**Universidade de São Paulo**

**Instituto Oceanográfico**

**Guia de Análise da Água do Mar e Sedimento Marinho**

**Juliana Leonel, Rubens C. Figueira, OUTROS NOMES????**

Sumário

[Capitulo 1: Amostragem e Cuidados Analíticos 4](#_Toc347235111)

[1.1 Amostragem 5](#_Toc347235112)

[1.2 Qualidade dos Dados 5](#_Toc347235113)

[1.2.1 Precisão e Exatidão 5](#_Toc347235114)

[1.2.2 Algarismos Significativos 6](#_Toc347235115)

[1.2.3 Erros 7](#_Toc347235116)

[Capítulo 2: Parâmetros Físico-Químicos 8](#_Toc347235117)

[2.1 Determinação de Salinidade na Água do Mar 9](#_Toc347235118)

[2.1.1 Método de Mohr-Knudsen 9](#_Toc347235119)

[2.1.2 Método Condutimétrico 15](#_Toc347235120)

[2.2 Determinação do H da Água do Mar 22](#_Toc347235121)

[2.2.1 Método 1 23](#_Toc347235122)

[2.2.2 Método 2 – Escala Hidrogênio Total 28](#_Toc347235123)

[Capítulo 3: Titrimetria 35](#_Toc347235124)

[3.1 Oxigênio Dissolvido na Água do Mar 36](#_Toc347235126)

[3.1.1 Método de Winkler modificado 36](#_Toc347235127)

[3.2 Determinação da Alcalinidade Total em água do mar 45](#_Toc347235128)

[3.2.1 Títulação Potenciométrica 45](#_Toc347235129)

[3.2.2 Títulação Simples 53](#_Toc347235130)

[3.3 Determinação de carbono orgânico em sedimentos 58](#_Toc347235131)

[3.4 Determinação de cálcio em água do mar 61](#_Toc347235132)

[Capítulo 4: Gravimetria 64](#_Toc347235133)

[4.1 Material Particulado em Suspensão 65](#_Toc347235135)

[4.1.1 Material Particulado Orgânico em Suspensão 67](#_Toc347235136)

[4.2 Matéria Orgânica no Sedimento 69](#_Toc347235137)

[4.3 CaCO3 no sedimento 70](#_Toc347235138)

[Capítulo 5: Espectrofotometria na Faixa do Visível 73](#_Toc347235139)

[5.1 Nutrientes 75](#_Toc347235141)

[5.2 Determinação de Fosfato inorgânico dissolvido na água do mar 76](#_Toc347235142)

[5.3 Determinação de silicato inorgânico dissolvido na água do mar 79](#_Toc347235143)

[5.4 Determinação de nitrato dissolvido na água do mar 82](#_Toc347235144)

[5.5 Determinação de nitrito dissolvido na água do mar 88](#_Toc347235145)

**Lista de Figuras**

[Figura 1: Diagrama de um salinômetro indutivo 15](#_Toc347235146)

[Figura 2: Cela de um salinômetro indutivo (corte) 16](#_Toc347235147)

[Figura 3: Esquema de um salinômetro indutivo 18](#_Toc347235148)

**Lista de Tabelas**

[Tabela 1: Valores de k para a correção no cálculo de clorinidade 14](#_Toc347235149)

[Tabela 2: Valores de pH das soluções tampão a diferentes temperaturas 26](#_Toc347235150)

[Tabela 3: Composição das soluções tampão de pH em água do mar sintética para salinidade igual a 35 (massa baseada em 1000g de H2O) 31](#_Toc347235151)

[Tabela 4: Valores de pH das soluções tampão a diferentes temperaturas 56](#_Toc347235152)

[Tabela 5: diluições dos padrões de fosfato 77](#_Toc347235153)

[Tabela 6: diluições dos padrões de silicato 81](#_Toc347235154)

[Tabela 7: diluições dos padrões de nitrato 85](#_Toc347235155)

[Tabela 8: diluições dos padrões de nitrito 89](#_Toc347235156)

# Capitulo 1: Amostragem e Cuidados Analíticos

## Amostragem

A malha amostral e a frequência da amostragem dependem do objetivo do trabalho, mas devem levar em conta a intensidade das variações espaços-temporais na hidrodinâmica local, bem como as características bióticas e abióticas do local de estudo. Fatores como maré, correntes, características geomorfológicas, drenagem continental entre outras, podem interferir no estudo.

Além disso, é importante escolher os equipamentos adequados para coleta e as técnicas certas para a estocagem de material. Assim como material de coleta deve estar limpos e livre de interferentes que possam prejudicar os resultados.

Alguns dos equipamentos comumente usados em coletas de água e sedimento são descritos abaixo.

Coleta de água:

- garrafa de Van Dorn

- garrafa de Ninskin

- garrafa Go Flo

Coleta de sedimento:

- draga de fundo tipo Van Veen

- Boxcore

- Piston/Gravity Core

## Qualidade dos Dados

Todo valor numérico, que é um resultado de uma medida experimental, terá um grau de incerteza associado ao processo de medição. Não há como evitar essas incertezas, mas é possível melhorar métodos e técnicas para minimizá-los.

Os três principais que fatores influenciam na qualidade dos dados obtidos e devem receber atenção especial para garantir a qualidade dos dados gerados:

- delineamento espaço/temporal da amostragem;

- armazenamento das amostras;

- escolha de métodos analíticos com precisão e exatidão apropriados;

### Precisão e Exatidão

Exatidão e precisão são dois conceitos importantes para avaliar um método de análise. **Exatidão** de uma medida e o quão próximo o valor gerado se aproxima do valor real. Por outro lado, **precisão** (ou **repetibilidade**) de uma medida pode ser definida como a concordância de uma série de medidas realizada sob as mesmas condições. Quando a séria de medidas não é realizada sob as mesmas condições (por exemplo, analista ou laboratório diferentes) e ainda sim a precisão é mantida, diz-se que o método tem **reprodutibilidade**.

### Algarismos Significativos

Os algarismos de um número que são necessários para expressar a precisão da medida são denominados algarismos significativos. Estes são os dígitos que representam uma medida experimental e que possuem significado físico, sendo que o último algarismo é duvidoso.

Para expressar toda e qualquer medida experimental é preciso conhecer os algarismos significativos. Na definição de algarismos significativos o zero é considerado significativo quando se encontra entre dois algarismos (1,203 g – quatro algarismos significativos) ou quando se encontra no final do número à direita (15,20 mL - quatro algarismos significativos). No entanto, quando o zero encontra-se à esquerda ele serve apenas para localizar o ponto decimal (0,0670 – três algarismos significativos, pode ser expresso como 6,70 x 10-2).

No caso de uma medida direta, por exemplo, medida de massa em balança analítica que possui quatro casas decimais: deve-se expressar os quatro valores após a vírgula. Expressar menos casas estará informando precisão menor do equipamento e adicionar um zero no final informa precisão maior, ambos incorretos.

No caso de medidas indiretas, por exemplo, a concentração de oxigênio dissolvido que é calculado em função da quantidade de tiossulfato usado na titulação, deve-se levar em consideração se o calculo envolve adição, subtração, divisão ou multiplicação. No caso de adição e subtração o resultado deverá conter tantas casas decimais quantos existirem no fator com o menor número delas. No caso da multiplicação e divisão o resultado deverá conter tantos algarismos significativos quantos estiverem expressos no fator que possui o menor número de algarismos significativos. Já o algarismo de um número deverá ser expresso com tantos dígitos à direita do ponto decimal quantos forem os algarismos significativos do número original.

Para que um resultado analítico seja expresso com número adequado de algarismos significativos, é comum ser necessário realizar o arredondamento do número. Mas este deve ser feito somente no resultado final. Não deve ser aplicado a cálculos e resultados parciais, pois acarreta erros de arredondamentos.

*Regras para arredondamento:*

*Se o dígito a ser arredondado é < 5: manter o algarismo anterior*

*Exemplo: 0,523 será arredondado para 0,52.*

*Se o dígito a ser arredondado é >5: adicionar uma unidade ao algarismo anterior.*

*Exemplo: 44,8 será adicionado para 45.*

*Se o dígito a ser arredondado é =5: manter o anterior se ele for par.*

*Exemplo: 0,525 será arredondado para 0,52.*

*Adicionar uma unidade ao algarismo anterior se ele for ímpar.*

*Exemplo: 237,5 será arredondado para 238.*

### Erros

*Pessoais e operacionais*

São erros que independem de propriedades físicas e químicas do sistema ou de equipamentos e reagentes químicos, mas dependem do conhecimento e da habilidade do analista. Alguns exemplos: manter copo de béquer destampado durante as análises; não regular o nível da balança analítica; derramar soluções durante transferências.

*Instrumentos e reagentes*

São erros determinados ocasionados pela inadequada operação do instrumento analítico (instalação, condições de uso, calibração etc.) e pureza dos reagentes químicos. Exemplos: aparelhos como pipetas, buretas e balões volumétricos sem calibração ou com calibração vencida; impurezas em reagentes sólidos podem comprometer a massa medida.

*Erros de método*

A escolha do método deve ser cuidadosa e o procedimento deve ser rigorosamente observado. Exemplos: uso de indicador inadequado; aplicação do método a faixas de concentração inadequadas.·.

# Capítulo 2: Parâmetros Físico-Químicos

## Determinação de Salinidade na Água do Mar

A salinidade absoluta, SA é definida como a relação de massa dos constituintes dissolvidos na água do mar por massa de solução. No entanto, SA não pode ser medida diretamente e a salinidade prática é usada para reportar as observações oceanográficas.

A salinidade prática, S, de uma amostra de água do mar é definida em termos da razão K15. Esse termo é igual a razão das condutividades de uma amostras de água do mar e de uma solução de KCl de concentração 32,4356 x 10-3 g.g-1, estando ambas as soluções a 15ºC e a pressão de uma atmosfera padrão. O valor de K15 igual a 1 corresponde, por definição, a uma salinidade prática de exatamente 35 x 10-3.

Em razão da definição de salinidade prática, a maior parte destas determinações é feitas através de instrumentos denominados salinômetros. Estes instrumentos medem a condutividade da água do mar em relação a uma água do mar padrão. Além da determinação mais precisa de S, a medida de condutividade nos fornece uma estimativa melhor da densidade da água do mar, especialmente se pequenas variações das proporções iônicas relativas ocorrem em águas que apresentam salinidades práticas diferentes da média da água do mar.

A salinidade prática oceânica varia na faixa de 33 a 37 x 10-3. Estas variações são determinadas pelo balanço entre a adição e remoção de água da camada superficial oceânica e pelos processos físicos de mistura de todas as camadas dos oceanos.

### Método de Análise: Mohr-Nudsen

***Fundamento Analítico:*** o presente método baseia-se na titulação dos íons haletos (Cl-, Br-, I-) presentes na água do mar, com solução padronizada de nitrato de prata (AgNO3), usando solução de cromato de potássio (K2CrO4) como indicador.

Durante a titulação ocorre a precipitação dos seguintes sais:

Cl-(aq)  + Ag+(aq)  \rightleftharpoons  AgCl(s) (branco) Kps = 1,55 x 10-10

Br-(aq)  + Ag+(aq)  \rightleftharpoons  AgBr(s) (amarelo) Kps = 7,76 x 10-13

I-(aq)  + Ag+(aq)  \rightleftharpoons  AgI(s) (laranja) Kps = 1,51 x 10-16

O ponto final da titulação é indicado pela formação do cromato de prata:

CrO4-2(aq) + Ag+(aq)  \rightleftharpoons  Ag2CrO4(s) (marrom avermelhado) Kps = 8,91 x 10-12

Se a concentração do íon cromato (CrO4-2) for mantida em aproximadamente 5,0 x 10-3 mol.L-1 durante a titulação, não ocorrerá a precipitação de Ag2CrO4 até que a concentração de íon prata (Ag+) seja igual a 4,2 x 10-5 mol.L-1.

***Faixa de concentração:*** o método descrito atende praticamente todo o intervalo de clorinidade em águas marinhas naturais, ou seja, de 0 a 22 x 10-3.

***Precisão:***o desvio padrão é igual a ±0,01 x 10-3.

### Amostragem e Estocagem

As amostras devem ser coletadas em frascos de vidro de 250mL com tampas para evitar contaminação e evaporação. Antes da amostragem, lavar o frasco com a própria amostra três vezes e, após a coleta, secar a borda do frasco com papel absorvente para evitar o acúmulo de sal. Armazenar as amostras e a água do mar padrão no laboratório onde a determinação será realizada para que alcancem a temperatura ambiente.

### Procedimentos Analíticos

***Equipamentos***

* Bureta de pistão com capacidade de 20mL
* Agitador e bastão magnético

***Vidraria***

* Frasco âmbar de 1000mL
* Frasco conta-gotas
* Béquer de 150mL
* Pisseta
* Balão volumétrico de 100mL
* Balão volumétrico de 1000mL
* Frasco de boca larga
* Proveta de 250mL
* Tubos de polietileno
* Pinça de polietileno
* Pipeta de 10mL

***Reagentes***

* **Solução de cromato de potássio (K2CrO4) 8%** - dissolver 8g de K2CrO4 em 100mL de água destilada. Guardar em frasco conta-gotas.
* **Solução de nitrato de prata (AgNO­3)** – dissolver 60g de AgNO3 em 1000mL de água destilada. Conservar em frasco de vidro âmbar com tampa de borracha ou vidro.
* **Água do mar padrão** – fornecida pela IAPSO (International Association for the Physical Sciences of the Ocean) e selada em frascos de vidro.

***Padronização do nitrato de prata***

* Agitar a solução de AgNO3 vigorosamente antes de usar;
* Pipetar 10mL da **água do mar padrão em um** béquer de 150mL. Antes de coletar o volume definitivo, esta pipeta deve ser cuidadosamente lavada com a solução a ser titulada;
* Adicionar 25mL de água destilada e 6 gotas da solução de cromato de potássio;
* Deixar a mistura sob agitação (mas sem espirrar amostra);
* Adicionar a solução de nitrato de prata até que haja um primeiro sinal de mudança de cor;
* Interromper a titulação até que a cor volte ao amarelo;
* Lavar as gotas da parede do béquer com água destilada;
* Recomeçar a adição de solução de nitrato de prata, gota a gota, cuidadosamente até que a solução se torne marrom avermelhada. Essa cor deverá persistir por 30 segundos, sob agitação;
* **Anotar o volume de solução consumido “c”;**
* **Repetir a padronização mais duas vezes. Os resultados não podem diferir mais do que 0,01mL. A média aritmética é usada no cálculo da concentração da solução;**
* Transferir o conteúdo do béquer para um depósito apropriado e lavá-lo juntamente com o bastão magnético.

***Titulação das amostras***

* Agitar a amostra antes de abrir e proceder da mesma maneira que a padronização de AgNO3, tomando-se os mesmos cuidados e precauções;
* Anotar o volume “V” de solução de AgNO3 consumido e repetir a titulação mais uma vez.

### Cálculos

***Cálculo do fator de calibração “F”***



Onde:

= clorinidade nominal da água do mar padrão (19,375)

 = média da padronização do AgNO3

***Cálculo da clorinidade***

Onde:

= média dos volumes de titulação com AgNO3

=valor de correção (Tabela 1)

***Cálculo de salinidade***

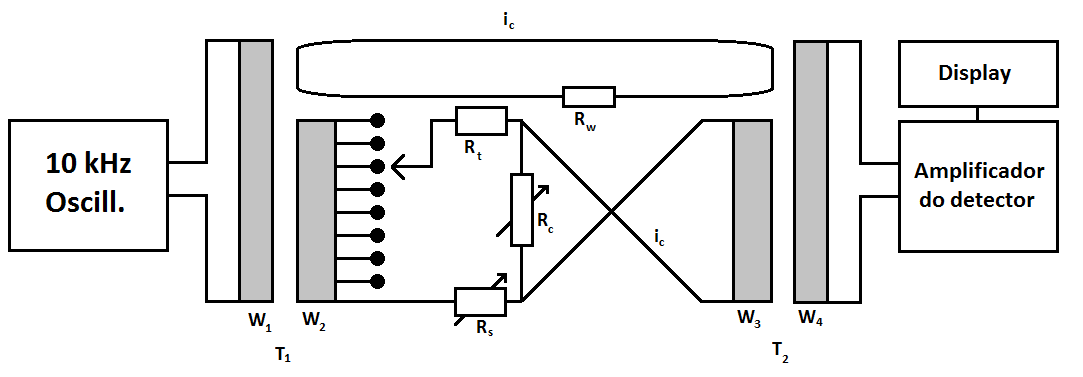
### Referencias

**Tabela 1: Valores de k para a correção no cálculo de clorinidade**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| V | V | k |
|  |  |  |
|  | 23,18 |  |
|  |  | -0,11 |
|  | 22,89 |  |
|  |  | -0,10 |
|  | 22,59 |  |
|  |  | -0,09 |
|  | 22,29 |  |
|  |  | -0,08 |
|  | 21,98 |  |
|  |  | -0,07 |
|  | 21,66 |  |
|  |  | -0,06 |
|  | 21,35 |  |
|  |  | -0,05 |
|  | 21,01 |  |
|  |  | -0,04 |
|  | 20,67 |  |
|  |  | -0,03 |
|  | 20,31 |  |
|  |  | -0,02 |
|  | 19,94 |  |
|  |  | -0,01 |
| 0,00 | 19,57 |  |
|  |  | 0,00 |
| 0,18 | 19,17 |  |
|  |  | 0,01 |
| 0,58 | 18,77 |  |
|  |  | 0,02 |
| 0,99 | 18,34 |  |
|  |  | 0,03 |
| 1,42 | 17,89 |  |
|  |  | 0,04 |
| 1,88 | 17,41 |  |
|  |  | 0,05 |
| 2,36 | 16,91 |  |
|  |  | 0,06 |
| 2,88 | 16,37 |  |
|  |  | 0,07 |
| 3,45 | 15,78 |  |
|  |  | 0,08 |
| 4,08 | 15,13 |  |
|  |  | 0,09 |
| 4,79 | 14,40 |  |
|  |  | 0,10 |
| 5,64 | 13,32 |  |
|  |  | 0,11 |
| 6,74 | 12,39 |  |
|  |  | 0,12 |
| 8,82 | 10,29 |  |
|  |  | 0,13 |
| 10,29 | 8,82 |  |

### 2.2.1 Método de Análise: Mohr-Nudsen

***Fundamento Analítico:***a água pura é um pobre condutor de eletricidade. No entanto, a presença de íons na água, como ocorre na água do mar, permite a passagem de uma corrente elétrica. A condutividade de uma solução eletrolítica é, normalmente, determinada por meio de uma ponte de circuito (Fig 1.), equipada com uma corrente alternada de alta frequência, onde a resistência da cela contendo o eletrólito é comparada com a resistência de uma solução padrão.

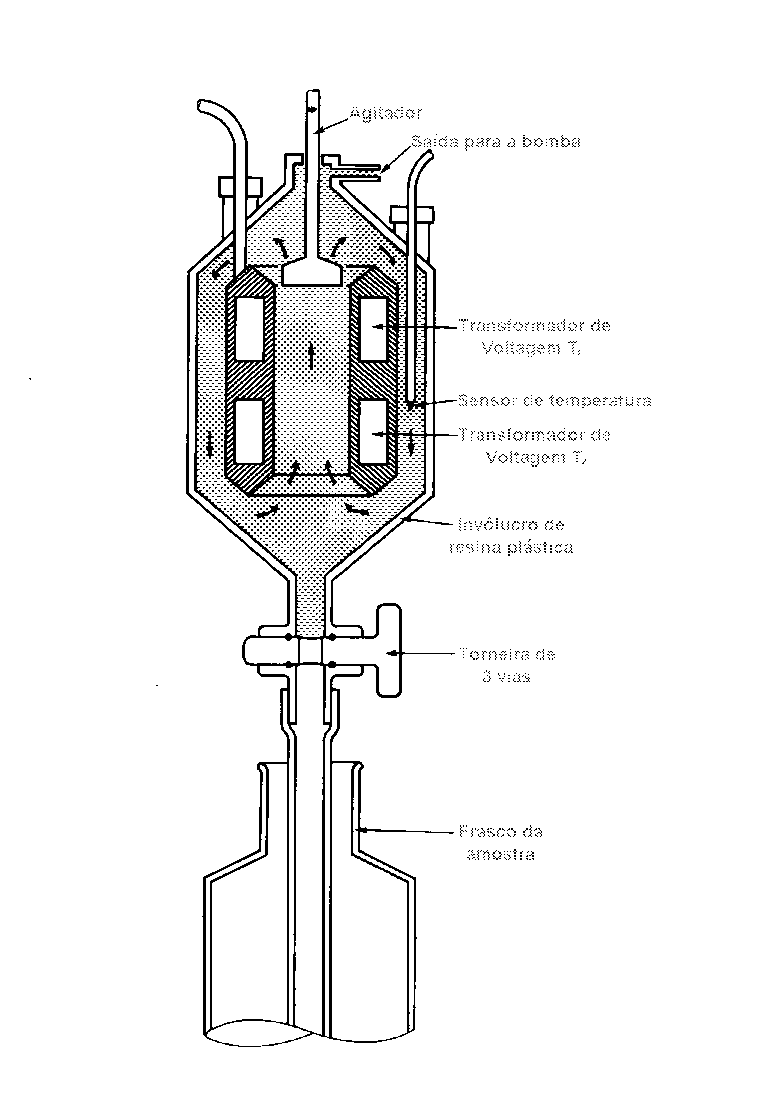


**Figura 1: Diagrama de um salinômetro indutivo**

Um oscilador de 10 kHz alimenta a bobina primária W1 do transformador T­1. Um segundo transformador T2 está associado ao T1 e consiste na amostra de água do mar com uma resistência Rw, de corrente alternada. A resistência Rw é controlada pela geometria da cela que contém os transformadores T1 e T2 fixos em uma resina de epóxi e são magneticamente separadas uma da outra (Fig. 2).

A resistência Rw é inversamente relacionada com a salinidade prática da amostra e, obviamente, fortemente dependente da temperatura. A resistência da água do mar em uma cela de salinômetro indutivo comum é aproximadamente 60Ω com uma salinidade prática igual a 35 x 10-3 e a uma temperatura de, aproximadamente, 20ºC.

As bobinas W2 e W3 dos transformadores T1 e T2 são conectadas de uma maneira cruzada. A bobina W2 tem várias válvulas que podem ser conectadas à rede de resistência através de uma chave década. Rt é um sensor de temperatura instalado na cela e a resistência progressivamente variável Rc compensa para o efeito da temperatura sobre Rw. A resistência Rs é também progressivamente variável e é utilizada para a padronização do instrumento. O efeito magnético da corrente ic no transformador T2 atua em oposição aquela da corrente iw no “loop” da água. Os efeitos combinados do W3 e o “loop” da água atuam através de T2 na bobina W4­, que alimenta o sinal dentro do amplificador do detector. O sinal da corrente alternada é retificado e mostrado em um voltímetro. Através de uma saída variável de W2, as correntes iw e ic são igualadas e assim o fluxo em T2 é zero, indicado pelo medidor no circuito de detecção.

****

**Figura 2: Cela de um salinômetro indutivo (corte)**

***Faixa de Concentração:*** A salinidade prática pode ser determinada no intervalo 2≤S≤42 e com temperatura no intervalo -2º≤T≤35ºC.

***Precisão:*** A maioria dos salinômetros indutivos apresenta uma reprodutibilidade de ±0,003 a ±0,002 x 10-3S.

Na amostragem de campo, a água do mar está sujeita à mudanças do sistema carbonato e na concentração de alguns micro-constituintes. A mudança de pH, causada pela adição ou remoção de dióxido de carbono do sistema, causa uma mudança na razão de condutividade e, portanto, uma aparente mudança na salinidade. Sendo assim, somando-se os efeitos de outros micro-constituintes, as determinações de salinidade na água do mar não apresentam uma exatidão maior do que ±0,02 x 10-3, mesmo quando não ocorrem erros sistemáticos no procedimento.

### 2.2.2 Amostragem e Estocagem

As amostras para salinidade prática devem ser coletadas em frascos de vidro de bosorilicato, com capacidade de 250mL e com tampas que as mantenham herméticas, evitando problemas de contaminação e evaporação.

Antes da coleta lava-se o frasco três vezes com a própria amostra.

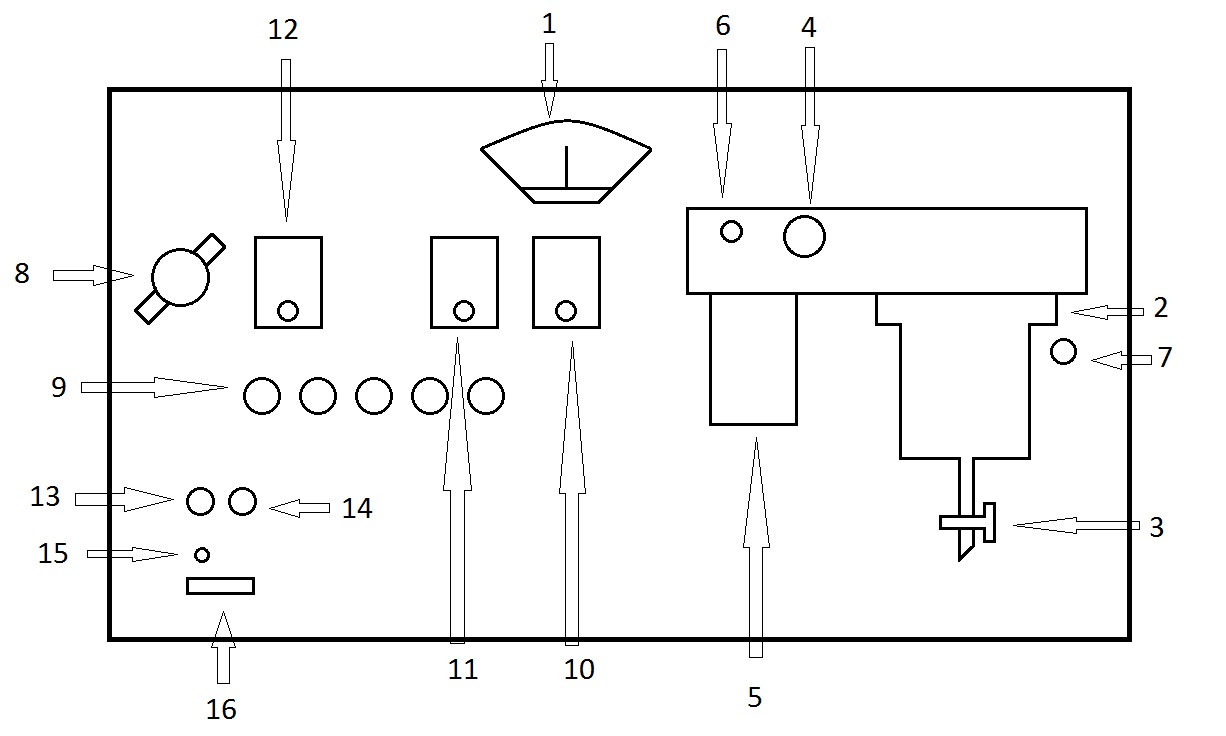
### 2.2.3 Procedimentos

**Equipamento (descrição do equipamento)**

1. Galvanômetro
2. Cuba de amostra
3. Torneiras de 3 vias: Fill (encher), Shut (fechada), Drain (esvaziar)
4. Ajuste da bomba de vácuo
5. Cuba para excesso de água
6. Luz indicadora de que a cuba (5) está cheia
7. Stir (agitação), Off (desligado), Fill (liga a bomba de vácuo)
8. Seletor de modo de operação (S e T)
9. Ajuste para razão de condutividade
10. Calibração de condutividade
11. Calibração da temperatura de compensação
12. Indicador de temperatura de cuba da amostra
13. Fusível
14. Luz indicadora de que o aparelho está ligado
15. Botão Liga/Desliga
16. Entrada de força do aparelho

**Reagentes**

* Água do mar padrão da International Association of Physical Sciences of the Ocean (IAPSO/Standard Seawater Service).



**Figura 3: Esquema de um salinômetro indutivo**

**2.2.4 Procedimentos**

O salinômetro deve ser ligado pelo menos uma hora antes do início da operação para estabilização técnica do circuito elétrico.

**Calibração do equipamento**

* Abra a água do mar padrão e adapte na mangueira mais curta da amostra;
* Coloque a torneira (3) na posição **Fill**;
* Inverta a posição da ampola ee quebre a outra ponta da mesma;
* Deixe a cuba encher por gravidade e coloque a torneira (3) na posição **Shut**;
* Ligue a agitação (7 – **Stir**) e deixe agitando por cerca de 30 segundos;
* Desligue a agitação e coloque a torneira (3) na posição **Drain**;
* Repita a mesma operação mais uma vez;
* Encha novamente a cuba com o restante da água do mar padrão, feche a torneira (3) e ligue a agitação (7 – **Stir**);
* Ajuste o aparelho com o valor de condutividade indicado na ampola com os botões (9);
* Coloque o seletor (8) na posição temperatura;
* Com o indicador de temperatura (12) ajuste o galvanômetro na posição zero e anote o valor da temperatura;
* Coloque o seletor (8) na posição salinidade;
* Ajuste o galvanômetro na posição zero (10) e fixe o valor no painel;
* Antes de escoar a água da cuba, volte o botão (8) para a posição temperatura (evitando que o ponteiro do galvanômetro fique sob tensão no fundo de escala) e desligue a agitação;
* Escoe a cuba.

**Análise das amostras**

* Encha a cuba com a amostra, agite e escoe a água duas vezes;
* Ao encher a cuba pela terceira vez, deixe a água sob agitação, coloque (8) em temperatura e ajuste o galvanômetro em zero com o botão (12);
* Coloque (8) em salinidade e ajuste o galvanômetro em zero através dos ajustes de condutividade (9);
* Anote os valores de temperatura e razão de condutividade na ficha de salinidade;
* Antes de escoar a cuba, volte (8) para a posição temperatura e desligue a agitação.

**2.2.5 Cálculos**

A salinidade (S x 10-3) é obtida pelo seguinte polinômio:

Onde:

= temperatura da amostra

= Razão de condutividade da amostra

= 0,0162

|  |  |
| --- | --- |
| = | 0,0080 |
| = | -0,01692 |
| = | 25,3851 |
| = | 14,0941 |
| = | -7,0261 |
| = | 2,7081 |
| ∑ | 35,0000 |

|  |  |
| --- | --- |
| = | 0,0005 |
| = | -0,0056 |
| = | -0,0066 |
| = | -0,0375 |
| = | 0,0636 |
| = | -0,0144 |
| ∑ | 0,0000 |

Para transformar a razão de condutividade em salinidade prática, também podem ser usadas as tabelas internacionais da UNESCO (1981).

**2.2.6 Referencias**

## Determinação do H da Água do Mar

Teoricamente, o pH é definido como o cologarítimo decimal da atividade dos íons hidrogênio:

Onde:

= coeficiente de atividade do íon hidrogênio na solução

= concentração de íon hidrogênio

O pH é um parâmetro oceanográfico que reflete o estado termodinâmico dos sistemas ácido-base presentes no ambiente marinho e, particularmente, do sistema carbonato. Em escala de tempo de centenas ou milhares de anos, o sistema carbonato é responsável pelo controle do pH oceânico e pela habilidade da solução marinha atuar como uma solução tampão devido à reação de equilíbrio:

HCO3- \rightleftharpoons  CO32- + H+

Existem dois métodos de determinação de pH em água do mar: método 1 que não considera a influencia dos íons sulfato e método 2 que considera o sulfato.

### Método 1

**Princípio do método**

A definição prática de pH é fundamentada na diferença da f.e.m. (força eletro-motriz) medida mergulhando um sistema de eletrodos – indicador e de referência – numa solução padrão, S, de pH conhecido () e na solução X de qual se deseja determinar o pH . O pHx é encontrado utilizando-se a equação de “pH operacional”:

Onde:

= f.e.m. da solução tampão

= f.em. da solução x

= 2,303 RT/F

R = constante dos gases ideais (8,3143 J.K-1.mol-1)

T = temperatura em Kelvin (K)

F = valor de Faraday (96 487 C.mol-1)

**Amostragem**

As amostras são coletadas diretamente da garrafa hidrográfica em frascos de vidro com capacidade para 100mL, tampa de vidro esmerilhada e boca larga (~3cm). A coleta deve ser feita imediatamente após a amostragem do oxigênio, utilizando um tubo de plástico ou vidro com a ponta afilada adaptada à as[ida da garrafa hidrográfica. Antes da amostragem, lavar o frasco com a própria amostra duas vezes. Retirar a amostra lentamente, deixando extravasar um volume da mesma antes de tampar. A contaminação atmosférica deve ser rigorosamente evitada e não deve haver bolhas de ar sob a tampa. As amostras devem ser armazenadas ao abrigo da luz e mantidas na mesma temperatura ambiente que o pHmetro, a fim de se evitar choque térmico do eletrodo. A medida de pH deve ser efetuada o mais rápido possível e no máximo até duas horas após a amostragem.

**Materiais**

**Equipamentos**

* pHmetro;
* Eletrodo de vidro combinado
* Termômetro

**Vidraria**

* Frascos de vidro de 100mL, com tampa esmerilhada e boca larga
* Balões volumétricos de 100mL
* Frascos de 100mL
* Lenços de papel
* Pisseta

**Reagentes**

* **Solução tampão fosfato (pH~6,9)** - dissolver 0,3533g de Na2HPO4 e 0,3387g de KH2PO4, previamente secos a 80ºC, em água destilada isenta de CO2 e completar para 100mL. Guardar em refrigeração.
* **Solução tampão de fosfato (pH~7,4)** - dissolver 0,4300g de Na2HPO4 e 0,1179g de KH2PO4, previamente secos a 80ºC, em água destilada isenta de CO2 e completar para 100mL. Guardar em refrigeração.
* **Solução tampão de bórax (pH~9,0)** - dissover 0,3803g de Na2B4O7.10H2O em água destilada isenta de CO2 e completar para 100mL. Armazenar em frasco plástico à temperatura ambiente.
* **Solução de KCl 3M** - dissolver 22,365g de KCl em 100mL de água destilada.

OBS: para se obter água destilada isenta de CO2, fazer a ebulição da mesma durante 10 minutos.

**Procedimento Experimental**

**Calibração do pHmetro**

* Colocar o eletrodo de vidro combinado na solução de KCl 3M durante 48 horas;
* Ligar o pHmetro, com o eletrodo de vidro combinado já conectado, com pelo menos 2 horas de antecedência para permitir a sua estabilização. Durante este período, manter o pHmetro na função zero;
* Medir a temperatura da solução tampão de fosfato (pH~6,9) e ajustar a chave de correção da temperatura no valor mais próximo da temperatura lida;
* Lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente com lenço de papel;
* Destampar e conservar a tampa de borracha lateral do eletrodo sempre aberta durante a leitura das amostras;
* Mergulhar o eletrodo na solução tampão fosfato (pH~6,9);
* Mudar o contato do pHmetro para a posição pH e esperar que estabilize a leitura.
* Calibrar o aparelho ajustado com a contra-tensão “E”, o valor de pH correspondente à solução tampão utilizada e à temperatura medida (Tabela 2). Esta calibração não será modificada até que uma nova calibração seja feita;
* Mudar o contato para zero, enxaguar o eletrodo com água destilada e enxugar novamente;
* Mergulhar o eletrodo na solução tampão de bórax (pH~9,0), mas mesma temperatura que a primeira solução tampão;
* Mudar o contato para a posição pH e esperar até estabilizar a leitura;
* Corrigir a leitura com a chave mV/pH para obter o valor dessa solução tampão. Verificar na Tabela 2 o seu valor, de acordo com a temperatura medida;
* Mudar a chave para zero e limpar o eletrodo;
* Checar a calibração mergulhando o eletrodo na solução tampão de fosfato (pH~7,4) medindo sua temperatura e pH.

**Determinação de pH das amostras**

* Lavar o eletrodo com água detilada e enxugar levemente com lenço de papel;
* Medir a temperatura da amostra, anotar e ajustar a chave de correção da temperatura no valor mais próximo da temperatura lida;
* Mudar o contato do pHmetro para a posição de pH e aguardar a estabilização da leitura. O tempo de resposta do pHmetro pode variar e este tempo será determinado pelo analista;
* Mudar a chave para a posição zero, lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente. OBS: para amostras em duplicata não é necessário lavar o eletrodo com água destilada. Apenas enxugar levemente com o lenço de papel e efetuar a medida;
* Após a leitura de todas as amostras, desconectar o eletrodo do pHmetro, tampar a saída lateral com a tampa de borracha e mantê-lo em solução de KCl 3M.

**Tabela 2: Valores de pH das soluções tampão a diferentes temperaturas**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **Solução Tampão** | | |
| **T (ºC)** | **6,9** | **7,4** | **9,0** |
| 5 | 6,951 | 7,500 | 9,392 |
| 1 | 6,923 | 7,472 | 9,332 |
| 15 | 6,900 | 7,448 | 9,275 |
| 20 | 6,881 | 7,430 | 9,225 |
| 25 | 6,865 | 7,413 | 9,180 |
| 30 | 6,853 | 7,400 | 9,140 |

**Cálculos**

Como o valor de pH varia com a temperatura, este valor precisa ser corrigido para a temperatura *“in situ”*, segundo a seguinte equação:

Onde:

= temperatura da amostra medida em laboratório (ºC)

= temperatura da amostra *“in situ”* (ºC)

**Precisão**

O desvio padrão é de ±0,005 unidades de pH.

### Método 2 – Escala Hidrogênio Total

**Princípio de determinação**

A definição prática de pH é fundamentada na diferença da f.e.m. (força eletro-motriz) medida mergulhando um sistema de eletrodos – indicador e de referência – numa solução padrão, S, de pH conhecido () e na solução X de qual se deseja determinar o pH . O pHx é encontrado utilizando-se a equação de “pH operacional”:

Onde:

= f.e.m. da solução tampão

= f.em. da solução x

= 2,303 RT/F

R = constante dos gases ideais (8,3143 J.K-1.mol-1)

T = temperatura em Kelvin (K)

F = valor de Faraday (96 487 C.mol-1)

A determinação de pH, utilizando a escala de concentração do íon hidrogênio total, inclui a contribuição do íon sulfato e é definida por:

Onde:

= concentração de íon hidrogênio livre na água do mar

= concentração total do íon sultato ([HSO4-] + [SO42-]

= constante de dissociação para o HSO4-

Um pHmetro corretamente calibrado converte, automaticamente, as medidas de f.e.m. em unidades de pH

De acordo com a equação de Nernst, a variação da f.e.m. por unidade de pH é de 59,16mV a 25ºC. Neste caso, só uma solução tampão devia ser suficiente para a calibração do pHmetro. Entretanto, a resposta dos eletrodos difere do valor ideal em maior ou menos extensão, tornando-se necessária a calibração com duas soluções tampão.

A medida é feita usando-se um eletrodo de vidro e um eletrodo de referência (prata-cloreto de prata), que tenha um potencial conhecido e constante. Atualmente, o eletrodo indicador e o de referência podem ser combinados num só, sendo denominado como eletrodo de vidro combinado.

**Amostragem**

As amostras para determinação de pH devem ser coletadas em frascos de vidro de borosilicato de cor âmbar, com capacidade de 100mL, com tampa de vidro esmerilhada e de boca larga (~3cm).

A coleta é feita logo após a amostragem de O2 dissolvido usando-se o mesmo dispositivo, ou seja, um tubo de plástico ou vidro com ponta afilada adaptada à saída da garrafa hidrográfica, que possa ser mergulhado no fundo do frasco.

Os frascos de coleta são lavados duas vezes com a água a ser coletada antes da amostra definitiva. A amostra deve ser retirada lentamente, deixando-se extravasar um volume da mesma antes de tampar. A contaminação atmosférica deve ser rigorosamente evitada, não deve haver bolhas de ar sob a tampa e o frasco deve ser fechado hermeticamente.

O pH é um parâmetro que se mede o mais rapidamente possível (máximo de 2 horas após a amostragem).

Após a coleta, as amostras devem ser levadas imediatamente ao laboratório onde se encontra o pHmetro, para alcançarem temperatura ambiente e assim, evitar o choque térmico nos eletrodos, o que poderia inutiliza-los. Durante esse período, mantê-las ao abrigo da luz.

**Materiais**

**Equipamentos**

* Eletrodo de vidro combinado
* pHmetro (precisão de ±0,001 unidades de pH)
* Sensor de temperatura (precisão de ±0,1ºC)

**Vidraria**

* Frascos de coleta
* Pisseta
* Balões volumétricos de 1000mL
* Lenços de papel

**Reagentes**

* NaCl, Na2SO4 e KCl, previamente secos a 110ºC;
* Soluções de MgCl2 (~1mol.L-1) e CaCl2 (~0,5mol.L-1). Essas soluções são padronizadas com solução de AgNO3 (~0,5mol.L-1). A solução de AgNO3 é previamente padronizada com solução de NaCl (0,500mol.L-1), utilizando dicromato de potássio como indicador;
* Água destilada, deionizada e isenta de CO2. Para prepara água destilada isenta de CO2, fazer ebulição da mesma durante 15 minutos. Resfriá-la em recipiente protegido de CO2. A água deve ser imediatamente usada para preparação das soluções.
* 2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol – TRIS, previamente seco, à temperatura ambiente com pentóxido de fósforo;
* 2-aminopiridina – AMP, previamente seco, à temperatura ambiente com pentóxido de fósforo;
* Solução HCl (~0,5mol.L-1). Essa solução é padronizada com solução de TRIS (0,500mol.L-1) utilizando alaranjado de metila como indicador.

**Procedimento experimental**

**Preparação das soluções tampão em água do mar sintética**

A composição dos tampões TRIS/HCl e AMP/HCl, em uma água do mar de salinidade 35, é apresentada na Tabela 3.

**Tabela 3: Composição das soluções tampão de pH em água do mar sintética para salinidade igual a 35 (massa baseada em 1000g de H2O)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Constituinte** | **Quantidade em mol** | **massa (g)** |
| NaCl | 0,38762 | 22,6446 |
| KCl | 0,01058 | 0,7884 |
| MgCl2 | 0,05474 | - |
| CaCl2 | 0,01075 | - |
| Na2SO4 | 0,02927 | 4,1563 |
| HCl | 0,04000 | - |
|  |  |  |
| *Uma de:* |  |  |
| TRIS | 0,08000 | 9,6837 |
| AMP | 0,08000 | 7,5231 |
|  |  |  |
| *Massa total de* |  |  |
| *Cada solução* |  |  |
| TRIS |  | 1044,09 |
| AMP |  | 1041,93 |

Para o preparo de soluções tampão com salinidade diferente de 35, deve-se utilizar a seguinte expressão:

Onde:

= número de mol do composto na nova salinidade

= número de mol do composto na salinidade 35

= salinidade a qual se deseja preparar as soluções tampão

As soluções devem ser conservadas sob refrigeração.

**Calibração**

* Colocar o eletrodo de vidro combinado em uma solução de KCl 3M durante 48 horas;
* Se encontrar bolhas de ar dentro da membrana, agitar o eletrodo em sentido vertical até que elas desapareçam;
* Se houver eletrólitos cristalizados no diafragma, enxaguar com água destilada até dissolvê-los totalmente;
* Destampar e conservar a tampa de borracha lateral do eletrodo sempre aberta durante a realização das medidas;
* Manter o eletrólito de referência no nível da tampa de borracha, utilizando solução de KCl 3M;
* Conectar o eletrodo de vidro combinado e o sensor de temperatura ao pHmetro;
* Mergulhar o eletrodo e o sensor de temperatura na solução tampão de AMP;
* Esperar estabilizar a leitura;
* Lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente com lenço de papel;
* Mergulhar o eletrodo e o sensor de temperatura na solução tampão TRIS;
* Esperar estabilizar a leitura;

OBS: Essa calibração deve ser feita diariamente, pois o eletrodo vai se modificando com o envelhecimento.

Se as amostras e soluções tampão não forem tesmostatizadas, esta calibração deve ser feita mais de uma vez por dia, se houver uma diferença de temperatura maior do que 3ºC entre elas.

**Determinação de pH das amostras**

Após a calibração, proceder da seguinte maneira:

* Lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente com lenço de papel;
* Mergulhar o eletrodo e o sensor de temperatura no frasco contendo a amostra. Aguardar até estabilizar e anotar o valor do pH e a temperatura;
* Enxugar o eletrodo levemente com lenço de papel;
* Fazer a leitura de um anova amostra como descrito.
* Após a leitura de todas as amostras, desconectar o eletrodo do pHmetro, tampar a saída lateral com a tampa de borracha e mantê-lo em solução de KCl 3M.

**Cálculos**

Os valores de pH dos tampões são definidos pelas seguintes expressões:

* TRIS



* AMP

Onde:

= salinidade do tampão

= temperatura em Kelvin

A resposta do eletrodo (slope) pode ser calculada pela seguinte expressão:

Onde:

= resposta do eletrodo

= potencial do tampão AMP

= potencial do tampão TRIS

= pH na salinidade S do tampão TRIS

= pH na salinidade S do tampão AMP

Como o valor do pH varia com a temperatura, este precisa ser corridigo para a temperatura *“in situ”*. Isso é feito utilizando-se o software CO2SYS de Lewis & Wallace (1998). Para essa correção é necessário utilizar dois parâmetros do sistema carbonato: pH e um dos outros parâmetros (Alcalinidade Total, Pressão Parcial do CO2 ou Carbono Inorgânico Total Dissolvido), além da temperatura *“in situ”*, de análise e salinidade da amostra.

**Precisão**

A precisão do método é de ±0,003 unidades de pH. No entanto, essa precisão é válida para pHmetros de precisão ±0,001 unidades de pH.

# Capítulo 3: Titrimetria



## Oxigênio Dissolvido na Água do Mar

O oxigênio (O2) é o gás mais estudado no ambiente marinho devido à facilidade de sua medida e ao interesse dos oceanógrafos que estudam processos físicos (processos advectivos) e biológicos (fotossíntese e oxidação da matéria orgânica).

A concentração de oxigênio dissolvido (OD) na água do mar depende de fatores físicos (temperatura, salinidade e pressão) e biológicos (fotossíntese, respiração e oxidação da matéria orgânica). Sua concentração varia entre 0 e 8 ml.L-1.

### Método de Winkler modificado

**Princípio da determinação**

A determinação de O2 dissolvido em águas naturais é feita pela técnica desenvolvida por Winkler, em 1888. Algumas modificações foram introduzidas no decorrer dos anos para facilitar o trabalho a bordo e minimizar algumas fontes de erros. A amostra coletada é rapidamente fixada com cloreto ou sulfato de manganês e hidróxido de potássio alcalino (KI + KOH). O Mn(OH)2 reage com o oxigênio presente na amostra formando um composto de manganês trivalente. Assim, o O2 dissolvido é fixado.

Na análise, após acidificação, o composto trivalente de manganês é dissolvido, oxidando I- a I2, que é estabilizado pela formação de I3- devido ao excesso de I-. A quantidade de I3- formado é proporcional à quantidade de O2 da amostra e é determinado pela titulação com solução padronizada de tiossulfato de sódio (Na2S2O3).

Uma solução de amido, que forma um complexo azul com I2, é utilizada para indicar o ponto de equivalência desta titulação.

As equações estequiométricas envolvidas nesta determinação são:

Mn2+ + 2OH- 🡪 Mn(OH)2

2Mn(OH)2 + O2 + H2O 🡪 2Mn(OH)3

­2Mn(OH)­3 +4H+ + 2I- 🡪 2Mn2+ + I2 +6H2O

I3- + 2S2O32- 🡪 3I- + S4O62-

IO3- + 8I- + 6H+ 🡪 I3- + 3H2O

**Amostragem**

As amostras devem ser coletadas em frascos de vidro de borosilicato de cor âmbar, com capacidade nominal de, aproximadamente, 70mL, com tampa de viro esmerilhada. A amostra para análise de OD deve ser a primeira a ser retirada da garrafa de coleta para evitar-se a expulsão dos gases devido ao aumento da temperatura.

A coleta deve ser feita com o máximo de cuidado, a fim de se impedir a perda ou adição de O2. Para tanto, um tubo de borracha de, aproximadamente 10cm, com pico estreito na ponta, é adaptado à torneira de descarga. Deve-se retirar todo o ar do tubo com a própria água da garrafa e, em seguida, lavar o fundo do frasco de coleta e encher lentamente até escorrer, evitando a formação de bolhas de ar. Logo em seguida, adicionar 0,5mL de cloreto de manganês (II) e 0,5mL de iodeto alcalino e colocar a tampa sem deixar bolhas de ar. Agitar o frasco vigorosamente para que todo o hidróxido de manganês reaja com o oxigênio da amostra.

Após fixação do oxigênio dissolvido, aguardar toda a precipitação antes de processar a análise durante pelo menos meia hora. As amostras podem ser armazenadas por até 12 horas após a fixação, desde que protegidas da luz e de grandes variações térmicas.

**Materiais**

**Equipamentos**

* Bureta de pistão calibrada com 10mL de capacidade e escala de 0,01mL;
* Agitador mecânico;

**Vidraria**

* Frascos âmbar de coleta com tampa esmerilhada;
* Balões volumétricos de 100 e 1000mL;
* Béqueres de 150mL;
* Proveta de 50mL;
* Pipetas volumétricas de 1 e 10mL;
* Seringa de 5mL;
* Pisseta.

**Reagentes**

Os reagentes utilizados na determinação do O2 dissolvido devem ser de muito boa qualidade para que não apresentem interferências. Alguns reagentes contêm oxigênio dissolvido, o que pode introduzir um erro na análise.

A solução de manganês pode conter esse composto num estado de oxidação mais elevado levando a um aumento na concentração de O2 na amostra. A solução acidificada de iodeto é sensível a foto-oxidação e por isso, deve-se evitar a sua exposição à luz solar. O iodo liberado deve ser rapidamente titulado em presença de luz elétrica ou luz solar difusa.

A concentração dos reagentes depende da capacidade dos frascos de amostra utilizados. As quantidades, aqui recomendadas, são para os frascos com capacidade em torno de 70 mL.

**Solução de cloreto de manganês II (2 M)** - Dissolver 40 g de MnCl2.4H2O ou 32 g de MnSO4.H2O com uma pequena quantidade de água destilada e completar o volume em balão volumétrico de 100mL.

**Solução de iodeto alcalino (KI = 3,6M e KOH = 5,4M)** - Dissolver 60 g de KI e 30 g de KOH, separadamente, na menor quantidade de água possível, tendo o cuidado para que a soma das alíquotas não ultrapasse 100mL. Transferir para um balão volumétrico de 100mL e completar o volume com água destilada.

**Ácido sulfúrico** - Adicionar, cuidadosamente, 50 mL de H2SO4 (95 - 97%) a 50mL de água destilada (usar resfriamento durante o processo).

**Solução de tiossulfato de sódio (0,02M)** - Dissolver 5 g de Na2S2O3 em alíquotas e completar o volume em um balão volumétrico de 1000mL.

**Solução de amido** - Dispersar 1g de amido solúvel em 100mL de água destilada e aquecer a solução, deixando ebulir durante 1 minuto. Esta solução não se conserva por mais de uma semana.

**Solução de iodato de potássio (0,1667x10-2 M)** - Dissolver, cuidadosamente 356,7mg de KIO3, transferir para um balão volumétrico de 1000mL e completar com água destilada.

**Procedimento experimental**

**Determinação do branco de reagentes**

Colocar 50mL de água destilada em um béquer de 150mL. Adicionar separadamente, pela ordem, 1mL de ácido sulfúrico, 0,5mL de iodeto alcalino e 0,5mL de cloreto de manganês II. Agitar a amostra entre a adição de cada reagente para evitar a precipitação do hidróxido de manganês. Em seguida adicionar, com o auxílio de uma pipeta, 1mL de solução de iodato de potássio (padrão). O iodo é titulado com solução de tiossulfato de sódio até obter uma coloração ligeiramente amarela. Em seguida, adicionar 0,5mL do indicador de amido e continuar a titulação até a descoloração. Anotar o volume gasto de tiossulfato de sódio (V1).

Adicionar, com o auxílio de uma pipeta, mais 1mL de solução de iodato de potássio e continuar a titulação até a descoloração. Anotar o volume gasto de tiossulfato de sódio (V2). O volume do branco de reagentes, Vbranco, é:

A concentração de oxigênio dissolvido, DOR, nos reagentes utilizados para a fixação das amostras é:

Onde:

= soma dos volumes usados de iodeto alcalino e cloreto de manganês II

= volume de amostra.

**Padronização do tiossulfato de sódio**

Colocar 50mL de água destilada em um béquer de 150mL. Adicionar separadamente, pela ordem, 1mL de ácido sulfúrico, 0,5mL de iodeto alcalino e 0,5mL de cloreto de manganês II. Agitar a amostra entre a adição de cada reagente para evitar a precipitação do hidróxido de manganês. Em seguida adicionar 10mL de solução 0,166 7 x 10-2M de iodato padrão com uma pipeta volumétrica.

O iodo formado é titulado com solução de tiossulfato de sódio até se obter uma coloração ligeiramente amarela. Adicionar 0,5mL do indicador de amido e continuar a titulação até a descoloração. Repetir a padronização três vezes. Anotar os volumes gastos.

As equações estequiométricas envolvidas na padronização são:

IO3- + 5I- + 6H+ 🡪 3I2 + 3H2O

I2 + I- 🡪 I3-

I3- + 2S2O32- 🡪 3I- + S4O6

De acordo com estas equações, 1mol de KIO3 reage com 6mol de Na2S2O3. Deste modo, o cálculo da concentração da solução de tiossulfato de sódio é:

Onde:

= concentração da solução de tiossulfato de sódio (mol.L-1)

=concentração de solução de iodato padrão (mol.L-1)

= volume da solução de iodato padrão (mL)

= média dos volumes de solução de tiossulfato gastos na titulação (mL)

= volume gasto na determinação do branco de reagentes (mL)

**Análise das amostras**

Adicionar 1mL de ácido sulfúrico no próprio frasco e agitar até a completa dissolução do precipitado. Transferir a amostra para um béquer de 150mL. Lavar o frasco e a tampa com o menor volume possível de água destilada e transferir para o béquer da amostra. Evitar qualquer perda nesta operação.

Titular a amostra com a solução de tiossulfato de sódio até a cor amarelo claro. Adicionar 0,5mL de amido e continuar a titulação até o ponto de equivalência (azul para incolor).

**Cálculos**

**Concentração de O2**

Um mol de oxigênio equivale a quatro mol de tiossulfato, de acordo com as equações envolvidas nesta determinação.

A concentração de oxigênio dissolvido, em mL.L-1 (CNTP), é expressa do seguinte modo:

Onde:

= concentração de oxigênio dissolvido (mL.L-1)

5603,5 = é o volume ocupado por ¼ de mol de oxigênio dissolvido (mL) – CNTP

= concentração da solução de tiossulfato de sódio

= volume de tiossulfato gasto na titulação da amostra (mL)

= volume gasto na determinação do branco (mL);

= volume total da amostra (volume do frasco)

= volume de reagentes adicionados antes da liberação do iodo (1mL)

**Conversão de unidades de concentração de OD**

A concentração de oxigênio dissolvido na água do mar deve ser reportada em unidades de micromol por quilograma de água do mar (μmol.kg-1). Para a conversão das concentrações calculadas em mL.L-1 para μmol.kg-1, é necessária a utilização da densidade da água do mar na temperatura de coleta da amostra.

Onde:

= densidade da água do mar (kg.L-1)

= densidade da água padrão pura (Standard Mean Ocean Water), com composição isotópica específica e livre de gases dissolvidos

, e = variáveis dependentes da temperatura

= salinidade

= temperatura de coleta da amostra de água do mar (°C).

Assim, para a conversão da concentração de oxigênio dissolvido de mL.L-1 para μmol.kg-1, utiliza-se a equação abaixo:

Onde:

= concentração de oxigênio dissolvido na água do mar em μmol.kg-1

Para uma amostra de água do mar a 25ºC e salinidade igual a 35, a é igual a 1,02334 kg.L-1.

**Precisão e possíveis fontes de erro**

A precisão da determinação de OD, expressa através do desvio padrão, é ±0,02 mL.L-1 para concentrações de OD menores que 2 mL.L-1 e ±0,04 mL.L-1 para concentrações acima de 2 mL.L-1.

As principais fontes estão listadas abaixo:

* Perda de iodo por volatilização da solução acidificada antes ou durante a titulação. Este erro pode ser reduzido, mas não eliminado, pela utilização da solução de iodeto alcalino, que se complexa com o iodo formando o íon tri-iodeto;
* Foto-oxidação do iodeto pode ocorrer se a solução acidificada estiver exposta à luz forte, o que levaria a resultados mais elevados na concentração do O2. A velocidade de oxidação cresce com o pH por isso, o mesmo deve ser menor que 2,7. Por outro lado, o excesso de ácido deve ser evitado, pois o íon tiossulfato é uma base fraca e combina com H+ para formar o ácido tiossulfato, que é instável e se decompõe em enxofre e ácido sulfuroso ou dióxido de enxofre, respectivamente;
* Erros sérios podem ser produzidos pelas impurezas dos reagentes. Por exemplo, a solução de manganês (II) pode conter alguma quantidade de manganês num estado de oxidação mais elevado, introduzindo um erro no sentido de aumentar o conteúdo de oxigênio. Devido a esse fato, deve-se trabalhar com reagentes de alto grau de pureza e verificar as interferências através do branco dos reagentes;
* A limpeza do material a ser utilizado é importante para evitar erros. Por exemplo, se houver uma contaminação com resíduos de manganês na vidraria, o resultado pode dar mais alto que o valor correto.

## Determinação da Alcalinidade Total em água do mar

A alcalinidade total, AT, é definida como a concentração de íon hidrogênio, em mol, necessária para neutralizar as bases fracas em 1kg de água do mar.

AT = [HCO3-] + 2[CO32-] + [B(OH)4-] + [OH-] + [Si(OH)3-] +

[HPO42-] + 2[PO43-] – [H+] – [HSO4-] – [HF] – [H3PO4]

Na faixa de pH entre 5,5 – 8,5 as concentrações de OH-, H+, HSO4- e HF são negligenciáveis. Em águas anóxicas, as concentrações de HS-, HPO42- e NH3 podem ser consideradas bases fracas.

Os valores de AT nos oceanos estão, geralmente, na faixa de 2,3 a 2,6 mmol.kg-1. Apesar dessa pequena variação, sua determinação tem sido utilizada no estudo de águas costeiras afetadas pelo fenômeno da ressurgência e pelo influxo de águas doces, ou ainda, como índices em análises de massas d’água.

A maior importância da determinação da AT é que esta permite estimar variações nas concentrações de CO2, HCO3-, CO32- e também, da pressão parcial do CO2 na água do mar. Estes parâmetros são de interesse para o estudo da produção primária do fitoplâncton, pH, processos de troca oceano-atmosfera e composição dos sedimentos marinhos.

### Títulação Potenciométrica

**Princípio do método**

O princípio desta determinação baseia-se na titulação potenciométrica de uma amostra de água do mar, de massa conhecida, com solução de ácido clorídrico 0,1 mol.L-1. O ácido é preparado com a adição de cloreto de sódio, para se aproximar ao valor da força iônica da água do mar e, assim, manter os coeficientes de atividade aproximadamente constantes durante a titulação.

O progresso da titulação é monitorado utilizando-se um eletrodo combinado de vidro- Ag/AgCl. A alcalinidade total é, então, determinada pelas medidas de volume de titulante e da f.e.m. (E) obtidas durante a titulação. Para tal cálculo, utiliza-se o método de Gran simples, que permite a linearização dos dados, para a determinação do ponto de equivalênciada titulação.

**Amostragem**

As amostras para determinação de AT devem ser coletadas em frascos de vidro de borosilicato de cor âmbar, com capacidade de 300 mL, com tampa de vidro esmerilhada e de boca estreita.

A coleta é feita logo após a amostragem de pH usando-se o mesmo dispositivo, ou seja, um tubo de plástico ou vidro com ponta afilada adaptada à saída da garrafa hidrográfica, que possa ser mergulhado no fundo do frasco.

A amostra deve ser retirada lentamente, deixando-se extravasar um volume da mesma antes de tampar.

A contaminação atmosférica deve ser rigorosamente evitada, não deve haver bolhas de ar sob a tampa e o frasco deve ser fechado hermeticamente.

**Materiais**

**Equipamento**

* pHmetro com precisão de, no mínimo, 0,1 mV;
* Bureta de pistão, com precisão de 0,01 mL;
* Banho termostatizado;
* Agitador magnético;
* Eletrodo de vidro combinado;

**Vidraria**

* Béquer de 200 mL;
* Balão volumétrico de 1000 mL;
* Pipeta volumétrica de 100 mL.

**Reagentes**

As soluções preparadas devem apresentar forças iônicas próximas à da água do mar a ser analisada. Para isso, adiciona-se cloreto de sódio (NaCl), que cuja concentração será dependente da salinidade das amostras a serem analisadas. Os cálculos de determinação da força iônica da água do mar e da massa de NaCl a ser adicionada são mostrados no item 5.1.

Para se obter água destilada isenta de CO2, deve-se ferve-la por 10 a 15 minutos. Deixar esfriar até atingir temperatura ambiente antes de se preparar as soluções.

Antes de ser pesado, o NaCl deve ser seco a 280°C por, no mínimo, 2 horas e deixar esfriar em dessecador durante a noite. O 2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol (Tris) deve ser seco em dessecador à temperatura ambiente.

* **Solução de ácido clorídrico (0,1 mol.L-1) -** adicionar, cuidadosamente, 8,30 mL de HCl (36,5 – 38,0 %) a 500 mL de água destilada e completar o volume em balão volumétrico de 1000 mL. Ajustar o valor da força iônica dessa solução à da água do mar a ser analisada, adicionando NaCl.
* **Solução padrão de 2-amino-2-hidroximetil-1,3-propanodiol (2,5x10-3 mol.L-1) -** dissolver 0,3028 g de Tris e quantidade suficiente de NaCl, para ajuste da força iônica da solução, em 1000 mL de água destilada, isenta de CO2.

**Procedimento Experimental**

**Padronização do ácido**

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, colocar 100 mL da solução padrão de Tris em um béquer de 200 mL. Introduzir o eletrodo e o sensor de temperatura na solução e começar a agitação com o auxílio do agitador magnético. Fazer a leitura do potencial e do pH da solução, sempre mantendo a temperatura constante.

A titulação inicia-se com a adição de uma alíquota de 2,50 mL de ácido titulante. Esperar até que o potencial da solução esteja estabilizado. Anotar esse potencial, o pH da solução e a temperatura.

Em seguida, adicionar uma alíquota de ácido titulante de 0,05 mL e anotar o potencial de estabilização, o pH da solução e a temperatura. Repita esse procedimento até que o pH da solução atinja um valor aproximado de 3,50. Aumentar a adição de ácido titulante para alíquotas de 0,10 mL, sempre anotando o potencial de estabilização, o pH e a temperatura da solução . Repita esse procedimento até que o pH da solução atinja um valor aproximado de 3,00.

**Análise das amostras**

Com o auxílio de uma pipeta volumétrica, colocar 100 mL de amostra da água do mar em um béquer de 200 mL. Introduzir o eletrodo na solução e o sensor de temperatura e começar a agitação com o auxílio do agitador magnético. Fazer a leitura do potencial, pH e temperatura da solução, sempre mantendo a temperatura constante.

Controlando o pH da solução, adicione, lentamente, uma alíquota de 1,50 mL do ácido titulante. Esperar até que o potencial da solução esteja estabilizado. Anotar o potencial, pH e temperatura da solução. Adicionar alíquotas de 0,10 mL de ácido, até que o pH da solução atinja um valor próximo de 5,00, sempre anotando o valor do pH e do potencial de estabilização e temperatura.

Quando o pH da solução atingir um valor próximo de 5,00, as alíquotas de ácido a serem adicionadas devem ser de 0,05 mL. Anotar o potencial de estabilização, o pH e temperatura da solução. Repita esse procedimento até que o pH da solução atinja um valor aproximado de 3,50. Aumentar a adição de ácido titulante para alíquotas de 0,10 mL. Repita esse procedimento até que o pH da solução atinja um valor aproximado de 3,00.

Esse procedimento é variável para águas de diferentes salinidades. Cada água apresenta uma resposta diferente a adição de ácido. Portanto, o volume da primeira alíquota de ácido adicionado é variável.

**Cálculos**

**Força iônica**

A força iônica da água do mar, natural ou artificial, é determinada pela equação:

Onde:

= força iônica da água do mar (mol/kg-H2O)

= salinidade da água do mar.

A força iônica de uma solução é determinada pela equação:

Onde:

= força iônica da solução (mol/kg-H2O);

= concentração de cada tipo de íon em solução (mol/kg-H2O)

= carga de cada tipo de íon em solução.

**Método de Gran simples**

Tanto para a padronização do ácido clorídrico, quanto para o cálculo da alcalinidade total da água do mar, utiliza-se o método de Gran simples.

A função G, mostrada na equação abaixo, expressa o balanço de massa para os íons hidrogênio (H+), assumindo que, após o volume de equivalência, esses íons formem apenas íons H+ livres em solução.

Onde:

= função de Gran

= volume de amostra titulada (mL);

= volume de ácido adicionado (mL);

= potencial da solução (mV);

= constante de Faraday (96,4853 x 103 C.mol-1 );

= constante universal dos gases ideais (8,31451 J.K-1.mol-1);

= temperatura absoluta da solução (K).

Para cada adição de ácido da titulação (da padronização ou de uma amostra) utiliza-se a equação 3. Confecciona-se um gráfico V x G com os dados da titulação e, utilizando apenas os dados que estão após o volume de equivalência (aproximadamente, os últimos dez dados), traça-se uma curva, desprezando-se os dois últimos pontos. Através da equação da reta obtida, calcula-se o volume de equivalência e, de posse desse valor, calcula-se a concentração do ácido e o valor de AT da amostra.

Onde:

= concentração do ácido titulante (mol/L)

= concentração do padrão (mol/L);

= volume de amostra titulada (mL);

= volume de equivalência (mL).

Onde:

é = valor da alcalinidade total da amostra (mol/kg-H2O mar);

= concentração do ácido titulante (mol/L);

= volume de amostra titulada (mL);

= volume de equivalência (mL)

= densidade da água do mar (kg.L-1).

Para a conversão das concentrações calculadas em mol.L-1 para mol.kg-H2O mar-1, é necessária a utilização da densidade da água do mar na temperatura de análise da amostra, utilizando-se a equação:

Onde:

= densidade da água do mar (kg.L-1)

= densidade da água padrão pura (Standard Mean Ocean Water), com composição isotópica específica e livre de gases dissolvidos

A, B e C = variáveis dependentes da temperatura

S = salinidade

t = temperatura de coleta da amostra de água do mar (°C).

**Precisão**

A precisão do método é de ±0,5 %. O erro de precisão pode ser minimizado com a utilização de equações mais sofisticadas para a determinação do ponto de equivalência desta análise.

### Títulação Simples

**Amostragem**

As amostras para determinação de AT devem ser coletadas em frascos de vidro de borosilicato de cor âmbar, com capacidade de 300 mL, com tampa de vidro esmerilhada e de boca estreita.

A coleta é feita logo após a amostragem de pH usando-se o mesmo dispositivo, ou seja, um tubo de plástico ou vidro com ponta afilada adaptada à saída da garrafa hidrográfica, que possa ser mergulhado no fundo do frasco.

A amostra deve ser retirada lentamente, deixando-se extravasar um volume da mesma antes de tampar.

A contaminação atmosférica deve ser rigorosamente evitada, não deve haver bolhas de ar sob a tampa e o frasco deve ser fechado hermeticamente.

**Materiais**

**Equipamentos**

* pHmetro
* eletrodo de vidro combinado
* termômetro
* agitador magnético

**Vidraria**

* frascos de vidro de 100 mL, com tampa esmerilhada e boca larga
* balões volumétricos de 100 mL e 1000 mL
* pipetas volumétricas de 5,0 e 10,0 mL
* frascos de 100 mL
* erlenmeyer de 50 mL
* bureta de 50 mL
* lenços de papel
* pisseta
* bureta

**Reagentes**

* **solução tampão de biftalato (pH~4,0)** - dissolver 1,0120 g de KHC8H4O4, previamente seco a 110°C, em água destilada isenta de CO2 e completar para 100 ml. Guardar em refrigerador.
* **solução tampão de fosfato (pH ~6,9)** - dissolver 0,3533 g de Na2HPO4 e 0,3387 g de KH2PO4, previamente secos a 80°C, em água destilada isenta de CO2 e completar para 100 mL. Guardar em refrigerador
* **solução tampão de fosfato (pH~7,4)**- dissolver 0,4300 g de Na2HPO4 e 0,1179 g de KH2PO4, previamente secos a 80°C, em água destilada isenta de CO2 e completar para 100 mL. Guardar em refrigerador
* **solução de bórax 0,1 N**- dissolver 1,9061 g de (Na2B4O7.10H2O) em água destilada e completar para 100 mL. Recomenda-se recristalizar o bórax antes de usá-lo. Armazenar em frasco plástico à temperatura ambiente.
* **solução de ácido clorídrico (HCl 0,025 N)** - diluir 2,10 ml de HCl concentrado pa. (d = 1,19) em uma alíquota de água destilada e completar para 1000 mL
* **indicador vermelho de metila**- misturar 100 mg de vermelho de metila com 3,7 ml de NaOH 1 M. Diluir para 100 ml com água destilada.

OBS: Para obter água destilada isenta de CO2, fazer a ebulição da mesma durante 10 minutos.

**Procedimento experimental**

**Padronização da solução de Hcl**

* pipetar 10,0 ml de solução padrão de bórax 0,1 N em um erlenmeyer de 50 ml e adicionar 5 gotas de indicador vermelho de metila.
* colocar o bastão magnético no erlenmeyer e ligar o agitador
* titular com a solução de ácido clorídrico até o ponto de viragem (amarelo p/ vermelho) e anotar o volume gasto na titulação (VHCl)
* repetir a padronização mais duas vezes

**Calibração do pHmetro**

* medir a temperatura da solução tampão de fosfato (pH ~ 6,9) e ajustar a chave de correção da temperatura no valor mais próximo da temperatura lida.
* lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente com lenço de papel.
* destampar e conservar a tampa de borracha lateral do eletrodo sempre aberta durante a leitura das amostras
* mergulhar o eletrodo na solução tampão de fosfato (pH ~ 6,9).
* mudar o contato do pHmetro para a posição pH e esperar que estabilize a leitura. Nesta fase, deixar o contato mV/pH na posição 100%.
* calibrar o aparelho ajustando com a contra-tensão, E, o valor do pH correspondente à solução tampão e à temperatura medida (Tabela 4).
* mudar o contato para zero, enxaguar o eletrodo com água destilada e enxugar novamente.
* mergulhar o eletrodo na solução tampão de biftalato (pH ~ 4,0), na mesma temperatura que a primeira solução tampão.
* mudar o contato para a posição pH e esperar até estabilizar a leitura.
* corrigir a leitura com a chave mV/pH para obter o valor dessa solução tampão. Verificar na Tabela 4 o seu valor, de acordo com a temperatura medida.
* mudar a chave para zero e limpar o eletrodo
* checar a calibração mergulhando o eletrodo na solução tampão de fosfato (pH ~ 7,4) medindo sua temperatura e pH.

**Determinação da alcalinidade total das amostras**

* pipetar 5,00 ml de solução de HCl padronizado em frasco de 100 ml de boca larga e adicionar 50 ml de amostra de água do mar. Fechar o frasco e agitar suavemente.
* lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente com lenço de papel.
* medir a temperatura da amostra acidulada, anotar e ajustar a chave de correção da temperatura no valor mais próximo da temperatura lida.
* mudar o contato do pHmetro para a posição de pH e aguardar a estabilização da leitura. O tempo de resposta do pHmetro pode variar e este tempo será determinado pelo analista.
* mudar a chave para a posição zero, lavar o eletrodo com água destilada e enxugar levemente. OBS: Para amostras em duplicata não é necessário lavar o eletrodo com água destilada. Apenas enxugar levemente com o lenço de papel e efetuar a medida.
* após a leitura de todas as amostras, desconectar o eletrodo do pHmetro, tampar a saída lateral com a tampa de borracha e mantê-lo em solução de Kcl 3M.

**Tabela 4: Valores de pH das soluções tampão a diferentes temperaturas**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | **solução tampão** | | |
| **T(ºC)** | **pH ~4,0** | **pH ~ 6,9** | **pH ~ 7,4** |
|  |  |  |  |
| 5,0 | 3,998 | 6,951 | 7,500 |
| 10,0 | 3,998 | 6,923 | 7,472 |
| 15,0 | 3,999 | 6,900 | 7,448 |
| 20,0 | 4,002 | 6,881 | 7,430 |
| 25,0 | 4,008 | 6,865 | 7,413 |
| 30,0 | 4,011 | 6,853 | 7,400 |

**Cálculos**

**Normalidade do HCl**

Onde:

= Normalidade de HCl

= Volume da solução de bórax (mL)

= Normalidade da solução de bórax

= volume de HCl gasto na titulação (mL)

**Alcalinidade Total**

Onde:

= Alcalinidade total

= Volume de HCl utilizado (mL)

= Normalidade do HCl

= Volume da amostra (mL)

= Atividade do íon hidrogênio

= coeficiente de atividade empírico

Determinar a atividade do íon hidrogênio ( aH+ = 10-pH) após a adição de HCl.

- Encontrar o valor do coeficiente de atividade empírico (fH+) na Tabela 3 (anexa), usando o valor de pH após a adição de Hcl e a salinidade da amostra.

**Alcalinidade do carbonato**

Onde:

= Alcalinidade do carbonato

= Alcalinidade total

= Correção da contribuição do borato obtida na Tabela 5

**Dióxido de carbono total**

Onde:

= Dióxido de carbono total (mmol.L-1)

= Alcalinidade total

= Fator encontrado na Tabela 6

Obs: Para salinidades entre 22 e 33x103 a alcalinidade total pode ser encontrada na Tabela 4 sem introduzir erros apreciáveis.

**Precisão**

A precisão do método está em torno de 1 %.

## Determinação de carbono orgânico em sedimentos

Este método é uma modificação do método de Walkley-Black para determinação de carbono orgânico em solos. O método baseia-se na oxidação (exotérmica) com dicromato de potássio e ácido sulfúrico concentrado. A quantidade de dicromato consumido na oxidação do carbonato orgânico é determinada titulando-se o excesso de dicromato com sulfato ferroso amoniacal. O ponto final da titulação é bem pronunciado e o método apresenta resultados similarea os método de combustão total (analisador de C, H, N). Uma vantagem deste método é que pode ser aplicado diretamente aos sedimentos sem que haja necessidade de remoção do carbonato por lavagem ácida.

**Preparo das Amostras**

A água em excesso deve ser removida por centrifugação, compressão ou filtração. A amostra é então seca a 40-50°C por aproximadamente 8 horas, pulverizada e homogeneizada num almofariz com pistilo.

**Materiais**

**Vidraria**

* Balões volumétricos de 100 e 1000 mL
* Frascos de 100 e 1000 mL
* Provetas de 50 e 100 mL
* Pipetas volumétricas de 10 mL
* Erlenmeyer de 500 mL
* Bureta
* Pisseta

**Reagentes**

* Ácido sulfúrico pa. (livre de agentes redutores)
* Ácido fosfórico concentrado (85%)
* Fluoreto de sódio sólido (NaF)
* **Solução de Dicromato de Potássio 1,00 N** - Dissolver 49,4 g de K2Cr2O7 em água destilada e deionozada e diluir para 1000 mL. Guardar a solução em frasco de vidro ou polietileno.
* **Solução de Sulfato Ferroso 0,50 N** - Dissolver 196,1 g de Fe(NH4)2(SO4)2 . 6H2O em 800 ml de água destilada contendo 20mL de ácido sulfúrico concentrado e diluir a 1000mL.
* **Indicador de Difenila** - Dissolver 0,5 g de difenilamina (ou do seu sal sódio difenilamino sulfanato) em 20 mL de água destilada e 100 mL de ácido sulfúrico concentrado.

**Procedimento experimental**

Branco do método: um branco do método deve ser feito para casa batelada de titulações;

**Amostra**

* pesar em balança analítica entre 0,2 e 0,5 g de sedimento seco e transferir para um erlenmeyer de 500 mL
* pipetar exatamente 10 mL de solução de dicromato e misturar bem com o sedimento girando lentamente o erlenmeyer
* adicionar 20 mL de ácido sulfúrico concentrado de modo lento e continuado a rotação do frasco para homogeneizar a mistura. Continuar a rotação após adicionar o ácido por mais um minuto., evitando jogar o sedimento nas laterais do frasco
* deixar os frascos em repouso por 30 minutos
* diluir as amostras com 200 mL de água destilada
* adicionar 10 mL de ácido fosfórico 85%, uma pitada de fluoreto de sódio e 7 gotas de indicador de difenilamina
* titular com solução de 0,50 N de sulfato ferroso amoniacal. A cor da solução passa de verde escuro a verde durante a adição de Fe(II). A medida que o ponto final se aproxima a coloração passa a cinza azulada. A partir deste ponto, a adição de Fe(II) deve ser feita de gota a gota e a mudança de azul para verde brilhante indica o ponto final.

Nota: como as colorações azul e verde são no início muito escuras, o uso de uma placa de vidro iluminada por baixo facilita a visualização das mudanças de cor durante a titulação.

**Calculos**

Onde:

= volume de dicromato usado

= normalidade do dicromato

= volume de sulfato ferroso gasto na amostra (mL)

= volume de sulfato ferroso gasto no branco (mL)

= peso da amostra de sedimento (g)

0,003 = 12/4000 = mili equivalente em peso de carbono.

**Interferentes**

Altas concentrações de cloreto interferem neste método.

## Determinação de cálcio em água do mar

O cálcio é um dos elementos macroconstituintes da água do mar e sua concentração é aproximadamente 0,4 g.L-1. Não é conservativo porque está envolvido em processos biológicos. Está presente na água do mar principalmente na forma livre, Ca+2 que corresponde a 90% e combinada, na forma de sulfato (9%) e uma pequena parte (1%) nas frações de carbonato. A concentração de cálcio é maior nas águas profundas do que em águas superficiais. Isto é devido, principalmente, à extração do cálcio das águas superficiais pela atividade biológica, a maior solubilidade do CaCO3 em temperaturas mais baixas e a decomposição da matéria orgânica em águas profundas.

**Princípio do método**

O EDTA forma complexos muito estáveis e solúveis com quase todos os cátions metálicos polivalentes, inclusive com os alcalinos terrosos. Todos os complexos contém o metal e o EDTA na relação 1:1 independente da valência do íon metálico. O meio deve estar alcalino (pH=12) para impedir a acidificação do meio com a liberação dos íons H+ durante a titulação. Geralmente são utilizados indicadores como a murexida (purpurato de amônio). Este indicador possui coloração azul violeta em solução alcalina, mas torna-se rosa em presença de íons Ca+2. O ponto final é dado pela restauração da cor original do indicador. O magnésio precipita como Mg(OH)2 e quantidades de 1/5 de Ca/Mg não interferem.

H4Y + Ca+2 🡪 CaY

**Materiais**

**Equipamentos**

* bureta automática com capacidade de 50 mL
* agitador e bastão magnético

**Vidraria**

* balões volumétricos de 500 e 1000 ml
* frascos de 1000 ml
* proveta de 5 ou 10 ml
* pipetas de 25 ml
* erlenmeyer de 125 ml
* pisseta

**Reagentes**

* **Solução padrão de cálcio 0,008 M** - pesar 0,8007 g de carbonato de cálcio (CaCO3) em um pouco de água destilada contendo 1,6 ml de HCl concentrado. Completar a solução para 1 litro com água destilada.
* **Solução de ácido etilenodiamino tetracético (EDTA)- 0,01M** - dissolver 3,72 g de EDTA (Na2H2C10H12O8N2.2H2O) em 1000 ml de água destilada. Guardar em frasco plástico.
* **Solução de tampão bórax** - dissolver 10 g de bórax pa (Na4B2O7.10H2O) e 30 g de hidróxido de sódio pa (NaOH) em 500 ml de água destilada.
* **Indicador** - dissolver ~ 0,1 g de murexida em pó em 50 ml de água destilada

**Procedimento Experimental**

**Padronização da solução de EDTA**

* pipetar 25 ml de solução de carbonato de cálcio em um erlenmeyer de 125 ml.
* Adicionar 4 ml de solução tampão bórax.
* Adicionar 5 gotas do indicador murexida
* titular com solução de EDTA até o ponto de viragem ( rosa para violeta)
* repetir a padronização mais uma vez

**Titulação das amostras**

* proceder da mesma maneira que a padronização do carbonato de cálcio.
* Anotar o volume de solução de EDTA consumido e repetir a titulação mais uma vez.

**Cálculos**

**Cálculo da concentração do EDTA**

Onde:

= molaridade da solução de cálcio

= volume (mL) da solução de cálcio

= volume (mL) de EDTA usado na titulação

**Cálculo da concentração de cálcio na amostra**

Onde:

= massa da amostra (g)

**Precisão do método**

A precisão do método está em torno de 0,1%

# Capítulo 4: Gravimetria



## Material Particulado em Suspensão

**Princípio do Método**

A separação entre material em particulado e material dissolvido é operacional: partículas com diâmetro maiores que 0,45 µm são consideradas em suspensão e partículas menores dissolvidas. Portanto, a separação e quantificação do material particulado em suspensão e realizado pela filtração de um volume conhecido de água.

**Material**

**Equipamento**

Balança analítica

Bomba de pressão à vácuo

Estufa

Dessecador de sílica-gel desidratada

Pinça

Filtros de fibra d vidro (GFC ou GFF)

**Vidraria**

Frasco tipo Kitassato

Proveta (500mL ou 1000 mL )

Suporte poroso

Rolha de Borracha

Garra

Béquer para conter a amostra a ser filtrada

Placa de Petry

**Procedimento**

* Calcinar os filtros a 450°C por 4 horas
* Armazenar em dessecador até estarem frios
* Pesar o filtro em balança analítica manuseando com a pinça
* Anotar o peso de cada filtro (P1)

**Filtração das Amostras**

* Montar o equipamento de filtragem e posicionar um filtro sobre o suporte poroso
* Agitar vagarosamente a amostra para homogeneizar
* Medir o volume a ser filtrado na proveta (V)
* Ligar a bomba e começar a derramar lentamente a amostra sobre o béquer do equipamento
* Após filtrar a amostra retirar a amostra do kitassato e armazenar adequadamente para futuras análises
* Reposicionar o kitassato e enxaguar o filtro com aproximadamente 5mL (para amostras estuarinas) de água destilada para remoção dos cloretos do filtro – quanto mais salina for a amostra mais volume de água deve ser utilizado para a lavagem

**Secagem e Pesagem do Filtro**

* Após a filtragem retirar cuidadosamente o filtro com a bomba desligada. Colocar o filtro sobre uma placa de Petry já etiquetada ou sobre um envelope de papel
* Secar em estufa a 60°C
* Após retirar da estufa colocar no dessecador até esfriar
* Pesar em balança analítica (P2)

**Branco do Método**

Para cada grupo de amostras deve-se fazer um branco do método. Nesse procedimento o filtro é calcinado e pesado (B1), mas não é colocado no equipamento. Esse filtro também e lavado com água destilada, seco em estufa e repesado (B2). A diferença entre B2 e B1 e o valor Br a ser usado no calculo do material e suspensão das amostras.

**Cálculo**

Sendo

P2(g) = peso do filtro com material em suspensão seco

P1(g) = peso do filtro vazio e seco

V(mL) = volume da amostra filtrada

106= fator de conversão de unidade de g mL-1 para mg L-1

Br = valor da prova em branco

### Material Particulado Orgânico em Suspensão

**Princípio**

Para a quantificação do material particulado orgânico em suspensão o filtro contendo o material em suspensão total e calcinado para a queima dos compostos orgânicos. Pesa-se o resíduo e calculá-se o que volatizou.

**Material**

* Forno tipo mufla
* Filtro contendo o material em suspensão

**Procedimento**

* Para cada amostra calcinar um cadinho por 4 horas a 550°C para eliminar quaisquer interferentes
* Resfriá-lo em dessecador
* Pesar (P3)
* Colocar o filtro (já pesado) contendo o material em suspensão no cadinho e calcinar por 4 horas a 550°C
* Resfriar em dssecador e pesar o cadinho (P4)

**Branco do Método**

Para cada grupo de amostra usar o filtro do branco do método de determinação do material em suspensão e fazer o mesmo procedimento realizado com a amostra. Anotando P3br e P4br.

**Cálculos**

Sendo

MIS = material inorgânico em suspensão

Sendo

MOS = material orgânico em suspensão

## Matéria Orgânica no Sedimento

**Material**

**Equipamento**

Chapa quente

Balança Analítica

**Vidraria**

Béquers (50 mL)

Colher para manusear sedimento

Pipeta de Pauster e ponteiras

**Reagentes**

Solução de água oxigenada a .....

**Procedimento**

* Pesar o béquer etiquetado (P1)
* Adicionar aproximadamente 3 g de sedimento seco e homogeneizado e pesar novamente (P2)
* Adicionar peróxido de hidrogênio (30% em água destilada) e deixar reagir por 30 minutos
* Colocar sobre uma chapa quente (60 a 70°C) e deixar reagir
* Conforme o peróxido for evaporando adicionar mais
* Quando parar de borbulhar a reação finalizou
* Centrifugar e retirar sobrenandante com uma pipeta
* Secar em estufa a 60°C
* Pesar o béquer (P3)

**Cálculos**

## CaCO3 no sedimento

**Material**

**Equipamento**

Balança analítica

Centrífuga

Estufa

Pinça

Tubos falcon

Piceta para água destilada

**Vidraria**

Pipeta de Pauster

**Reagentes**

Ácido clorídrico 1% em volume

**Procedimento**

* Pesar o tubo falcon (P1)
* Pesar uma alíquota de sedimento de aproximadamente 1 mg (P2 = P1 + amostra)
* Adiconar 2 mL de HCl 1 mol L-1 e homogeneizada
* Aguardar 1 hora
* Adicionar de duas a três gotas de HCl concentrado (P.A.) a fim de certificar a total eliminação do CaCO3
* Se a amostra não estiver mais borbulhando todo o CaCO3 foi removido
* Centrifugar a 2500 rpm durante 5 minutos
* Descartar o sobrenadante
* Adicionar água destilada (~5 mL) para lavar a amostra
* Centrifugar novamente
* Descartar o sobrenadante
* Repetir o processo de lavagem com água destilada 3 vezes para retirada total do HCl
* Secar a amostra em estuda à 60°C
* Pesar novamente (P3)

**Cálculos**

# Capítulo 5: Espectrofotometria na Faixa do Visível

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

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

O espectrofotômetro é o equipamento utilizado nas análises de nutrientes. 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:

Onde:

= feixe atenuado

= feixe emitido

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

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

Onde:

= Absortividade molar (L.mol-1.cm-1) – cada composto possui um valor diferente

= comprimento do caminho óptico (cm)

= concentração do analito (mol.L-1)

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



## 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 amostras não forem realizadas imediatamente após a coleta, devem ser congeladas a -20ºC

**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 absorbância) devem possuir comportamento linear. Deve-se fazer a correlação linear de todos os pontos, obtendo a equação da reta no seguinte formato: precisa explicar o que eh isso? Os alunos tem estatística no primeiro semestre...

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

## 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 HPO4-2 e PO4-3. 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 5cm

**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 (NH4)6Mo7O24.4H20 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 ~ 9,0 N** - Adicionar 250 ml de H2SO4 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 K(SbO)C4H4O6 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 C6H8O6 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 (KH2PO4) a 110ºC 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 9,0 N. Diluir para 100 mL. Guardar em frasco de vidro sob refrigeração.

**Padrões para calibração**

*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 seguinte diluições conforme Tabela 5.

**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 absorbância a 880 nm em cubas de 5 cm.

**Cálculos**

Calcular a concentração de fosfato da forma descrita no capitulo de nutrientes.

**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%.

## Determinação de silicato inorgânico dissolvido na água do mar

O silicato é encontrado na água do mar como silício dissolvido e particulado. Provavelmente a forma solúvel seja o ácido silícico (Si(OH)4). O silício particulado é proveniente de estruturas extra-celulares das diatomáceas, silicoflagelados e radiolários vivos e mortos, sendo chamado de silício particulado biogênico. O silício inorgânico, sob várias formas minerais como quartzos, feldspatos e minerais argilosos, é chamado de silício não biogênico. Grande parte do silíco que atinge o mar é transportado pelas águas dos rios, através da atmosfera e pelo desgaste de rochas e sedimentos oceânicos. A concentração de silício inorgânico na água do mar varia de 0 a 200 µM.

**Princípio do método**

Baseia-se na formação de um complexo amarelo, o ácido silicomolibdico e sua subsequente redução com ácido ascórbico, resultando no complexo silicomolibdico de cor azul. Adiciona-se também ácido oxálico para reduzir o excesso de molibdato e a influência do fosfato presente na amostra.

**Materiais**

**Equipamentos**

* espectrofotômetro
* cubas de vidro de 5 cm

**Vidraria**

* balões volumétricos de 100, 500 mL
* provetas de 50 mL
* pipetas volumétricas de 0,5, 1 e 2 mL
* frascos de reação de 125 mL (plástico)
* pisseta

**Reagentes**

* **solução de molibdato de amônio 1 N** - dissolver 20,0 g de (NH4)6Mo7O24.4H20 em 80 mL de água destilada e deionizada em um béquer plástico e diluir para 100 mL. Guardar a solução em frasco plástico ao abrigo da luz. O reagente é bastante estável e pode ser utilizado enquanto permanecer claro.
* **solução de ácido sulfúrico ~ 9,0 N** - Adicionar 250 mL de H2SO4 concentrado (d = 1,84) a 500 mL de água destilada e deionizada. Esperar esfriar e diluir para 1000 mL. Guardar em frasco de vidro âmbar.
* **solução de ácido sulfúrico ~ 7,2 N** - Diluir 800 mL de H2SO4 9,0 N para 1000 mL. Guardar em frasco de polietileno.
* **solução de ácido oxálico 1 N** - dissolver 10,0 g de (COOH)22H2O em 100 mL de água destilada e deionizada. Guardar em frasco plástico à temperatura ambiente. A solução é estável.
* **solução de mistura** - adicionar um volume de solução de molibdato a um volume igual de H2SO4 7,2 N. NÃO ADICIONAR ÁCIDO AO MOLIBDATO! Guardar em frasco plástico protegido da luz direta do sol. A solução é estável por vários meses.
* **solução de ácido ascórbico 0,1 N** - dissolver 1,75 g de C6H8O6 em 100 mL de água destilada e deionizada. Guardar em frasco de vidro âmbar sob refrigeração. Esta solução pode ser usada enquanto não apresentar cor.
* **solução padrão de silicato 10 mM** - secar ~ 2,0 g de hexafluorsilicato di-sódico (Na2SiF6) a 105°C por uma hora e deixar esfriar em dessecador. Dissolver 940,3 mg em 100 mL água destilada e deionizada, em um béquer plástico. Transferir para um balão volumétrico plástico de 500 mL e completar o volume. Guardar em frasco plástico sob refrigeração.

**Padrões para calibração**

*Solução intermediária de padrão (0,1 mM)*

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

S*oluções diluídas*

A partir da solução intermediária, fazer as diluições conforme a Tabela 8.

**Tabela 6: diluições dos padrões de silicato**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **solução diluída** | **concentração**  **(µM)** | **volume solução intermediária (mL)** | **volume final**  **(mL)** |
|  |  |  |  |
| 1 | 1,0 | 1,0 | 100,0 |
| 2 | 2,0 | 2,0 | 100,0 |
| 3 | 5,0 | 5,0 | 100,0 |
| 4 | 10,0 | 10,0 | 100,0 |
|  |  |  |  |

**Análise**

* 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
* após 5 minutos, adicionar 1 mL do ácido oxálico e agitar
* adicionar em seguida, 1 mL do ácido ascórbico e agitar
* após 30 minutos, ler a absorbância a 810 nm em cubas de 5 cm.

**Cálculos**

Calcular a concentração de silicato da forma descrita no capitulo de nutrientes.

**Interferentes e precisão do método**

Em águas anóxicas, a presença do sulfeto de hidrogênio torna a coloração do complexo de ácido silicomolibdico esverdeada. Cerca de 5 mg de enxofre/L pode ser tolerada. Altos teores de metais traços como cobre, ferro, cobalto e níquel podem interferir na absorbância. A precisão do método está em torno de 5%.

## Determinação de nitrato dissolvido na água do mar

O nitrato é o produto de oxidação final dos compostos de nitrogênio na água do mar e é considerado o nível de oxidação do nitrogênio termodinamicamente mais estável em presença de oxigênio na água do mar. A concentração de nitrato na água do mar varia de 1 a 500 µM. Em muitas regiões do mar, o nitrato pode ser considerado como o micronutriente que controla a produção primária da zona eufótica. A concentração de nitrato nesta zona é governada pelos processos advectivos para as camadas superficiais, a oxidação microbiana da amônia e a assimilação dos produtores primários.

**Princípio do método**

Baseia-se na redução do nitrato à nitrito, o qual é determinado pela formação do composto diazo. A redução do nitrato pode ser feita por reação homogênea ou heterogênea, sendo que esta última é a mais utilizada.

O nitrato prevalece como íon na água do mar não formando ligações ou complexos. Para a sua determinação ele é reduzido em presença de metal, onde as condições são ajustadas e o nitrato passa a ser quantitativamente convertido em nitrito sem redução posterior.

NO3- + Me(s) + 2H+  \rightleftharpoons NO2- + Me2+ + H2O

A eficiência da redução do nitrato a nitrito depende do metal utilizado, do pH da solução e da atividade da superfície do metal. Uma redução além do estágio de nitrito pode ser resultado de uma reação em solução alcalina ou com um metal cuja superfície esteja inativa, ou em solução muito ácida ou com metal altamente eletronegativo, ou com superfície muito ativa. Em ambos os casos, a análise resultaria em valores baixos de nitrato. A limalha de cádmio coberta por cobre torna-se mais aceitável para a redução heterogênea, mas em meio neutro ou fracamente alcalino, os íons de cádmio formados durante a redução reagem com os íons hidroxila formando um precipitado. Além disso, o pH é alterado se a solução não for tamponada. A água do mar não possue uma capacidade de tamponamento suficiente para manter o pH da solução, sendo necessária a adição de cloreto de amônio.

2NH4+  \rightleftharpoons  2NH3 + 2H+

Cd+2 + 2NH3  \rightleftharpoons  [Cd(NH3)2]+2

O tempo que a solução entra em contato com o redutor deve ser controlado.

**Materiais**

**Equipamentos**

* espectrofotômetro
* cubas de vidro de 5 cm
* cubas de vidro de 1 cm (para soluções muito concentradas)
* bomba peristáltica

**Vidraria**

* balões volumétricos de 100, 500 e 1000 mL
* frascos de 100, 500 e 1000 mL
* provetas de 50 mL
* pipetas volumétricas de 1,0, 2,0, 5,0 e 10,0 mL
* erlenmeyers de 150 mL
* frascos de reação de 125 mL
* béqueres de 100 e 150 mL
* colunas de vidro com 5 mm de diâmetro e 22 cm de comprimento
* tubo capilar com 1 mm de diâmetro
* pisseta

**Reagentes**

* **Solução de sulfanilamida (SA) ~ 0,06 M** - adicionar 100 mL de HCl concentrado em ~ 600 mL de água destilada e deionizada. Dissolver 10,0 g de SA na solução anterior e completar o volume para 1000 mL com água deionizada. Guardar a solução em frasco de vidro ou polietileno. A solução é estável por vários meses.
* **Solução de N-(1-naftil)-etilenodiamina dicloridrato (NED) ~ 0,003 M** - dissolver 0,5 g de NED em água deionizada completando o volume para 500 mL. Guardar em frasco de vidro âmbar. A solução é estável por aproximadamente 1 mês e torna-se marrom quando envelhece.
* **Solução padrão de nitrato 0,01 M** - secar o nitrato de potássio anidro a 100ºC por uma hora e deixar esfriar em dessecador. Dissolver 1,011 g em água destilada e deionizada e diluir para 1000 mL. Adicionar algumas gotas de clorofórmio como preservativo. Guardar em frasco de vidro âmbar sob refrigeração.
* **Solução tampão de cloreto de amônio ( 0,2 M)** - dissolver 10,0 g de NH4Cl em 1000 mL de água destilada e deionizada. O pH deve estar em torno de 8,5, o qual é ajustado com ~1,5 mL de amônia concentrada.
* **Solução de sulfato de cobre (0,04 M)** - dissolver 10,0 g de CuSO4.5H2O em 1000 mL de água destilada.
* **Cádmio** - peneirar o cádmio granulado de boa qualidade em peneira de 2 mm e separar a fração retida na peneira de 0,5 mm para o enchimento da coluna de redução.
* **Solução de ácido clorídrico (2 M)** - diluir 165,5 mL de HCl concentrado pa. (d = 1,19) em 500 mL de água deionizada e completar para 1000 mL

**Procedimento experimental**

**Preparação da coluna de redução**

O cádmio granulado deve ser lavado com a solução de HCl 2 M para a liberação dos óxidos e enxaguados várias vezes com água destilada e deionizada. Adicionar a solução de sulfato de cobre em quantidade suficiente (~5 vezes o peso do cádmio) e agitar vigorosamente por 3 minutos, ou até que a coloração azul desapareça e não haja cobre disperso. Enxaguar o cádmio com água destilada, evitando-se o contato com o ar.

Colocar um tubo capilar (= 1 mm), com uma de suas extremidades protegidas com lã de vidro, no interior da coluna de vidro ( = 5 mm e L = 22 cm), com fundo cego. Encher a coluna com água deionizada e colocar o cádmio cuperizado no interior da mesma. O empacotamento dos grãos deve ser feito com suaves batidas na coluna de vidro. Quando a coluna estiver cheia, colocar um conector tipo “T” envolvendo a extremidade da coluna e o capilar. Adaptar 2 ductos, um de entrada e outro de saída, com aproximadamente 2,5 mm de diâmetro, ao conector. Preencher todos os espaços com a solução tampão de cloreto de amônio, não permitindo a entrada de ar no sistema. Fechar o circuito conectando as duas extremidades dos ductos e guardar a coluna até o momento de uso.

A coluna é ativada, eluindo-se 250 mL de solução tampão contendo 100 M de nitrato. Caso a coluna seja desativada, o cádmio cuperizado deve ser retirado e tratado com solução de ácido nítrico 5 % (v/v) e enxaguado com água destilada até a perda da acidez. Secar o cádmio e tratar novamente com a solução de sulfato de cobre como descrito anteriormente.

**Padrões para calibração**

*Solução intermediária de padrão nitrato (0,1 mM)*

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

***Soluções diluídas***

A partir da solução intermediária, fazer as diluições conforme a Tabela 6.

**Tabela 7: diluições dos padrões de nitrato**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **solução diluída** | **concentração**  **(µM)** | **volume solução intermediária (mL)** | **volume final**  **(mL)** |
| 1 | 1,0 | 1,0 | 100 |
| 2 | 2,0 | 2,0 | 100 |
| 3 | 5,0 | 5,0 | 100 |
| 4 | 10,0 | 10,0 | 100 |

**Análise**

* transferir 50 mL das soluções de padrões diluídas e das amostras de água do mar para erlenmeyers de 150 mL. Utilizar água destilada e deionizada para a análise do branco.
* adicionar 50 mL de solução tampão de cloreto de amônio
* passar pela coluna de redução e desprezar os primeiros 30 mL
* recolher a próxima fração de 25-30 mL e transferir para o frasco de reação
* adicionar 1 mL da solução de SA no frasco de reação e agitar
* adicionar 1 mL da solução de NED no frasco de reação e agitar
* após 20 a 30 minutos, ler a absorbância a 540 nm em cubas de 5 cm.

**Cálculos**

**Eficiência da coluna de redução**

A coluna de redução geralmente apresenta uma eficiência de 100% sendo aceitável até 95%. Para testar a eficiência da coluna deve-se passar por ela um padrão conhecido de nitrito e a seguir um padrão de mesmo título, em nitrato e comparar as leituras finais.

**Cálculo da concentração de nitrato na amostra**

O valor de nitrato da amostra é obtido pela subtração do valor de nitrito obtido ([NO2-]) para a mesma amostra, do valor de nitrito total ([NO2-]total), o qual é obtido após a passagem pela coluna de redução.

Dessa forma, faz-se necessário a quantificação do nitrito total da mesma amostra.

Para a conversão de absorbância em concentração, deve-se seguir o procedimento descrito no capítulo de nutrientes.

**Interferentes e precisão do método**

A determinação de nitrato na água do mar geralmente não está sujeita a interferentes. Pequenas quantidades de gás sulfídrico podem estar presentes na amostra, mas não interferem na análise de nitrato, porque o íon sulfeto é precipitado no topo da coluna de redução como sulfeto de cobre ou de cádmio. A reprodutibilidade do método é de ±0,1µM na faixa de 0 - 5 µM, ±0,2 na faixa de 5 - 10 µM e ±0,5 µM para concentrações acima de 10 µM. Quando não estão envolvidos erros sistemáticos de amostragem, a exatidão do método é de ±3% para a faixa de concentração de 0 - 10 µM.

## Determinação de nitrito dissolvido na água do mar

O nitrito ocorre na água do mar como um composto intermediário na redução microbiana de nitrato ou na oxidação de amônia. A concentração de nitrito na água do mar é geralmente muito baixa (< 0,1 µM). Entretanto, em regiões anóxicas, camadas finas de alta concentração de nitrito (> 2 µM ) podem ocorrer junto com valores baixos de oxigênio dissolvido (< 0,15 mL.L-1). Valores altos de nitrito podem também indicar águas poluídas nas proximidades de esgotos e em estuários.

**Princípio do método**

Baseia-se na reação do nitrito com uma amina aromática, a sulfanilamida (SA), em meio ácido, formando o íon diazônio. Este reage com uma segunda amina aromática, o N-(1-naftil)-etilenodiamina dicloridrato (NED), formando o composto diazo, de coloração rosa. A quantidade de diazo formada é proporcional à concentração de nitrito presente na amostra de água do mar na faixa de concentração de 0 - 10 M. Entretanto, devido ao alto coeficiente de extinção molar (~4,6 x104), soluções de água do mar contendo mais do que 2,5 M devem ser diluídas.

**Materiais**

**Equipamentos**

* espectrofotômetro
* cubas de vidro de 5 cm
* cubas de vidro de 1 cm (para soluções muito concentradas)

**Vidraria**

* balões volumétricos de 100, 500 e 1000 mL
* frascos de 100, 500 e 1000 mL
* provetas de 50 mL
* pipetas volumétricas de 0,5, 1,0 e 2,0 mL
* frascos de reação de 125 mL
* béqueres de 100 e 150 mL
* pisseta

**Reagentes**

**solução de sulfanilamida (SA) ~ 0,06 M** - adicionar 100 mL de HCl concentrado em ~ 600 mL de água destilada e deionizada. dissolver 10,0 g de SA na solução anterior e completar o volume para 1000 mL com água deionizada. Guardar a solução em frasco de vidro ou polietileno.

**solução de N-(1-naftil)-etilenodiamina dicloridrato (NED) ~ 0,003 M** -dissolver 0,5 g de NED em água deionizada completando o volume para 500 mL. Guardar em frasco de vidro âmbar. A solução é estável por aproximadamente 1 mês e torna-se marrom quando envelhece.

**solução padrão de nitrito 0,01 M** - secar o nitrito de sódio anidro a 100o C por uma hora e deixar esfriar em dessecador. Dissolver 0,690 g em água destilada e deionizada e diluir para 1000 mL. Adicionar algumas gotas de clorofórmio como preservativo. Guardar em frasco de vidro âmbar sob refrigeração.

**Padrões para calibração**

*Solução intermediária de padrão nitrito (0,1 mM)*

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

*Soluções diluídas*

A partir da solução intermediária, fazer as demais diluições conforme a Tabela 7.

**Tabela 8: diluições dos padrões de nitrito**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| solução diluída | concentração  (M) | 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 |
|  |  |  |  |

**Análise**

* transferir 50 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 solução de SA e agitar
* adicionar 1 mL da solução de NED e agitar
* após 20 a 30 minutos, ler a absorbância a 540 nm em cubas de 5 cm.

**Cálculos**

Calcular a concentração de nitrito da forma descrita no capitulo de nutrientes.

**Interferentes e precisão do método**

O principal interferente é o íon sulfeto, o qual pode ser eliminado borbulhando-se nitrogênio na amostra, após a adição da solução de sulfanilamida. A reprodutibilidade do método é de ±0,02 µM, especialmente para baixas concentrações (< 0,2 µM). A Lei de Beer-Lambert é obedecida até 10 µM.