ANÁLISE INSTRUMENTAL

MÉTODOS ESPECTROANALÍTICOS
(UV-Vis)

- **DOCENTE**

- **Prof. Dr. Antônio Aarão Serra**

MÉTODOS ESPECTROANALÍTICOS (UV-Vis)

COLORIMETRIA

COLORIMETRIA

- **Colorimetria:** A variação de intensidade da cor de um sistema com a mudança da concentração de um de seus componentes forma a base do que é chamado comumente de **análise colorimétrica. Pode ser dividida em dois tipos:**

- **- Colorimetria visual**

- **- Colorímetro fotoelétrico**

COLORIMETRIA

- **Fotômetro de Filtro (Região do Visivel)** Neste instrumento é empregado usualmente luz contida num intervalo relativamente estreito de comprimento de onda, empregando **filtros** (placas coloridas de vidro), que transmitem somente na região de interesse.

- **Espectrofotômetro (Região UV-Vis)** Neste equipamento é usada uma fonte de radiação que permite estender o trabalho à região do ultravioleta do espectro.

COLORIMETRIA

EXEMPLOS DE CORES COMPLEMENTARES

Se a luz **vermelha** for absorvida da luz branca, então a luz transmitida ou refletida será **verde.**

Entretanto, se a luz **verde** for removida, a luz que aparecerá será **vermelha**.

As cores ***vermelho*** **e** ***verde*** são ***cores complementares***, ou seja, cada uma é a cor que permanece depois que a outra é removida.

COLORIMETRIA

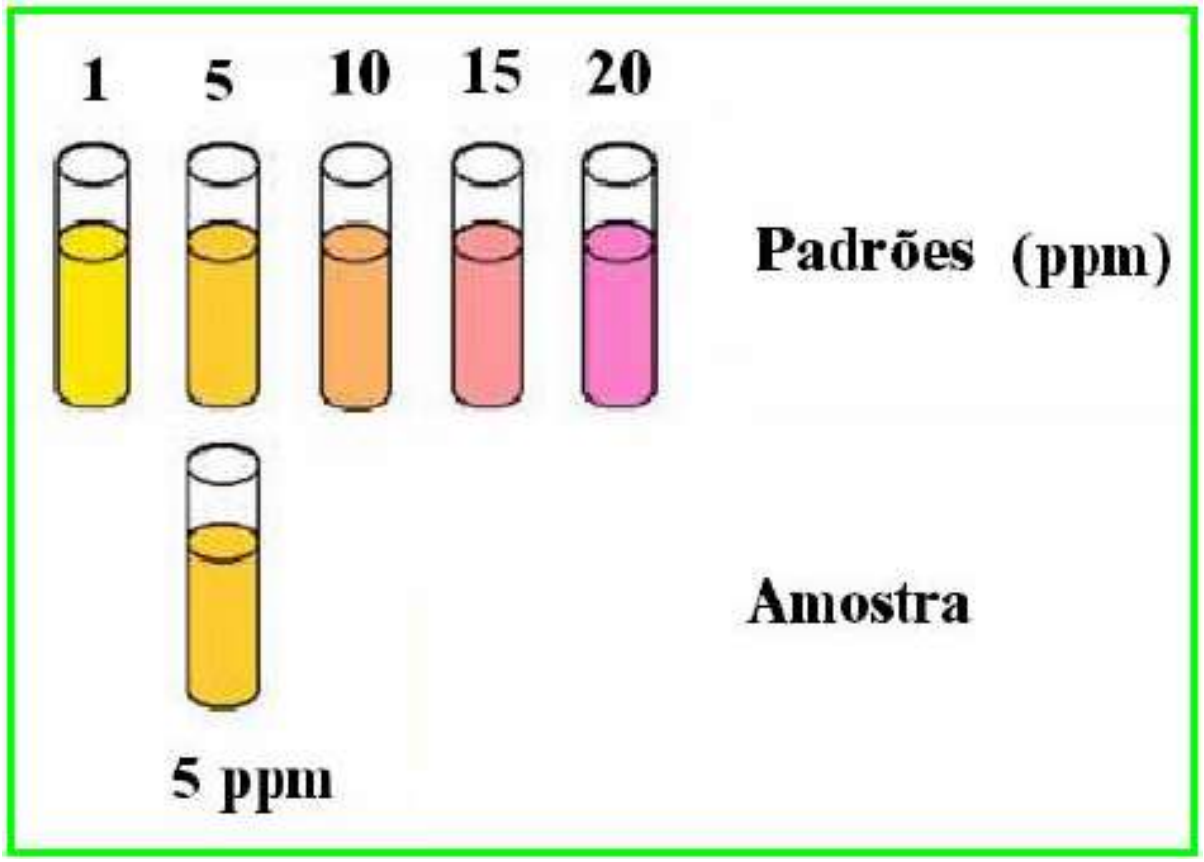
ANÁLISE COLORIMÉTRICA

- A base de uma ***análise colorimétrica*** é a variação de cor da solução em função da concentração do analito.

- A **cor da solução** é devido dois fatores:
- Devido à formação de de um **composto colorido** formado pela **adição de um reagente** apropriado;
- Ou devido a cor **inerente** ao constituinte que se deseja analisar.

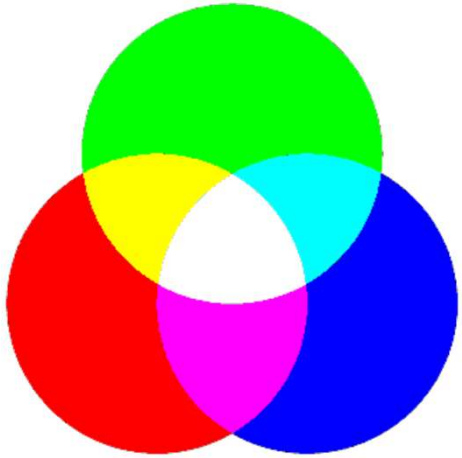
COLORIMETRIA

- **Figura**: comparação de cor



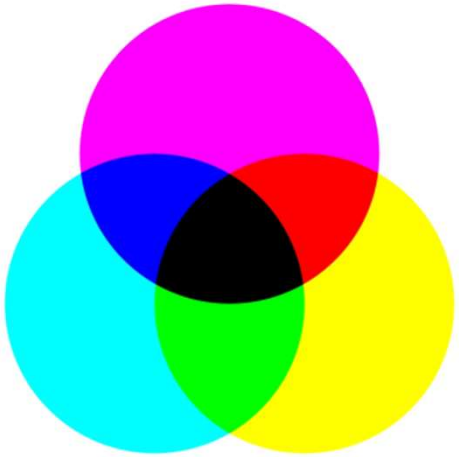
COLORIMETRIA

Um objeto tem a cor correspondente aos comprimentos de onda que ele reflete.



Cores primárias

As 3 luzes (cores) primárias quando misturadas dão origem à luz branca.



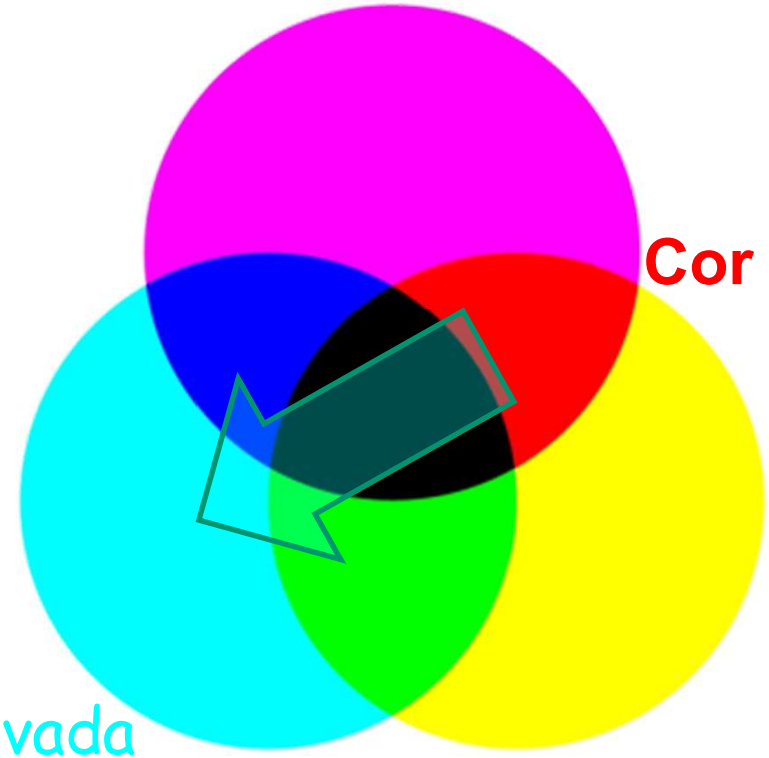
Cores secundárias

Quando falta uma das cores primárias, obtém-se uma cor secundária. As 3 cores secundárias misturadas dão origem ao preto

COLORIMETRIA

Um objeto tem a cor correspondente aos comprimentos de onda que ele reflete.

Se um objeto é da cor ciano, é porque absorve o vermelho e reflete o azul e o verde.



COLORIMETRIA

Um objeto tem a cor correspondente aos comprimentos de onda que ele reflete.

Disco de Newton



A rotação proporciona a mistura das cores, de modo que enxergamos todos os comprimentos de onda de uma única vez, gerando a luz branca.

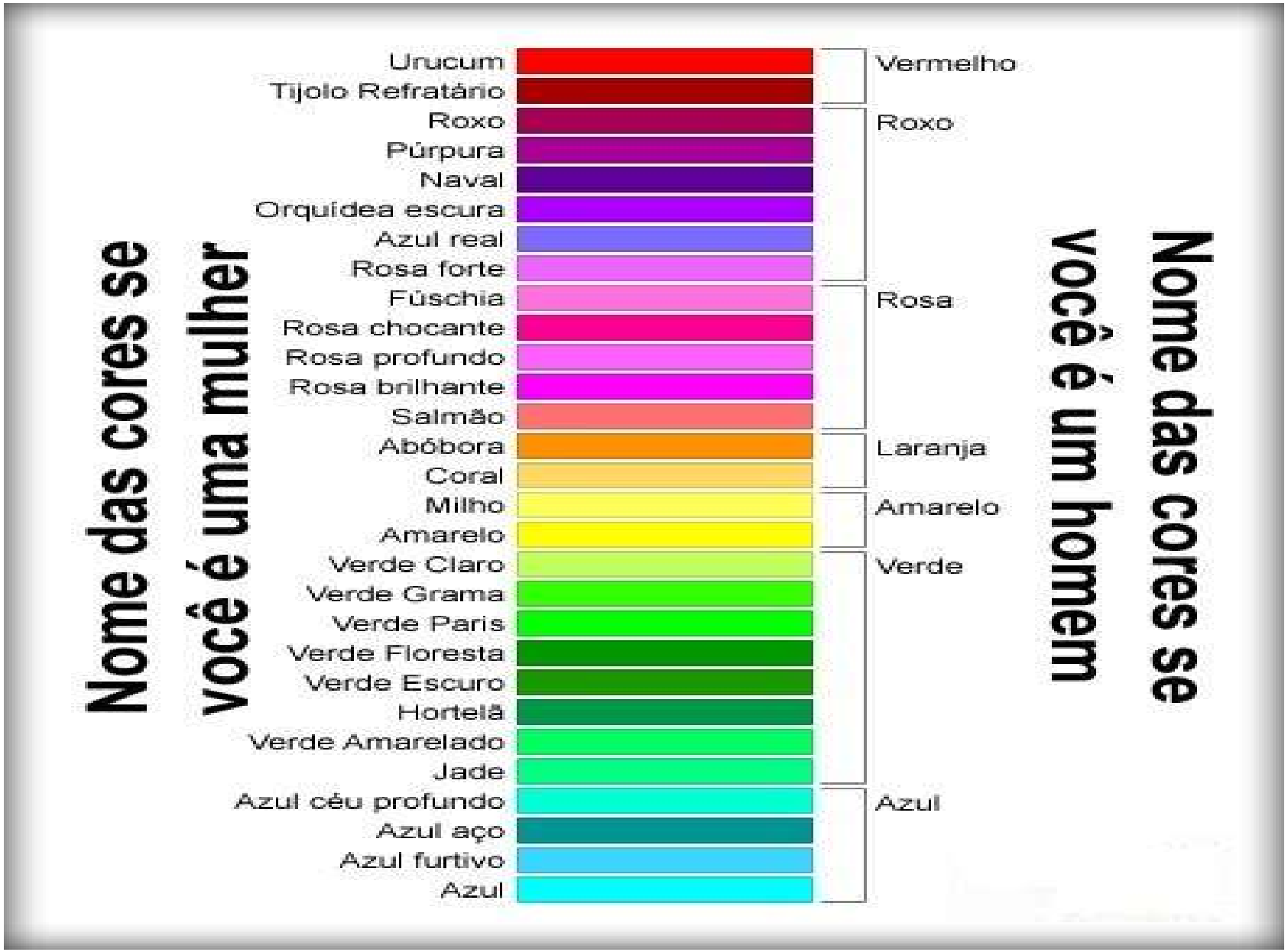
COLORIMETRIA

Um objeto tem a cor correspondente aos comprimentos de onda que ele reflete.

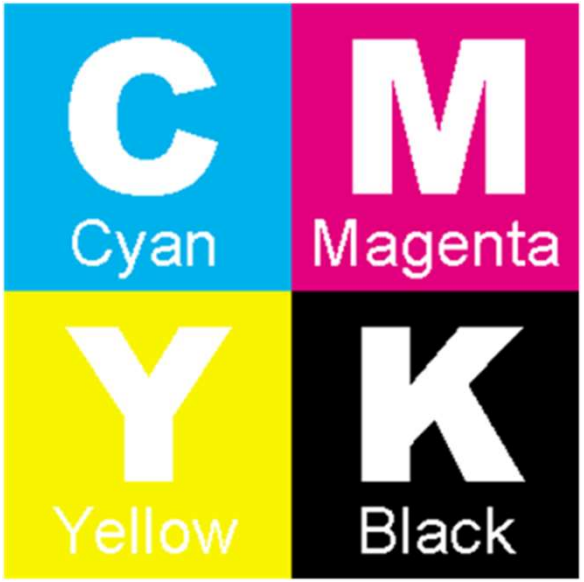
Cor Observada	*λ (nm)*	*Cor Complementar*
Ultravioleta	< 380	- - -
Violeta	380 – 420	Amarelo
Violeta – azul	420 – 440	Amarelo – laranja
Azul	440 – 470	Laranja
Azul – verde	470 – 500	Laranja – vermelho
Verde	500 – 520	Vermelho
Verde – amarelo	520 – 550	Púrpura
Amarelo	550 – 580	Violeta
Amarelo – laranja	580 – 600	Violeta – azul
Laranja	600 – 620	Azul
Laranja – vermelho	620 – 640	Azul – verde
Vermelho	640 – 680	Verde
Púrpura	680 – 780	Amarelo - verde



COLORIMETRIA



COLORIMETRIA



Síntese subtrativa: As cores se dão pela “subtração da luz”.

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **OBJETIVOS:**
  - **Compreender o princípios de espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta e do visível;**
  - **Entender conceitos de transmitância e absorbância;**
  - **Conhecer a Lei de Lambert-Beer;**
  - **Conhecer a instrumentação de espectrofotometria;**
  - **Conhecer cálculos teóricos de $\lambda_{max.}$**

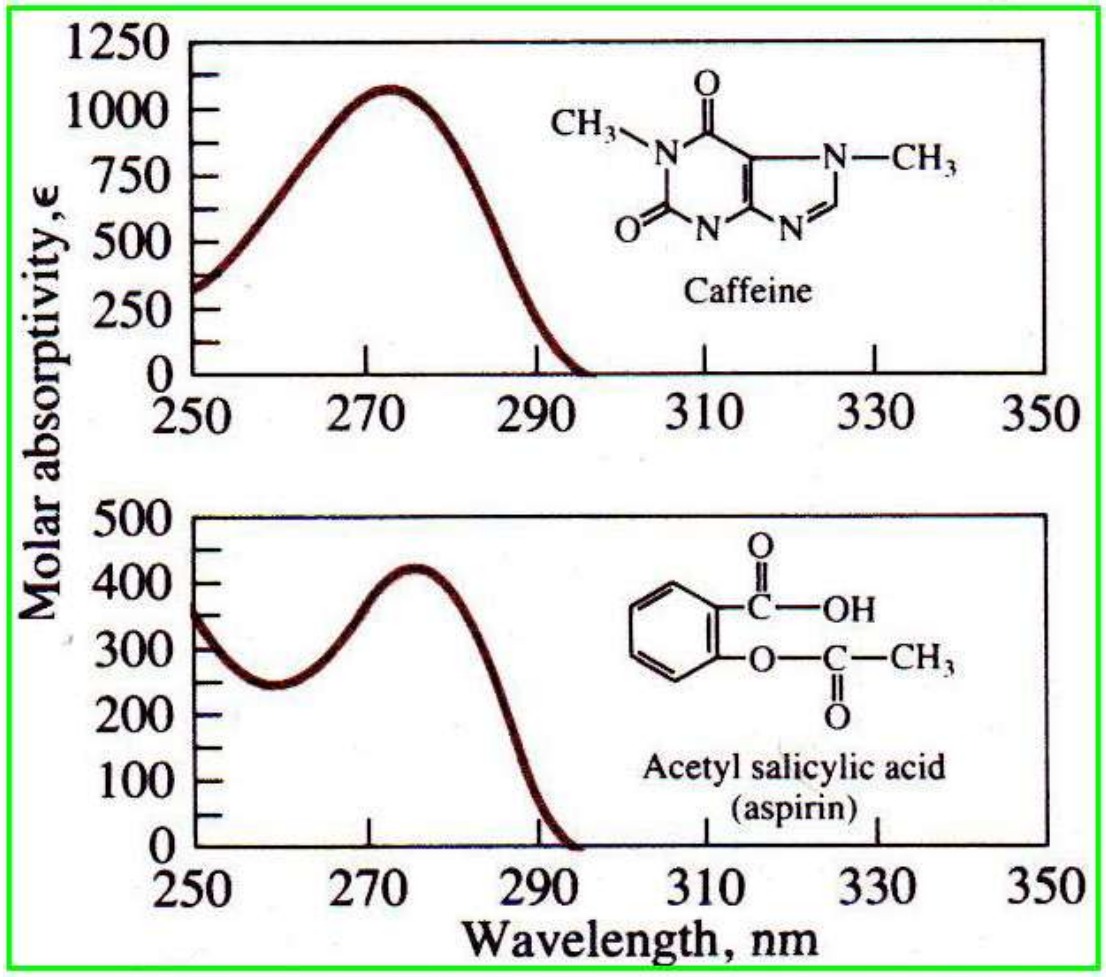
APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

ABSORÇÃO DE LUZ

- A absorção de radiação ***UV-Visível*** se deve ao fato das moléculas apresentarem elétrons que podem ser promovidos a níveis de energia mais elevados mediante a absorção de energia.

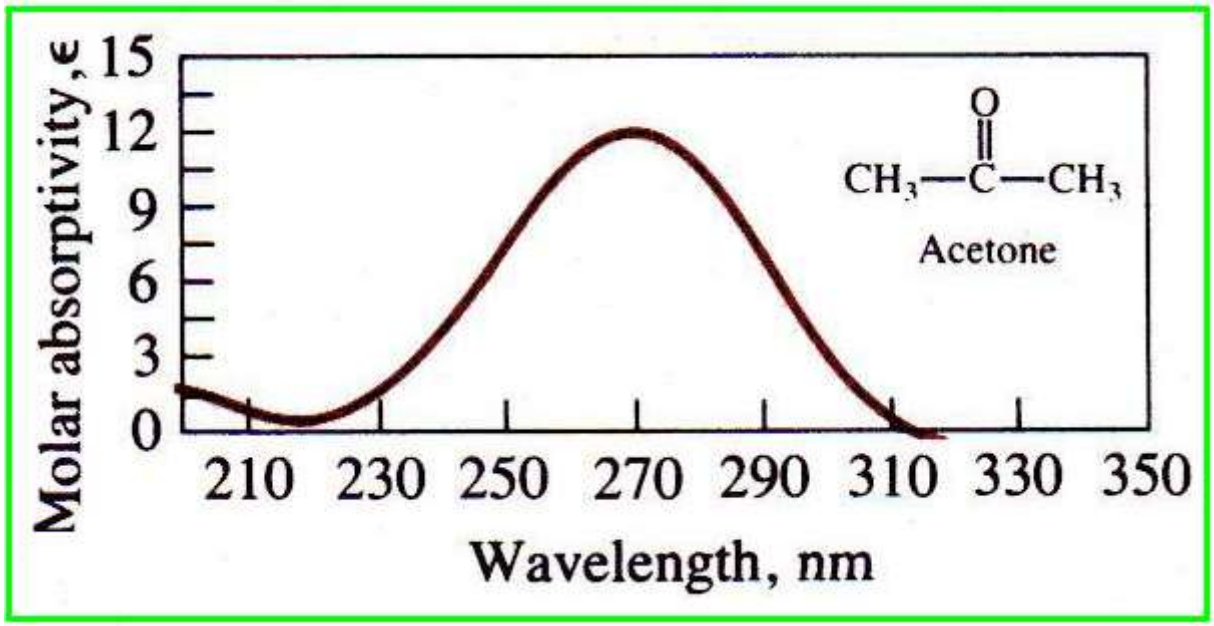
APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Figura: Espectro de absorção da Cafeina e AAS**



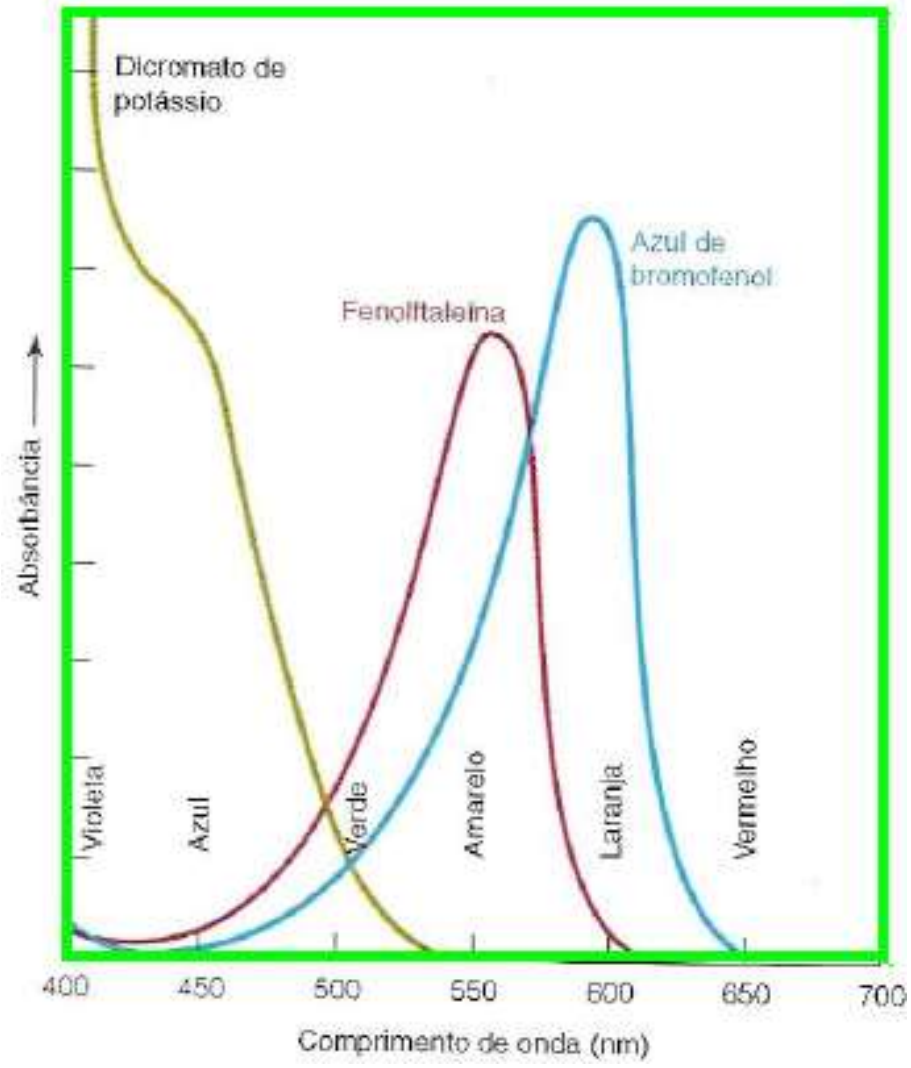
APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Figura: Espectro de absorção da acetona**



APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Espectros de Absorção:**



APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Espectros de Absorção: Servem para:**

- **Identificar substâncias:** as curvas de absorção são uma espécie de "impressão digital" das substâncias e caracterizam a presença desses compostos.

- **Identificar grupamentos químicos.**

- **Indicar os comprimentos de onda** para a dosagem das substâncias.

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Espectroscopia**
- **Definição: O termo espectroscopia é a designação para toda técnica de levantamento de dados físico-químicos através da transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente em uma amostra.**
- **Estudo da interação luz-matéria (energia quantizada - fótons).**
- **Pode ser utilizada a luz para medir concentração de uma espécie.**
- **Fundamento baseia-se na interação luz-matéria**
- **Ex.: UV-Vis, Infravermelho, etc.**

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Espectrograma**
- O resultado é um gráfico obtido do comprimento de onda pela freqüência. É chamado **espectro**. Sua impressão gráfica pode ser chamada **espectrograma** ou, por comodidade, simplesmente **espectro**.

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **O que acontece com a Energia radiante**:
- A energia incidente pode ser **refletida, transmitida ou absorvida**.

- **Haverá interação não somente se houver ressonância entre dois entes**: a onda eletromagnética e uma partícula (átomo, molécula ou íon) mas também se a energia for mais alta que a necessária para ocorrer uma transição eletrônica.

- **As condições para que haja essa absorção são**:
- - A **freqüência da onda incidente coincidir** com uma freqüência natural de um tipo de **oscilação do sistema;**
- - Sejam respeitadas as **regras de seleção quânticas** inerentes ao sistema e à faixa de freqüências particular envolvida.

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **Os três os principais tipos de processo pelos quais a radiação interage com a amostra e é analisada:**
- 1) **Espectroscopia de absorção** - Correlaciona a quantidade da energia absorvida em função do comprimento de onda da radiação incidente.
- **2) Espectroscopia de emissão** - Analisa a quantidade de energia emitida por uma amostra contra o comprimento de onda da radiação absorvida. Consiste fundamentalmente na re-emissão de energia previamente absorvida pela amostra

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

- **3) Espectroscopia de espalhamento (ou de dispersão) -** Determina a quantidade da energia espalhada (dispersa) em função de parâmetros tais como o comprimento de onda, ângulo de incidência e o ângulo de polarização da radiação incidente.

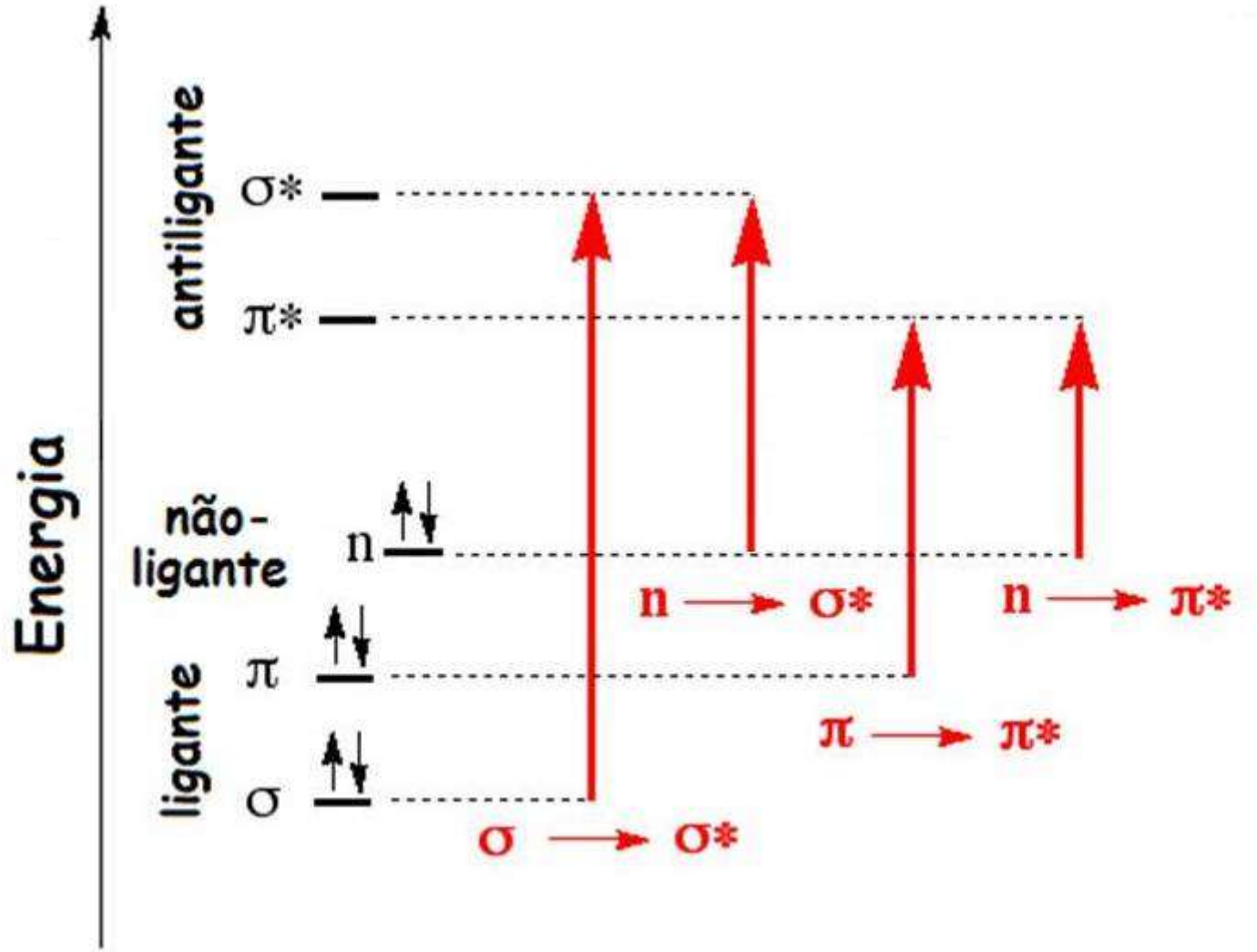
APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

COMO OCORRE A ABSORÇÃO DA LUZ?

- A absorção de radiação UV ou visível por uma espécie atômica ou molecular pode ser considerada como um processo que ocorre em duas etapas:
  - **$M + h\upsilon \rightarrow M^*$** **excitação**
  - **$M^* \rightarrow M$ + calor (desprezível)** **relaxação**

- **São três tipos de transições eletrônicas:**
  - 1) elétrons p, s e n (moléculas e íons inorgânicos)
  - 2) elétrons d e f (íons de metais de transição)
  - 3) transferência de carga (complexos metal-ligante)

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO



Níveis de energia eletrônico molecular.

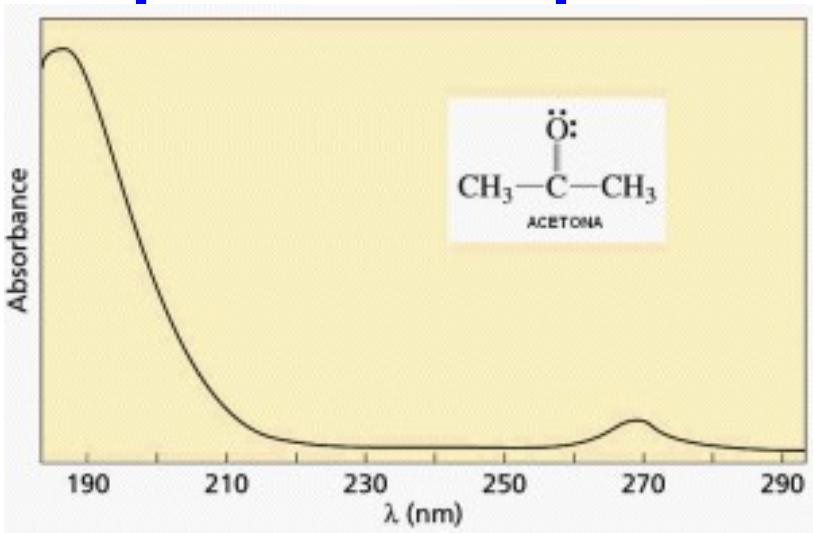
APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

Comprimentos de onda de absorção característicos das transições eletrônicas de compostos orgânicos.

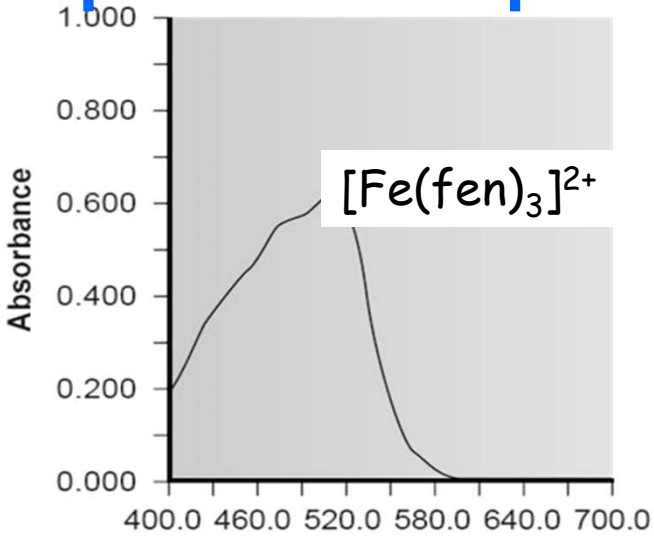
Transição	Faixa de comprimentos de onda (nm)	Exemplos
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	< 200	C–C, C–H
$n \rightarrow \sigma^*$	160 – 260	H_2O, CH_3OH, CH_3Cl
$\pi \rightarrow \pi^*$	200 – 500	C=C, C=O, C=N, C≡C
$n \rightarrow \pi^*$	250 – 600	C=O, C=N, N=N, N=O

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

Espectro UV típico



Espectro Vis típico



Os máximos de absorção devem-se à presença de cromóforos na molécula. (Temos duas absorções em 190 e 270 nm no espectro da acetona e uma em 510 nm no espectro do complexo $[Fe(fen)_3]^{2+}$).

Cromóforo

- Átomo ou grupo de átomos que absorve radiação.

Auxocromos

- Átomo que não absorve radiação.
- Modifica alguma característica da absorção do cromóforo.

APLICAÇÃO / RECORDAÇÃO

COMO MELHORAR A ABSORÇÃO DA LUZ?

- Se o **analito M** não for uma **espécie absorvente** ou que tenha **uma baixa absorção**, deve-se buscar reagentes reajam **seletiva e quantitativamente** com **M** formando produtos que absorvam no UV ou no visível.
  - Uma série de agentes complexantes são usados para determinação de espécies inorgânicas.

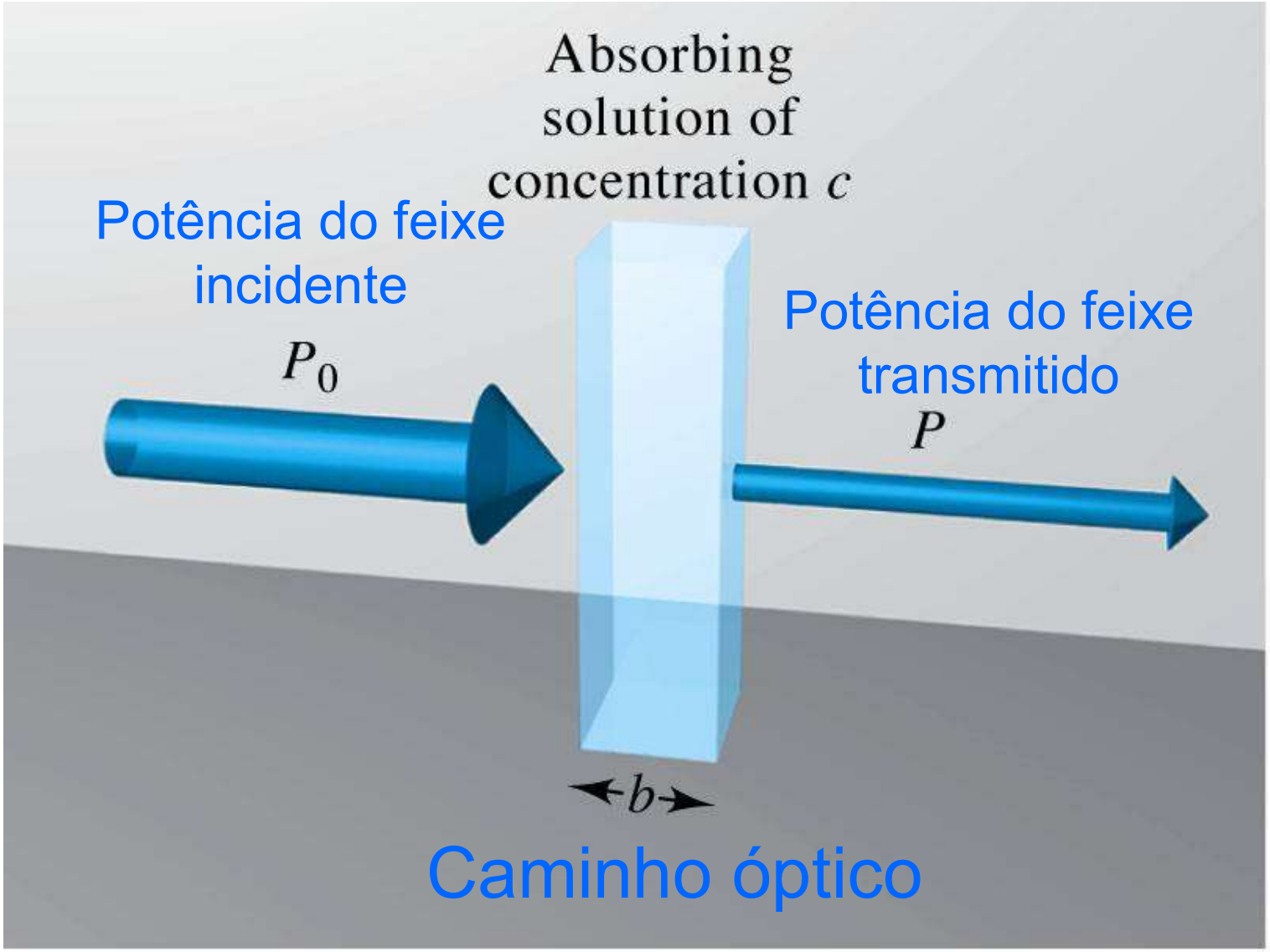
  - **Exemplos: SCN^- para Fe^{3+}; I^- para Bi^{3+}.**

LEI DE LAMBERT-BEER

QUAL A RELAÇÃO ENTRE A ABSORÇÃO E A CONCENTRAÇÃO?

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Absorbância (A)/Transmitância (T):**



© 2007 Thomson Higher Education

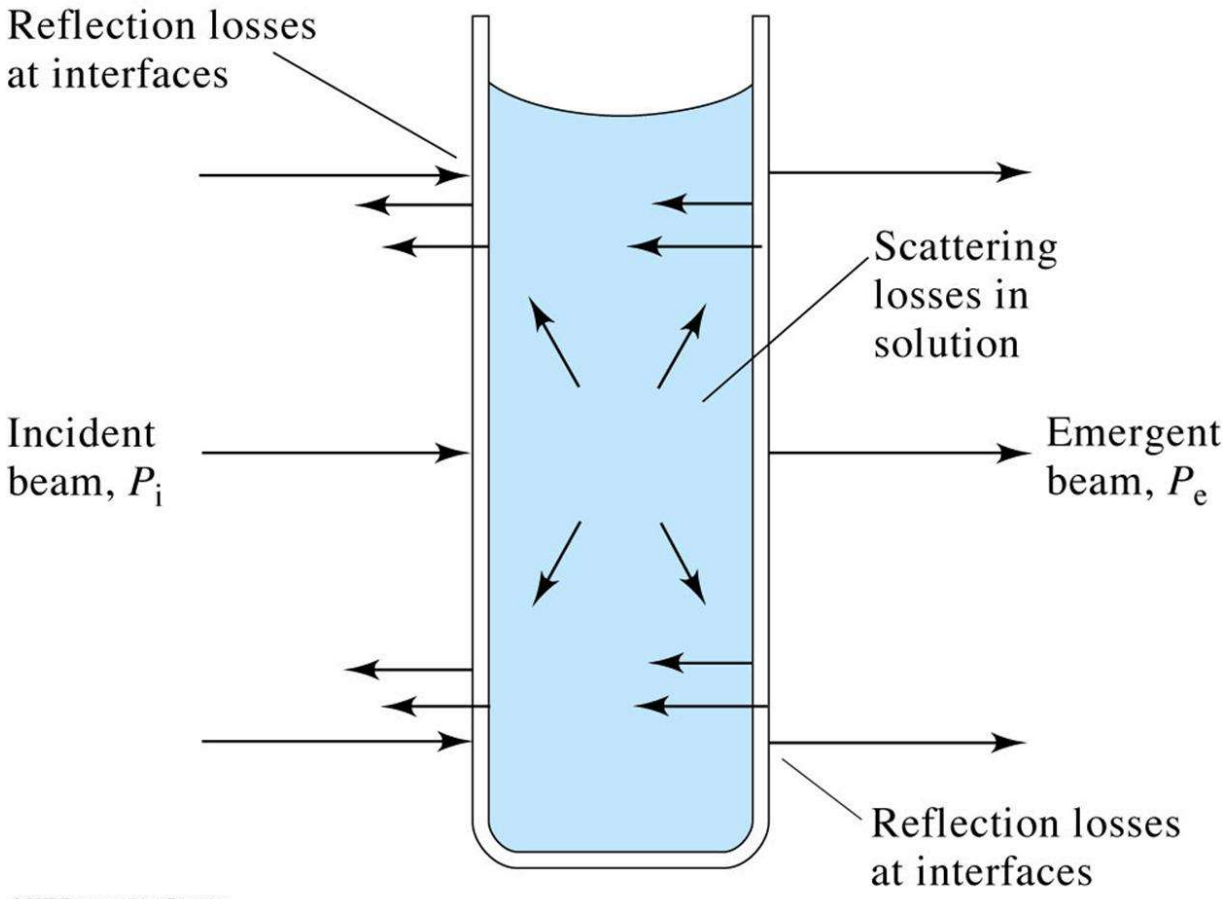
$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$A = \log \frac{P_0}{P}$$

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Absorbância (A)/Transmitância (T):**

Perdas por reflexão e espalhamento com uma solução contida em uma célula (cubeta) de vidro típica.



© 2007 Thomson Higher Education

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Absorbância (A)/Transmitância (T):**

$$T = \frac{P_{solução}}{P_{solvente}} \approx \frac{P}{P_0} \Rightarrow A = -\log T = \log \frac{P_{solvente}}{P_{solução}}$$

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Histórico:**
- A lei de **Beer-Lambert,** também conhecida como lei de **Beer-Lambert-Bouguer** ou simplesmente como lei de **Beer** é uma relação empírica que **relaciona a absorção de luz com as propriedades do material atravessado por esta.**
- **OBS.:** A **lei de Beer** foi descoberta independentemente (e de diferentes maneiras) por **Pierre Bouguer** em 1729, **Johann Heinrich Lambert** em 1760 e **August Beer** em 1852.

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Absorbância (A)/Transmitância (T):**
- **Potencia Radiante (P) = é** a energia de um feixe que atinge uma determinada área por unidade de tempo.
- **Transmitância (T):** A razão da potencia radiante do feixe transmitido **(P)** pela potência radiante do feixe incidente **(P_0)**.

$$T = P/P_0$$

- **A transmitância (T)** esta relacionada com a espessura do meio.
- **Absorbância (A):** ao contrário da transmitância ou seja é antilog da transmitância.

$$A = - \log_{10} T = P/P_0$$

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Absorbância (A)/Absortividade (a):**
- **A absorbância (A) esta relacionada com a concentração da substância pela ...**
- **Lei de Lambert Beer**
- Para radiações monocromática, a absorbância **(A)** é diretamente proporcional ao comprimento do caminho óptico **(b)** através do meio e a concentração **(c)** das espécies absorventes.
- A **constante de proporcionalidade**, chamada de **absortividade (a).**

$$A = abc$$

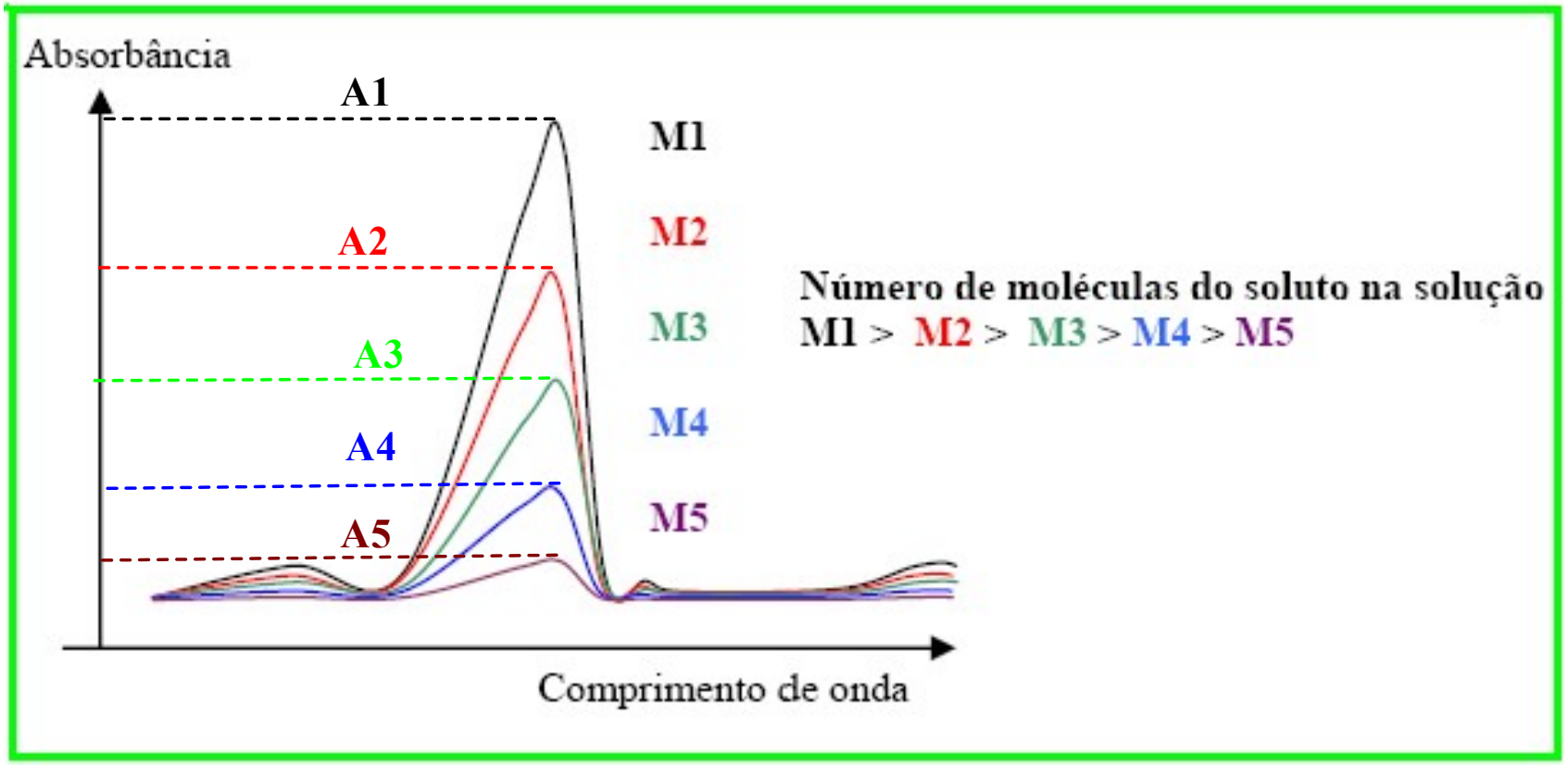
LEI DE LAMBERT-BEER

- **ABSORTIVIDADE MOLAR (ε):**
- **Quando a caracterização da espécie absorvente esta expressa em mols por litro e a largura da cela em centímetros, a absortividade é chamada de absortividade molar é representada por ε.**

$$A = \varepsilon bc$$

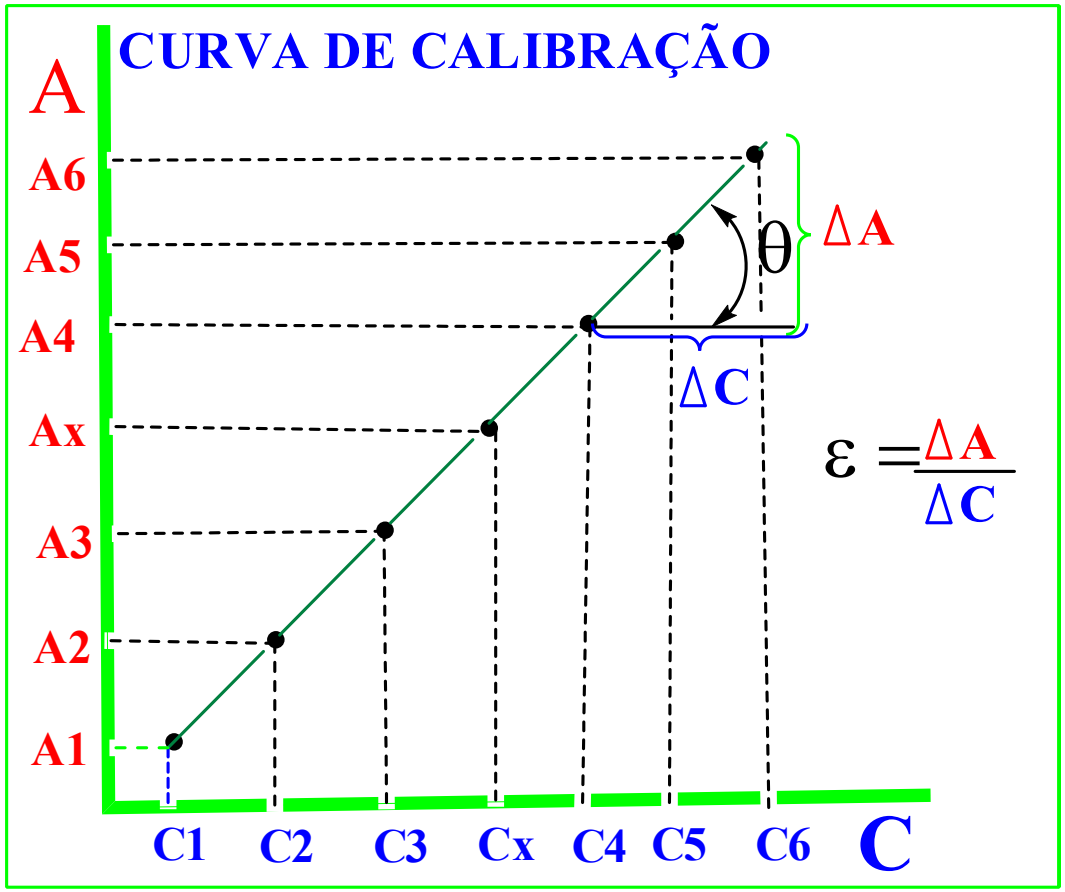
LEI DE LAMBERT-BEER

- **Espectro de UV-Vis de uma substância qualquer em diferentes concentrações**



LEI DE LAMBERT-BEER

- **Curva de calibração de um espectrofotômetro.**



LEI DE LAMBERT-BEER

- **Desvios da Lei de Lambert-Beer:**
  - **Desvios Reais**
  - **Desvios Aparentes**
    - **Desvios Químicos**
    - **Desvios Instrumentais**

LEI DE LAMBERT-BEER

- **DESVIOS DA LEI DE LAMBERT-BEER:**
- **Desvios Reais:** São desvios que ocorrem devido às interações dos centros absorventes e a variação do **índice de refração**.
- Na derivação da Lei de Beer admitimos que os centros absorventes **não tem interações entre si ou com outras espécies presentes na solução** isso faz com que a Lei de Beer tenha caráter de uma lei limite aplica principalmente para **soluções muito diluídas**.

LEI DE LAMBERT-BEER

- **DESVIOS DA LEI DE LAMBERT-BEER:**
- **Desvios Reais:**
- Outro Desvio Real da Lei de Beer é a possibilidade de haver uma **variação do índice de refração "η"** da solução com a concentração. Isso decorre do fato de **ε** depender do índice de refração da solução.

LEI DE LAMBERT-BEER

DESVIOS DA LEI DE LAMBERT-BEER:

- **Desvios Aparentes:** podem ser classificados em:
  - **Desvios Químicos:** aqueles que ocorrem devido a associação ou dissociação da espécie absorvente ou então o constituinte não é completamente convertido em uma única espécie absorvente
  - **Desvios Instrumentais**:
- i) São desvios que ocorrem devido ao instrumento utilizado na medição da absorbância.
- ii) Largura finita da faixa espectral escolhida;
- iii) Radiação estranha refletida dentro do equipamento que alcançou o detector;
- iv) Variação da resposta do detector;
- v) Flutuação da intensidade da fonte.

LEI DE LAMBERT-BEER

- **Resumo dos Desvios da Lei de Beer-Lambert**
- A lei de Beer descreve o comportamento da absorção apenas para **soluções diluídas**.

- Em concentrações acima de **0,01 mol L^{-1}**, haverá desvios da relação linear entre a absorvância e a concentração.

- Ocorrem desvios quando o **soluto colorido ioniza-se, dissocia-se ou se associa em solução**.

- Altas concentrações de eletrólitos leva a um afasta-mento da lei de Beer.

- Ocorrem **discrepâncias** quando a luz usada não é monocromática.

LEI DE LAMBERT-BEER

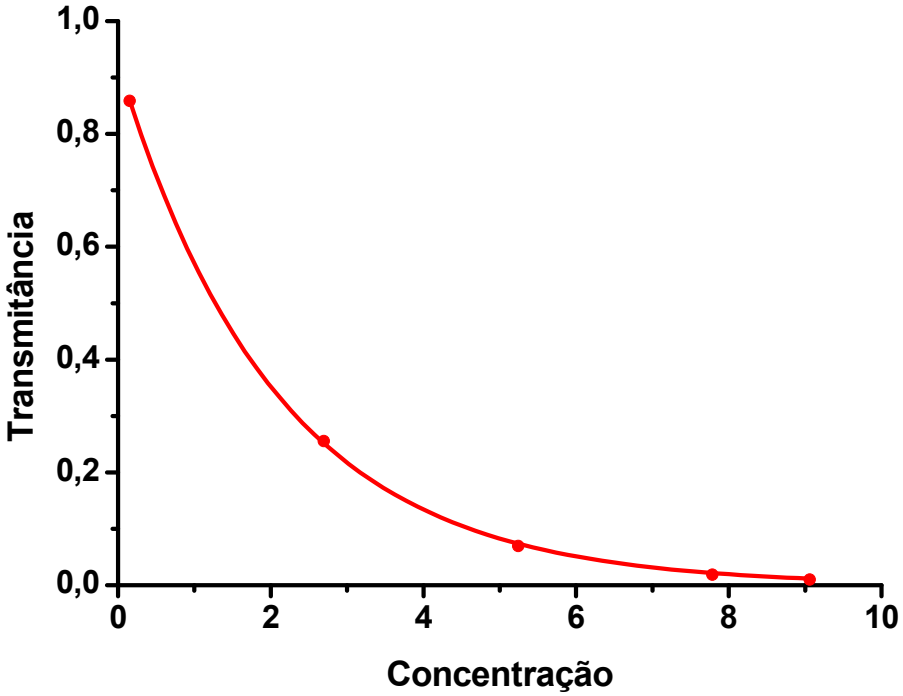
LEI DE LAMBERT-BEER

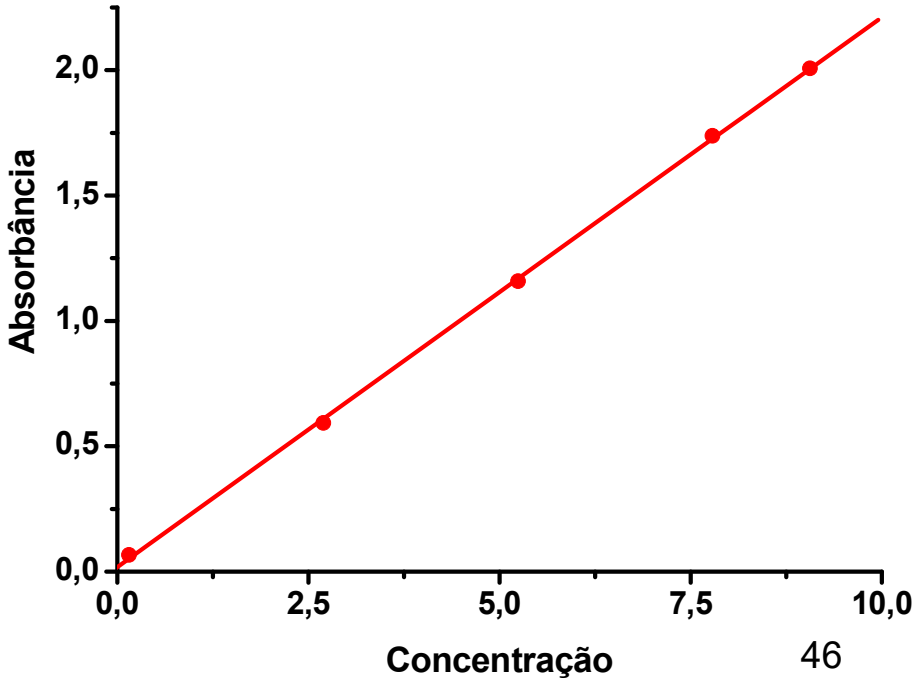
$A = abc$ (g/L)

Onde A é a absorbância, a é a **absortividade** e c é a concentração em g/L

$A = \varepsilon bc$ (mol/L)

Onde A é a absorbância, ε é a **absortividade molar** e c é a concentração em mol/L.



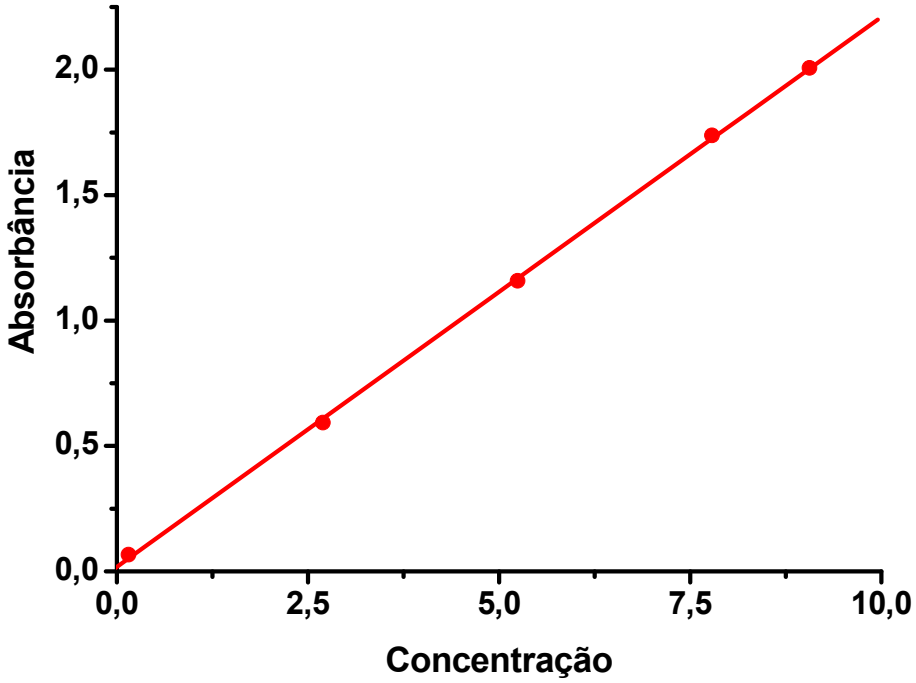


LEI DE LAMBERT-BEER

LEI DE LAMBERT-BEER

- .

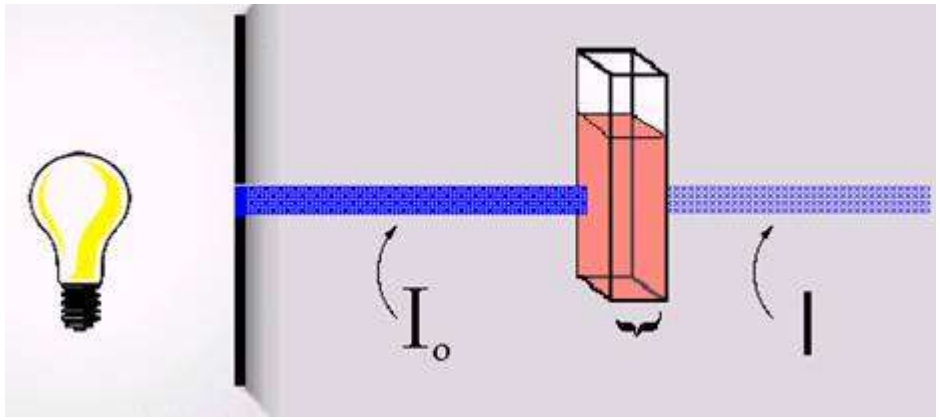
$$A = \varepsilon bc$$



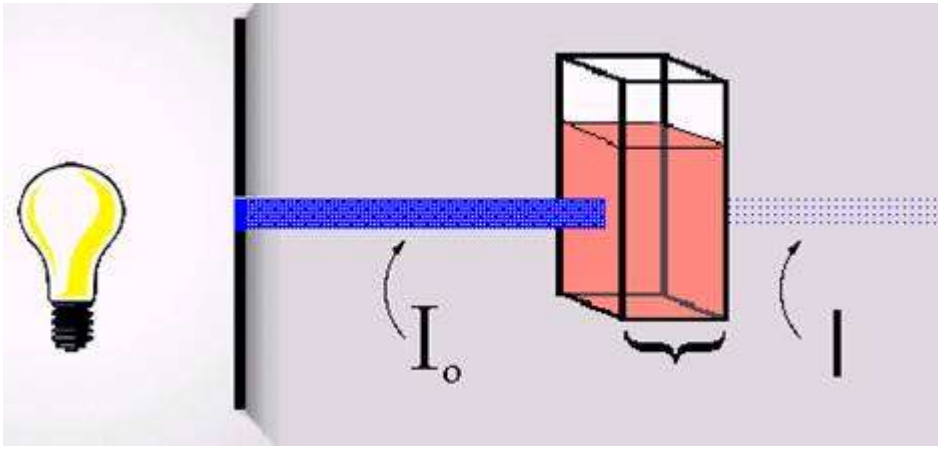
A absorbância aumenta conforme aumenta qualquer um dos três: **ε,** b ou c

εb é a inclinação de **A *x* C** e, portanto, responsável pela sensibilidade do método.

LEI DE LAMBERT-BEER

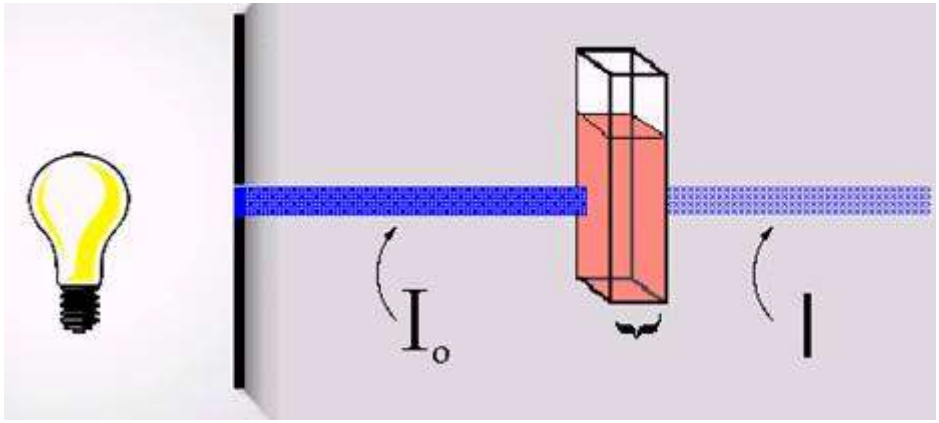


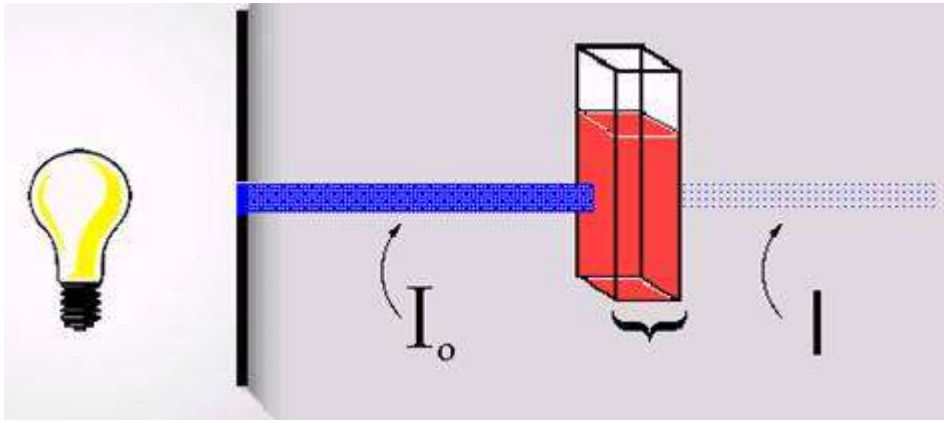
Aumento do
caminho óptico



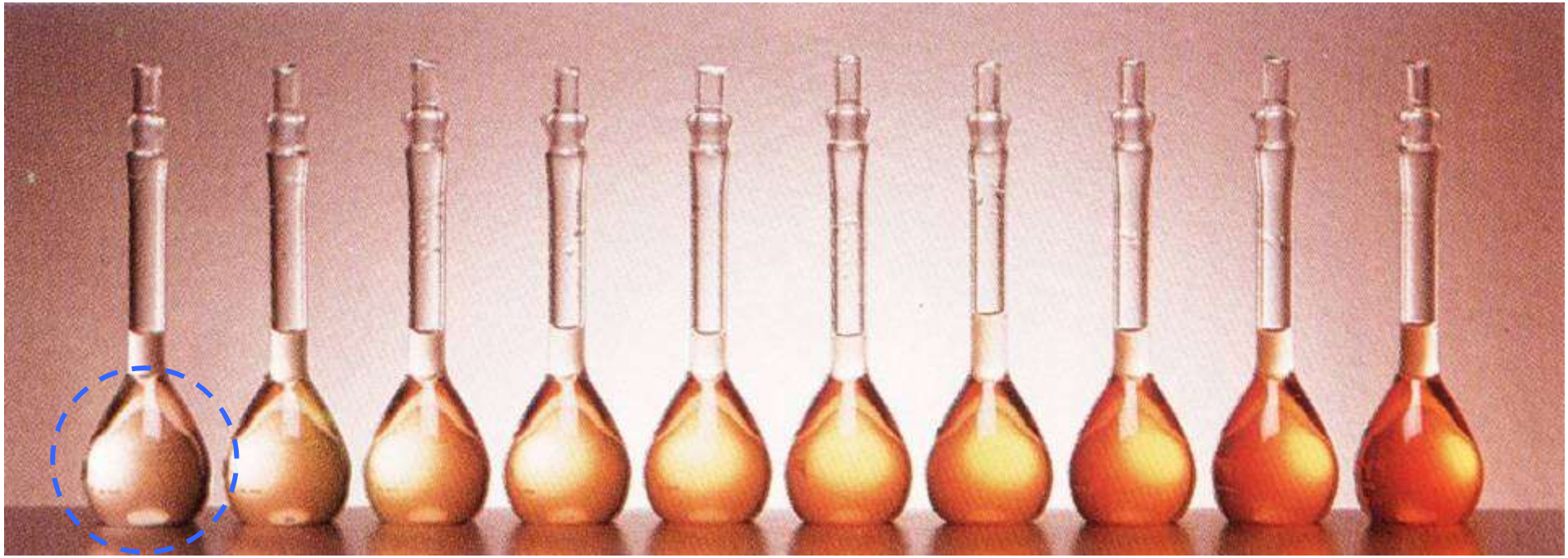


LEI DE LAMBERT-BEER

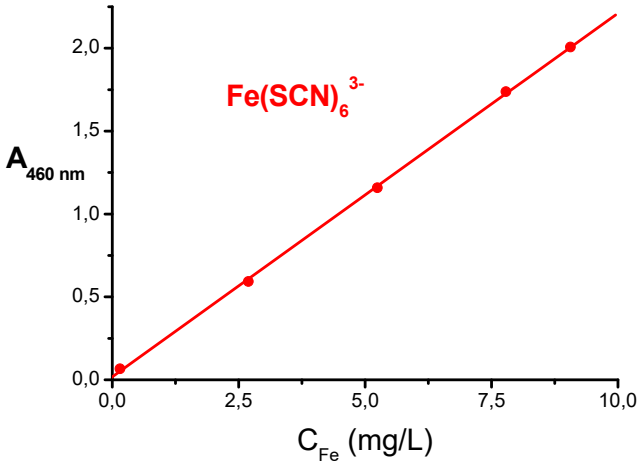




Aumento da concentração

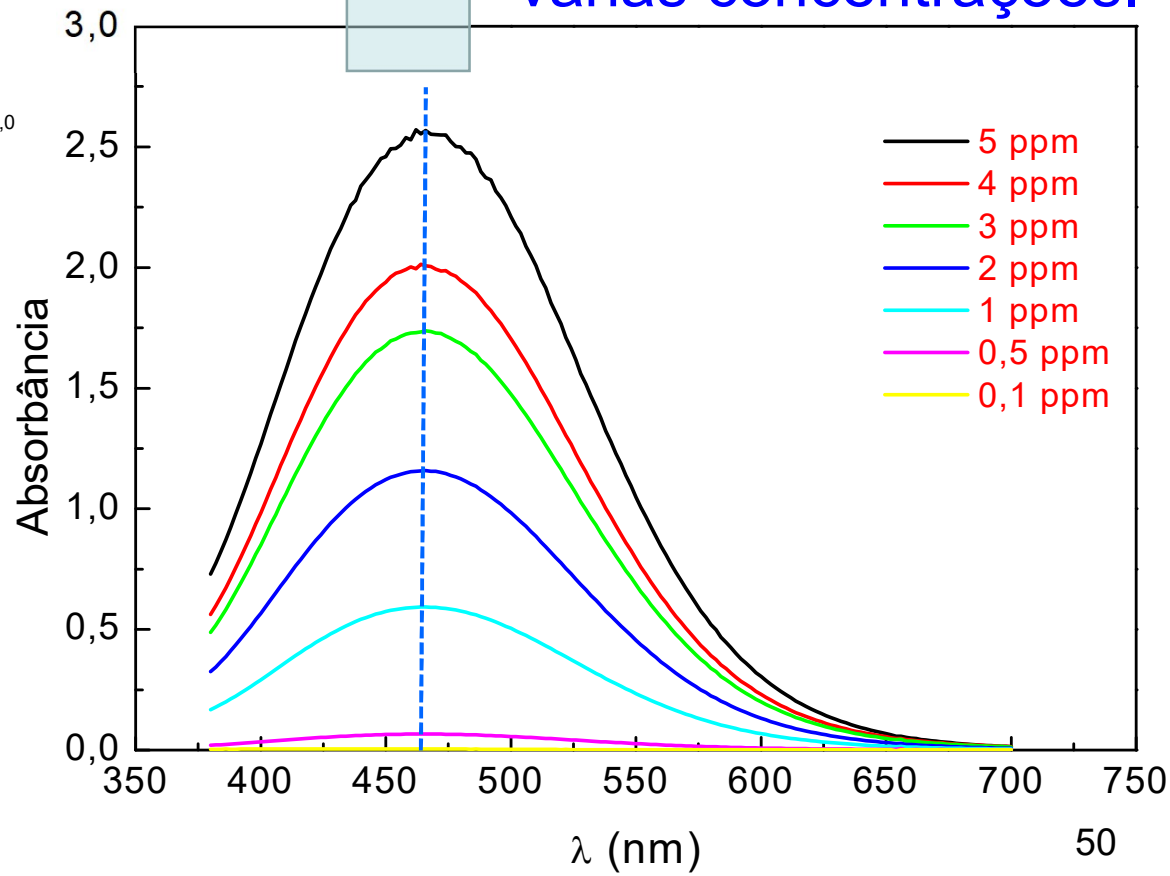


LEI DE LAMBERT-BEER



Com os valores de absorbância no comprimento de onda de máxima absorção (λ_{max}) constrói-se a curva analítica.

Espectros de absorção do complexo $[Fe(SCN)_6]^{3-}$ para várias concentrações.

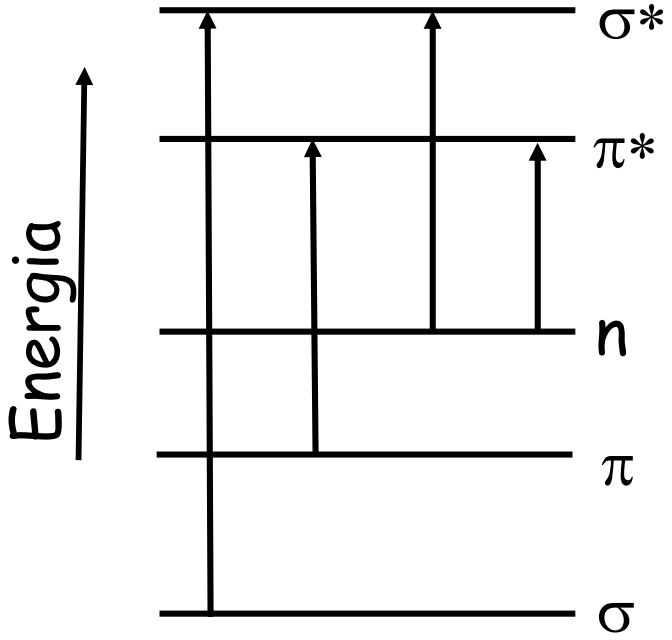


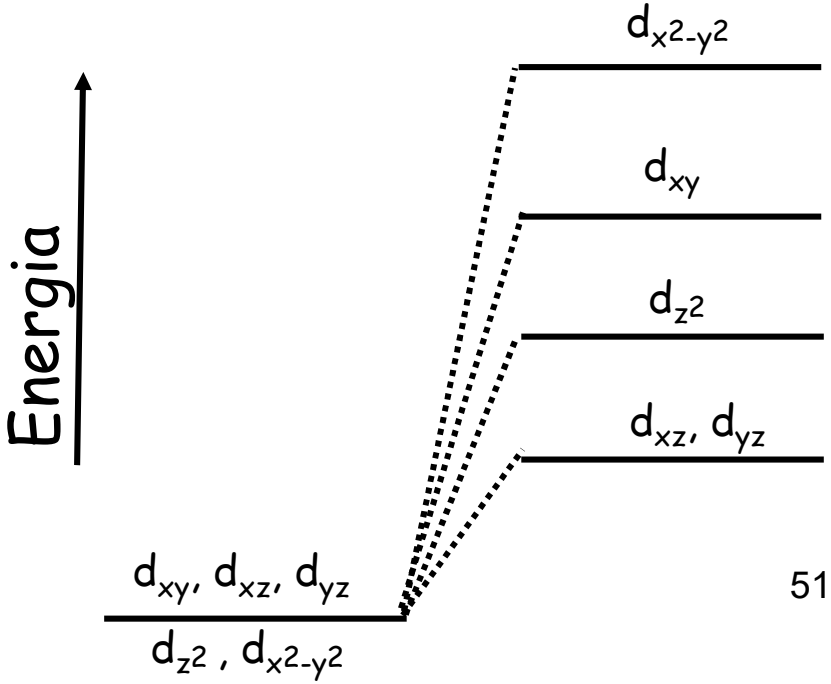
LEI DE LAMBERT-BEER

DETALHAMENTO:

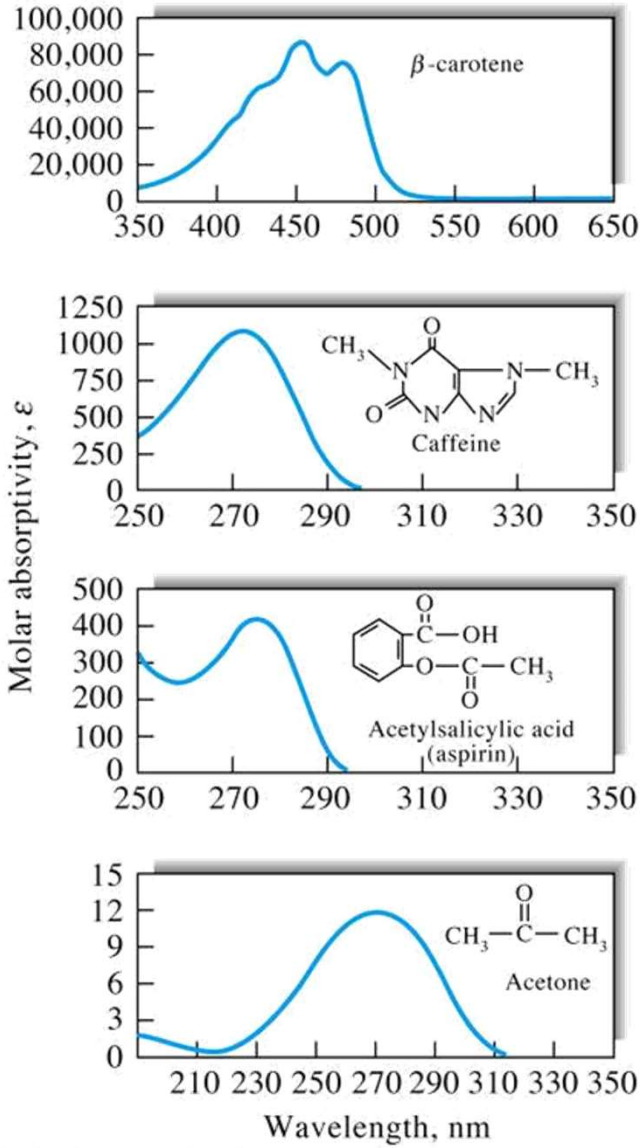
Como mencionado anteriormente, são três tipos de transições eletrônicas, de acordo com a espécie absorvente:

- **1) elétrons π, σ e n (moléculas orgânicas)**
- **2) elétrons d e f (íons de metais de transição)**
- **3) transferência de carga (complexos)**



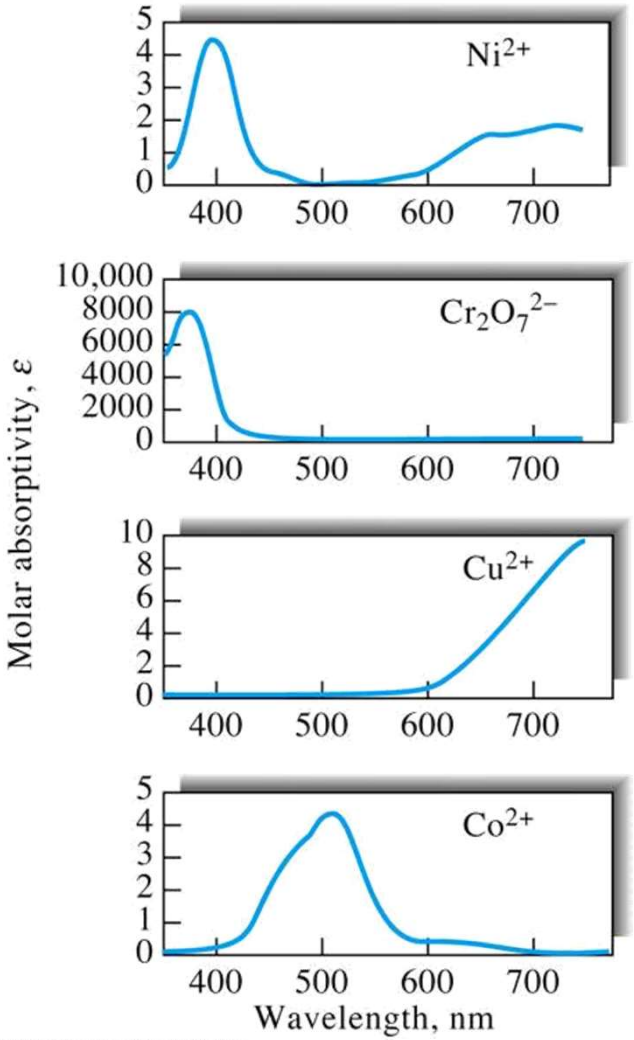


LEI DE LAMBERT-BEER



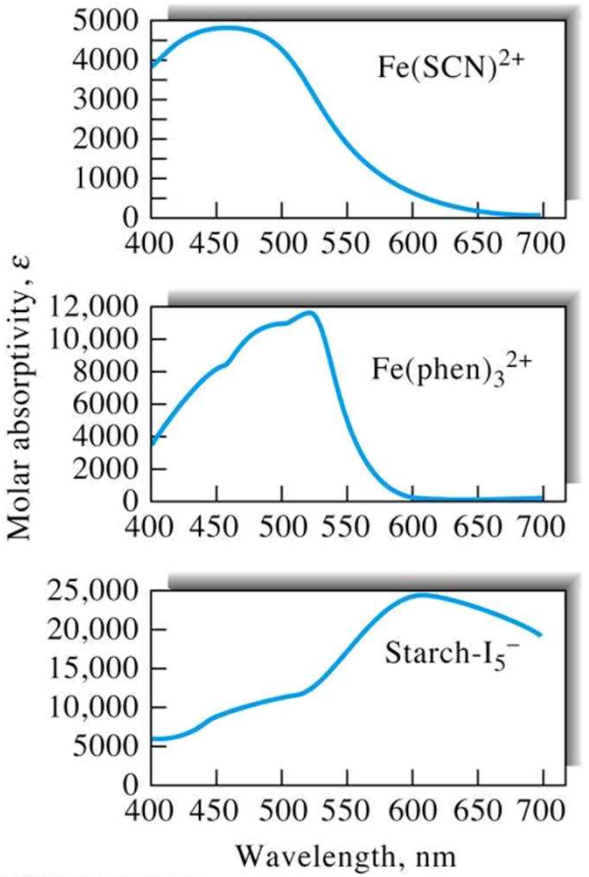
© 2007 Thomson Higher Education

Moléculas



© 2007 Thomson Higher Education

Íons



© 2007 Thomson Higher Education

Complexos

LEI DE LAMBERT-BEER

Os métodos espectrofotométricos apresentam características importantes:

- 1) Ampla aplicação para sistemas orgânicos e inorgânicos;
- 2) Limites de detecção típicos de 10^{-4} a 10^{-5} mol/L (podem ser melhorados para 10^{-6} a 10^{-7} mol/L);
- 3) Seletividade de moderada a alta;
- 4) Boa exatidão (tipicamente as incertezas são da ordem de 1 a 3%, podendo ser melhoradas a décimos percentuais com alguns cuidados especiais);
- 5) Facilidade e conveniência na aquisição de dados.
- 6)Baixo custo.

LEI DE LAMBERT-BEER

Análise quantitativa:

A primeira etapa da análise envolve o estabelecimento das condições de trabalho.

- **Determinação do(s) máximo(s) de absorção**
  - **No máximo de absorção, além da máxima sensibilidade por unidade de concentração, os efeitos de desvios da lei de Beer são menores.**
  - Adicionalmente, **o ajuste do comprimento de onda é mais reprodutível**, não implicando em variações significativas de ε *e*, por consequência, da absorbância.

- **Curva analítica, em casos mais simples ou**
- **Adição de padrão, quando a matriz interfere.**