

## **ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO UV-VIS**

### **Ficha técnica do equipamento**

Espectrofotômetro Shimadzu UV-1650PC

---

**Fontes de excitação:** Lâmpada de deutério e Lâmpada de tungstênio-halogênio

**Seletores de comprimento de onda:** Monocromadores

**Sistema fotométrico:** Duplo feixe

**Detector:** Fotodiodos de silício

**Largura de banda:** < 2 nm

**Faixa de varredura:** 190 – 1.100 nm

**Velocidades de varredura:** de 160 nm/min até 3.200 nm/min

**Incrementos de comprimento de onda:**

---

### **Determinação de Ferro em suplemento vitamínico empregando 1,10-fenantrolina como Agente Cromogênico**

A reação entre íons ferrosos e a 1,10-fenantrolina, originando um complexo de cor vermelha, constitui a base de um método sensível para a determinação de ferro. A intensidade da cor produzida é independente do pH, no intervalo 2,0 a 9,0. O complexo é opticamente estável por longo período de tempo. O ferro deve estar presente em estado ferroso e, assim, um agente redutor é adicionado antes do desenvolvimento da reação corada. Emprega-se a hidroxilamina, que reduz o Fe (III) segundo a equação:



O pH é ajustado a um valor entre 6 e 3 pela adição de acetato de sódio.

### **DESENVOLVIMENTO DO EXPERIMENTO**

#### ***I. PREPARO DA AMOSTRA***

- a) Moer o comprimido com auxílio de almofariz e pistilo.
- b) Transferir o comprimido moído para um béquer e adicionar 20 mL de ácido nítrico.
- c) Iniciar o aquecimento até secura.

- d) Após resfriar, adicionar ácido nítrico 2%, filtrar e transferir a solução resultante para um balão de 50 mL.

## II. PREPARO DAS SOLUÇÕES

- a) 1,10-fenantrolina: Dissolver 0,1 g do monohidrato da substância em 100 mL de água destilada. Se necessário, aquecer para promover sua dissolução.
- b) Hidroxilamina: Dissolver 2 g do cloridrato da substância em 20 mL de água.
- c) Acetato de Sódio: Dissolver 10 g da substância anidra em 100 mL de água.
- d) Solução Padrão de íon ferroso: Pesar, com exatidão, cerca de 0,07 g de sulfato ferroso amoniacal p.a. Dissolver o sal em água e transferir a solução resultante a um balão volumétrico de 1 litro. Adicionar 2,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, completar o volume e homogeneizar. A partir da massa de sal ferroso empregado, calcular a concentração da solução, em µg de Fe(II)/mL.

## III. PROCEDIMENTO

- Tomar 9 balões volumétricos de 50 mL e preparar as soluções de acordo com tabela 1 abaixo:

**Tabela 1:** Diluições dos padrões usados na construção da curva analítica

Balão	0	1	2	3	4	5	6	7	Amostra
Solução d(mL)	-	1,0	2,5	5,0	9,0	12,5	19,0	25,0	-
Água (mL)	25,0	-	-	-	-	-	-	-	-
Amostra (mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5

- Adicionar, a cada balão:
  - ✓ 1,0 mL da solução b;
  - ✓ 10,0 mL da solução a;
  - ✓ 8,0 mL da solução c;
  - ✓ Completar o volume de todas as soluções, homogeneizá-las e mantê-las em repouso por, no mínimo, 10 minutos.
- Varredura espectral para determinação do comprimento de onda ideal ( $\lambda_{\text{máx}}$ )

para análise

- ✓ No modo de aquisição de dados espectrais do software, fazer os ajustes iniciais, zerando-se a linha de base registrada pelo espectrofotômetro (300 a 800 nm) (comando “Baseline”).
  - ✓ Utilizando-se a solução-padrão 4, fazer uma varredura espectral preliminar na faixa de 300 a 800 nm e determinar o comprimento de onda  $\lambda_{\text{máx}}$  para as análises.
- Curva analítica: As medições para a construção da curva analítica são feitas no modo fotométrico do software, indicando-se o comprimento de onda desejado para a leitura.

Para cada solução, realizar o seguinte procedimento:

- ✓ Inicialmente, garantir a limpeza da cubeta com água destilada, certificando-se da adequada limpeza das paredes do dispositivo e escoando-se toda a água do seu interior. Utilizar o branco (tubo 0) para zerar inicialmente a leitura de absorvância do espectrofotômetro.
- ✓ Enxaguar a cubeta com um pequeno volume da solução de interesse (padrão ou amostra), para ambientar o dispositivo e evitar a diluição do padrão ou amostra. Em seguida, descartar essa solução. Repetir o procedimento.
- ✓ Preencher a cubeta com a solução de interesse, e garantir a secura das paredes externas desse dispositivo.
- ✓ Inserir a cubeta no espectrofotômetro e fazer a leitura de absorvância.
- ✓ Devolver a solução para o frasco original, preencher novamente a cubeta com a mesma solução e fazer a leitura novamente.
- ✓ Devolver a solução para o frasco original, preencher a cubeta pela terceira vez com a mesma solução e fazer a leitura. Ou seja, cada solução será analisada em triplicata.

Após a medida do primeiro calibrador, lavar a cubeta apenas com água destilada (em abundância), preencher a cubeta com o branco e fazer uma leitura para registro do branco.

Caso necessário, fazer um novo ajuste, zerando-se a absorvância registrada

(comando “Auto zero”).

Feito isso, passar para a segunda solução, repetindo o procedimento.

Devem-se intercalar as leituras do branco entre **cada** solução dos padrões de calibração, conforme a Tabela 2. No caso dessa prática<sup>1</sup>, por questões de simplicidade, a ordem das medidas deve ser da solução menos concentrada para a solução mais concentrada, e, ao final, as amostras.

**Tabela 2:** Curva analítica para o Fe.

Tubo	Absorbância		
	( $\lambda_{\text{máx}} = \underline{\hspace{2cm}}$ nm)		
1			
1ª leitura do branco			
2			
2ª leitura do branco			
3			
3ª leitura do branco			
4			
4ª leitura do branco			
5			
5ª leitura do branco			
6			
6ª leitura do branco			
7			
7ª leitura do branco			
8			
8ª leitura do branco			

- Amostra desconhecida: Após a aquisição dos dados para a curva analítica, analisar a amostra de concentração desconhecida, em triplicata.<sup>7</sup>

**Tabela 3:** Análise das amostras com concentração desconhecida

Amostra	Absorbância			Concentração de Fe (µg/mL)
Suplemento vitamínico				

#### IV. TRATAMENTO DOS DADOS

##### Curva analítica

Construa a curva analítica de Fe, montando um gráfico de absorbância (adimensional) x concentração de Fe (µg/mL), com todos os dados adquiridos (não apenas as médias). Obtenha o coeficiente angular e linear para a curva. Coloque os erros em cada ponto do seu gráfico. A partir dessas informações, calcular a concentração de Fe nas amostras e o erro.

##### Parâmetros analíticos

A partir das medidas efetuadas, determinar os seguintes parâmetros analíticos:

- Faixa linear
- Coeficiente de correlação
- Sensibilidade
- Ruído
- Limite de detecção (LD)
- Limite de quantificação (LQ)

#### QUESTÕES COMPLEMENTARES

1. Discussão sobre a obediência ou não à Lei de Lambert-Beer.
2. Cálculo da absorvidade ( $a$ ) e conversão em  $\epsilon_{\text{máx}}$  (incluindo as unidades).
3. Discussão do valor de  $\epsilon_{\text{máx}}$  experimental, frente ao valor da literatura (unidades)
4. Qual a importância do uso de  $\lambda_{\text{máx}}$  para obtenção da curva analítica?
5. Qual a importância do uso da hidroxilamina?
6. Qual a importância do uso de acetato de sódio e como se forma um tampão no meio?
7. O que ocorre a  $\text{pH} > 9$  e a  $\text{pH} < 2$ ?
8. Qual a importância do emprego da 1, 10-fenantrolina em excesso na determinação do ferro?