

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE QUÍMICA

*Este exemplar corresponde a  
redação final da tese defendida  
por Nilson Evelázio de Souza e  
aprovada pela Comissão Julgadora.*

*Campinas, 16 de dezembro de 1985*

*Oswaldo Espírito Santo Godinho*

Nilson Evelázio de Souza

TESE DE DOUTORADO

Orientador: Prof. Dr. Oswaldo Espírito Santo Godinho

DETERMINAÇÕES SIMULTÂNEAS DE ÁCIDOS EM MISTU-  
RAS POR TITULAÇÕES POTENCIOMÉTRICAS E SUAS  
APLICAÇÕES A ANÁLISES DE ANTIÁCIDOS, SUCOS DE  
UVA E VINHOS

CAMPINAS - 1985

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

*Dedico este trabalho a minha  
esposa Ângela e a meus filhos Rafael,  
Nilson Fº e Vinicius, pelo ambi-  
ente favorável de nosso  
lar. E a meus pais  
João e Leonor.*

Lavro aqui  
minha gratidão ao  
amigo, professor e orientador  
Dr. Oswaldo E.S. Godinho, pela serenidade  
e eficiência demonstrada durante o desenvolvimento  
deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Ao Instituto de Química da Universidade Estadual de Campinas, pela realização deste trabalho.

À Universidade Estadual de Maringá, pela oportunidade oferecida para sua realização.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior através do Plano Institucional de Capacitação de Docentes, pelas bolsas de estudo concedidas.

Ao meu professor de Ciências durante o curso ginasial, Agônomo Abelegy Alves, pelo incentivo e interesse em meus trabalhos.

Ao Prof. Dr. Ari Ivaska, pelo programa computacional e pelas discussões nos cálculos dos ácidos do suco.

Ao Prof. Dr. Célio Pasquini, pelas sugestões e discussões.

Aos Profs. Drs. Luiz Manoel Aleixo e Graciliano de Oliveira Neto, pelo pronto atendimento quando consultados.

Ao Prof. Dr. Wilson de Figueiredo Jardim, pelo empréstimo de seu sistema de filtração.

Aos colegas docentes do Departamento de Química da UEMaringá: Adley, Carlos, Macedo, Cleuza, Creuza e Maria Helena, pelo convívio fora de nossa Instituição.

Aos amigos de laboratório: Jarbas, Afonso, Conceição, Gilberto, Ivo, José da Silva, Jorge, Juca, Roldão, Renato, Sonia, Torres e Willian, por terem tornado o ambiente de trabalho descontraído.

À Valda pelos excelentes trabalhos datilográficos.

Aqueles cuja convivência, apoio e amizade contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Os vários métodos matemáticos e gráficos usados no tratamento dos dados de titulações potenciométricas são discutidos.

Um método algébrico linear foi utilizado na determinação de várias misturas sintéticas visando a aplicação em matrizes reais. Foram estudadas as determinações simultâneas dos ácidos em várias misturas dos ácidos clorídrico, tartárico, málico, succínico e cítrico. Os valores de  $pK_a$  destes ácidos foram determinados em meio 1,0 M de  $NaNO_3$ , tendo em vista o ajuste de força iônica, uma vez que nas amostras reais quantidades variáveis de eletrólitos estão presentes.

Foi utilizada a precipitação dos ácidos tartárico, málico, succínico e cítrico na forma de sais de bário em meio alcoólico, para separação destes ácidos de outros interferentes presentes nas amostras reais.

O método de cálculo foi aplicado com sucesso na determinação dos ácidos tartárico e cítrico, carbonato e bicarbonato de sódio em antiácidos. Nesta aplicação não há necessidade de separação prévia dos ácidos.

O método de cálculo foi também aplicado aos dados de titulações potenciométricas, para determinação dos ácidos presentes em sucos de uva e vinhos, após separação dos mesmos na forma de sais de bário.

Assim foi possível a determinação simultânea dos ácidos tartárico e málico em sucos de uva livres de ácido cítrico e ácido tar

tártico e a soma dos ácidos málico e cítrico em sucos contendo ácido cítrico.

Em vinhos livres dos ácidos málico e cítrico, foi possível a determinação simultânea dos ácidos tartárico e succínico. E naqueles livres de ácido cítrico, a determinação simultânea dos ácidos tartárico, málico e succínico. Em amostras de vinho contendo os ácidos tartárico, cítrico e succínico, foi possível a determinação do ácido tartárico e da soma dos ácidos succínico e cítrico. Em vinhos contendo os ácidos tartárico, málico, succínico e cítrico, foi possível a determinação do ácido tartárico, sendo que o ácido cítrico interfere na determinação do ácido succínico e em menor grau na determinação de ácido málico.

No caso das amostras de antiácido, sucos de uva e vinhos, os dados obtidos foram comparados com os resultados obtidos pelos métodos oficiais de análise recomendados para estes materiais.

## SUMMARY

The various mathematical and graphical methods used in treatment of data from the potentiometric titrations are discussed.

A linear algebraic method was utilized in determination of various synthetic mixtures with the aim of the application to real materials. The simultaneous determination of the acids in various mixtures of hydrochloric, tartaric, citric, malic and succinic acids were studied. The  $pK_a$  values of these acids were determined at 1,0 M of  $NaNO_3$  medium in order to adjust the ionic force, since in the real samples variable amounts of electrolytes are presents.

The precipitations of tartaric, malic, citric and succinic acids as barium salts in alcoholic medium, in order to separation of these acids of the others interferents presents in the real samples were studied.

The calculation method was applied in the determination of tartaric and citric acids, sodium carbonate and sodium hydrogen carbonate in antacids with success. In this application there is no necessity of the previous separation of the acids.

The calculation method was also applied to the titrations data, for determination of the present acids in the grape juice and wines, after separation of these acids as barium salts.

In this manner it was possible the simultaneous determination of tartaric and malic acids in samples of grape juice free of citric acid and tartaric acid separately and the sum of malic and citric acids in grape juice containing citric acid.

In samples of wine free of malic and citric acids, it was possible the simultaneous determination of tartaric and succinic acids. In samples free of citric acid, the simultaneous determination of tartaric, malic and succinic acids was possible. In samples of wine containing tartaric, succinic and citric acids, it was possible the determination of tartaric acid separately and the sum of succinic and citric acids. In wines containing tartaric, malic, succinic and citric acids, it was possible the determination of tartaric acid individually, while the citric acid interfere in the determination of the succinic acid and in smaller degree in the determination of the malic acid.

## LISTA DE SÍMBOLOS UTILIZADOS

|                 |                                                                        |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------|
| $C_B$           | Concentração analítica da base                                         |
| $E$             | Força eletromotriz da cela                                             |
| $E'_O$          | Potencial formal da cela                                               |
| $E'_J$          | Potencial de junção líquida da cela                                    |
| $E'_{oa}$       | Potencial formal da cela em meio ácido                                 |
| $E'_{ob}$       | Potencial formal da cela em meio básico                                |
| $F_H$           | Função de Gran clássica (região ácida)                                 |
| $F_{OH}$        | Função de Gran clássica (região básica)                                |
| $H_3Ci$         | Ácido cítrico                                                          |
| $H_2M$          | Ácido málico                                                           |
| $H_2Su$         | Ácido succínico                                                        |
| $H_2Tr$         | Ácido tartárico                                                        |
| $I$             | Força iônica                                                           |
| $J_H$ e         |                                                                        |
| $J_{OH}$        | Parâmetros característicos do meio iônico                              |
| $K_w$           | Produto iônico da água                                                 |
| $N$             | Número de prótons do ácido fraco                                       |
| $N_i$           | Número total de prótons dissociáveis do iezimo ácido fraco             |
| $n$             | Número de ácidos                                                       |
| $\bar{n}_{k,i}$ | Número médio de prótons ligados à base conjugada do iezimo ácido fraco |
| $V$             | Volume de titulante adicionado                                         |
| $V_e$           | Volume de equivalência                                                 |

|               |                                                         |
|---------------|---------------------------------------------------------|
| $V_K$         | Volume de base acrescentado                             |
| $V_O$         | Volume inicial de solução, antes da adição do titulante |
| $[SA]_K$      | Concentração do ácido forte                             |
| $[SA]_O$      | Concentração inicial do ácido forte                     |
| $[SB]_K$      | Concentração da base forte acrescentada à solução       |
| $T_{K,H}$     | Concentração total do íon hidrogênio titulável          |
| $T_{K,i}$     | Concentração do iênio ácido fraco                       |
| $T_{O,i}$     | Concentração inicial do iênio ácido fraco               |
| $\beta_{J,i}$ | Constante de protonação do ácido fraco                  |

## ÍNDICE

página

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| 1. OBJETIVOS DO TRABALHO .....                                        | 1  |
| 2. INTRODUÇÃO .....                                                   | 3  |
| 3. MÉTODO DE CÁLCULO .....                                            | 11 |
| 4. PARTE EXPERIMENTAL .....                                           | 17 |
| 4.1. Aparelhagem .....                                                | 17 |
| 4.2. Reagentes .....                                                  | 17 |
| 4.3. Amostras .....                                                   | 18 |
| 4.4. Meio Iônico .....                                                | 19 |
| 4.5. Procedimento Desenvolvido para Titulação de Anti-<br>ácido ..... | 19 |
| 4.6. Procedimento para Titulação Reversa do Antiácido                 | 20 |
| 4.7. Procedimento para Separação dos Ácidos do Suco<br>de Uva .....   | 20 |
| 4.8. Procedimento para Separação dos Ácidos do Vinho.                 | 21 |
| 4.9. Calibração do Sistema de Eletrodos .....                         | 21 |
| 4.9.1. Determinação do Volume de Equivalência...                      | 22 |
| 4.9.2. Determinação da Concentração Hidrogeniônica<br>ca .....        | 23 |
| 4.9.3. Determinação dos Parâmetros $j_H$ e $E'_{oa}$ .....            | 23 |
| 4.9.4. Determinação dos Parâmetros $j_{OH}$ e $E'_{ob}$ ...           | 27 |
| 4.10. Determinação do Produto Iônico da Água .....                    | 31 |
| 4.11. Procedimento das Titulações .....                               | 31 |
| 4.12. Análise dos Ácidos por Outros Métodos .....                     | 32 |

|                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.12.1. Amostra de Antiácido .....                                                                                                                              | 32 |
| 4.12.2. Amostras de Suco de Uva .....                                                                                                                           | 33 |
| 4.12.3. Amostras de Vinho .....                                                                                                                                 | 34 |
| 5. DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE $pK_a$ DOS ÁCIDOS FRACOS ...                                                                                                     | 35 |
| 6. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS TARTÁRICO E CÍTRI-<br>CO E CARBONATO TOTAL POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA E<br>SUA APLICAÇÃO À ANÁLISE DE ANTIÁCIDOS ..... | 43 |
| 6.1. Considerações Gerais .....                                                                                                                                 | 43 |
| 6.2. Resultados e Discussões .....                                                                                                                              | 44 |
| 7. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS TARTÁRICO E MÁLICO<br>POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA E SUA APLICAÇÃO À ANÁLI-<br>SE DE SUCOS DE UVA .....                  | 55 |
| 7.1. Considerações Gerais .....                                                                                                                                 | 55 |
| 7.2. Resultados e Discussões .....                                                                                                                              | 57 |
| 8. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS TARTÁRICO, MÁLICO<br>E SUCCÍNICO POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA E SUA APLI-<br>CAÇÃO À ANÁLISE DE VINHOS.....              | 70 |
| 8.1. Considerações Gerais .....                                                                                                                                 | 70 |
| 8.2. Resultados e Discussões .....                                                                                                                              | 72 |
| 9. CONCLUSÕES .....                                                                                                                                             | 85 |
| 10. APÊNDICE .....                                                                                                                                              | 87 |
| 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                                                                            | 93 |

## 1. OBJETIVOS DO TRABALHO

Os objetivos do presente trabalho de tese, são de ilustrar as aplicabilidades de um método linear algébrico a dados de titulações potenciométricas para resolver misturas sintéticas complexas de ácidos. Principalmente, tornar possível sua aplicação a matrizes reais, com especial atenção à sua utilização em processos químicos industriais, tanto para análises de controle laboratoriais, como também em controle de processos.

Pretende-se estudar misturas sintéticas envolvendo os ácidos tartárico, málico, succínico, cítrico e clorídrico, visando a aplicação em matrizes reais de antiácido, suco de uva e vinho.

Os resultados serão obtidos através de tratamento de dados de titulações potenciométricas, utilizando programa computacional em linguagem basic. Os cálculos serão processados considerando-se o pH como sendo o cologarítmo da concentração hidrogeniônica e portanto todas as constantes referem-se à concentração ao invés de atividade.

As titulações serão realizadas em força iônica 1,0 M e as constantes de dissociação dos ácidos serão constantes em termos de concentração determinadas neste meio. Assim a calibração do eletrodo de vidro será feita com uma solução de HCl de concentração conhecida no mesmo meio iônico. Este procedimento será necessário para evitar que os eletrólitos presentes nas matrizes reais afetem significativamente os coeficientes de atividades dos íons envolvidos nos equilíbrios de interesse.

No caso das matrizes de suco de uva e vinho, os ácidos a de terminar serão separados previamente por precipitação com cloreto de bário em meio alcoólico, para evitar interferências de outros ácidos, além daqueles de interesse, presentes em concentrações variáveis nestes materiais.

## 2. INTRODUÇÃO

Determinações de concentrações de componentes individuais em misturas de ácidos é comumente de grande valor em trabalhos analíticos na indústria e na pesquisa.

Em relação às misturas dos ácidos tartárico, cítrico, málico e succínico que são objetos de análise em nosso trabalho de tese, além dos métodos oficiais que são muito demorados e que apresentam resultados apenas razoáveis, há também os métodos cromatográficos e os titulométricos.

Dentre os métodos cromatográficos podemos citar os de troca iônica<sup>(1)</sup>, em papel<sup>(2,3)</sup>, em camada delgada<sup>(4)</sup>, líquida a baixa pressão<sup>(5)</sup>, líquida de alta eficiência<sup>(6-10)</sup>, líquida com método de detecção específico denominado analisador de ácidos carboxílicos<sup>(11-13)</sup> e cromatografia gasosa<sup>(14-19)</sup>.

Contudo, tais métodos, além de uma demorada preparação da amostra, os sinais são medidos por detectores, e uma curva de calibração torna-se necessária.

Em titulometria, a quantidade de substância é medida diretamente e a precisão é melhor do que em métodos que utilizam curvas de calibração.

Titulação potenciométrica é o método mais comum e mais direto para a análise de misturas de ácidos.

Vários métodos gráficos e matemáticos para a avaliação de dados de titulações potenciométricas têm sido apresentados. Em sua maioria os métodos se baseiam na linearização de curvas de titulação.

Em gráficos lineares de titulação, dois termos seguem uma relação linear, de acordo com o modelo matemático aplicado à titulação. Esses termos são tomados ou calculados dos valores medidos. Essas curvas oferecem certas vantagens sobre as logarítmicas. Vários pontos experimentais podem ser usados para avaliar o resultado. Métodos estatísticos podem ser facilmente aplicados para calcular os limites de confiança do resultado e detectar possíveis erros experimentais nas medidas.

No trabalho de Rossotti & Rossotti<sup>(20)</sup>, o método gráfico de Gran é discutido e comparado aos métodos diferenciais comumente usados para obtenção de volumes de equivalência.

O meio mais simples para obter uma curva linear de titulação, é plotar  $[H^+]$  antes do ponto de equivalência contra o volume de base acrescentado em titulações ácido-base fortes. Após o ponto de equivalência  $[OH^-]$  aumenta linearmente com o volume de base acrescentado. Uma aplicação moderna deste método foi descrito por A. Johansson<sup>(21)</sup>.

No primeiro método de Gran<sup>(22)</sup> o termo  $\Delta V/\Delta pH$  (ou  $\Delta V/\Delta E$ ) é plotado como uma função de  $V$ . O método de Sørensen<sup>(23)</sup> implica no plote de  $[H^+]$  contra  $V$ , quando se titula um ácido forte com base forte. Sørensen obteve linhas que desviam da linearidade quando aplicou seu método à titulação de ácidos fracos com base forte. O método de Sørensen foi melhorado por Gran,<sup>(24)</sup> que obteve gráficos lineares em titulações de ácidos fracos.

As funções de Gran originais foram comparadas a funções modificadas e desenvolvidas para a determinação do teor de carbonato

e alcalinidade total da água do mar, por Hansson & Jagner<sup>(25)</sup> que encontraram menores erros sistemáticos ao usar essas funções modificadas.

Fatores como variações dos coeficientes de atividade, erros na determinação das constantes de equilíbrio e presença de sais hidrolisáveis, podem afetar as funções de Gran. Midgley & McCallum considerando esses fatores, derivaram funções lineares para a análise da curva de titulação de ácidos fracos com bases fracas<sup>(26)</sup>. As variações de coeficientes de atividade e potencial de junção que ocorrem na formação de complexos em misturas de solventes orgânicos e água, foram estudadas por Rossotti & Rossotti através do uso de funções de Gran modificadas<sup>(27)</sup>.

Ingman & Still<sup>(28)</sup> apresentaram uma extensão do método de Gran. Eles mostraram que é possível, quando a constante de estabilidade é conhecida, derivar uma expressão a qual, quando plotada contra o volume do titulante V, fornece uma linha reta que intercepta o eixo V no ponto de equivalência.

Esta técnica de localização de ponto de equivalência tem encontrado grande aplicação na titulação ácido-base, principalmente na determinação de ácidos ou bases muito fracos, soluções muito diluídas ou misturas de ácidos<sup>(29-33)</sup>.

Através de aplicações rigorosas de balanço de carga e massa, junto com constantes de equilíbrio do sistema, gráficos lineares de titulações foram obtidos para titulações envolvendo titulados de vários graus de complexidade<sup>(26)</sup>. A mesma técnica é aplicada para uma mistura de ácido forte e ácido fraco<sup>(34)</sup> e ácidos e bases fra-

cos polifuncionais<sup>(35)</sup>.

Briggs & Stuehr<sup>(36)</sup> propõem equações lineares baseadas nas equações de balanço de material exato. Nenhuma aproximação foi feita nas equações propostas. A dissociação da água, assim como também os efeitos da diluição são precisamente levados em consideração. Desde que as titulações sejam feitas em meio de força iônica constante, os resultados são válidos sob essa condição. Este método foi estendido a sistemas contendo dois ou três grupos tituláveis e ainda generalizado para acomodar as variações de força iônica que ocorrem durante a titulação<sup>(37)</sup>.

Hofstee<sup>(38)</sup> apresenta um método simples e útil de obter gráficos lineares de titulação, quando bases fracas são tituladas com ácido forte. O método de Hofstee é prático e foi usado por Benet & Goyan<sup>(39)</sup>. Esses autores aplicam o método em titulações de um ácido fraco com uma base forte e para titulações de ácidos dibásicos onde a curva de titulação tem sido transformada para a forma linear. Leeson & Brown<sup>(40)</sup> fazem alguns melhoramentos nas equações usadas por Benet & Goyan. Hofstee derivou sua equação com base na lei da ação das massas, balanço de massa e eletroneutralidade da solução.

Liteanu & Cormos<sup>(41)</sup> dão um método no qual, por análise estatística, a linha reta mais provável é obtida. Os mesmos autores descreveram também uma outra abordagem para linearizar curva de titulação<sup>(42)</sup>.

Johansson & Backén<sup>(43)</sup> obtiveram seção linear de curva de titulação, pH vs. V, quando escolheram uma mistura adequada de áci

dos a diferentes concentrações e titularam esta mistura com uma base forte. Eles usaram este método para determinår também a concentração da base forte. Johansson<sup>(44)</sup> descreve métodos para a obtenção de diferentes espécies de gráficos lineares de titulação.

Auerbach & Smolczyk<sup>(45)</sup> derivaram equações matemáticas para descrever o curso da titulação para ácidos mono e polibásicos e suas misturas. Eles obtiveram resultados exatos quando titularam uma mistura de dois ácidos monobásicos. Mesmo uma mistura de um ácido dibásico e um tribásico, ácidos tartárico e cítrico, foram analisados por eles, com um erro menor do que 2%. Komar<sup>(46)</sup> tratou o problema teoricamente e derivou equações matemáticas para descrever a titulação de uma mistura de dois ácidos fracos. Segundo este autor, para obter pH exato, a quantidade de base titulante é linearmente dependente das concentrações iniciais dos ácidos individuais. Frisque & Meloche<sup>(47)</sup> necessitaram do volume de equivalência total e um ponto adicional sob a curva de titulação no método em que eles analisaram uma mistura de dois ácidos monobásicos. Eles determinaram uma região de pH ótimo da qual um outro ponto deve ser tomado para minimizar o erro.

Purdie et al<sup>(48)</sup> utilizaram um computador para resolver suas equações derivadas para titulações de misturas de ácidos. Eles forneceram também um método prático de efetuar uma análise, quando não se possui um computador. Kankare<sup>(49)</sup> abordou o problema para titulação potencioestática. Ingman et al<sup>(50)</sup> usaram o método de ajuste de curva para avaliar dados de titulação. Usando esta técnica foi possível analisar misturas de ácidos de forças muito próximas.

Johansson descreveu um novo método que foi aplicado a titulação de uma mistura de ácido acético e fórmico<sup>(21)</sup>.

Boss<sup>(51)</sup> aplicou um método de ajuste de curva multiparamétrico a dados de titulações potenciométricas de misturas de um ácido forte e um ácido fraco ou uma base fraca. Anfalt & Jagner reconheceram que essa técnica pode dar melhor precisão e exatidão que a segmentação das curvas de titulação<sup>(52)</sup>. Esse método foi aplicado à titulação de base fraca com ácido forte de concentração desconhecida. A quantidade de substância titulada e a concentração do titulante são determinadas simultaneamente e portanto a padronização prévia do titulante não é necessária<sup>(53,54)</sup>.

A automatização associada a um tratamento matemático adequado, permite que sistemas complexos sejam analisados num tempo relativamente curto. Johansson & Johansson analisaram curvas de neutralização desprovidas de inflexões utilizando um sistema de titulação automatizado e determinando os parâmetros através de refinamentos multiparamétricos<sup>(55)</sup>.

Um método computacional desenvolvido por Arena et al é capaz de refinar vários parâmetros envolvidos em titulações ácido-base através de equações não lineares. Uma grande vantagem do programa computacional desenvolvido por esses pesquisadores, é a sua capacidade de refinar parâmetros que sofrem variações de uma titulação para outra além daqueles comuns a várias titulações<sup>(56)</sup>. Uma modificação desse programa foi feita recentemente de modo a obter-se simultaneamente constantes de protonação e parâmetros que são funções da força iônica<sup>(57)</sup>.

Pehrsson et al derivaram uma equação geral para descrever a titulação de uma mistura de ácidos na presença de bases fracas. Em seu método somente uma calibração aproximada do sistema de eletrodos é necessária e em alguns casos valores aproximados das constantes de estabilidade são suficientes<sup>(58)</sup>.

Seymour et al fizeram uma derivação da função de Gran modificada, levando a cabo a segmentação e linearização da curva de titulação. As constantes de dissociação dos ácidos são calculadas das funções de Gran modificadas e servem para identificar os ácidos e determinar suas concentrações, as quais são dadas pela intersecção de retas com a abscissa. O método é de aplicabilidade geral e pode ser computadorizado e usado para análise de misturas de ácidos desconhecidos. O método foi aplicado para cálculo simultâneo de constantes de dissociação e concentração dos componentes de uma mistura ácida de condensados atmosféricos e água de chuva<sup>(59)</sup>.

Baseados principalmente em Seymour et al, Godinho & Aleixo<sup>(60)</sup> desenvolveram um método para determinação de grupos tituláveis de proteínas por linearização de curvas de titulação a qual permite a determinação da estequiometria e constantes de dissociações dos grupos tituláveis. O método foi aplicado a titulações de ovoalbumina<sup>(60)</sup>, lisozima<sup>(61)</sup>, insulina e mioglobina<sup>(62)</sup>.

Ivaska & Wanninen<sup>(30)</sup> usando as equações de Ingman & Still<sup>(28)</sup>, desenvolveram um método computacional capaz de determinar simultaneamente a constante de estabilidade e o ponto de equivalência para o caso de titulação de um ácido fraco com uma base forte.

A curva de titulação para misturas binárias de ácidos fracos pode ser transformada em um sistema com duas incógnitas<sup>(31,32,63)</sup>, às quais são os volumes de equivalência da base forte consumidos para neutralização dos ácidos individuais.

As curvas de titulações potenciométricas de misturas de um ácido forte e vários ácidos fracos foram tratadas através de um sistema de equações lineares, cujas soluções correspondem às concentrações dos componentes da mistura. O tratamento matricial desenvolvido por Ivaska & Nagypal<sup>(64)</sup> permite analisar misturas complexas de ácidos com valores de  $pK_a$  muito próximos.

Esses diversos métodos de cálculo aplicados adequadamente à análise de curvas de titulação ácido-base, possibilitam a obtenção de uma grande quantidade de dados com bastante exatidão e precisão e portanto muito tem contribuído para a ampliação do uso da titulometria de neutralização como técnica de análise quantitativa.

Em nosso trabalho de tese, faz-se a aplicação do método desenvolvido por Ivaska & Nagypal em misturas complexas de ácidos ainda não estudados, destacando-se a aplicação em matrizes reais.

### 3. MÉTODO DE CÁLCULO

O método de cálculo empregado no presente trabalho de tese, foi desenvolvido por Ivaska & Nagypal<sup>(64)</sup>, aqui denominado programa "VINHO".

O programa "VINHO" realiza dois tipos de cálculos.

- a)  $pK_a$  de ácidos fracos.
- b) concentração individual de ácidos em misturas.

O método de cálculo é baseado no seguinte sistema de equações:

Na titulação de uma mistura de ácidos fracos e fortes, a concentração total do íon hidrogênio titulável,  $T_H$  a cada ponto experimental pode ser expressa por dois diferentes caminhos.

- 1) Em termos de concentrações analíticas dos ácidos forte e fraco, e a concentração da base forte adicionada à solução:

$$T_{k,H} = \sum_{i=1}^n N_i T_{k,i} + [SA]_k - [SB]_k \quad (1)$$

onde

$T_{k,H}$  = concentração total do íon hidrogênio titulável

$n$  = número de ácidos fracos

$T_{k,i}$  = concentração do i-ésimo ácido fraco

$N_i$  = número total de prótons dissociáveis do i-ésimo ácido fraco

$[SA]_k$  = concentração do ácido forte

$[SB]_k$  = concentração da base forte acrescentada à solução

O subscrito  $k$  denota que a quantidade refere-se ao  $k$ ésimo ponto experimental.

Na titulação  $T_i$  e  $[SA]$  são alterados somente por diluição. Se o volume inicial da solução é  $V_o$  e o volume da base acrescentada é  $V_k$ , a equação (1) pode ser reescrita como:

$$T_{k,H} = \sum_{i=1}^n N_i \frac{V_o}{V_o + V_k} T_{o,i} + \frac{V_o}{V_o + V_k} [SA]_o - \frac{C_B V_k}{V_o + V_k} \quad (2)$$

onde  $C_B$  é a concentração da base e o subscrito  $o$ , se refere a quantidade no início da titulação, i.e.,  $k=0$ .

- 2) Se não há interação entre as diferentes formas protonadas de um ácido ou entre dois diferentes ácidos, ou seja, somente passos de protonação mononuclear ocorrem, então a soma do ligante e a concentração do íon hidrogênio livre pode ser expressa pela equação:

$$T_{k,H} = \sum_{i=1}^n \bar{n}_{k,i} \frac{V_o}{V_o + V_k} T_{o,i} + [H^+]_k - \frac{K_w}{[H^+]_k} \quad (3)$$

onde

$\bar{n}_{k,i}$  = número médio de prótons ligados à base conjugada do  $i$ ésimo ácido fraco

$K_w$  = produto iônico da água

Assim, quando o passo da dissociação é assumido,  $\bar{n}_{k,i}$  é de-



Essas equações são lineares em  $T_{o,i}$  e  $[SA]_o$ , assim a seguinte matriz pode ser escrita:

$$\begin{vmatrix} a_{1,1} & a_{1,2} & \dots & a_{1,n} & 1 \\ a_{2,1} & a_{2,2} & \dots & a_{2,n} & 1 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ a_{p,1} & a_{p,2} & \dots & a_{p,n} & 1 \end{vmatrix} \begin{vmatrix} T_{o,1} \\ \dots \\ T_{o,n} \\ [SA] \end{vmatrix} = \begin{vmatrix} b_1 \\ b_2 \\ \dots \\ b_p \end{vmatrix}$$

ou em geral:

$$A.X = B \quad (7)$$

onde os elementos na matriz A e nos vetores X e B são:

$$a_{k,i} = \frac{\sum_{j=0}^{N_i} (N_i - j) \beta_{j,i} [H^+]_k^j}{\sum_{j=0}^{N_i} \beta_{j,i} [H^+]_k^j} ; a_{k,n+1} = 1$$

$$x_i = T_{o,i}; x_{n+1} = [SA]_o \quad (8)$$

$$b_k = C_B \frac{V_k}{V_o} + \frac{V_o + V_k}{V_o} \left( [H^+]_k - \frac{K_w}{[H^+]_k} \right)$$

Usando um tratamento de mínimos quadrados, o qual envolve a solução da equação

$$(A^T.A).X = A^T.B \quad (9)$$

onde  $A^T$  é o inverso de  $A$ .

A equação (9) pode ser solucionada por métodos padrões para o vetor  $X$  e o desvio padrão,  $\sigma_x$ , de seus componentes:

$$X = (A^T.A)^{-1}(A^T.B)$$

$$\sigma_{x_i} = \sqrt{\frac{S}{p-(n+1)}} \sqrt{q_{i,i}} \quad (10)$$

$$\text{onde } S = \sum_{k=1}^p (b_k^{\text{exp}} - b_k^{\text{calc}})^2$$

e  $q_{i,i} = i$ , i-ésimo elemento da matriz  $(A^T.A)^{-1}$

Os valores de  $b_k^{\text{exp}}$  são obtidos com a equação (8) e  $b_k^{\text{calc}}$  é calculado pela equação (7) após os valores  $x_i$  serem obtidos da equação (10).

Esta aproximação para cálculos das concentrações é crucialmente dependente dos valores de  $\beta_{j,i}$ . O valor de  $\beta$  desconhecido é estimado pela equação (6), com  $n=1$ . Esta equação pode ser linearizada para valores de  $\beta$  por rearranjos apropriados:

$$\sum_{j=1}^N (j - \bar{n}_{k,H}) [H^+]_k^j \beta_j = \bar{n}_{k,H} \quad (11)$$

onde

$$\bar{n}_{k,H} = \frac{NT_0 + [SA]_0 - C_B \frac{V_k}{V_0} - \frac{V_0 + V_k}{V_0} ([H^+]_k - \frac{K_w}{[H^+]_k})}{T_0}$$

Os valores de  $\beta_j$  dado por esta linearização, contudo, nem sempre são aceitáveis sem novos refinamentos, porque elas não são funções lineares da base acrescentada. A linearização distorce o dado da medida experimental diferentemente em várias partes da curva de titulação. Os valores de  $\bar{n}_k$ , contudo, ao lado disso, nas faixas ácidas e básicas da curva de titulação, são linearmente relacionadas a quantidade de base acrescentada. Assim o uso da função não linear de Newton-Raphson para refinamento, minimiza a função e é também incluída no programa.

$$u = \sum_{k=1}^p \left( \bar{n}_{k,H} - \frac{\sum_{j=1}^N j \beta_j [H^+]_k^j}{\sum_{j=0}^N \beta_j [H^+]_k^j} \right)^2 \quad (12)$$

Os valores de partida para o refinamento da função de Newton-Raphson solucionam a equação (11). O problema da não linearidade não aumenta quando  $T_{0,i}$  e  $[SA]_0$  são calculados com a equação (10), uma vez que esses parâmetros são funções estritamente lineares da quantidade de base acrescentada.

## 4. PARTE EXPERIMENTAL

### 4.1. Aparelhagem

pHmetro Orion 701 A ou pHmetro Micronal B-375, ambos com precisão de 0,1 mV.

Eletrodo de vidro Metrohm E A 109.

Eletrodo de referência de dupla junção Orion nº 90-20 contendo solução saturada de KCl na parte externa.

Microbureta Metrohm E 457 (precisão de 5 microlitros).

Celas de titulação Metrohm de 40 ml, de paredes duplas que permitem circulação de água a temperatura controlada.

Microcomputador CP 500, acoplado à impressora P-700, ambos da PROLÓGICA.

### 4.2. Reagentes

Soluções de NaOH livre de  $\text{CO}_2$ , aproximadamente 0,1 M foram preparadas a partir do reagente de grau analítico da Grupo Química, conservadas em frascos de polietileno munidos com sifão e protegidos com tubos contendo ascarite a fim de se evitar contaminações atmosféricas. As soluções foram padronizadas com biftalato de potássio padrão acidimétrico da Fisher, de acordo com a literatura<sup>(65)</sup>.

Soluções de HCl aproximadamente 0,1 M foram preparadas a partir do reagente concentrado RPE da Carlo Erba e padronizadas com  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  padrão acidimétrico da Fisher.

Soluções de ácido tartárico aproximadamente 0,02 e 0,04 M foram preparadas a partir do reagente de grau analítico da Kodak Eastman, após recristalização em água e padronizadas com NaOH aproximadamente 0,1 M.

Soluções de ácido málico aproximadamente 0,010 e 0,015 M foram preparadas a partir do reagente de grau analítico da Carlo Erba, após recristalização em água e padronizadas com NaOH aproximadamente 0,1 M.

Soluções de ácido cítrico aproximadamente 0,01 e 0,03 M foram preparadas a partir do reagente de grau analítico da Fisher, após recristalização em água e padronizadas com NaOH aproximadamente 0,1 M.

Soluções de ácido succínico aproximadamente 0,01 e 0,02 M a partir de reagente de grau analítico da Carlo Erba e padronizadas com NaOH 0,1 M.

$\text{NaNO}_3$  de grau analítico da Merck foi utilizado para ajuste de força iônica do titulante e das soluções tituladas.

As demais soluções utilizadas nos procedimentos dos métodos comparativos de análise individual dos ácidos foram de grau analítico.

#### 4.3. Amostras

Antiácido: Sal de Fruta ENO (Laboratórios Beecham Ltda.).

Suco: Suco de Uva da Parmalat e Suco de Uva Natural preparado na Engenharia de Alimentos (Unicamp) e pausterizado.

Vinho: Conde de Foucauld (Carbenet Franc) safra de 1982.  
(Cooperativa Vinícola Aurora Ltda.)

#### 4.4. Meio Iônico

Tanto a solução titulante de NaOH, assim como todas as soluções tituladas, tiveram sua força iônica ajustada em 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ . A escolha deste sal para ajuste de força iônica das soluções, foi devido ao fato de que em soluções que continham ácido tartárico em meio iônico de KCl, quando estocadas a baixas temperaturas, cristalizavam sob a forma de bitartarato de potássio. Por outro lado, havia disponibilidade de  $\text{NaNO}_3$  em nosso laboratório, de sorte que tanto o íon  $\text{Na}^+$  como o íon  $\text{NO}_3^-$  são supostamente inertes, assim não formam compostos pouco dissociados com as espécies reagentes<sup>(66)</sup>.

#### 4.5. Procedimento Desenvolvido para Titulação do Antiácido

Transferir cerca de 5 g de amostra de antiácido para um frasco volumétrico de 500 ml e dissolver a amostra com água bidestilada. Retirar uma alíquota de 30 ml e acrescentar 30 ml de solução de ácido clorídrico 0,1 M, ferver por 1 minuto e transferir para um frasco volumétrico de 250 ml, contendo nitrato de sódio suficiente para tornar a solução final 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ . Transferir 30 ml dessa solução para cela de titulação e titular com NaOH 0,1 M e 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ .

#### 4.6. Procedimento para Titulação Reversa do Antiácido

Transferir 0,5 g de amostra de antiácido para um frasco volumétrico de 500 ml, dissolver com 50 ml de solução de NaOH 0,1 M, acrescentar nitrato de sódio para tornar a solução final 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ . Diluir até a marca com água destilada fervida. Transferir 30 ml dessa solução para cela de titulação e titular com ácido clorídrico 0,1 M e 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ .

#### 4.7. Procedimento para Separação dos Ácidos do Suco de Uva

É o procedimento proposto por Pato et al<sup>(67)</sup> com algumas modificações introduzidas nesta tese.

Transferir 10 ml de amostra de suco para um bequer de 250 ml, neutralizar com NaOH até viragem de cor da fenolftaleína. Acrescentar 2,5 ml de solução de cloreto de bário a 10%, 70 ml de álcool PA 95% (V/V). Completar com água destilada até 100 ml para tornar a solução final com um teor alcoólico de 66% (V/V). A suspensão é agitada por 5 minutos e deixada em repouso por 30 minutos para a formação do precipitado. A solução é então filtrada, usando solução alcóolica a 66%, neutralizada e contendo cloreto de bário para lavagem do precipitado. O precipitado é dissolvido com aproximadamente 95 a 98 ml de água a 10°C e filtrado para um frasco volumétrico de 100 ml, contendo 1 ml de HCl 1,0 M e nitrato de sódio suficiente para tornar 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ . 30 ml dessa solução é transferida para cela de titulação e titulada com solução de NaOH 0,1 M e 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ .

#### 4.8. Procedimento para Separação dos Ácidos do Vinho

Transferir 10 ml de amostra de vinho para um bequer de 250 ml, aquecer até próximo da secura. Colocar 10 ml de álcool PA a 95% (V/V) e repetir o procedimento. Acrescentar 10 ml de álcool a 95% (V/V), neutralizar com NaOH 0,1 M até viragem de cor da fenolftaleína. Acrescentar 2,5 ml de solução de cloreto de bário a 10%. Completar a 100 ml com álcool a 95%. Agitar a suspensão por 5 minutos e deixar em repouso no refrigerador por 3 horas. A solução é então filtrada, usando solução alcoólica a 70% (V/V), neutralizada e contendo cloreto de bário (mesma concentração usada na precipitação) para lavagem do precipitado. O precipitado é dissolvido com aproximadamente 95 ml de água fria e filtrado para um frasco de 100 ml, contendo 1 ml de HCl 1,0 M e nitrato de sódio suficiente para tornar a solução final 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ . 30 ml dessa solução é transferida para a cela de titulação e titulada com NaOH 0,1 M e 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$ .

OBSERVAÇÃO: Todas as misturas sintéticas dos ácidos, similares a amostras reais, sofreram os mesmos tratamentos a que foram submetidas as amostras.

#### 4.9. Calibração do Sistema de Eletrodos

A calibração do sistema de eletrodos foi feita titulando-se potenciometricamente soluções de ácido forte (ácido clorídrico) na presença de eletrólitos, com soluções padronizadas de base forte

com a mesma concentração de eletrólito.

É fato conhecido que o eletrodo de vidro responde à atividade de íons hidrogênio ao invés de concentração hidrogeniônica. Medidas dessas concentrações podem no entanto serem feitas através de calibrações desse eletrodo com soluções de concentração conhecida desde que os coeficientes de atividade sejam mantidos constantes, usando-se um meio iônico constante. Dessa maneira, pode-se relacionar potenciometricamente a concentração hidrogeniônica ao potencial medido  $E$  através das seguintes relações:

$$E = E'_{oa} + 59,16 \log[H^+] + E_j, \text{ a } 25^\circ\text{C} \quad (13)$$

$$E = E'_{ob} - 59,16 \log[OH^-] + E_j, \text{ a } 25^\circ\text{C} \quad (14)$$

$$E_j = j_H[H^+] + j_{OH}[OH^-] \quad (15)$$

Nessas equações,  $E'_o$  refere-se ao potencial formal padrão,  $E_j$  ao potencial de junção líquida e os parâmetros  $j_H$  e  $j_{OH}$  são constantes características do meio iônico<sup>(68)</sup>.

#### 4.9.1. Determinação do Volume de Equivalência

Os volumes de equivalência,  $V_e$ , foram determinados pelo método de Gran<sup>(24)</sup> através do gráfico da função  $(V_o + V)10^{E/59,16}$  vs.  $V$  para pontos da curva de titulação situados antes do ponto de equivalência, P.E.. O volume de equivalência corresponde ao ponto de in

tersecção da reta com o eixo V. Para pontos localizados após o P.E., o  $V_e$  é determinado pela intersecção com o eixo V da reta resultante do gráfico da função  $(V+V_0)10^{-E/59,16}$  vs. V.

Nas funções acima citadas,  $V_0$  refere-se ao volume inicial de solução titulada e V ao volume de titulante adicionado.

A figura 1 exemplifica o gráfico dessas funções vs. V antes e após o P.E., onde podemos observar que o volume de equivalência determinado para pontos da região ácida corresponde, dentro dos erros experimentais, àquele determinado para pontos localizados na região básica.

#### 4.9.2. Determinação da Concentração Hidrogeniônica

A concentração hidrogeniônica para pontos localizados antes do P.E. foi determinada através da seguinte equação:

$$[H^+] = \frac{(V_e - V) C_B}{V_0 + V} = C_{HCl} \quad (16)$$

#### 4.9.3. Determinação dos Parâmetros $j_H$ e $E'_{oa}$

Esses parâmetros podem ser determinados a partir dos dados obtidos nas titulações de uma quantidade conhecida de HCl com NaOH. Após adições de volumes V de base, os valores de E são medidos. Pelo gráfico da função  $E - 59,16 \log[H^+]$  vs.  $[H^+]$  para pontos da curva de titulação situados antes do P.E., obtém-se uma curva caractere

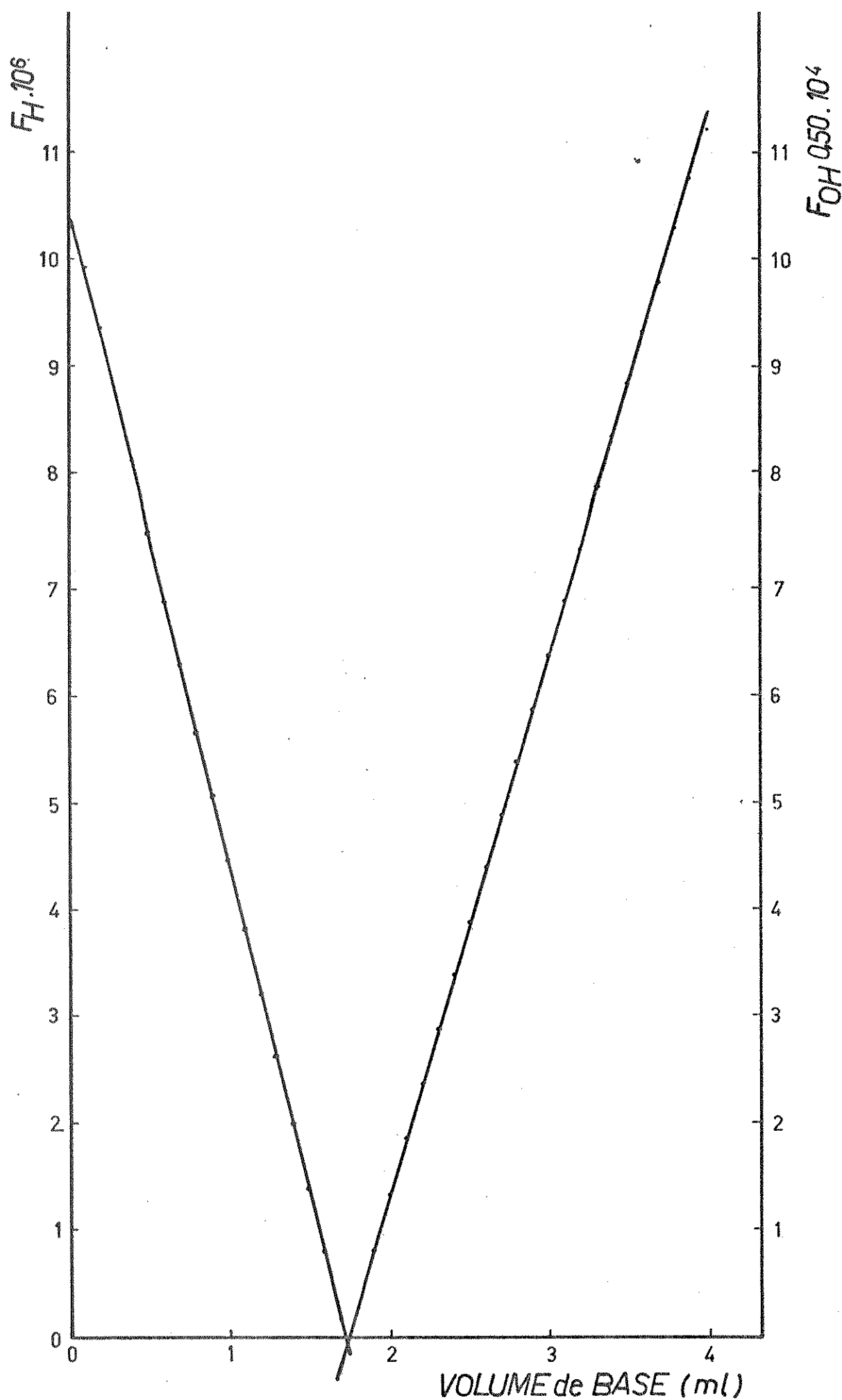


Figura 1 - Curva de titulação de 32,0 ml de solução de HCl com NaOH 0,1140 M, linearizada pelo método de Gran.  $I = 1,0$  M( $\text{NaNO}_3$ )

rizada por uma região retilínea cuja extrapolação intercepta o eixo  $y$  em  $(0, E'_{0a})$ . A inclinação desta reta corresponde a  $j_H$ . Esse método de determinação tem sido muito usado na literatura<sup>(50,55,66,68,69,70)</sup>. Pehrsson e colaboradores acreditam que variações de  $E'_0$  da ordem de décimos de mV podem ocorrer pela transferência do eletrodo de uma solução para outra. Esses pesquisadores desenvolveram um método que inclui regressão não linear, no qual o valor de  $E'_0$  pode ser usado, por diversos meses sem que seja necessária uma recalibração<sup>(68)</sup>. Dunsmore e Sillén observaram que esse parâmetro permanece praticamente constante de um dia para o outro, variando apenas cerca de 0,1 mV<sup>(69)</sup>. Segundo Johansson & Johansson quando  $E'_0$  varia, um erro constante  $\Delta E'_0$  introduz um erro  $\Delta pH$  em todos os valores de pH<sup>(55)</sup>. Desse modo,  $E'_0$  deve ser sempre determinado e nesse trabalho essa determinação foi feita para cada dia de titulação.

Em meio iônico constante, o potencial de junção líquida pode ser considerado dependente apenas da concentração hidrogeniônica. Em princípio, quanto maior a força iônica menor o potencial de junção, e, portanto, quando o seu valor é conhecido com pouca precisão, é conveniente usar-se um meio iônico concentrado<sup>(50)</sup>. O fator  $j_H$  que está relacionado a  $E_j$ , é função da composição do meio iônico e das condições do eletrodo de vidro. O par de eletrodos usado no trabalho de Johansson & Johansson apresentou um valor de  $j_H$  igual a  $-23 \text{ mV/mol } 1^{-1}$  que manteve-se constante por um período de diversos meses. Nesse trabalho o meio iônico usado foi  $\text{BaCl}_2$  0,5 M<sup>(70)</sup>.

A tabela 1 mostra os dados referentes à determinação de  $j_H$

TABELA 1 - Parâmetros Usados na Determinação da Função

$$E = 59,16 \log[H^+]$$

| E (mV) | V (ml) | $[H^+] \cdot 10^{-3} \text{ M}$ | E-59,16 $\log[H^+]$ |
|--------|--------|---------------------------------|---------------------|
| 326,5  | 0,000  | 6,145                           | 457,3               |
| 323,2  | 0,200  | 5,399                           | 457,3               |
| 321,3  | 0,300  | 5,029                           | 457,3               |
| 319,4  | 0,400  | 4,662                           | 457,3               |
| 317,3  | 0,500  | 4,297                           | 457,3               |
| 315,0  | 0,600  | 3,934                           | 457,3               |
| 312,6  | 0,700  | 3,573                           | 457,3               |
| 309,8  | 0,800  | 3,215                           | 457,3               |
| 306,9  | 0,900  | 2,859                           | 457,3               |
| 303,5  | 1,000  | 2,505                           | 457,4               |
| 299,5  | 1,101  | 2,149                           | 457,3               |
| 295,0  | 1,200  | 1,803                           | 457,3               |
| 289,6  | 1,300  | 1,455                           | 457,3               |
| 282,6  | 1,400  | 1,109                           | 457,3               |
| 273,2  | 1,500  | 0,766                           | 457,5               |
| 258,4  | 1,600  | 0,424                           | 457,9               |
| 220,6  | 1,700  | 0,085                           | 461,4               |

$V_O = 32,00 \text{ ml}$ ;  $V_e = 1,727$ ;  $C_B = 0,1140 \text{ M}$ ;  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$ .

e  $E'_{oa}$  em força iônica 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$  para a titulação exemplificada. A curva apresentada na figura 2 foi obtida pelo gráfico de  $E - 59,16 \log[\text{H}^+] \text{ vs. } [\text{H}^+]$ . Nessa condições de força iônica, o valor de  $j_H$  encontrado foi 0,0 mV/M. Em cerca de 95% das calibrações do sistema de eletrodos, por nós realizados para cada dia de titulação, o valor obtido para  $j_H$  foi de 0,0 mV/M, mas com variação pequena de  $E'_{oa}$ , quase sempre compensada pela pequena variação em  $E'_{ob}$ .

#### 4.9.4. Determinação dos Parâmetros $j_{OH}$ e $E'_{ob}$

O valor de  $E'_o$  em solução ácida,  $E'_{oa}$ , difere de diversos mV daquele em solução alcalina,  $E'_{ob}$ . Ciavata explica essa variação devido à dissolução da camada protetora de sílica hidratada formada em soluções ácidas. A dissolução dessa camada que recobre a superfície do eletrodo de vidro, ocorre a valores de pH superiores a 7,0 e portanto há uma modificação da superfície da membrana de vidro que está em contacto com a solução teste<sup>(71)</sup>.

A determinação de  $j_{OH}$  e  $E'_{ob}$  é semelhante à determinação de  $j_H$  e  $E'_{oa}$ . Um gráfico da função  $E + 59,16 \log[\text{OH}^-] \text{ vs. } [\text{OH}^-]$  para pontos após o ponto de equivalência, origina uma curva cuja região retilínea extrapolada ao eixo y dá o valor de  $E'_{ob}$  como intersecção. O valor de  $j_{OH}$  corresponde à inclinação dessa reta.

A tabela 2 apresenta os dados referentes à determinação de  $j_{OH}$  e  $E'_{ob}$  para titulação em  $\text{NaNO}_3$  1,0 M. A figura 3 refere-se ao gráfico da função  $E + 59,16 \log[\text{OH}^-] \text{ vs. } [\text{OH}^-]$ . A concentração de íons hidroxila foi determinada através da seguinte relação:

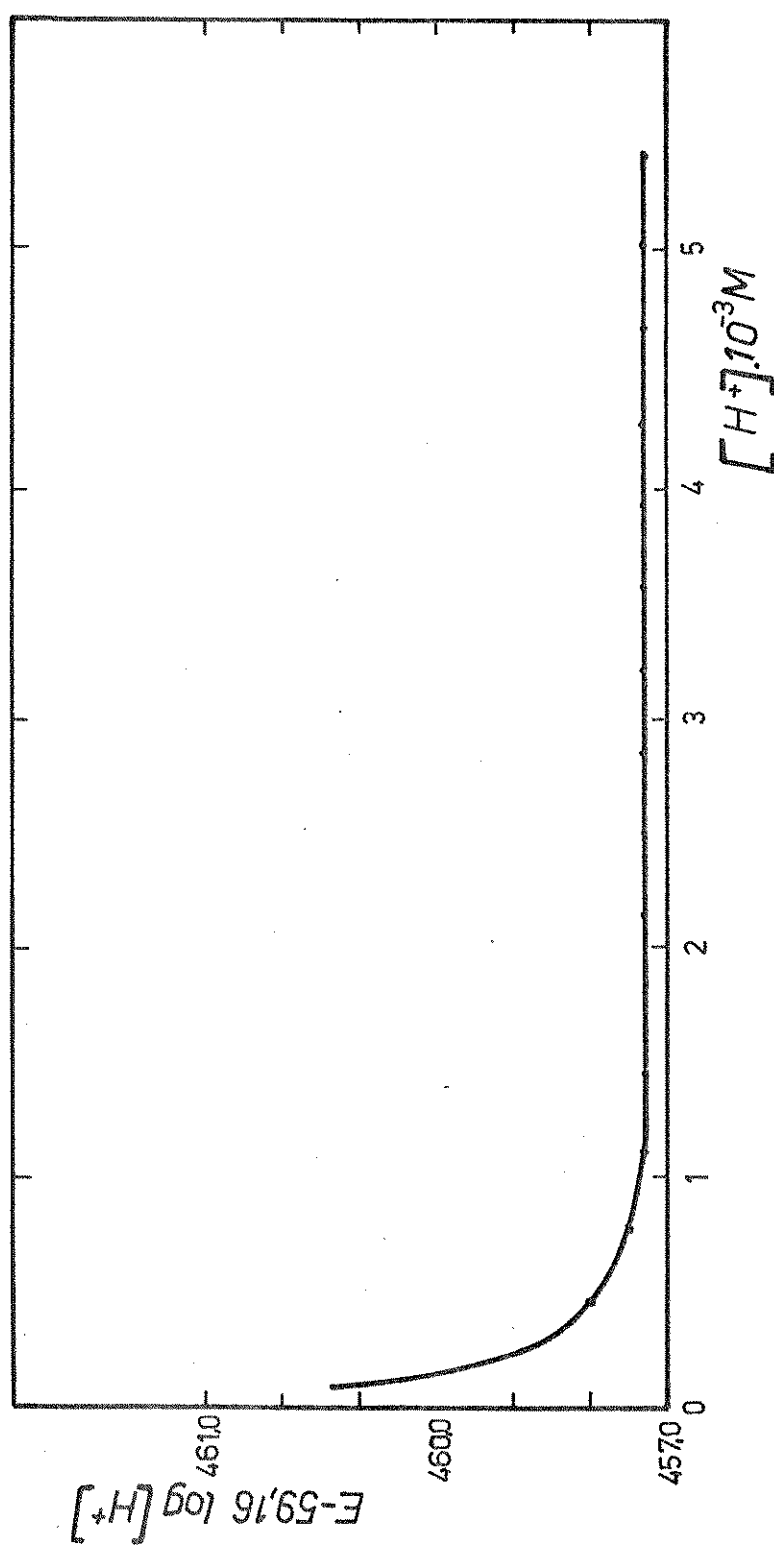


Figura 2 - Curva obtida pelo gráfico da função E-59,16  $\log [H^+]$  vs.  $[H^+]$ .

I = 1,0 M ( $\text{NaNO}_3$ ).

TABELA 2 - Parâmetros Usados na Determinação da Função

$$E + 59,16 \log[\text{OH}^-]$$

| E (mV) | V (ml) | $[\text{OH}^-] \cdot 10^{-3} \text{M}$ | $E + 59,16 \log[\text{OH}^-]$ |
|--------|--------|----------------------------------------|-------------------------------|
| -158,0 | 1,900  | 0,586                                  | -349,2                        |
| -171,1 | 2,000  | 0,922                                  | -350,7                        |
| -179,6 | 2,100  | 1,254                                  | -351,3                        |
| -185,8 | 2,200  | 1,583                                  | -351,5                        |
| -190,8 | 2,300  | 1,911                                  | -351,6                        |
| -194,9 | 2,400  | 2,237                                  | -351,7                        |
| -198,3 | 2,500  | 2,561                                  | -351,6                        |
| -201,4 | 2,600  | 2,883                                  | -351,7                        |
| -204,1 | 2,700  | 3,203                                  | -351,7                        |
| -206,5 | 2,800  | 3,522                                  | -351,6                        |
| -208,7 | 2,900  | 3,838                                  | -351,7                        |
| -210,7 | 3,000  | 4,153                                  | -351,6                        |
| -212,6 | 3,100  | 4,466                                  | -351,6                        |
| -214,3 | 3,200  | 4,777                                  | -351,6                        |
| -215,9 | 3,300  | 5,086                                  | -351,6                        |
| -217,3 | 3,400  | 5,394                                  | -351,5                        |
| -218,7 | 3,500  | 5,700                                  | -351,5                        |
| -220,0 | 3,600  | 6,004                                  | -351,4                        |

$V_0 = 32,00$ ;  $V_e = 1,727$ ;  $C_B = 0,1140 \text{ M}$ ;  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$ .

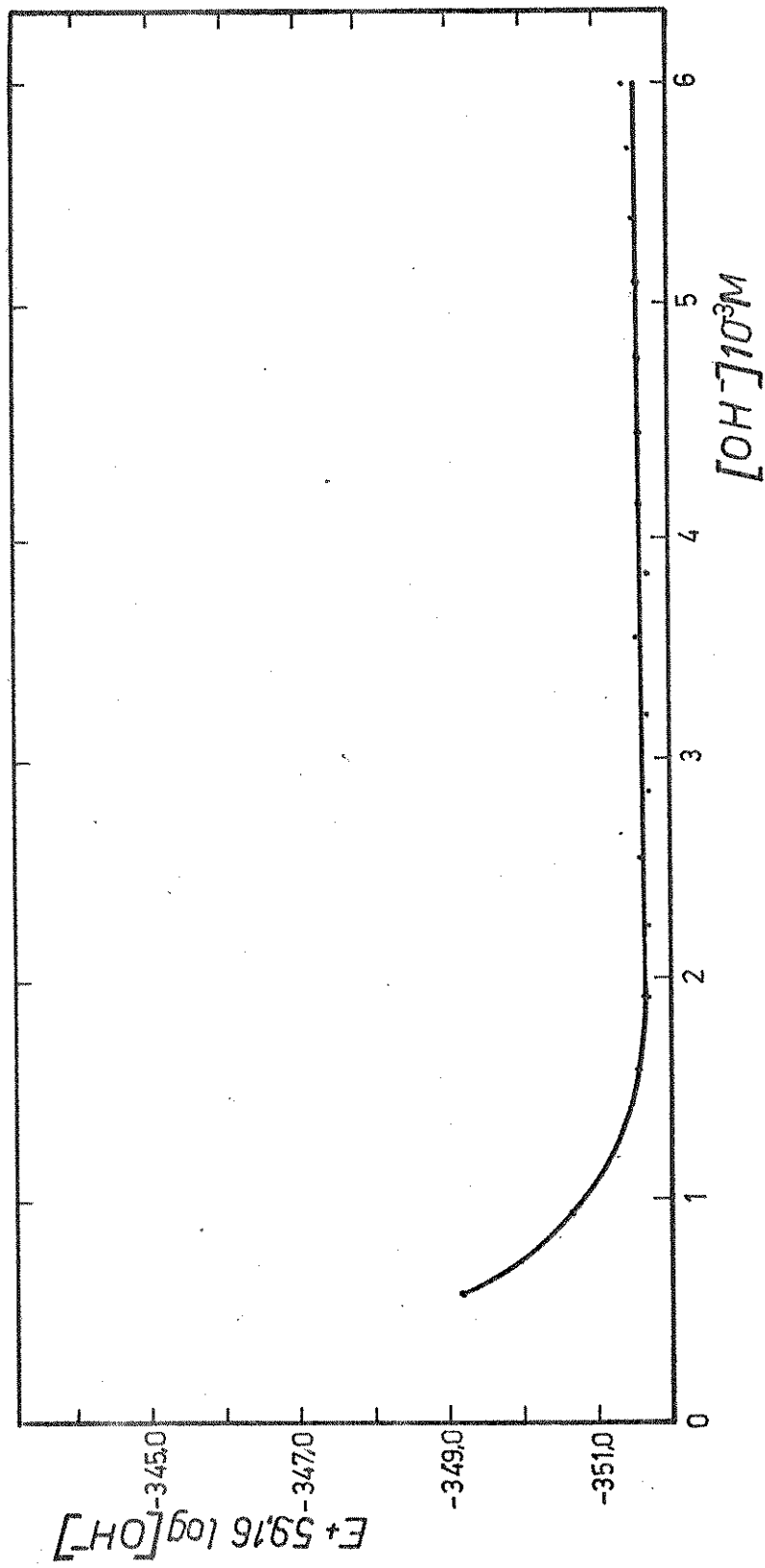


Figura 3 - Curva obtida pelo gráfico da função  $E + 59,16 \log[\text{OH}^-]$  vs.  $[\text{OH}^-]$ .  
I = 1,0 M ( $\text{NaNO}_3$ )

$$[\text{OH}^-] = \frac{(V - V_e) C_B}{V_o + V} \quad (17)$$

No exemplo tomado, o valor encontrado para  $j_{\text{OH}}$  foi de 0,0 mV/M. Convém salientar que o valor de  $j_{\text{OH}}$  foi sempre variável em todas as calibrações, de sorte que os pontos utilizados nos cálculos eram somente os da faixa ácida.

Salientamos ainda que os parâmetros  $j_{\text{OH}}$ ,  $E'_{\text{ob}}$ ,  $V_e$ ,  $E'_{\text{oa}}$  e  $j_{\text{H}}$  não foram determinados graficamente, porém através do método dos mínimos quadrados, usando-se um programa simples em linguagem basic, para o microcomputador CP 500 da PROLÓGICA.

#### 4.10. Determinação do Produto Iônico da Água

O produto iônico da água,  $K_w$ , foi determinado segundo procedimento da literatura<sup>(68,72)</sup>, usando-se a seguinte equação:

$$-\log K_w = \frac{E'_{\text{oa}} - E'_{\text{ob}}}{59,16} \quad (18)$$

No exemplo apresentado para calibração do sistema de eletrodos, o  $pK_w$  encontrado foi de 13,67 e o  $K_w$  de  $2,138 \cdot 10^{-14}$ . Este valor de  $pK_w$  é o valor médio de todas as medidas, com desvio de  $\pm 0,01$ .

#### 4.11. Procedimento das Titulações

Previamente foram feitas calibrações do sistema de eletro-

dos através de titulações de soluções de ácido clorídrico nas mesmas condições de temperatura, e meio iônico ( $\text{NaNO}_3$  1,0 M). Em seguida, conforme o caso, solução individual de ácido, solução sintética de misturas de ácidos e soluções de amostras reais, todas em meio iônico 1,0 M em  $\text{NaNO}_3$  foram adicionadas a um frasco de titulação fechado. A temperatura foi mantida constante a  $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$  por circulação de água termostatzada na parte externa do frasco de titulação. Durante as titulações foi mantido um fluxo de  $\text{N}_2$  livre de  $\text{CO}_2$  sobre as superfícies das soluções tituladas. O frasco de titulação permaneceu fechado durante as medidas, tendo contato com a atmosfera apenas pelo orifício destinado ao escape de  $\text{N}_2$ . As adições de NaOH usado como titulante foram feitas através de uma microbureta e após cada adição foram medidos os potenciais. Os dados de potenciais medidos são transformados em pH, utilizando-se os dados de calibração dos eletrodos. Os dados de volume inicial,  $V_0$  da solução titulada, concentração do ácido (em caso de determinação de  $\text{pK}_a$  dos ácidos) ou valores de  $\text{pK}_a$  e número de ácidos presentes (em caso de determinação de concentrações dos ácidos), concentração do titulante, produto iônico da água e os pares de valores do volume do titulante e pH são colocados no programa VINHO, o qual imprime os resultados de  $\text{pK}_a$  ou de concentrações dos ácidos.

#### 4.12. Análise dos Ácidos por Outros Métodos

##### 4.12.1. Amostra de Antiácido

O ácido tartárico foi determinado pelo procedimento baseado na sua precipitação sob a forma de bitartarato de potássio seguida de titulação com NaOH<sup>(73)</sup>.

O ácido cítrico foi determinado gravimetricamente sob a forma de pentabromoacetona<sup>(74)</sup>.

Carbonato total foi confirmado pela precipitação com cloreto de bário, dissolução em solução de ácido clorídrico 0,1 M e titulação com solução de hidróxido de sódio 0,1 M. Antes da titulação a solução foi fervida, para eliminar o dióxido de carbono<sup>(75)</sup>.

#### 4.12.2. Amostras de Suco de Uva

Na amostra de suco preparada confirmou-se a presença, através de cromatografia gasosa<sup>(76,77)</sup>, dos ácidos tartárico e málico.

Na amostra de suco de uva comercial (Parmalat), confirmou-se a presença dos ácidos tartárico e málico através de técnica de cromatografia em papel<sup>(78)</sup>.

Os procedimentos de referência empregados nas análises dos ácidos tartárico e málico nos sucos de uva, foram baseados nos métodos da A.O.A.C.<sup>(73)</sup>. De acordo com esses métodos, ácido tartárico é determinado gravimetricamente sob a forma de bitartarato de potássio, seguida de titulação com NaOH e o ácido málico é determinado por titulação alcalimétrica, após ter sido separado de outros ácidos em coluna de ácido silícico. Esses métodos incluem prévia separação de pectina, precipitação dos ácidos carboxílicos com sal de chumbo e deslocamento dos ácidos carboxílicos com gás sulfídrico.

#### 4.12.3. Amostra de Vinho

Identificação dos ácidos presentes através de cromatografia em papel<sup>(78)</sup>.

Determinação do teor de ácido tartárico conforme 4.12.2.

Determinação do ácido succínico foi feita pelo método de Peynaud & Lafon por titulação potenciométrica<sup>(79)</sup>.

## 5. DETERMINAÇÃO DOS VALORES DE $pK_a$ DOS ÁCIDOS FRACOS

Para se determinar as concentrações individuais dos ácidos em misturas de ácidos, utilizando-se o programa linear algébrico<sup>(64)</sup>, há necessidade de se conhecer com exatidão os valores de  $pK_a$  dos ácidos fracos presentes, nas mesmas condições de força iônica e temperatura. O que foi feito no presente trabalho, para os ácidos tartárico, málico, cítrico, succínico e carbônico.

Para cálculo dos valores de  $pK_a$  dos ácidos, utilizou-se soluções padronizadas de cada ácido em meio iônico de nitrato de sódio 1,0 M. Após titulações potenciométricas individuais, os cálculos foram feitos através de programa computacional<sup>(64)</sup>, utilizando os dados de: volume inicial da solução, concentração do ácido fraco, do ácido forte (quando houver) e do titulante, produto iônico da água e os pares de valores do volume do titulante e pH.

As tabelas 3, 4, 5, 6 e 7 exemplificam os modelos de cálculo das constantes de dissociação dos ácidos tartárico, málico, cítrico, succínico e carbônico, respectivamente.

Vale salientar que na tabela 7, que exemplifica o cálculo das constantes de protonação para o ácido carbônico, o que aparece calculado são os valores de  $pK_b$  do ácido carbônico.

A tabela 8 mostra os resultados obtidos para os valores de  $pK_a$  dos ácidos tartárico, málico, cítrico, succínico e carbônico no presente trabalho com seus desvios padrões. Os resultados são os logaritmos negativos da média das constantes de dissociação.

A tabela 9 mostra os dados encontrados na literatura para os mesmos ácidos em força iônica 1,0 M sem especificação do sal usado para ajuste de força iônica.

TABELA 3 - Resultado do Cálculo de  $pK_a$  para Ácido Tartárico na Presença de Ácido Forte (exemplificativo)  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$   
Temperatura =  $25,0^\circ\text{C}$

|                                                   |                  |                   |              |
|---------------------------------------------------|------------------|-------------------|--------------|
| Cálculo da Constante de Protonação                |                  |                   |              |
| Volume inicial = 32                               |                  |                   |              |
| Concentração da base (ou ácido) = .1101           |                  |                   |              |
| Produto iônico da água = 2.188E-14                |                  |                   |              |
| Concentração do ligante = 3.028E-03               |                  |                   |              |
| Concentração do ácido (ou base) forte = 7.263E-03 |                  |                   |              |
| Correção de pH = 0                                |                  |                   |              |
| Número de interações não lineares = 3             |                  |                   |              |
| LOGBETA                                           |                  | DESVIO PADRÃO     |              |
| 1                                                 | 3.65951          | .0458757          |              |
| 2                                                 | 6.37999          | 8.5131E-03        |              |
| VALORES DE pK                                     |                  |                   |              |
| 1                                                 | 2.72048          |                   |              |
| 2                                                 | 3.65951          |                   |              |
| CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA         |                  |                   |              |
| pH                                                | V <sub>exp</sub> | V <sub>teor</sub> | DV           |
| 2.309                                             | 0.900            | 0.90819           | 0.819177E-02 |
| 2.323                                             | 0.950            | 0.95926           | 0.925774E-02 |
| 2.338                                             | 1.001            | 1.01268           | 0.116810E-01 |
| 2.351                                             | 1.050            | 1.05793           | 0.793243E-02 |
| 2.365                                             | 1.100            | 1.10561           | 0.560868E-02 |
| 2.380                                             | 1.150            | 1.15551           | 0.551081E-02 |
| 2.395                                             | 1.201            | 1.20423           | 0.323224E-02 |
| 2.410                                             | 1.250            | 1.25181           | 0.181055E-02 |
| 2.425                                             | 1.300            | 1.29828           | -.171876E-02 |
| 2.442                                             | 1.350            | 1.34966           | -.343323E-03 |
| 2.459                                             | 1.400            | 1.39971           | -.291824E-03 |
| 2.457                                             | 1.450            | 1.44565           | -.435066E-02 |
| 2.494                                             | 1.500            | 1.49879           | -.120628E-02 |
| 2.512                                             | 1.550            | 1.54778           | -.221932E-02 |
| 2.531                                             | 1.600            | 1.59811           | -.188553E-02 |
| 2.549                                             | 1.650            | 1.64455           | -.545359E-02 |
| 2.570                                             | 1.700            | 1.69725           | -.275457E-02 |
| 3.119                                             | 2.700            | 2.69334           | -.665736E-02 |
| 3.156                                             | 2.750            | 2.74285           | -.714684E-02 |
| 3.195                                             | 2.800            | 2.79342           | -.657749E-02 |
| 3.235                                             | 2.850            | 2.84365           | -.634551E-02 |
| 3.278                                             | 2.900            | 2.89590           | -.409937E-02 |
| 3.320                                             | 2.950            | 2.94526           | -.474167E-02 |
| 3.364                                             | 3.000            | 2.99526           | -.473666E-02 |
| 3.411                                             | 3.050            | 3.04682           | -.317979E-02 |
| 3.460                                             | 3.100            | 3.09858           | -.141573E-02 |
| 3.511                                             | 3.150            | 3.15035           | 0.352621E-03 |
| 3.563                                             | 3.200            | 3.20095           | 0.949621E-03 |
| 3.619                                             | 3.250            | 3.25298           | 0.298429E-02 |
| 3.675                                             | 3.300            | 3.30247           | 0.247121E-02 |
| 3.737                                             | 3.351            | 3.35428           | 0.327516E-02 |
| 3.801                                             | 3.400            | 3.40444           | 0.444126E-02 |
| 4.035                                             | 3.550            | 3.55923           | 0.923109E-02 |
| 4.249                                             | 3.650            | 3.66320           | 0.131958E-01 |
| 4.897                                             | 3.800            | 3.81820           | 0.182018E-01 |
| 5.946                                             | 3.850            | 3.86620           | 0.162041E-01 |
| DESVIO PADRÃO = 6.96538E-03                       |                  |                   |              |

TABELA 4 - Resultado do Cálculo de  $pK_a$  para Ácido Máfico na Presen  
ça de Ácido Forte (exemplificativo)  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$   
Temperatura =  $25,0^\circ\text{C}$

|                                           |                  |                   |              |
|-------------------------------------------|------------------|-------------------|--------------|
| Cálculo da Constante de Protonação        |                  |                   |              |
| Volume inicial = 32                       |                  |                   |              |
| Concentração da base (ou ácido) = .1087   |                  |                   |              |
| Produto iônico da água = 2.254E-14        |                  |                   |              |
| Concentração do ligante = 3.062E-03       |                  |                   |              |
| Concentração do ácido (ou base) forte = 0 |                  |                   |              |
| Correção de pH = 0                        |                  |                   |              |
| Número de interações não lineares = 2     |                  |                   |              |
| LOGBETA                                   |                  | DESVIO PADRÃO     |              |
| 1                                         | 4.42619          | .0159781          |              |
| 2                                         | 7.55673          | 3.87672E-04       |              |
| Valores de pK                             |                  |                   |              |
| 1                                         | 3.13054          |                   |              |
| 2                                         | 4.42619          |                   |              |
| CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA |                  |                   |              |
| pH                                        | V <sub>exp</sub> | V <sub>teor</sub> | DV           |
| 2.917                                     | 0.000            | 0.00263           | 0.263382E-02 |
| 2.953                                     | 0.050            | 0.05041           | 0.414256E-03 |
| 2.992                                     | 0.100            | 0.10034           | 0.335015E-03 |
| 3.032                                     | 0.150            | 0.14971           | -.293896E-03 |
| 3.074                                     | 0.200            | 0.19971           | -.285745E-03 |
| 3.118                                     | 0.250            | 0.25025           | 0.251085E-03 |
| 3.162                                     | 0.300            | 0.29904           | -.062705E-03 |
| 3.210                                     | 0.350            | 0.35041           | 0.406444E-03 |
| 3.259                                     | 0.400            | 0.40100           | 0.995249E-03 |
| 3.308                                     | 0.450            | 0.44984           | -.159085E-03 |
| 3.360                                     | 0.500            | 0.49990           | -.100434E-03 |
| 3.414                                     | 0.550            | 0.55008           | 0.795126E-04 |
| 3.470                                     | 0.601            | 0.06632           | -.679433E-03 |
| 3.526                                     | 0.650            | 0.64888           | -.111884E-02 |
| 3.587                                     | 0.700            | 0.70005           | 0.452995E-04 |
| 3.647                                     | 0.750            | 0.74880           | -.119948E-02 |
| 3.712                                     | 0.800            | 0.80009           | 0.917012E-04 |
| 3.776                                     | 0.850            | 0.84928           | -.723183E-03 |
| 3.843                                     | 0.900            | 0.89961           | -.386059E-03 |
| 3.911                                     | 0.950            | 0.94973           | -.267804E-03 |
| 3.980                                     | 1.000            | 0.99979           | -.208139E-03 |
| 4.050                                     | 1.050            | 1.04991           | -.886917E-04 |
| 4.121                                     | 1.100            | 1.10014           | 0.139356E-03 |
| 4.192                                     | 1.150            | 1.14975           | -.248551E-03 |
| 4.264                                     | 1.200            | 1.19933           | -.667691E-03 |
| 4.339                                     | 1.250            | 1.25000           | -.190735E-05 |
| 4.415                                     | 1.300            | 1.30003           | 0.262260E-04 |
| 4.494                                     | 1.350            | 1.35025           | 0.246525E-03 |
| 4.577                                     | 1.400            | 1.40060           | 0.598192E-03 |
| 4.665                                     | 1.450            | 1.45078           | 0.778318E-03 |
| 4.760                                     | 1.500            | 1.50073           | 0.730634E-03 |
| 4.868                                     | 1.551            | 1.55171           | 0.713229E-03 |
| 4.986                                     | 1.600            | 1.60009           | 0.852347E-04 |
| 5.135                                     | 1.650            | 1.65047           | 0.468254E-03 |
| 5.378                                     | 1.710            | 1.70997           | -.343323E-04 |
| 5.635                                     | 1.750            | 1.74931           | -.690580E-03 |
| 6.188                                     | 1.790            | 1.78728           | -.271821E-02 |
| DESVIO PADRÃO = 8.31895E-04               |                  |                   |              |

TABELA 5- Resultado do Cálculo de  $pK_a$  para Ácido Cítrico na Presen  
ça de Ácido Forte (exemplificativo)  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$   
Temperatura =  $25,0^\circ\text{C}$

Cálculo da Constante de Protonação

Volume inicial = 32

Concentração da base (ou ácido) = .133

Produto iônico da água =  $2.173\text{E}-14$

Concentração do ligante =  $2.752\text{E}-03$

Concentração do ácido (ou base) forte =  $6.401\text{E}-03$

Correção de pH = 0

Número de interações não lineares = 3

LOGBETA

DESVIO PADRÃO

|   |         |          |
|---|---------|----------|
| 1 | 5.1262  | .0173167 |
| 2 | 9.17387 | .0166412 |
| 3 | 11.9325 | .0476028 |

Valores de  $pK$

|   |         |
|---|---------|
| 1 | 2.7586  |
| 2 | 4.04767 |
| 3 | 5.1262  |

CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA

| pH    | $V_{\text{exp}}$ | $V_{\text{teor}}$ | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 2.787 | 1.500            | 1.49794           | -.206041E-02 |
| 2.863 | 1.600            | 1.59841           | -.158763E-02 |
| 2.949 | 1.700            | 1.70068           | 0.681400E-03 |
| 3.042 | 1.800            | 1.79972           | -.280976E-03 |
| 3.149 | 1.900            | 1.90138           | 0.137877E-02 |
| 3.269 | 2.001            | 2.00292           | 0.192285E-02 |
| 3.397 | 2.100            | 2.10032           | 0.323534E-03 |
| 3.541 | 2.200            | 2.20073           | 0.733614E-03 |
| 3.693 | 2.300            | 2.30056           | 0.564575E-03 |
| 3.850 | 2.400            | 2.40060           | 0.602722E-03 |
| 4.007 | 2.500            | 2.49946           | -.541687E-03 |
| 4.168 | 2.600            | 2.60001           | 0.143051E-04 |
| 4.330 | 2.700            | 2.69984           | -.161886E-03 |
| 4.494 | 2.800            | 2.79888           | -.111699E-02 |
| 4.663 | 2.900            | 2.89851           | -.149202E-02 |
| 4.839 | 3.000            | 2.99927           | -.728846E-03 |
| 5.023 | 3.100            | 6.09999           | -.667572E-05 |
| 5.221 | 3.200            | 3.19978           | -.216007E-03 |
| 5.458 | 3.300            | 3.30152           | 0.152493E-02 |
| 5.779 | 3.400            | 3.40152           | 0.151610E-02 |
| 6.587 | 3.500            | 3.50417           | 0.417423E-02 |

DESVIO PADRÃO =  $1.50281\text{E}-03$

TABELA 6- Resultado do Cálculo de  $pK_a$  para Ácido Succínico na Presença de Ácido Forte (exemplificativo)  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$   
Temperatura =  $25,0^\circ\text{C}$

Cálculo da Constante de Protonação.

Volume inicial = 30

Concentração da base (ou ácido) = .127

Produto iônico da água =  $2.483\text{E}-14$

Concentração do ligante =  $4.064\text{E}-03$

Concentração do ácido (ou base) forte = 0

Correção de pH = 0

Número de interações não lineares = 2

LOGBETA

DESVIO PADRÃO

|   |         |             |
|---|---------|-------------|
| 1 | 5.03791 | .0184533    |
| 2 | 8.94606 | 7.57885E-04 |

Valores de  $pK$

1 3.90815

2 5.03791

CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA

| pH    | $V_{\text{exp}}$ | $V_{\text{teor}}$ | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 3.261 | 0.050            | 0.05215           | 0.215018E-02 |
| 3.337 | 0.100            | 0.10128           | 0.127964E-02 |
| 3.415 | 0.150            | 0.15182           | 0.182410E-02 |
| 3.490 | 0.200            | 0.20115           | 0.115485E-02 |
| 3.564 | 0.250            | 0.25096           | 0.062109E-03 |
| 3.637 | 0.300            | 0.30147           | 0.146782E-02 |
| 3.706 | 0.350            | 0.35058           | 0.575244E-03 |
| 3.774 | 0.400            | 0.40028           | 0.282645E-03 |
| 3.840 | 0.450            | 0.44970           | -.295162E-03 |
| 3.906 | 0.500            | 0.55016           | 0.159502E-03 |
| 3.972 | 0.550            | 0.55148           | 0.148284E-02 |
| 4.034 | 0.601            | 0.60032           | -.679135E-03 |
| 4.097 | 0.650            | 0.65040           | 0.402093E-03 |
| 4.158 | 0.700            | 0.69918           | -.816405E-03 |
| 4.220 | 0.750            | 0.74893           | -.107121E-02 |
| 4.283 | 0.800            | 0.79954           | -.464141E-03 |
| 4.345 | 0.851            | 0.84932           | -.168407E-02 |
| 4.408 | 0.900            | 0.89981           | -.187397E-03 |
| 4.469 | 0.950            | 0.94858           | -.141817E-02 |
| 4.531 | 1.000            | 0.99799           | -.200945E-02 |
| 4.596 | 1.050            | 1.04958           | -.425100E-03 |
| 4.658 | 1.100            | 1.09852           | -.147843E-02 |
| 4.722 | 1.150            | 1.14870           | -.129700E-02 |
| 4.787 | 1.200            | 1.19919           | -.805974E-03 |
| 4.851 | 1.250            | 1.24829           | -.171173E-02 |
| 4.919 | 1.300            | 1.29956           | -.435948E-03 |
| 4.986 | 1.350            | 1.34894           | -.105739E-02 |
| 5.055 | 1.400            | 1.39831           | -.168598E-02 |
| 5.130 | 1.450            | 1.44991           | -.857115E-04 |
| 5.206 | 1.500            | 1.49963           | -.374079E-03 |
| 5.289 | 1.550            | 1.55054           | 0.540495E-03 |
| 5.378 | 1.600            | 1.60082           | 0.820041E-03 |
| 5.480 | 1.650            | 1.65261           | 0.260520E-02 |
| 5.595 | 1.700            | 1.70336           | 0.336146E-02 |
| 5.735 | 1.750            | 1.75459           | 0.459135E-02 |
| 5.919 | 1.800            | 1.80609           | 0.609100E-02 |
| 6.201 | 1.850            | 1.85754           | 0.753760E-02 |
| 6.993 | 1.900            | 1.90949           | 0.948942E-02 |

DESVIO PADRÃO =  $2.70965\text{E}-03$

TABELA 7- Resultado do Cálculo de  $pK_b$  para Carbonato de Sódio na Presença de Base Forte (exemplificativo)  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$   
Temperatura =  $25,0^\circ\text{C}$

---

Cálculo da Constante de Protonação

Volume inicial = 30.22

Concentração da base (ou ácido) = .103

Produto iônico da água =  $2.307\text{E-}14$

Concentração do ligante =  $2.708\text{E-}03$

Concentração do ácido (ou base) forte = 0

Correção de pH = 0

Número de interações não lineares = 2

LOGBETA

DESVIO PADRÃO

1 7.75055 7.77377E-03

2 12.1303 .0122931

Valores de  $pK$

1 4.37978

2 7.75055

CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA

| pH    | $V_{\text{exp}}$ | $V_{\text{teor}}$ | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 3.899 | 0.150            | 0.16021           | 0.102088E-01 |
| 3.999 | 0.200            | 0.20393           | 0.393163E-02 |
| 4.097 | 0.250            | 0.24875           | -.124896E-02 |
| 4.193 | 0.300            | 0.29427           | -.572989E-02 |
| 5.607 | 0.500            | 0.49200           | -.800294E-02 |
| 4.732 | 0.550            | 0.54522           | -.477916E-02 |
| 4.886 | 0.601            | 0.60284           | 0.183761E-02 |
| 5.075 | 0.650            | 0.66025           | 0.102510E-01 |
| 7.019 | 0.900            | 0.91714           | 0.171385E-01 |
| 7.173 | 0.950            | 0.95958           | 0.958478E-02 |
| 7.305 | 1.000            | 1.00343           | 0.342691E-02 |
| 7.428 | 1.050            | 1.50523           | 0.227094E-03 |
| 7.540 | 1.100            | 1.09709           | -.290668E-02 |
| 7.650 | 1.151            | 1.14596           | -.503635E-02 |
| 7.755 | 1.200            | 1.19396           | -.603664E-02 |
| 7.864 | 1.250            | 1.24371           | -.628841E-02 |
| 7.981 | 1.300            | 1.29533           | -.467050E-02 |
| 8.111 | 1.350            | 1.34862           | -.137973E-02 |
| 8.262 | 1.400            | 1.40321           | 0.320542E-02 |
| 8.454 | 1.451            | 1.45976           | 0.875545E-02 |

DESVIO PADRÃO =  $7.33053\text{E-}03$

TABELA 8- Valores de  $pK_a$  Obtidos (com seus desvios padrões) para os Ácidos Tartárico, Málico, Cítrico, Succínico e Carbônico. Temperatura =  $25,0^{\circ}\text{C}$  e  $I = 1,0 \text{ M}(\text{NaNO}_3)$ .

| Ácido                  | $pK_1$            | $pK_2$            | $pK_3$            |
|------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Tartárico <sup>a</sup> | $2,718 \pm 0,002$ | $3,659 \pm 0,004$ |                   |
| Málico <sup>a</sup>    | $3,133 \pm 0,004$ | $4,426 \pm 0,001$ |                   |
| Cítrico <sup>a</sup>   | $2,759 \pm 0,009$ | $4,051 \pm 0,005$ | $5,122 \pm 0,007$ |
| Succínico <sup>a</sup> | $3,908 \pm 0,006$ | $5,039 \pm 0,005$ |                   |
| Carbônico <sup>b</sup> | $5,899 \pm 0,026$ | $9,260 \pm 0,001$ |                   |

a. Média de seis determinações (os resultados são os logarítmos negativos da média das constantes de dissociações).

b. Média de três determinações.

TABELA 9 - Valores de  $pK_a$  Tabelados<sup>(80)</sup> (com seus desvios padrões) para os Ácidos Tartárico, Málico, Cítrico, Succínico e Carbônico. Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M

| Ácido     | $pK_1$    | $pK_2$    | $pK_3$    |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Tartárico | 2,69±0,09 | 3,73±0,04 |           |
| Málico    | 3,11      | 4,45±0,01 |           |
| Cítrico   | 2,80±0,05 | 4,08±0,03 | 5,33±0,06 |
| Succínico | 3,95±0,02 | 5,12±0,02 |           |
| Carbônico | 6,02±0,03 | 9,57      |           |

## 6. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS TARTÁRICO E CÍTRICO E CARBONATO TOTAL POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA E SUA APLICAÇÃO À ANÁLISE DE ANTIÁCIDOS

### 6.1. Considerações Gerais

Os antiácidos constituem medicamentos dos mais populares e largamente consumidos com e sem prescrição médica.

Os antiácidos são drogas utilizadas para reduzir a acidez do estômago e atenuar sintomas de indigestão ocasional<sup>(81)</sup>.

Bicarbonato de sódio é um antiácido potente, de ação rápida e efetivamente de breve duração para suavizar sintomas de indigestão ocasional<sup>(82)</sup>.

A potência antiácida total de um preparado antiácido é definida como o número de miliequivalentes de ácido clorídrico necessário para levar até 3,0 o pH da solução teste de 1 g do preparado antiácido sólido, e a mantê-lo em condições padronizadas in vitro <sup>(83)</sup>.

Ácidos tartárico e cítrico, carbonato e hidrogenocarbonato de sódio são componentes de alguns preparados de antiácidos.

A análise dos componentes dessas preparações farmacêuticas envolvem um procedimento gravimétrico, seguido de titulação para determinação de ácido tartárico<sup>(73,74)</sup>, um método gravimétrico para a determinação de ácido cítrico<sup>(74)</sup> e um método gasométrico para determinação de carbonato<sup>(73)</sup>.

Recentemente, um método envolvendo o uso de resinas catiônicas

cas e aniônicas e titulação dos respectivos eluatos para determinação de citrato de sódio e hidrogenocarbonato de sódio em antiácidos foi descrito por Tan & Szopa<sup>(84)</sup>.

A determinação desses componentes individualmente é demorada e portanto, o objetivo desta parte do trabalho, foi o de desenvolver um método capaz de determinar simultaneamente os ácidos tartárico e cítrico e o número total de equivalentes de carbonato em uma única titulação.

A curva de titulação resultante da titulação potenciométrica alcalimétrica de uma mistura dos ácidos clorídrico, tartárico e cítrico (resultante do tratamento da amostra de antiácido com excesso de ácido clorídrico) é inadequada para determinação desses ácidos por procedimentos convencionais e é necessário fazer uso de método especial de cálculo.

A aplicação do método linear algébrico desenvolvido por Ivaska & Nagypal<sup>(64)</sup> aos dados de titulações, foi feita usando-se o referido programa computacional para resolução dos ácidos individuais.

A possibilidade de uso do mesmo método computacional à droga tratada com excesso de base forte para determinação dos componentes individuais foi também estudada.

## 6.2. Resultados e Discussões

A tabela 10 exemplifica o modelo de cálculo, quando temos dois ácidos fracos (tartárico e cítrico) e um ácido forte (ácido

TABELA 10 - Modelo de Cálculo do Programa VINHO Quando se Titula a Mistura dos Ácidos Tartárico, Cítrico e Clorídrico.

I = 1,0 M ( $\text{NaNO}_3$ ); Temperatura = 25,0°C

Análise de Misturas de Ácidos Fracos na Presença de Ácido (ou Base)

Forte

Valores de pK

2.718

3.659

2.759

4.501

5.122

Volume inicial = 30

Concentração da base (ou ácido) = .1295

Produto iônico da água = 2.143E-14

Correção de pH = 0

Concentrações e seus erros

2.21203E-03 7.46454E-06

1.10949E-03 6.00788E-06

3.50423E-03 3.05233E-06

Volumes de equivalência e seus erros

1.02488 3.45847E-03

.771077 4.17536E-03

.811791 7.07104E-04

CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA

| pH    | V <sub>exp</sub> | V <sub>teor</sub> | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 2.346 | 0.000            | 0.00646           | 0.645847E-02 |
| 2.364 | 0.050            | 0.05488           | 0.488259E-02 |
| 2.384 | 0.100            | 0.10707           | 0.707499E-02 |
| 2.402 | 0.150            | 0.15265           | 0.265262E-02 |
| 2.422 | 0.200            | 0.20181           | 0.181170E-02 |
| 2.442 | 0.250            | 0.24948           | -.523225E-03 |
| 2.464 | 0.300            | 0.30026           | 0.259995E-03 |
| 2.485 | 0.350            | 0.34720           | -.280043E-02 |
| 2.509 | 0.400            | 0.39910           | -.902176E-03 |
| 2.532 | 0.450            | 0.44717           | -.282645E-02 |
| 2.557 | 0.500            | 0.49768           | -.231624E-02 |
| 2.584 | 0.550            | 0.55031           | 0.304997E-03 |
| 2.609 | 0.600            | 0.59734           | -.265920E-02 |
| 2.637 | 0.650            | 0.64821           | -.179297E-02 |
| 2.666 | 0.700            | 0.69899           | -.101250E-02 |
| 2.696 | 0.750            | 0.74961           | -.391364E-03 |
| 2.726 | 0.801            | 0.79841           | -.259274E-02 |
| 2.758 | 0.850            | 0.84858           | -.142133E-02 |
| 2.790 | 0.900            | 0.89693           | -.306660E-02 |
| 2.825 | 0.950            | 0.94788           | -.212181E-02 |
| 2.861 | 1.000            | 0.99830           | -.169647E-02 |
| 2.898 | 1.050            | 1.04819           | -.181377E-02 |
| 2.936 | 1.100            | 1.09751           | -.249028E-02 |
| 2.977 | 1.150            | 1.14871           | -.128806E-02 |
| 3.019 | 1.200            | 1.19915           | -.849128E-03 |
| 3.062 | 1.250            | 1.24884           | -.116408E-02 |
| 3.108 | 1.300            | 1.29996           | -.398159E-04 |
| 3.155 | 1.350            | 1.35019           | 0.194550E-03 |
| 3.204 | 1.400            | 1.40058           | 0.577092E-03 |
| 3.255 | 1.450            | 1.45102           | 0.102353E-02 |

continua

| pH    | V <sub>exp</sub> | V <sub>teor</sub> | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 3.307 | 1.500            | 1.50053           | 0.524998E-03 |
| 3.363 | 1.550            | 1.55181           | 0.181389E-02 |
| 3.418 | 1.600            | 1.60029           | 0.291109E-03 |
| 3.477 | 1.650            | 1.65034           | 0.344038E-03 |
| 3.540 | 1.700            | 1.70169           | 0.169468E-02 |
| 3.604 | 1.750            | 1.75176           | 0.175643E-02 |
| 3.671 | 1.800            | 1.80199           | 0.198519E-02 |
| 3.741 | 1.850            | 1.85215           | 0.215304E-02 |
| 3.812 | 1.900            | 1.90067           | 0.673294E-03 |
| 3.889 | 1.950            | 1.95064           | 0.638485E-03 |
| 3.970 | 2.000            | 2.00025           | 0.248194E-03 |
| 4.055 | 2.050            | 2.04910           | -.903607E-03 |
| 4.146 | 2.100            | 2.09783           | -.217438E-02 |
| 4.249 | 2.150            | 2.14869           | -.130653E-02 |
| 4.359 | 2.200            | 2.19829           | -.170612E-02 |
| 4.484 | 2.250            | 2.24928           | -.720024E-03 |
| 4.623 | 2.300            | 2.30012           | 0.122070E-03 |
| 4.778 | 2.350            | 2.35071           | 0.714064E-03 |
| 4.952 | 2.400            | 2.40107           | 0.107336E-02 |
| 5.152 | 2.450            | 2.45137           | 0.136900E-02 |
| 5.392 | 2.500            | 2.50090           | 0.902891E-03 |
| 5.732 | 2.550            | 2.55042           | 0.421763E-03 |
| 6.578 | 2.600            | 2.59834           | -.165939E-02 |

DESVIO PADRÃO = 2.17813E-03

clorídrico) através do uso do programa VINHO.

A tabela 11 mostra os resultados obtidos para a titulação potenciométrica alcalimétrica de uma mistura dos ácidos tartárico, cítrico e clorídrico. O resultado obtido para o teor de ácido clorídrico é importante, porque o resultado de sua determinação será usado para o cálculo da quantidade de equivalente de carbonato total na amostra de antiácido.

Os resultados obtidos para a titulação alcalimétrica de uma mistura contendo os ácidos tartárico e cítrico, carbonato e hidrogenocarbonato de sódio, previamente tratada com uma quantidade de ácido clorídrico são também mostradas na tabela 11. A composição desta mistura se assemelha àquelas da amostra do antiácido. A concentração de carbonato total em equivalentes por litro, foi calculada pela diferença entre a quantidade de ácido clorídrico adicionada e a quantidade encontrada nas titulações. Este valor corresponde ao poder de neutralização da mistura. A precisão e a exatidão obtidas nas determinações desses três componentes da mistura é satisfatória, considerando-se a complexidade da mistura.

Os resultados para a determinação dos ácidos tartárico e cítrico e o carbonato total em equivalentes por litro, na amostra de antiácido são apresentados na tabela 12.

A curva de titulação resultante do tratamento do antiácido com ácido clorídrico é mostrado na figura 4. O exame desta curva revela que é inadequada para determinação de cada ácido por procedimentos convencionais.

O número total de moles de carbonato foi também determinado

TABELA 11 - Resultados de Titulações de Misturas de Ácido Tartárico ( $H_2Tr$ ), Ácido Cítrico ( $H_3Ci$ ), Carbonato de Sódio ( $Na_2CO_3$ ), Bicarbonato de Sódio ( $NaHCO_3$ ) e Ácido Forte ( $HCl$ ); Temperatura =  $25,0^{\circ}C$  e  $I = 1,0 M(NaNO_3)$ .

| Mistura                      | Concentração, $10^{-3} M$ |                                    |                   |        |
|------------------------------|---------------------------|------------------------------------|-------------------|--------|
|                              | Quantidade presente       | Quantidade encontrada <sup>a</sup> | d.p. <sup>b</sup> | Erro % |
| I $H_2Tr$                    | 3,915                     | 3,914                              | 0,009             | 0      |
| $H_3Ci$                      | 3,310                     | 3,246                              | 0,009             | -1,9   |
| $HCl$                        | 6,450                     | 6,548                              | 0,008             | +1,5   |
| II $H_2Tr$                   | 2,242                     | 2,212                              | 0,001             | -1,3   |
| $H_3Ci$                      | 1,111                     | 1,102                              | 0,042             | -0,8   |
| $HCl$                        | 12,04                     | 3,514                              | 0,005             |        |
| Carbonato total <sup>c</sup> | 8,586                     | 8,526                              | 0,005             | -0,7   |

a. Média de quatro determinações.

b. Desvio padrão.

c. Concentração em equivalente  $l^{-1}$ .

TABELA 12 - Resultados das Titulações da Amostra de Antiácido.

Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M(NaNO<sub>3</sub>).

| Componentes<br>do Antiácido                  | Concentração, 10 <sup>-3</sup> Mol.g <sup>-1</sup> |       |                   |             |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------|-------|-------------------|-------------|
|                                              | potenciométrico <sup>a</sup>                       | d.p.  | Outros<br>Métodos | diferença % |
| Ác. Tartárico                                | 1,908                                              | 0,006 | 1,910             | -0,1        |
| Ác. Cítrico                                  | 0,784                                              | 0,003 | 0,767             | +2,2        |
| Carbonato Total <sup>b</sup>                 | 7,480                                              | 0,015 | ---               | --          |
| Carbonato Total <sup>c</sup>                 | 6,554                                              | 0,071 | 6,756             | -3,1        |
| NaHCO <sub>3</sub> <sup>d</sup>              | 5,628                                              | 0,101 | ---               | --          |
| Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> <sup>d</sup> | 0,926                                              | 0,072 | ---               | --          |

a. Resultado médio de quatro determinações.

b. Concentração em equivalente g<sup>-1</sup>.c. Concentração determinada por titulação reversa, Mol.g<sup>-1</sup>d. As concentrações individuais de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e NaHCO<sub>3</sub> foram determinadas pelas equações (19) e (20).

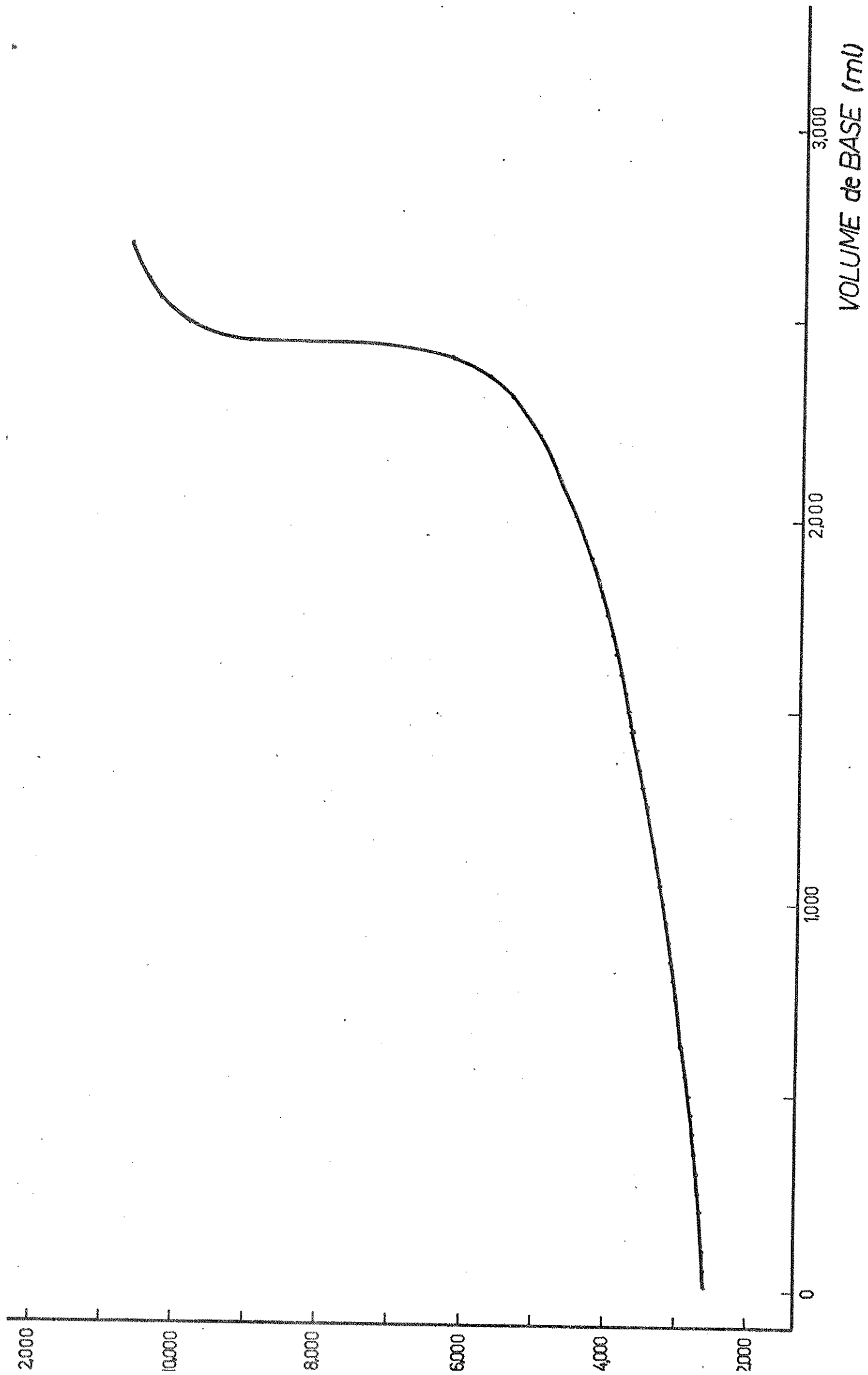


Figura 4 - Curva de titulação do antiácido tratado com excesso de HCl.

na amostra de antiácido pela titulação da amostra (previamente tratada com um excesso de solução de hidróxido de sódio) com ácido clorídrico. Os resultados obtidos para o número total de moles de carbonato foram comparados com aqueles obtidos por um método independente, envolvendo a precipitação do carbonato com cloreto de bário, dissolução do precipitado com ácido clorídrico e titulação do excesso de ácido forte.

Os resultados para as concentrações individuais de carbonato e hidrogenocarbonato de sódio na amostra de antiácido (tabela 12) foram calculados usando as equações:

$$n_1 = [\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_3^{2-}] \quad (19)$$

$$n_2 = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}] \quad (20)$$

onde  $n_1$  é o número de moles de carbonato total e  $n_2$  é o número de equivalentes de carbonato total na amostra de antiácido.

Tentativas de cálculos de concentrações dos ácidos tartárico e cítrico, usando dados de titulações acidimétricas foram feitas, e neste caso, foi possível obter bons resultados para o ácido tartárico, mas para o ácido cítrico não foram satisfatórios. Por esta razão, concluímos que titulação alcalimétrica é preferível para determinação desses ácidos. Além do que, titulação alcalimétrica é capaz de determinar em uma única titulação o teor dos ácidos tartárico e cítrico e o número total de equivalentes de carbonato com precisão razoável. O número total de equivalentes de carbonato

é um importante parâmetro e representa efetivamente o poder neutralizante do preparado antiácido.

Deve ser enfatizado, que a base do método algébrico linear desenvolvido por Ivaska & Nagypal<sup>(64)</sup>, é a diferença entre os comportamentos de dissociação dos ácidos.

As faixas de protonação dos ácidos envolvidos na amostra de antiácido são mostradas na figura 5. Onde os valores de  $\bar{n}/N$  para as bases conjugadas dos ácidos fracos foram plotadas contra pH.

A diferença entre as faixas de pH de dissociação, no caso de dois ácidos monobásicos, é simplesmente a diferença entre suas constantes de dissociação, i.e.,  $\Delta pK$ . Pequenas diferenças de  $\Delta pK$  indicam sobreposição no equilíbrio de dissociação; em uma mistura binária de ácidos fracos, se  $\Delta pK \geq 4$ , dois saltos bem separados de pH podem ser obtidos na curva de titulação.

Na representação matricial de dois passos distintos de dissociação, temos que o sistema linear de equações  $(A^T \cdot A) \cdot X = A^T \cdot B$ , pode ser dividido em dois subsistemas, os quais são quase interdependentes um do outro. O grau de interdependência das equações aumenta com o decréscimo de  $\Delta pK$ , o qual também resulta em um aumento do desvio padrão do valor  $x_i$  calculado.

Com ácidos polibásicos, a comparação de valores de  $pK$  não é direta. Em tais casos, a totalidade das curvas de  $\bar{n}/N$  vs. pH deve ser comparada. Quanto maior a diferença entre as áreas sob essas curvas, resultados mais exatos devem ser esperados.

A diferença das curvas  $\bar{n}/N = f(pH)$  de dois ácidos polibásicos pode ser representada pela área entre as curvas. Esta área po-

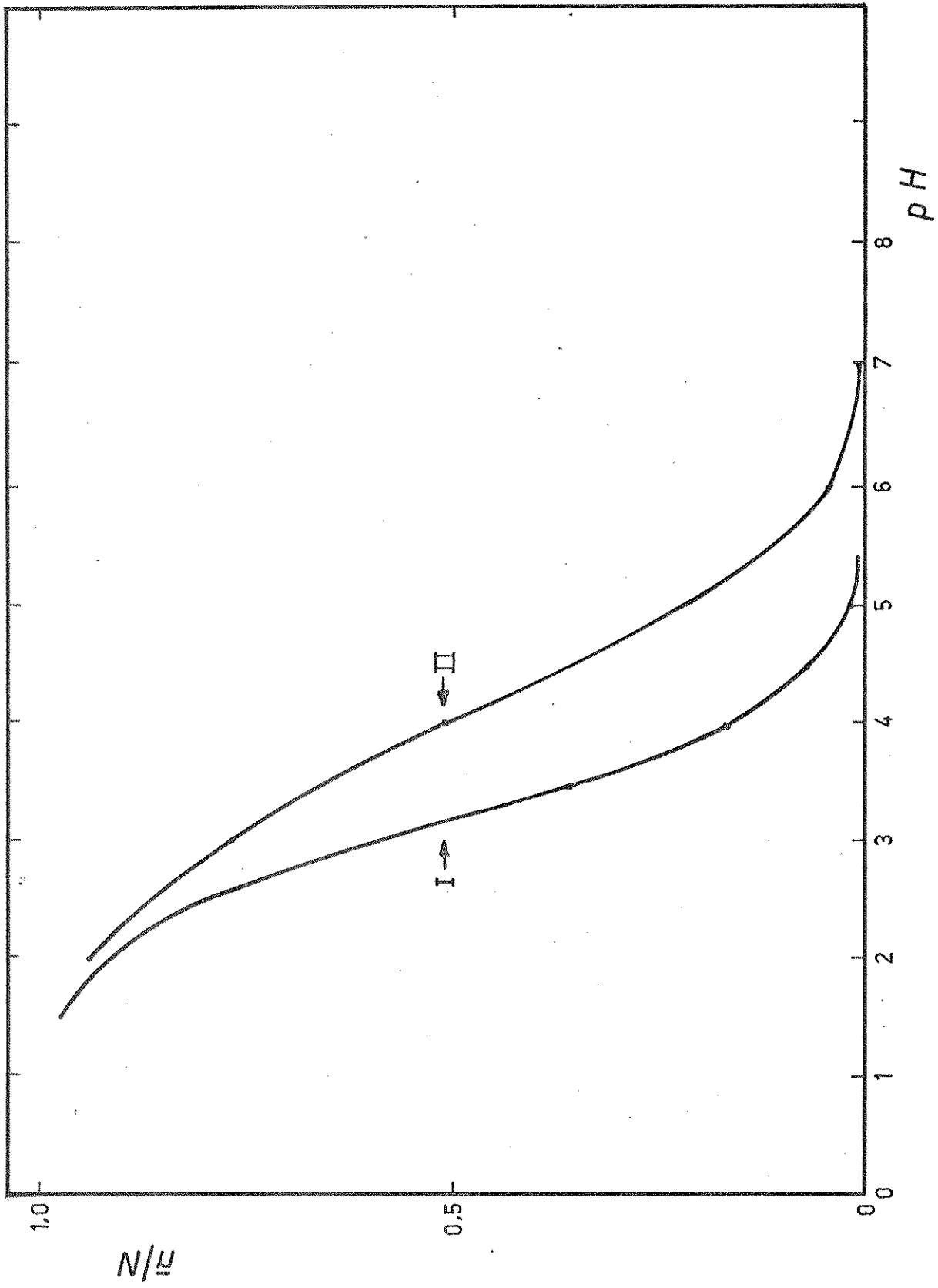


Figura 5 - Curvas  $\bar{n}/N = f(\text{pH})$  para os ácidos: tartárico (I) e cítrico (II).

de ser transformada em um " $\Delta pK$  visível".

A figura 5 mostra que a área entre as curvas de dissociação dos ácidos tartárico e cítrico é relativamente grande e boa precisão e exatidão na resolução dos ácidos era esperada.

$\bar{n}/N$  é calculado na seguintes maneira<sup>(85)</sup>:

onde  $N$  = número de prótons do ácido polibásico

e  $\bar{n}$ :

a) para ácidos dipróticos

$$\bar{n} = (\alpha_1 + 2\alpha_2) \quad (21)$$

$$\text{onde } \alpha_1 = \alpha_2 \frac{K_1}{[H^+]} \quad \text{e} \quad \alpha_2 = \frac{[H^+]^2}{[H^+]^2 + K_1[H^+] + K_1K_2}$$

b) para ácidos tripróticos

$$\bar{n} = (\alpha_1 + 2\alpha_2 + 3\alpha_3) \quad (22)$$

$$\text{onde } \alpha_1 = \alpha_3 \frac{K_1K_2}{[H^+]^2} \quad ; \quad \alpha_2 = \alpha_3 \frac{K_1}{[H^+]} \quad \text{e}$$

$$\alpha_3 = \left( 1 + \frac{K_1}{[H^+]} + \frac{K_1K_2}{[H^+]^2} + \frac{K_1K_2K_3}{[H^+]^3} \right)^{-1}$$

onde  $K$  são as constantes de dissociação dos ácidos.

## 7. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS TARTÁRICO E MÁLICO POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA E SUA APLICAÇÃO À ANÁLISE DE SUCOS DE UVA

"Suco de uva é o produto líquido, não fermentado, resultante do esmagamento da uva madura, conservado por processos físicos, podendo ser concentrado ou integral".

Art. 4º da lei nº 549

(Legislação Vinícola Brasileira)

### 7.1. Considerações Gerais

As determinações de concentrações individuais dos ácidos orgânicos em sucos de uva, são de extrema importância no controle de qualidade do suco de uva, principalmente, o destinado a elaboração de vinhos. Estas determinações são também uma importante ferramenta na prevenção de perdas de qualidade e quantidade durante operações e recuperação de subprodutos e ainda essencial para racionalizar colheitas de uvas e permitir ao vitivinicultor uma colheita de ótimo nível<sup>(86)</sup>.

O ácido tartárico é um ácido específico da uva, e é o mais importante dos ácidos fixos da uva, sendo também o mais forte dos três ácidos orgânicos da uva, tartárico, málico e cítrico. Tartárico é o mais resistente à ação de bactérias, entretanto, sua concentração diminui por precipitação de bitartarato de potássio, durante a fermentação pela ação do frio<sup>(79)</sup>. O teor de ácido tartárico é muito importante também para se efetuar a correção da acidez dos

sucos destinados à fermentação para a elaboração de vinhos<sup>(87)</sup>.

O ácido málico é o segundo ácido em importância no suco de uva, e talvez o mais importante do ponto de vista fisiológico, a temperaturas de 40,5°C ele é "respirado" nas uvas (sofre combustão), conseqüentemente durante a maturação sua quantidade decresce para entre 10-40% da fração ácida, enquanto que em uvas verdes pode constituir até 60% da acidez<sup>(86)</sup>.

O ácido cítrico raramente é determinado por enologistas devido a sua pequena concentração no suco de uva<sup>(67,86)</sup>.

Um número de outros ácidos em quantidades variáveis pode estar presente, embora alguma contradição possa ser encontrada na composição ácida do suco de uva apresentada na literatura<sup>(88)</sup>.

Os métodos utilizados oficialmente<sup>(73)</sup>, para se determinar a concentração desses ácidos são em sua totalidade, demorados, trabalhosos e de difícil uso em laboratórios como métodos de rotina.

Os métodos mais rápidos, tais como cromatografia de papel e em camada delgada<sup>(79)</sup> são mais utilizados para fins qualitativos ou semiquantitativos. Já os métodos cromatográficos em colunas exigem uma demorada preparação da amostra, além das curvas de calibração<sup>(18,76,89)</sup>.

A titulação potenciométrica é mais frequentemente usada para determinação da acidez total titulável de sucos de uva<sup>(86)</sup>. Um método para determinação dos ácidos tartárico e málico em sucos de uva por titulação potenciométrica, após separação deles como sais de bário, de sulfatos, fosfatos e tanatos foi descrito por Pato et al<sup>(67)</sup>. O método baseia-se na insolubilidade de todos os ácidos do

suco em meio alcoólico neutro e na insolubilidade de sulfatos, fosfatos e tanatos em água fria.

Há também os métodos enzimáticos para determinação dos ácidos málico e cítrico<sup>(90)</sup>.

O objetivo desta parte do trabalho é de ilustrar a aplicabilidade do programa computacional<sup>(64)</sup>, para resolver misturas sintéticas dos ácidos tartárico e málico, e posterior determinação destes ácidos em suco de uva, através de tratamento de dados de titulações potenciométricas. É também nosso objetivo verificar a resolução destes ácidos na presença de ácido cítrico.

Era de se esperar que o ácido cítrico interferisse mais fortemente com ácido málico do que com ácido tartárico. Isto é assumido porque as diferenças entre as áreas das curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH para os ácidos cítrico e málico são menores do que aquela entre os ácidos tartárico e cítrico. E como já dissemos, a diferença de área dessas curvas para dois ácidos polibásicos, tem sido usada como critério para estimar a exatidão que pode ser esperada na determinação de dois ácidos.

## 7.2. Resultados e Discussões

Observando a figura 6, notamos que quando se titula o suco diretamente, a inflexão da curva de titulação é pouco pronunciada, indicando a presença de substâncias com pK entre 6 a 10, o que dificulta a resolução da mistura de ácidos.

Enquanto a figura 7 nos mostra, que após a separação dos

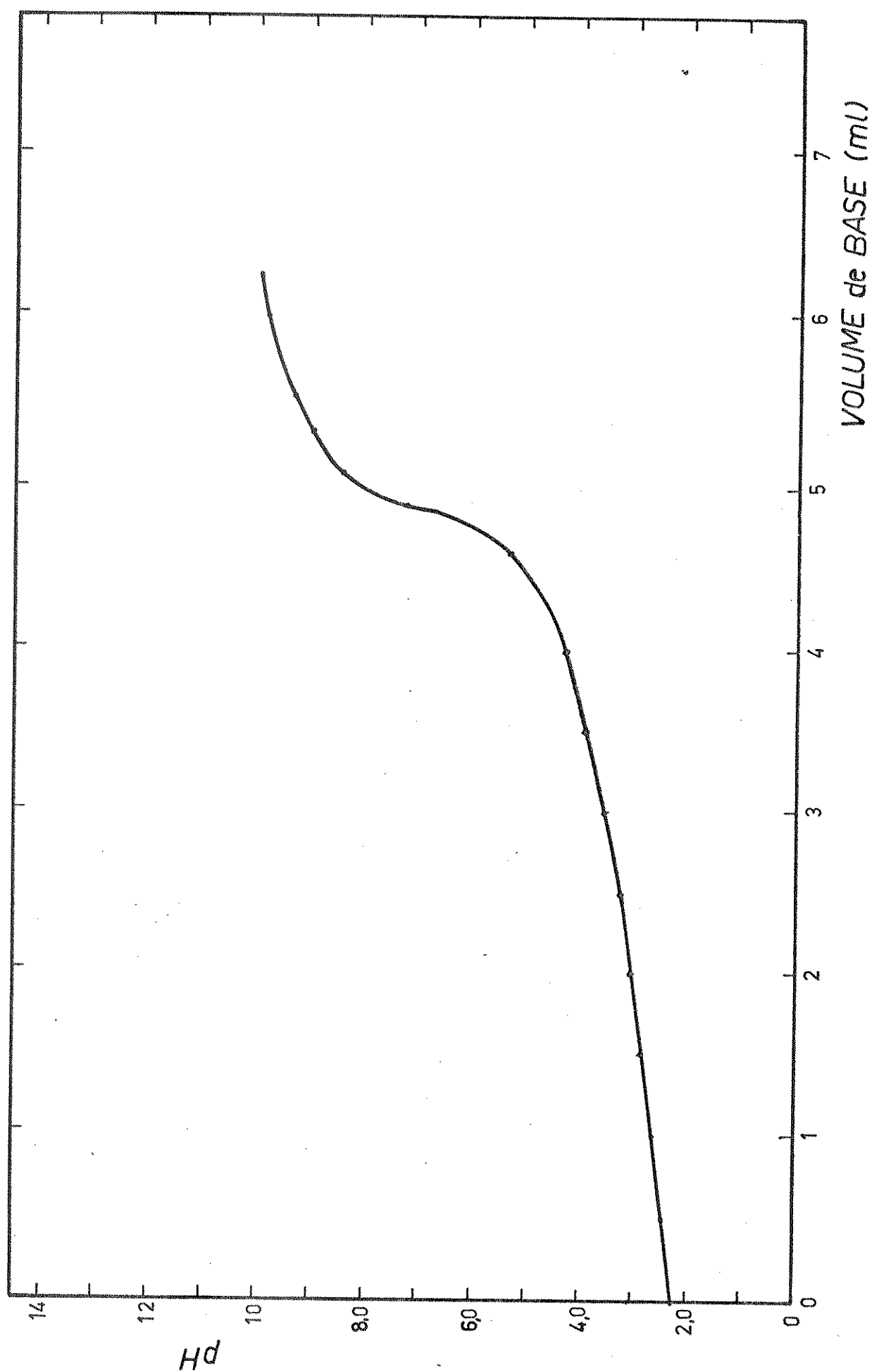


Figura 6 - Curva de titulação do suco de uva (obtida através de titulação direta).

I = 1,0 M (NaNO<sub>3</sub>).

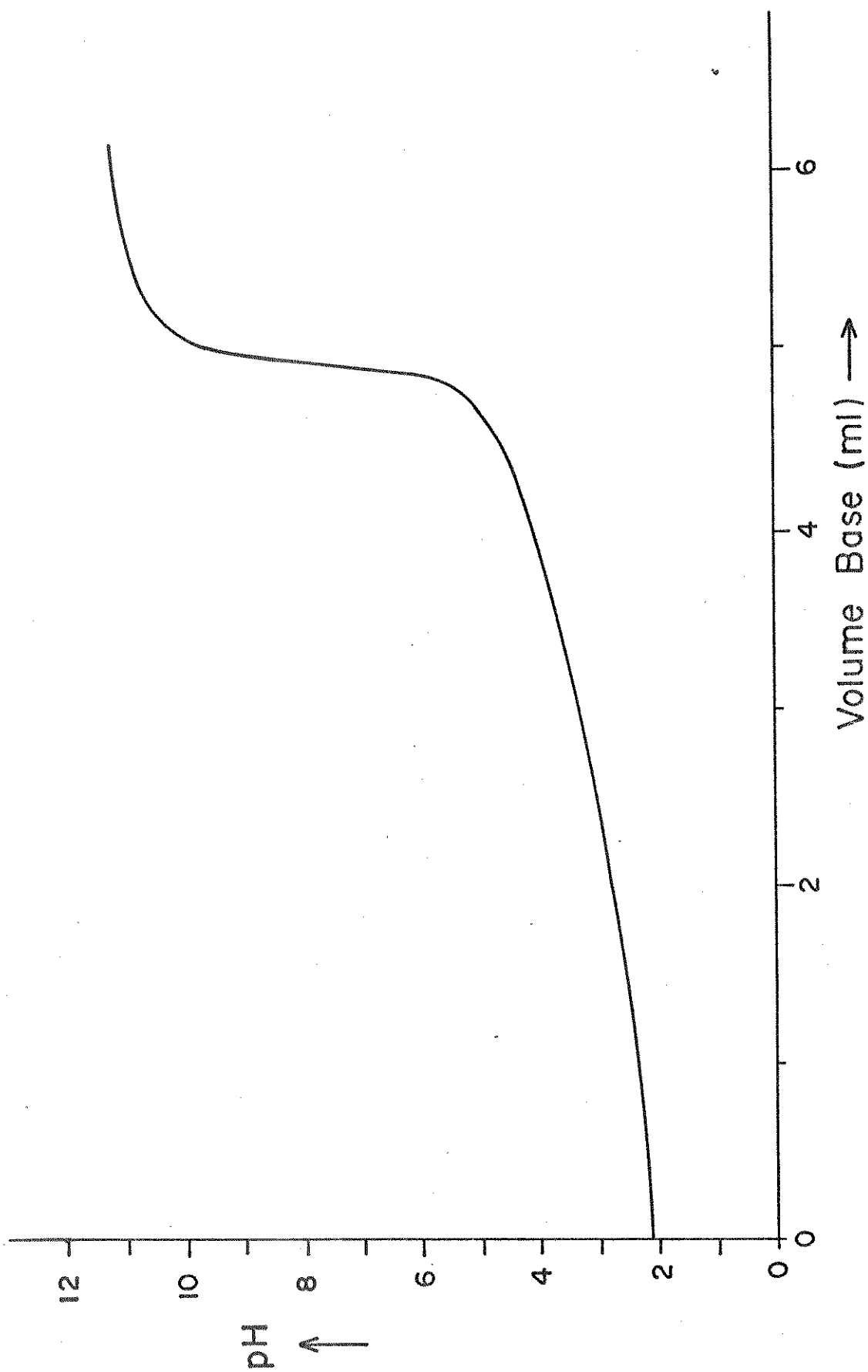


Figura 7 - Curva de titulação do suco de uva (obtida por titulação após precipitação dos ácidos). I = 1,0 M ( $\text{NaNO}_3$ ).

ácidos na forma de sais de bário, retirando da solução de amostra de suco, os fosfatos, sulfatos e tanatos, a curva de titulação apresenta uma inflexão mais pronunciada, devido à ausência principalmente de taninos.

A tabela 13 exemplifica o modelo de cálculo, realizado pelo programa computacional, quando temos dois ácidos fracos (tartárico e málico) e um ácido forte (ácido clorídrico).

Os resultados obtidos nas titulações de misturas sintéticas dos ácidos tartárico, málico, cítrico e clorídrico são apresentados na tabela 14.

Nas misturas sintéticas, as concentrações são dez vezes mais baixas que as concentrações dos ácidos no suco de uva. Isto é para se assemelhar à análise do suco de uva, em cujo procedimento foi diluído 10 vezes. Ácido clorídrico também é acrescentado à mistura sintética para reproduzir as condições das titulações de suco, onde aos sais de bário é adicionado excesso de ácido clorídrico.

Como pode ser visto na tabela 14, cada ácido pode ser determinado individualmente com uma precisão e exatidão relativamente boas.

Resultados das mesmas misturas de ácidos, após a precipitação dos ácidos na forma de sais de bário em solução alcoólica a 66% são apresentados na tabela 15 com razoável precisão. Um erro sistemático de cerca de -4% foi encontrado na determinação de ácido málico e pode ser devido à solubilidade do malato de bário.

Como mostrado nas tabelas 14 e 15, as misturas contendo os ácidos tartárico, málico e clorídrico são bem resolvidas, o que era

TABELA 13 - Modelo de Cálculo do Programa "VINHO" para a Mistura Sintética dos Ácidos Tartárico, Málico e Clorídrico.  
Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M em NaNO<sub>3</sub>.

Análise de Misturas de Ácidos Fracos na Presença de Ácido (ou Base) Forte

VALORES DE pK

2.718

3.658

3.133

4.427

Volume inicial = 33

Concentração da base (ou ácido) = .1087

Produto iônico da água = 2.245E-14

Correção de pH = 0

CONCENTRAÇÕES E SEUS ERROS

1.86879E-03      1.35261E-05

1.06161E-03      1.26972E-05

9.4449E-03      6.7605E-06

VOLUMES DE EQUIVALÊNCIA E SEUS ERROS

1.13469      8.21272E-03

.644586      7.70944E-03

2.86736      2.0524E-03

CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA

| pH    | V <sub>exp</sub> | V <sub>teor</sub> | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 2.643 | 2.500            | 2.50162           | 0.161505E-02 |
| 2.689 | 2.600            | 2.60173           | 0.172710E-02 |
| 2.738 | 2.701            | 2.70181           | 0.810623E-03 |
| 2.790 | 2.800            | 2.80141           | 0.140762E-02 |
| 2.844 | 2.900            | 2.89842           | -.158310E-02 |
| 2.905 | 3.001            | 3.00105           | 0.460148E-04 |
| 2.970 | 3.103            | 3.10326           | 0.258207E-03 |
| 3.035 | 3.200            | 3.19900           | -.100422E-02 |
| 3.108 | 3.300            | 3.29974           | -.262737E-03 |
| 3.186 | 3.402            | 3.40040           | -.159979E-02 |
| 3.269 | 3.501            | 3.50051           | -.487566E-03 |
| 3.357 | 3.600            | 3.59962           | -.382662E-03 |
| 3.451 | 3.700            | 3.69823           | -.176644E-02 |
| 3.554 | 3.800            | 3.79840           | -.160432E-02 |
| 3.666 | 3.900            | 3.89858           | -.142288E-02 |
| 3.789 | 4.000            | 3.99874           | -.126076E-02 |
| 3.928 | 4.100            | 4.10025           | 0.247002E-03 |
| 4.085 | 4.200            | 4.20103           | 0.102711E-02 |
| 4.268 | 4.300            | 4.30148           | 0.148487E-02 |
| 4.494 | 4.400            | 4.40260           | 0.259829E-02 |
| 4.802 | 4.500            | 4.50352           | 0.352192E-02 |
| 5.400 | 4.600            | 4.60380           | 0.380230E-02 |
| 9.773 | 4.700            | 4.69279           | -.721407E-02 |

DESVIO PADRÃO = 2.37813E-02

TABELA 14 - Titulações de Várias Misturas Sintéticas dos Ácidos Tar  
tárico, Málico, Cítrico e Clorídrico.

Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M (NaNO<sub>3</sub>)

| Mistura                              | Concentração, 10 <sup>-3</sup> M |                          | d.p. <sup>a</sup> | Erro % |
|--------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|-------------------|--------|
|                                      | Quantidade<br>presente           | Quantidade<br>encontrada |                   |        |
| H <sub>2</sub> Tr                    | 1,837                            | 1,869                    | 0,015             | +1,7   |
| H <sub>2</sub> M                     | 1,058                            | 1,062                    | 0,011             | +0,4   |
| HCl                                  | 9,358                            | 9,445                    | 0,014             | +0,9   |
| H <sub>2</sub> Tr                    | 2,354                            | 2,349                    | 0,007             | -0,2   |
| H <sub>2</sub> M                     | 1,426                            | 1,435                    | 0,008             | +0,6   |
| HCl                                  | 6,252                            | 6,264                    | 0,007             | +0,2   |
| H <sub>2</sub> Tr                    | 2,058                            | 2,060                    | 0,096             | +0,1   |
| H <sub>2</sub> M                     | 2,068                            | 2,019                    | 0,001             | -2,4   |
| H <sub>2</sub> Tr                    | 2,304                            | 2,252                    | 0,059             | -2,2   |
| H <sub>2</sub> M                     | 1,422                            | 1,483                    | 0,013             | +4,3   |
| HCl                                  | 7,762                            | 7,906                    | 0,007             | +1,8   |
| H <sub>2</sub> Tr                    | 4,065                            | 4,213                    | 0,014             | +3,6   |
| H <sub>2</sub> M + H <sub>3</sub> Ci | 5,758 <sup>b</sup>               | 5,422 <sup>b</sup>       | 0,033             | -5,8   |
| HCl                                  | 3,400                            | 3,539                    | 0,013             | +4,1   |

a. Desvio padrão em relação a quatro determinações.

b. Quantidade em equivalentes. 1<sup>-1</sup>.

TABELA 15 - Resultados de Titulações Potenciométricas de Misturas Sintéticas, após Separação dos Ácidos na Forma de Sais de Bário. Ácidos Tartárico ( $H_2Tr$ ), Málico ( $H_2M$ ), Cítrico ( $H_3Ci$ ) e Clorídrico ( $HCl$ ).

Temperatura =  $25,0^{\circ}C$  e  $I = 1,0 M$  ( $NaNO_3$ )

| Misturas       | Concentração, $10^{-3}M$ |                       | d.p. <sup>a</sup> | Erro % |
|----------------|--------------------------|-----------------------|-------------------|--------|
|                | Quantidade presente      | Quantidade encontrada |                   |        |
| $H_2Tr$        | 1,837                    | 1,835                 | 0,037             | -0,1   |
| $H_2M$         | 1,058                    | 1,020                 | 0,023             | -3,6   |
| $H_2Tr$        | 2,168                    | 2,072                 | 0,002             | -4,4   |
| $H_2M$         | 1,323                    | 1,263                 | 0,002             | -4,5   |
| $H_2Tr$        | 1,100                    | 1,060                 | 0,012             | -3,6   |
| $H_3Ci$        | 0,2868                   | 0,2793                | 0,057             | -2,6   |
| $H_2Tr$        | 4,065                    | 3,987                 | 0,038             | -1,9   |
| $H_2M + H_3Ci$ | 5,758 <sup>b</sup>       | 5,748 <sup>b</sup>    | 0,067             | -0,2   |
| $HCl$          | 3,400                    | 3,539                 | 0,013             | +4,1   |

a. Desvio padrão em relação a quatro determinações.

b. Quantidade em equivalentes.  $l^{-1}$ .

esperado, baseado na comparação entre as áreas sob as curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH para os dois ácidos (figura. 8).

Titulações potenciométricas de misturas dos ácidos tartárico, málico, cítrico e clorídrico dão bons resultados para os ácidos tartárico e clorídrico, mas os ácidos málico e cítrico não podem ser determinados individualmente com boa precisão. Isto é observado na faixa de concentração do ácido cítrico, a qual é da ordem da concentração máxima deste ácido presente em suco de uva, após ter sido diluído dez vezes. Este problema era esperado devido a pequena diferença entre as áreas sob as curvas de  $\bar{n}/N$  vs. pH desses dois ácidos, como pode ser visto na figura 9. Contudo, é possível determinar ácido tartárico e a soma dos ácidos málico mais cítrico na mistura, mesmo quando o procedimento da precipitação é utilizado.

Resultados das determinações desses ácidos após separação deles na forma de sais de bário de duas diferentes amostras de suco de uva são apresentados na tabela 16.

A amostra I foi preparada após esmagamento de uvas em laboratório, com posterior filtração, engarrafamento e pasteurização.

A amostra II foi preparada pela adição de uma quantidade conhecida de ácido cítrico a amostra I, antes do procedimento da precipitação.

A amostra III corresponde a um suco de uva comercial adquirido em supermercado.

Os resultados para os ácidos tartárico e málico são comparados com aqueles obtidos pelos métodos da AOAC (tabela 16).

TABELA 16 - Resultados de Titulações Potenciométricas de Suco de Uva Preparado (I e II) e Suco de Uva Comercial (III), Após Separação dos Ácidos como Sais de Bário.

Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M (NaNO<sub>3</sub>).

| Ácidos                           | Concentração, 10 <sup>-2</sup> Eq.l <sup>-1</sup> |             | Diferença % |
|----------------------------------|---------------------------------------------------|-------------|-------------|
|                                  | Potenciométrico <sup>a</sup>                      | Método AOAC |             |
| I Tartárico                      | 10,51 (0,030)                                     | 10,84       | -3,1        |
| Málico                           | 2,58 (0,003)                                      | 2,442       | +5,3        |
| II Tartárico                     | 10,51 (0,069)                                     | 10,84       | -3,1        |
| Málico + <sup>b</sup><br>Cítrico | 3,220 (0,008)                                     | 3,200       | +0,6        |
| III Tartárico                    | 3,534 (0,013)                                     | 3,600       | -1,9        |
| Málico                           | 2,132 (0,007)                                     | 2,058       | +3,6        |

a. Resultados são médias de seis determinações; valores entre parênteses são desvios padrões.

b. Quantidade de ácido cítrico acrescentado igual a  $7,578 \times 10^{-3}$  Eq.l<sup>-1</sup>.

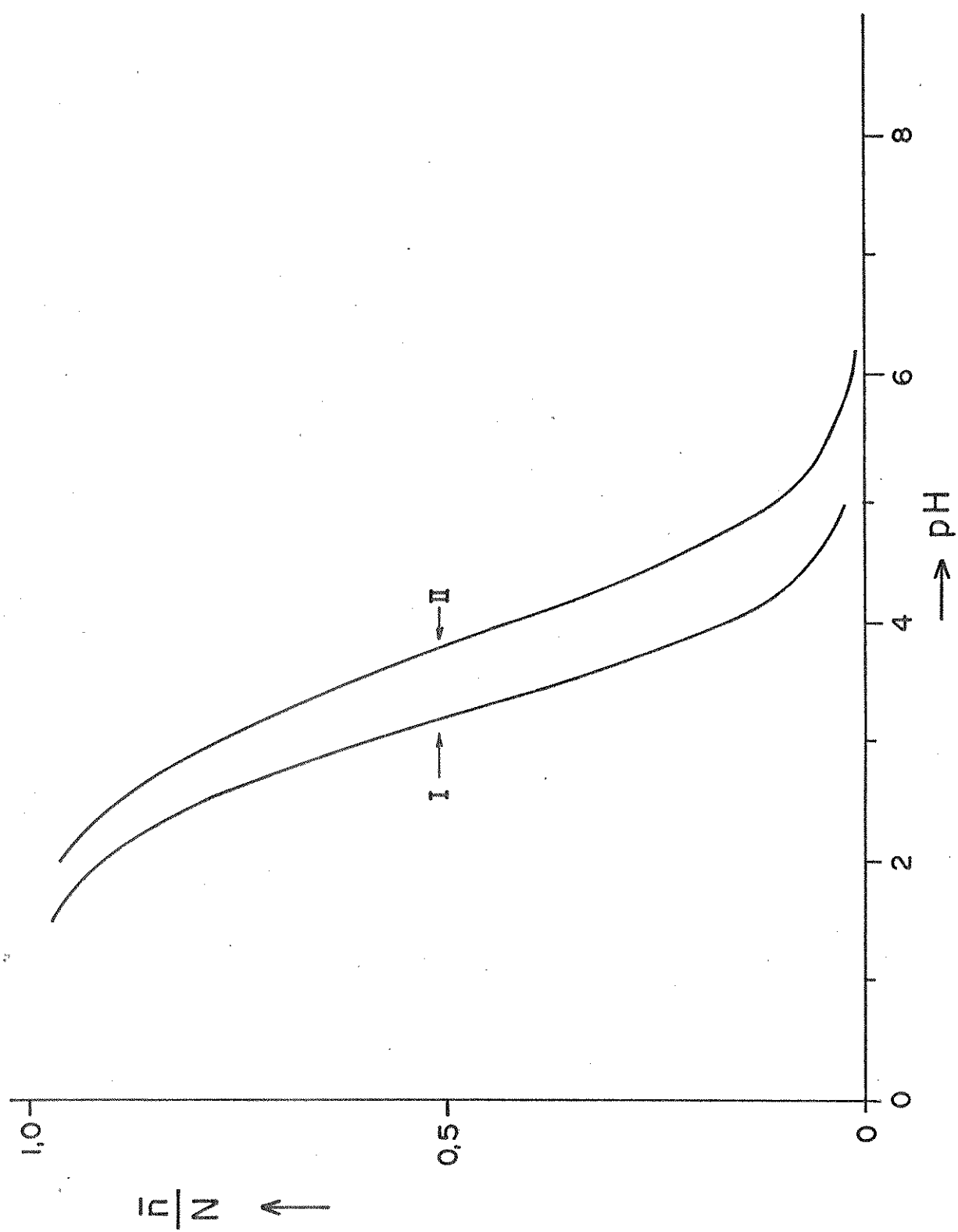


Figura 8 - Curvas  $\bar{n}/N = f(\text{pH})$  para os ácidos: tartárico (I) e málico (II).

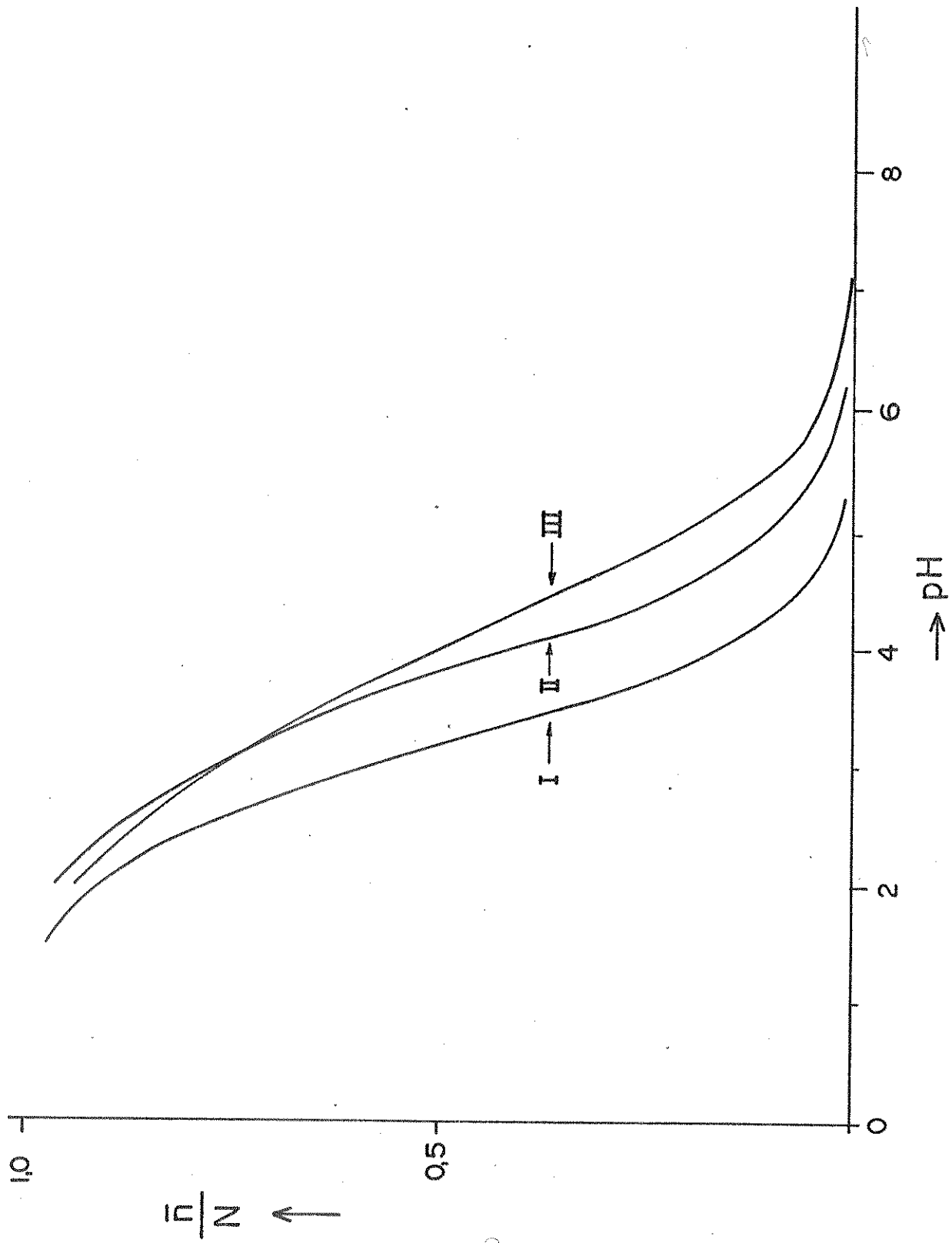


Figura 9 - Curvas  $\bar{n}/N = f(\text{pH})$  para os ácidos: tartárico (I), málico (II) e cítrico (III).

A ausência de ácido cítrico é assumida nas duas amostras porque nas tentativas de precipitação deste ácido na forma de pentabromoacetona<sup>(73)</sup>, os resultados foram negativos. Além do que, no caso da amostra I, a ausência deste ácido foi confirmada através do procedimento de GLC<sup>(77)</sup>. Na amostra III, a ausência de ácido cítrico foi confirmada através de procedimento em cromatografia de papel<sup>(86)</sup>.

Podemos verificar através da tabela 16, que há uma boa concordância entre os resultados dos métodos AOAC e o potenciométrico para os ácidos tartárico e málico nas amostras de suco de uva I e III. Na amostra II, há uma boa concordância entre a soma dos ácidos málico e cítrico obtida pela aplicação de nosso método e a soma do ácido cítrico adicionado e málico obtido no método independente. Igualmente foi obtida uma boa concordância entre os teores de ácido tartárico encontrado por titulação potenciométrica e pelo método independente.

Como demonstrado neste trabalho, o método proposto pode ser usado para determinação dos ácidos tartárico e málico individualmente em amostras de suco de uva livres de ácido cítrico. Se a amostra contém ácido cítrico, somente a soma dos ácidos málico e cítrico podem ser determinadas simultaneamente, enquanto o ácido tartárico pode ser determinado individualmente.

O erro na concentração do ácido málico irá depender da concentração do ácido cítrico presente no suco. Por este caminho, a utilidade do método para analisar amostras de suco contendo ácido cítrico será dependente da concentração deste ácido e da precisão

requerida.

O teor de ácido cítrico em uvas é em geral baixo e a precisão requerida para a determinação de ácido málico é na maioria dos casos aproximadamente 5%, o qual é o erro limite de nosso método.

## 8. DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DOS ÁCIDOS TARTÁRICO, MÁLICO E SUCCÍNICO POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA E SUA APLICAÇÃO À ANÁLISE DE VINHOS.

"Vinho é o produto alcoólico resultante da fermentação de mosto de uvas. O mosto, líquido em bruto, açucarado e enjoativo, sofrendo pela ação das leveduras a transformação do açúcar em álcool, toma qualidades sui generis adquirindo a alma e o espírito que há milênios lhe dão personalidade no mundo das bebidas naturais mais agradáveis".

O. Pato

### 8.1. Considerações Gerais

Os vinhos contêm além dos ácidos originalmente presentes nas uvas, um número de outros ácidos produzidos durante e após a fermentação alcoólica, tais como os ácidos acético, láctico, succínico, oxálico, fumárico, pirúvico, etc, além dos antissépticos proibidos. Sem os ácidos a fermentação pode originar sub-produtos, e os vinhos resultantes podem deteriorar durante e após a fermentação<sup>(86)</sup>.

A tabela 17 apresenta os principais ácidos orgânicos do vinho, tanto os fixos como os voláteis<sup>(79)</sup>.

Depois da fermentação e durante o envelhecimento, é importante seguir as alterações em certos ácidos fixos. Durante a fer-

TABELA 17 - Ácidos do Vinho

| Nome Oficial                                    | Nome Vulgar                  | Fórmula                                                  | PM  | Teor<br>g/l (N) | Obs.                       |
|-------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------------------------------|-----|-----------------|----------------------------|
| ácido dihidro-<br>xibutanodióico                | ácido tartá-<br>rico         | $\text{COOH CHOH CHOH COOH}$                             | 150 | 2 a 5           | provenientes<br>da uva     |
| ácido hidrox-<br>ibutanodióico                  | ácido málico                 | $\text{COOH CHOH CH}_2 \text{COOH}$                      | 134 | 0 a 5           |                            |
| ácido 2-hidro-<br>xipropano tri-<br>carboxílico | ácido cítri-<br>co           | $\text{COOH CH}_2\text{COH COOH CH}_2\text{COOH}$<br>192 |     | 0 a 0,5         |                            |
| ácido butano-<br>dióico                         | ácido succí-<br>nico         | $\text{COOH CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$                 | 118 | 0,5 a 1,5       | produtos de<br>fermentação |
| ácido 2-hidro-<br>xipropanóico                  | ácido lácti-<br>co           | $\text{CH}_3 \text{CHOH COOH}$                           | 90  | 1 a 5           |                            |
| ácido etanóico                                  | ácido acéti-<br>co           | $\text{CH}_3\text{COOH}$                                 | 60  | 0,5 a 1         |                            |
| ácido benzeno-<br>carboxílico                   | ácido benzô-<br>ico          | $\text{C}_6\text{H}_5 \text{COOH}$                       | -   | -               | antissépticos<br>proibidos |
| ácido 2-hidro-<br>xibenzeno car-<br>boxílico    | ácido salicí-<br>lico        | $\text{C}_6\text{H}_4\text{COOH OH}$                     | -   | -               |                            |
| Ácido monobro-<br>moetanóico                    | ácido monobro-<br>mo acético | $\text{CH}_2\text{Br COOH}$                              | -   | -               |                            |

mentação malo-láctica, por exemplo, os teores de ácido málico e láctico devem ser acompanhados<sup>(86)</sup>.

A determinação de acidez fixa é necessária em certas receitas enológicas usadas na França e outros países europeus para detectar a adição de água em vinhos<sup>(78)</sup>.

Existem vários métodos para determinação individual de ácidos em vinhos, todos já citados neste trabalho de tese. Mais recentemente Gordon<sup>(91)</sup> desenvolveu um programa computacional o qual torna possível determinar sete componentes ácidos do vinho através do tratamento de dados de titulações potenciométricas. Contudo não foi possível por este método determinar a concentração individual de cada ácido.

Pato et al<sup>(67)</sup> desenvolveram um método de cálculo aplicado à titulação potenciométrica de ácidos de vinho após separação dos mesmos por meio da precipitação na forma de sais de bário, em meio alcoólico 90% (V/V). O método destes autores permitiu obter resultados para as somas dos ácidos tartárico e málico e para a soma dos ácidos tartárico, málico e succínico. Os autores consideraram estas determinações como de grande interesse na caracterização de tipos de vinhos. Sugeriram ainda a determinação do ácido tartárico por outro método, para resolução satisfatória dos ácidos orgânicos dos vinhos.

Nosso objetivo nesta parte do trabalho foi de solucionar misturas sintéticas diretas e após precipitação conforme Pato et al, ligeiramente modificado e aplicá-lo à amostra de vinho, utilizando o método de Ivaska & Nagypal aos dados das titulações potenciométricas.

## 8.2. Resultados e Discussões

Nos vinhos, o método de Pato et al<sup>(67)</sup> de separação dos áci

dos consiste na solubilidade do lactato de bário e insolubilidade de tartaratos, malatos, succinatos, citratos, sulfatos, fosfatos e tanatos de bário em solução alcoólica neutra e na insolubilidade em água fria de sulfatos, fosfatos e tanatos de bário. Assim, através da utilização deste procedimento, restará na solução final no máximo quatro sais: tartarato, malato, succinato e citrato de bário. Este procedimento com pequenas modificações, foi utilizado neste trabalho de tese, tanto em misturas sintéticas destes ácidos, assim como também nas amostras de vinho.

A tabela 18 exemplifica o modelo de cálculo, realizado pelo programa computacional VINHO, quando temos quatro ácidos fracos (tartárico, cítrico, málico e succínico) e um ácido forte (HCl).

Os resultados obtidos nas titulações de misturas sintéticas dos ácidos tartárico, málico, succínico e cítrico, tituladas diretamente e após a precipitação são apresentados na tabela 19. Verificamos que os ácidos tartárico e málico são resolvidos individualmente, enquanto que os ácidos succínico e cítrico não podem ser determinados individualmente com boa precisão. Era esperado a não resolução individual dos quatro ácidos presentes, devido à sobreposição das curvas de  $\bar{n}/N$  vs. pH entre os ácidos málico, cítrico e succínico conforme figura 10. Como vemos na tabela 19, o ácido málico também apresenta um certo erro em sua concentração, indicando que também é afetado pela presença de ácido cítrico, apenas que em menor proporção do que o ácido succínico.

Através do procedimento de cromatografia em papel<sup>(86)</sup> verificou-se que o vinho em análise não continha os ácidos málico e cí

TABELA 18 - Modelo de Cálculo do Programa "VINHO" para Mistura Sintética dos Ácidos Tartárico, Cítrico, Máfico, Succínico e Clorídrico.  
Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M (NaNO<sub>3</sub>)

Análise de Misturas de Ácidos Fracos na Presença de Ácido (ou Base) Forte

VALORES DE pK

2.718  
4.659  
2.759  
4.501  
5.122  
3.133  
4.426  
3.908  
5.039

Volume inicial = 31

Concentração da base (ou ácido) = .1326

Produto iônico da água = 2.151E-14

Correção de pH = 0

CONCENTRAÇÕES E SEUS ERROS

VOLUMES DE EQUIVALÊNCIA E SEUS ERROS

|             |             |         |             |
|-------------|-------------|---------|-------------|
| 2.24101E-03 | 3.10447E-05 | 1.04783 | .0145156    |
| 3.41484E-04 | 2.17338E-05 | .239503 | .0152432    |
| 1.71406E-03 | 6.61044E-05 | .801448 | .0309086    |
| 2.05657E-03 | 3.31837E-05 | .961595 | .0155158    |
| 3.28155E-03 | 7.12315E-06 | .76718  | 1.66729E-03 |

CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA

| pH    | V <sub>exp</sub> | V <sub>teor</sub> | DV           |
|-------|------------------|-------------------|--------------|
| 2.612 | 0.600            | 0.59978           | -.220656E-03 |
| 2.665 | 0.700            | 0.70146           | 0.145799E-02 |
| 2.719 | 0.800            | 0.79960           | -.403404E-03 |
| 2.777 | 0.900            | 0.89973           | -.270844E-03 |
| 2.838 | 1.000            | 1.00001           | 0.149012E-04 |
| 2.901 | 1.100            | 1.09902           | -.980258E-03 |
| 2.968 | 1.200            | 1.20004           | 0.374317E-04 |
| 3.037 | 1.300            | 1.30023           | 0.232100E-03 |
| 3.108 | 1.400            | 1.39995           | -.480413E-04 |
| 3.181 | 1.500            | 1.49951           | -.487089E-03 |
| 3.256 | 1.600            | 1.59919           | -.814676E-03 |
| 3.336 | 1.702            | 1.70305           | -.104880E-02 |
| 3.412 | 1.800            | 1.79971           | -.288129E-03 |
| 3.493 | 1.900            | 1.90084           | 0.837684E-03 |
| 3.574 | 2.000            | 2.00017           | 0.171185E-03 |
| 3.657 | 2.100            | 2.10017           | 0.172853E-03 |
| 3.743 | 2.202            | 2.20187           | -.130177E-03 |
| 3.828 | 2.301            | 2.30038           | -.624418E-03 |
| 3.916 | 2.400            | 2.40010           | 0.963211E-04 |
| 4.007 | 2.500            | 2.50059           | 0.586271E-03 |
| 4.100 | 2.600            | 2.60028           | 0.277042E-03 |
| 4.197 | 2.700            | 2.70076           | 0.760794E-03 |
| 4.296 | 2.800            | 2.79940           | -.603914E-03 |
| 4.401 | 2.900            | 2.89946           | -.537872E-03 |
| 4.511 | 3.000            | 2.99908           | -.915766E-03 |
| 4.629 | 3.100            | 3.09985           | -.151873E-03 |
| 4.755 | 3.200            | 3.20026           | 0.256300E-03 |
| 4.891 | 3.300            | 3.29996           | -.376701E-04 |
| 5.044 | 3.400            | 3.40075           | 0.752687E-03 |
| 5.218 | 3.500            | 3.49979           | -.207663E-03 |

DESVIO PADRÃO = 6.28712E-04

TABELA 19 - Titulações Potenciométricas dos Ácidos Tartárico ( $H_2Tr$ ), Málico ( $H_2M$ ), Succínico ( $H_2Su$ ) e Cítrico ( $H_3Ci$ ).  
Temperatura =  $25,0^{\circ}C$  e  $I = 1,0 M(NaNO_3)$ .

| Misturas        | Concentração, $10^{-3} M$ |                       | d.p. <sup>a</sup> | Erro % |
|-----------------|---------------------------|-----------------------|-------------------|--------|
|                 | Quantidade presente       | Quantidade encontrada |                   |        |
| I $H_2Tr$       | 2,256                     | 2,224                 | 0,031             | -1,4   |
| $H_2M$          | 1,871                     | 1,785                 | 0,070             | -4,6   |
| $H_2Su + H_3Ci$ | 4,670 <sup>b</sup>        | 4,984 <sup>b</sup>    | 0,109             | +6,7   |
| HCl             | 3,400                     | 3,390                 | 0,018             | -0,3   |
| II $H_2Tr$      | 2,256                     | 2,269                 | 0,018             | +0,6   |
| $H_2M$          | 1,871                     | 1,822                 | 0,073             | -2,6   |
| $H_2Su + H_3Ci$ | 4,670 <sup>b</sup>        | 4,732 <sup>b</sup>    | 0,174             | +1,3   |

a. Desvio padrão relativo a 5 determinações.

b. Concentração em equivalentes,  $l^{-1}$ .

I- Mistura titulada diretamente.

II. Mistura titulada após a precipitação dos ácidos com cloreto de bário em meio alcoólico 90% (V/V).

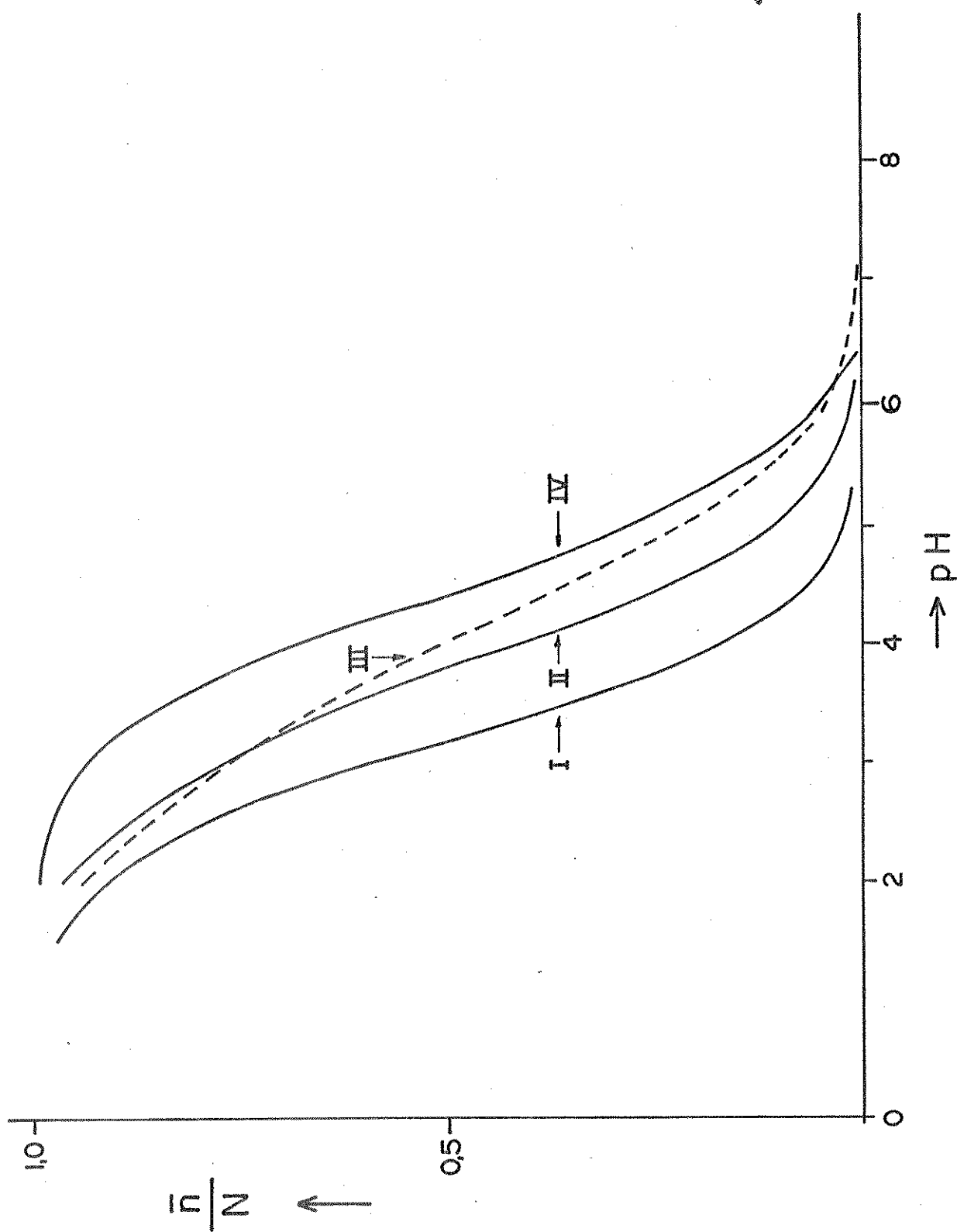


Figura 10 - Curvas  $\bar{n}/N = f(\text{pH})$  para os ácidos: tartárico (I), málico (II), cítrico (III) e succínico (IV).

trico. Assim na separação dos demais ácidos através da precipitação em meio alcoólico, deve restar na solução final uma mistura binária de tartarato de bário e succinato de bário.

Os resultados das titulações potenciométricas do vinho após separação por precipitação são apresentados na tabela 20, os quais apresentam uma boa concordância em relação à análise por outros métodos. Isso era esperado, apesar de não termos realizado titulações em misturas sintéticas dos ácidos tartárico e succínico, devido a relativamente grande diferença de área sob as curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH para estes dois ácidos (figura 11).

A tabela 21 apresenta os resultados das titulações da amostra de vinho com adição de uma quantidade conhecida de ácido málico, antes do procedimento da precipitação. Os três ácidos são resolvidos satisfatoriamente. Também, para a mistura destes três ácidos, não foi realizada titulação de misturas sintéticas, mas baseados nas curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH para estes três ácidos esperava-se uma resolução razoável (figura 12).

Os resultados da análise dos ácidos do vinho, após a adição de ácido cítrico e posterior separação dos ácidos na forma de sais de bário são apresentadas na tabela 22. Essas titulações dão bons resultados para o ácido tartárico, mas os ácidos succínico e cítrico não podem ser determinados individualmente com boa precisão. Isto é observado na faixa de concentração de ácido cítrico utilizada. O problema da não resolução individual dos ácidos era esperada devido a pequena área entre as curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH para os ácidos succínico e cítrico. Contudo, é possível determinar ácido tartárico e

TABELA 20 - Resultados das Titulações de Amostra de Vinho após a Se  
paração dos Ácidos na Forma de Sais de Bário.

Temperatura =  $25,0^{\circ}\text{C}$  e  $I = 1,0 \text{ M (NaNO}_3\text{)}$ .

| Ácidos    | Concentração, $10^{-3}\text{M}^a$ |                   |                | Diferença % |
|-----------|-----------------------------------|-------------------|----------------|-------------|
|           | Potenciométrico                   | d.p. <sup>b</sup> | outros métodos |             |
| Tartárico | 1,757                             | 0,017             | 1,681          | +4,3        |
| Succínico | 0,7326                            | 0,009             | 0,7512         | -2,5        |

a. No vinho será 10 vezes mais concentrado.

b. Desvio padrão de 7 medidas.

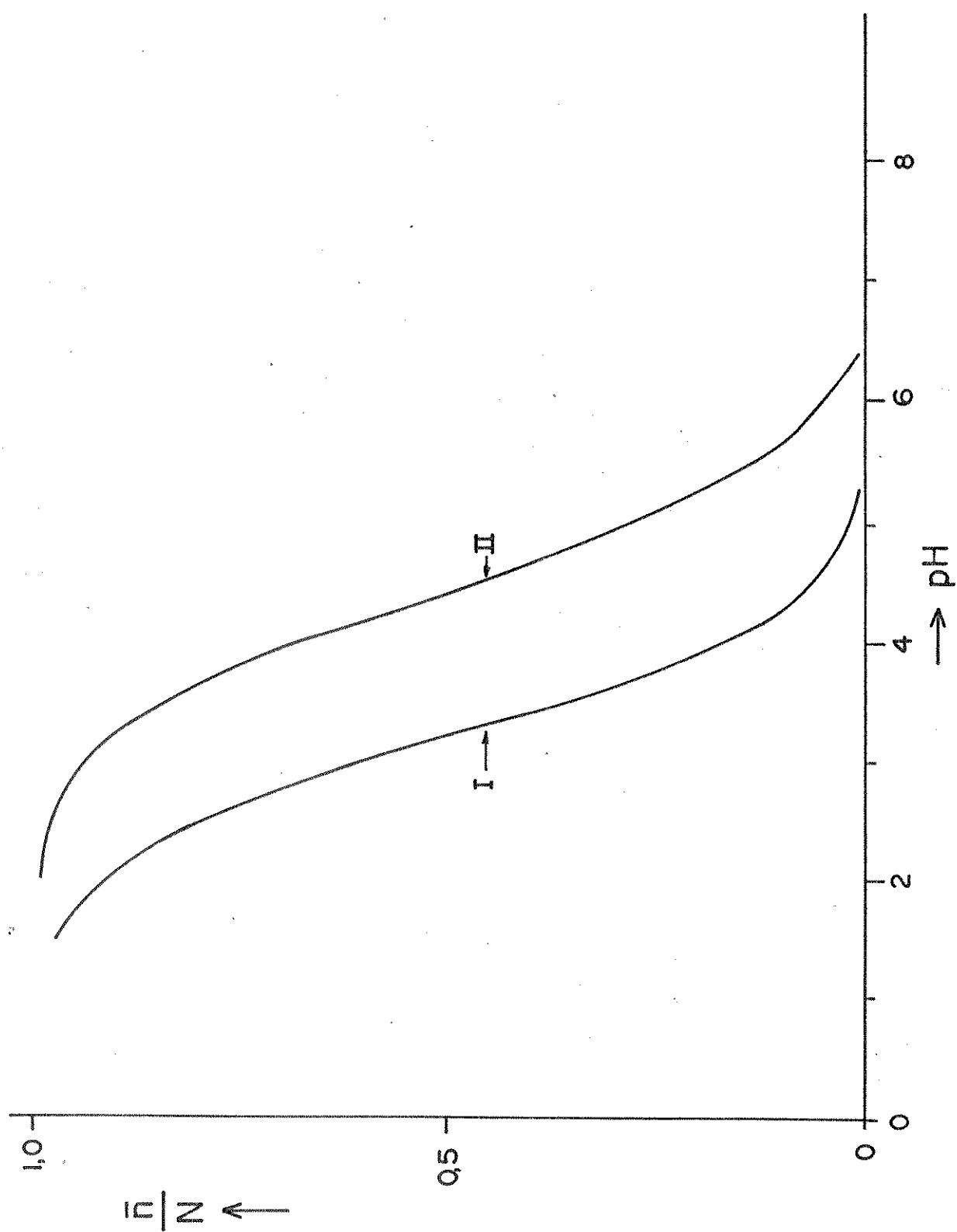


Figura 11 - Curvas  $\bar{n}/N = f(\text{pH})$  para os ácidos: tartárico (I) e succínico (II).

TABELA 21 - Resultados das Titulações de Amostra de Vinho após a Adição de uma Quantidade Conhecida de Ácido Málico e Separação dos Ácidos na Forma de Sais de Bário.  
Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M(NaNO<sub>3</sub>).

| Ácidos    | Concentração, 10 <sup>-3</sup> M <sup>a</sup> |                   |                    | Diferença % |
|-----------|-----------------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------|
|           | Potenciométrico                               | d.p. <sup>b</sup> | outros métodos     |             |
| Tartárico | 1,784                                         | 0,025             | 1,681              | +5,8        |
| Succínico | 0,7234                                        | 0,018             | 0,7512             | -3,8        |
| Málico    | 1,592                                         | 0,061             | 1,613 <sup>c</sup> | -1,3        |

a. No vinho será 10 vezes mais concentrado.

b. Desvio padrão de 5 medidas.

c. Quantidade de ácido málico adicionado.

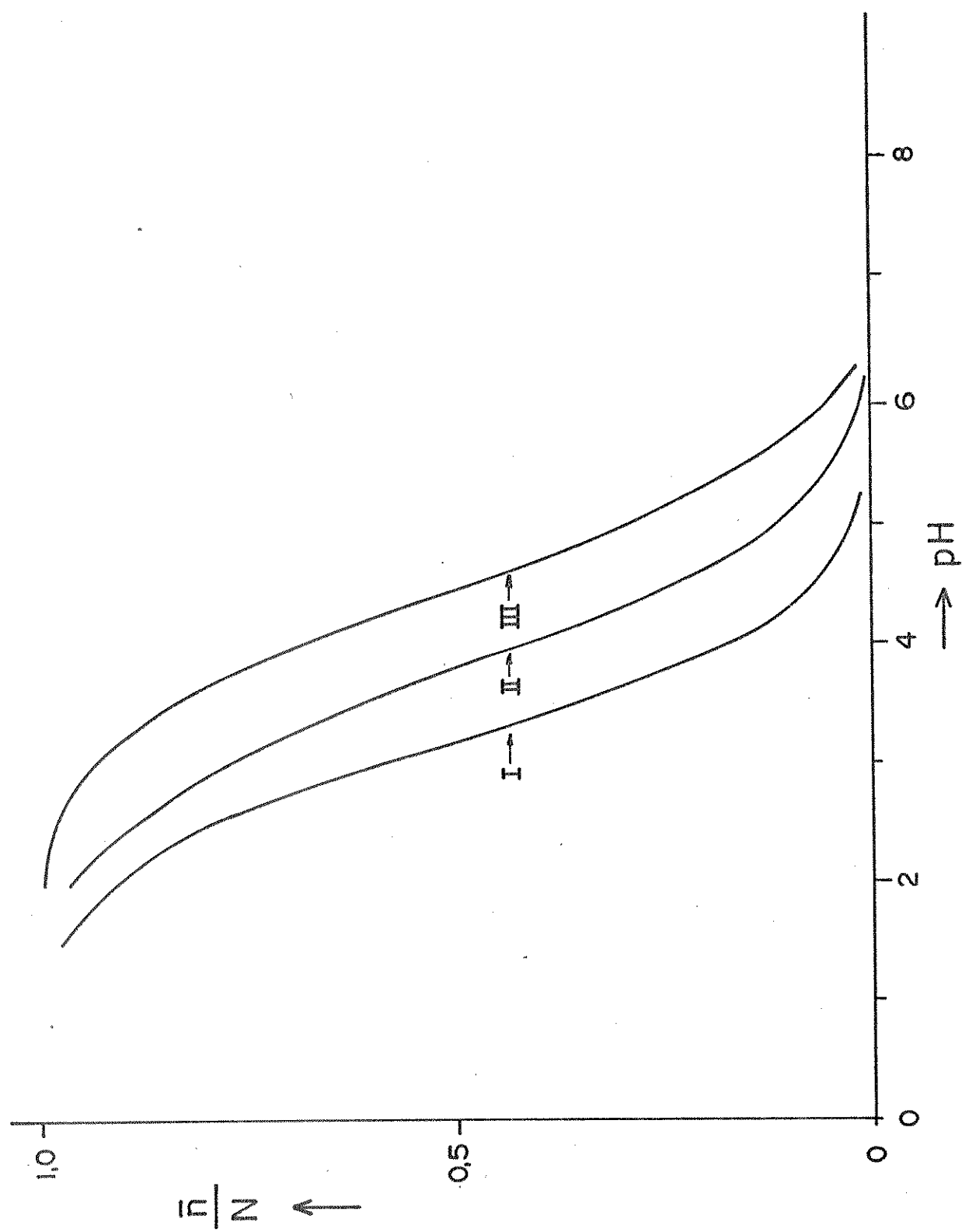


Figura 12 - Curvas  $\bar{n}/N = f(\text{pH})$  para os ácidos: tartárico (I), málico (II) e succínico (III).

TABELA 22 - Resultados das Titulações de Vinho, após a Adição de uma Quantidade Conhecida de Ácido Cítrico e Separação por Precipitação.

Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M(NaNO<sub>3</sub>).

| Ácidos                 | Concentração, $10^{-3}$ Eq.l <sup>-1</sup> <sup>a</sup> |                   |                    | Diferença % |
|------------------------|---------------------------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------|
|                        | Potenciométrico                                         | d.p. <sup>b</sup> | outros métodos     |             |
| Tartárico              | 3,360                                                   | 0,009             | 3,362              | -0,1        |
| Succínico +<br>Cítrico | 1,876                                                   | 0,016             | 1,982 <sup>c</sup> | -5,6        |

a. No vinho será 10 vezes mais concentrado.

b. Desvio padrão de 5 determinações.

c. Quantidade de ácido succínico encontrado por outro método mais a quantidade de ácido cítrico adicionada ( $4,800 \times 10^{-4}$  Eq.l<sup>-1</sup>).

e a soma dos ácidos succínico e cítrico.

A tabela 23 apresenta os resultados das titulações potenciométricas do vinho após a adição de quantidades conhecidas dos ácidos málico e cítrico e posterior separação na forma de sais de bário. O que é similar a nossa mistura sintética inicial apresentada no início deste capítulo. Verificamos que o ácido tartárico e málico podem ser determinados individualmente com razoável precisão, enquanto que os ácidos succínico e cítrico, não podem ser resolvidos individualmente, mas razoavelmente na forma de soma em número de equivalentes.

Como demonstrado neste capítulo, o método proposto pode ser usado para determinações de ácidos em vinhos livres dos ácidos málico e cítrico com erro menor do que 5%.

Em vinhos isentos de ácido cítrico é possível determinar individualmente os ácidos tartárico, málico e succínico, com precisão em torno de 5%.

Em vinhos isentos de ácido málico, o ácido tartárico pode ser determinado individualmente, enquanto que o erro na concentração do ácido succínico vai depender da concentração do ácido cítrico no vinho, que em geral é baixa.

Em vinhos que contenham todos os ácidos precipitáveis em meio alcoólico, o ácido tartárico será resolvido individualmente enquanto que os ácidos succínico e málico baseados nas curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH e pelos resultados encontrados, irão depender da concentração do ácido cítrico no vinho (raramente ultrapassa 5% da fração ácida) e da precisão requerida na análise, sendo que o ácido succínico é pouco mais afetado que o ácido málico.

TABELA 23 - Resultados das Titulações de Vinho, após a Adição de Quantidades Conhecidas de Ácidos Máfico e Cítrico e Posterior Separação por Precipitação.

Temperatura = 25,0°C e I = 1,0 M(NaNO<sub>3</sub>).

| Ácidos                 | Concentração, 10 <sup>-3</sup> M <sup>a</sup> |                   |                      | Diferença % |
|------------------------|-----------------------------------------------|-------------------|----------------------|-------------|
|                        | Potenciométrico                               | d.p. <sup>b</sup> | outros métodos       |             |
| Tartárico              | 1,704                                         | 0,013             | 1,681                | +1,3        |
| Máfico                 | 1,535                                         | 0,029             | 1,613 <sup>c</sup>   | -5,1        |
| Succínico +<br>Cítrico | 2,053 <sup>d</sup>                            | 0,011             | 1,982 <sup>d,e</sup> | +3,4        |

a. No vinho será 10 vezes mais concentrado.

b. Desvio padrão de 5 determinações.

c. Quantidade de ácido málico adicionado.

d. Concentração em Eq.l<sup>-1</sup>.

e. Quantidade de ácido succínico encontrada em outro método mais ácido cítrico adicionado (4,800x10<sup>-4</sup> Eq.l<sup>-1</sup>).

## 9. CONCLUSÕES

- 9.1. Este estudo indica que pela titulações potenciométricas das misturas aqui apresentadas, misturas bastante complexas de ácidos podem ser analisadas.
- 9.2. Em todas as misturas sintéticas de ácidos fracos em que não havia uma grave sobreposição das curvas  $\bar{n}/N$  vs. pH dos ácidos presentes, tivemos boa resolução individual dos ácidos.
- 9.3. Titulação alcalimétrica para amostras de antiácido (tratada com HCl em quantidade conhecida e em excesso) é preferível em relação à titulação acidimétrica.
- 9.4. O procedimento de cromatografia em papel deve ser usado para identificação dos ácidos presentes nas amostras.
- 9.5. O método linear algébrico é aplicável à análise dos ácidos do suco de uva isento de ácido cítrico, com uma diferença em torno de 5% em relação aos métodos oficiais.
- 9.6. Na aplicação do método linear a dados de titulações potenciométricas, em sucos que contenham ácido cítrico, o erro na concentração do ácido málico irá depender da concentração do ácido cítrico, a aplicabilidade do método nestes casos dependerá da precisão requerida na análise.
- 9.7. O método é aplicável à determinação dos ácidos tartárico e succínico em vinhos isentos dos ácidos cítrico e málico, com um erro em torno de 5%.
- 9.8. O método é aplicável à determinação dos ácidos tartárico, málico e succínico em vinhos isentos de ácido cítrico com boa

precisão.

- 9.9. Na aplicação do método linear a dados de titulações potenciométricas, em vinhos isentos de ácido málico, o erro na concentração do ácido succínico irá depender da concentração do ácido cítrico e da precisão requerida na análise.
- 9.10. Tanto em análise dos ácidos do suco de uva ou vinho, o problema da não resolução de todos os ácidos individualmente, está relacionada à presença de ácido cítrico. Felizmente sua concentração nestas amostras é muito baixa. O que, em casos de análise exata de sua quantidade, deve-se usar um outro método, resolvendo-se assim, todos os demais por titulação potenciométrica.
- 9.11. Os procedimentos de preparações de amostras, titulações e cálculos, demonstraram que o método potenciométrico é mais rápido que os métodos oficiais e os cromatográficos. Por outro lado, é mais preciso e exato que os oficiais.

## 10. APÊNDICE

```

READY
>PROGRAMA "VINHO"
READY
>LIST
5 DIM V(90),P1(90)
10 FOR Z=1 TO 90
20 READ V(Z),P1(Z)
30 IF V(Z)<0 THEN 50
40 NEXT Z
45 GOTO 60
50 N2=Z-1
60 DIM H(90),O1(90),I6(10),K1(10,5)
70 DIM P2(10,5),B(90),A(90,7),G(7,7),G5(7,7),E(7)
80 DIM H5(7),H3(7),H6(7),H7(7),B5(90),V5(90)
90 DIM D5(90),V6(7),D6(7),H8(7),A5(90,7)
100 DIM B6(90),H1(7),B7(90)
110 I5=0
120 READ I1,N,V0,C5,F5,W5
130 IF I1>= 0 THEN 320
140 READ T5,S5
150 J1=N/2
160 FOR I=1 TO N2
170 H(I)=10[(F5-P1(I))]
180 D1(I)=W5/H(I)
190 S=N*T5+S5-C5*V(I)/V0
200 S=(S-(V0+V(I))/V0*(H(I)-O1(I)))/T5
210 B(I)=-S/((S-J1)*H(I)[J1])
220 B6(I)=B(I)
230 B7(I)=S
240 FOR J=1 TO N
250 A(I,J)=((S-J)*H(I)[J])/((S-J1)*H(I)[J1])
260 A5(I,J)=A(I,J)
270 H1(J1)=0
280 NEXT J
290 NEXT I
300 GOTO 670
320 FOR J=1 TO N
330 READ I6(J)
340 NEXT J
350 FOR J=1 TO N
360 I=I6(J)
370 FOR K=1 TO I
380 READ K1(J,K)
390 NEXT K
400 NEXT J
410 FOR J=1 TO N
420 I=I6(J)
430 FOR K=1 TO I
440 P2(J,K)=10[(-K1(J,K))]
450 NEXT K

```

```

460 NEXT J
470 FOR M=1 TO N2
480 H(M)=10[(-P1(M)+F5)
490 O1(M)=W5/H(M)
500 B(M)=C5*V(M)/V0+(H(M)-O1(M)*(V0+V(M)))/V0
510 FOR J=1 TO N
520 I=I6(J)
530 Q1=I
540 Q2=1
550 FOR L=1 TO I
560 Q1=Q1*H(M)/P2(J,L)+I-L
570 Q2=Q2*H(M)/P2(J,L)+1
580 NEXT L
590 A(M,J)=I-Q1/Q2
600 NEXT J
610 IF I1<>0 THEN 640
620 N1=N+1
630 A(M,N1)=1
640 NEXT M
650 IF I1<>0 THEN 670
660 N=N+1
670 FOR J=1 TO N
680 FOR K=1 TO N
690 X5=0
700 FOR M=1 TO N2
710 X5=X5+A(M,J)*A(M,K)
720 NEXT M
730 G(J,K)=X5
740 IF I5<>0 THEN 760
750 G5(J,K)=X5
760 NEXT K
770 NEXT J
780 FOR J=1 TO N
790 X5=0
800 FOR M=1 TO N2
810 X5=X5+A(M,J)*B(M)
820 NEXT M
830 E(J)=X5
840 NEXT J
850 T=1
860 GOSUB 2560
870 IF I1>=0 THEN 1210
880 C=0
890 FOR I=1 TO N
895 PRINT H1(I)
900 IF I5=0 THEN 940
910 C1=ABS(H6(I)/H1(I)+ABS(H6(I))))-0.5
920 IF C1<0 THEN 940
930 H6(I)=ABS(H1(I))*SGN(H6(I))*0.5
940 H1(I)=H1(I)+H6(I)
950 C=C+ABS(H6(I)/H1(I))
960 NEXT I
970 IF 0>(C-0.001) THEN 1120

```

```

980 FOR I=1 TO N2
990 C1=0
1000 C2=1
1010 FOR J=1 TO N
1020 C1=C1+J*H1(J)*H(I)[J
1030 C2=C2+H1(J)*H(I)[J
1040 NEXT J
1050 B(I)=B7(I)-C1/C2
1060 FOR J=1 TO N
1070 A(I,J)=(J-C1/C2)*H(I)[J/C2
1080 NEXT J
1090 NEXT I
1100 I5=I5+1
1110 GOTO 670
1120 FOR M=1 TO N2
1130 B(M)=B6(M)
1140 FOR J=1 TO N
1150 A(M,J)=A5(M,J)
1160 NEXT J
1170 NEXT M
1180 FOR I=1 TO N
1190 H6(I)=H1(I)
1200 NEXT I
1210 FOR L1=1 TO N
1220 FOR L2=1 TO N
1230 E(L2)=0
1240 IF L1<>L2 THEN 1260
1250 E(L2)=1
1260 NEXT L2
1270 FOR L3=1 TO N
1280 FOR L4=1 TO N
1290 G(L3,L4)=G5(L3,L4)
1300 NEXT L4
1310 NEXT L3
1320 T=0
1330 GOSUB 2560
1340 H3(L1)=H5(L1)
1350 NEXT L1
1360 C1=0
1370 FOR M=1 TO N2
1380 C2=0
1390 FOR J=1 TO N
1400 C2=C2+A(M,J)*H6(J)
1410 NEXT J
1420 B5(M)=C2
1430 C1=C1+(B(M)-C2)[2
1440 NEXT M
1450 FOR J=1 TO N
1460 H3(J)=ABS(H3(J)
1470 H7(J)=SQR(C1/(N2-N))*SQR(H3(J))
1480 NEXT J
1490 IF I1<0 THEN 2070
1500 C1=0
1510 FOR M=1 TO N2
1520 H9=10[(-P1(M)+F5)

```

```

1530 S1=H9-W5/H9
1540 V5(M)=V0*(B5(M)-S1)/(C5+S1)
1550 D5(M)=V5(M)-V(M)
1560 C1=C1+D5(M)/2
1570 NEXT M
1580 R=SQR(C1/(N2-N))
1590 PRINT "ANALISE DE MISTURAS DE ACIDOS FRACOS"
1600 IF I1>0 THEN 1630
1610 PRINT "NA PRESENÇA DE ACIDO (OU BASE) FORTE"
1620 PRINT
1630 PRINT "VALORES DE pK"
1640 IF I1<>0 THEN 1660
1650 N=N-1
1660 FOR J=1 TO N
1670 I=I6(J)
1680 PRINT
1690 FOR K=1 TO I
1700 PRINT K1(J,K)
1710 NEXT K
1730 NEXT J
1740 PRINT
1750 PRINT "VOLUME INICIAL="V0
1760 PRINT "CONCENTRAÇÃO DA BASE (OU ACIDO)="C5
1770 PRINT "PRODUTO IONICO DA AGUA="W5
1780 PRINT "CORREÇÃO DE pH="F5
1790 PRINT
1800 PRINT "CONCENTRAÇÕES E SEUS ERROS"
1810 IF I1<>0 THEN 1830
1820 N=N+1
1830 FOR J=1 TO N
1840 PRINT H6(J),H7(J)
1850 NEXT J
1870 PRINT
1880 PRINT "VOLUMES DE EQUIVALENCIA E SEUS ERROS"
1890 IF I1<>0 THEN 1910
1900 I6(N)=1
1910 FOR L=1 TO N
1920 V6(L)=H6(L)*V0/C5*I6(L)
1930 D6(L)=H7(L)*V0/C5*I6(L)
1940 PRINT V6(L),D6(L)
1960 NEXT L
1970 PRINT
1980 PRINT "CURVA DE TITULAÇÃO EXPERIMENTAL E TEÓRICA"
1990 PRINT
2000 PRINT "      pH              Vexp              Vteor              DV"
2005 AS="###.###          ##.###          ##.####          #.#####["
2010 FOR M=1 TO N2
2020 PRINT USING AS;P1(M),V(M),V5(M),D5(M)
2040 NEXT M
2050 PRINT "DESVIO PADRÃO="R
2060 STOP
2070 C3=0
2080 FOR M=1 TO N2
2090 C1=0
2100 C2=1

```

```

2110 FOR J=1 TO N
2120 C1=C1+J*ABS(H6(J))*H(M)[J
2130 C2=C2+ABS(H6(J))*H(M)[J
2140 NEXT J
2150 B5(M)=-C1/C2
2160 S=B5(M)*T5+N*T5+S5-(H(M)-O1(M)
2170 S0S*V0/(C5+H(M)+O1(M)
2180 V5(M)=S
2190 D5(M)=V5(M)-V(M)
2200 C3=C3+D5(M)[2
2210 NEXT M
2220 R=SQR(C3/(N2-N))
2230 PRINT "CALCULO DA CONSTANTE DE PROTONAÇÃO"
2240 PRINT
2250 PRINT "VOLUME INICIAL ="V0
2260 PRINT "CONCENTRAÇÃO DA BASE (OU ACIDO)="C5
2270 PRINT "PRODUTO IONICO DA AGUA="W5
2280 PRINT "CONCENTRAÇÃO DO LIGANTE="T5
2290 PRINT "CONCENTRAÇÃO DO ACIDO (OU BASE) FORTE="S5
2300 PRINT "CORREÇÃO DE pH="F5
2310 PRINT "NUMERO DE INTERAÇÕES NÃO LINEARES="I5
2320 PRINT
2330 PRINT "      LOGBETA          DESVIO PADRÃO"
2340 FOR I=1 TO N
2350 H6(I)=ABS(H6(I))
2360 H7(I)=ABS(H7(I))
2370 H7(I)=LOG(H7(I)/H6(I)-1)/LOG(10)
2380 H6(I)=LOG(H6(I))/LOG(10)
2390 PRINT I,H6(I),H7(I)
2410 NEXT I
2420 PRINT
2430 PRINT "VALORES DE pK"
2440 PRINT
2450 FOR I=1 TO N
2460 K=N-I+1
2470 L=K-1
2480 IF L>0 THEN 2510
2490 H8(I)=H6(K)
2500 GOTO 2520
2510 H8(I)=H6(K)-H6(L)
2520 PRINT I,H8(I)
2540 NEXT I
1550 GOTO 1980
2560 REM SUBROUTINE
2570 IF N<>1 THEN 2640
2580 E(1)=E(1)/G(1,1)
2590 IF T=0 THEN 2620
2600 H6(1)=E(1)
2610 GOTO 2630
2620 H5(1)=E(1)
2630 GOTO 2990
2640 N6=N-1
2650 FOR L5=1 TO N6
2660 Y=G(L5,L5)
2670 N5=L5

```

```

2680 FOR L6=N5 TO N
2690 G(L5,L6)=G(L5,L6)/Y
2700 NEXT L6
2710 E(L5)=E(L5)/Y
2720 FOR L6=1 TO N
2730 Y9=0
2740 IF G(L6,L5)<>0 THEN 2760
2750 GOTO 2840
2760 IF L5<>L6 THEN 2780
2770 GOTO 2840
2780 Y8=G(L6,L5)
2790 L7=L5+1
2800 FOR L8=L7 TO N
2810 G(L6,L8)=G(L6,L8)-Y8*G(L5,L8)
2820 NEXT L8
2830 E(L6)=E(L6)-Y8*E(L5)
2840 NEXT L6
2850 NEXT L5
2860 E(N)=E(N)/G(N,N)
2870 IF T=0 THEN 2900
2880 H6(N)=E(N)
2890 GOTO 2910
2900 H5(N)=E(N)
2910 N6=N-1
2920 FOR L6=1 TO N6
2930 E(L6)=E(L6)-G(L6,N)*E(N)
2940 IF T=0 THEN 2970
2950 H6(L6)=E(L6)
2960 GOTO 2980
2970 H5(L6)=E(L6)
2980 NEXT L6
2990 Y9=0
3000 RETURN
3020 DATA 0,2,08,0.1,2.101,0.2,2.123,0.3,2.145,0.4,2.168,0.501,2.192
98,1.3,2.435,1.4,2.476,1.5,2.52,1.6,2.566
3021 DATA 1.65,2.591,1.7,2.616,1.75,2.643,1.8,2.67
3022 DATA 1.85,2.701,1.9,2.731,1.95,2.763,2,2.797,2.05,2.831,2.1,2.868
32,2.45,3.184,2.5,3.238,2.55,3.296
3023 DATA 2.6,3.357,2.65,3.419,2.7,3.487,2.75,3.558,2.8,3.629,2.85
3.708,2,4.428,3.25,4.572,3.3,4.729,3.35,4.907
3024 DATA 3.4,5.133,3.45,5.373,3.5,5.755,3.55,6.641
3025 DATA -1,0
3050 DATA 0,3,31.009,0.1138,0,2.143E-14
3070 DATA 2,3,2
3080 DATA 2.718,3.659,2.759,4.051,5.122,3.908,5.039
3500 END

```

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. JANDERA, P. & CHURACEK, J., J. Chromatogr. 86, 351 (1973).
2. STARK, J.B., GOODBAN, A.E. & OWENS, H.S., Anal. Chem. 23(3), 413 (1951).
3. KUNKEE, R.E., Wines Vines 49, 23 (1968).
4. BOURZEIX, M., GUITRAUD, J. & CHAMPAGNOL, F., J. Chromatogr. 50, 83 (1970).
5. LUNDER, T.L. & MESSORI, F., Chromatographia 12, 716 (1979).
6. RAPP, A. & ZIEGLER, A., Chromatographia 9, 148 (1976).
7. BUSLIG, B.S., WILSON, C.W. & SHAW, P.E., J. Agric. Food Chem. 30, 342 (1982).
8. RAJAKILA, E., J. Chromatogr. 218, 695 (1982).
9. SCHWARZENBACH, R., J. Chromatogr. 251, 339 (1982).
10. SYMONDS, P., Ann Nutr. Alim. 32, 957 (1978).
11. NAKAJIMA, M., OZAWA, Y., TANIMURA, T. & TAMURA, Z., J. Chromatogr. 123, 129 (1976).
12. SHIMAZU, Y. & WATANABE, M., J. Ferment. Technol. 57, 512 (1979).
13. SHIMAZU, Y. & WATANABE, M., J. Ferment. Technol. 59, 27 (1981).
14. DROZD, J., J. Chromatogr. 113, 303 (1975).
15. CORINA, D.L., J. Chromatogr. 87, 254 (1973).
16. KUPINA, S.A., KUTSCHINSKI, J.L., WILLIAMS, R.D. & DeSOTO, R.D., Am. J. Enol. Vitic. 33, 67 (1982).
17. MARCY, J.E. & CARROL, D.E., Am. J. Enol. Vitic. 33, 176 (1982).
18. MILLER, F.K., TOLEDO, M.C.F. & REYES, F.G.R., Cienc. Tecnol. Aliment. 2, 67 (1982).

19. REYES, F.G.R., WROLSTAD, R.E. & CORNWELL, C.J., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65, 126 (1982).
20. ROSSOTTI, F.J.C. & ROSSOTTI, H., J. Chem. Educ. 42, 375 (1965).
21. JOHANSSON, A., Talanta 21, 1269 (1974).
22. GRAN, G., Acta Chem. Scand. 4, 559 (1950).
23. SØRENSEN, P., Kem. Maanedssblad 32, 73 (1951).
24. GRAN, G., The Analyst 77, 661 (1952).
25. HANSSON, I. & JAGNER, D., Anal. Chim. Acta 65, 363 (1973).
26. MIDGLEY, D. & McCALLUM, C., Talanta 21, 723 (1974).
27. ROSSOTTI, F.J.C. & ROSSOTTI, H., J. Phys. Chem. 68(12), 3773 (1964).
28. INGMAN, F. & STILL, E., Talanta 13, 1431 (1966).
29. JOHANSSON, A., The Analyst 95, 535 (1970).
30. IVASKA, A. & WANNINEN, E., Anal. Letters 6, 961 (1973).
31. IVASKA, A., Talanta 21, 1167 (1974).
32. IVASKA, A., Talanta 21, 1175 (1974).
33. EBEL, S., KROMMELBEN, R. & FREZENIUS, Z., Anal. Chem. 256(1), 28 (1971).
34. MIDGLEY, D. & McCALLUM, C., Talanta 23, 320 (1976).
35. MIDGLEY, D. & McCALLUM, C., Anal. Chim. Acta 78, 171 (1975).
36. BRIGGS, T.N. & STUEHR, J.E., Anal. Chem. 46, 1517 (1974).
37. BRIGGS, T.N. & STUEHR, J.E., Anal. Letters 6, 961 (1973).
38. HOFSTEE, B.H.J., Science 131, 39 (1960).
39. BENET, L.Z. & GOYAN, J.E., J. Pharm. Sci. 54, 1179 (1965).
40. LEESON, L.J. & BROWN, M., J. Pharm. Sci. 55, 431 (1966).
41. LITEANU, C. & CORMOS, D., Talanta 7, 18 (1960).

42. LITEANU, C. & CORMOS, D., Acta Chim. Akad. Sci. Hung. 27, 9 (1961).
43. JOHANSSON, G. & BACKÉN, W., Anal. Chim. Acta 69, 415 (1974).
44. JOHANSSON, S., Elementa 57, 144 (1974).
45. AUERBACH, F. & SMOLCZYK, E., Z. Phys. Chem. 110, 65 (1924).
46. KOMAR, N.P., J. Anal. Chem. USSR 7, 165 (1952).
47. FRISQUE, A. & MELOCHE, V.W., Anal. Chem. 26, 468 (1954).
48. PURDIE, N., TOMSON, M.B. & COOK, G.K., Anal. Chem. 44, 1525 (1972).
49. KANKARE, J.J., Anal. Chem. 45, 1877 (1973).
50. INGMAN, F., JOHANSSON, A., JOHANSSON, S. & KARLSSON, R., Anal. Chim. Acta 64, 113 (1973).
51. BOSS, M., Anal. Chim. Acta 90, 61 (1977).
52. ANFALT, T. & JAGNER, D., Anal. Chim. Acta 57, 165 (1971).
53. BARRY, D.M. & MEITES, L., Anal. Chim. Acta 68, 435 (1974).
54. BARRY, D.M., MEITES, L. & CAMPBELL, B.H., Anal. Chim. Acta 69, 143 (1974).
55. JOHANSSON, A. & JOHANSSON, S., The Analyst 104, 601 (1979).
56. ARENA, G., RIZZARELLI, E., SAMMARTANO, S. & RIGANO, C., Talanta 26, 1 (1979).
57. PIER, G.D., RIGANO, C. & SAMMARTANO, S., Talanta 30, 81 (1983).
58. PEHRSSON, L., INGMAN, F. & JOHANSSON, S., Talanta 23, 781 (1976).
59. SEYMOUR, M.D., CLAYTON, J.W.Jr. & FERNANDO, Q., Anal. Chem. 49, 1429 (1977).
60. GODINHO, O.E.S. & ALEIXO, L.M., Anal. Biochem. 112, 323 (1981).

61. GODINHO, O.E.S., ALEIXO, L.M. & HORA-ALVES, J.P., Anal. Biochem. 123, 244 (1982).
62. VASCONCELOS, N.M.S., Caracterização e Determinação de Grupos Tituláveis de Proteínas e Aminoácidos em Solução de Uréia através da Linearização de Curvas de Titulação Potenciométrica, Tese de Doutorado, UNICAMP, Campinas, 1984.
63. IVASKA, A., Thesis, Abo Akademi, 1975, Diss. Abstr. Int. C. 37 129 (1976), Chem. Abstr. 86, 195911d (1976).
64. IVASKA, A. & NAGYPAL, I., Talanta 27, 721 (1980).
65. KOLTHOFF, I.M. & SANDELL, E.B., Text Book of Quantitative Inorganic Analysis, McMillan, N.York, 1967, p. 562.
66. BIEDERMANN, G. & SILLÉN, L.G., Arkiv Kemi 5(40), 425 (1953).
67. PATO, M.A.S., PATO, M.H.M.L.S.S. & FERREIRA, M.E., De Vinea et Vino, Portugalia Documenta, 6 1 (1972).
68. PEHRSSON, L., INGMAN, F. & JOHANSSON, A., Talanta 23, 769 (1976).
69. DUNSMORE, H.S. & SILLÉN, L.G., Acta Chem. Scand. 17, 2657 (1963).
70. JOHANSSON, A. & JOHANSSON, S., The Analyst 103(1225), 305 (1978).
71. CIAVATA, L., Arkiv Kemi 20, 417 (1963).
72. TENCHEVA, J., VELINOV, G. & BUDEVSKY, O., J. Electroanal. Chem. 68, 65 (1976).
73. A.O.A.C., "Official Methods of Analysis", 12th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC., 1975, p. 140.
74. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, Instituto Adolfo

- Lutz, Volume 1 - Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1976, p.66.
75. VOGEL, A.I. - Análise Inorgânica Quantitativa - 4ª Edição, Editora Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1981, p.233.
76. MONTGOMERY, M.W., REYES, F.G.R., CORNWELL, C. & BEAVERS, D.V., J. Food Sci. 47, 1883 (1982).
77. WROLSTAD, R.E., CULBERTSON, J.D., NAGAKI, D.A. & MADERO, C.F., J. Agric. Food Chem. 28, 553 (1980).
78. SNELL, F.D. & ETTRE, L.S., Editors "Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis", Vol. 10, Intescience, New York, 1970, p.92.
79. RIBÉREAU-GAYON, J. & PEYNAUD, E., Analisi e Controllo dei Vini, Versão Italiana Tulio de Rosa, Edizione Agricola Bologna, 1966, p. 140.
80. MARTELL, A.E. & SMITH, R.M., Critical Stability Constants, vol. 3, Other organic ligands, Plenum Press, N. York, 1977.
81. KOROLKOVAS, A. & BURCKHALTER, J.H., Química Farmacêutica, Editora Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1982, p. 732.
82. LEAL, S.S., Antiácidos: Estudo da Potência, da Cinética de Neutralização e do Custo Financeiro. Belo Horizonte, UFMG/PROED, Série Dissertações e Teses, 1983.
83. FORDTRAN, J.S., MORAWSKI, S.G. & RICHARDSON, C.T., N. Eng. J. Med. 288, 923 (1973).
84. TAN, H.S. & SZOPA, M.E., Anal. Letters 16, 573 (1983).
85. BUTLER, J.N., Ionic Equilibrium - A Mathematical Approach, Addison-Wesley Publishing Company Inc., Massachusetts, 1964, p.20
86. AMERINE, M.A. & OUGH, C.S., Methods for Analysis of Musts and

- Wines, A Wiley Interscience Publication, 1980, p. 45.
87. PATO, O., O Vinho, sua Preparação e Conservação, Livraria Clássica Editora, Lisboa, 5ª Edição. Coleção "Técnica Agrária", 1976, p. 149.
88. WROLSTAD, R.E., CORNWELL, C.J., CULBERTSON, J.D. & REYES, F.G.R. Quality of Fruits and Vegetables of North America, ACS Symp. Ser. nº 170, American Chemical Society, Washington, DC., p. 77.
- . REYES, F.G.R., WROLSTAD, R.E. & CORNWELL, C.J., J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65, 126 (1982).
90. Anônimo. Methods of Enzymatic Food Analysis. Boehringer Mannheim Biochemicals, Indianapolis, IN, 1979.
91. GORDON, W.E., Anal. Chem. 54, 1595 (1982).