

## ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS (análise de mistura de corantes)

### Ficha técnica do equipamento

Espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 series

---

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

**Seletores de comprimento de onda:** Monocromadores

**Sistema fotométrico:** Duplo feixe

**Detector:** Fotodiodos de silício

**Largura de banda:** < 2 nm

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

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

**Incrementos de comprimento de onda:**

---

### Determinação simultânea de corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo

A análise de dois ou mais componentes misturados em uma amostra é possível com extrema facilidade se os seus espectros apresentarem bandas sem sobreposição na região do UV/Vis. Ou seja, uma vez que a banda de absorção de um composto não sofre interferência das bandas de absorção dos demais compostos, este pode ser analisado como se estivesse sozinho na amostra.

Infelizmente, as bandas em UV/Vis são largas e frequentemente ocorre sobreposição entre os espectros de absorção de cada componente de uma mistura. Por exemplo, no caso desta prática, os respectivos comprimentos de onda de máxima absorção de cada um dos dois corantes contam também com certa contribuição da absorção do segundo corante. Ou seja, dificilmente se encontra um comprimento de onda onde apenas uma das espécies da mistura está absorvendo significativamente, sem a interferência das demais espécies em solução.

A solução para esse problema é conseguida por conta de a Lei de Beer ser aditiva. Assim, para uma mistura de dois componentes, a absorbância da mistura ( $A_m$ ) é a soma das absorbâncias individuais das espécies X e Y ( $A_x + A_y$ ). Portanto:

$$(A_m)_{\lambda 1} = (\varepsilon_x)_{\lambda 1} b C_x + (\varepsilon_y)_{\lambda 1} b C_y$$

onde,  $\lambda 1$  é o comprimento de onda em que a absorbância é medida,  $\varepsilon$  é a absorvidade molar da espécie absorvente,  $b$  o caminho óptico e  $C$  a concentração da espécie absorvente.

Assim, se uma segunda medida é feita em outro comprimento de onda, tem-se que:

$$(A_m)_{\lambda_2} = (\varepsilon_x)_{\lambda_2} b C_x + (\varepsilon_y)_{\lambda_2} b C_y$$

Dessa forma,  $C_x$  e  $C_y$  podem ser determinados resolvendo-se um sistema com as duas equações acima.

Obviamente, para que esse sistema seja resolvido, faz-se necessário determinar os valores de absorvidade ( $\varepsilon$ ) para cada um dos dois compostos e em ambos os comprimentos de onda. Em geral, para uma mistura de  $n$  compostos, a absorbância deve ser medida em  $n$  diferentes comprimentos de onda.

Na prática em questão, dois corantes estão presentes em uma mistura. Para determinar as concentrações de ambos, eles deverão ser analisados em dois comprimentos de onda, tendo-se as suas respectivas absorvidades determinadas em cada um dos dois comprimentos de onda, por meio de uma curva de calibração.

A partir desses resultados, os cálculos adequados permitirão a determinação da concentração de cada corante. Esses cálculos podem ser facilmente conseguidos resolvendo-se um sistema matemático de duas equações com duas incógnitas, ou, caso desejado, utilizando-se de uma matriz para cálculo da determinante.

## **Objetivos**

1. Familiarização com a técnica espectrofotométrica e obtenção de espectros de absorção eletromagnética.
2. Emprego do princípio da aditividade da Lei de Beer em espectrofotometria para a determinação simultânea dos corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo em sucos de frutas em pó.

## **Preparo dos padrões**

Preparar 5,0 mL de uma solução-padrão estoque na concentração de 1,25 mg/mL (1250  $\mu\text{g/mL}$ ), separadamente, para os corantes amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo.

Para as curvas analíticas, preparar 4 padrões de trabalho, nas concentrações 1,0  $\mu\text{g/mL}$ ; 10,0  $\mu\text{g/mL}$ ; 30,0  $\mu\text{g/mL}$  e 50,0  $\mu\text{g/mL}$  para o corante amarelo tartrazina. E 4 padrões de trabalho, nas concentrações 0,5  $\mu\text{g/mL}$ ; 5,0  $\mu\text{g/mL}$ ; 15,0  $\mu\text{g/mL}$  e 25,0  $\mu\text{g/mL}$ , para o corante amarelo crepúsculo.

## **Amostras**

1. Duas misturas de corantes serão fornecidas para análise.

### **Procedimentos no laboratório**

1. Obtenção dos espectros dos padrões individuais de amarelo tartrazina e amarelo crepúsculo, nas concentrações de 10,0 e 5,0 µg/mL, respectivamente.
2. Selecionar o comprimento de onda máximo de absorção ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) para cada corante.
3. Construir uma curva de calibração para ambos os compostos em cada um dos dois  $\lambda_{\text{máx}}$ .
4. Medir as absorbâncias da amostra nos mesmos comprimentos de onda anteriores.

### **Procedimentos finais para tratamento dos dados**

1. Fazer gráficos dos espectros e tabulação dos resultados.
2. Fazer gráficos das curvas analíticas.
3. Determinar a concentração de cada corante nas amostras, de acordo com o princípio da aditividade.

### **Questões complementares**

- 1) Faça um diagrama de blocos de um espectrofotômetro de UV-vis de feixe duplo, detalhando seus componentes principais e descrevendo sua função.
- 2) Defina os seguintes termos, e como são calculados:
  - i. Faixa linear
  - ii. Coeficiente de correlação
  - iii. Sensibilidade
  - iv. Detectabilidade
  - v. Ruído
  - vi. Limite de detecção (LD)
  - vii. Limite de quantificação (LQ)
- 3) É possível analisarem-se dois analitos, simultaneamente, durante uma leitura no espectrofotômetro de UV-vis? Justifique.
- 4) Se a concentração de uma amostra é 50 vezes maior que aquela do último ponto de uma curva analítica, qual deve ser o procedimento para se analisar essa amostra?

**Referências específicas para o tratamento matemático**

1. Skoog, Holler e Nieman. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed. Capítulo 14, seção 14D-2, Análise de misturas de substâncias absorventes.
2. Harris, **Análise Química Quantitativa**. 7. Ed. Capítulo 19, seção 19.1, Análise de uma mistura.
3. Harvey, **Modern Analytical Chemistry**, Chapter10, section 10D.2, Quantitative analysis of mixtures.