7 jan. 2016.

FATIBELLO, O. Introdução aos conceitos e cálculos da química analítica. 1.ed. São Carlos: EduFSCar, 2015. v.2. 137 p.

FERNANDES, J. C. B.; KUBOTA, L. T.; NETO, G. D. O. Eletrodos íon-seletivos: histórico, mecanismo de resposta, seletividade e revisão dos conceitos. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 120–130, 2001.

FERRAREZI, A. C.; DOS SANTOS, K. O.; MONTEIRO, M. Avaliação crítica da legislação brasileira de sucos de fruta, com ênfase no suco de fruta pronto para beber. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 667–677, 2010.

FERREIRA, S. L. C. et al. Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry - review. **Talanta**, v. 63, p. 1061–1067, 2004.

FURLANETTO, S. et al. Designing experiments to optimise and validate the adsorptive stripping voltammetric determination of nimesulide. **Analytica Chimica Acta**, v. 413, n. 1-2, p. 229–239, 2000.

GAIAO, E. D. N. et al. Digital image-based titrations. **Analytica Chimica Acta**, v. 570, n. 2, p. 283–290, 2006.

HU, Y.; MASSART, D. L. Uniform shell designs for optimization in reversed-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 485, n. 1 989, p. 311–323, 1989.

INMETRO. **Relatório de Vinho**. Disponível em: <<http://www.inmetro.gov.br/consumidor/produtos/vinho.pdf>>. Acesso em: 7 jan. 2016.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/Cgcre/DOQ/DOQ-Cgcre-8_04.pdf>. Acesso em: 5 fev. 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo.

IRINA, E. et al. Classification of red wines using suitable markers coupled with multivariate statistic analysis. **Food Chemistry**, v. 192, p. 1015–1024, 2016.

KAEHLER, H. C.; ZAHLOUT, A.; BRITO, F. Study of behavior of PbO₂ electrode in acid solutions of Pb (II). **Anales de Química - Internatiotinal Edition**, v. 66, n. 3, p. 221, 1970.

KULAKOWSKI, M. P. **Contribuição ao estudo da carbonatação em concretos e argamassas compostos com adição de sílica ativa**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

LIMA, A et al. Evaluation of a high sensitivity PbO₂ pH-sensor. **Talanta**, v. 66, n. 1, p. 225–228, 2005.

LO, T. Y. et al. Evaluation of carbonation resistance of paint coated concrete for buildings. **Construction and Building Materials**, v. 107, p. 299–306, mar. 2016.

MAPA. **Decreto nº 6.871, de 4 de junho de 2009**. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2007-2010/2009/Decreto/D6871.htm>. Acesso em: 8 jan. 2016.

NASCIMENTO, G. Estudo acerca do coeficiente de determinação nos modelos lineares e algumas generalizações. p. 25, 2009.

NAVARRO-PASCUAL-AHUIR, M. et al. Quality control of fruit juices by using organic acids determined by capillary zone electrophoresis with poly(vinyl alcohol)-coated bubble cell capillaries. **Food Chemistry**, v. 188, p. 596–603, 2015.

NECHAR, M.; MOLINA, M. F.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Application of Doehlert optimization and factorial designs in developing and validating a solid-phase spectrophotometric determination of trace levels of cadmium. **Analytica Chimica Acta**, v. 382, n. 1-2, p. 117–130, 1999.

NETO, B. DE B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Campinas.

NEVES, R. et al. Assessing concrete carbonation resistance through air permeability measurements. **Construction and Building Materials**, v. 82, p. 304–309, 2015.

OLIVEIRA, A. F. DE. **Equilíbrio químico em solução aquosa orientado à aplicação**. Átomo ed. Campinas: 2009.

OLIVEIRA, N. S. Desenvolvimento de um método potenciométrico para determinação de acidez em amostras de vinagre. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2014.

PAULETTI, C. **Análise comparativa de procedimentos para ensaios acelerados de carbonatação**. 2004. 178f. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

PINTO, J. M.; BOTREL, T. A.; MACHADO, E. C. Uso de dióxido de carbono na agricultura. **Ciência Rural**, v. 30, n. 0103-8478, p. 919–925, 2000.

RAMOS, L. A.; CASSIANO, N. M.; CAPELATO, M. D. Utilização de um eletrodo de grafite recoberto com PbO₂ incorporado em matriz de PVC como eletrodo indicador em titulações coulométricas. v. 29, n. 2, p. 65–71, 2004.

RAWLINGS, J. O.; PANTULA, S. G.; DICKEY, D. A. **Applied Regression Analysis: A Research Tool**.

REBOUCAS, M. V.; FERREIRA, S. L. C.; NETO, B. D. B. Arsenic determination in naphtha by electrothermal atomic absorption spectrometry after preconcentration using multiple injections. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v. 18, n. 10, p. 1267, 2003.

RIBEIRO, P. J. F. **Desenvolvimento de um sensor potenciométrico para ibuprofeno**. Universidade Estadual de Campinas, 2006.

RIZZON, L. A.; SGANZERLA, V. M. A. Ácidos tartárico e málico no mosto de uva em Bento Gonçalves-RS. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 911–914, 2007.

SATO, G. ÂNGELO, J. Exportações de vinhos e derivados e o processo de internacionalização das vinícolas brasileiras. **Informações econômicas**. v. 37. p.16-25. 2007.

SHENG, P.; GUO, X. The Long-run and Short-run Impacts of Urbanization on Carbon Dioxide Emissions. **Economic Modelling**, v. 53, p. 208–215, 2016.

SILVA, A. M.; MOITA, G. F.; ALMEIRA, P. E. M. Técnica De Regressão Linear Múltipla e Métodos. v. XXIX, p. 15–18, 2010.

SILVA, C. R.; SIMONI, J. D. A. **Avaliação da capacidade tamponante - um experimento participativo Química Nova**, 2000.

SILVA, P. T. et al. SUCOS DE LARANJA INDUSTRIALIZADOS E PREPARADOS SÓLIDOS PARA REFRESCOS : ESTABILIDADE QUÍMICA E FÍSICO-QUÍMICA. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 3, p. 597–602, 2005.

SKOOG et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8.ed. 2006. 1026p. v. 53

SLYKE, D. D. VAN. On the measurement of buffer of values and on the relationship of

buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 525–570, 1922.

STUMM, W.; MORGAN, J. J. **Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters**. 3.ed. ed. New York: John Wiley & Sons, 1995. v. 126

TEIXEIRA, M. F. S. et al. PbO₂-based graphite-epoxy electrode for potentiometric determination of acids and bases in aqueous and aqueous-ethanolic media. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 370, n. 4, p. 383–386, 2001.

TEÓFILO, R. F. **Métodos quimiométricos em estudos eletroquímicos de fenóis sobre filmes de diamante dopado com boro**. Universidade Estadual de Campinas, 2007.

TÔRRES, A. R. et al. A digital image-based method for determining of total acidity in red wines using acid-base titration without indicator. **Talanta**, v. 84, n. 3, p. 601–6, 15 maio 2011.

TROJANOWICZ, M.; ALEXANDER, P. W.; HIBBERT, D. B. Flow-injection analysis with potentiometric detection for the speciation of fluoride and calcium. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, n. 1-3, p. 23–33, 1998.

VAHL, K. et al. Determination of the titratable acidity and the pH of wine based on potentiometric flow injection analysis. **Talanta**, v. 111, p. 134–139, 15 jul. 2013.

VANDEGINSTE, B. G. M.; MASSART, D. L. **Handbook of chemometrics and qualimetrics**. [s.l.] Elsevier Science, 1998.

VIANNA, L. M. F. et al. Caracterização Analítica de Sucos e Néctares de Laranja Adoçados com Sacarose e Edulcorantes. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 12, n. 3, p. 363–367, 2012.

VILLIERS, A. DE et al. Analytica Chimica Acta Analytical techniques for wine analysis : An African perspective ; a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 730, p. 2–23, 2012.

YUQING, M.; JIANRONG, C.; KEMING, F. New technology for the detection of pH. **Journal of biochemical and biophysical methods**, v. 63, n. 1, p. 1–9, 29 abr. 2005.

ZERAVIK, J. et al. Various instrumental approaches for determination of organic acids in wines. **FOOD CHEMISTRY**, v. 194, p. 432–440, 2016.

ZULIANI, C.; MATZEU, G.; DIAMOND, D. A potentiometric disposable sensor strip for measuring pH in saliva. **Electrochimica Acta**, v. 132, p. 292–296, jun. 2014.