

# CONSÓRCIO LOOP – O2 – LaGEn UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE



## Protocolo LAB N° 008 - 11 REV 02 Preparação de Garrafas do Fundeio e Água Reconstituída

### 1.OBJETIVO

Preparar as garrafas do fundeio com água hipersalina e fixador

### 2.MATERIAIS & EQUIPAMENTO

Materiais & Reagentes	Equipamentos
<ul style="list-style-type: none"><li>● Balões volumétricos de 5 L, 1 L e 500 mL</li><li>● Provetas de 500 mL e 150 mL</li><li>● Béquer 1 L</li><li>● Funil de Vidro</li><li>● Bastão de Vidro</li><li>● Espátula</li><li>● Garrafas de armadilha (500/250 mL)</li><li>● Galões de 5 L</li><li>● Formaldeído grau ACS (Merck 1004969010) (22)</li><li>● Cloreto de Sódio Ultra Puro (Merck) (18)</li><li>● Água ultra pura (Milli-Q) fresca*</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>● Balança analítica duas casas decimais</li><li>● Refratômetro</li><li>● pHmetro</li><li>● Condutivímetro</li></ul>

Elaborado por: Whertz Sales	e-mail do elaborador:	Revisor: Daniel Tremmel	Última Revisão: 04/02/2016 n° da REV 02	Página: 1
--------------------------------	-----------------------	----------------------------	--	-----------



- Tetraborato de sódio hexahidratado Borax (41)
- Soluções tampões (pH 4, pH 7, pH 10)

### 3. FLUXOGRAMA DE TRABALHO



### 4. PROCEDIMENTOS

#### I. Lavagem das Garrafas

1. Deixar as garrafas e as tampas (sem o-ring) em HCl 5% por 24 horas, depois lavar com água destilada e deixar secar.
2. Identificar as garrafas com caneta à prova de água (Marca EDDING) escrevendo o número da garrafa (1, 2...) e as profundidades S (Superfície) e F (fundo). O número deve ser escrito ao lado da garrafa e sobre a tampa.



Fig.1. Garrafas do fundeio e tampa para banho de HCl 5 %.

#### II. Calibração dos aparelhos para medição

- *pHmetro*

Elaborado por: Whertz Sales	e-mail do elaborador:	Revisor: Daniel Tremmel	Última Revisão: 04/02/2016 n° da REV 02	Página: 2
--------------------------------	-----------------------	----------------------------	--	-----------



3. Primeiro esperar a solução tampão estabilizar em temperatura ambiente (obs: nunca usar as soluções ainda geladas ou frias), em seguida verificar sua validade e com fita de pH verificar as concentrações das soluções tampões com sua descrição (pH 4, pH 7 e pH 10).

- *Refratômetro*

4. Colocar com pipeta descartável uma alíquota mínima de água Milli-Q no refratômetro e verificar a salinidade. Este deve apresentar salinidade 0. Contudo, caso a salinidade não esteja em zero, deve ser feita a calibração com a rotação do pino acima do refratômetro (esta rotação deve ser feita com a chave de fenda, que se encontra dentro da caixa do refratômetro).

### III. Preparação da água reconstituída

- *Solução Hipersalina 70%*

5. Pesar 350g de Cloreto de Sódio (NaCl) de alta pureza (Merck). Diluir em béquer e transferir para balão volumétrico. Aferir até completar os 5 L. Homogeneizar a solução no balão. Caso sejam preparados 1 L ou 500 mL, manter a proporção de sal utilizada para o preparo da solução de 5 L.
6. Verificar a concentração da salinidade com o refratômetro, esta deve apresentar salinidade 70.
7. Caso a salinidade não tenha chegado a 70, deverá ser adicionado mais sal para corrigir a salinidade.

**NOTA7.a:** não há necessidade de aguardar tempo de descanso, pois não ocorre variação. Provavelmente deverá ser necessário acrescentar 40 g\* caso a solução seja feita com sal marinho.

**NOTA7.b:** Sempre manter a proporção caso o volume de solução preparada varie.

Elaborado por: Whertz Sales	e-mail do elaborador:	Revisor: Daniel Tremmel	Última Revisão: 04/02/2016 n° da REV 02	Página: 3
--------------------------------	-----------------------	----------------------------	--	-----------



8. Conferir o pH este deve estar em torno de 7,0. Reservar a solução separadamente.



Fig. 2. 350 g de Sal marinho e balança.

- *Solução Hipersalina + 5% formaldeído*

9. Verificar a concentração da solução de formaldeído (reagente) em seu rotulo
10. Fazer o calculo abaixo para levar a concentração em 5%

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Exemplo: Se a concentração da solução de formaldeído for 38%

$$38\% \times V1 = 5\% \times 5000 \text{ mL}$$

$$V1 = 660 \text{ mL}$$

11. Retirar um volume de solução hipersalina um pouco maior do que o calculado e transferir para um béquer limpo. A mesma será utilizada novamente logo em seguida.
12. Adicionar o volume calculado de formol ao balão e avolumar com a solução hipersalina 70% que foi reservada no béquer até a aferição. Mexer a solução no balão até torná-la homogênea. Conferir o pH e salinidade<sup>(NOTA 12.a)</sup> da solução, estes devem estar aproximadamente entre 8,0-8,5 e 70,

Elaborado por: Whertz Sales	e-mail do elaborador:	Revisor: Daniel Tremmel	Última Revisão: 04/02/2016 n° da REV 02	Página: 1
--------------------------------	-----------------------	----------------------------	--	-----------



respectivamente. Se a salinidade estiver maior, acrescentar mais água, até chegar a 70. Reservar separadamente.

**NOTA12.a:** Para regular a salinidade após a adição do formol, não se deve basear-se na informação do refratômetro, pois esta informação é equivocada. Deve-se utilizar o condutivímetro para tomar a medida (em  $\text{mS.cm}^{-1}$ ) utilizando a seguinte fórmula:

$$S = [\sigma^{1,0878} \times 0,4665, \text{ ou seja,} \\ \text{Salinidade (\%)} = [\text{condutividade (\text{mS.cm}^{-1})}^{1,0878} \times 0,4665]$$

- *Solução Hipersalina + 5% Formaldeído + Borax*

13. Pesar 20 g de tetraborato de sódio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ ), em seguida acrescentá-lo à solução hipersalina com formaldeído. O pH deve estar em torno de 8,2.

**NOTA1a:** Sempre manter a proporção caso o volume de solução preparada varie. (i.e.  $20\text{g}/5\text{L} = 4\text{g}/1\text{L}$ )

#### IV. Preparação das Garrafas do Fundeio

14. Verificar possíveis danos nas garrafas, caso ocorra fazer a troca da mesma. Observar se estão completas com frasco, tampa e o-ring. Fortalecer a identificação das garrafas.
15. Colocar a solução final (hipersalina + formaldeído + bórax) nas garrafas 1 a 13 até a boca não deixando bolhas.

Elaborado por: Whertz Sales	e-mail do elaborador:	Revisor: Daniel Tremmel	Última Revisão: 04/02/2016 n° da REV 02	Página: 2
--------------------------------	-----------------------	----------------------------	--	-----------



## 5.TROUBLESHOOTING (SOLUÇÃO DE PROBLEMAS)

- Não utilizar sal marinho ou sais com elevados teores de sais de cálcio e magnésio para o preparo da solução que vai para o fundeio, pois esses metais precipitam sob a forma de carbonato no pH do tampão, alterando a massa das frações dos fundeios
- Preparar as soluções com no mínimo três semanas de antecedência e reservá-las sob refrigeração. De tempos em tempos observar se houve precipitação nas garrafas (fundo e paredes). Caso tenha havido formação de precipitado branco (Carbonato de Cálcio), filtre as soluções e faça as verificações de pH e salinidade e então armazene novamente as soluções nas garrafas. Caso continue havendo a precipitação, reveja o procedimento de preparo e a qualidade dos reagentes.

## 6.REFERÊNCIAS

Não aplicado

Elaborado por: Whertz Sales	e-mail do elaborador:	Revisor: Daniel Tremmel	Última Revisão: 04/02/2016 n° da REV 02	Página: 1
--------------------------------	-----------------------	----------------------------	--	-----------