

ANÁLISE INSTRUMENTAL

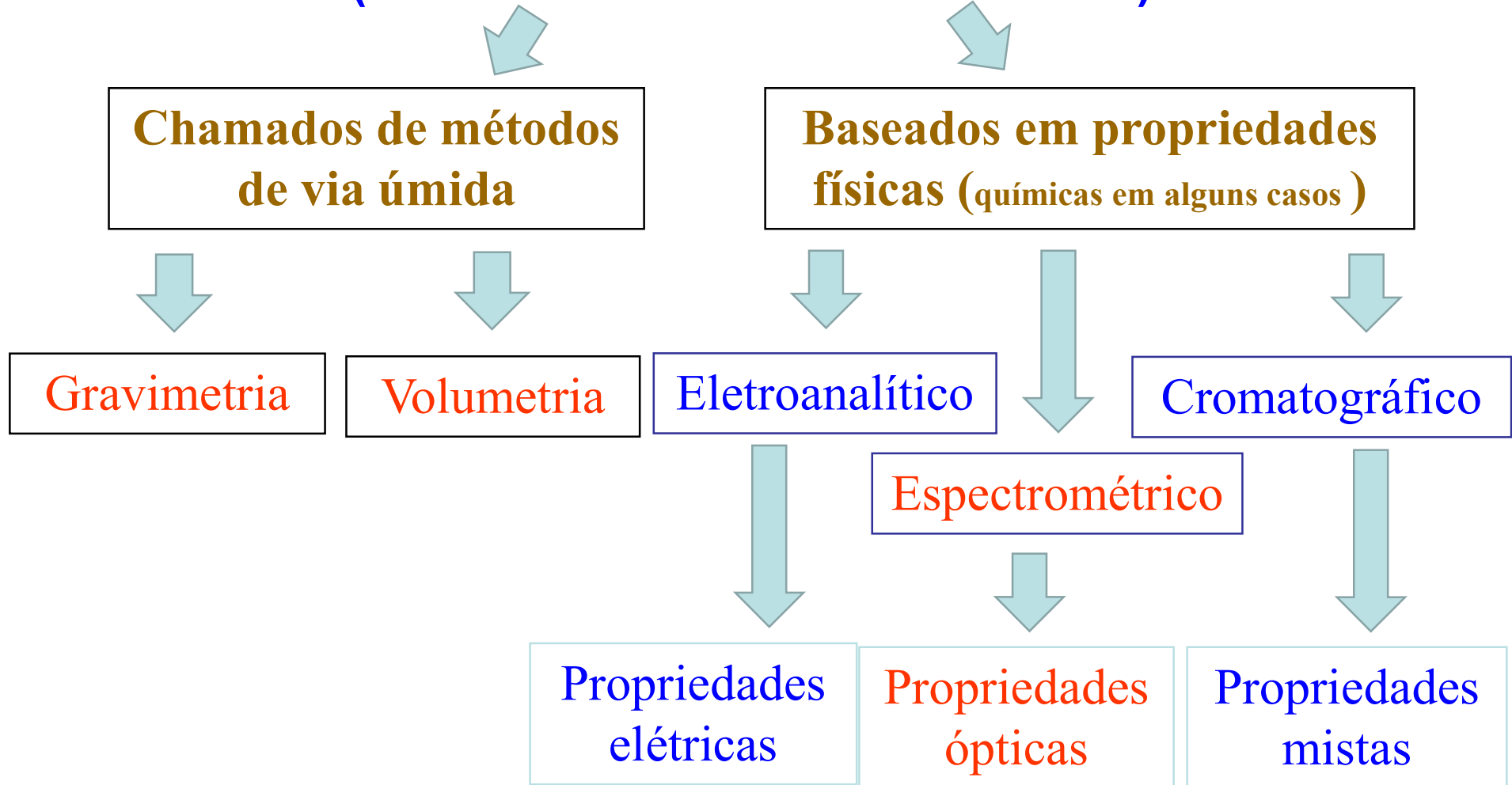
MÉTODOS ESPECTROANALÍTICOS (UV-Vis)

- **DOCENTE**
- **Prof. Dr. Antônio Aarão Serra**

MÉTODOS ESPECTROANALÍTICOS (UV-Vis)

- **PLANO DE AULA**
- **CLASSIFICAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS**
- **RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA**
- **MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS**
- **EQUIPAMENTOS**
- **COLORIMETRIA**
- **APLICAÇÃO E RECORDAÇÃO**
- **LEI DE LAMBERT-BEER**
- **EXERCÍCIOS**

CLASSIFICAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS (CLÁSSICOS E INSTRUMENTAIS)



RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

PROPRIEDADES DAS ONDAS
(COMO COMPORTAM OS ELÉTRONS E FÓTONS)

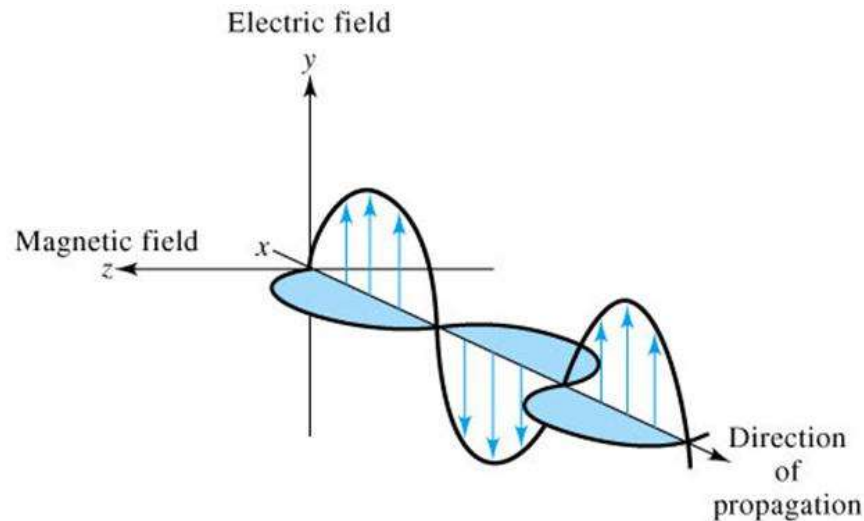
MECÂNICA QUÂNTICA

RADIAÇÃO
ELETROMAGNÉTICA

ONDA

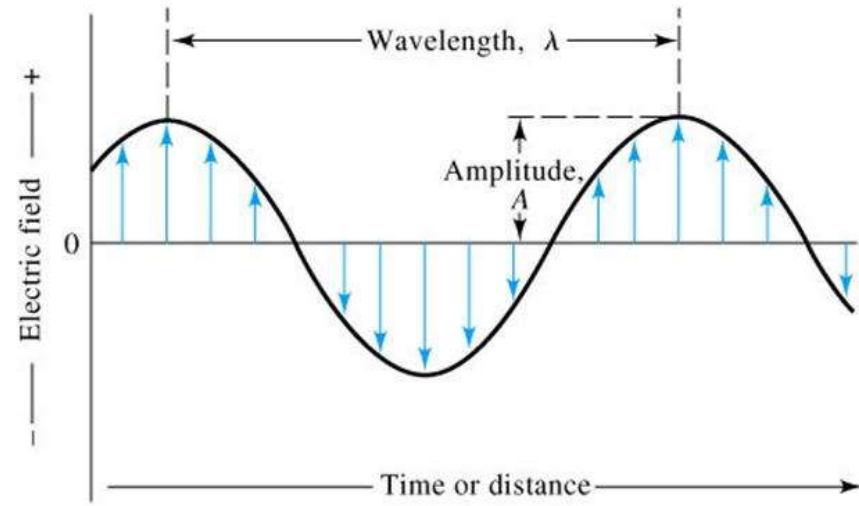
PARTÍCULA

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA



(a)

© 2007 Thomson Higher Education



(b)

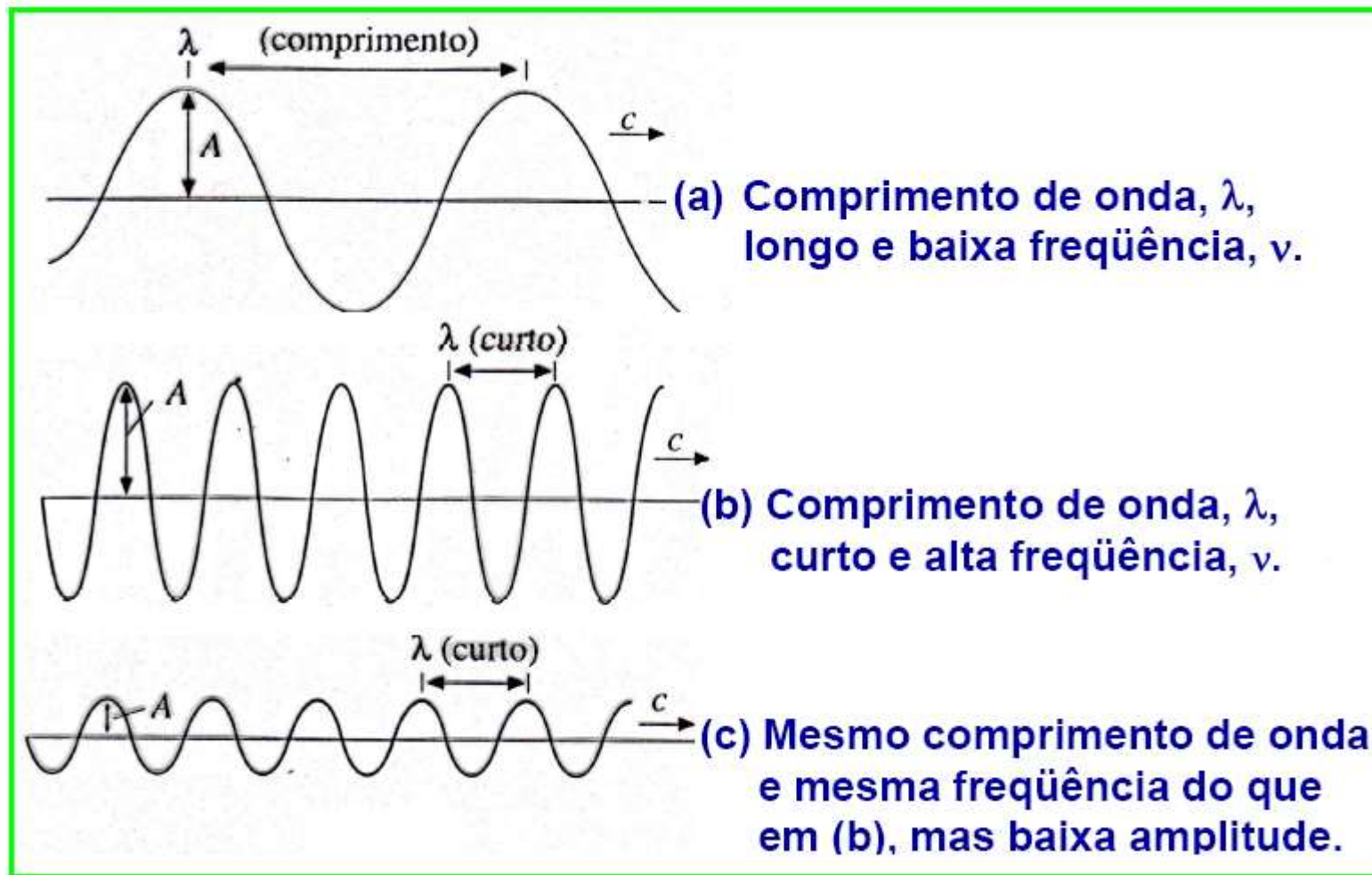
- Radiação eletromagnética suas propriedades pode ser descrita **tanto de onda quando de partícula.**

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **Características de uma Onda**
- ***Frequência* (ν)(Ni):** corresponde ao número de ciclos de onda.
- ***Comprimento de onda* (λ)(Lambida):** é a distância entre cristas sucessivas (ou vales sucessivos).
- ***Amplitude* (A):** corresponde a altura de uma crista (ou a profundidade de um vale).
- .

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- Ondas Eletromagnéticas



RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

Relações entre:

Energia(E), Frequência(ν) e Comprimento de Onda(λ)

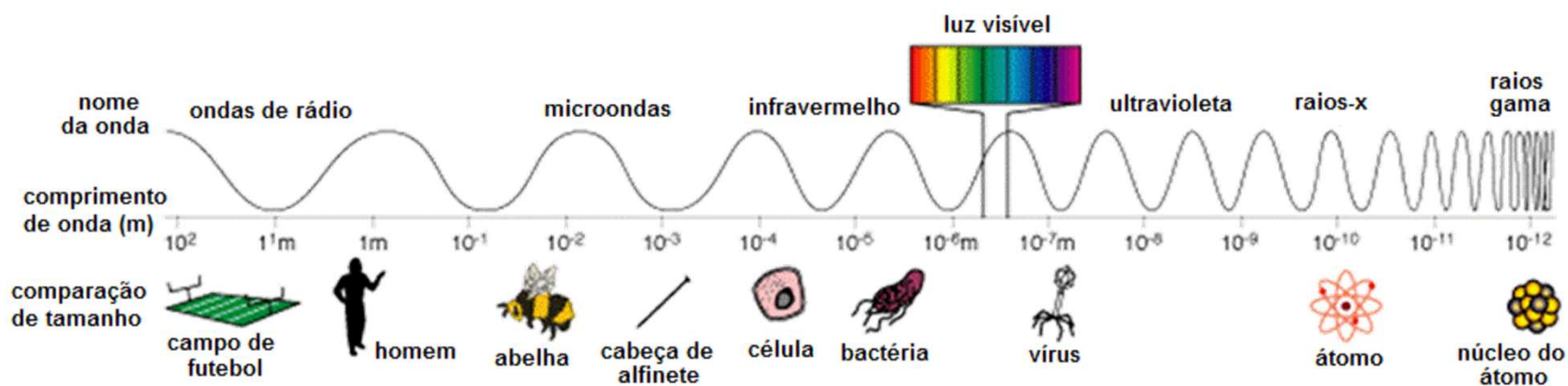
- $E = h.\nu$
- $h = 6,626 \times 10^{-34}$ J.s (constante de Planck)
- $h.\nu = c$
- $c = 2,998 \times 10^8$ m/s (veloc. da luz no vácuo)
- $E = h.c/\lambda$

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **A luz é composta por :**
- Raios X, radiação ultravioleta (UV), radiação visível (Vis), infravermelho (IR), microondas (MO) e ondas de rádio (r).
- Propaga-se como uma onda.

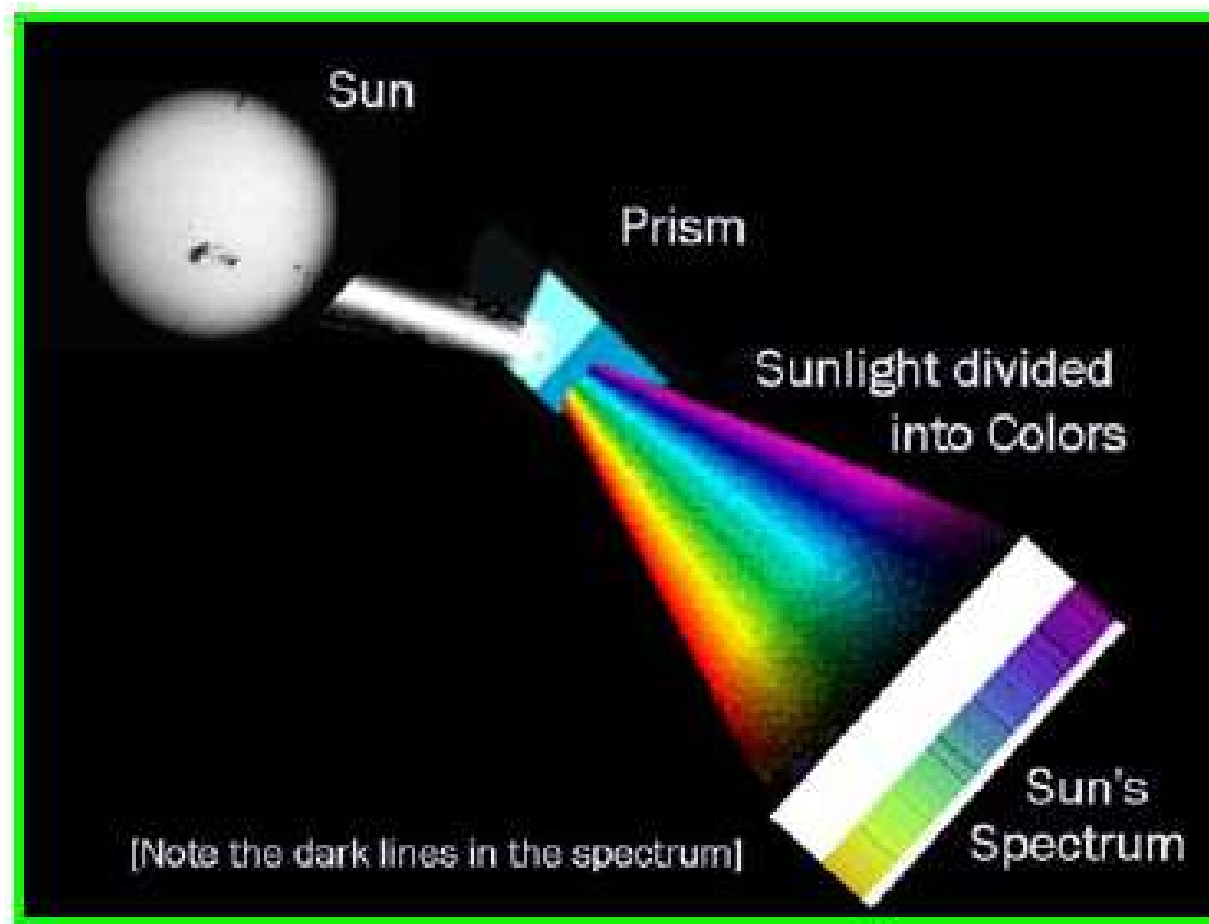
RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

COMPRIMENTO DE ONDA E ENERGIA



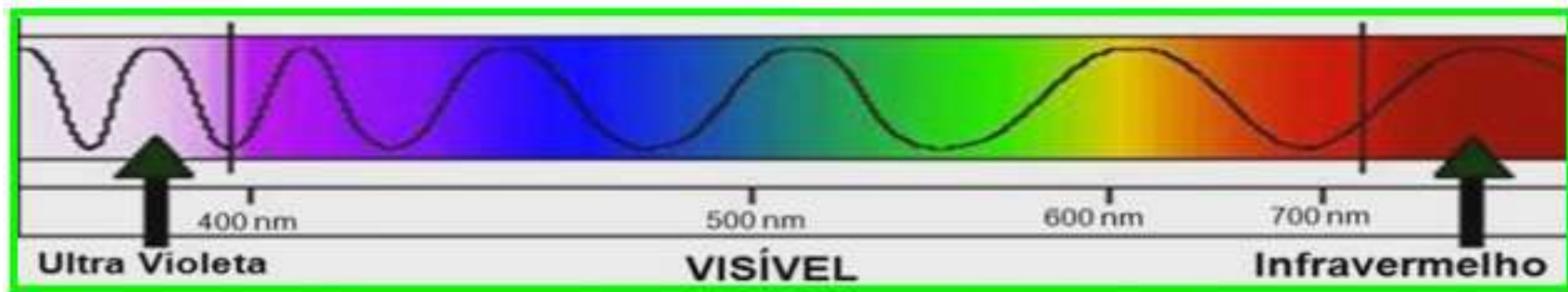
RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **Dispersão da luz**



RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

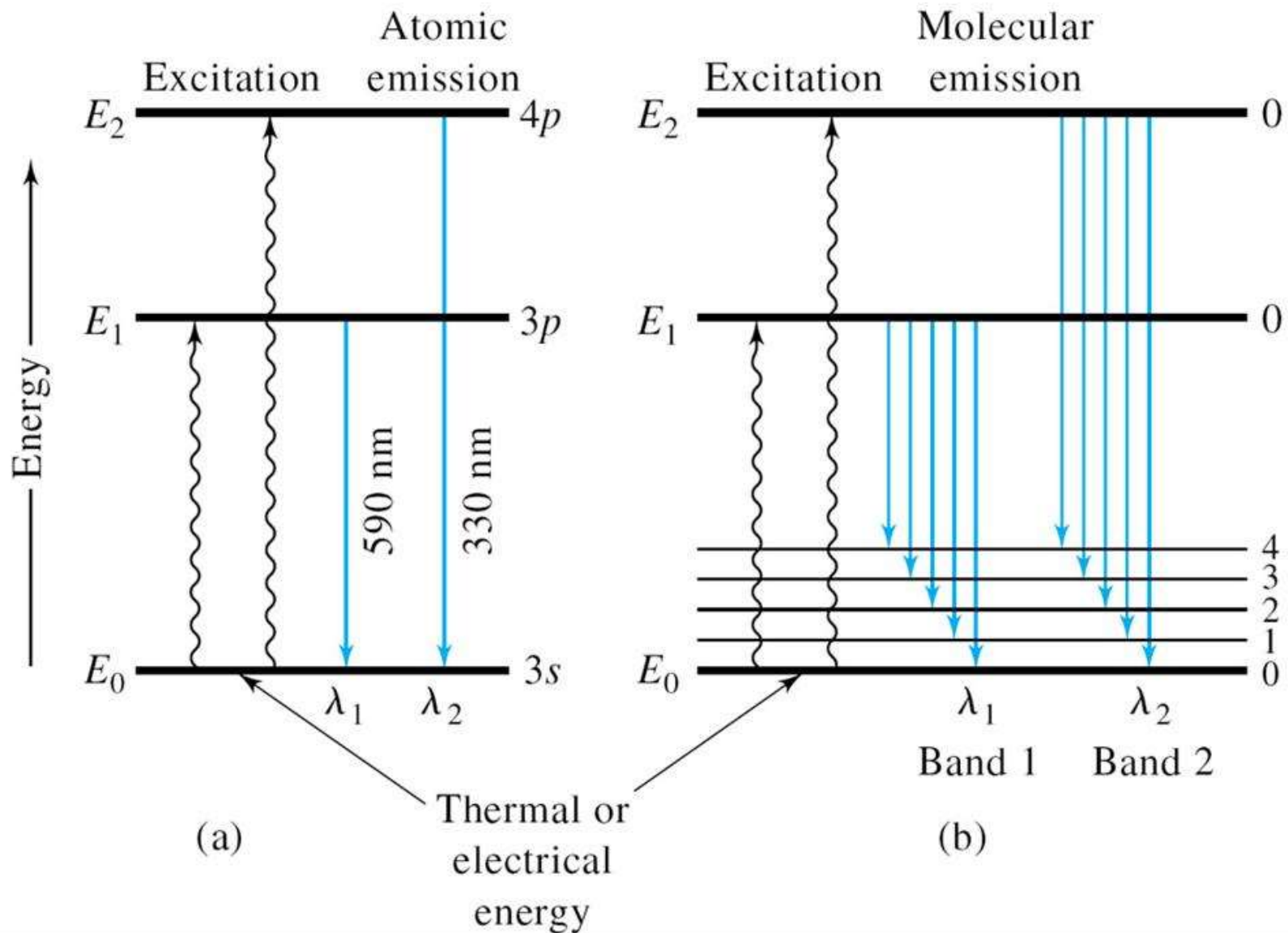
REGIÃO ESPECTRAL DE INTERESSE



- **Permite caracterizar bandas nas regiões ($\lambda = 185-780\text{nm}$).**

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **Excitação Eletrônica: Átomos e Moléculas**



RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **Princípios:**
- **Absorção da radiação nas regiões UV-Vis do espectro eletromagnético, por moléculas e íons no estado fundamental.**
- **Espécies absorvedoras tem elétrons promovidos à níveis de energia mais elevados mediante absorção de energia quantizada.**

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **Termos Utilizados:**
 - **Estado fundamental**
 - **Estado excitado**
 - **Espectro Eletrônico de Absorção
(Espectrograma ou espectro)**

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- Para moléculas poliatômicas a energia total (E_{total}) é constituída de três componentes:

$$E_{\text{total}} = E_{\text{eletrônica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}}$$

$$\Delta E_{\text{eletrônica}} > \Delta E_{\text{vibracional}} > \Delta E_{\text{rotacional}}$$

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- (Interação da Matéria / Radiação): **refração, espalhamento, absorção, fluorescência (ou fosforescência) e reações químicas (ex. quebra de ligações).**

a2

- Na espectroscopia das moléculas existem três tipos de energias: **rotacional, vibracional e eletrônica.**

$$E_{\text{total}} = E_{\text{rotação}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{eletrônica}}$$

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- Como a energia é quantizada esperava-se que os espectros de transição eletrônica deveria ser **linhas discretas**.
- Essa previsão **não se confirma**, uma vez que absorções extremas se sobrepõe a sub-níveis rotacionais e vibracionais assim o espectro de UV-Vis tem aspecto de **banda larga**.

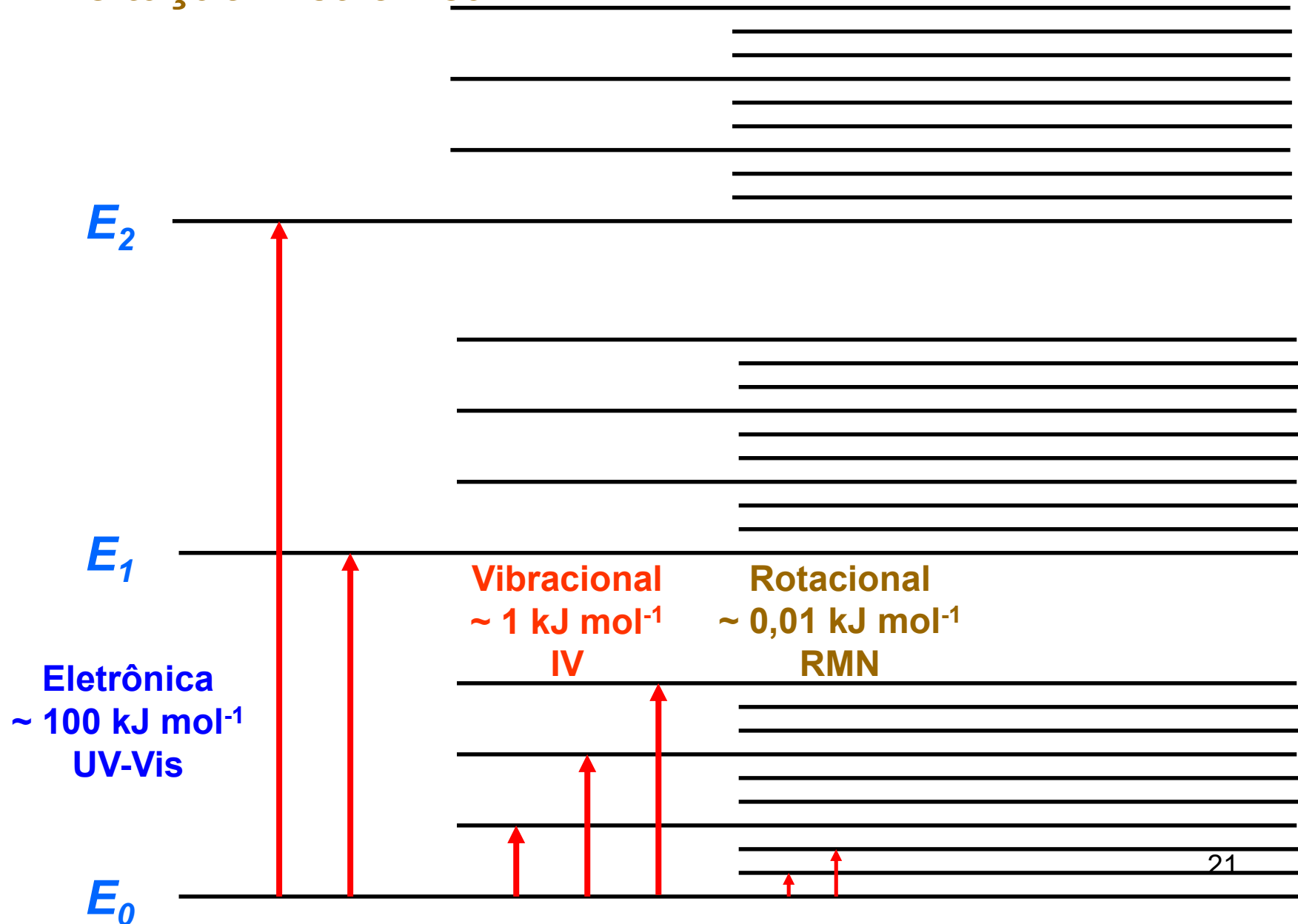
RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA (USOS)

Frequência	λ (m)	Energia	Nome	Uso
10^{20} a 10^{21}	10^{-12}	Nuclear	Raios- γ	Medicina
10^{17} a 10^{19}	10^{-10}	Eletrônica	Raios-X	Diagnóstico por imagens
10^{15} a 10^{16}	10^{-7}	Eletrônica	Ultra-Violeta	Higienização
10^{13} a 10^{14}	10^{-6}	Eletrônica	Visível	Iluminação
10^{12} a 10^{13}	10^{-4}	Vibracional	Infravermelho	Aquecimento
10^9 a 10^{11}	10^{-2}	Rotacional	Microondas	Cozimento
10^5 a 10^8	10^2	Eletrônica	Rádio Frequência	Comunicação

	comprimento de onda usual	número de onda usual, cm^{-1}	quântica
Emissão de raios gama	0,005 – 1,4 Å	–	Nuclear
Absorção, emissão, fluorescência e difração de raios-x	0,1 – 100 Å	–	Elétrons internos
Absorção de ultravioleta de vácuo	10 – 180 nm	1×10^6 a 5×10^4	Elétrons ligados
Absorção, emissão e fluorescência no UV/Visível	180 – 780 nm	5×10^4 a $1,3 \times 10^4$	Elétrons ligados
Absorção no IV e espalhamento Raman	0,78 – 300 μm	$1,3 \times 10^4$ a 33	Rotação/vibração de moléculas
Absorção de microondas	0,75 – 375 mm	13 a 0,03	Rotação de moléculas
Ressonância de spin eletrônico	3 cm	0,33	Spin de elétrons em um campo magnético
Ressonância Magnética Nuclear	0,6 – 10 m	$1,7 \times 10^{-2}$ a 1×10^{-3}	Spin de núcleos em um campo magnético

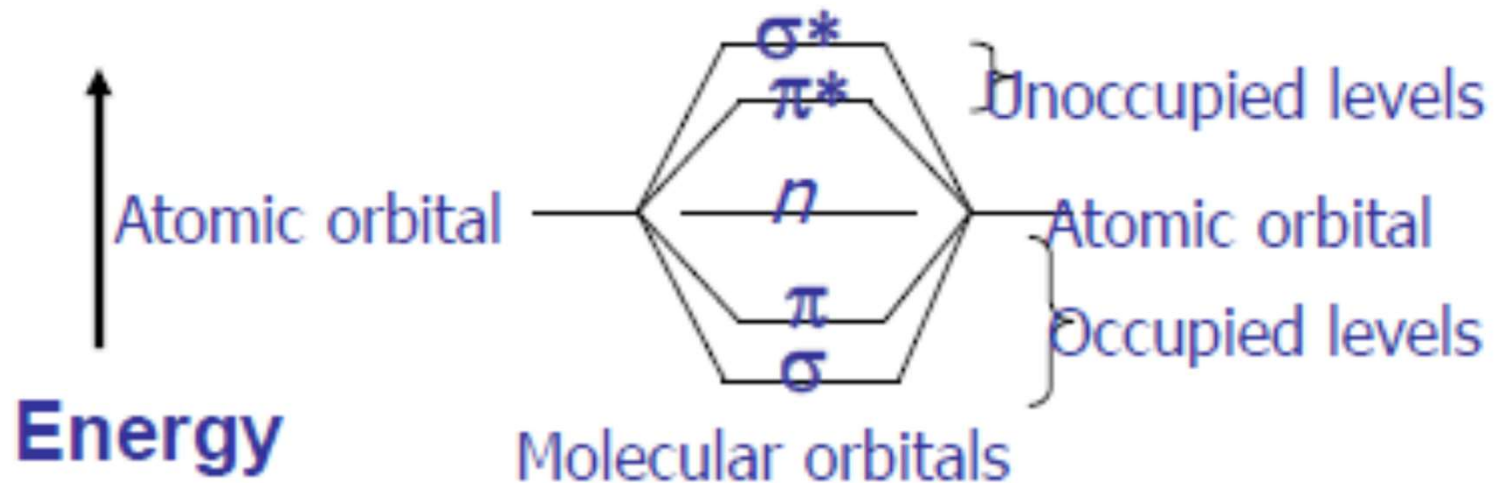
RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- **Excitação Eletrônica:**



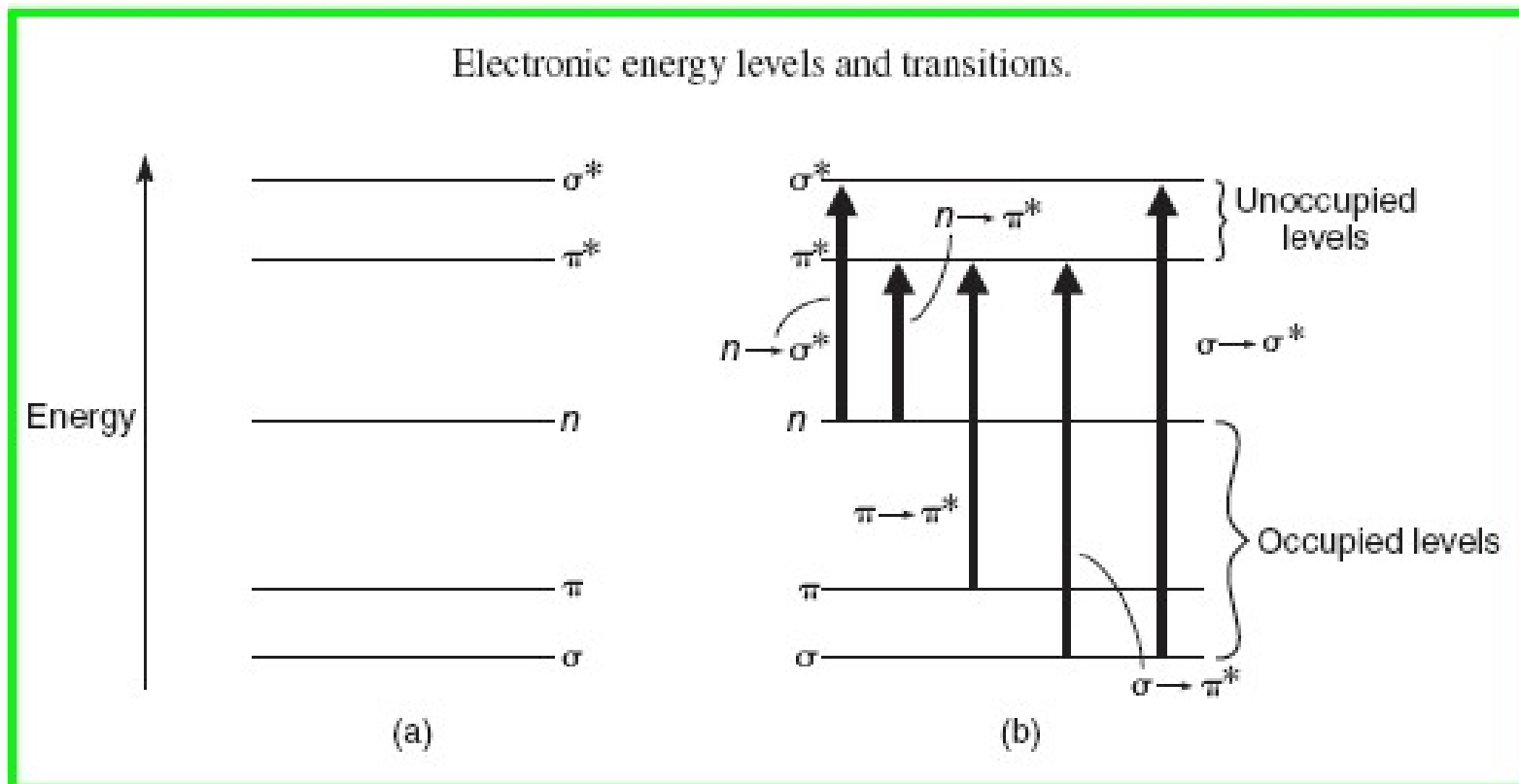
RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- Transições Eletrônicas de Moléculas



RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

- NATUREZA DA EXCITAÇÃO ELETÔNICA



RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

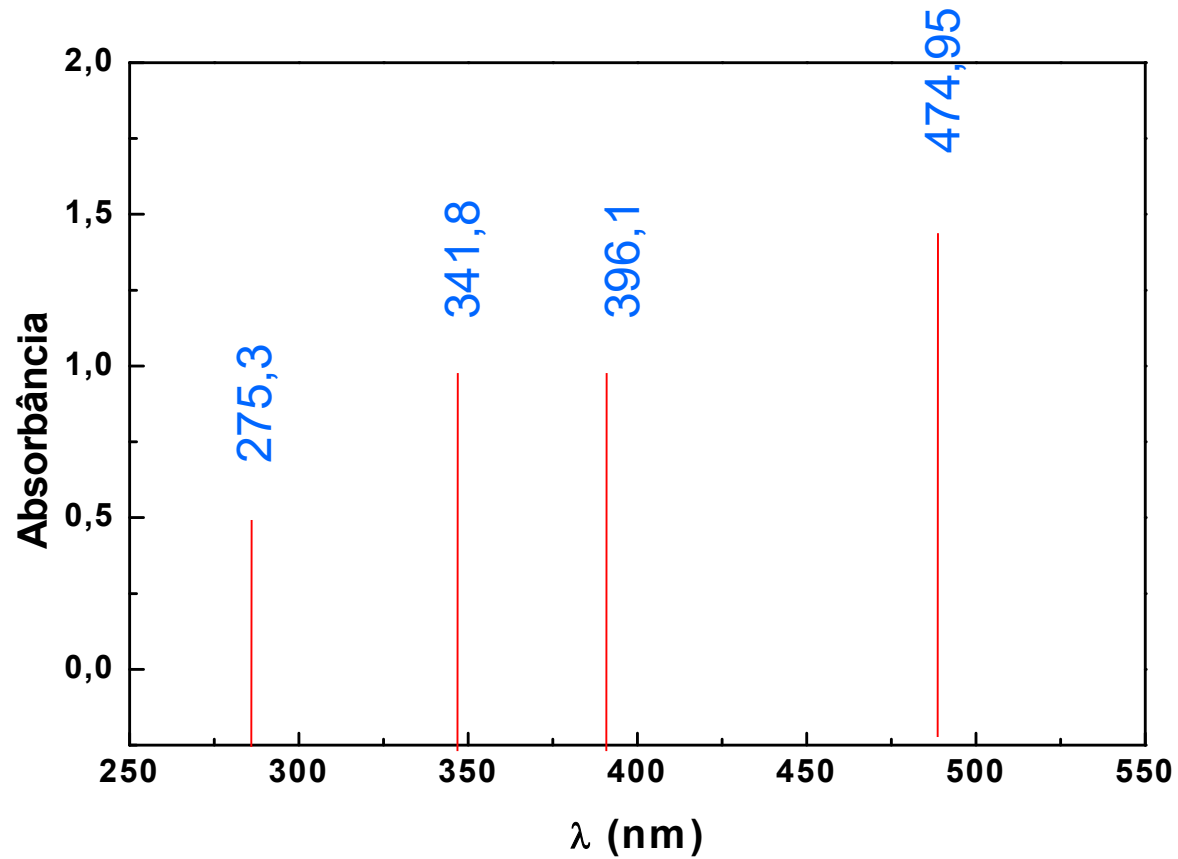
PRINCIPAIS TRANSIÇÕES EM COMPOSTOS ORGÂNICOS

TRANSIÇÕES ELETRÔNICAS		
↑ Increasing energy	$\sigma \longrightarrow \sigma^*$	In alkanes
	$\sigma \longrightarrow \pi^*$	In carbonyl compounds
	$\pi \longrightarrow \pi^*$	In alkenes, carbonyl compounds, alkynes, azo compounds, and so on
	$n \longrightarrow \sigma^*$	In oxygen, nitrogen, sulfur, and halogen compounds
	$n \longrightarrow \pi^*$	In carbonyl compounds

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

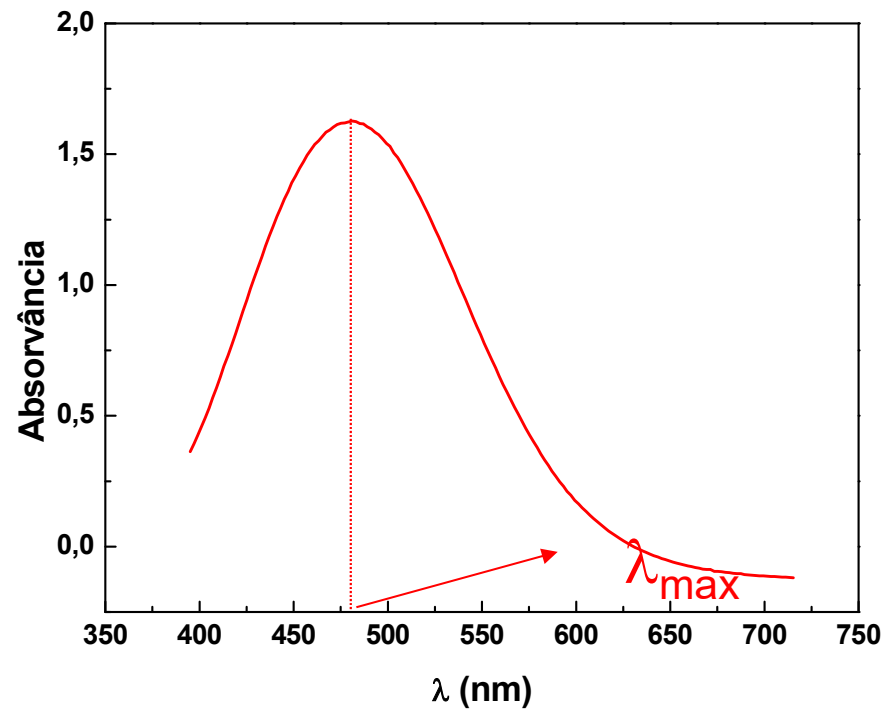
- **Métodos Espectrocópicos:**
 - UV-Vis
 - FT-IR
 - Espectrometria de Absorção
 - Espectrometria de Emissão
 - Fotometria
 - Entre Outros

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA



ESPECTRO DE ABSORÇÃO ATÔMICA

RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA



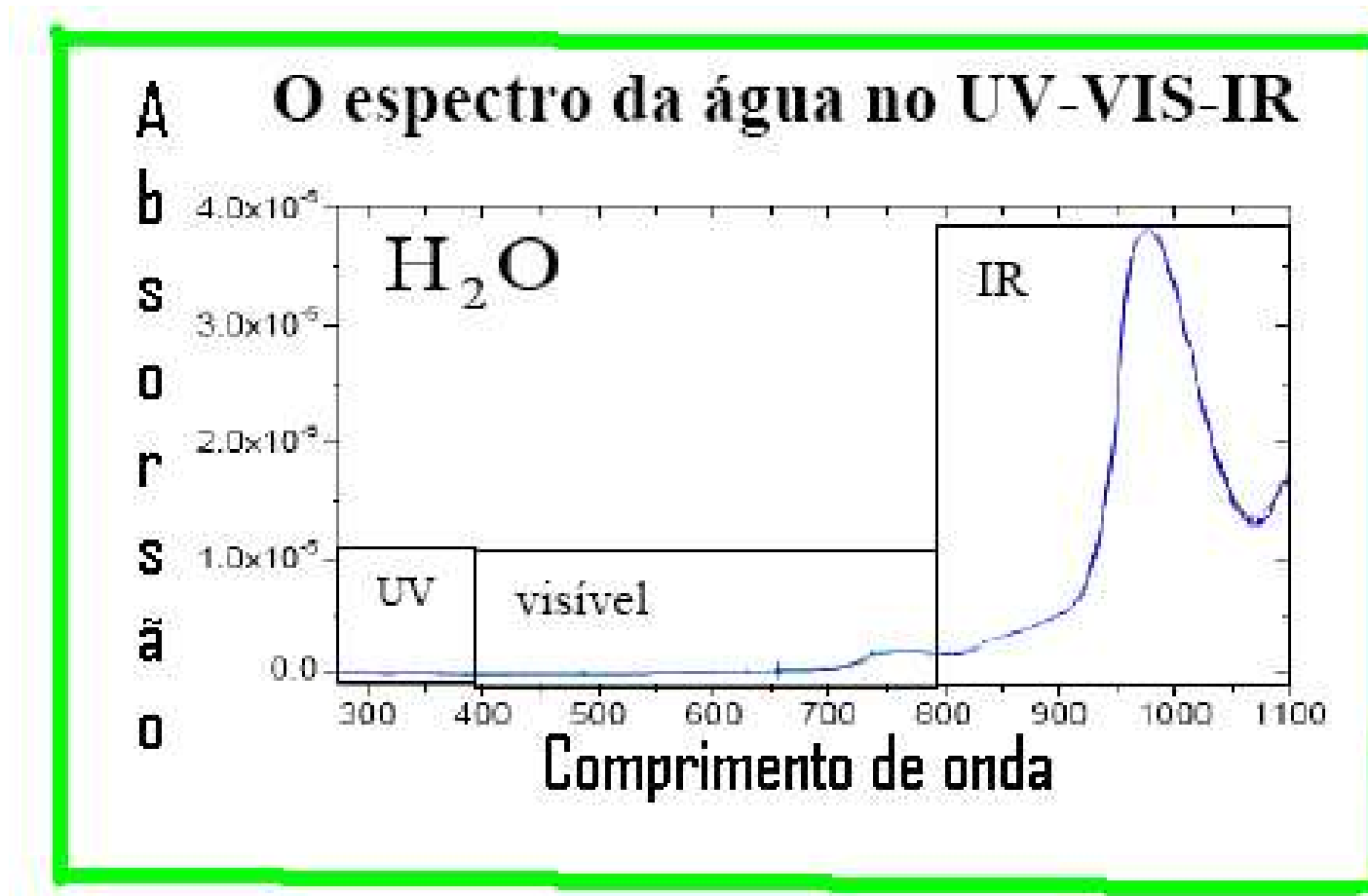
ESPECTRO DE ABSORÇÃO MOLECULAR.

MÉTODO ESPECTROMÉTRICOS

- Interações (radiação com a matéria) a **nível atômico** ou em **nível molecular** surgem **4 classes**:
 - **Emissão** (emissão atômica)
 - **Luminescência** (fluorescência atômica e molecular, fosforescência)
 - **Espalhamento** (Raman, turbidimetria e nefelometria)
 - **Absorção** (absorção atômica e molecular)

MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

- Espectro da água no UV-Vis-IR.



MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

TERMOS IMPORTANTE

- **Radiação Ultravioleta (< 400nm)**
- **Radiação Infravermelha (> 800nm)**
- **Radiação Visível (400nm a 600nm)**

MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

TERMOS IMPORTANTES

- *Espectroscopia*
- *Espectroscopia UV-Visível*
- *Concentração do analito*

MÉTODOS ESPECTROMÉTRICOS

TERMOS IMPORTANTES:

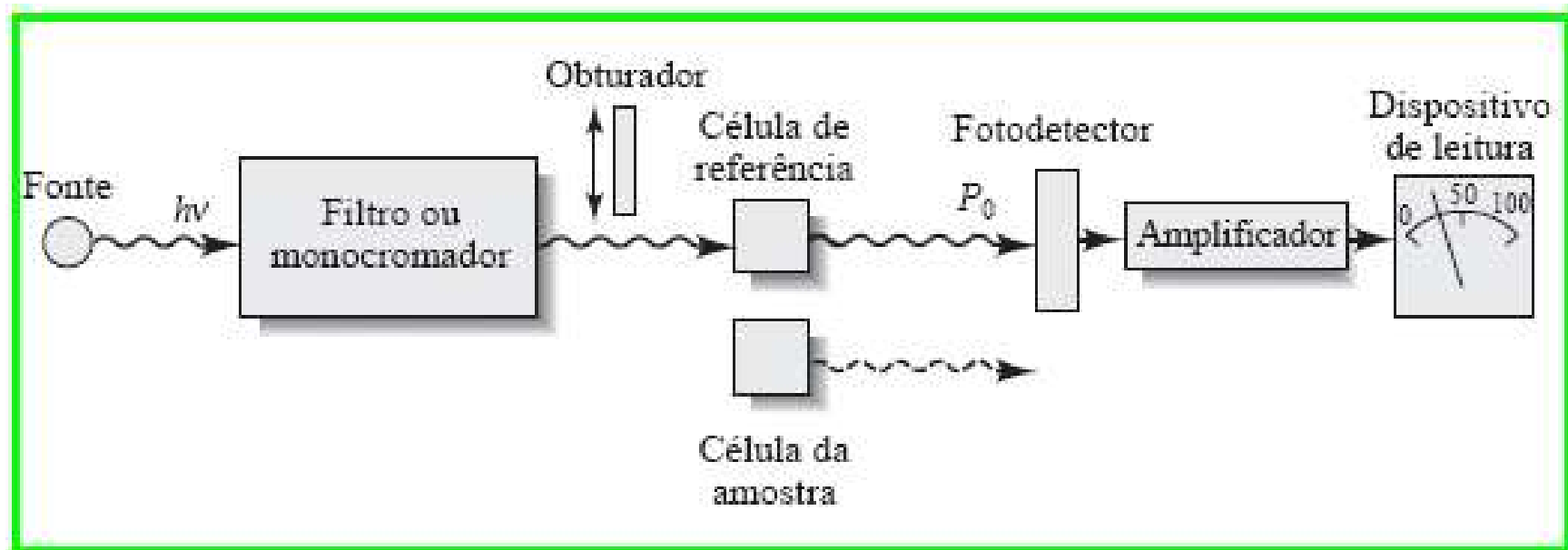
- Métodos espectrométricos e Espectrometria
- Espectroscopia

EQUIPAMENTOS

- ***Tipos de espectrofotômetros para região visível e ultravioleta***
- Os espectrofotômetros variam em sua complexidade e desempenho.
 - Modelos simples
 - Modelo sofisticados
- **Podem ser de dois tipos:**
 - Espectrofotômetros mono-feixe
 - Espectrofotômetros duplo-feixe

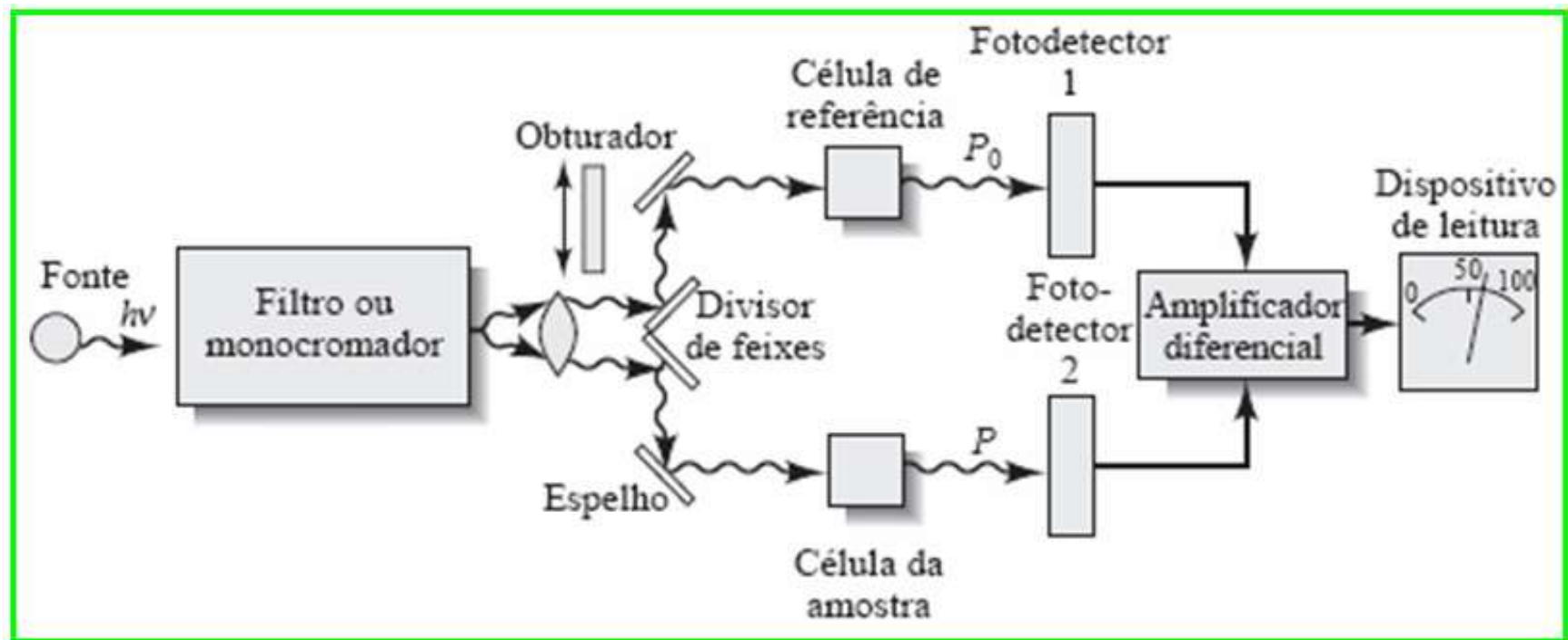
EQUIPAMENTOS

- **Figura:** Esquema de um **espectrômetro de feixe único**. A radiação vinda de um filtro ou monocromador passa por uma célula de referência ou célula da amostra.



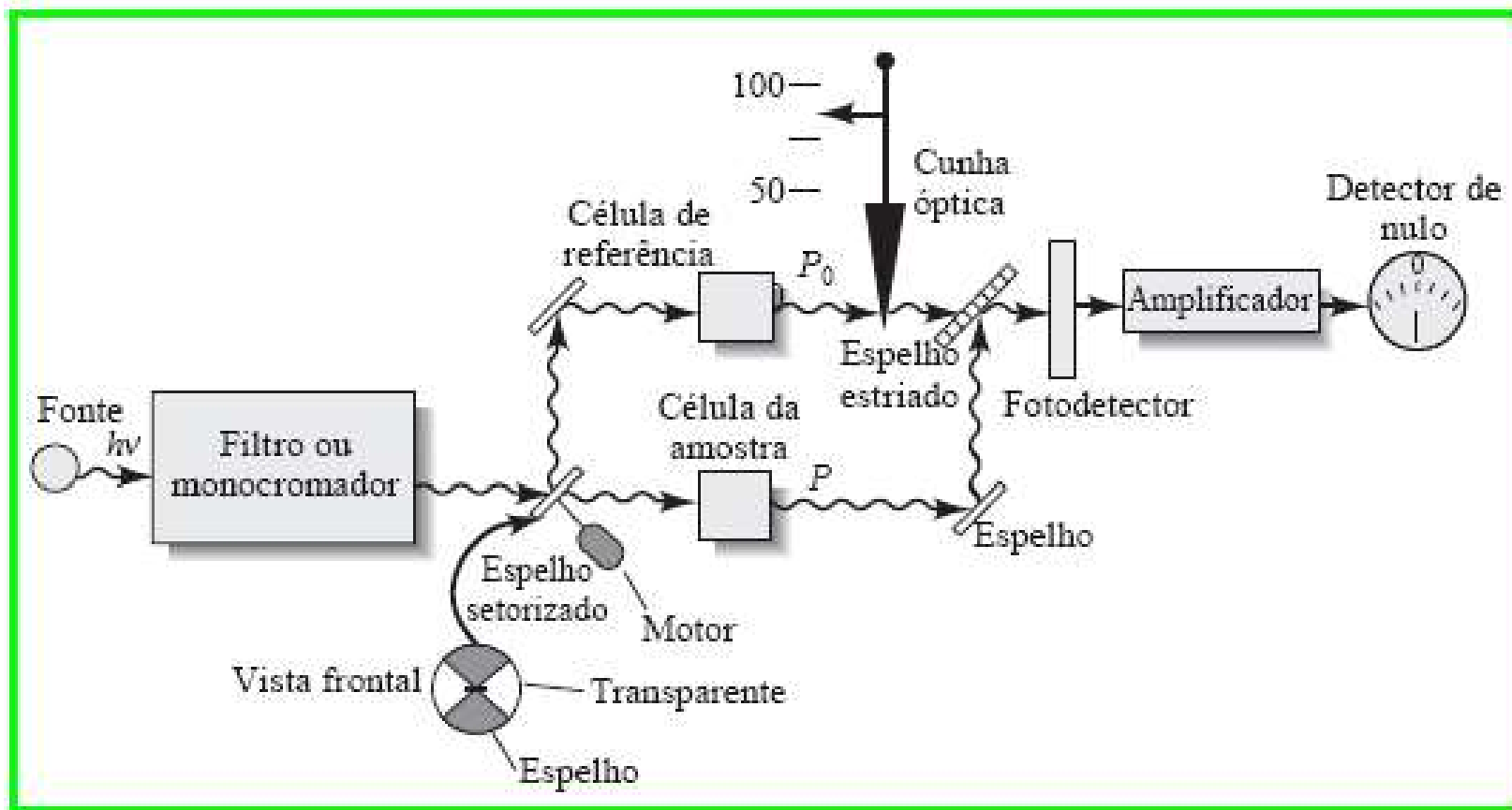
EQUIPAMENTOS

- **Figura:** Esquema de espectrômetro de feixe duplo espacial. Nesse caso, a radiação vinda do filtro ou monocromador é dividida em dois feixes que passam, simultaneamente, pela célula de referência e da amostra antes de atingir **dois detectores casados**.



EQUIPAMENTOS

- **Figura:** No espectrofotômetro de feixe duplo temporal, o feixe é alternadamente enviado através das células de referência e da amostra antes de atingir um **único fotodetector**. (necessário fazer correção)



EQUIPAMENTOS

- ***Espectrofotômetros***
- **São instrumentos capazes de registrar dados de absorvância ou transmitância em função do comprimento de onda (**Espectros**).**
- **A característica mais importante dos espectrofotômetros é a seleção de radiações monocromáticas, o que possibilita inúmeras determinações quantitativas regidas pela **Lei de Beer**.**

EQUIPAMENTOS

- **As Cinco (5) principais partes de um espectrofotômetro:**
- **1) Fontes de radiação,**
- **2) Parte Ótica (Monocromador, etc.)**
- **3) Recipientes para conter as soluções (célula),**
- **4) Detectores (Transdutores, etc.)**
- **5) Indicadores de sinal.**

EQUIPAMENTOS

- FOTÔMETRO:

FORTE DE RADIÇÃO	PARTE ÓPTICA	COMPARTIMENTO DE AMOSTRA	DETECTORES	INDICADO DE SINAL
Lâmpadas (ex.: Tungstênio)	Filtros Monocromadores (entre outros)	Cubeta Célula	Fotomultiplicadoras Fotodiodo (Luz/Elétrico)	Computador Elétrico/Gráfico

EQUIPAMENTOS

- ***1. FONTES DE RADIAÇÃO***
- **As fontes de radiação mais comuns baseiam-se na incandescência e são muito práticas no infravermelho e no visível, mas devem atuar em temperaturas elevadas na faixa do ultravioleta.**

EQUIPAMENTOS

- ***Escolha de uma Fontes de Radiação***
- - Precisa gerar **radiação contínua**, ou seja, emitir todos os comprimentos de onda, dentro da região espectral utilizada;
- - Precisa ter **intensidade de potência radiante suficiente** para permitir a sua detecção pelo sistema detector da máquina;
- - Precisa ser **estável**, isto é, a potência radiante deve ser constante;
- - Além disso, deve ter **vida longa e baixo custo**.

EQUIPAMENTOS

- ***Tipos de fontes de radiação***
- **Lâmpada de filamento de tungstênio (320 a 2500nm). (Invólucro de vidro) (< 320nm)**
- **Lâmpada de quartzo-iodo (200 a 3000nm). (Invólucro de quartzo)**

EQUIPAMENTOS

- *Tipos de fontes de radiação*
- *Lâmpada de descarga de hidrogênio ou de deutério (180 a 370nm) (Invólucro de quartzo) é a mais usada para emissão de radiação ultravioleta.*
- *Lâmpada de catodo oco (160- 380nm) (Invólucro de quartzo) é preenchida com gás nobre.*
- *Laser:* pelo processo de emissão estimulada, os lasers produzem uma enxurrada de feixes muito estreitos e intensos de radiação.

EQUIPAMENTOS

- **Fonte de luz**

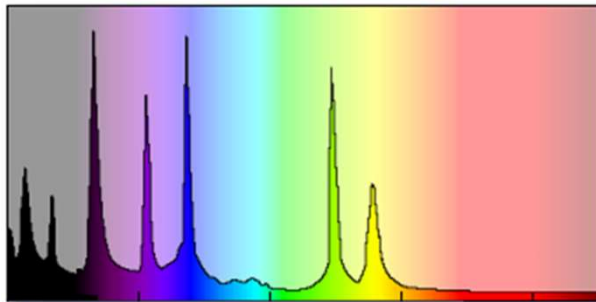
- Região UV: 160 a 380 nm

- Lâmpada de deutério, xenônio ou vapor de mercúrio

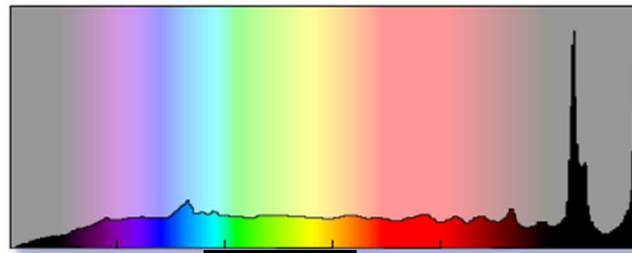
Lâmpada de Vapor de Hg

Lâmpada de arco de Xenônio

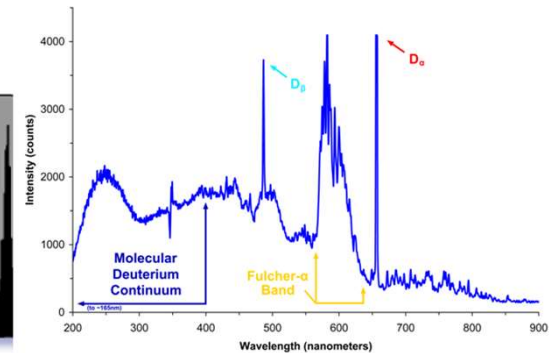
Lâmpada de D₂



Mercury Lamp Emission Spectrum (relative intensity)



Xenon Arc spectrum (relative intensity)



O espectro contínuo resulta da recombinação de elétrons com átomos de Xe ionizados. A ionização do Xe dá-se por colisão entre os átomos e os elétrons que fluem no arco elétrico.

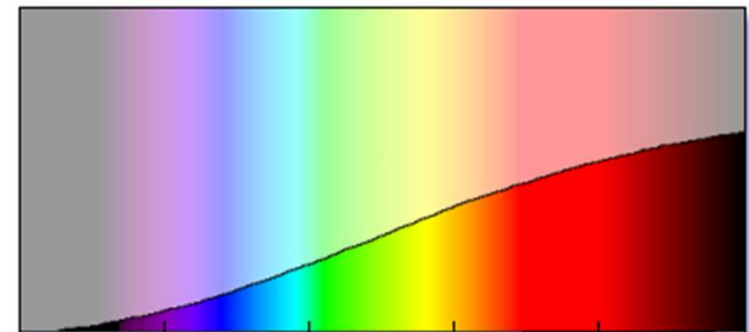
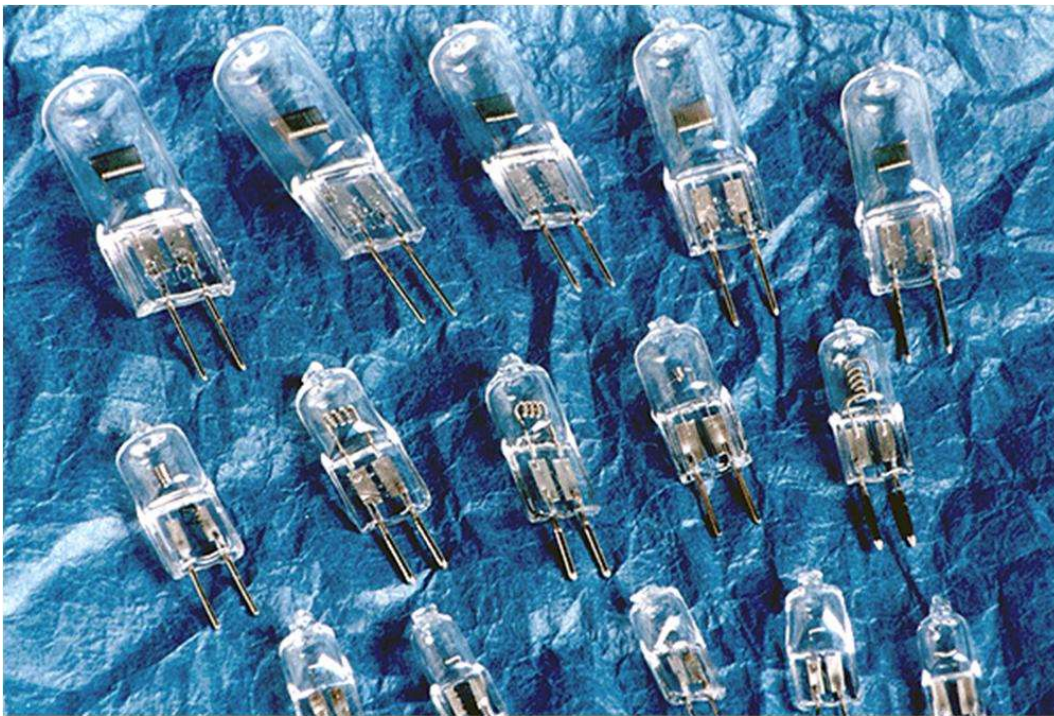
EQUIPAMENTOS

- **Fonte de luz**

- Região Visível: 380 a 780 nm

- Lâmpada de xenônio (UV/Vis)

- Lâmpada de filamento de tungstênio ou tungstênio-halogênio (halógenas)



Tungsten Lamp Emission Spectrum (relative intensity)

A radiação emitida se estende por todo o visível e parte do IV (320 a 2500 nm), com maiores intensidades no vermelho e IV. Se o invólucro for de quartzo é possível ir um pouco abaixo de 320 nm.

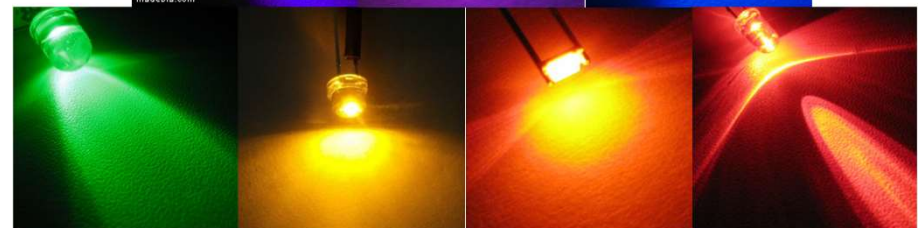
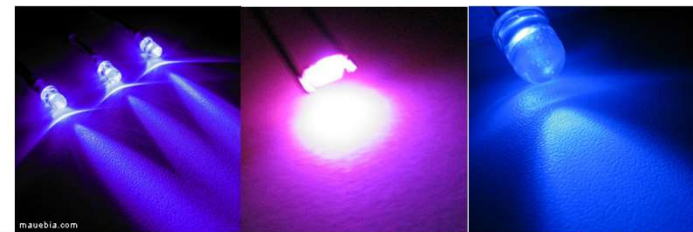
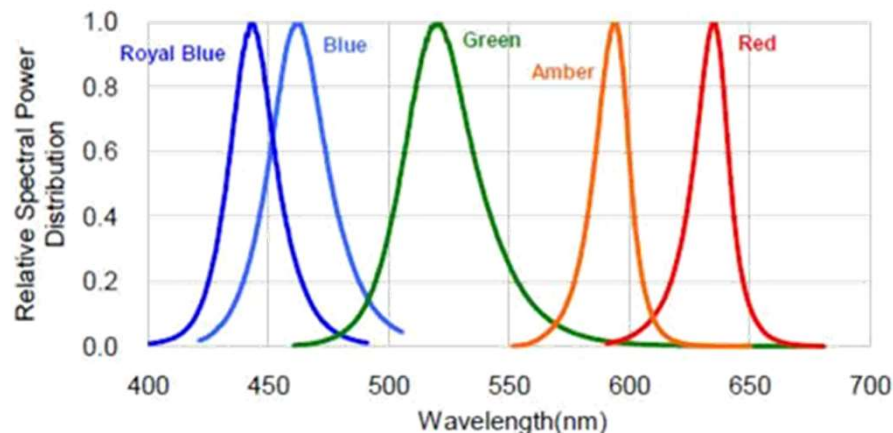
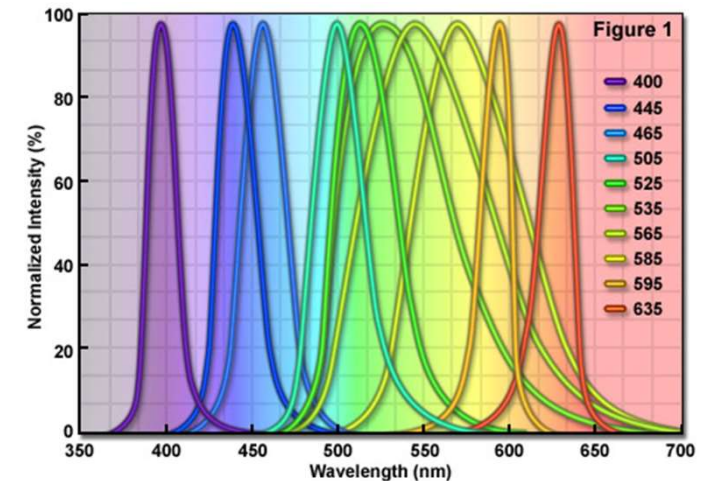
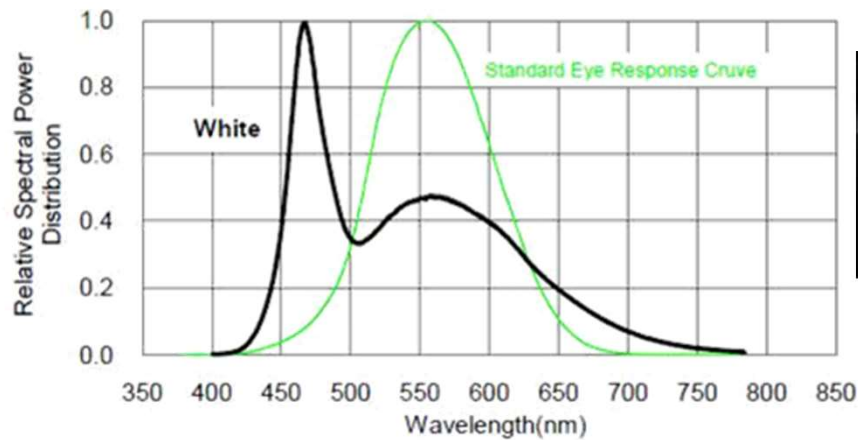
EQUIPAMENTOS

- **Fonte de luz**

- Região Visível: 380 a 780 nm
 - LEDs coloridos (Light Emitting Diode)

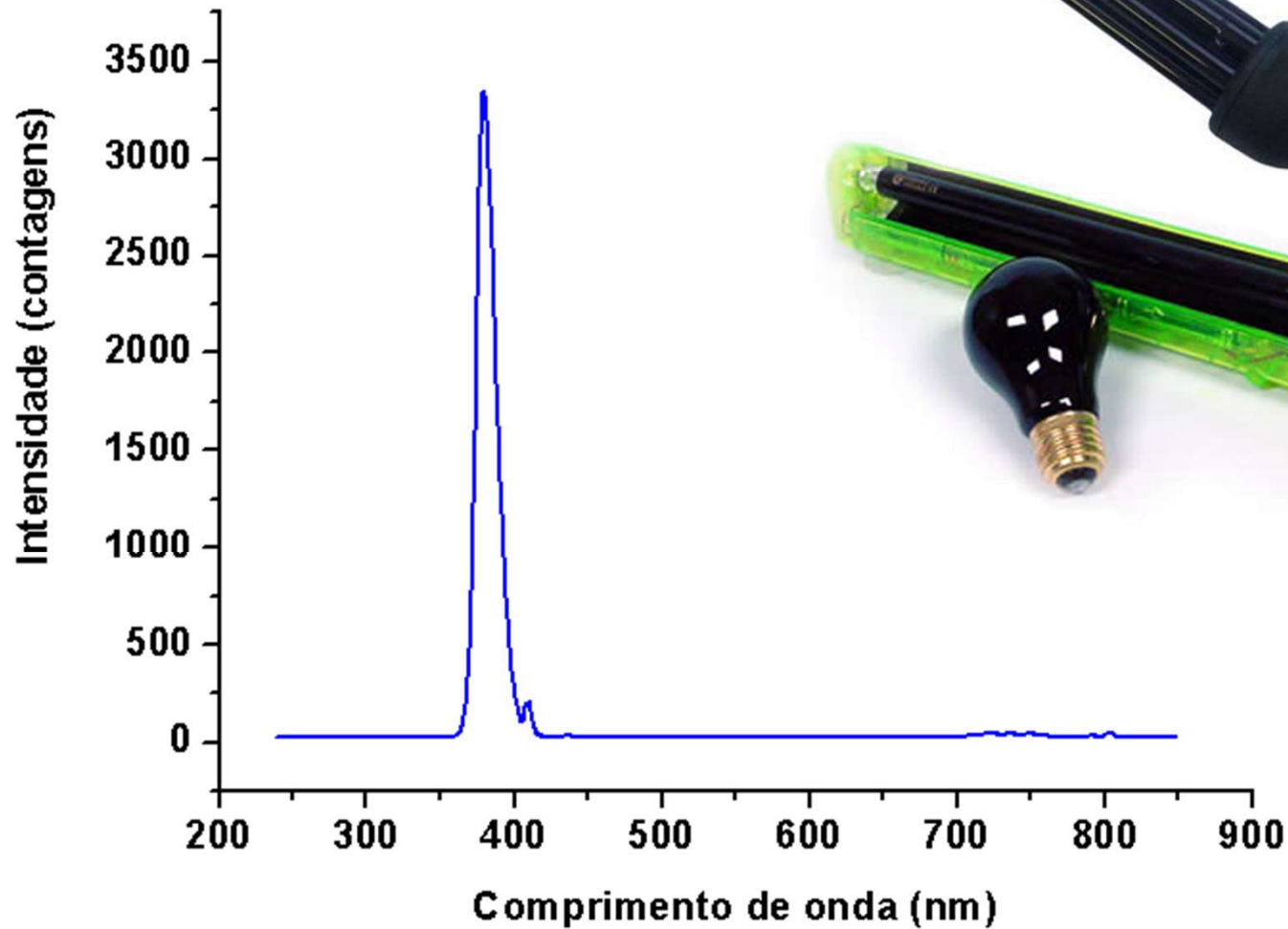


Ainda que existam LEDs para a região do ultravioleta, eles se limitam à faixa próxima do visível (modelo mais facilmente encontrado com emissão em 380 nm).



EQUIPAMENTOS

- Fonte de luz
 - Luz “negra”



EQUIPAMENTOS

- ***2. MONOCROMADORES***
- Tem como função a seleção do comprimento de onda e que se tem interesse para a análise.
- ***2.1. Monocromador prismático:*** a radiação policromática procedente da fonte de radiação passa pela fenda de entrada e incide sobre a face de um prisma, sofrendo desvio.

EQUIPAMENTOS

- ***2. MONOCROMADORES***
- ***2.2. Monocromador reticular:*** o principal elemento de dispersão dos monocromadores reticulares é a rede de difração, que consiste em uma **placa transparente com inúmeras ranhuras paralelas e de mesma distância.**

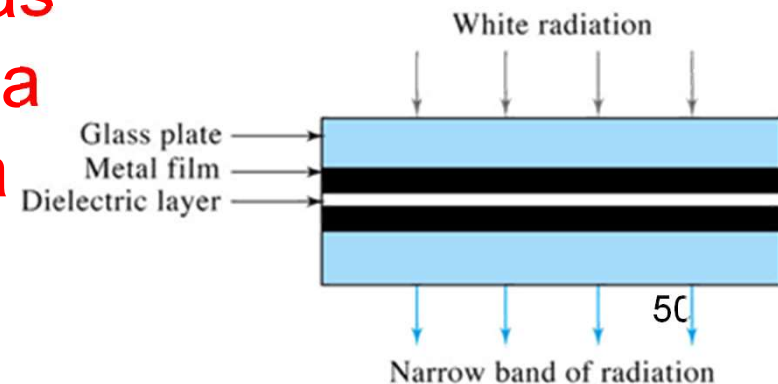
-

EQUIPAMENTOS

- Como selecionar o comprimento de onda desejado?

- **Filtros ópticos:**

- Filtros de absorção
 - Simplesmente absorve alguns comprimentos de onda.
- Filtros de interferência
 - Usando de reflexões e interferências destrutivas e construtivas, seleciona o comprimento de onda desejado.

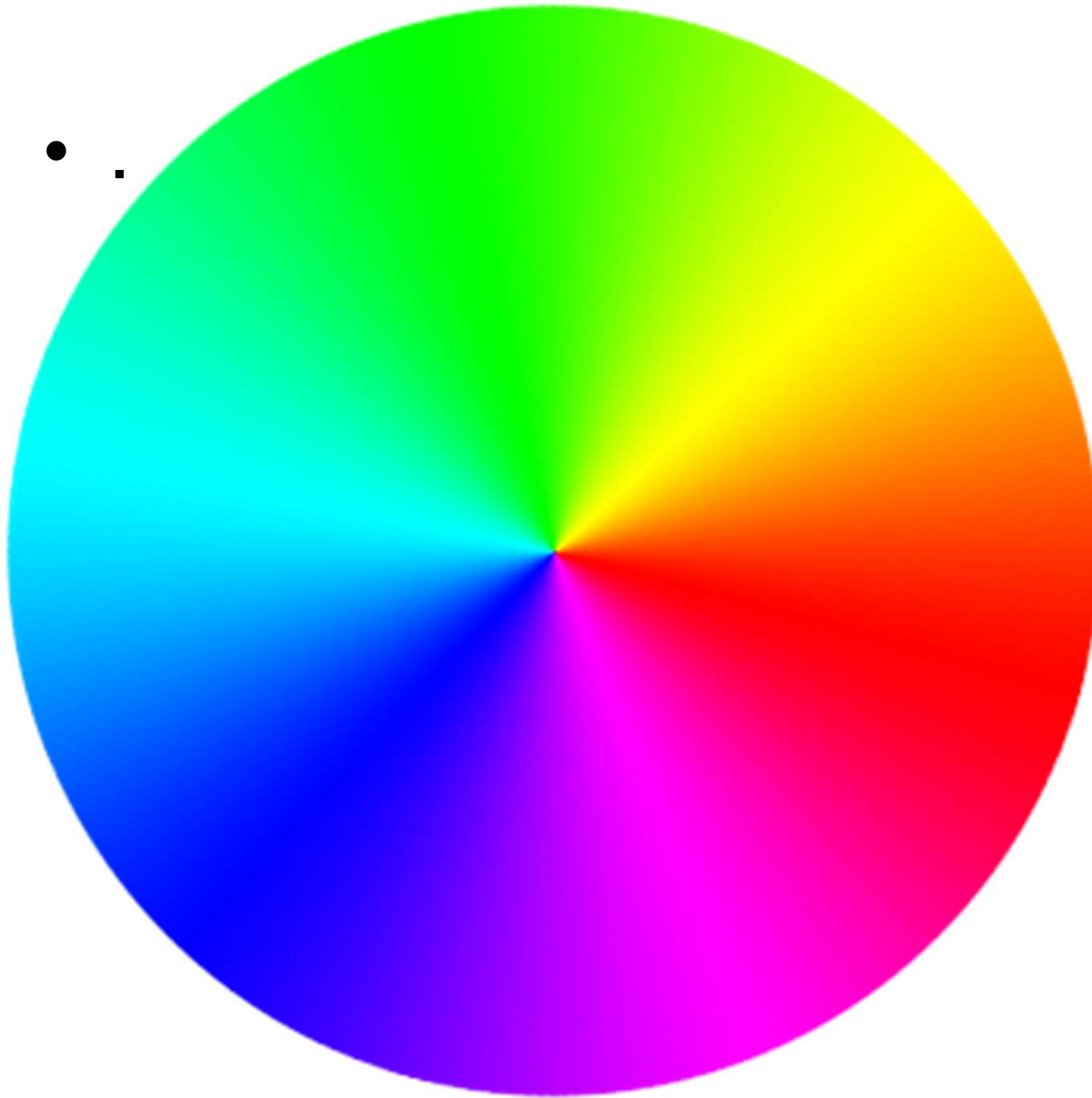


EQUIPAMENTOS

Filtros Ópticos de Absorção



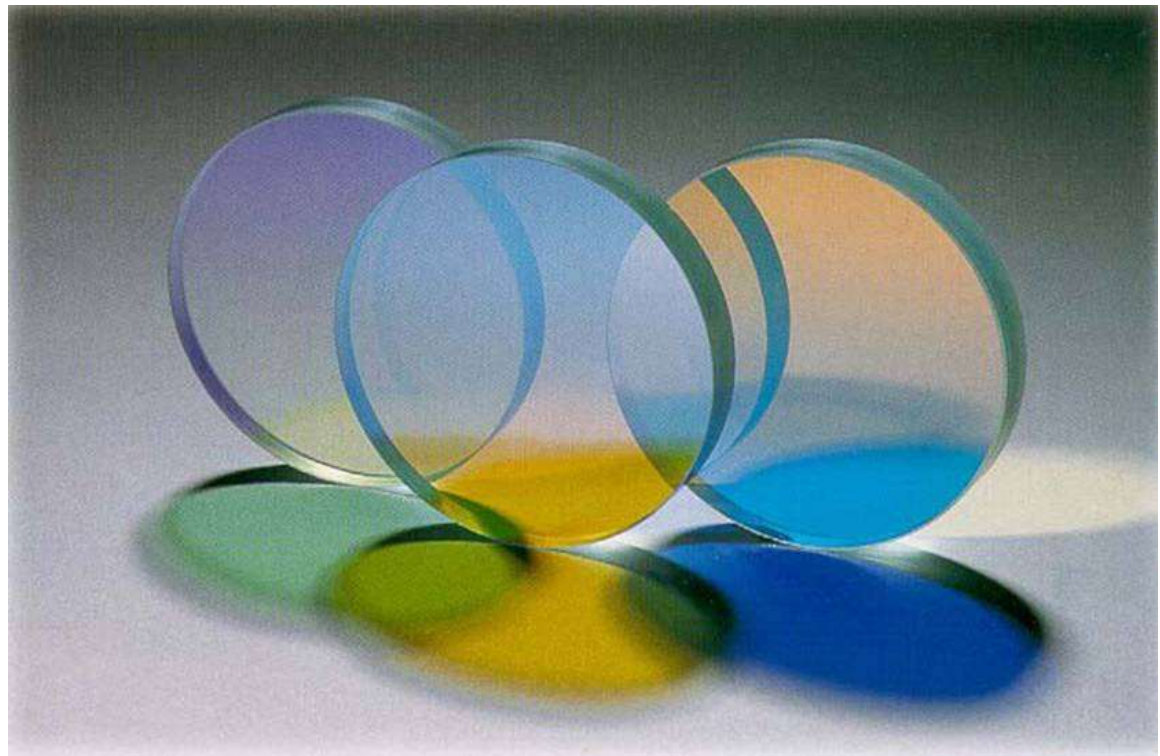
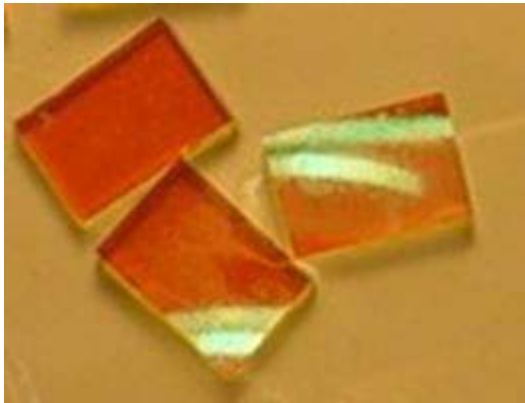
EQUIPAMENTOS



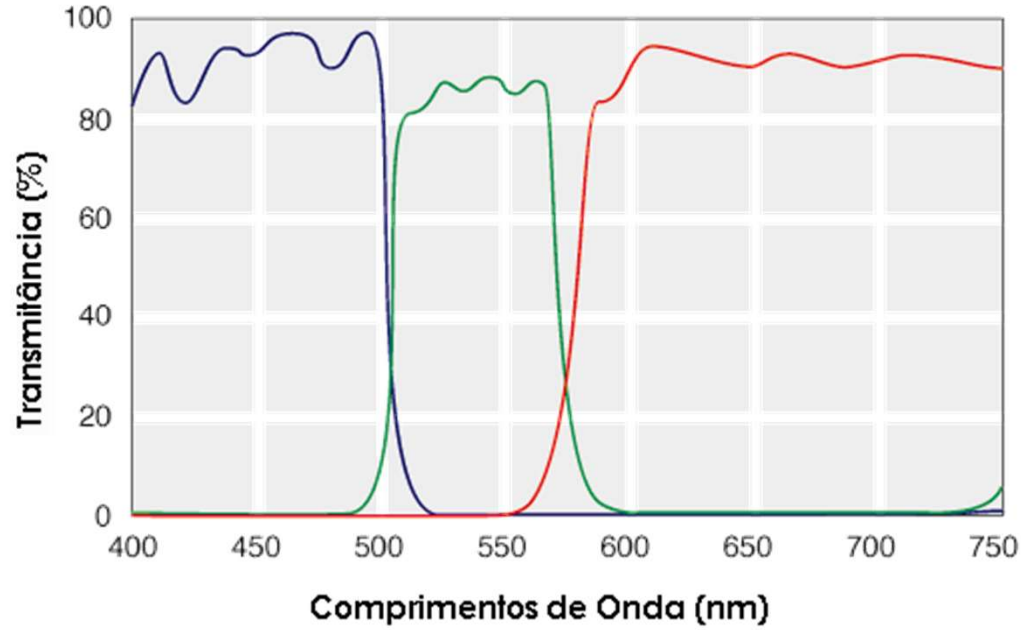
A visualização desta imagem através de filtros ópticos exemplifica bem o funcionamento dos filtros em barrar determinados comprimentos de onda.

EQUIPAMENTOS

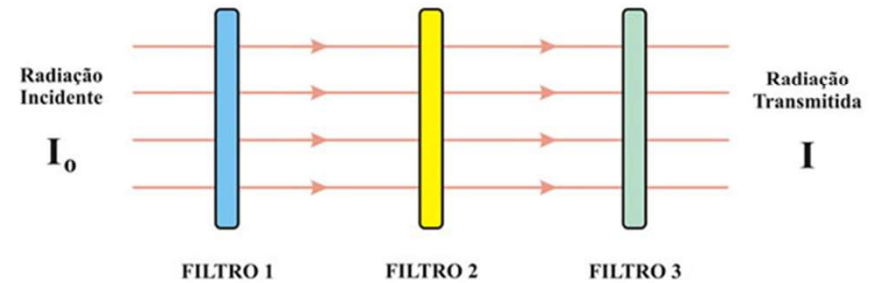
Filtros Ópticos de Interferência



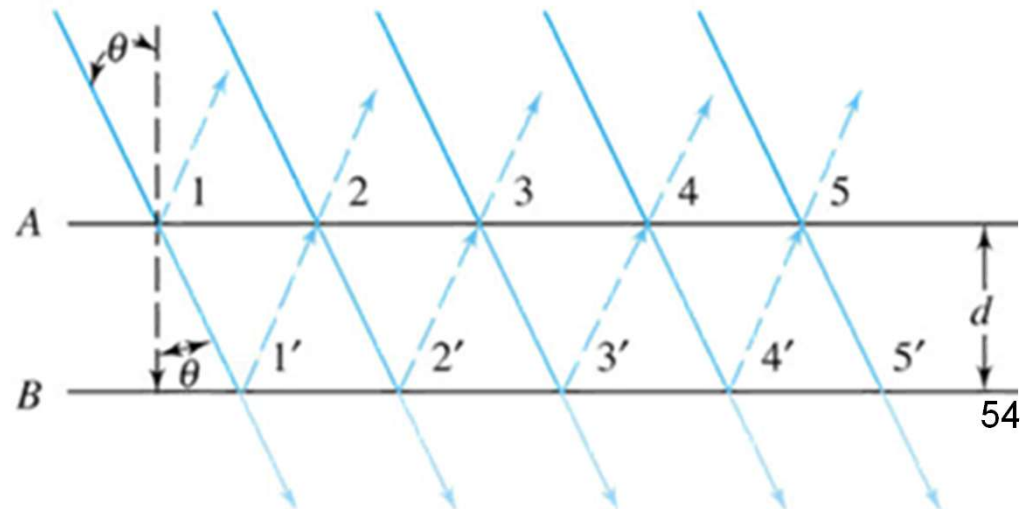
EQUIPAMENTOS



Filtro de absorção



Filtro de interferência

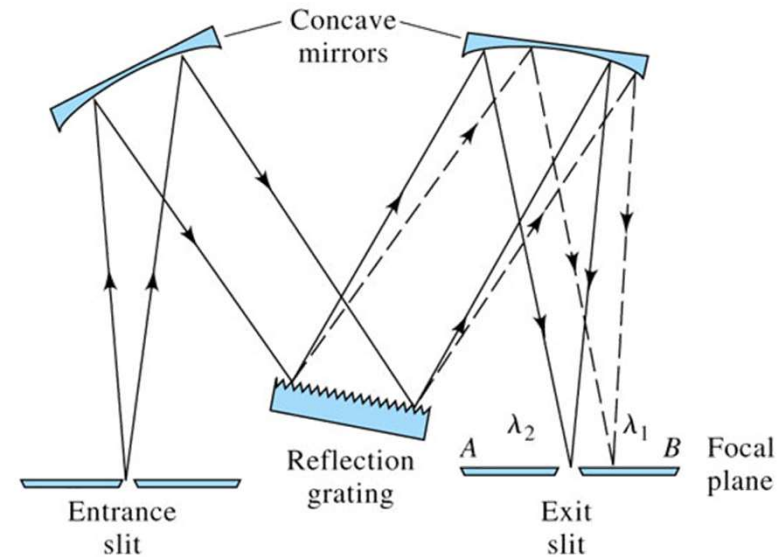


EQUIPAMENTOS

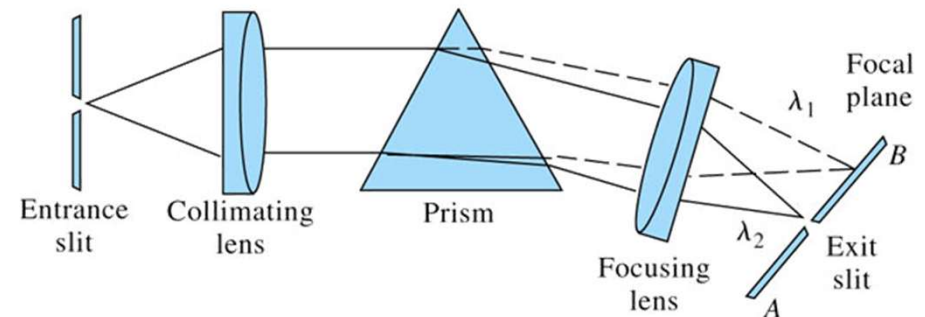
- Como selecionar o comprimento de onda desejado?

- Monocromadores:

- Fenda de entrada
- Lente colimadora ou espelho concavo.
- Prisma ou rede de difração ou holográfica
- Elemento de focalização
- Fenda de saída



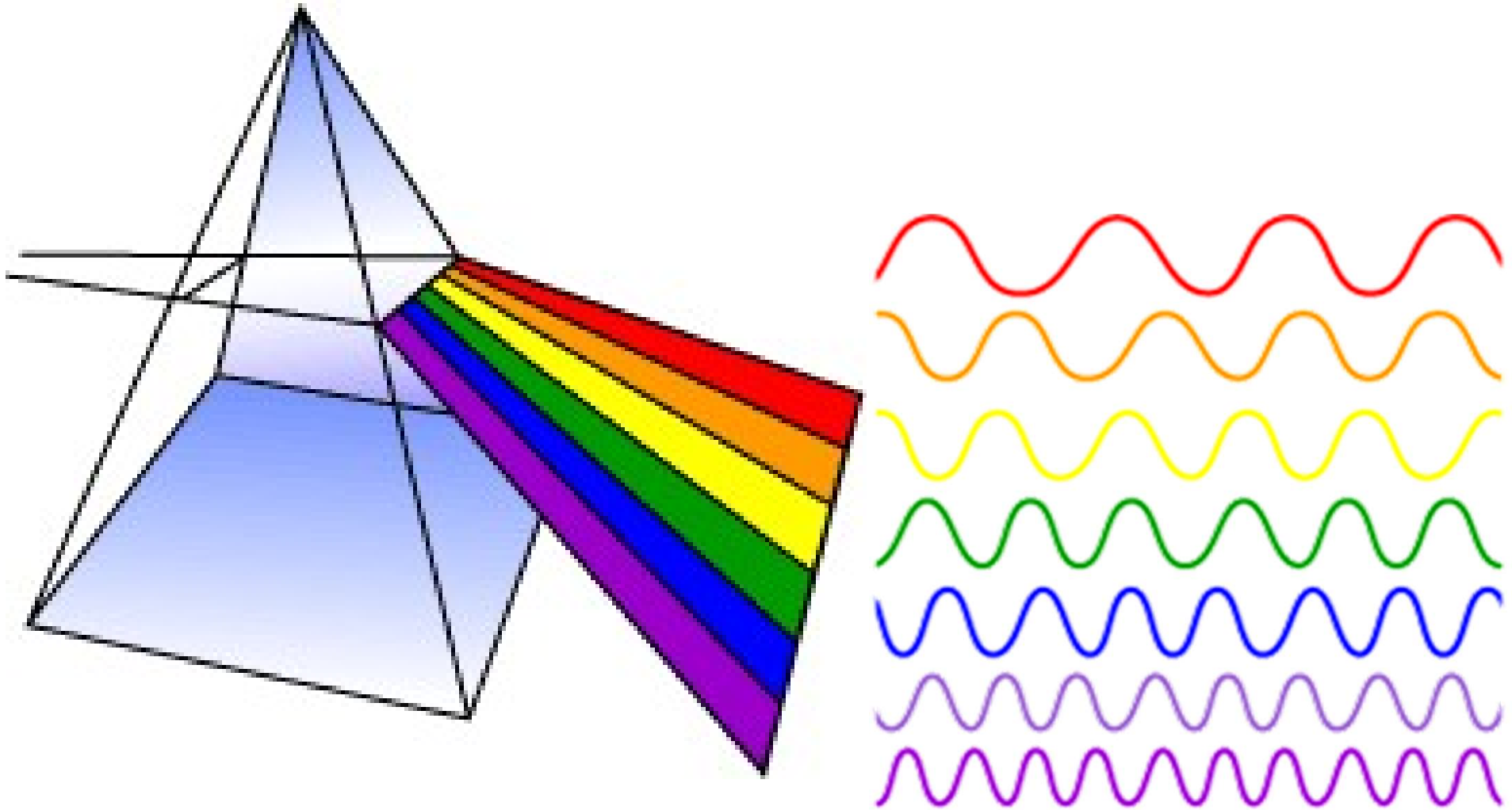
(a)



(b)

EQUIPAMENTOS

- **Decomposição da Luz:**

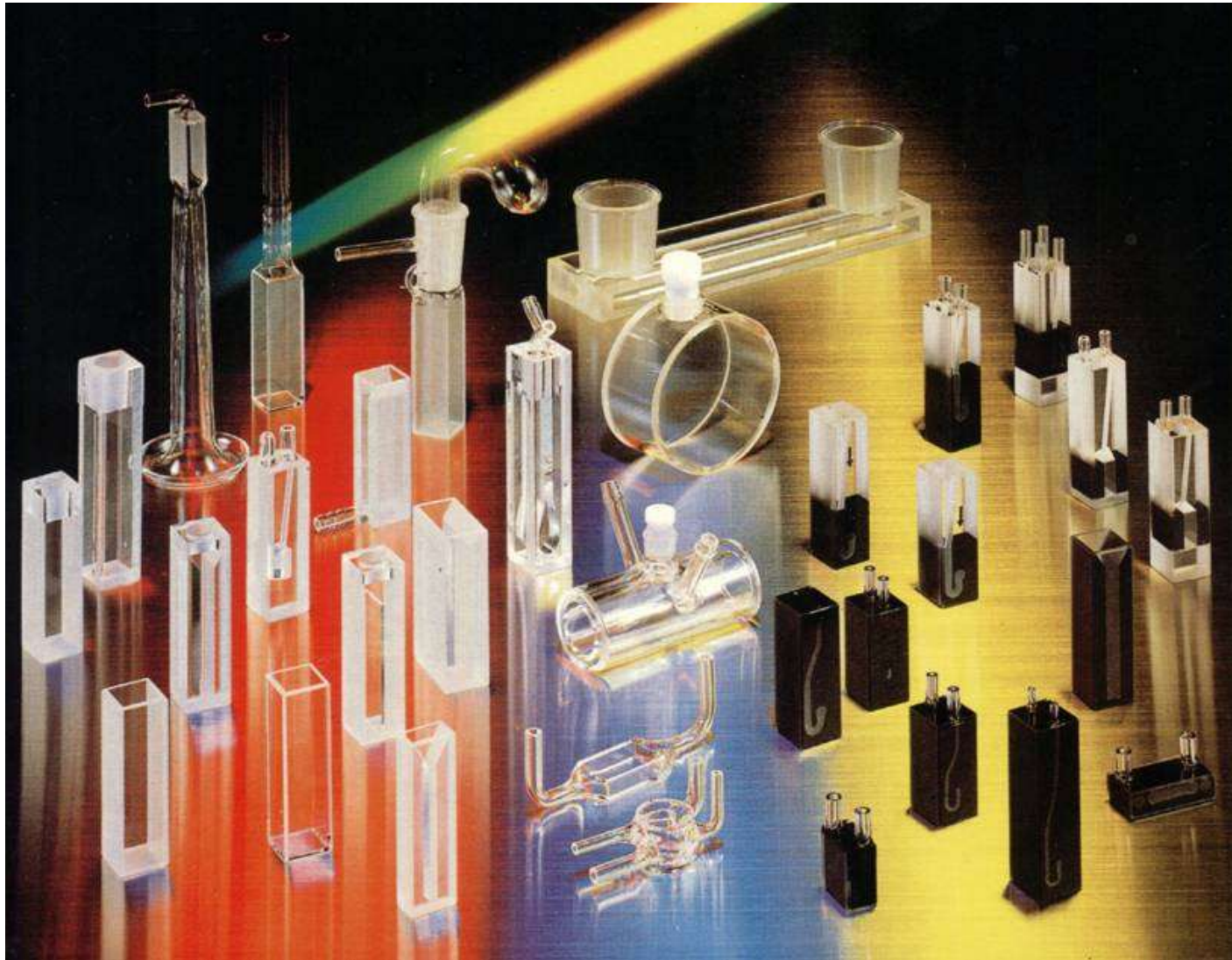


EQUIPAMENTOS

- **3. COMPARTIMENTO DE AMOSTRAS (CUBETAS OU CÉLULAS)**
- São usados como recipientes cubas ou cubetas retangulares de **vidro ou quartzo**.
- Uma cubeta ideal deve ser de **1 cm**, para simplificar os cálculos da expressão da **Lei de Beer**.
- **Obs.:** As cubetas também podem ter dimensões diferentes, e esse dado deve ser considerado na hora do cálculo.

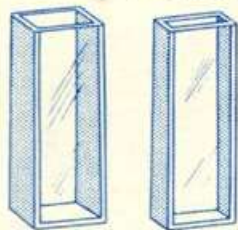
EQUIPAMENTOS

Cubetas



EQUIPAMENTOS

CUBETA PADRÃO COM TAMPA DE TEFLON



TIPO 1

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45,0 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

T-1

SEMI-MICRO CUBETA COM TAMPA DE TEFLON



TIPO 9

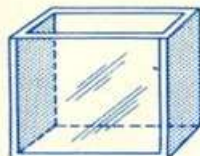
- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 5, 10, 20, 30, 40, 50 mm
- Largura interna: 4 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45,0 mm
- Volume interno: 1,4 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

T-9

CUBETA PADRÃO E RETANGULAR COM TAMPA DE TEFLON



T-5



T-523

TIPO 5

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 10 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45,0 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H.

TIPO 523

- 2 janelas polidas de 35 mm
- Caminho óptico: 10 mm
- Dimensões externas: 13,5 x 35
- Volume interno: 12 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G.

CUBETA DE FLUXO CONTÍNUO



T-58

TIPO 58

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 10 mm
- Largura interna: 7 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 58,0 mm
- Volume interno: 2,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

CUBETA ANAERÓBICA



T-26

TIPO 26

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 2, 5 e 10 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Tubo de evacuação e bolsa com rosca esmerilhada
- Material de Construção: G, H, I e S.

CUBETA CILÍNDRICA COM ROLHA DE TEFLON



T-34

TIPO 34

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 50 e 100 mm
- Dimensões externas: 22 x 35,5 mm
- Volume interno: 31,4 mL (100 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

CUBETA PADRÃO COM ROLHA DE TEFLON OU VIDRO



T-21



T-31

TIPO 21

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 49 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de Construção: G, H, I e S.

TIPO 31

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 10 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 65
- Volume interno: 2,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: H, I e S.

CUBETA PADRÃO PARA FLUORIMETRO COM TAMPA DE TEFLON



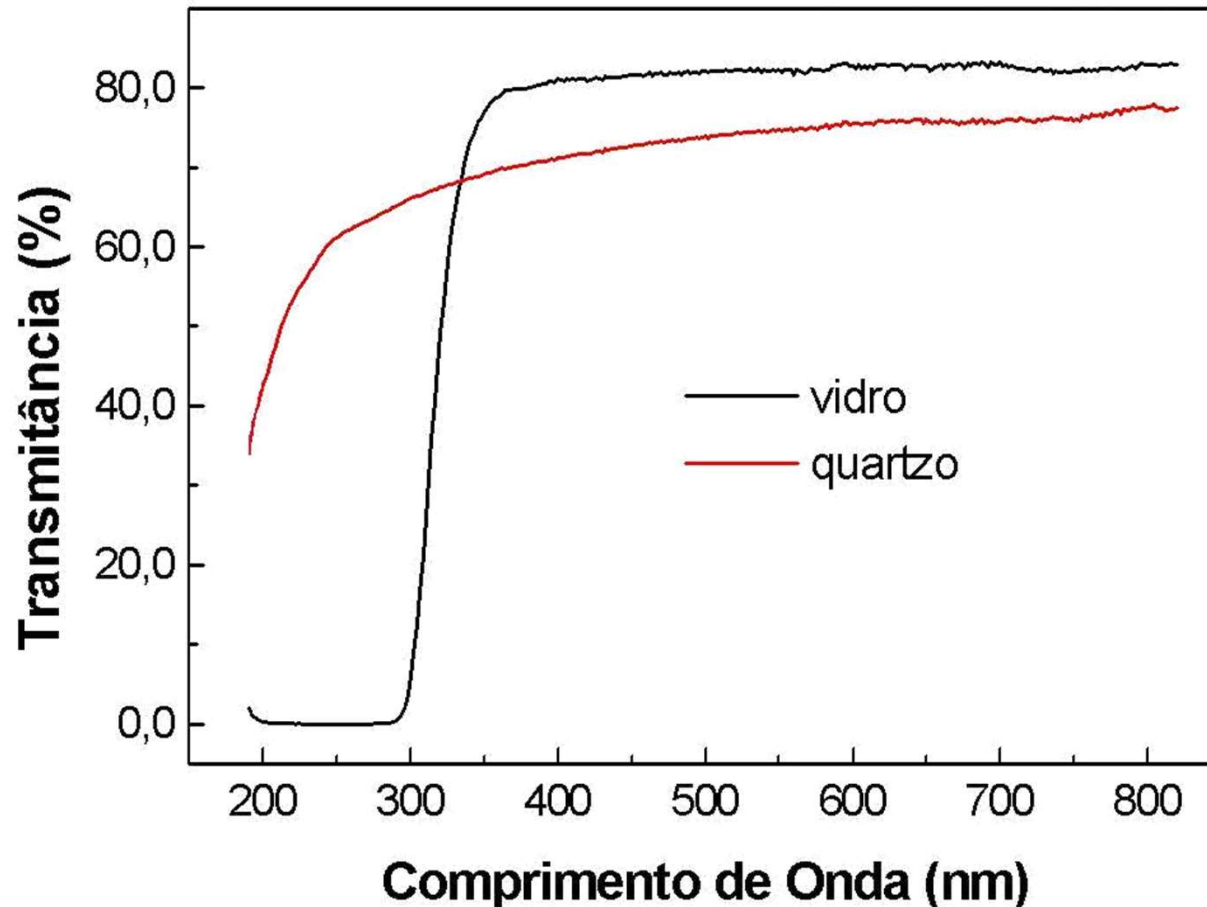
T-3

TIPO 3

- 4 janelas polidas
- Caminho óptico: 5, 10, 20, 40 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45 mm
- Volume: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

EQUIPAMENTOS

- Absorção (Cubeta de vidro e Quartzo)



O vidro absorve fortemente os comprimentos de onda da região do UV. Abaixo de 300 nm toda a radiação é absorvida. O quartzo começa absorver fortemente somente abaixo de 200 nm.

EQUIPAMENTOS

- **4. DETECTORES**
- **São os TRANSDUTORES**
- **Faz a leitura da absorção da luz**
- **Converte LUZ para o domínio ELÉTRICO**

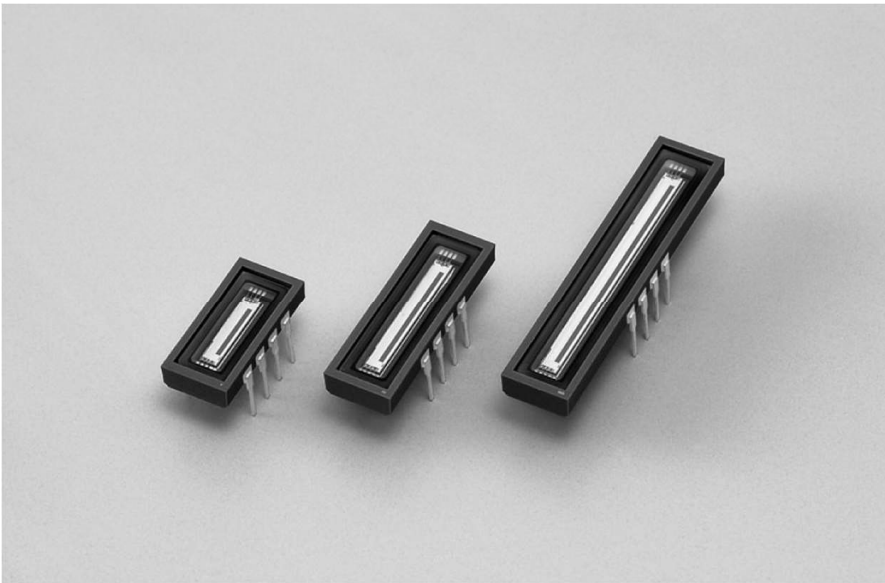
EQUIPAMENTOS

- **Como fazer a leitura da absorção de luz?**
 - **PRINCIPAIS TRANSDUTORES DE RADIAÇÃO:**
 - **Fotônicos monocanais**
 - Células fotovoltaicas
 - Fototubos
 - Fotomultiplicadores
 - Fotodiodos
 - **Fotônicos multicanais**
 - Arranjo de fotodiodos (PDA)
 - Dispositivos de transferência de cargas
 - CID e CCD (bidimensionais)

EQUIPAMENTOS



Tubo fotomultiplicador
Muito sensível. Consegue detectar níveis muito baixos de luminosidade.



Arranjo linear de fotodiodos
(pda - photodiode array)
Permite detectar simultaneamente vários comprimentos de onda.

EQUIPAMENTOS

- **AUTOMAÇÃO**
- **AS VANTAGENS SÃO:**
 - - maior velocidade no processamento das análises;
 - - maior confiabilidade nos resultados;
 - - minimização de contaminações;
 - - diminuição na geração de resíduos;
 - - menor consumo de amostras e reagentes.

MÉTODO ESPECTROMÉTRICOS

- **TIPOS DE ANÁLISE**
- **Análise qualitativa:** pela análise da absorvância é possível determinar qual **espécie química** esta presente na amostra.
- **Análise quantitativa:** a condição essencial para qualquer determinação por espectrofotometria no visível e ultravioleta é a **observação da lei de Beer.**
- .