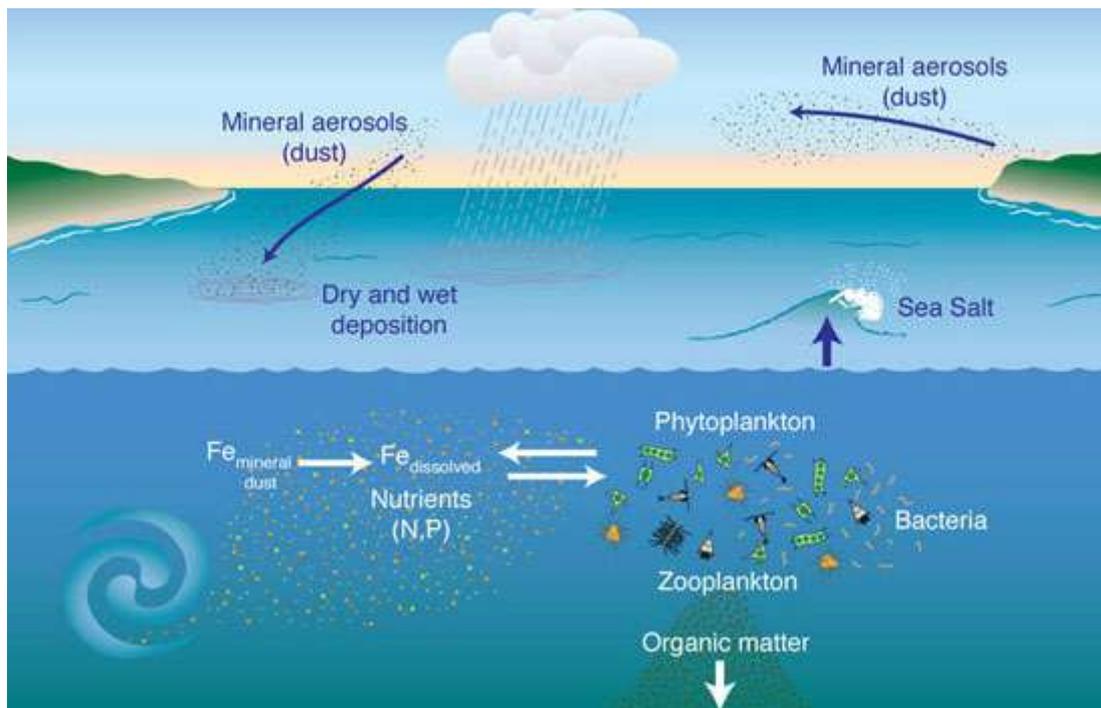


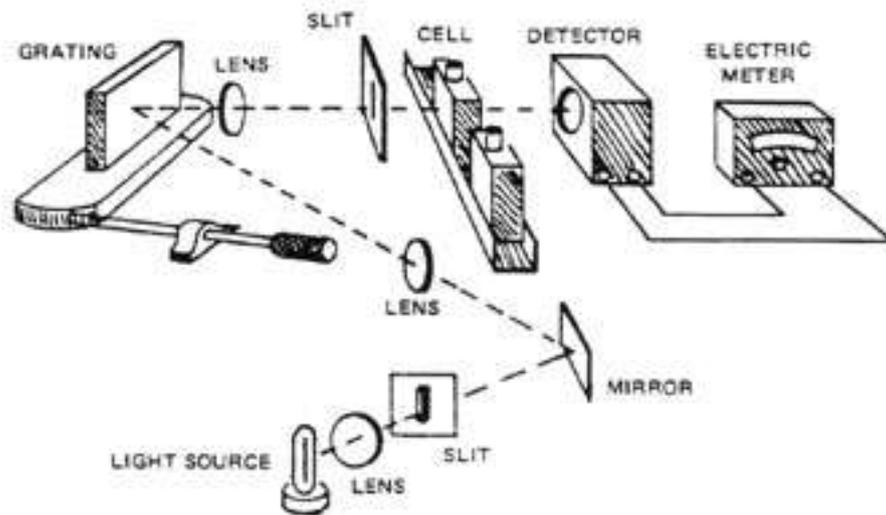
OCEANOGRAFIA QUIMICA

MÉTODOS DE ANÁLISES

DA ÁGUA DO MAR



Capítulo 3: Espectrofotometria na Faixa do Visível



A metodologia utilizada na quantificação dos nutrientes em água do mar e algumas outras práticas baseiam-se na colorimetria e na Lei de Beer-Lambert.

À água do mar, são adicionados compostos que reagem com os compostos de interesse, gerando um produto que absorve radiação na faixa do UV-visível (faixa do ultravioleta próximo e infravermelho próximo). Geralmente esses compostos são coloridos.

Nesse tipo de análise é utilizado o equipamento espectrofotômetro. O mesmo funciona, resumidamente, da seguinte forma:

- Um feixe de radiação eletromagnética de comprimento de onda definido é emitido;
- O feixe atravessa a amostra, contida em uma cubeta (de comprimento conhecido);
- Um detector recebe o feixe atenuado devido à absorção da radiação pelo analito.

A transmitância é a porcentagem de radiação que atravessa o analito, sendo expressa da seguinte forma:

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Onde:

P = feixe atenuado

P₀ = feixe emitido

Entretanto, é comum utilizar o termo Absorbância em espectrofotometria, que nada mais é do que uma relação logarítmica com a transmitância:

$$A = -\log \frac{P_0}{P}$$

De acordo com a Lei de Beer, a absorvância é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente e do caminho óptico:

$$A = \varepsilon \times b \times c$$

Onde:

ε = Absortividade molar ($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) – cada composto possui um valor diferente

b = comprimento do caminho óptico (cm)

c = concentração do analito (mol L^{-1})

Caso a absorvância se apresente muito baixa (abaixo de 0,300), pode-se utilizar cubetas maiores. Se a absorvância for muito alta (acima de 0,800), dilui-se a amostra.

3.2 Nutrientes

Amostragem

Todas as coletas de água para nutrientes devem ser coletadas a partir da garrafa hidrográfica em frascos previamente lavados com solução ligeiramente ácida (5% HCl) e enxaguados abundantemente com água destilada e deionizada. Os frascos devem ser de vidro âmbar ou de plástico com capacidade para 250 ml. Se as análises não forem realizadas imediatamente após a coleta, devem ser congeladas a -20°C

Cálculos

Para a realização dos cálculos de concentração de nutrientes, deve-se construir uma curva de calibração. Cada nutriente possui uma faixa de concentração ideal para a construção da curva baseados nos valores médios de concentração encontrados na água do mar.

Os pontos obtidos (concentração x absorvância) devem possuir comportamento linear. Deve-se fazer a correlação linear de todos os pontos, obtendo a equação da reta no seguinte formato:

$$y = bx + a$$

Com a equação da reta e a absorvância da amostra, calcula-se a concentração da amostra.

4.1 Determinação de Fosfato inorgânico dissolvido na água do mar

O fósforo é um constituinte da matéria orgânica viva, encontrado no ambiente marinho sob a forma de fosfatos orgânicos em suspensão ou em solução, e sob a forma de fosfatos inorgânicos insolúveis (como os de cálcio e ferro) ou adsorvidos por partículas em suspensão e principalmente sob a forma de fosfatos inorgânicos solúveis, ou seja, íons HPO_4^{-2} e PO_4^{-3} . A concentração de fósforo inorgânico na água do mar varia de 0,0 a 3,2 μM .

Princípio do método

Baseia-se na formação do ácido molibdofosfórico e sua subsequente redução com ácido ascórbico, resultando o complexo de fosfomolibdênio de cor azul. Não é possível escrever as reações balanceadas porque as reações exatas não são conhecidas. Primeiro é formado o complexo ácido de cor amarela. Com a adição do ácido ascórbico, ocorre a redução. Normalmente esta redução é lenta, porém a adição de um catalisador, o antimonil tartarato de potássio, faz com que esta reação ocorra rapidamente.

Materiais

Equipamentos

- espectrofotômetro
- cubetas de vidro de 5 cm

Vidraria

- balões volumétricos de 100, 200 e 1000 mL
- frascos de 100, 200 e 1000 mL
- provetas de 50 mL
- pipetas volumétricas de 0,5, 1 e 2 mL
- frascos de reação de 125 mL

- pisseta

Reagentes

- **Solução de molibdato de amônio 0,08 M** – dissolver 9,5 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ em 90 mL de água destilada e deionizada e diluir para 100 mL. Guardar a solução em frasco de vidro ou polietileno.
- **Solução de ácido sulfúrico ~ 4,5 M** - Adicionar 250 ml de H_2SO_4 concentrado ($d = 1,84$) a 500 mL de água destilada e deionizada. Esperar esfriar e dilua para 1000 mL. Guardar em frasco de vidro âmbar.
- **Solução de antimonil tartarato de potássio ~ 0,1 M** - dissolver 3,25 g de $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ em 100 mL de água destilada e deionizada. Guardar em frasco de vidro. O reagente pode ser usado enquanto permanecer claro.
- **Solução de mistura** - adicionar 45 mL da solução de molibdato de amônio a 200 mL da solução de ácido sulfúrico e em seguida, 5 mL da solução de antimonil tartarato de potássio. Guardar a mistura em frasco de vidro âmbar. Esta mistura é estável por alguns meses.
- **Solução de ácido ascórbico 0,4 M** - dissolver 7,0 g de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ em 100 mL de água destilada e deionizada. Guardar em frasco de vidro âmbar sob refrigeração.
- **Solução padrão de fosfato 0,01 M** - secar ~ 200 mg de fosfato diácido de potássio anidro (KH_2PO_4) a 110°C por três horas e deixar esfriar em dessecador. Pesar exatamente 136,1 mg e dissolver em água destilada e deionizada, a qual foi adicionada 1 mL de ácido sulfúrico 4,5 M. Diluir para 100 mL. Guardar em frasco de vidro sob refrigeração.

Padrões para curva analítica

Solução intermediária de padrão fosfato (0,1 mM)

Pipetar 1 ml da solução padrão de fosfato (10 mM) e diluir para 100 ml com água destilada e deionizada.

Soluções diluídas

A partir da solução intermediária, fazer as seguintes diluições conforme Tabela 10.

Tabela 5: diluições dos padrões de fosfato

solução diluída	concentração (μM)	volume solução intermediária (mL)	volume final (mL)
1	0,5	0,5	100
2	1,0	1,0	100
3	2,0	2,0	100

Procedimento Experimental

- Transferir 35 ml das soluções de padrões diluídas e das amostras de água do mar para os frascos de reações. Utilizar água destilada e deionizada para a análise do branco.
- Adicionar 1 ml da mistura de reagentes e agitar
- Adicionar 1 ml do ácido ascórbico e agitar
- Aguardar 5 minutos e ler a absorvância a 880 nm em cubas de 5 cm.

Cálculos**Curva analítica**

Com as medidas de absorvância dos padrões, descontado o valor do branco, construir uma curva de calibração e obter o fator F que relaciona a concentração com a absorvância.

$$F = \Delta C / \Delta A$$

onde:

C = concentração

A = absorvância

Cálculo da concentração de fosfato na amostra

$$[\text{PO}_4^{-3}] = F \cdot A$$

onde

A = absorvância da amostra.

Interferentes e precisão do método

Os principais interferentes são os silicatos e arsenatos que também formam complexos azuis com o molibdato, entretanto a velocidade de reação é mais lenta e a concentração destes íons é baixa na água do mar (até 200 μM para silicatos e 0,03 μM para arsenatos). Assim, os problemas de interferentes podem ser eliminados se as amostras forem lidas após 5 minutos de reação. A precisão do método está em torno de 5 a 15%.