Avaliação de Extratos Vegetais como Indicadores Ácido-Base Empregando Titulação Espectrofotométrica em Fluxo Contínuo

Jonas A. Vieira, Lourival C. de Faria & Wesson Guimarães

Estudo de extratos de frutos de jaboticabeira (*Myrciaria cauliflora*) e pétalas de flor de picão (*Bidens gardneri*) como indicadores ácido-base, empregando titulação espectrofotométrica por injeção em fluxo mono canal. O potencial dos extratos como indicador ácido base foi avaliado com base na determinação da acidez em amostras de refrigerantes, suco de abacaxi e vinagre. Na comparação dos resultados por titulação visual, aplicando o teste-t pareado, não foi observada diferença significativa a um nível de 95 % de confiança. O sistema propiciou uma frequência, de 30 determinações por hora e precisão 3,3 %, ($n = 10$)

Palavras-chave: *extratos indicadores; titulação espectrofotométrica; sistema em fluxo.*

Study extracts of *Myrciaria cauliflora* fruits and petals of *Bidens gardneri* were used with success as acid base indicators in spectrophotometric titration, employing flow system a single pumping channel to propel sample and reagent solutions. Profitable features such as an analytical throughput of 30 sample determination per hour, relative standard deviation (r.s.d.) of 3,3% ($n = 10$). By applying the paired t-test no significant difference at 95% confidence level was observed between the results obtained with the proposed system end those of the visual titration.

Keywords: *indicators extract; spectrophotometric titration; flow system.*

Introdução

Na titulação por reação de neutralização, o ponto final é analisado com base na mudança de cor do indicador, quando o pH passa de um meio ácido para alcalino ou vice versa¹. Isto torna possível a determinação da concentração do ácido em função da concentração padronizada de uma solução alcalina². A automação do método de titulação química em fluxo é contemporâneo com os primeiros sistemas em fluxo. Na década de 50 foi desenvolvido o primeiro titulador automático baseado em sistema de fluxo contínuo³, para a determinação de mercaptanas em amostras de gasolina. Posteriormente, esse processo de automação foi adaptado para titulação em sistema de Análise por Injeção em Fluxo (FIA), usado na determinação de ácido clorídrico com hidróxido de sódio⁴. Desde então, foram desenvolvidos outros trabalhos voltados para titulação espectrofotométrica⁵⁻¹¹.

Os sistemas em fluxo tem sido implementados com quase todas as técnicas de detecção química, dentre as quais, a espectrofotometria de absorção molecular tem sido uma das mais usada¹²⁻¹⁶. Assim como os sistemas em fluxo, a titulação espectrofotométrica teve um avanço significativo, constituindo alternativas viáveis para determinações de diferentes espécies químicas, com baixo custo de instrumentação e de análise⁵⁻¹¹. Em razão da predominância de um grande número de complexos coloridos e/ou reações, com desenvolvimento de cor¹⁷, sua aplicação tornou abrangente a diferentes tipos de reações¹⁸, com destaque para a determinação de acidez em diferentes matrizes^{19-21,7,9,14, 15}. Neste contexto, tem sido experimentado o uso de extratos de plantas como indicadores, obtendo resultados satisfatórios, principalmente, considerando a facilidade de obtenção dos extratos, bem como, a riqueza da nossa flora²².

Nas determinações espectrofotométricas por sistema em fluxo, na avaliação da sensibilidade do método, pode ser considerada a altura ou a largura do sinal transiente, que possibilita construir a curva de calibração e, evidentemente identificar as concentrações dos analitos nas amostras. Sendo que nas titulações espectrofotométricas, predomina a largura do sinal transiente na meia altura do registro⁴.

Neste trabalho avaliou-se dois extratos vegetais quanto ao seu uso como indicador nas reações de

neutralização. Os extratos foram obtidos das cascas de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*), e das pétalas de flores de picão (*Bidens gardneri*), os estudos foram realizados empregando-se titulação espectrofotométrica por sistema de injeção em fluxo contínuo.

Parte experimental

EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

O sistema em fluxo foi constituído com uma bomba peristáltica IPC8 da ISMATEC equipada com tubos de Tygon, um injetor automático B-332 da MICRONAL, uma câmara de mistura com volume interno de 1,5 mL, um espectrofotômetro B-330 da FEMTO, equipado com uma cela de fluxo com volume interno de 180 μ L e caminho óptico de 10 mm, e um registrador potenciométrico RB-101 da ECB Ltda, um agitador magnético CBT da FANEM, Micro pipetas de precisão (Gilson Pipette), modelos P2, P20, P100, P200 e P1000.

REAGENTES E SOLUÇÕES

As soluções padrão de calibração de HCl, na faixa de concentração de $1,0 \times 10^{-2}$ a $1,0 \times 10^{-1}$ molL⁻¹, foram preparadas por diluição de uma solução estoque de 4 mol L⁻¹. As soluções de NaOH, nas concentrações de $8,3 \times 10^{-4}$ e $8,6 \times 10^{-3}$ molL⁻¹, foram preparadas a partir de uma solução estoque de 12 molL⁻¹. Solução de Fenolftaleína 1% e os extratos de jabuticaba e de picão, foram utilizados como indicadores em titulação de reação de neutralização.

PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS

O extrato de picão foi obtido pela imersão de 50g de pétalas de suas flores em 500 mL de etanol 96%, sob agitação por 2 horas. O extrato dos frutos de jabuticaba foi obtido pelo mesmo procedimento, no entanto foram usados 300g de material vegetal. Posteriormente, os extratos foram filtrados, cujas soluções obtidas, tiveram os volume reduzido a aproximadamente 30 mL. A redução do volume dos extração foi efetuada por destilação a pressão reduzida a uma temperatura de 55°C.

Os extratos foram transferidos para frascos escuro, e conservado em geladeira em torno de 10°C.

SISTEMA DE ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO

O módulo de análise do sistema em fluxo, construído para a titulação espectrofotométrica é mostrado na Figura 1. Os estudos foram realizados usando um percurso analítico de 20 cm, sendo 10 cm do injetor até a câmara de mistura e 10 cm desta à cela de fluxo do espectrofotômetro e vazão de bombeamento de 1,2 mL min⁻¹.

Aliquotas com volume de 200 µL das soluções das amostras foram introduzidas no sistema em fluxo no ponto A, sendo transportado pela solução de NaOH, contendo uma quantidade fixa de Fenolftaleína ou de um dos extratos em estudo, até a câmara de dispersão, onde ocorria a homogeneização das soluções reagentes.

Figura 1: Diagrama do sistema em fluxo. A = introdução da solução da amostra; B = bomba peristáltica; C = câmara de dispersão contendo uma barra magnética; D = detector; R = registrador potenciométrico.

Foram conduzidas titulações de HCl e de amostras de refrigerantes, suco de abacaxi e vinagre com solução padronizada de NaOH. Os experimentos foram efetuados usando-se os extratos naturais bruto e Fenolftaleína, com o objetivo de comparar os resultados. Os estudos foram repetidos pelo método de titulação visual, usado como método de referência.

Resultados e discussão

Inicialmente avaliou-se a região espectral de maior sensibilidade, para cada extrato usado como indicador, conforme representado nos gráficos da Figura 2. Para o extrato de jabuticaba, foi observada uma maior sensibilidade entre 480 – 500 nm e para o extrato de picão, a maior sensibilidade foi observada entre 510 – 530 nm. Portanto, fixou-se os comprimentos de onda em 490 e 520 nm, considerando-se os valores intermediários à região de maior sensibilidade para os dois indicadores, respectivamente.

No extrato de jabuticaba, foi observada uma coloração

amarelo esverdeado em meio alcalino, incolor em torno de pH 7 e azul em meio ácido, conforme ilustrado na Figura 3, cujo o intervalo de pH no ponto de viragem foi 1,73. No extrato de picão, observou-se uma cor vermelho em meio ácido e amarelo claro em meio alcalino, onde a mudança da cor ocorre em torno de pH 7 (Figura 3), o intervalo de pH no ponto de viragem foi 2,01. É importante enfatizar que esse comportamento é predominante das substâncias antocianinas^{23,24}.

Figura 2: Avaliação da região espectral para os dois extratos em estudo. Testes efetuados usando NaOH 0,1 mol L⁻¹, 6 gotas de indicador em 100 mL de solução: (a) extrato de jabuticaba, (b) extrato de picão.

Foi observado que a quantidade do indicador propiciava uma variação na sensibilidade relativa a altura do sinal analítico, conforme representado na Figura 4. Os sinais S_1 e S_2 foram obtidos em função da intensidade de cor, referente a uma e duas gotas de indicador em 50 mL de NaOH. Observa-se que para as mesmas concentrações do reagente, houve um aumento significativo na absorbância em relação à altura do sinal.

Os resultados obtidos foram: Fenolftaleína $S_1 = 0,294$ e $S_2 = 0,503$, extratos de picão $S_1 = 0,255$ e $S_2 = 0,366$ e de jabuticaba $S_1 = 0,196$ e $S_2 = 0,255$. No entanto, para as mesmas concentrações dos reagentes a largura do sinal analítico manteve-se constante, o que significa que a variação na quantidade do indicador, não interfere na sensibilidade com relação a largura do sinal transiente. Os teste foram realizados titulando-se uma solução de NaOH $8,6 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ com HCl $1,0 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹.

Portanto, ao invés de usar a altura do sinal como parâmetro de avaliação dos resultados, as avaliações

Figura 3: Características das cores dos indicadores em função da variação do pH.

Figura 4: Efeito da quantidade de indicador na sensibilidade do sinal analítico. Soluções: titulada, NaOH $8,6 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$; titulante, HCl $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$; volume de HCl = 200 μL . S_1 e S_2 = sinais correspondentes a uma e duas gotas de indicador em 50 ml de NaOH. Os registros (a), (b) e (c) são referentes aos indicadores fenolftaleína, extratos picão e de jabuticaba, respectivamente.

foram efetuadas com base na largura dos registros, conforme representado na Figura 5. Sendo que os resultados foram obtidos, usando extrato de picão (a) e extrato de jabuticaba (b).

Na Figura 5, fica claro a variação do tempo de residência, em função da diferença de concentração das soluções de HCl. Isto significa que, mantendo-

Figura 5: Característica dos registros referentes a titulação espectrofotométrica em fluxo contínuo. Titulação de uma solução de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ com soluções de HCl nas concentrações da esquerda para a direita 0,2; 0,4; 0,6; 0,7 e $0,9 \text{ mol L}^{-1}$.

se constante a concentração da solução de NaOH e, variando-se a concentração da solução de HCl, resulta num aumento proporcional do tempo de residência, que é caracterizado por um aumento na largura do sinal. Esse parâmetro possibilita a construção de curva de calibração analítica. Devido dificuldades na definição da largura exata do sinal na linha de base, considerou-se a largura na meia altura dos registros.

A avaliação dos extratos de jabuticaba e de picão como indicadores ácido-base, empregando titulação espectrofotométrica em fluxo contínuo, apresentou um desempenho semelhante ao do indicador Fenolftaleína, conforme representado na Figura 6. As curvas de calibração (a, b, c), foram obtidas usando o indicador Fenolftaleína, extrato picão e de jabuticaba, respectivamente. A faixa de concentração linear foi de $1,0 \times 10^{-2}$ a $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ em HCl, utilizando-se uma solução de NaOH $10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$. Observa-se que a relação entre a largura dos sinais analíticos e as concentrações de HCl seguem uma equação de primeira ordem, conforme descritas na Figura 6. A faixa de concentração linear dos resultados usando os extratos naturais brutos, foi semelhante à obtida usando o indicador Fenolftaleína, o que demonstra a viabilidade do uso desses extratos como indicadores.

A viabilidade do processo de titulação espectrofotométrica usando os extratos de jabuticaba e picão, foi avaliada titulando-se uma solução de NaOH $8,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ com soluções de HCl na faixa de 0,1 a $1,0 \text{ mol L}^{-1}$. bem como a determinação da acidez total de amostras de refrigerantes, suco de abacaxi e vinagre.

As condições de otimização propiciou uma frequência analítica de 30 determinações por hora, precisão de

Figura 6: Avaliação do desempenho do sistema em fluxo para titulação espectrofotométrica. As curvas (a), (b) e (c) correspondem aos indicadores fenolftaleína, extratos de picão e de jabuticaba, respectivamente. Soluções: titulada, NaOH $8,3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$; titulante, HCl; volume de HCl = 200 μL . Equações e coeficientes de correlação das respectivas curvas analíticas:

2,1% e 3,3%, para os extratos de picão e de jabuticaba, respectivamente, ($n = 10$), os resultados obtidos usando Fenolftaleína e os extratos não diferiram a um nível de 95% de confiança, conforme descrito nas Tabelas 1 e 2.

Conclusões

Considerando-se as facilidades de obtenção dos extratos de algumas plantas, a riqueza da nossa flora, as

semelhanças entre os resultados obtidos com os extratos naturais brutos e Fenolftaleína, pode-se concluir que os extratos investigados, possuem propriedades indicadoras de pH em potencial. Quanto à aplicação do sistema em fluxo, os resultados foram bastante satisfatórios. Portanto, tanto os extratos analisados como o sistema em fluxo, pode representar uma alternativa viável na titulação espectrofotométrica por reação de neutralização.

Tabela 1: Padronização de HCl com NaOH $8 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, usando diferentes indicadores.

[HCl] _{teo}	Padronização por titulação visual			Padronização por titulação em fluxo		
	Fen	Pic	Jab	Fen	Pic	Jab
0,100	$0,100 \pm 0,002$	$0,090 \pm 0,003$	$0,100 \pm 0,015$	$0,090 \pm 0,000$	$0,100 \pm 0,001$	$0,100 \pm 0,001$
0,700	$0,680 \pm 0,012$	$0,700 \pm 0,005$	$0,690 \pm 0,010$	$0,700 \pm 0,000$	$0,710 \pm 0,000$	$0,690 \pm 0,000$
1,000	$1,020 \pm 0,006$	$1,040 \pm 0,009$	$1,080 \pm 0,009$	$1,100 \pm 0,001$	$0,950 \pm 0,000$	$1,130 \pm 0,001$

Nota: Média $\pm$ estimativa do desvio padrão referente a três repetições. fen, pic, jab = indicadores fenolftaleína, extratos de picão e de jabuticaba, respectivamente. [HCl]_{teo} = concentrações teóricas em mol L^{-1} .

Tabela 2: Determinação da acidez em amostras de refrigerantes, suco de abacaxi e vinagre. As amostras foram tituladas com NaOH $8,3 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$. A acidez nas amostras foi expressa em molL^{-1} .

Amostras	Titulação visual			Titulação em fluxo		
	Fen	Pic	Jab	Fen	Pic	Jab
A1	$0,016 \pm 0,001$	$0,015 \pm 0,001$	$0,016 \pm 0,002$	$0,017 \pm 0,000$	$0,019 \pm 0,000$	$0,014 \pm 0,000$
A2	$0,025 \pm 0,001$	$0,026 \pm 0,001$	$0,026 \pm 0,003$	$0,026 \pm 0,000$	$0,028 \pm 0,000$	$0,024 \pm 0,000$
A3	$0,032 \pm 0,000$	$0,031 \pm 0,001$	$0,032 \pm 0,003$	$0,033 \pm 0,000$	$0,036 \pm 0,000$	$0,037 \pm 0,000$
A4	$0,031 \pm 0,001$	$0,030 \pm 0,001$	$0,031 \pm 0,002$	$0,034 \pm 0,000$	$0,036 \pm 0,000$	$0,037 \pm 0,000$
A5	$0,025 \pm 0,001$	$0,025 \pm 0,001$	$0,024 \pm 0,003$	$0,026 \pm 0,000$	$0,023 \pm 0,000$	$0,028 \pm 0,000$
A6	$0,170 \pm 0,000$	$0,175 \pm 0,002$	$0,165 \pm 0,002$	$0,165 \pm 0,000$	$0,180 \pm 0,000$	$0,160 \pm 0,000$
A7	$0,630 \pm 0,001$	$0,650 \pm 0,001$	$0,620 \pm 0,004$	$0,660 \pm 0,000$	$0,680 \pm 0,000$	$0,670 \pm 0,000$

Nota: Média $\pm$ estimativa do desvio padrão referente a três repetições. fen, pic, jab = indicadores fenolfaleína, extratos de picão e de jabuticaba, respectivamente. A1, A2, A3, A4, A5, A6 e A7 = amostra de guaraná, pitchula limão, água tônica, sprite, soda limonada, suco de abacaxi e vinagre, respectivamente.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro concedido.

BIBLIOGRAFIA

- Baccan, N.; Andrade, J. C.; Godinho, O. E. S.; Barone, J. S., *Química Analítica Quantitativa Elementar*, 2a ed., Ed. Unicamp: Campinas, **1979** p. 46.
- Vogel, A. I., *Análise Química Quantitativa*; Mendham, J.; Denney, R. C.; Barnes, J. D.; Thomas, M. J. K.; 6a Ed.; LTC, **2000**; p 87.
- Hallikainen, K.E.; Pompeo, D.J., *Instruments* **1952**, 25, 335.
- Ruzicka, J.; Hansen, E.H.; Mosbaek, H., *Anal. Chim. Acta* **1977**, 92, 235.
- Stewart, K. K.; Rosenfeld, A. G., *Anal. Chim. Acta* **1982**, 54, 2368.
- Nagy, G.; Feher, Zs.; Toth, K.; Pungor, E., *Anal. Chim. Acta* **1978**, 100, 181.
- Paim, A. P. S.; Kronka, E. A. M.; Reis, B. F.; Korn, M., *Quím. Nova* **1998**, 21, 47.
- Almuaibed, A. M.; Townshend, A., *Talanta* **1992**, 39, 1459.
- Sultan, M., *Talanta* **1993**, 40, 593.
- Alamo, J. M.; Mqueira, A.; Puchades, R.; Sagrado, S., *Fresenius J. Anal. Chim.* **1993**, 347, 293.
- Korn, M.; Gouveia, L. F. B. P.; Oliveira, E.; Reis B F, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, 313, 177.
- Rao, G. G.; Sastry, G. S., *Anal. Chim. Acta* **1971**, 56, 325.
- Sultan, S. M.; Abdennabe, A. M.; Suliman, F. E. O., *Talanta* **1994**, 41, 125.
- Jain, A.; Chaurasia, A.; Verma, K. K., *Talanta* **1995**, 42, 779.
- Nóbrega, J. A.; Lopes, G. S., *Talanta* **1996** 43, 971.
- Pérez-Ruiz, T.; Martinez-Losano, C.; Sanz, A., *Anal. Chim. Acta* **1995**, 309, 299.
- Terci, D. B. L.; Rossi, A. V., *Quim. Nova* **2002**, 25, 684
- García, I. L.; Vinas, P.; Campillo, N.; Córdoba, M. H., *Anal. Chim. Acta* **1995**, 308, 67.
- Lazaro, F.; Rios, A.; Luque de Castro, M. D.; Valcarcel, M., *Analyst* **1986**, 111, 163.
- Hernandez, J.; Alonso, A.; Almendral, M. J.; Garcia, C., *Anal. Chim. Acta* **1986**, 184, 246.
- Taylor, P. D., *Talanta* **1995**, 42, 845.

22. Couto, A. B. C.; Ramos, L. A.; Cavaleiro, E. T. G., *Quím. Nova*, **1998**, 21, 221.
23. Rossi, A. V. ; Terci, D. B. L, *Quím. Nova*, **2002**, 25, 523.
24. Cavaleiro, É. T. G.; Cortes, M. S; Ramos, L. A., *Quím.*, **2007**, 30, 1014.
-

Jonas A. Vieira^{*1}, Lourival C. de Faria & Wesson Guimarães².

¹Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Campos Henrique Santillo, CP, 459, CEP 75001-970, Anápolis-GO.

² Instituto de Química, Universidade Federal de Goiás, Campos Samambaia, CP 131, 74001-970 – Goiânia-GO

*e-mail: jonas@ueg.br