

PROTOCOLO PARA TRABALHO COM OS DADOS DO ESPECTROFOTÔMETRO NO EXCEL, E DEMAIS CORREÇÕES NECESSÁRIAS

Objetivo

Após fazer a análise colorimétrica de nutrientes inorgânicos dissolvidos com auxílio do Espectrofotômetro HITACHI 2900, conforme descritos nos protocolos técnicos, após salvar os dados em Pen Drive e convertê-los em .txt, você está apto a começar a trabalhar com seus dados no programa Excel, para poder analisar seus resultados e corrigir os dados, quando necessário.

1º passo: Abrindo os dados txt no Excel

1. Insira o Pen Drive com seus dados .txt no seu computador e salve onde desejar;
2. Abra o programa Excel;
3. Clique no menu Inicial;
4. Clique em abrir;
5. Selecione a opção "Arquivos de texto";
6. Selecione o arquivo .txt que deseja abrir (seus dados), clicando uma vez sobre ele;
7. Clique em "abrir";
8. Abrirá uma janela chamada "Assistente de importação de texto";
9. Na etapa 1 selecione a opção "delimitado" e clique em avançar;
10. Na etapa 2 selecione as opções "tabulação, ponto e vírgula". Na opção "qualificador de texto" selecione " " (vírgula) e clique novamente em avançar;
11. Na etapa 3 é só clicar em concluir e seus dados serão abertos em formato planilha Excel.

2º passo: Corrigindo os dados

No caso de seu computador estar configurado para português e não converter automaticamente os pontos por vírgulas na separação das casas decimais, selecione todos seus valores de absorbância na planilha e clique no ícone "localizar e selecionar" na barra de trabalho, clique em substituir. No quadro substituir, na opção localizar digite . (ponto) e na opção substituir por digite , (vírgula), e clique em substituir todos. Observe se na conversão ele não cometeu nenhum erro, como considerar milhar e não casa decimal.

Importante destacar que no início da planilha são apresentados apenas os dados das configurações do aparelho, que foram previamente determinadas para a realização de cada

análise específica de nutriente. Os dados da sua análise, os quais serão utilizados, aparecem na planilha a partir dos dados da curva. Primeiro observa-se os dados de absorvância, em triplicada, de cada concentração utilizada para a calibração. Nas linhas seguintes aparecem as médias STD1, STD2... (calculadas pelo aparelho) de cada concentração da calibração.

Como a calibração do aparelho insere o branco como elemento da curva, a absorvância dele é automaticamente descontada das amostras, **o que não é real!!!** Para corrigir este erro, deve-se:

1. Calcular a absorvância real das amostras da curva, diminuindo as absorvâncias das concentrações da curva pela absorvância do branco;
2. Selecione então os dados de absorvância real calculada e as respectivas concentrações da curva. Clique em inserir e gere o gráfico de dispersão (Figura 1);
3. Para obter a fórmula necessária para o cálculo da concentração real, clique nos pontos do gráfico para selecioná-los e com o botão direito do mouse selecione a opção adicionar linha de tendência e selecione as opções “exibir equação no gráfico e exibir valor de R no gráfico”, clique em fechar (Figura 1);
4. Seu gráfico para análise dos dados será gerado, e a fórmula gerada será usada para fazer as correções necessárias para as concentrações finais;
5. Em seguida, deve-se calcular o valor da absorvância a partir do erro percentual do branco. Para cada análise feita, a quantidade de reagente utilizado varia e o percentual de erro do branco também. Para gerar o branco real das amostras, multiplica-se o valor da absorvância do branco da curva pelo percentual do erro do branco, seguindo a tabela 1.

Tabela 1. Demonstração da diferença de percentual de erro do branco entre as diferentes análises de nutrientes.

Nutriente	Volume de amostra	Quantidade de reagente utilizado na análise (ml)	Percentual do erro do branco (%)	Fórmula para estimar o Branco corrigido para sua amostra
Fosfato	3 ml	0,2	6	=abs branco*0,06
Silicato	3 ml	0,6	20	=abs branco*20
Amônia	3 ml	0,5	16	=abs branco*16
Nitrito+Nitrato	35 ml	50 (tampão) + 1ml de cada reagente= 52 ml		=abs branco/2

6. Posteriormente, calcula-se o valor da absorvância real das amostras, descontando o valor da absorvância da amostra (indicado na coluna X) da absorvância do branco corrigido na etapa anterior;

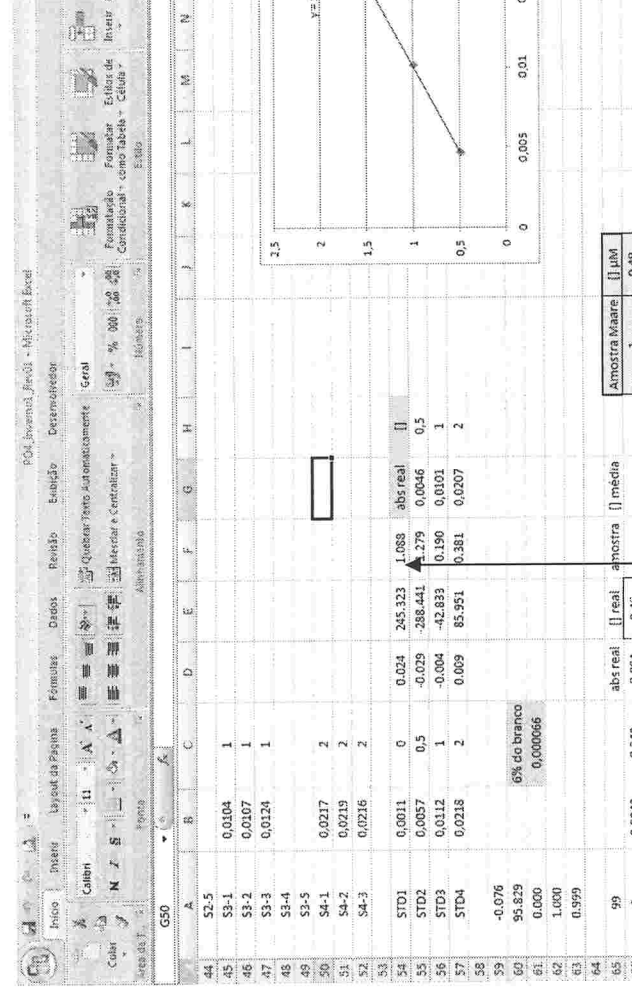


Figura 1. Abs. real = Abs. amostra- Abs. branco corrigido.

ATENÇÃO!!!

Para construir a reta a ordem é: absorvância e a concentração!! Não inserir o branco!!!

7. Então se calcula o valor real da concentração, usando a fórmula gerada pelo gráfico, e no valor do x entra-se com o valor das absorbâncias reais das amostras:

[] amostra = $ax + b$ (conforme figura acima);

8. Devem ser usadas três casas após a vírgula para os valores de absorbância, e duas para os dados de concentração final (μM);

9. Como as análises, com exceção de nitrito+nitrato são feitas em triplicata, deve-se então calcular a média das três amostras;

10. Seus dados estão prontos para serem utilizados!

