

Introdução a técnicas espectroscópicas

Professor: Fabio Rodrigues (IQ/USP)

Email: farod@iq.usp.br

Sala 1257 (B.12 sup)

Introdução a técnicas espectroscópicas

Skoog – Princípios de Análise Instrumental

Cap. 6 – Introdução aos Métodos
Espectroscópicos

Cap. 7 – Componentes dos Instrumentos Ópticos

Química Analítica

”A química analítica é uma ciência metrológica que busca desenvolver, otimizar e aplicar ferramentas analíticas para obter informações a respeito da composição química, bioquímica e da estrutura da matéria, visando a resolução de problemas científicos, técnicos, econômicos e sociais.”



Química Analítica

```
graph TD; A([Química Analítica]) --> B[Análise Qualitativa]; A --> C[Análise Quantitativa]; A --> D[Análise Estrutural]; B --> E[ ]; E --> C;
```

Análise
Qualitativa

Análise
Quantitativa

Análise
Estrutural

Análise Qualitativa

- ▶ Têm como objetivo a **identificação** do analito na amostra:
 - ✓ íons
 - ✓ moléculas
 - ✓ espécies atômicas (isótopos)
 - ✓ grupos funcionais
- ▶ **Origina uma resposta binária: sim/não.**
- ▶ A incerteza é dependente do método ou da técnica adotada.
- ▶ Exemplos: identificação de hidrocarbonetos aromáticos na atmosfera, pesticidas em alimentos, drogas no sangue, íons metálicos em uma amostra, etc.

Análise Quantitativa

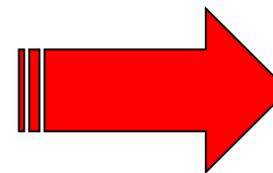
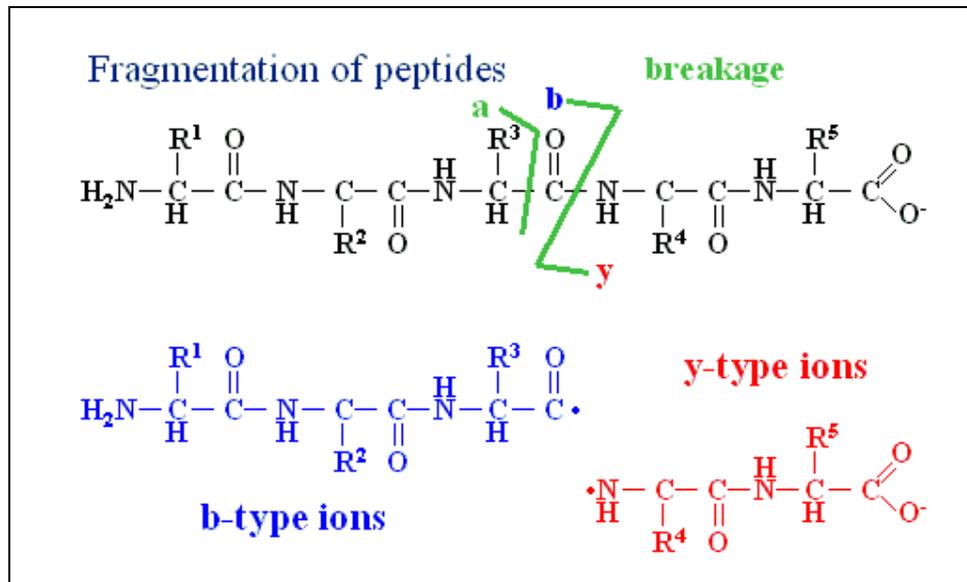
- ▶ Tem como objetivo a **determinação** de um analito em uma porção do material (amostra):
 - ✓ íons
 - ✓ moléculas
 - ✓ espécies atômicas
 - ✓ grupos funcionais
- ▶ **Origina uma resposta numérica.**

Análise Quantitativa

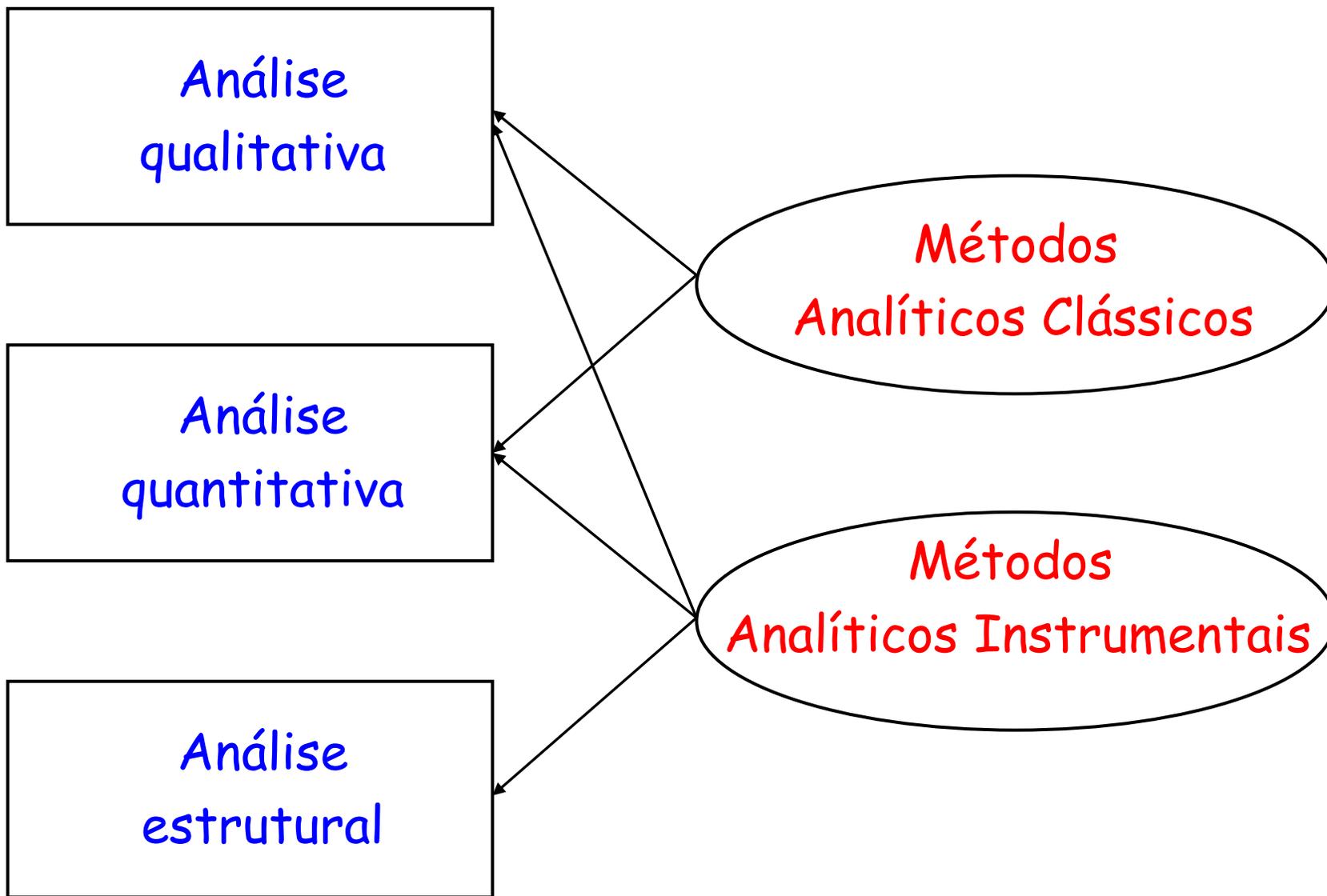
- ▶ Tem como objetivo a **determinação** de um analito em uma porção do material (amostra):
 - ✓ íons
 - ✓ moléculas
 - ✓ espécies atômicas
 - ✓ grupos funcionais
- ▶ **Origina uma resposta numérica.**
- ▶ **A incerteza dessa resposta está implicitamente relacionada às incertezas de todas as etapas adotadas durante o procedimento experimental, inclusive a coleta da amostra.**

Análise Estrutural

- ▶ Tem como objetivo principal estabelecer a estrutura de uma espécie química ou bioquímica.
- ▶ A informação pode-se referir a uma substância pura (ex. proteína) ou no conjunto (ex. distribuição espacial dos componentes em uma amostra).



Detecção:
Espectrometria
de Massas



Métodos Analíticos Clássicos

- ▶ Os métodos clássicos apresentam três características importantes relacionadas à obtenção das informações qualitativas e quantitativas:
 - ✓ uso dos sentidos (mudança de cor e cheiro)
 - ✓ uso de balança (gravimetria) e bureta (volumetria)
 - ✓ emprego de reações químicas como operações prévias fundamentais do procedimento analítico

Métodos Analíticos Instrumentais

- ▶ Os métodos instrumentais apresentam como característica principal a obtenção das informações por meio de instrumentos, diferentes aos utilizados nas análises clássicas:
 - ✓ **Métodos Ópticos:** Espectrofotometria molecular (absorção e emissão), Espectrometria atômica/iônica (absorção e emissão), Quimioluminescência, Infra-vermelho, etc
 - ✓ **Métodos Eletroanalíticos:** Condutometria, Potenciometria, Polarografia, Coulometria, Voltametria
 - ✓ **Métodos Magnéticos:** Espectrometria de massas, Ressonância magnética nuclear, etc
 - ✓ **Métodos Térmicos:** Análise térmica diferencial, Termogravimetria
 - ✓ **Métodos Radioquímicos:** Análise por ativação neutrônica

Métodos Analíticos Instrumentais

▶ Métodos de separação:

- ✓ Separações gás-líquido: difusão gasosa, destilação, cromatografia à líquido
- ✓ Separações líquido-líquido: diálise, extração, cromatografia à líquido
- ✓ Separações sólido-líquido: precipitação, troca iônica, fusão, cromatografia à líquido

▶ Enfim todo métodos analítico cujas informações são obtidas por meio do sistema de detecção do instrumentos de medida

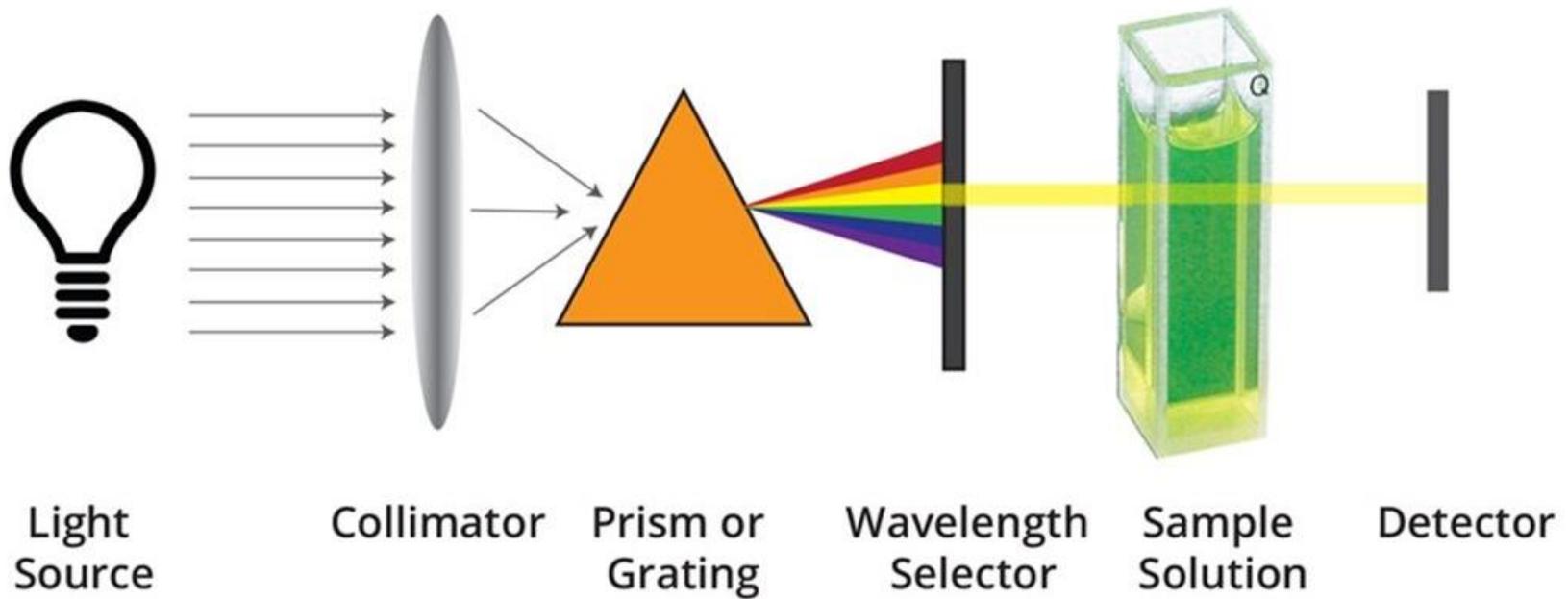
TABELA 1-1 Propriedades Físicas e Químicas Empregadas em Métodos Instrumentais

Propriedades Características	Métodos Instrumentais
Emissão da radiação	Espectroscopia de emissão (raios X, UV, visível, elétrons, Auger); fluorescência, fosforescência e luminescência (raios X, UV e visível)
Absorção da radiação	Espectrofotometria e fotometria (raios X, UV, visível, IR); espectroscopia fotoacústica; espectroscopias de ressonância magnética nuclear e de ressonância de spin eletrônico
Espalhamento da radiação	Turbidimetria; nefelometria; espectroscopia Raman
Refração da radiação	Refratometria; interferometria
Difração da radiação	Métodos de difração de raios X e de elétrons
Rotação da radiação	Polarimetria; dispersão óptica rotatória; dicroísmo circular
Potencial elétrico	Potenciometria; cronopotenciometria
Carga elétrica	Coulometria
Corrente elétrica	Amperometria; polarografia
Resistência elétrica	Condutimetria
Massa	Gravimetria (microbalança de cristal de quartzo)
Relação massa/carga	Espectrometria de massa
Velocidade da reação	Métodos cinéticos
Características térmicas	Gravimetria e titulometria térmica; calorimetria diferencial exploratória; análise térmica diferencial e métodos de condutimetria térmica
Radioatividade	Métodos de ativação e diluição de isótopos

TABELA 1-2 Alguns Exemplos de Componentes Instrumentais

Instrumento	Fonte de Energia (estímulo)	Informação Analítica	Transdutor de Entrada	Domínio de Dados da Informação vinda do Transdutor	Processador da Informação	Dispositivo de Leitura de Saída
Fotômetro	Lâmpada de tungstênio, filtro de vidro	Feixe de luz atenuado	Fotocélula	Corrente elétrica	Escala	Medidor de corrente
Espectrômetro de emissão atômica	Chama	Radiação UV ou visível	Válvula fotomultiplicadora	Potencial elétrico	Amplificador, demodulador, monocromador modulador	Registrador gráfico
Coulômetro	Fonte CC	Corrente da célula	Eletrodos	Corrente elétrica	Amplificador	Registrador gráfico
pHmetro	Amostra/ eletrodo de vidro	Atividade do íon hidrogênio	Eletrodos vidro-calomelano	Potencial elétrico	Amplificador, digitalizador	Unidade digital
Difratômetro de pó de raios X	Tubo de raios X, amostra	Radiação difratada	Filme fotográfico	Imagem latente	Revelador químico	Manchas negras sobre um filme
Comparador de cores	Luz do sol	Cor	Olho	Sinal no nervo óptico	Cérebro	Resposta visual à cor

Um exemplo na espectroscopia

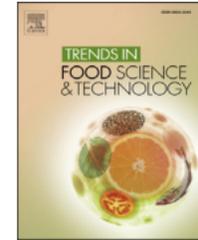




Contents lists available at ScienceDirect

Trends in Food Science & Technology

journal homepage: <http://www.journals.elsevier.com/trends-in-food-science-and-technology>



Review

A review of vibrational spectroscopic techniques for the detection of food authenticity and adulteration



Santosh Lohumi, Sangdae Lee, Hoonsoo Lee, Byoung-Kwan Cho*

Department of Biosystems Machinery Engineering, College of Agricultural and Life Sciences, Chonnam National University, 99 Daehyeon 2-dong, Gwangju, 500-757, Republic of Korea

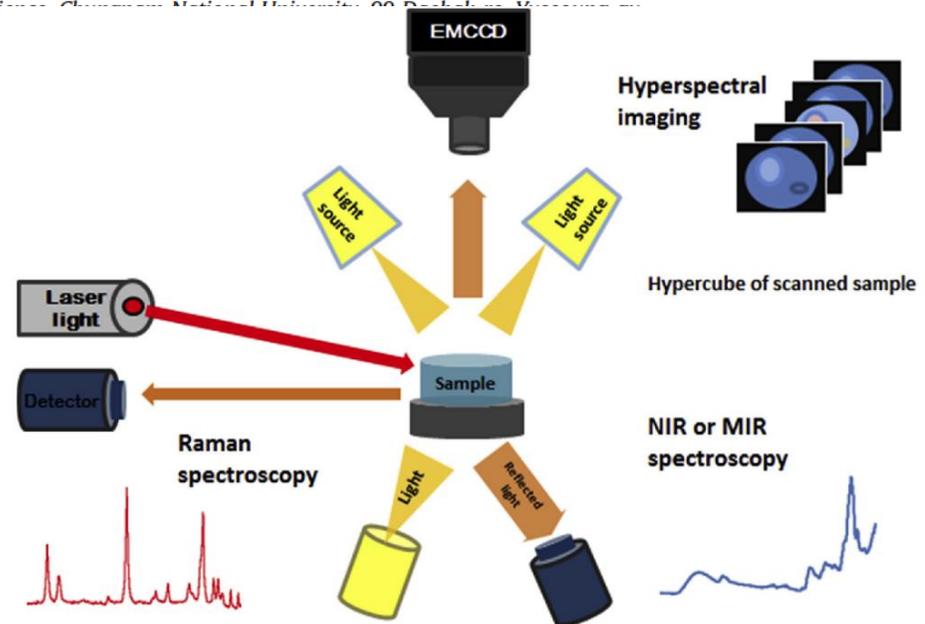


Fig. 1. Schematic diagram of typical vibrational spectroscopic techniques.

Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS Spectroscopy

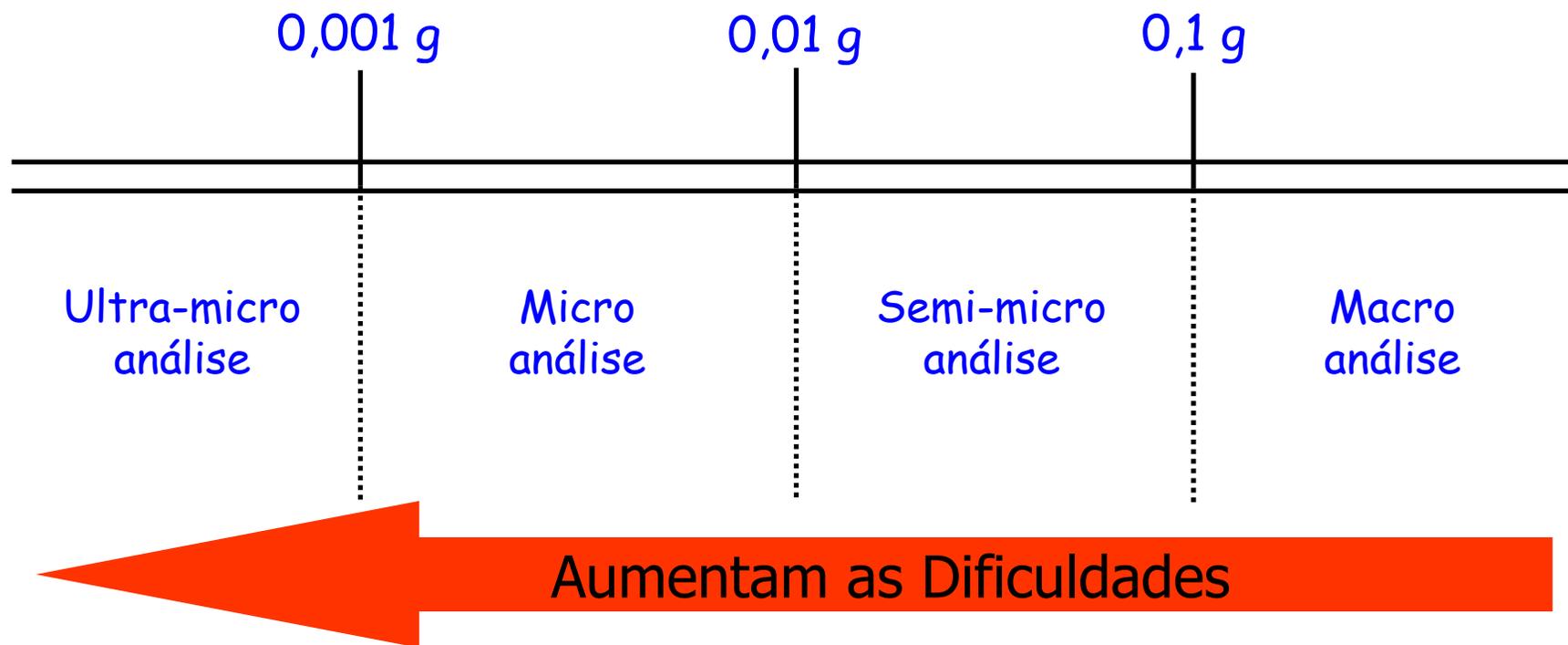
Table F4.3.3 Examples of Chlorophyll and Carotenoid Levels and Pigment Ratios in Green Sun and Shade Leaves^a

Leaf type		$a + b$ (mg/m ²)	$x + c$ (mg/m ²)	$a + b$ (mg/g dw)	$x + c$ (mg/g dw)	a/b	$(a + b)/(x + c)$
<i>Fagus sylvatica</i> (beech)	Sun leaves	510.8	126.4	6.29	1.56	3.22	4.04
	Shade leaves	450.1	85.8	12.01	2.29	2.65	5.25
<i>Carpinus betulus</i> (hornbeam)	Sun leaves	571.0	117.4	8.15	1.68	3.20	4.86
	Shade leaves	431.1	70.8	19.05	3.13	2.45	6.09
<i>Populus nigra</i> (poplar)	Dark green sun leaves	724.4	161.5	8.03	1.81	3.30	4.44
	Dark green shade leaves	568.2	109.2	12.41	2.39	2.74	5.20
	Green senescent leaves	351.5	87.4	5.00	1.24	3.08	4.02
	Yellowish-green senescent leaves	140.3	79.4	1.99	1.13	3.29	1.77

^aPigment levels given in mg/m² leaf area and in mg/g dry weight (dw). Values measured are those from fully developed leaves in June, 2000. Pigment levels within one leaf usually vary by <3%, and pigment ratios vary by <1%. Abbreviations: $a + b$; total chlorophylls a and b ; $x + c$, xanthophylls and carotenes (total carotenoids).

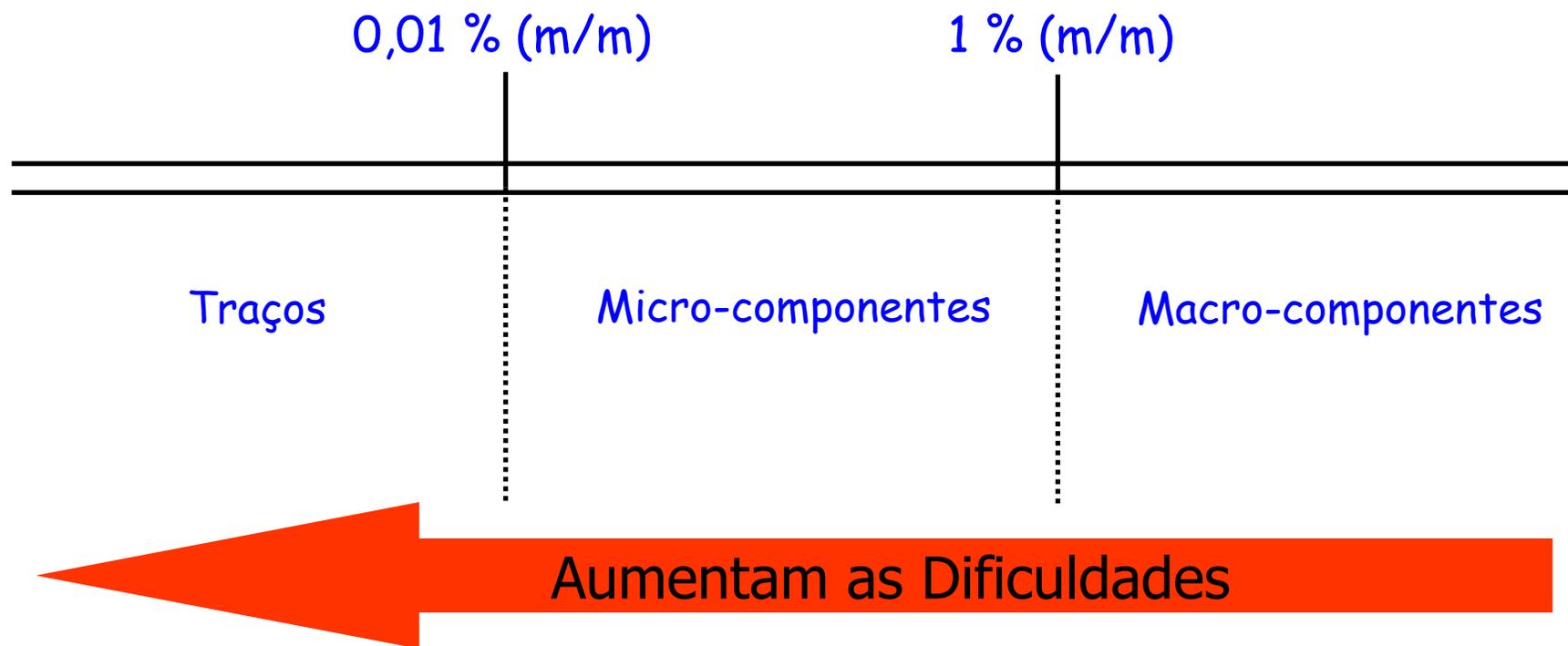
Outras classificações da Química Analítica

- ▶ Quanto a quantidade de amostra a ser analisada



Outras classificações da Química Analítica

- ▶ Quanto a concentração do analito na amostra



Etapas de uma análise quantitativa

- A sequência analítica -

- ▶ Problema analítico
- ▶ Escolha do método
- ▶ Amostragem
- ▶ Preparação da amostra
- ▶ Calibração e medidas
- ▶ Cálculo dos resultados
- ▶ Avaliação dos resultados
- ▶ Ação

O que é o método?

- ▶ O método é o conjunto de normas e procedimentos, que compreende desde a amostragem, preparação da amostra, o instrumento de medida até a forma de avaliação dos resultados finais, que devem ser seguidos durante uma análise química.

Aspectos a serem considerados durante os procedimentos:

- ✓ Como preparar a amostra?
- ✓ Estratégias de calibração (calibração externa, adição de padrão, padrão interno)
- ✓ Estratégias para eliminar interferências

 Melhor
o método

 Maior a chance de
sucesso na análise

Métodos Quantitativos Clássicos

- ▶ São conhecidos como métodos primários (padrões).
- ▶ Características importantes:
 - ✓ Não requerem soluções analíticas para calibração.
 - ✓ Apresentam alta precisão entre as medidas ($< 1\%$).

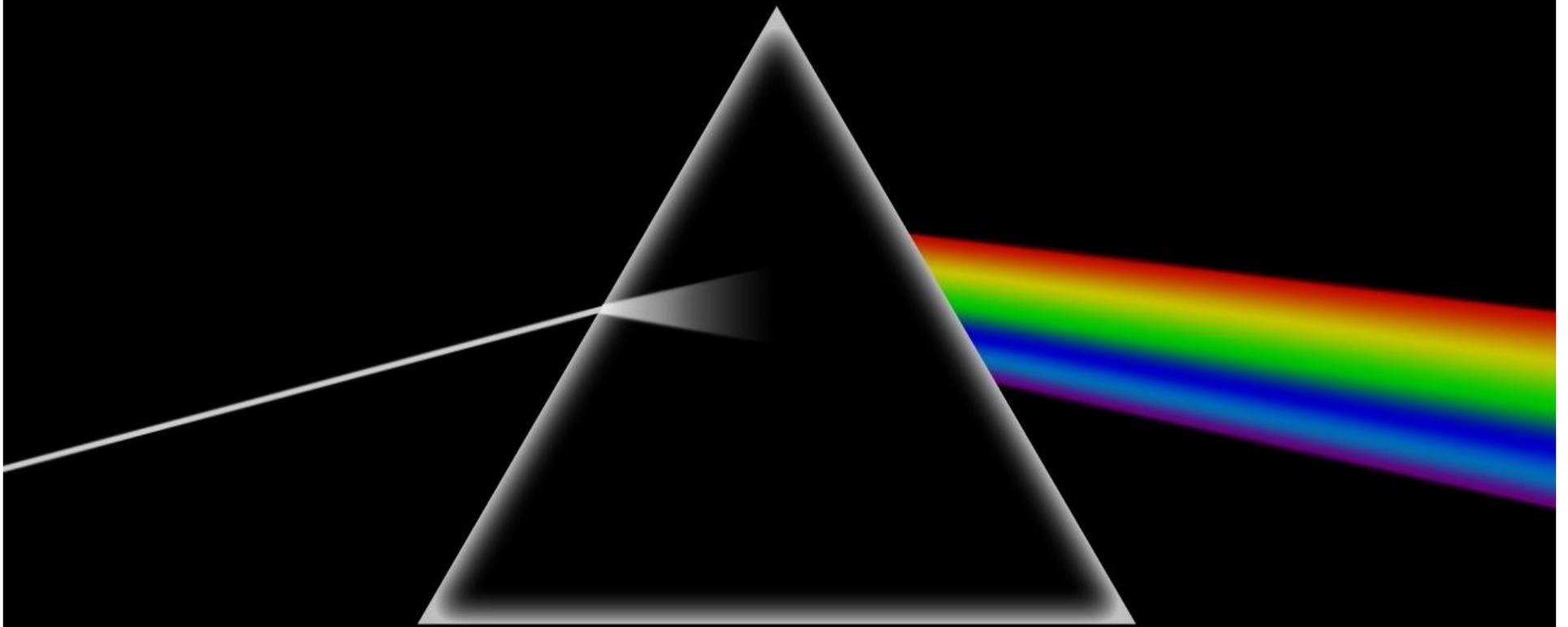
Métodos Quantitativos Instrumentais

- ▶ Os métodos quantitativos instrumentais são indiretos, ou seja, os resultados são obtidos a partir de um equipamento de medida.
- ▶ Características importantes:
 - ✓ Requerem soluções analíticas para calibração do equipamento.
 - ✓ Em geral a **precisão** é dependente do método escolhido (preparo de amostra, instrumento, etc.)

Calibração do Equipamento

- ▶ A **calibração do equipamento (instrumento)** é feita a partir da obtenção de uma **curva de calibração** ou **curva analítica de referência**.
- ▶ A curva de calibração é um gráfico que mostra a resposta do sistema de detecção de um equipamento para um determinado método em função de quantidades conhecidas do analito, ou seja, a calibração determina a relação entre a resposta analítica e a concentração do analito.
- ▶ Quais os principais procedimentos para calibração?
 - ✓ Calibração com soluções analíticas de referência (calibração com padrão externo)
 - ✓ Calibração com adição de padrão (ou adição de analito)
 - ✓ Calibração com padrão interno

Espectroscopia



Espectroscopia

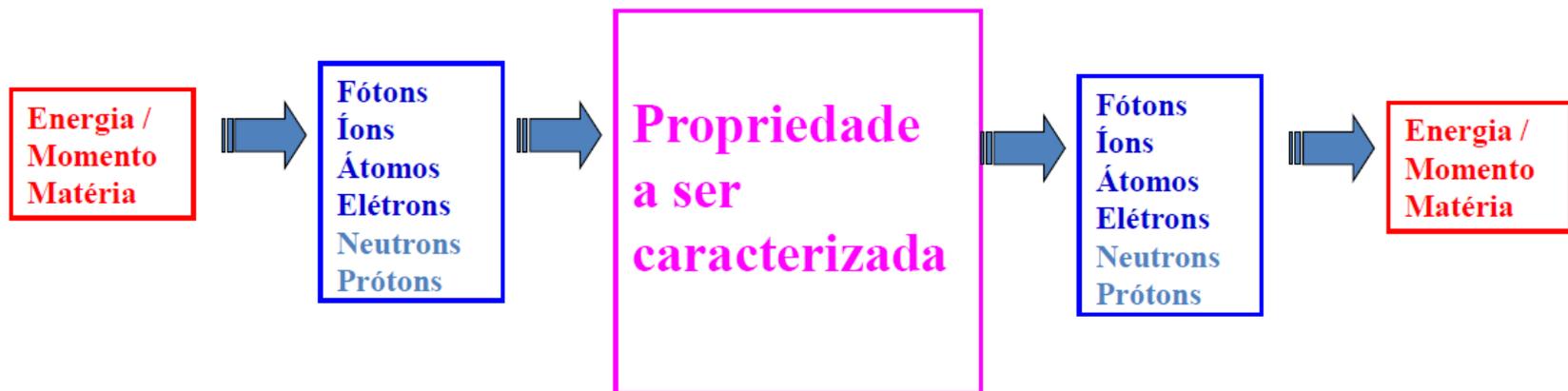
DEFINIÇÃO



Termo geral para a ciência que estuda a interação dos diferentes tipos de **radiação** com a **matéria**

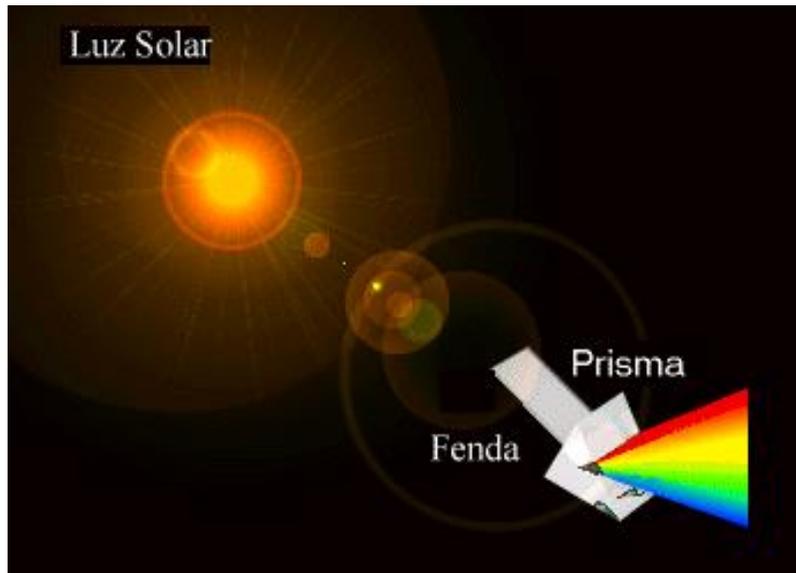
Espectroscopia

“Em Química e Física 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.”
(definição da wikipedia)

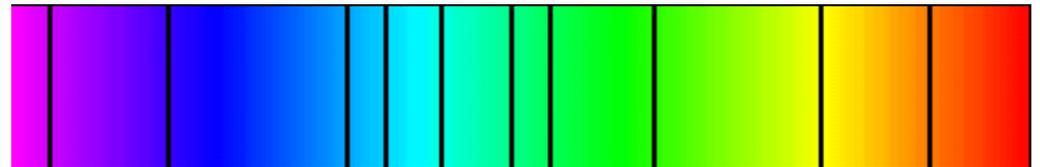


A Origem

- ▶ (1672) – Isaac Newton descreveu a decomposição da luz do sol ao passá-la através de um prisma



- ▶ 1802 – Wollaston descobriu linhas negras no espectro do sol



- ▶ 1802 – Fraunhofer (linhas Na)
- ▶ 1820 – Brewster (absorção na atmosfera)

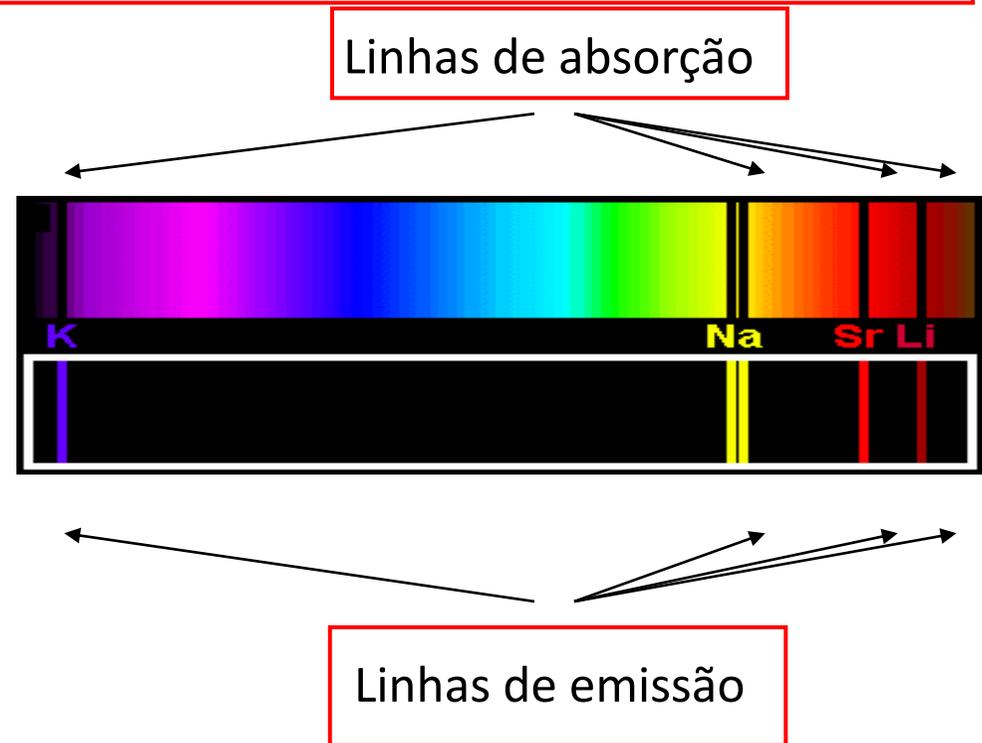
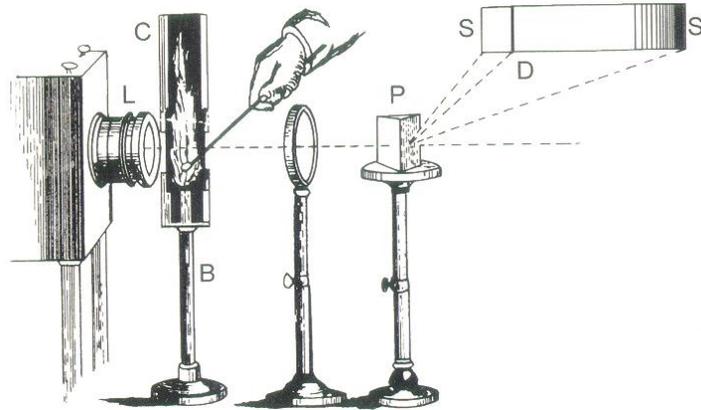
A Origem

► 1860 – G. Kirchhoff e R. Bunsen

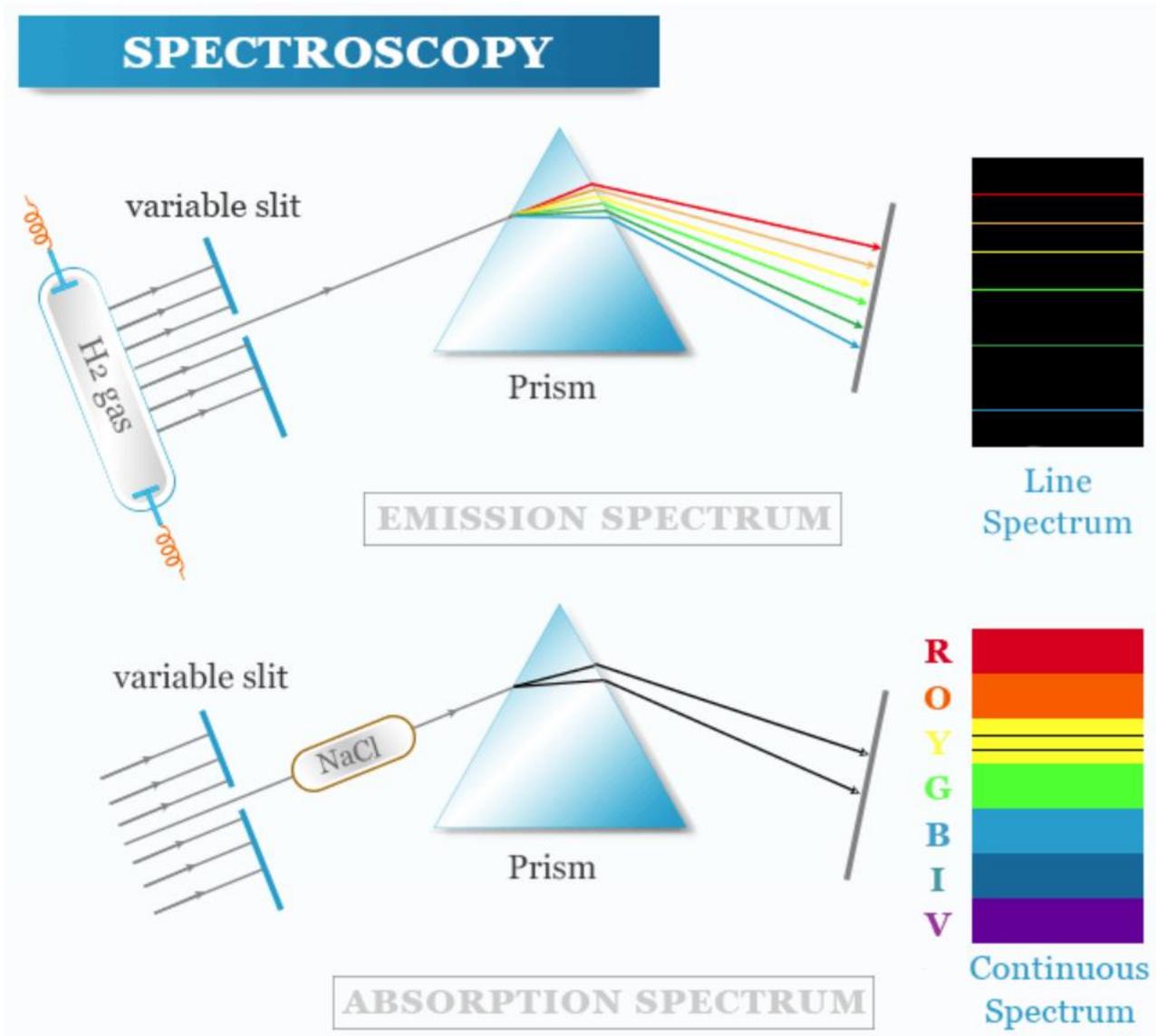
Princípio da Emissão e Absorção:

Qualquer material que pode emitir radiação em um determinado comprimento de onda absorverá a radiação daquele comprimento de onda.

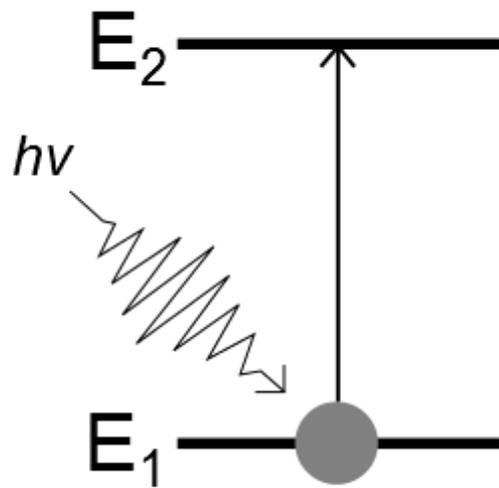
G. Kirchhoff



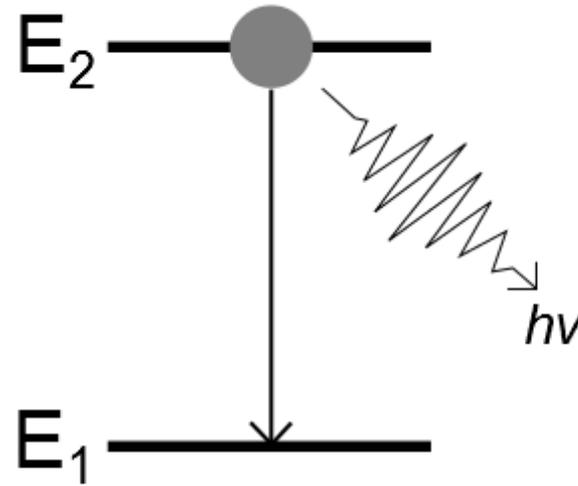
Absorção X Emissão



Absorção X Emissão



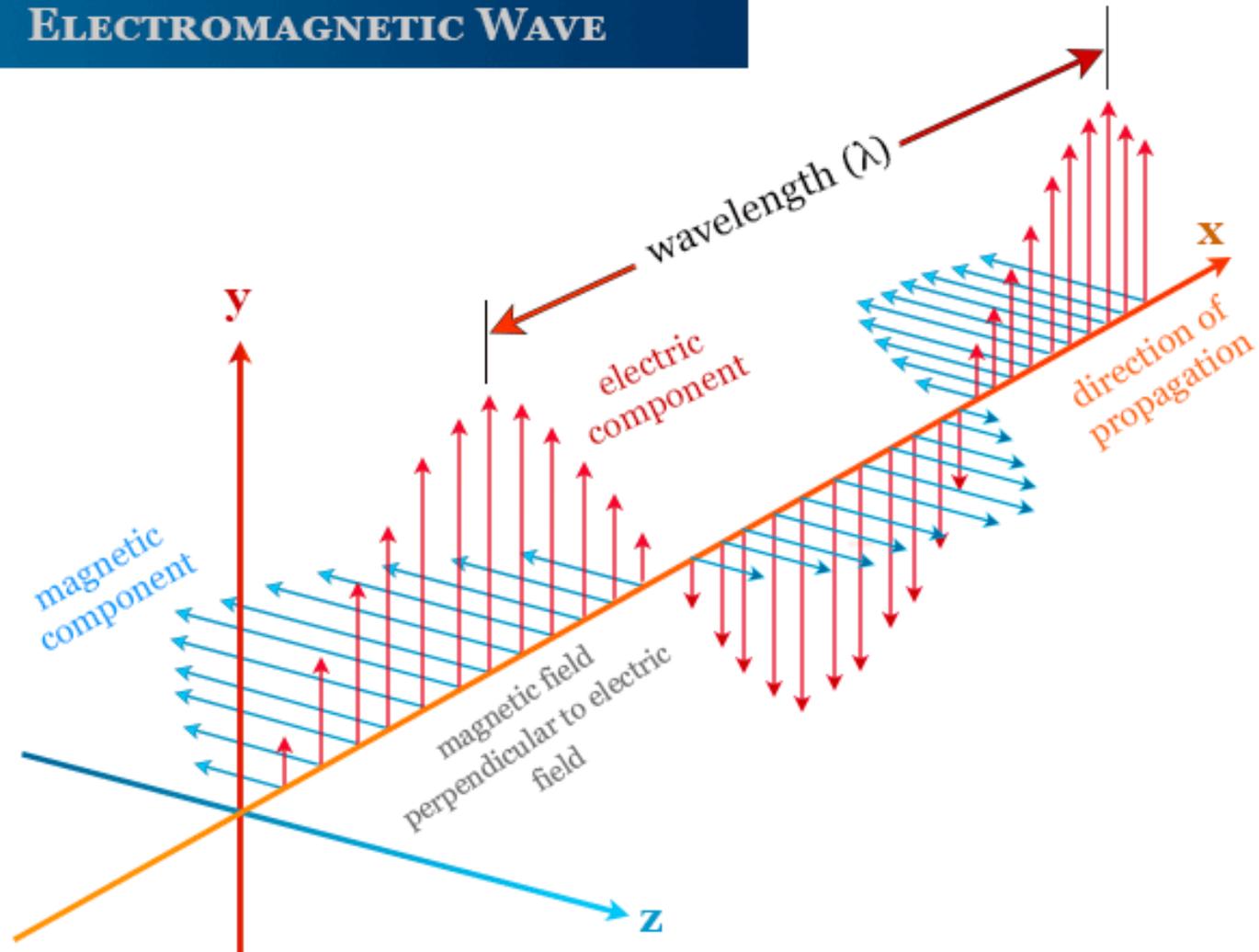
ABSORPTION
SPECTROSCOPY



EMISSION
SPECTROSCOPY

Radiação eletromagnética

ELECTROMAGNETIC WAVE



Propriedades gerais da radiação eletromagnética

Dualidade Partícula-onda

Modelo clássico de onda senoidal:



Parâmetros importantes:
comprimento de onda (λ),
Frequência (f), velocidade (v),
amplitude (h)

Modelo de partícula



Feixe de partículas discretas, ou
pacotes de energia chamados
fótons



Energia é proporcional à frequência
de radiação

$$E = h\nu$$

Espectrometria de Emissão e Absorção

Radiação eletromagnética

Parâmetro partícula

Explica a transferência de energia no objeto emissor ou no meio absorvente, nos processos de emissão e absorção.



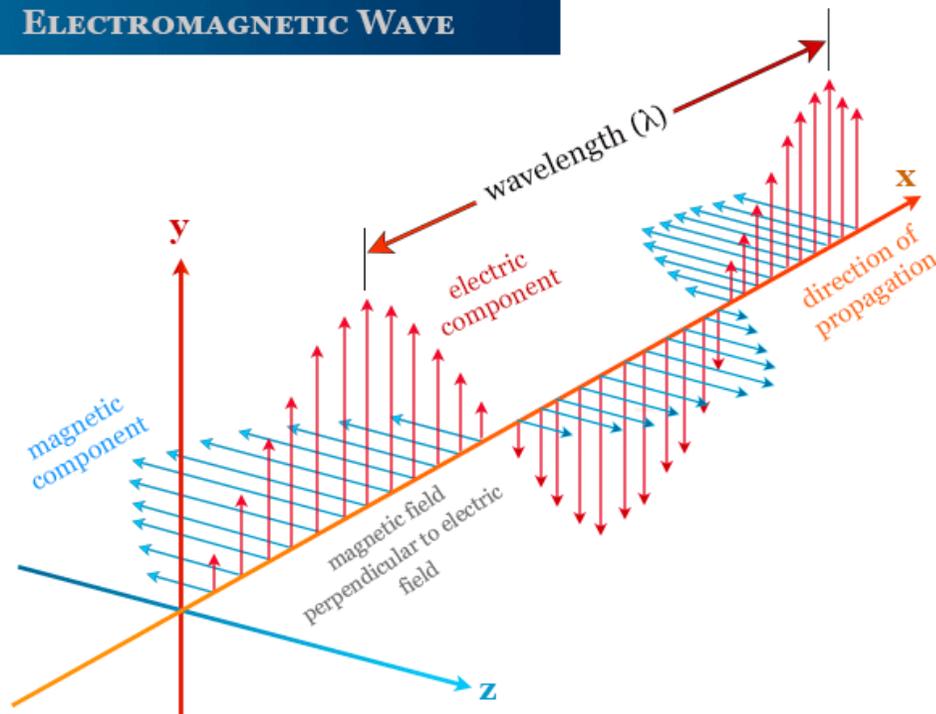
Radiação é vista como pequenos pacotes de energia (fótons ou quanta)

Radiação eletromagnética

Parâmetro de onda

Campo elétrico e campo magnético que se propagam em fase, oscilando senoidalmente, perpendiculares entre si e à direção de propagação

ELECTROMAGNETIC WAVE



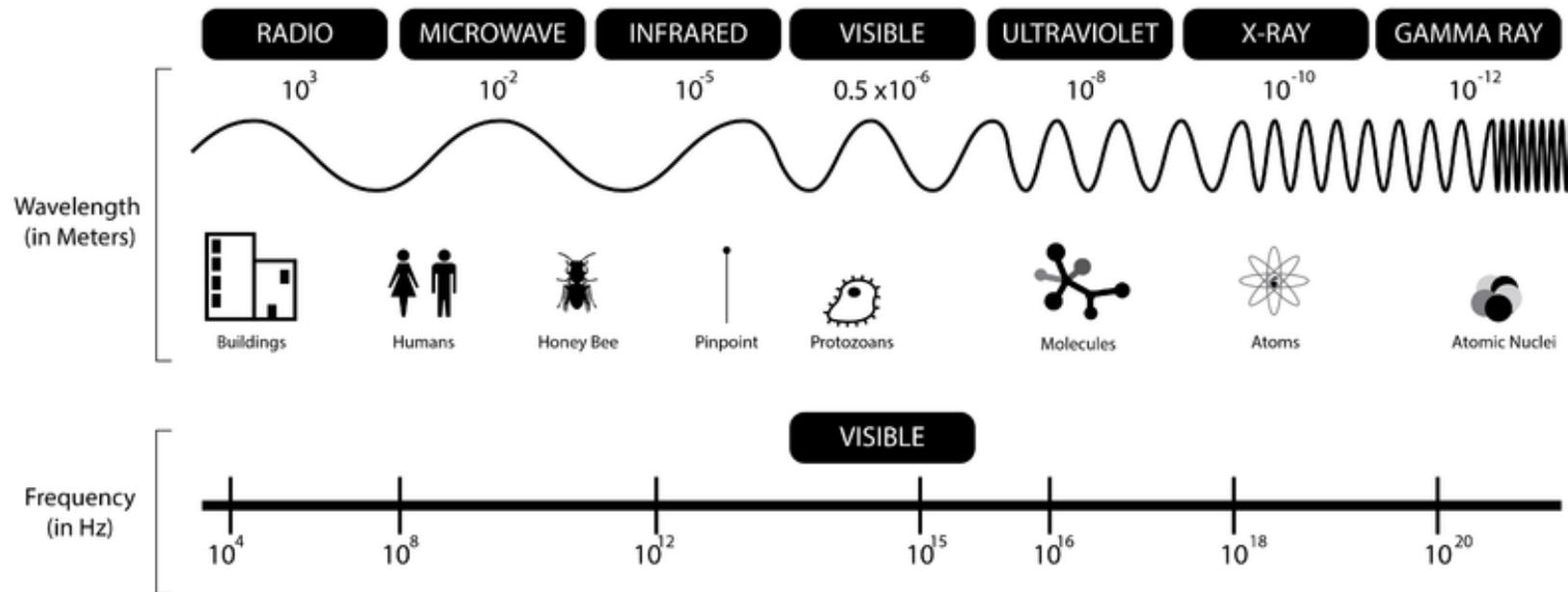
$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

$$h \cong 6,6 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

$$c \cong 3,0 \times 10^8 \text{ m/s}$$

Espectroscopia

THE ELECTROMAGNETIC SPECTRUM



Absorção de radiação eletromagnética



Região	Transições
Raios δ	Nucleares
Raios X	Eletrônicas (interno)
Ultravioleta	Eletrônicas (camada de valência)
Visível	Eletrônicas (camada de valência)
Infravermelho	Vibracionais e rotacionais
Micro-ondas	Rotacionais
Ondas de rádio	Spin

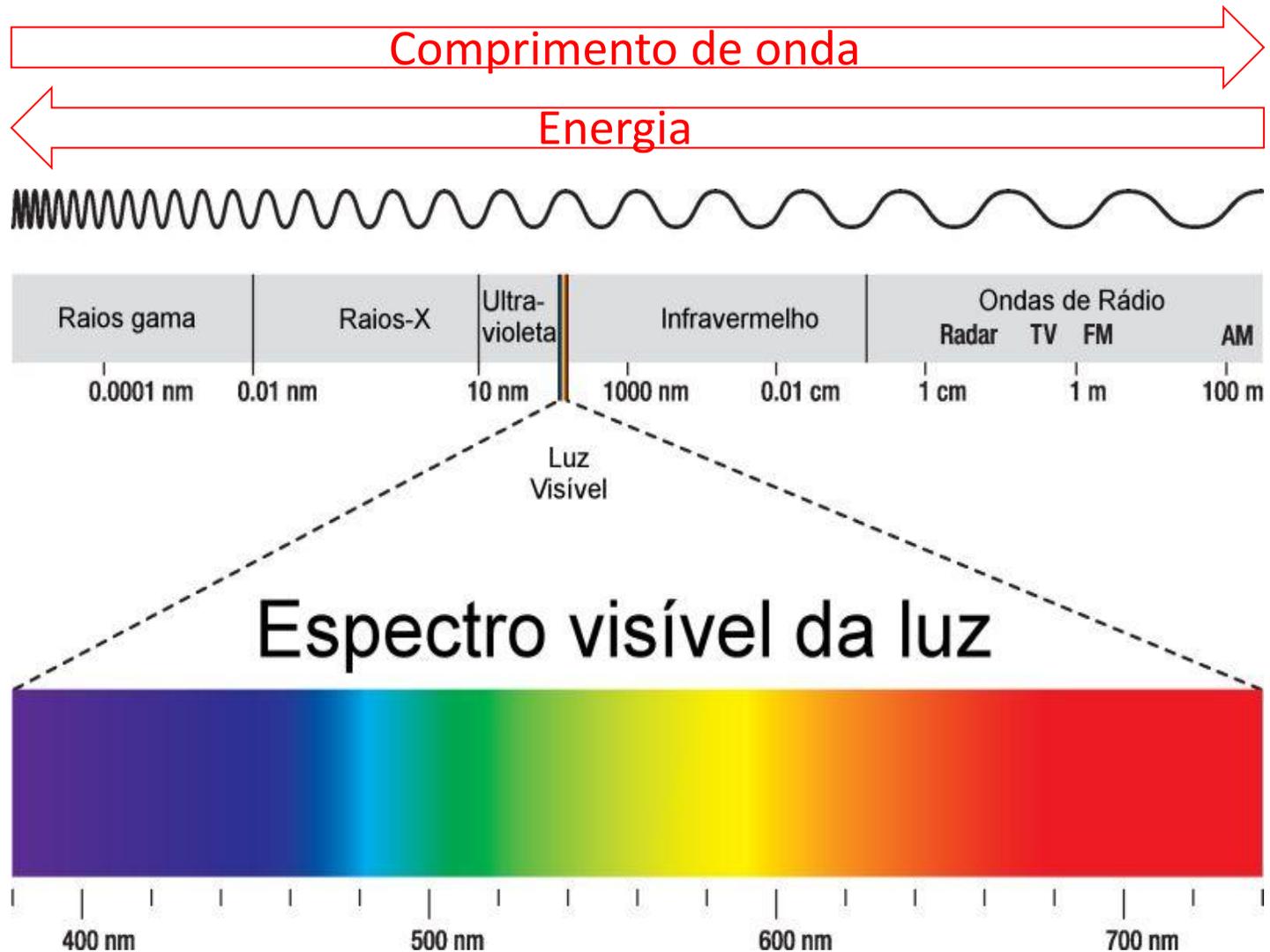
↑ Frequência

↑ Energia

↓ Comprimento de onda

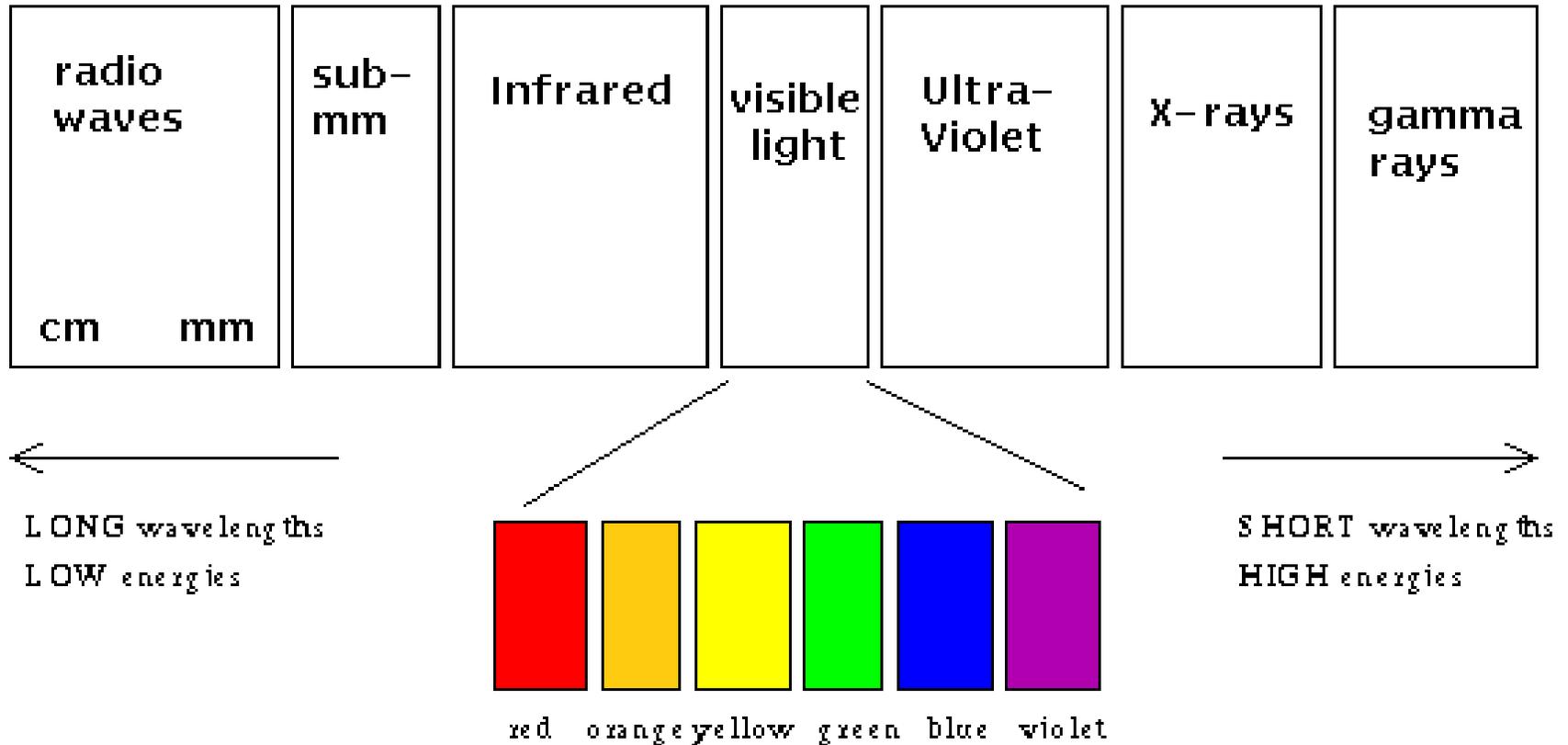
Electromagnetic spectrum region	Wavelength (λ)	Frequency (cm^{-1})	Energy (kJ/mole)
Cosmic rays	5×10^{-5} nm		
Gamma rays	$10^{-3} - 15$ nm		
x-rays	$0.01 - 15$ nm		
Far UV	$15 - 200$ nm	666,667 – 50,000	7979.8 – 598.3
Near UV	$200 - 400$ nm	50,000 – 20,000	598.3 – 299.2
Visible	$400 - 800$ nm	25,000 – 12,500	299.2 – 149.4
Near IR	$0.8 - 2.5 \mu$	15,500 – 4000	149.4 – 47.7
Vibrational IR	$2.5 - 25 \mu$	4,000 – 400	47.7 – 4.8
Far IR	$0.025 - 0.5$ mm	400 – 200	4.8 – 2.4
Microwave	$0.05 - 300$ mm	200 – 0.033	$2.4 - 2.2 \times 10^{-4}$
Radio frequencies	$0.3 - 10^9$ m		

Espectro eletromagnético



Colour of light	Wavelength
Violet	400 – 435
Blue	435 – 480
Green-blue	480 – 490
Blue-green	490 – 500
Green	500 – 560
Yellow-green	560 – 580
Yellow	580 – 595
Orange	595 – 610
Red	610 – 750

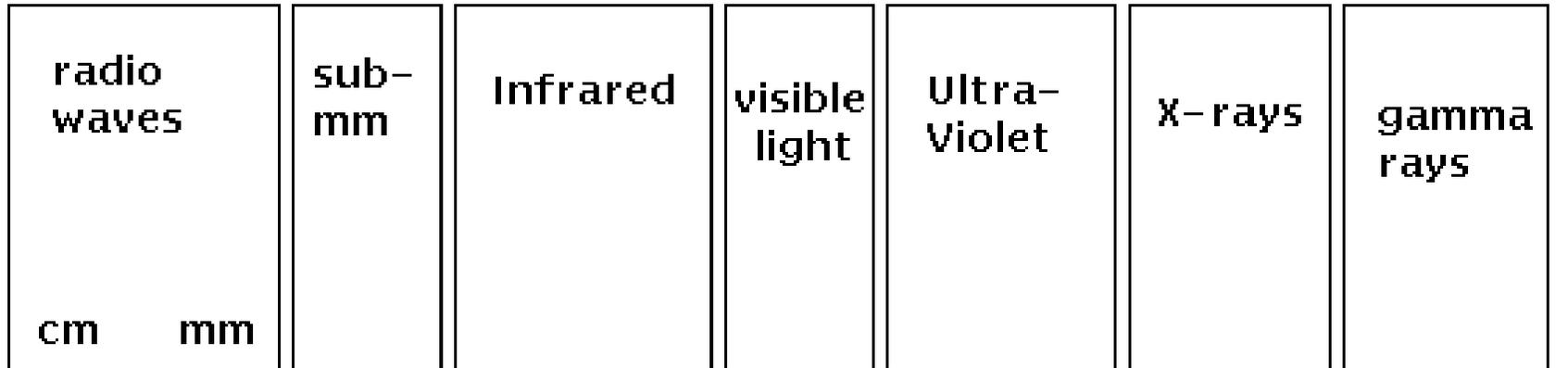
Espectroscopia



Exemplo: http://phet.colorado.edu/sims/html/molecules-and-light/latest/molecules-and-light_en.html

Diferentes faixas de energia causam diferentes efeitos nos átomos / moléculas!

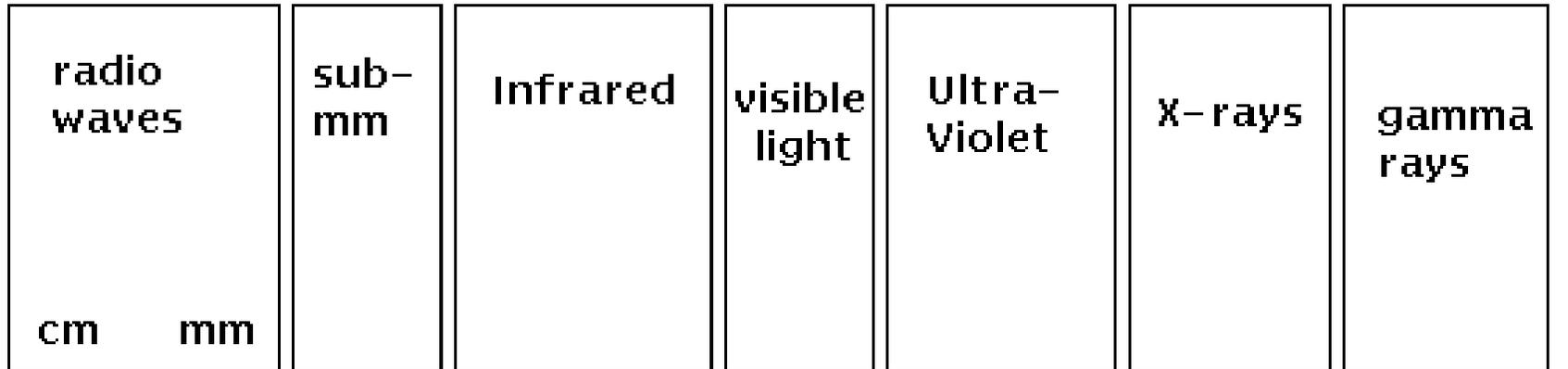
Espectroscopia



- Energia rotação das Moléculas
- Algumas transições atômicas

Diferentes faixas de energia causam diferentes efeitos nos átomos / moléculas!

Espectroscopia



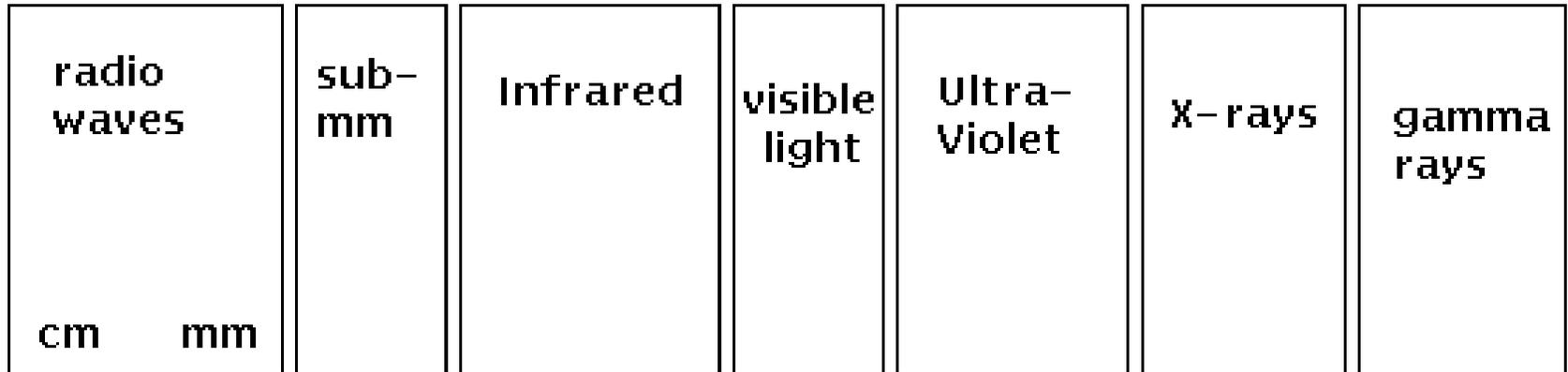
←
LONG wavelengths
LOW energies

- Energia de
vibração das
moléculas

→
SHORT wavelengths
HIGH energies

Diferentes faixas de energia causam diferentes efeitos nos átomos / moléculas!

Espectroscopia



←
LONG wavelengths
LOW energies

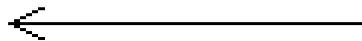
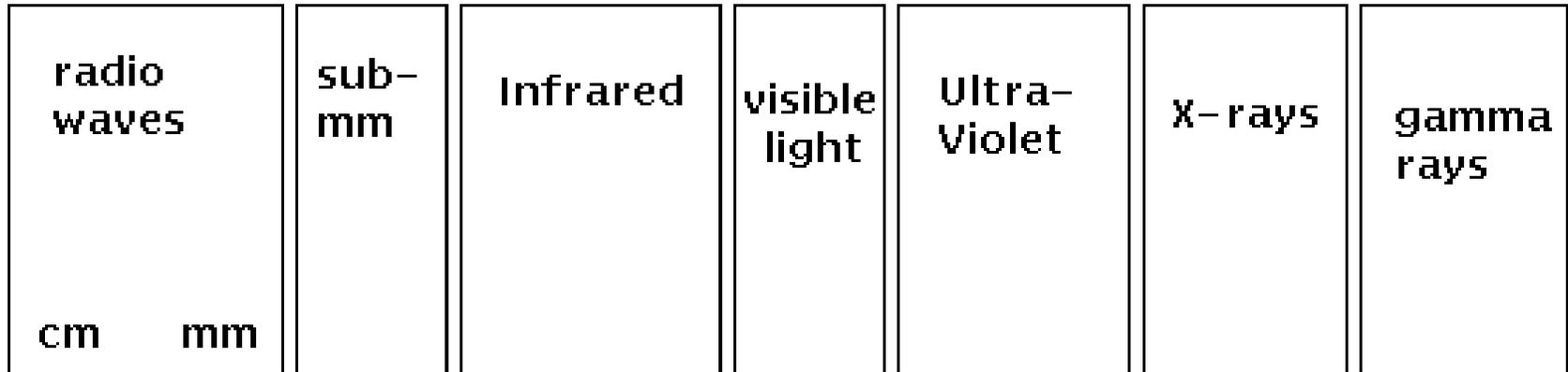


→
SHORT wavelengths
HIGH energies

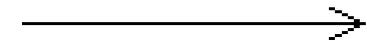
- Energia de excitação eletrônica das moléculas
- Transições atômicas

Diferentes faixas de energia causam diferentes efeitos nos átomos / moléculas!

Espectroscopia



LONG wavelengths
LOW energies



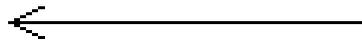
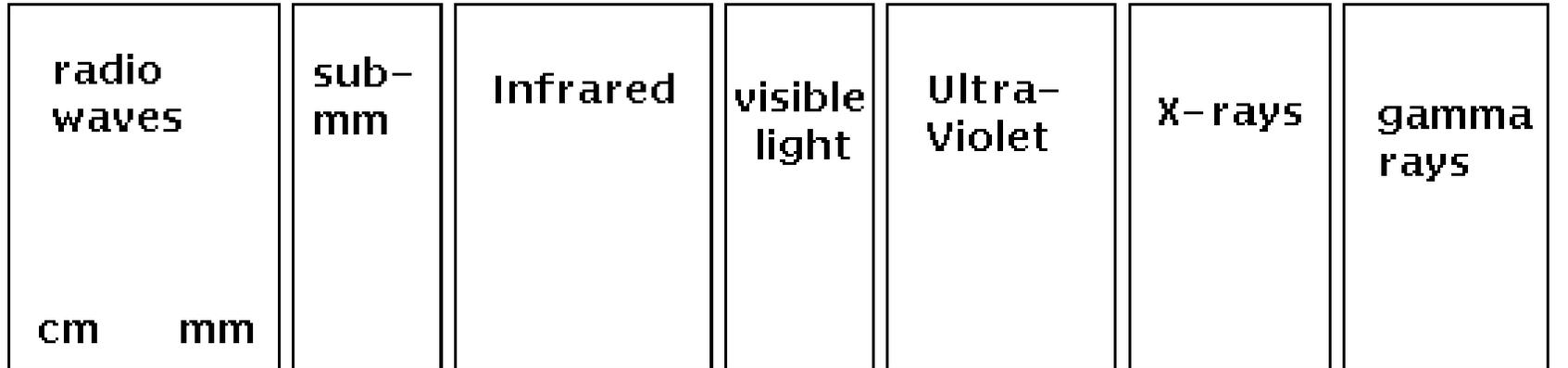
SHORT wavelengths
HIGH energies



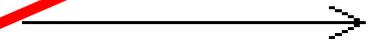
- Camadas eletrônicas dos átomos.

Diferentes faixas de energia causam diferentes efeitos nos átomos / moléculas!

Espectroscopia



LONG wavelengths
LOW energies

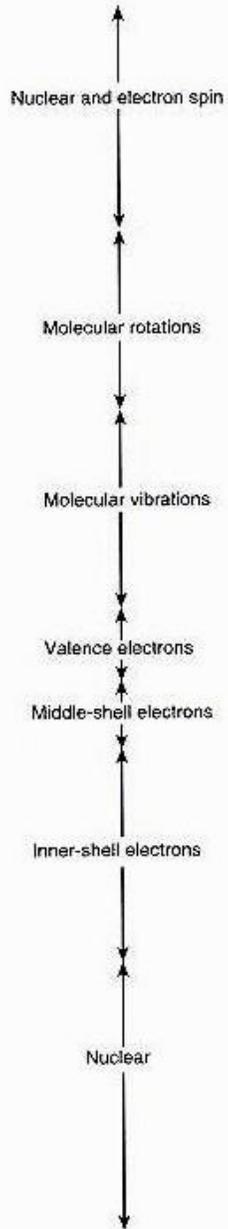


SHORT wavelengths
HIGH energies

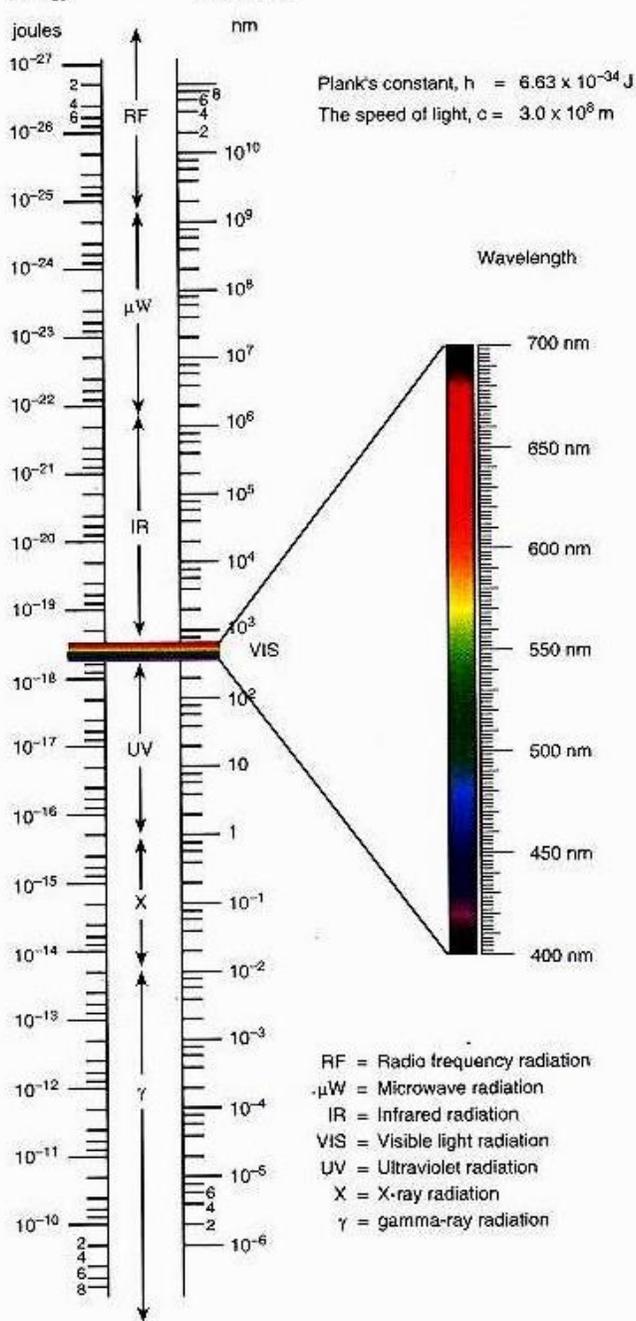
- Núcleo do átomo

Diferentes faixas de energia causam diferentes efeitos nos átomos / moléculas!

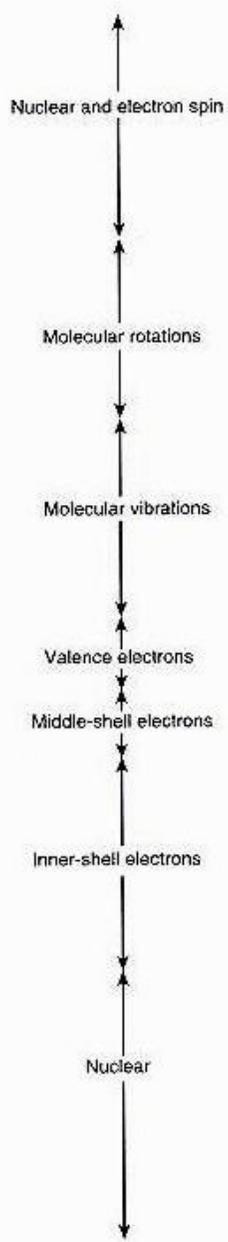
Energy Level Transition



Energy Wavelength



Energy Level Transition



Energy Wavelength

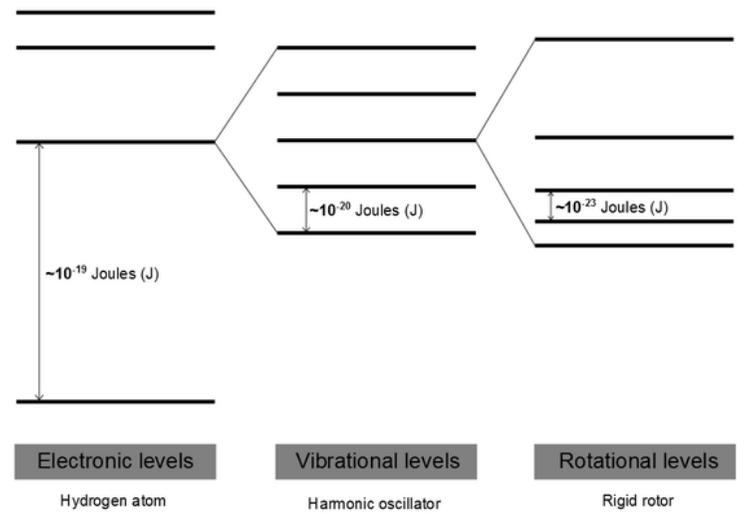
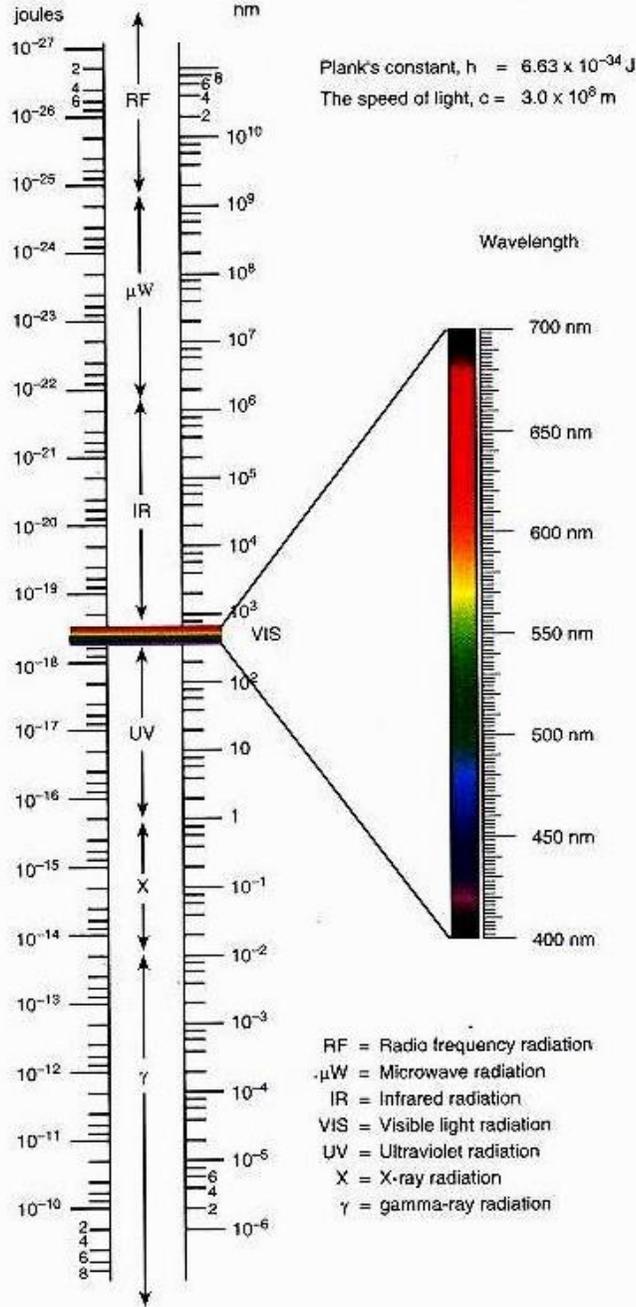
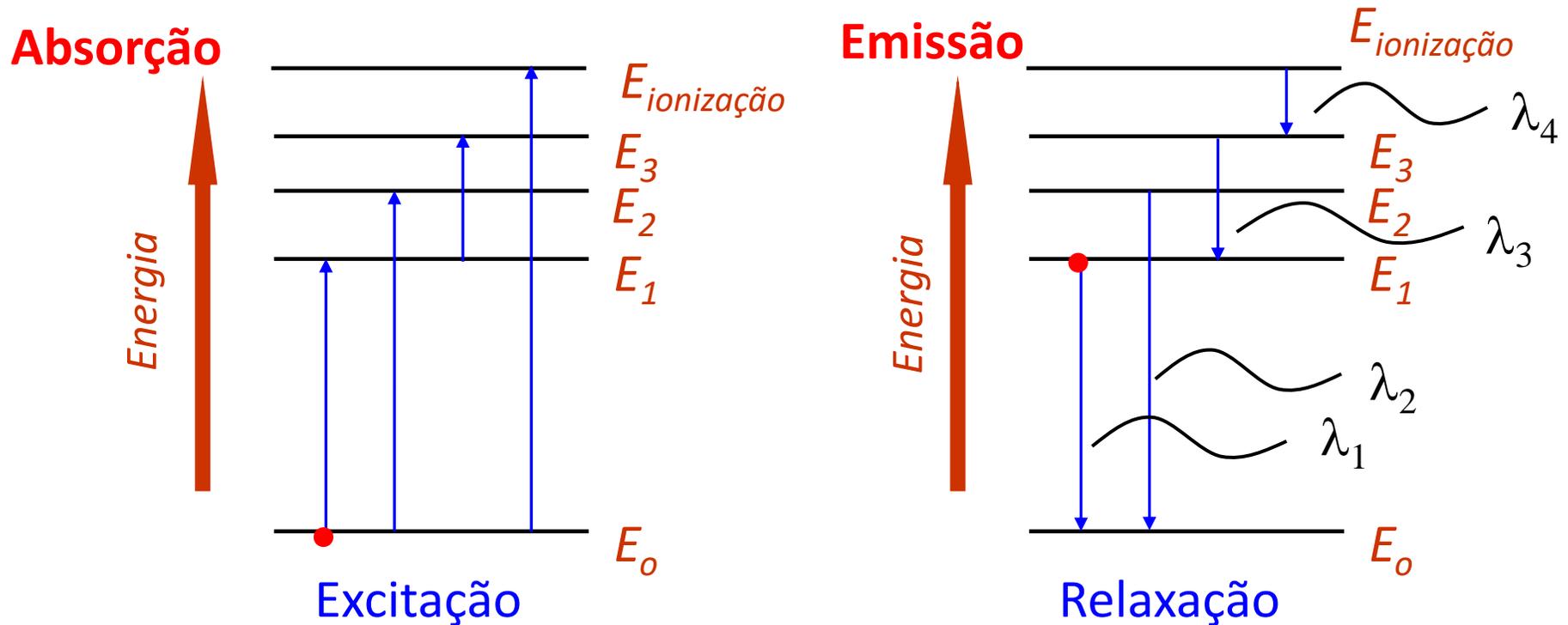


TABELA 6-1 Métodos Espectroscópicos Comuns Baseados na Radiação Eletromagnética

Tipo de Espectroscopia	Intervalo Usual de Comprimento de Onda*	Intervalo Usual de Número de Onda, cm^{-1}	Tipo de Transição 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 ultravioleta no vácuo	10-180 nm	1×10^6 a 5×10^6	Elétrons de ligação
Absorção, emissão e fluorescência ultravioleta-visível	180-780 nm	5×10^4 a $1,3 \times 10^4$	Elétrons de ligação
Absorção infravermelha e espalhamento Raman	0,78-300 μm	$1,3 \times 10^4$ a $3,3 \times 10^3$	Rotação/vibração de moléculas
Absorção de microondas	0,75-3,75 mm	13-27	Rotação de moléculas
Ressonância de spin eletrônico	3 cm	0,33	Spin dos elétrons em um campo magnético
Ressonância magnética nuclear	0,6-10 m	$1,7 \times 10^{-2}$ a 1×10^3	Spin dos núcleos em um campo magnético

*1 Å = 10^{-10} m = 10^{-8} cm
 1 nm = 10^{-9} m = 10^{-7} cm
 1 μm = 10^{-6} m = 10^{-4} cm

O que acontece quando uma molécula/átomo absorve luz?



$$\Delta E = E_1 - E_0 = h\nu = hc/\lambda$$

Estados energéticos das Espécies Químicas

1900 – Max Plack – Teoria Quântica

1. Átomos, íons ou moléculas podem existir somente em certos estados discretos (energia definida). Quando uma espécie altera o seu estado, **absorve** ou **emite** uma quantidade de energia exatamente igual à diferença de energia entre os estados.

2.
$$E_1 - E_0 = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

ν = frequência

λ = comprimento de onda



Estão relacionados com a diferença de energia entre os estados

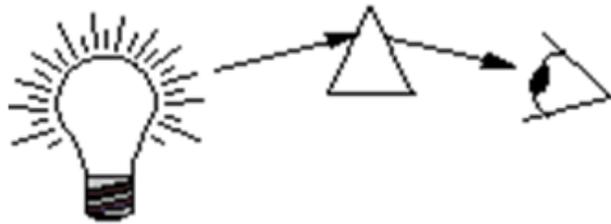
E_1 = Energia do estado mais alto

E_0 = Energia do estado mais baixo

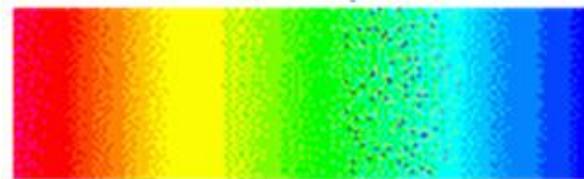
h = constante de planck

C = velocidade da luz

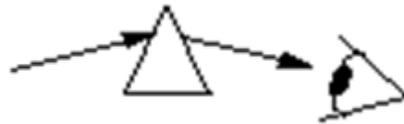
Emissão e absorção da radiação



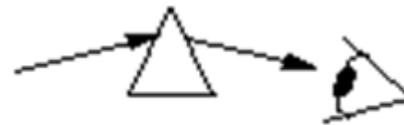
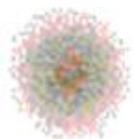
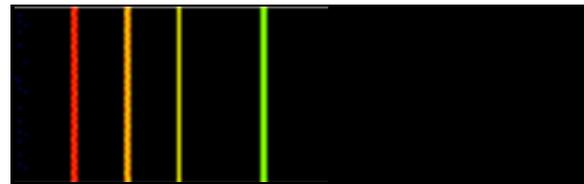
Espectro contínuo



Amostra
Excitação



Espectro de emissão



Espectro de absorção

