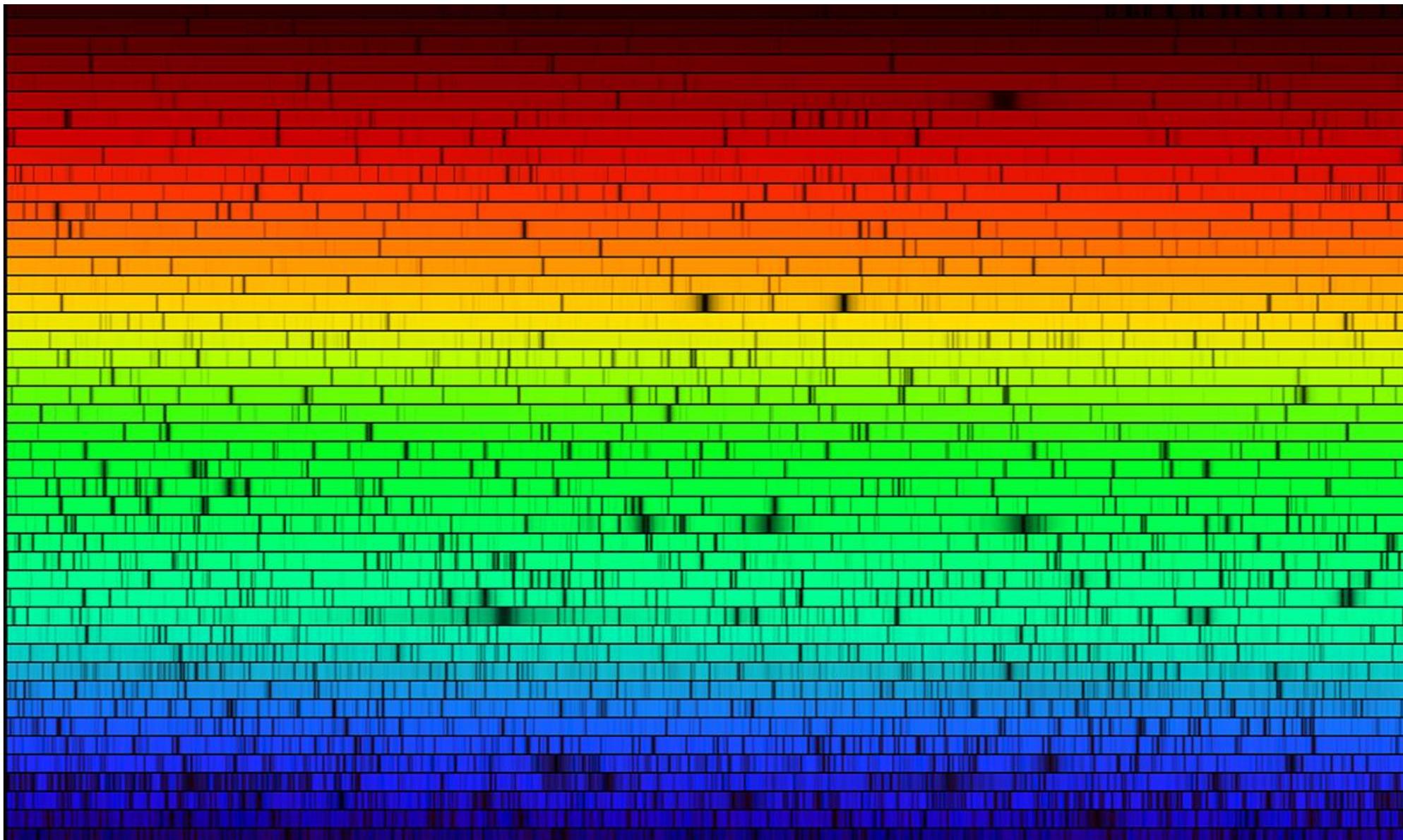


Espectrofotometria UV-VIS

Skoog – Princípios de Análise Instrumental

Cap. 13 – Introdução à Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível

Cap. 14 – Aplicações da Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível



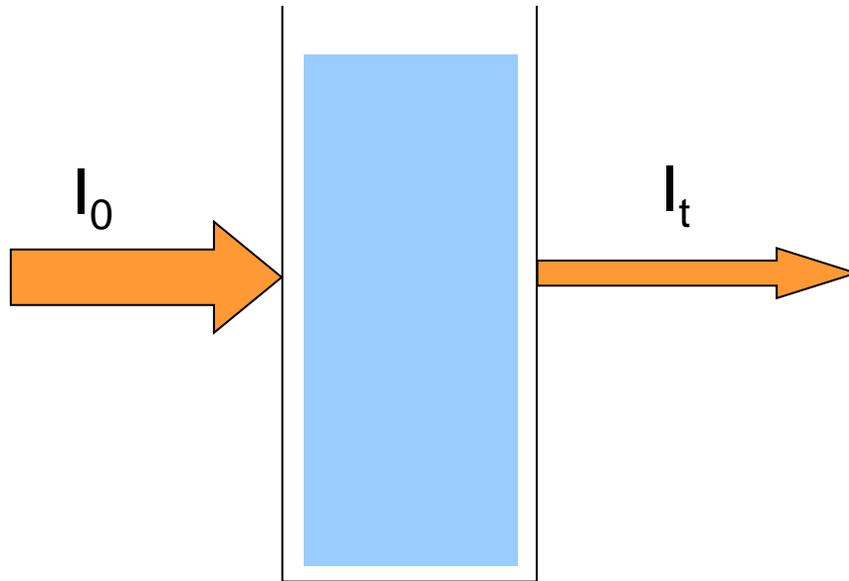
Espectrofotometria UV-vis

Princípio fundamental

A espectrofotometria de absorção molecular UV-Vis está baseada na medida da transmitância T ou absorbância A da radiação eletromagnética na região do ultravioleta e visível (comprimento de onda entre 160 e 780 nm), por soluções contidas em células transparentes tendo um caminho óptico de b cm.

Princípio fundamental

absorção



$$I_t \ll I_0$$

Processos

Spectrophotometric Processes

Transmittance



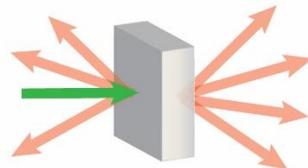
Reflectance



Emittance

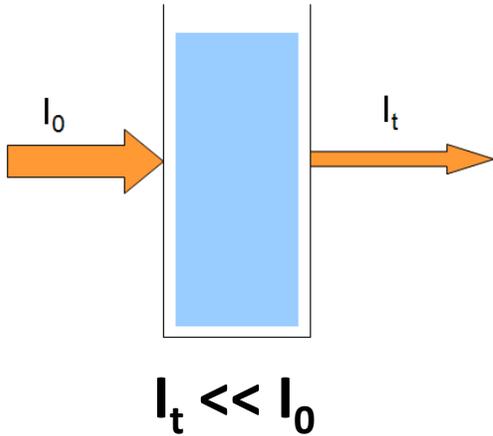


Fluorescence



Fonte: <https://www.nist.gov/programs-projects/spectrophotometry>

Princípio fundamental



Transmitância: Fração da luz original que passa pela amostra

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

($T = 0$ a 1)

Absorbância:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = -\log T$$

Princípio fundamental

Absorbância:

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = -\log T$$

◆ Quando nenhuma luz é absorvida: $I_t = I_0 \longrightarrow A = \log 1 \longrightarrow A = 0$

◆ Quando 90% da luz é absorvida:

$$A = \log \frac{100}{10} = \log 10 \longrightarrow A = 1$$

Lei de Beer - Lambert

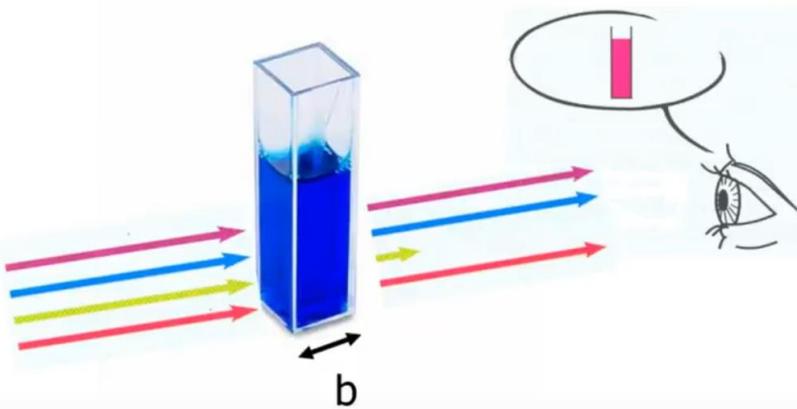
Absorbância \propto Concentração de analito

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

mol l^{-1}

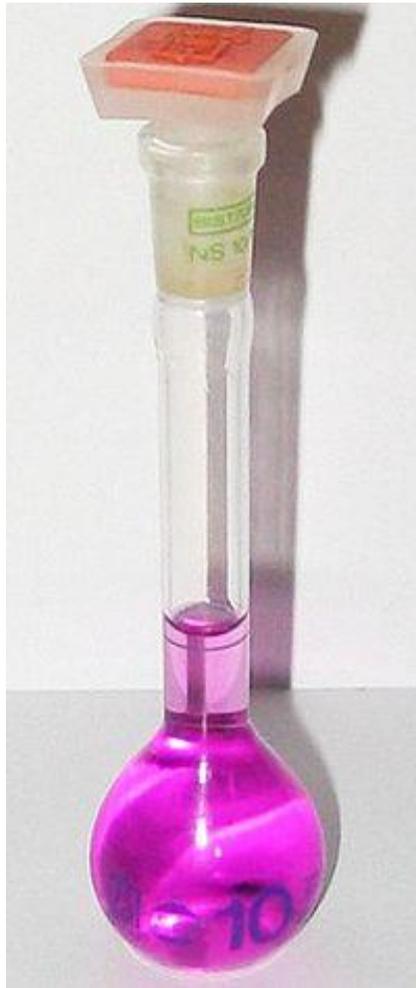
cm

$\text{mol}^{-1} \text{ l cm}^{-1}$

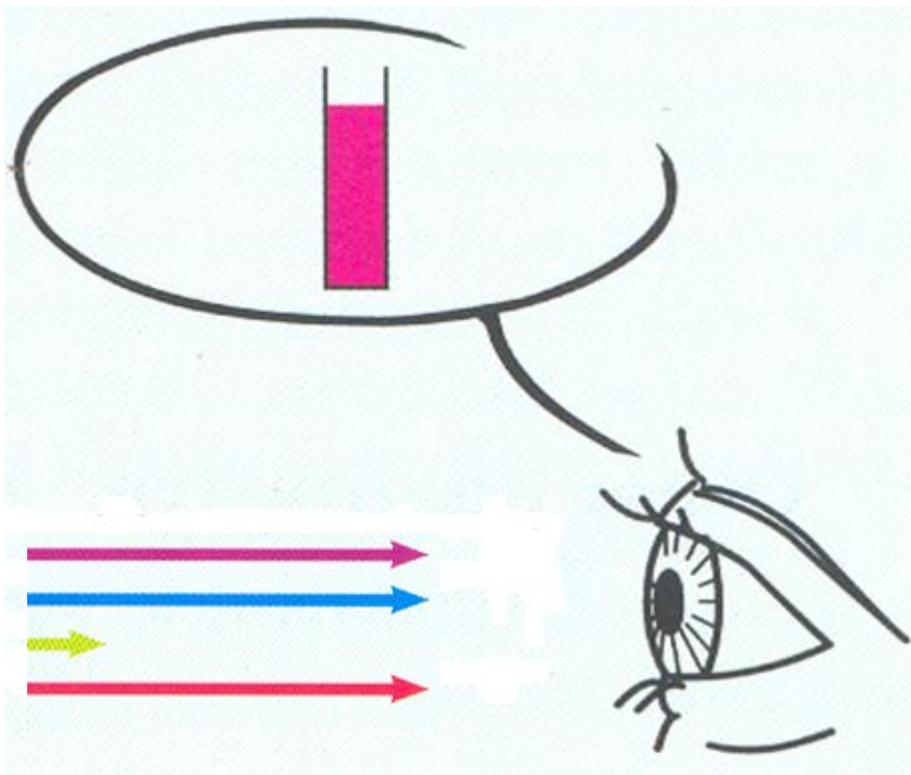
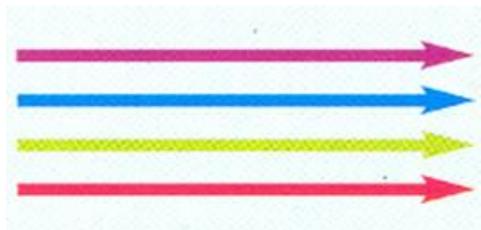


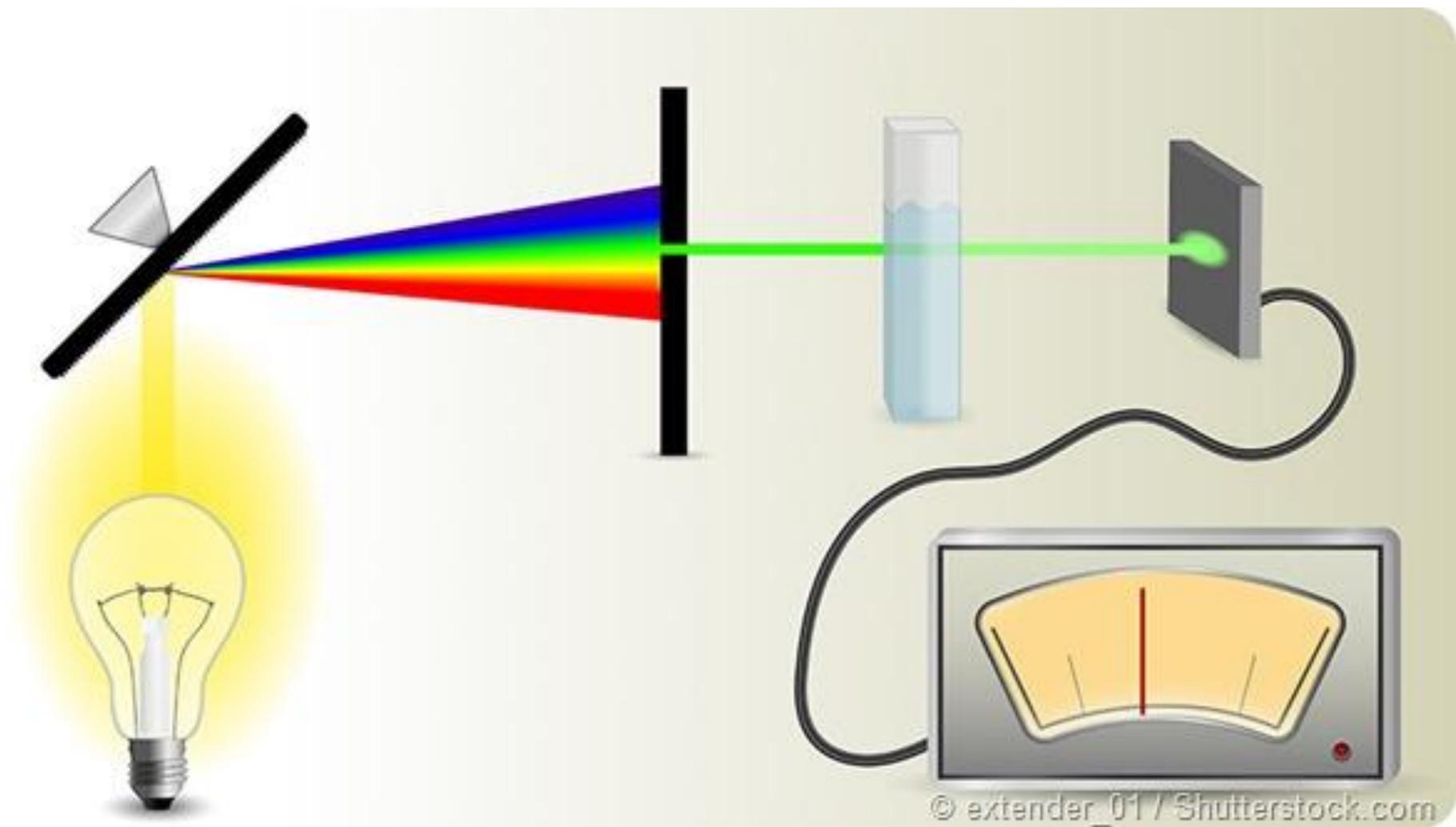
$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot b \cdot C$$

Dependem de λ !!!



**A parte da molécula responsável
pela ABSORÇÃO da luz é
denominada CROMÓFORO**





absorvida

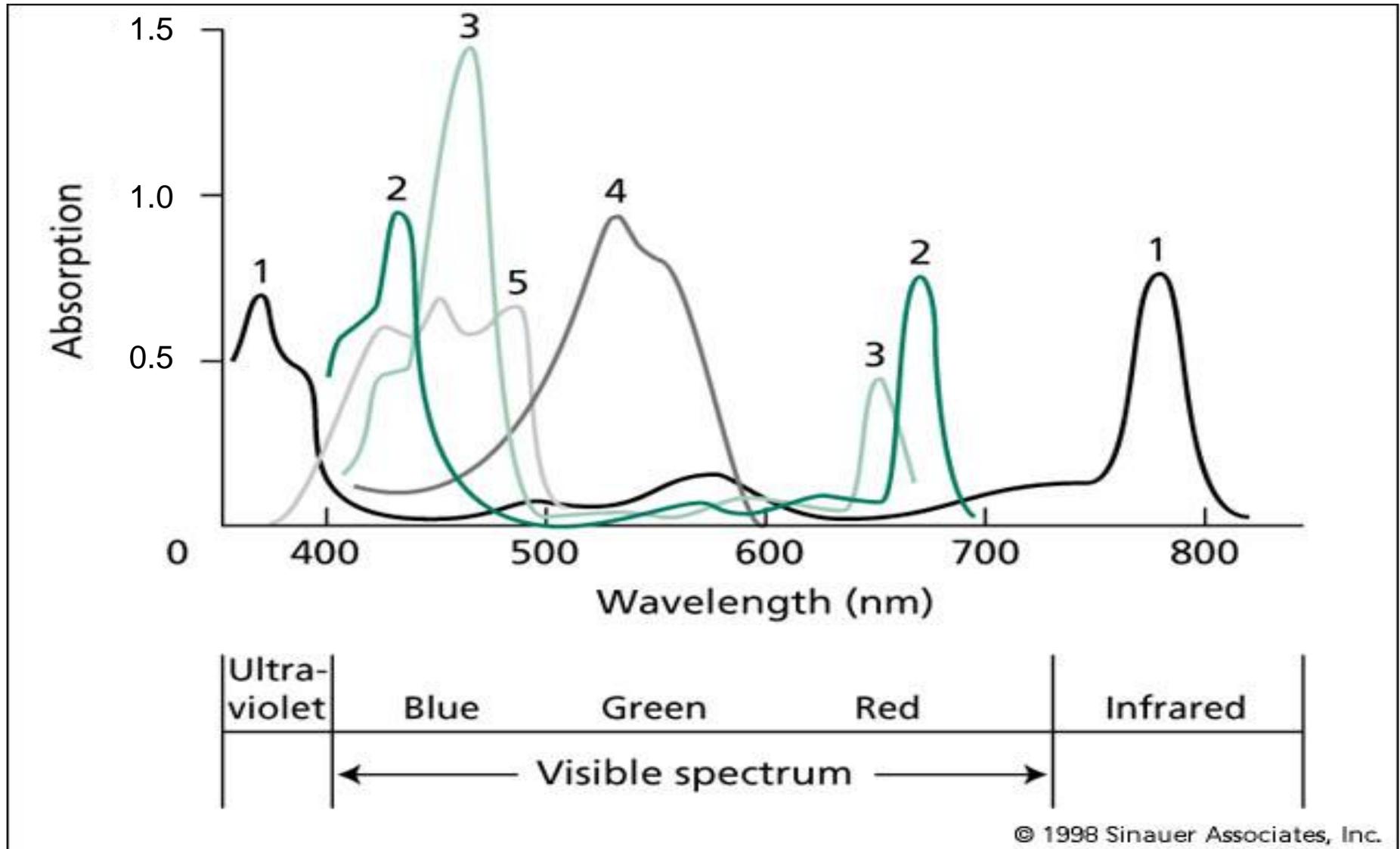


transmitida

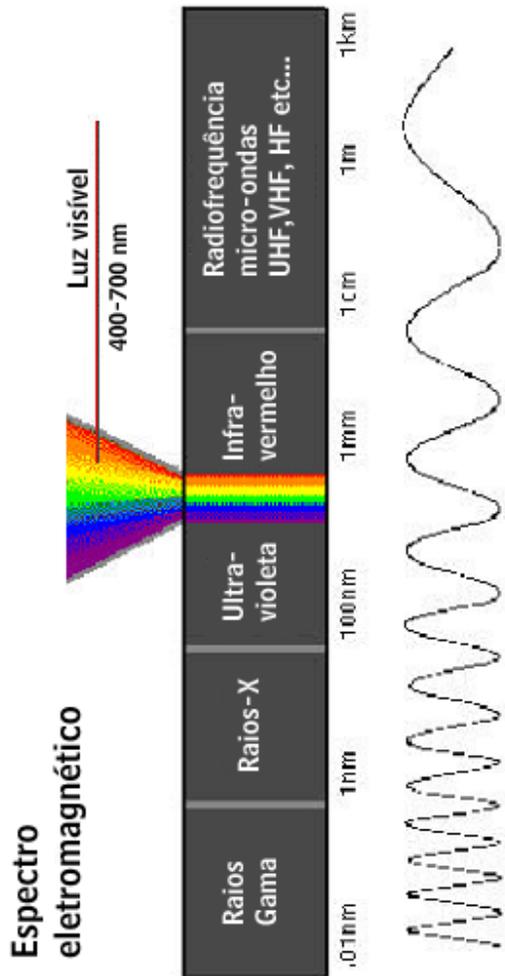


λ / nm	cor	cor complementar
380-420	violeta	verde-amarelo
420-440	violeta-azul	amarelo
440-470	azul	laranja
470-500	azul-verde	vermelho
500-520	verde	púrpura
520-550	verde-amarelo	violeta
550-580	amarelo	violeta-azul
580-620	laranja	azul
620-680	vermelho	azul-verde
680-780	púrpura	verde

Espectros de absorção de diferentes substâncias



Absorção de radiação por espécies moleculares

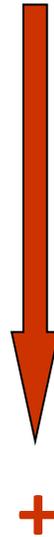


⇒ rotação

⇒ vibração

⇒ transições eletrônicas

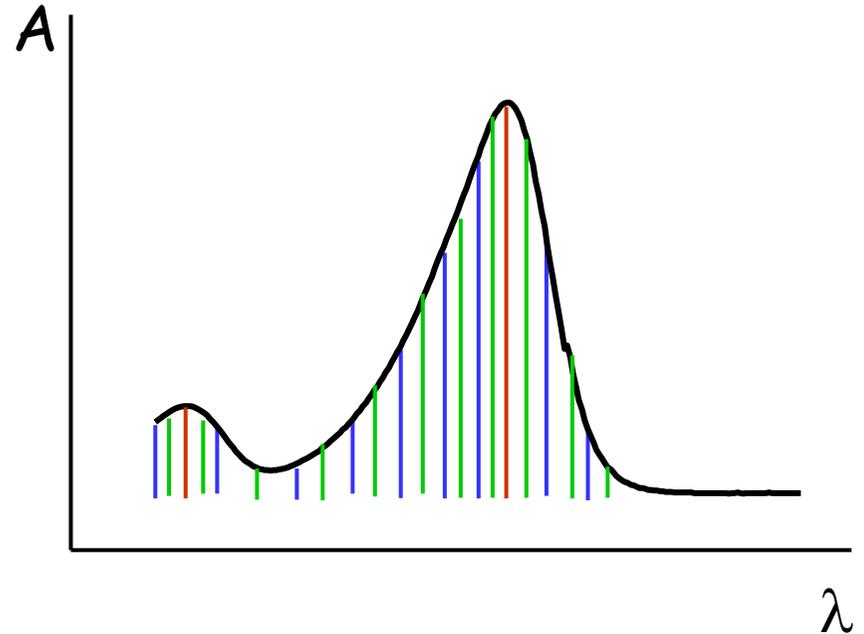
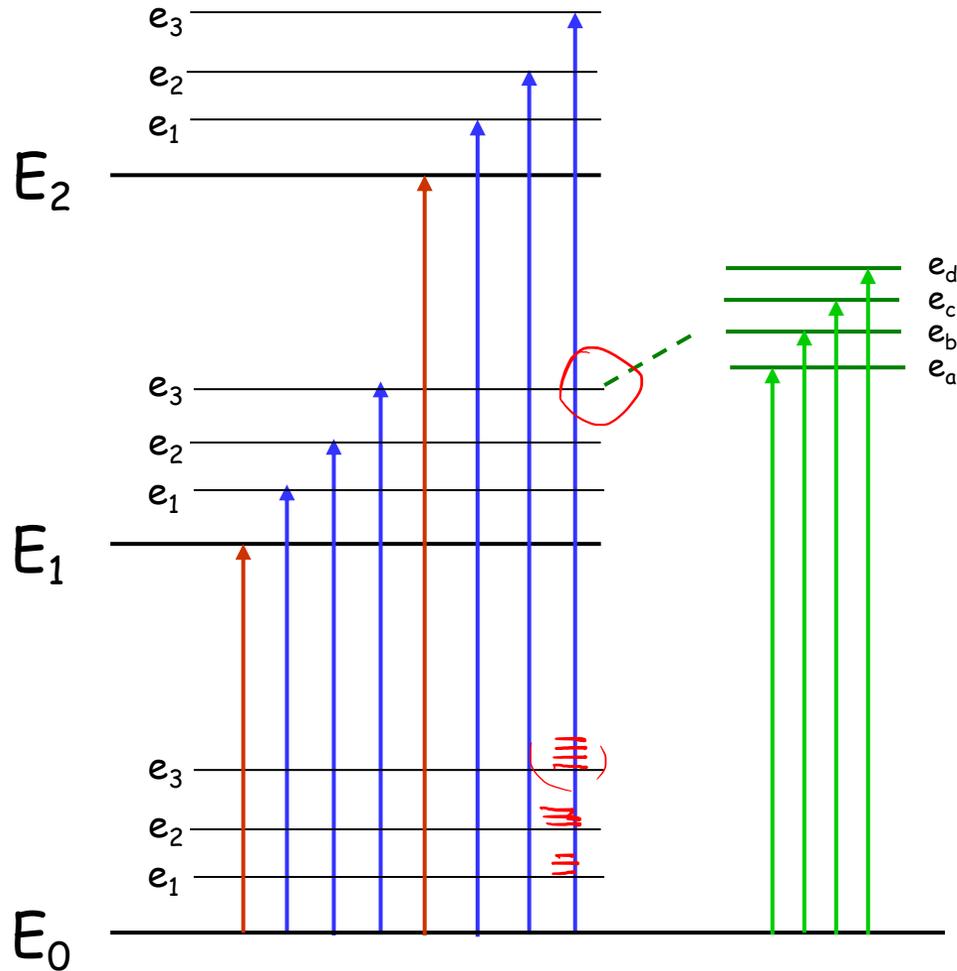
Energia



+

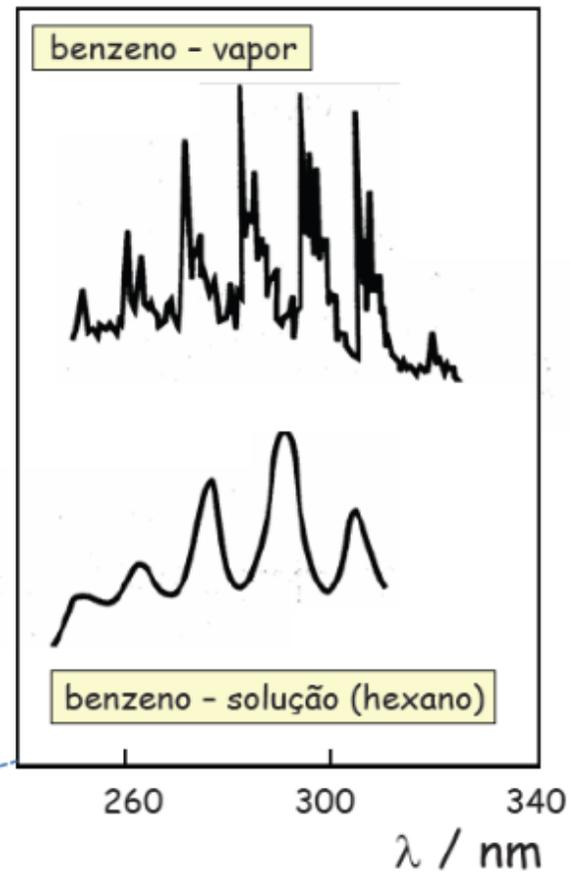
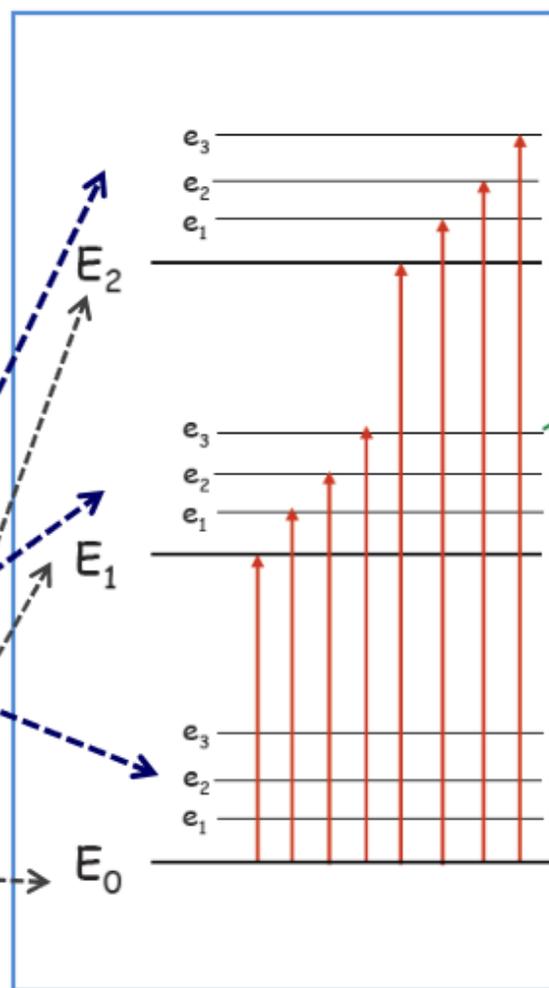


Absorção de radiação eletromagnética



Níveis de energia vibracional

Níveis de energia eletrônicos



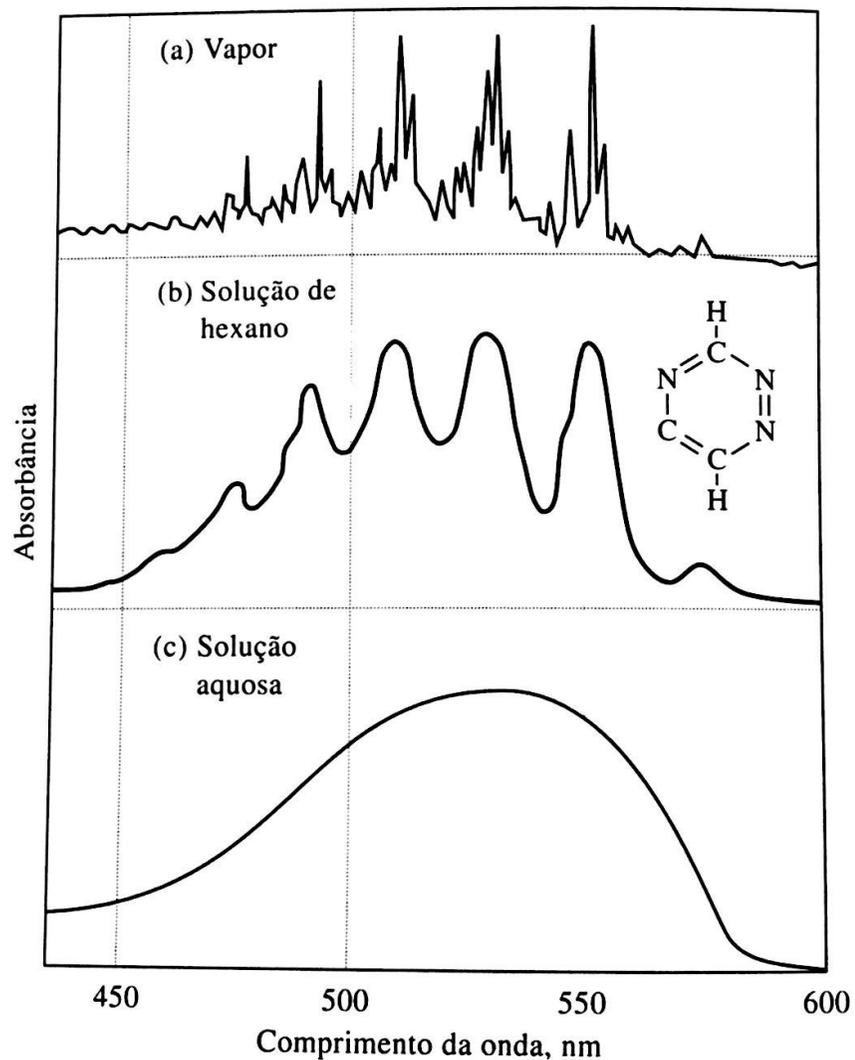


Figura 14-5 Espectros de absorção ultravioleta para 1,2,4,5-tetrazina (a) em fase de vapor, (b) em solução de hexano e (c) solução aquosa (obtido de S. F. Mason, J. Chem. Soc. **1959**, 1265; com permissão)

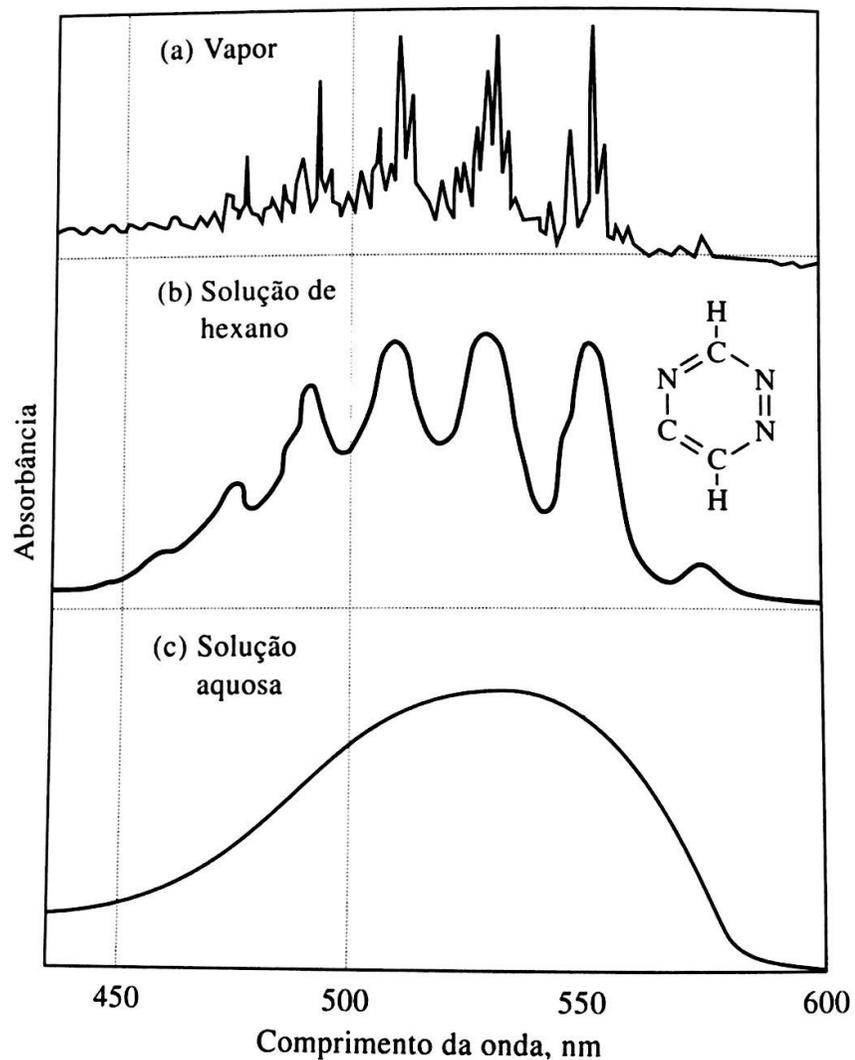
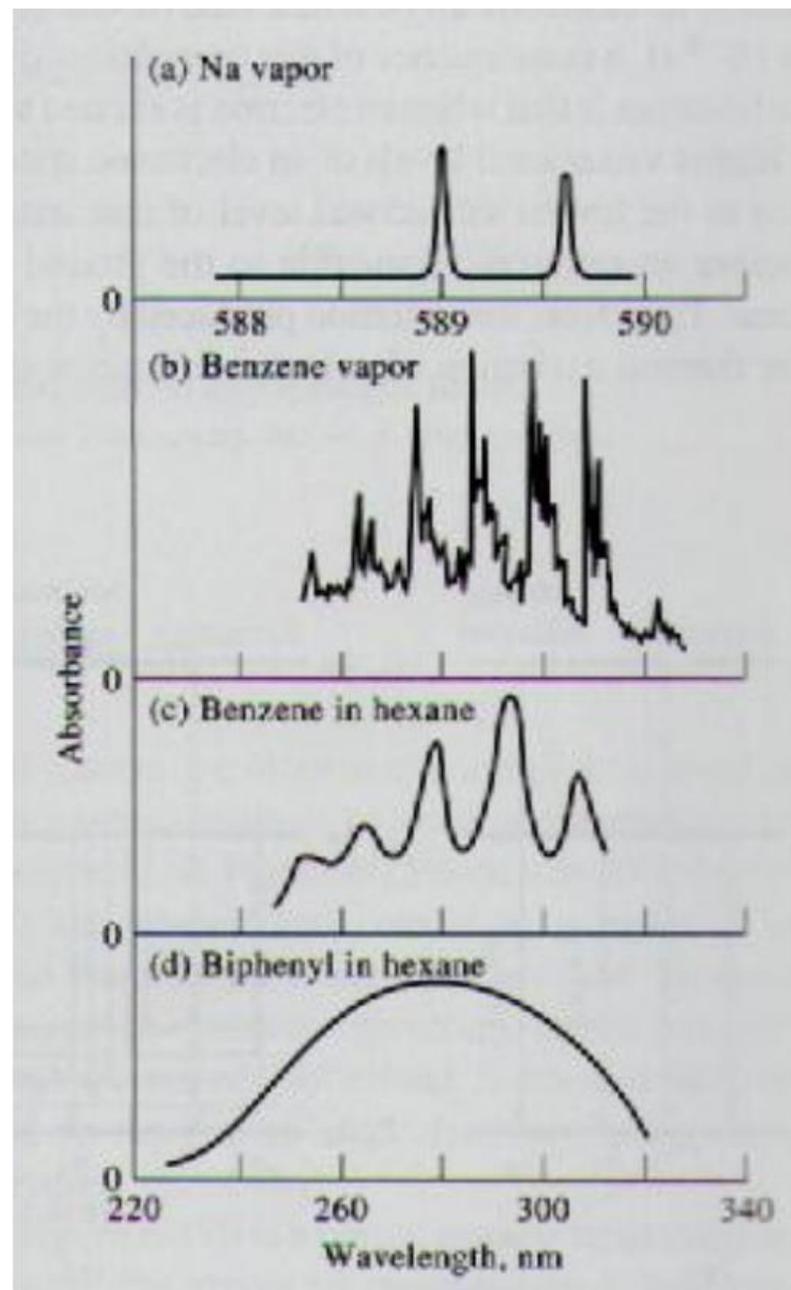
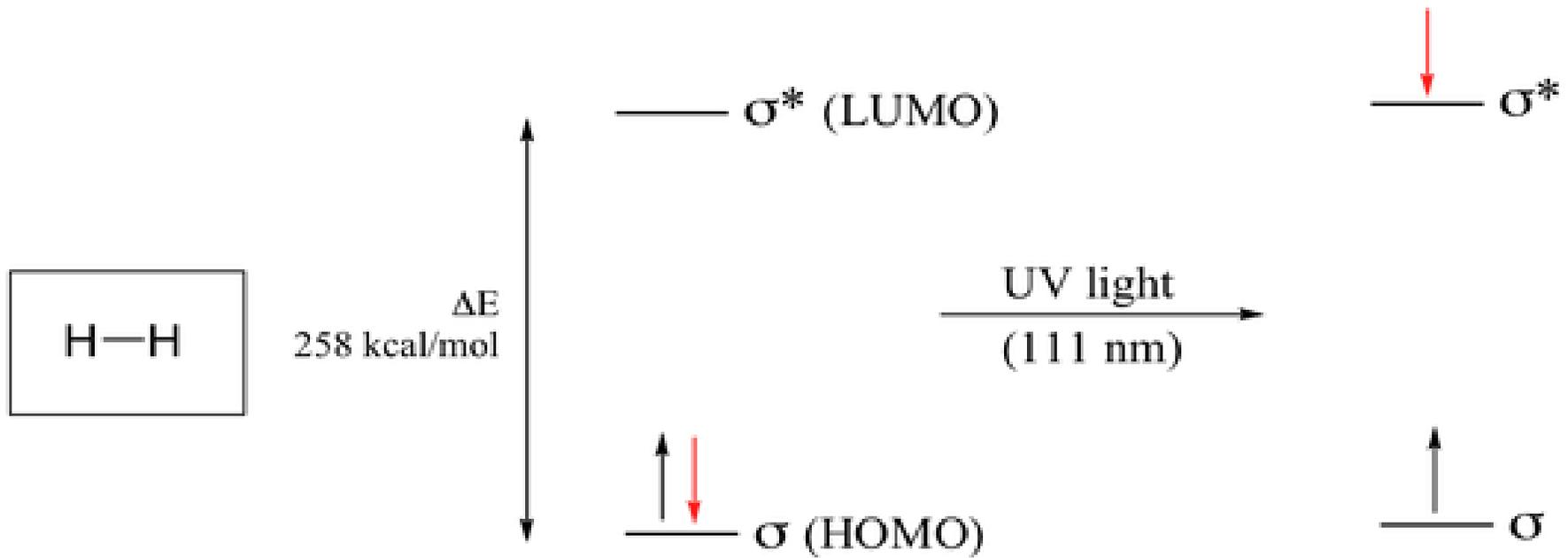


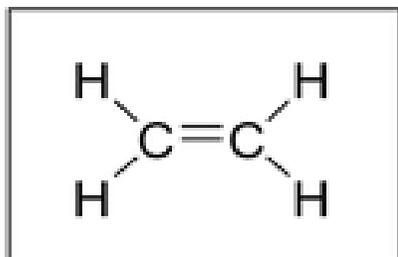
Figura 14-5 Espectros de absorção ultravioleta para 1,2,4,5-tetrazina (a) em fase de vapor, (b) em solução de hexano e (c) solução aquosa (obtido de S. F. Mason, J. Chem. Soc. **1959**, 1265; com permissão)



Breve explicação sobre a origem das cores

Transição eletrônica





ΔE
173 kcal/mol

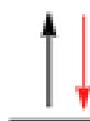
π^* (LUMO)

π (HOMO)

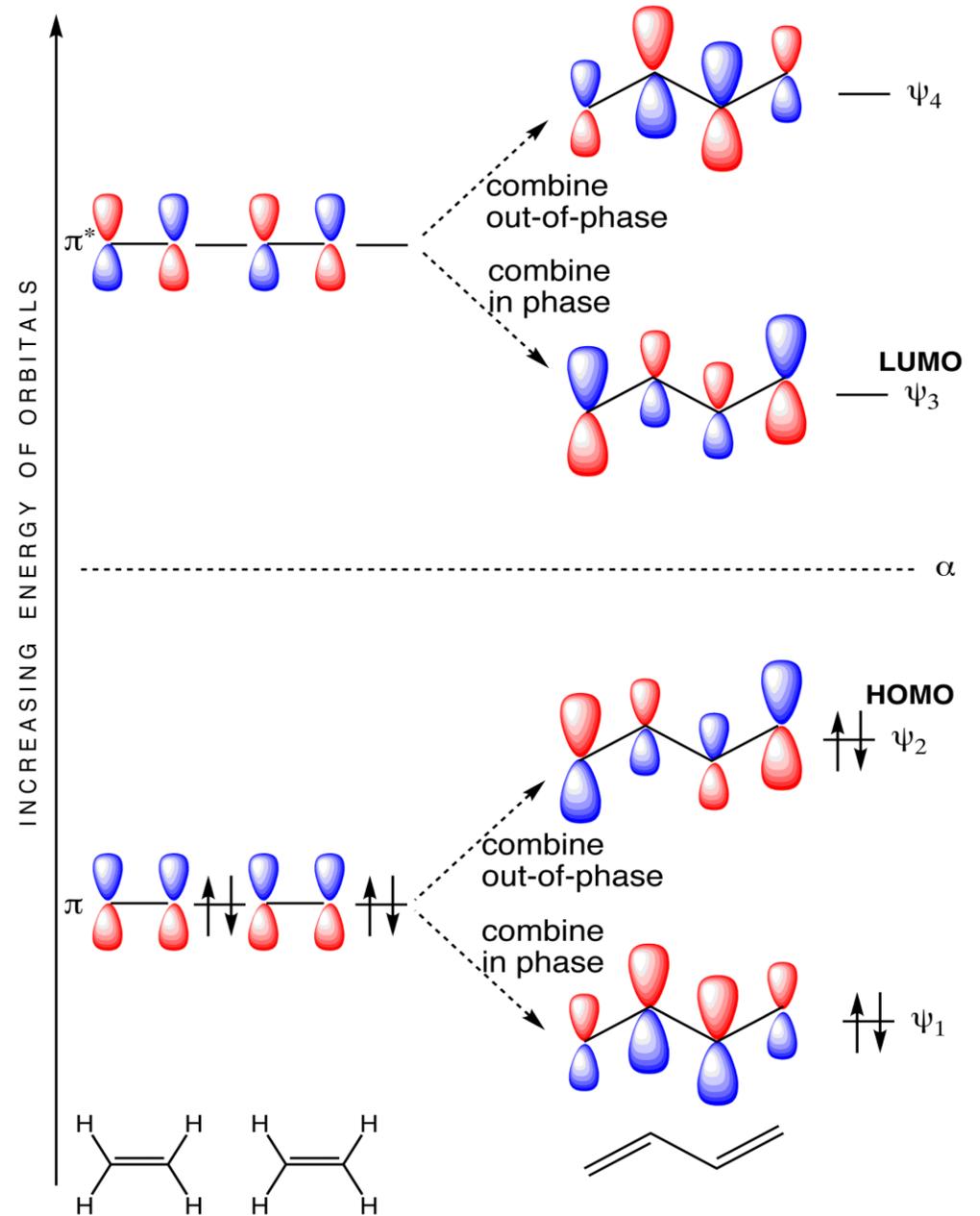
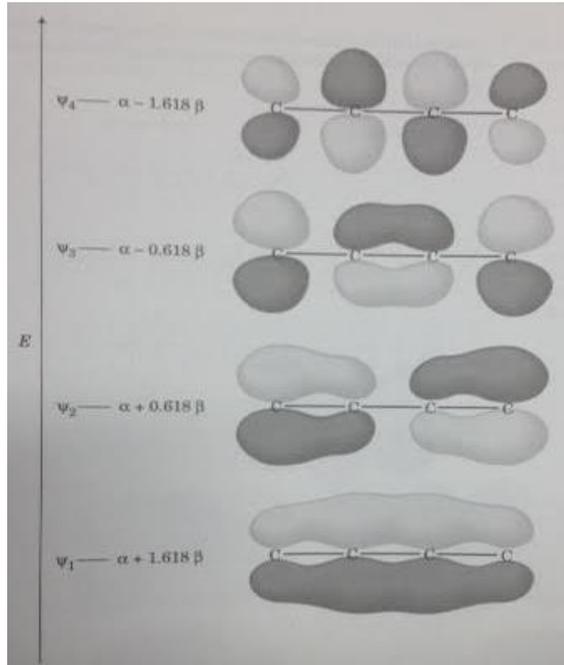
UV light
(165 nm)

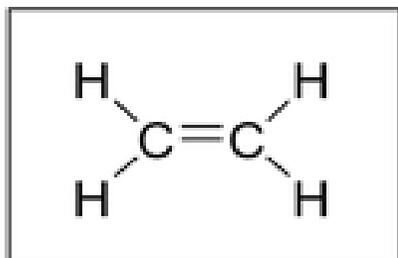
π^*

π

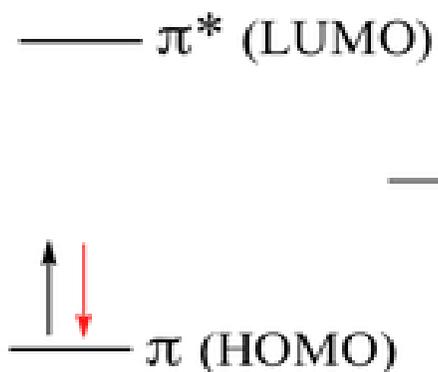


Butadieno

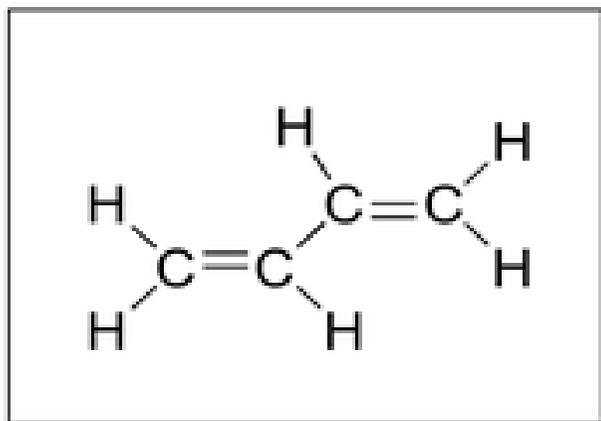
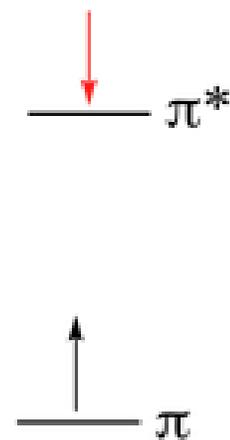




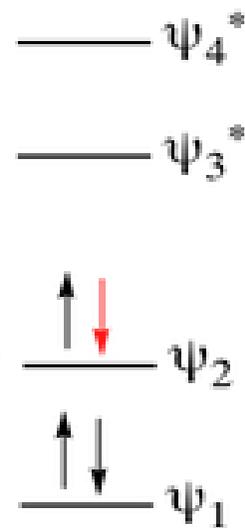
ΔE
173 kcal/mol



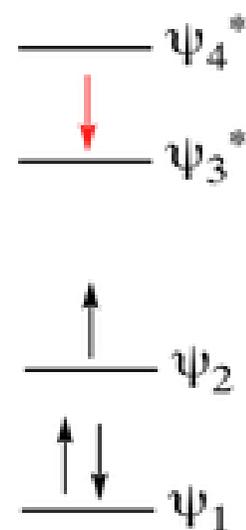
UV light
(165 nm)



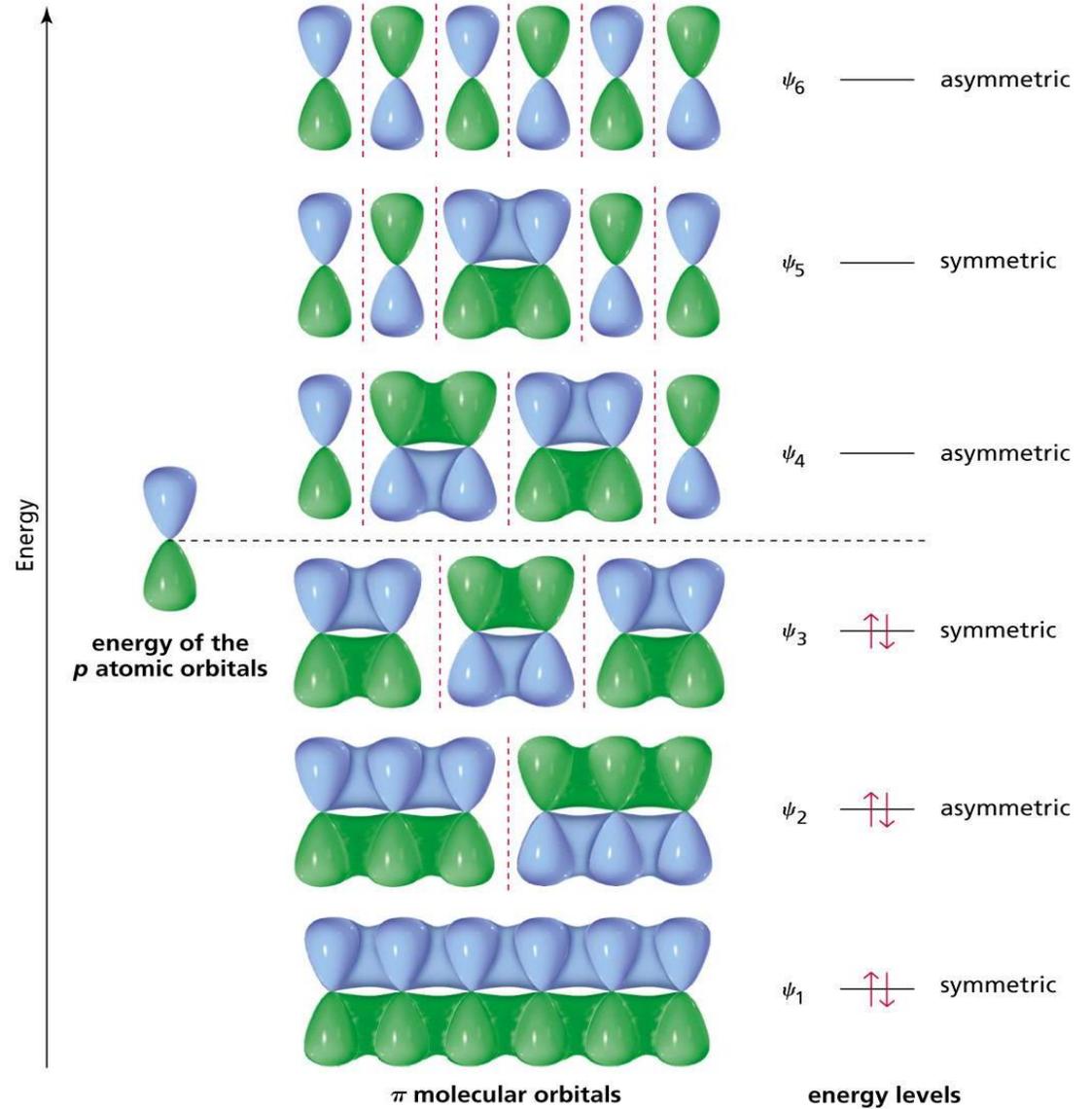
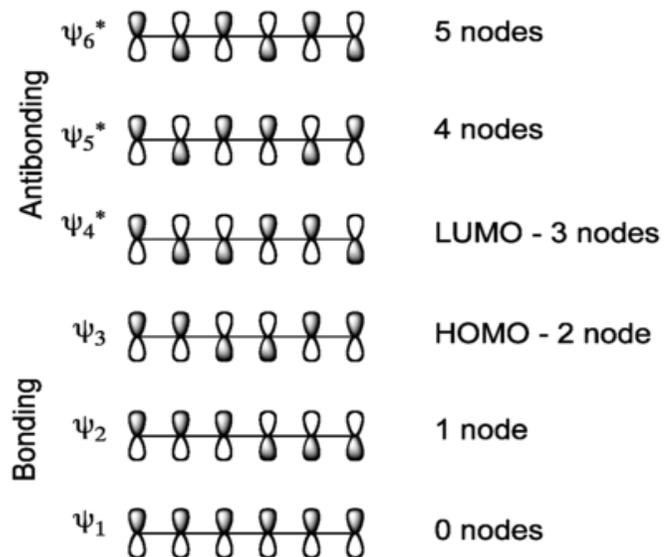
ΔE
132 kcal/mol

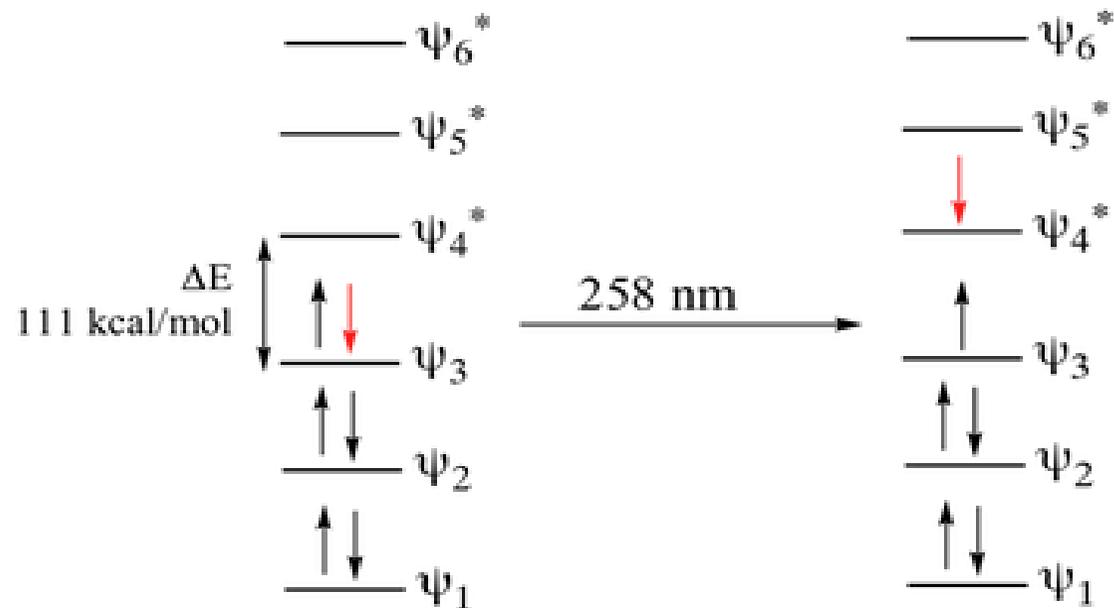
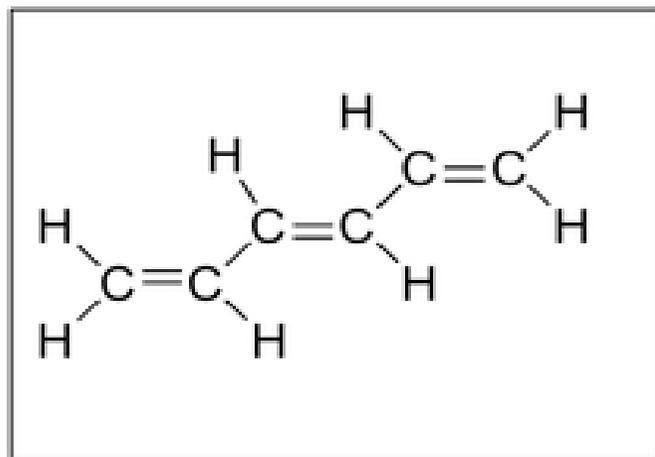


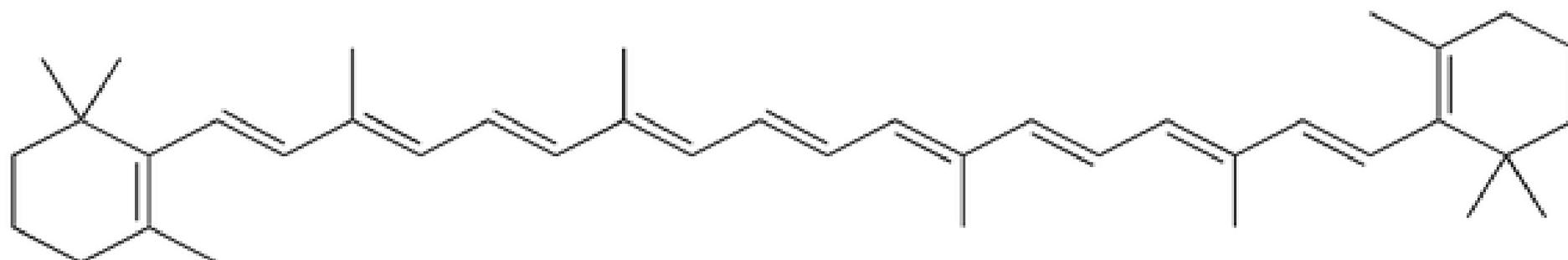
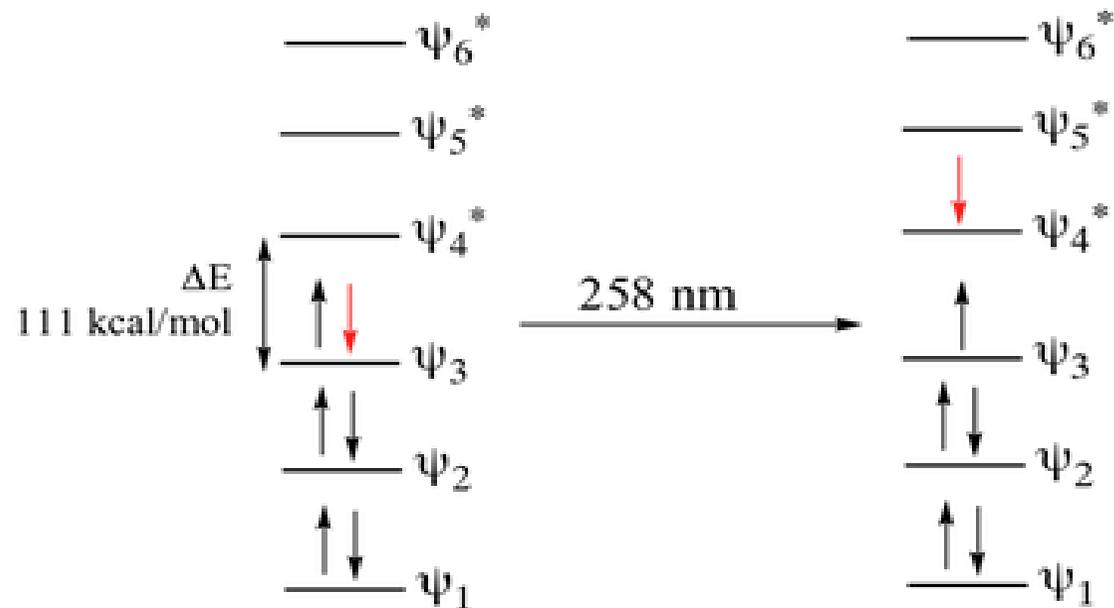
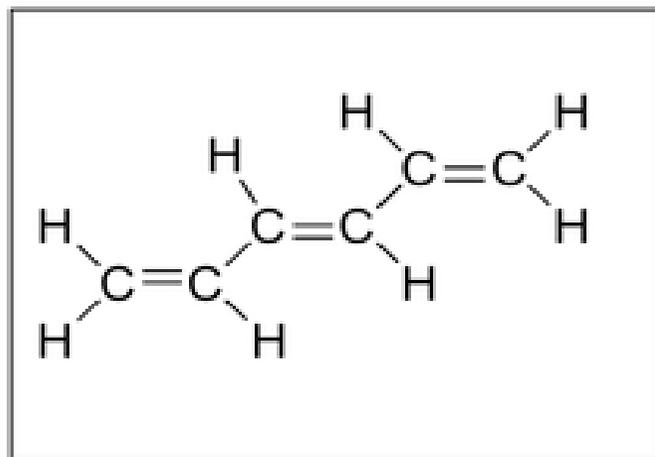
217 nm



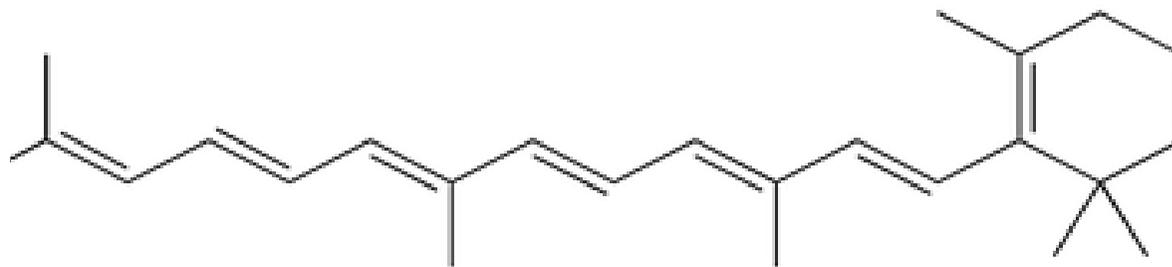
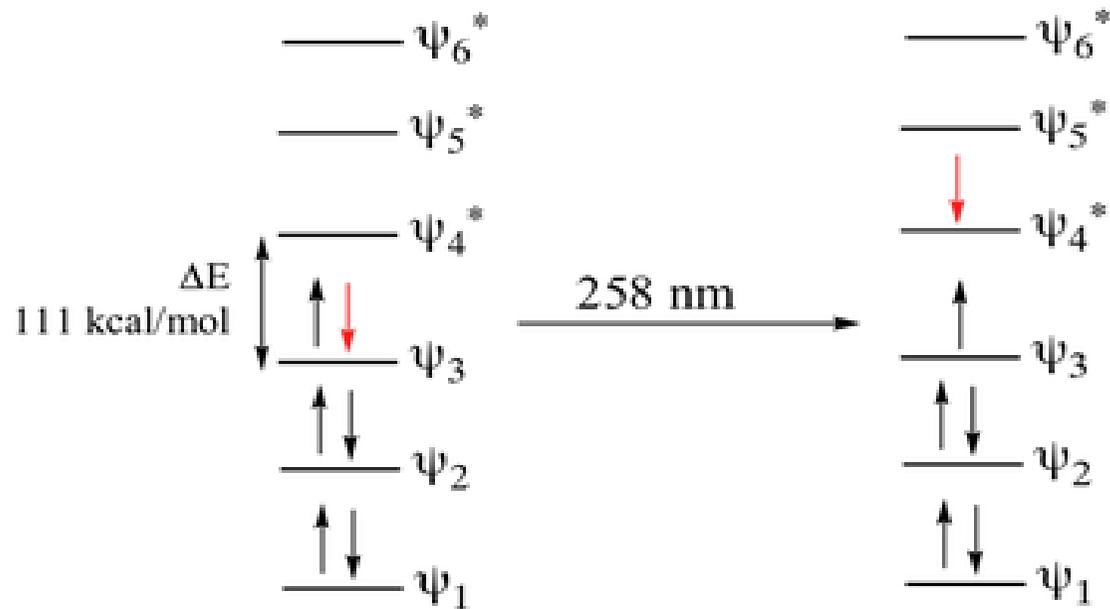
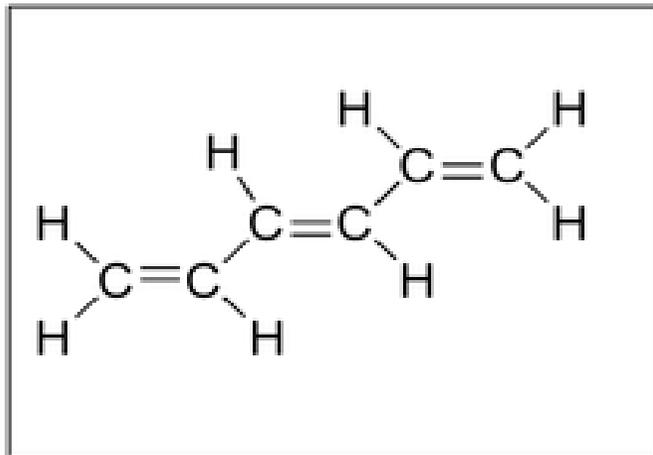
Hexatrieno







β -carotene



β -carotene

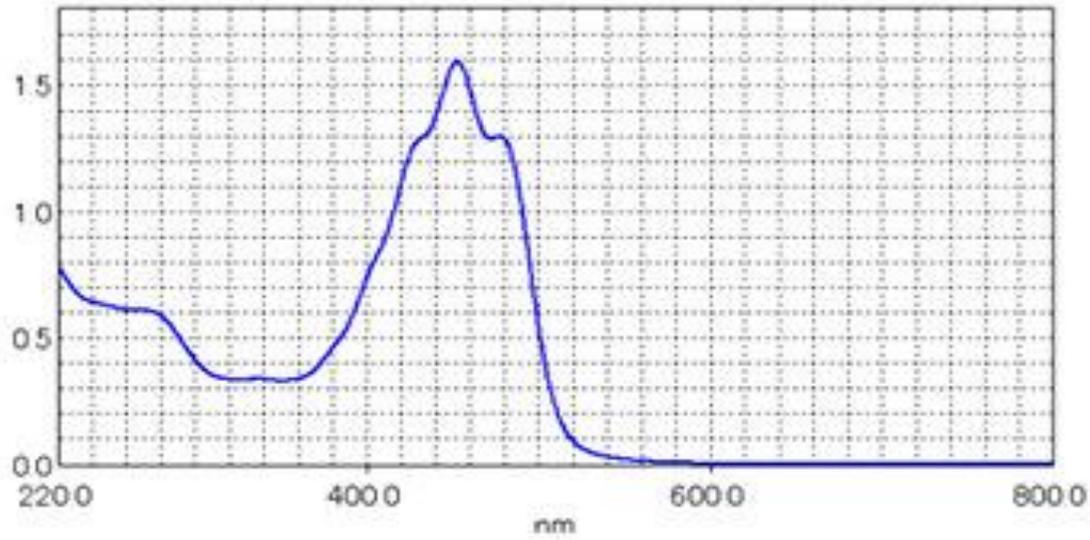
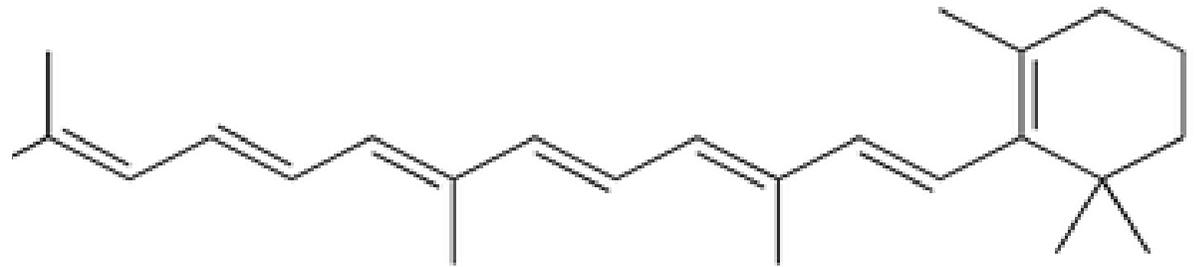
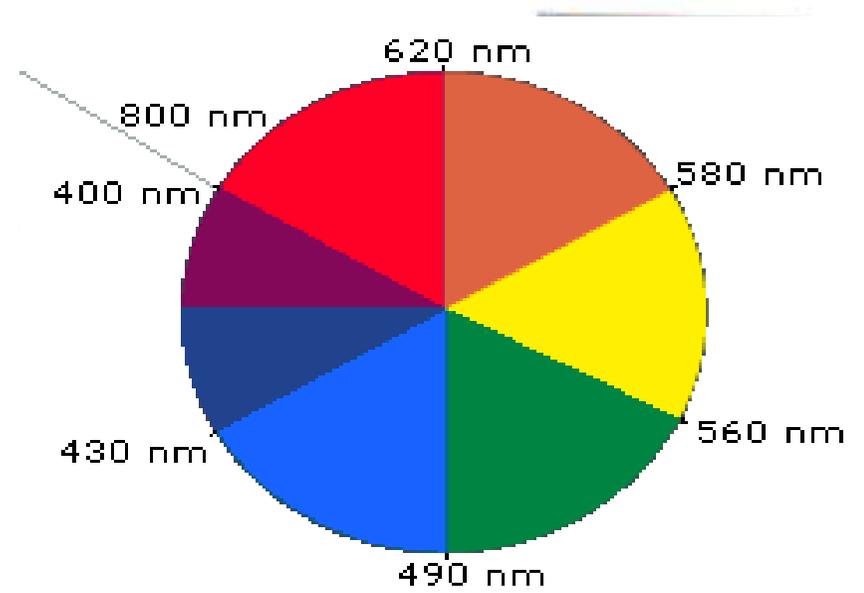
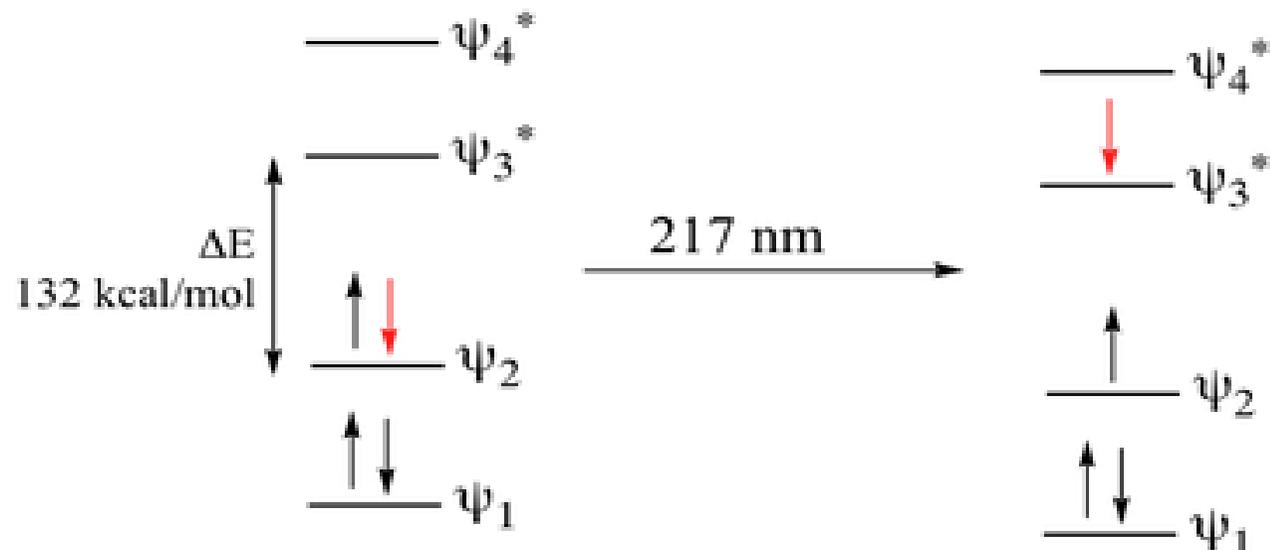
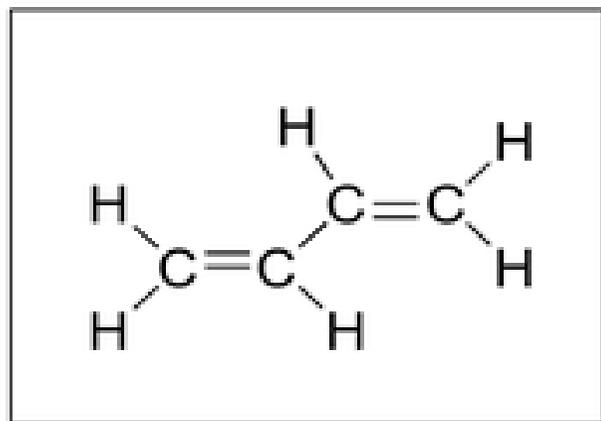


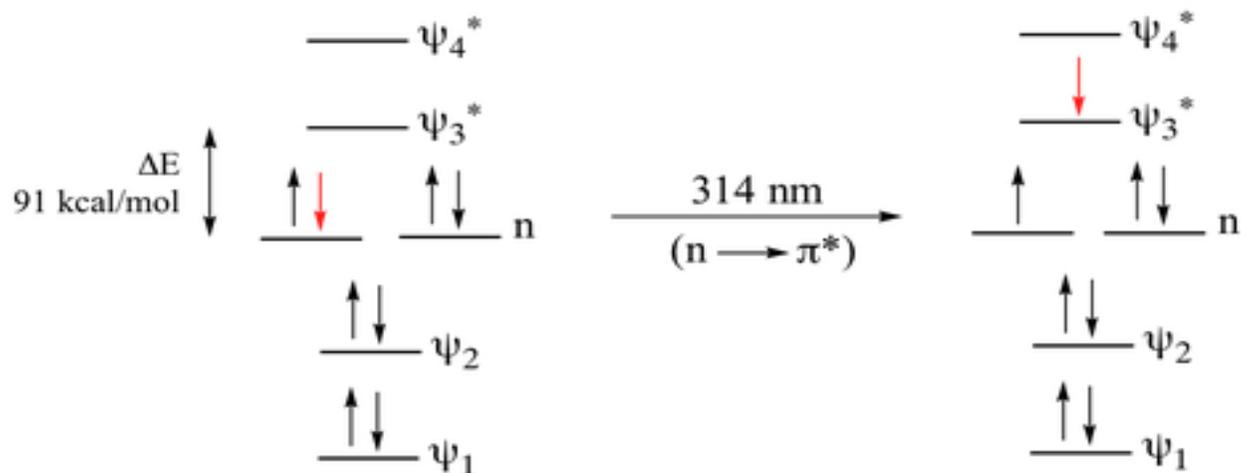
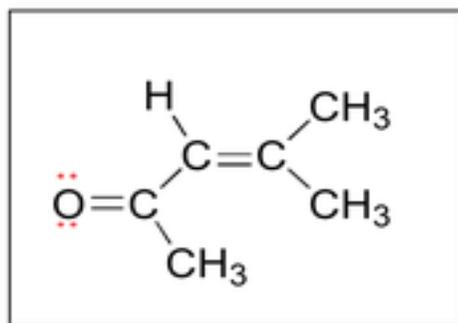
Fig.6 Absorption Spectrum of β -carotene



β -carotene



The conjugated pi system in 4-methyl-3-penten-2-one gives rise to a strong UV absorbance at 236 nm due to a $\pi - \pi^*$ transition. However, this molecule also absorbs at 314 nm. This second absorbance is due to the transition of a non-bonding (lone pair) electron on the oxygen up to a π^* antibonding MO:



Typical Absorptions of Simple Isolated Chromophores

Class	Transition	λ_{\max} (nm)	$\log \epsilon$	Class	Transition	λ_{\max} (nm)	$\log \epsilon$
R—OH	$n \rightarrow \sigma^*$	180	2.5	R—NO ₂	$n \rightarrow \pi^*$	271	<1.0
R—O—R	$n \rightarrow \sigma^*$	180	3.5	R—CHO	$\pi \rightarrow \pi^*$	190	2.0
R—NH ₂	$n \rightarrow \sigma^*$	190	3.5		$n \rightarrow \pi^*$	290	1.0
R—SH	$n \rightarrow \sigma^*$	210	3.0	R ₂ CO	$\pi \rightarrow \pi^*$	180	3.0
R ₂ C=CR ₂	$\pi \rightarrow \pi^*$	175	3.0		$n \rightarrow \pi^*$	280	1.5
R—C≡C—R	$\pi \rightarrow \pi^*$	170	3.0	RCOOH	$n \rightarrow \pi^*$	205	1.5
R—C≡N	$n \rightarrow \pi^*$	160	<1.0	RCOOR'	$n \rightarrow \pi^*$	205	1.5
R—N=N—R	$n \rightarrow \pi^*$	340	<1.0	RCONH ₂	$n \rightarrow \pi^*$	210	1.5

Espectrofotometria UV-VIS

Skoog – Princípios de Análise Instrumental

Cap. 13 – Introdução à Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível

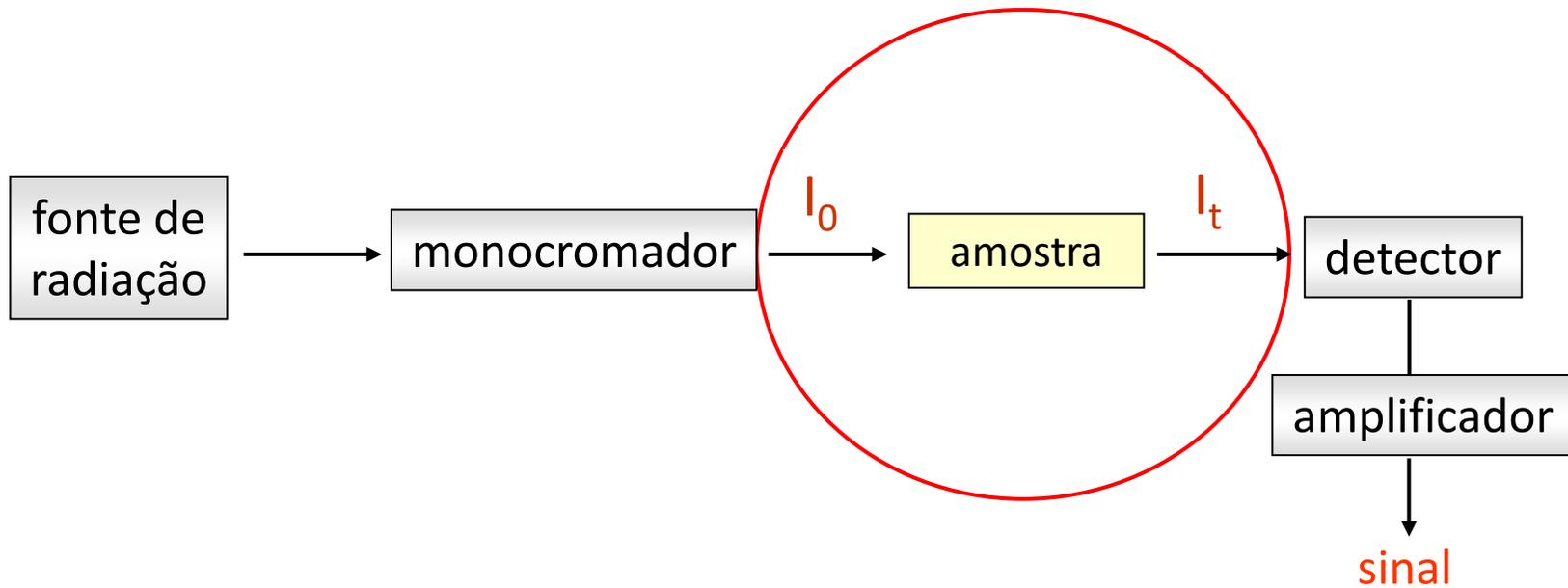
Cap. 14 – Aplicações da Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível

Instrumentação

Instrumentação: Espectroscopia

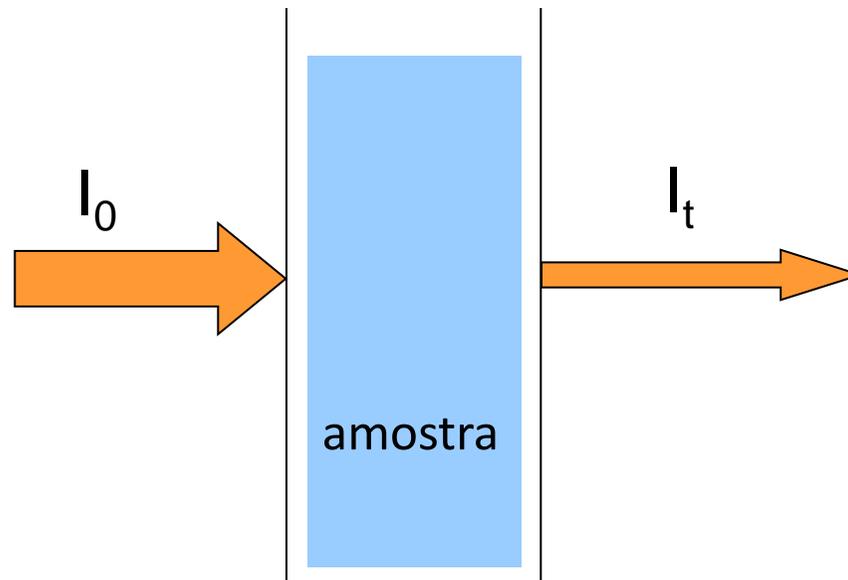
- (1) Fonte estável de energia radiante
- (2) Recipiente transparente para conter amostra
- (3) Sistema óptico: Dispositivo que isole uma região restrita do espectro de medida
 - filtro
 - monocromador
- (4) Detector de radiação que converta a energia radiante em um sinal útil (elétrico)
- (5) Processador e dispositivo de saída

Espectrofotometria UV-Vis



$$A = \log \frac{I_0}{I_t}$$

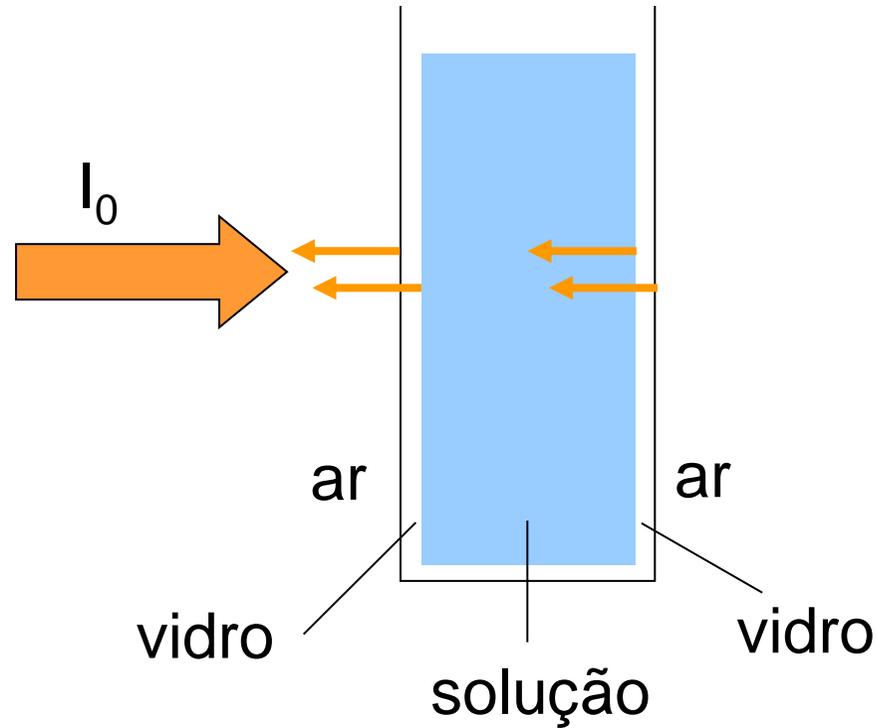
absorção



Como garantir que a diminuição da radiação (de I_0 para I_t)
seja somente devido à absorção pelo analito?

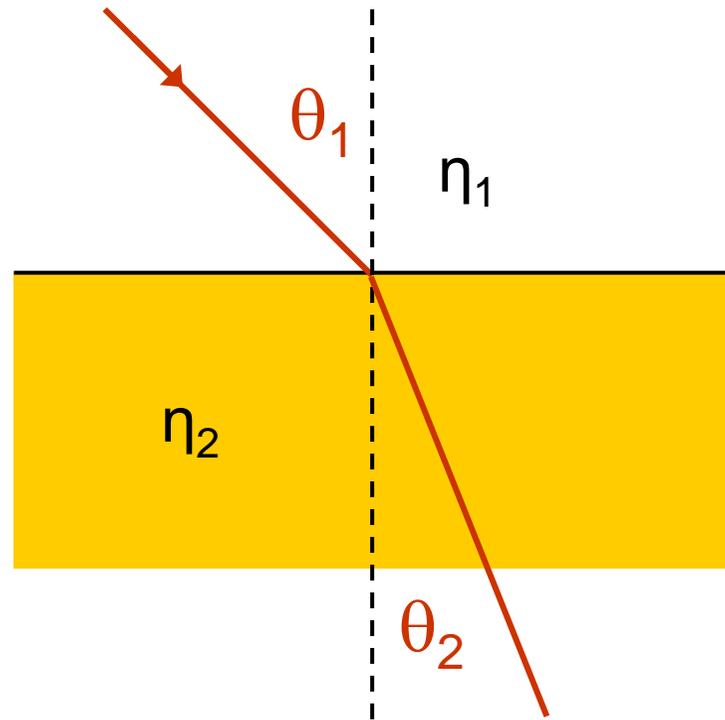
Pois sabe-se que a radiação pode sofrer:

reflexão



$$\frac{I_r}{I_0} = \frac{(\eta_2 - \eta_1)^2}{(\eta_2 + \eta_1)^2}$$

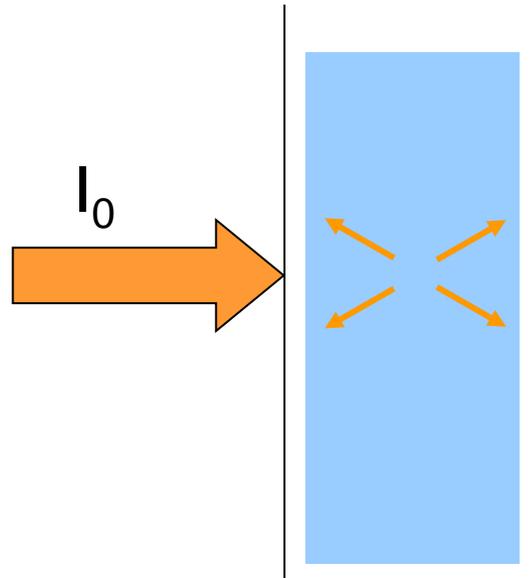
Devido aos índices de refração dos diferentes meios.



$$\eta_1 \text{ sen}\theta_1 = \eta_2 \text{ sen}\theta_2$$

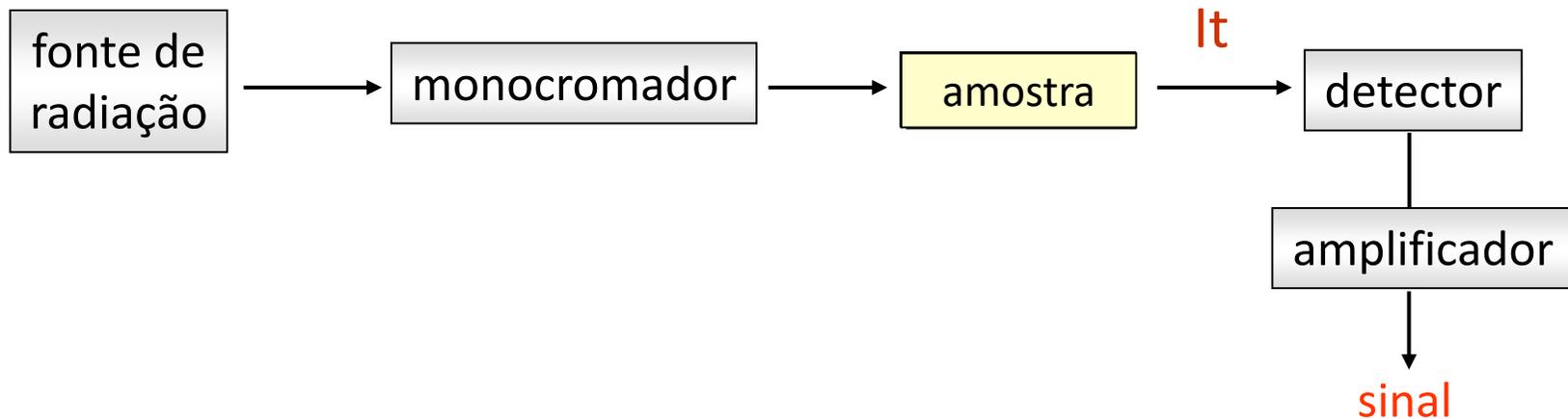
Além disso, podem ocorrer atenuação da radiação do feixe de luz devido ao:

espalhamento



E à absorção pela parede da célula que contém a amostra.

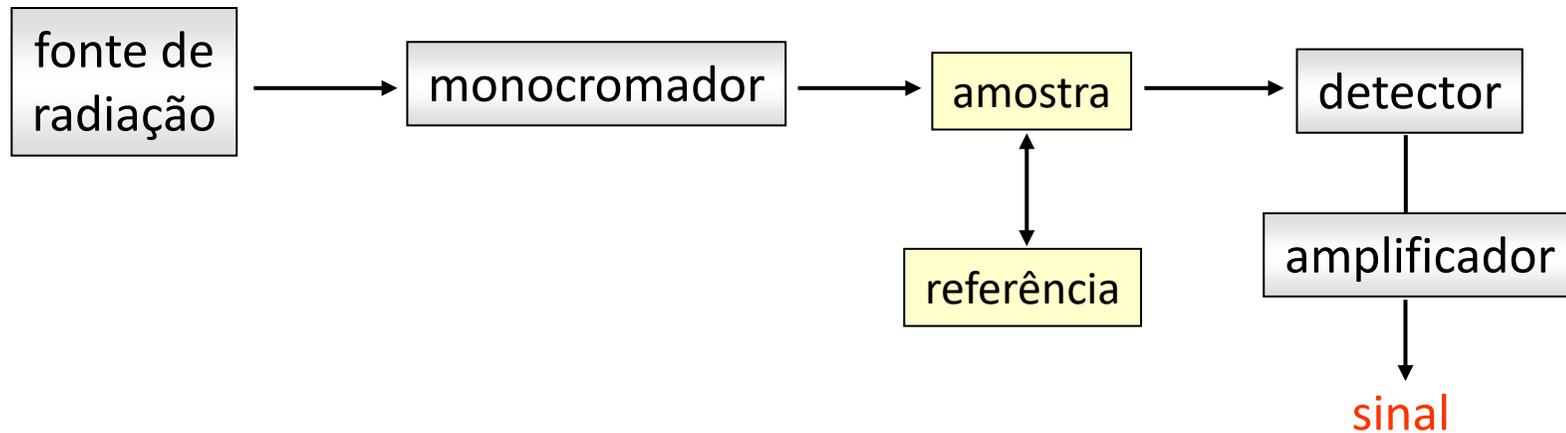
Espectrofotometria UV-Vis



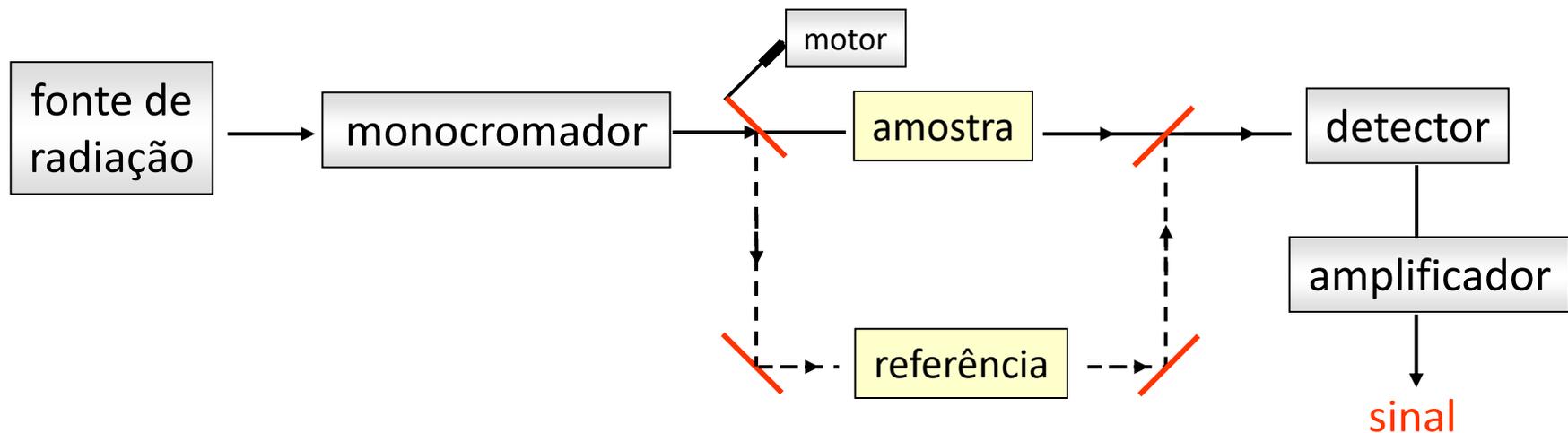
$$A = \log \frac{I_0}{I_t}$$

Espectrofotômetros

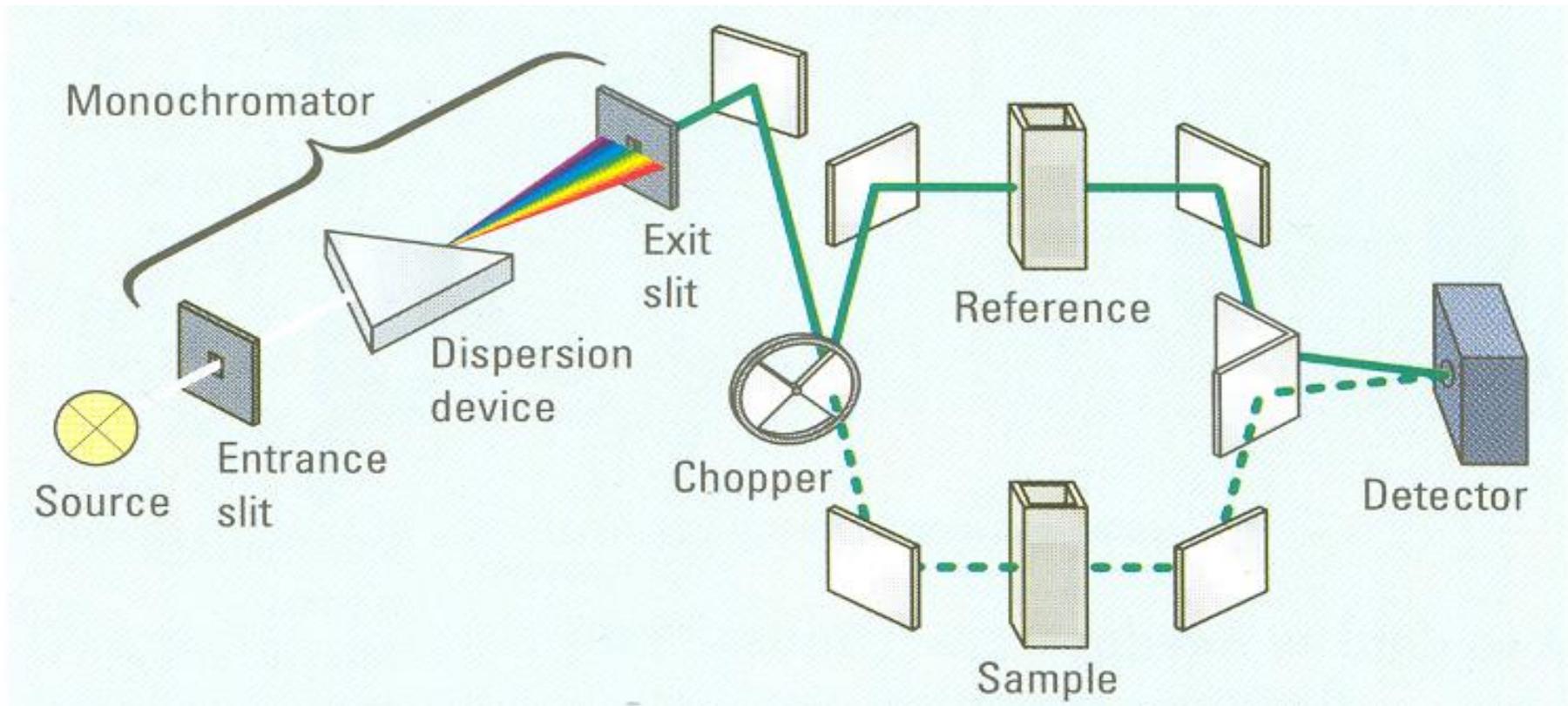
⇒ feixe simples



⇒ feixe duplo



Espectrofotômetros com duplo feixe



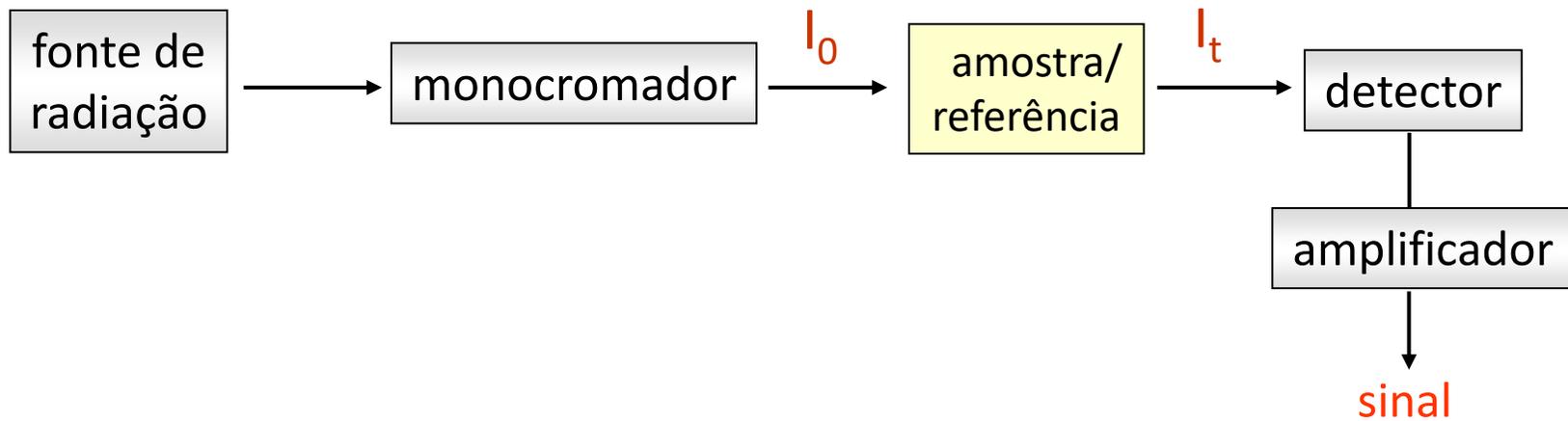


Source, monochromator, detector

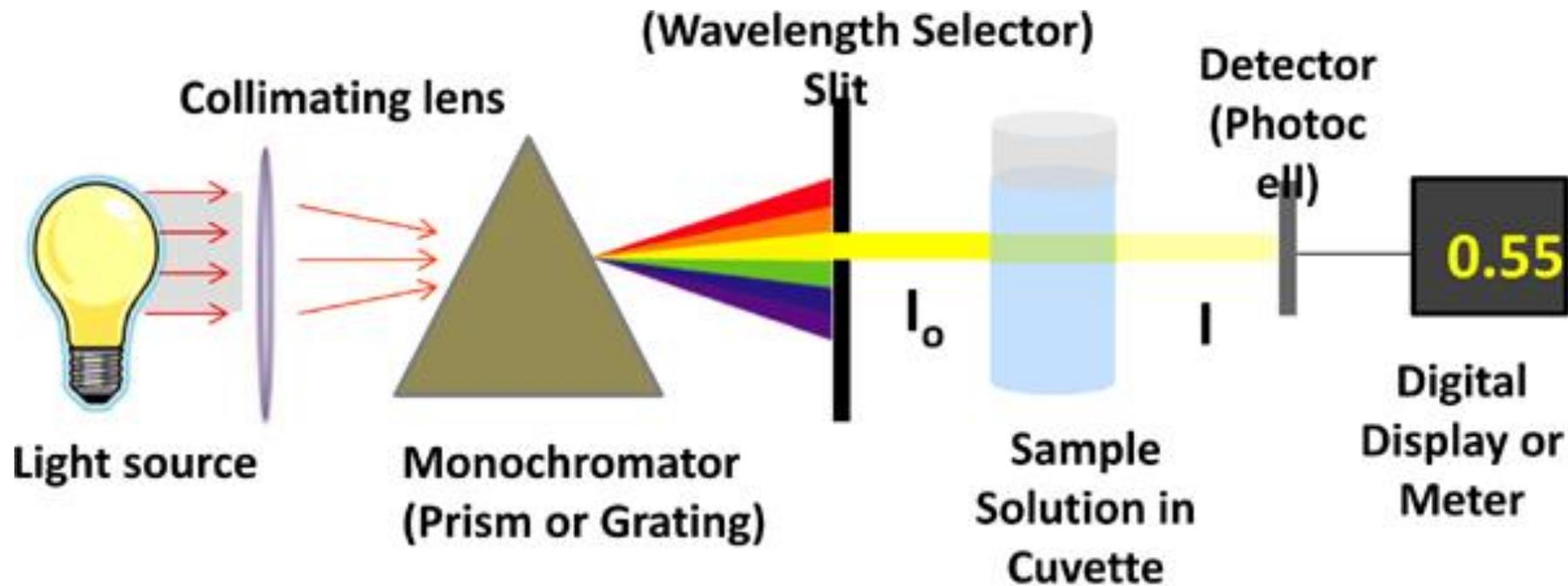
Sample
compartment

Display and
controls

Espectrofotometria UV-Vis

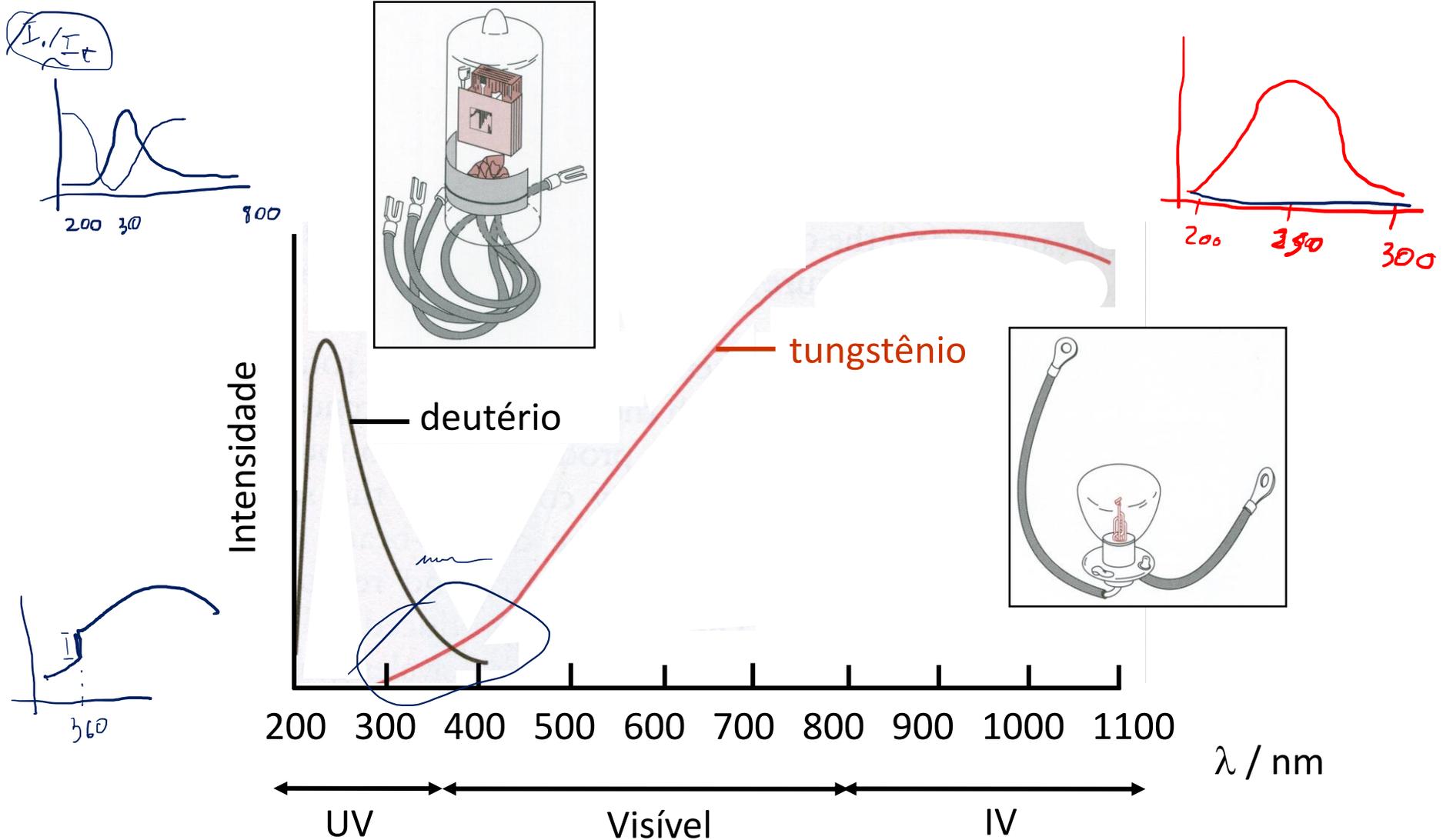


$$A = \log \frac{I_0}{I_t}$$



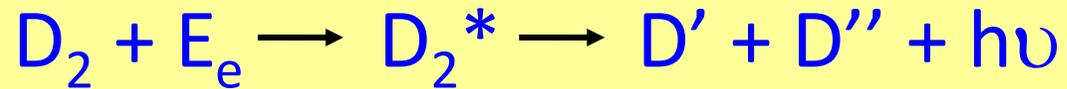
Determination of pharmaceuticals by UV-visible spectrophotometry.

Fontes de radiação



Lâmpadas de Deutério

⇒ D₂ (ou H₂)



$$E_e = E(D_2^*) = E_c(D') + E_c(D'') + h\nu$$

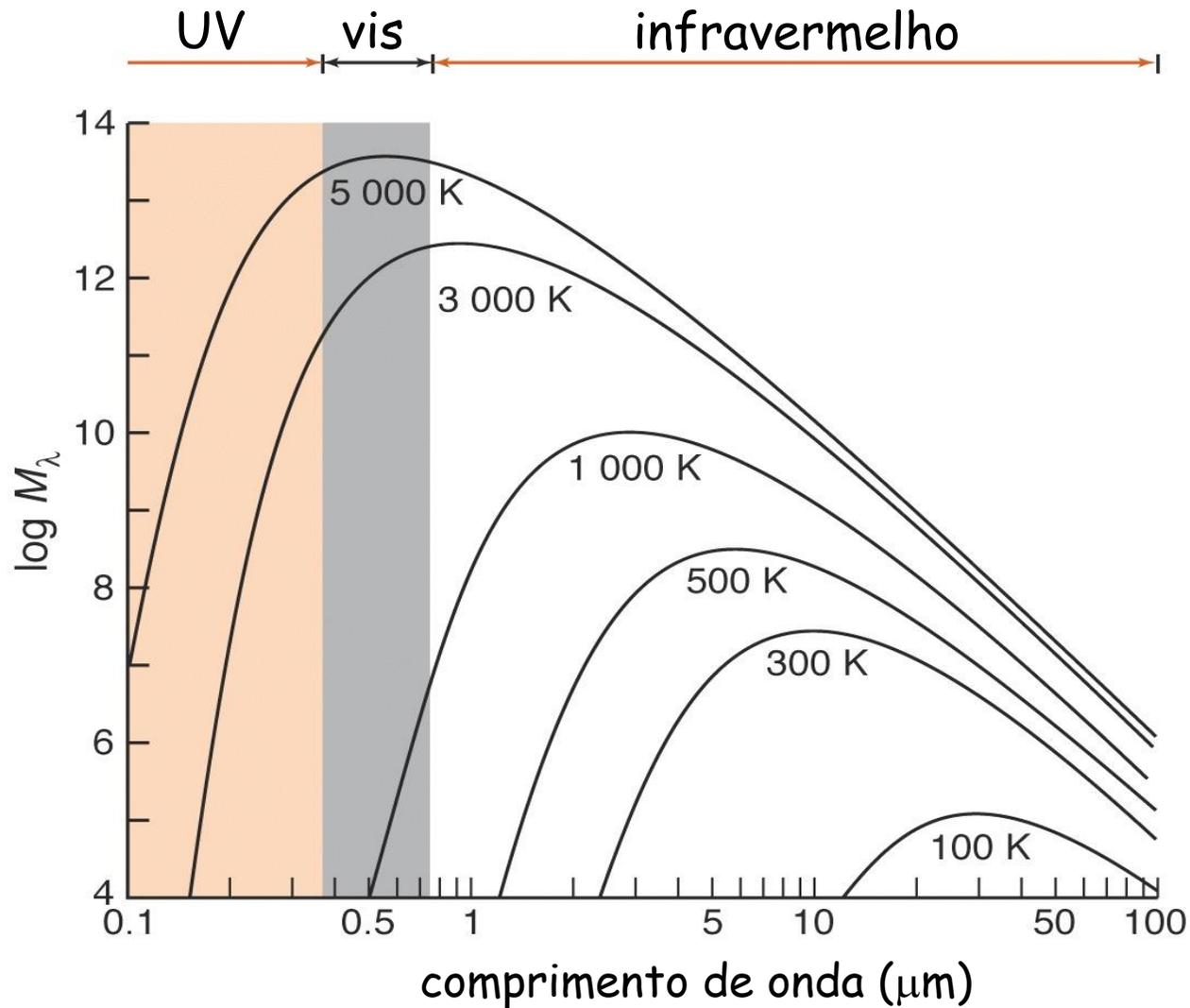


Varia de 0 à E(D₂^{*})



hν varia continuamente → **Fonte contínua!**

Lâmpadas de tungstênio



Celas de medida

material	transparência	aplicabilidade
quartzo	150-3000 nm	UV, visível
vidro	375-2000 nm	visível
plástico	380-800 nm	visível



$0,1 \text{ cm} < b < 10 \text{ cm}$



$0,1 \text{ cm} < b < 5 \text{ cm}$

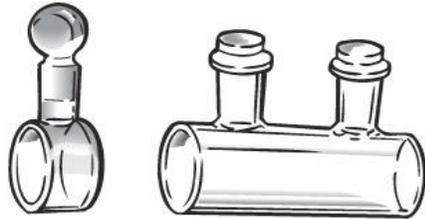
$10 \mu\text{L} < V < 200 \mu\text{L}$

Celas de medida

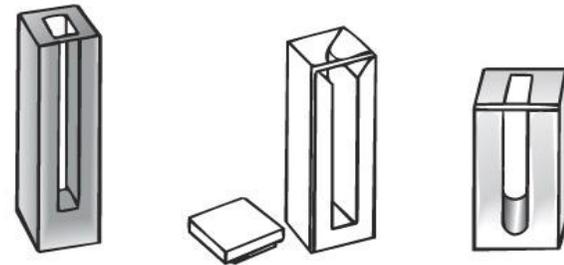
Standard
1-cm path



Cylindrical



Micro cells



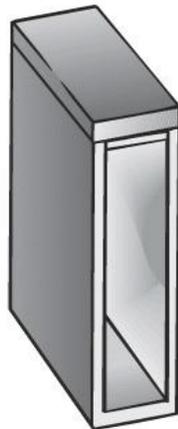
5-mm
path



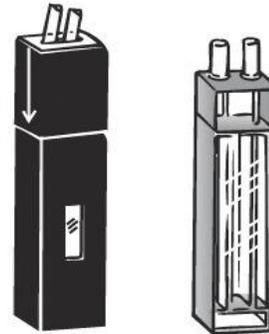
1-mm
path



20-mm path



Flow

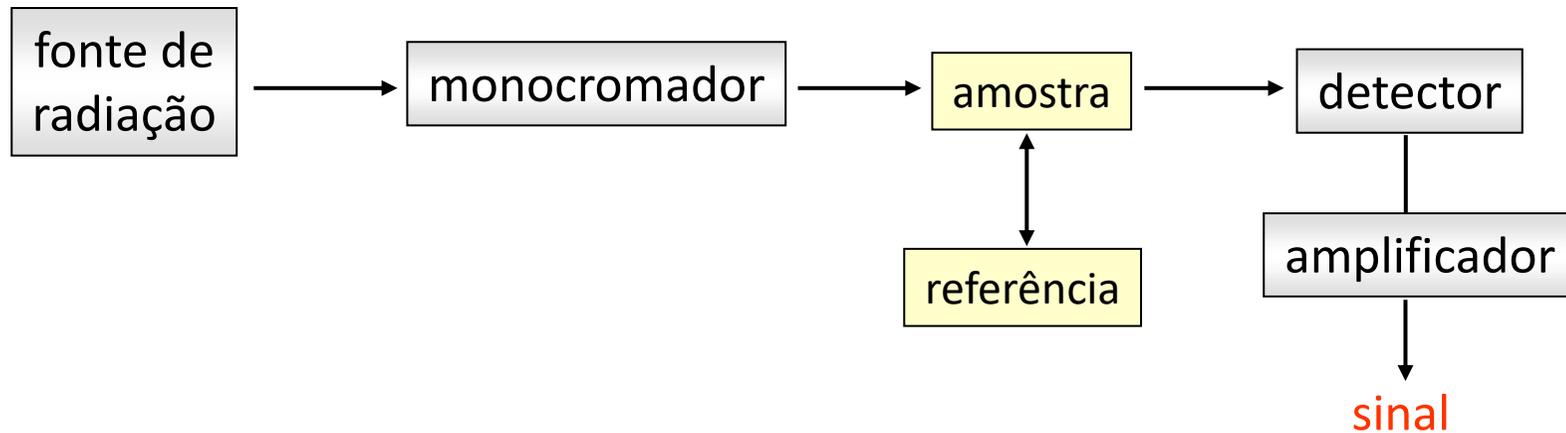


Thermal

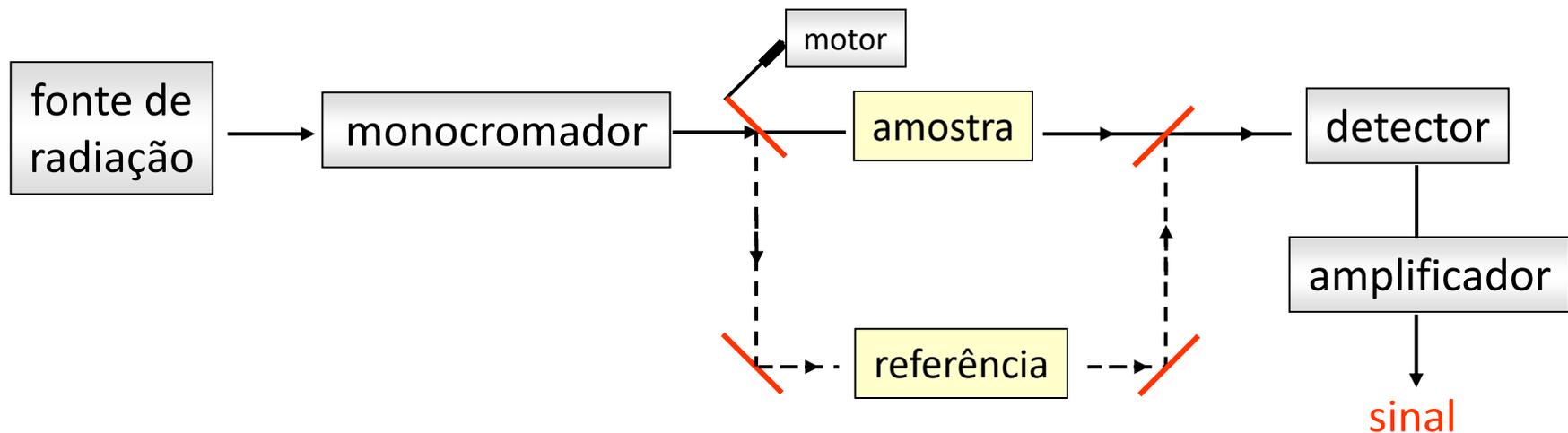


Espectrofotômetros

⇒ feixe simples



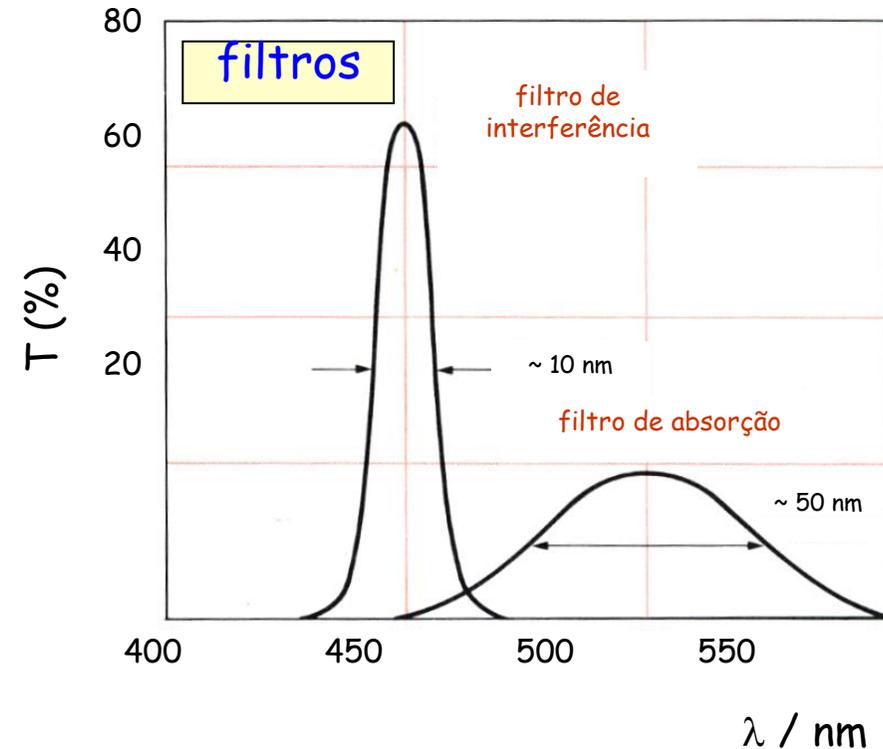
⇒ feixe duplo



Sistema óptico

Filtros

Remove determinadas faixas de radiação presentes em um sinal



Sistema óptico

Monocromador

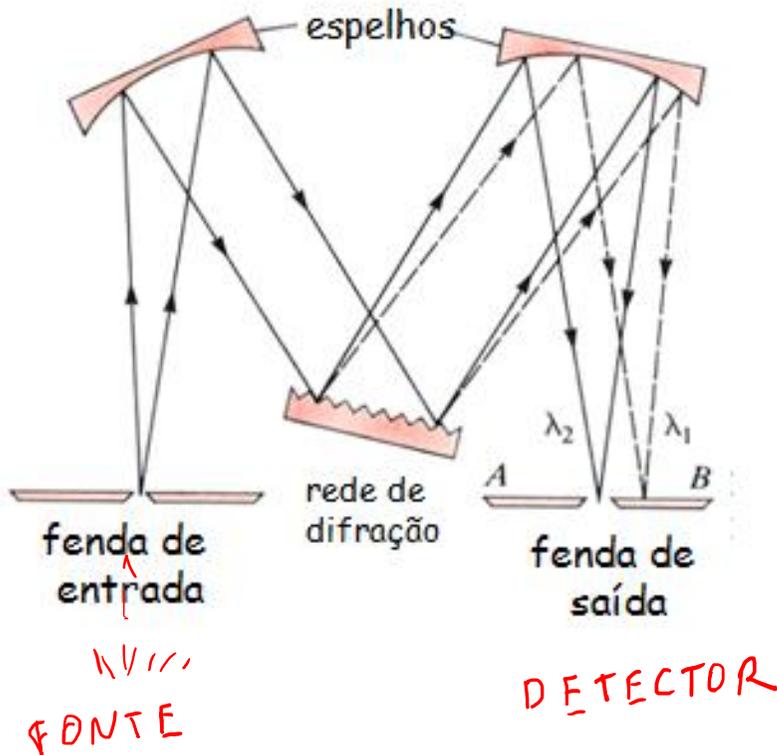
Dispersa a radiação nos comprimentos de onda que as compõem e seleciona uma faixa estreita de comprimento de onda para passar pela amostra ou detector

Componentes:

1. Fenda de entrada da radiação
2. Espelho ou lente colimadora
3. Dispersor de radiação: grade/rede ou prisma
4. Plano focal
5. Fenda de saída da radiação

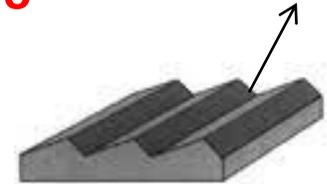
Sistema óptico

Monocromador



Rede/grade de difração

Ranuras



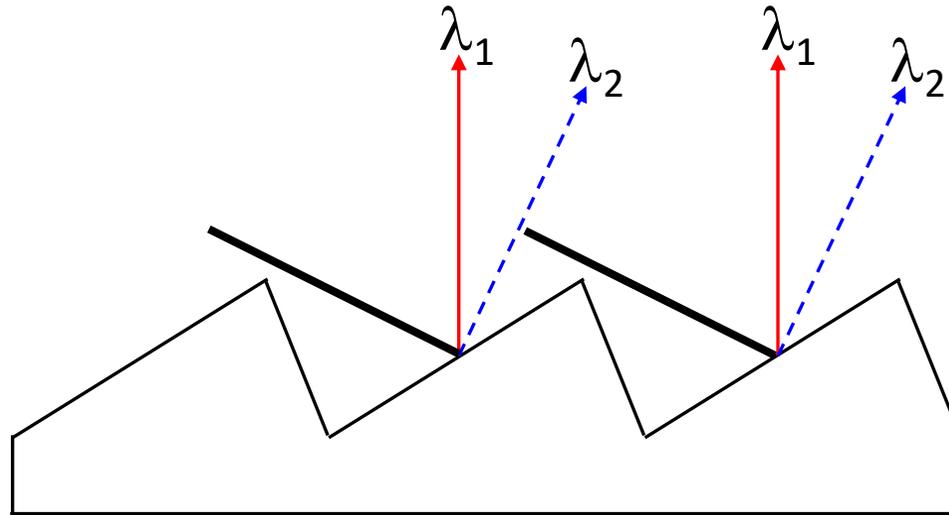
Cada ranhura se comporta como uma nova fonte de radiação

Radiação em fase: intensificação

Radiação fora de fase: se cancelam

Sistema óptico: Sistema de dispersão

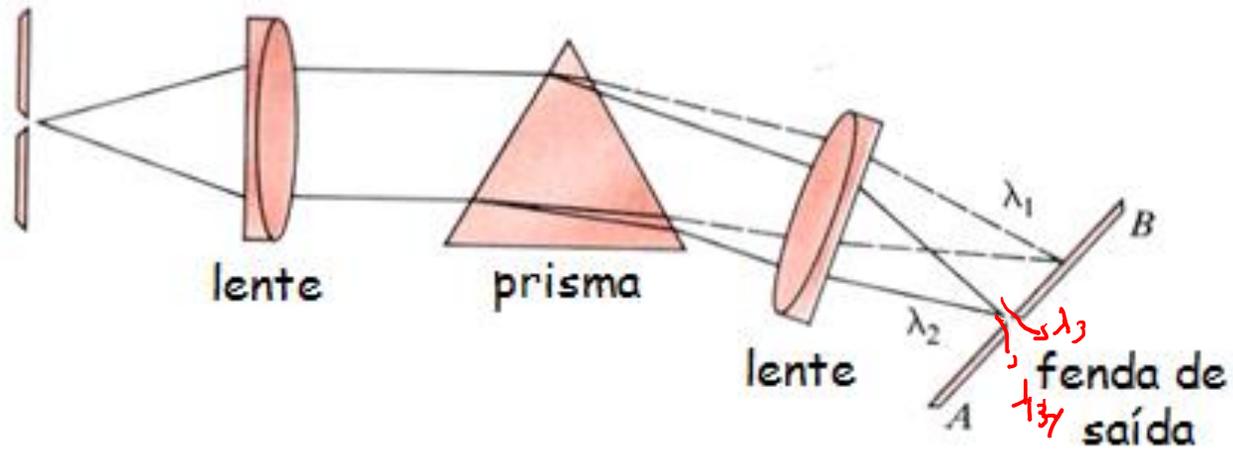
➔ Grade Normal



▶ Grades mais usadas em AA tem 1200-2000 riscos/mm

Sistema óptico

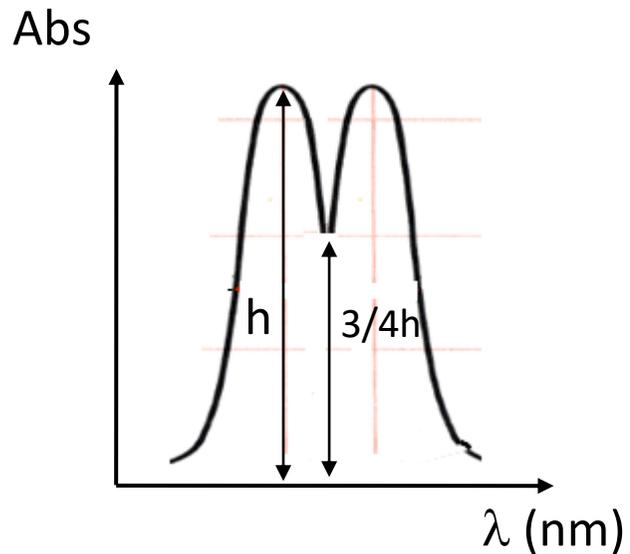
Monocromador



Escolha da largura da banda do monocromador

Resolução: capacidade de separar 2 picos muito próximos

> Resolução \rightarrow $< \Delta\lambda$ distinguidos entre si



picos ligeiramente resolvidos

$$\frac{\lambda}{\Delta\lambda} = n N$$

n = ordem de difração

N = número de ranhuras na rede

Exemplo: resolução de $10^4 \rightarrow 10^4$ ranhuras

Rede de 10 cm $\rightarrow 10^3$ ranhuras

Escolha da largura da banda do monocromador

mas

Fenda muito larga



Distorção do pico

Fenda de saída larga



> Intervalo de λ selecionado pelo monocromador



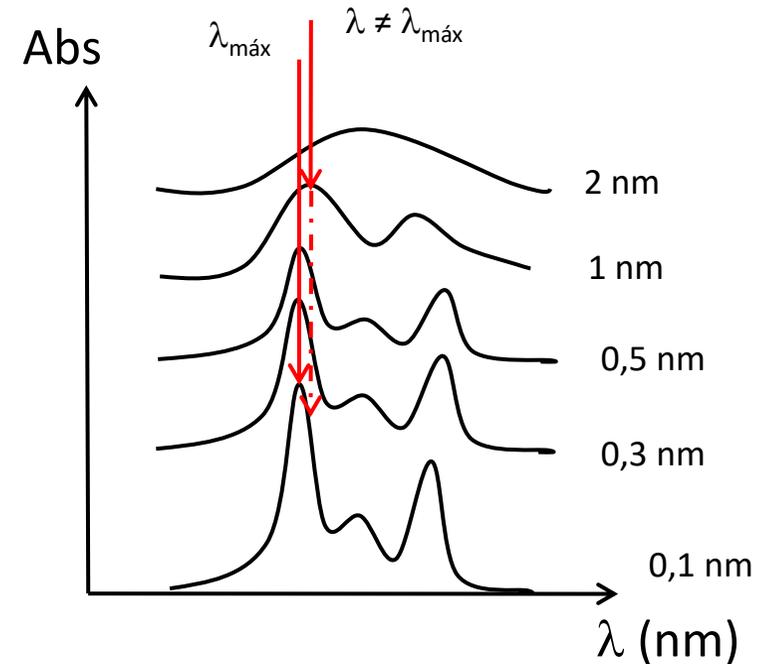
Radiação que atinge o detector



> sinal/ruído



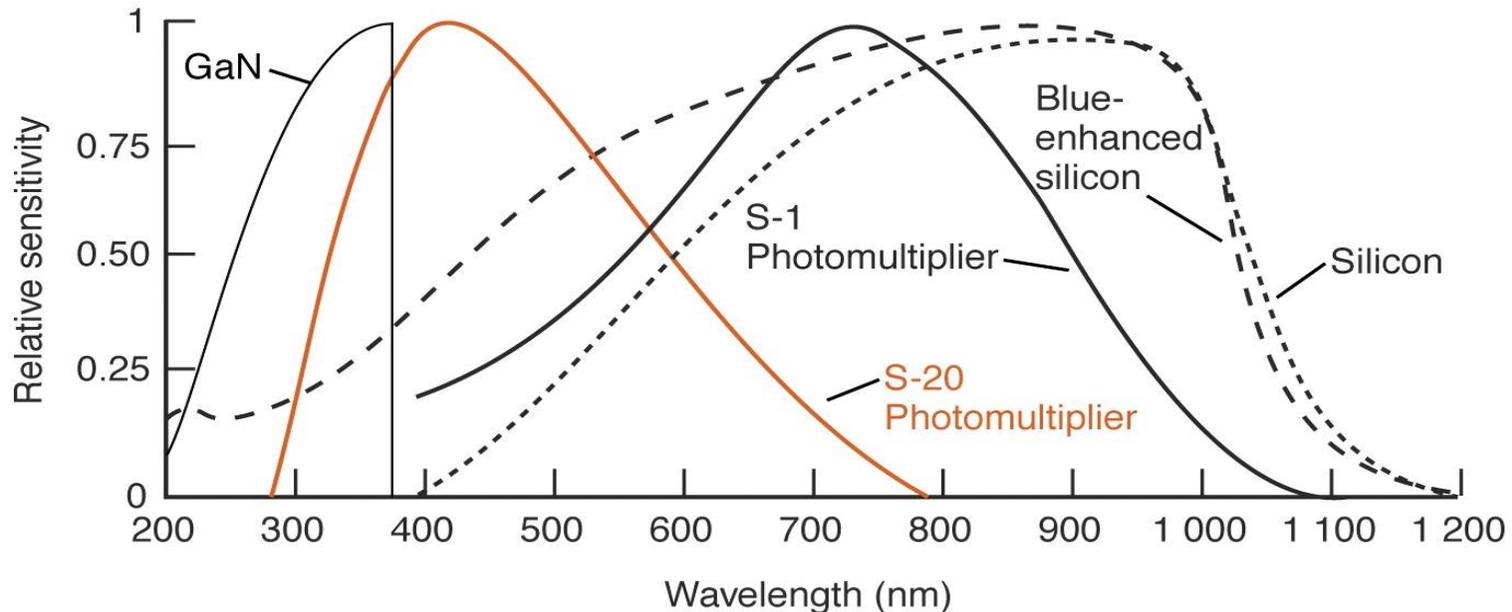
> precisão



Detectores

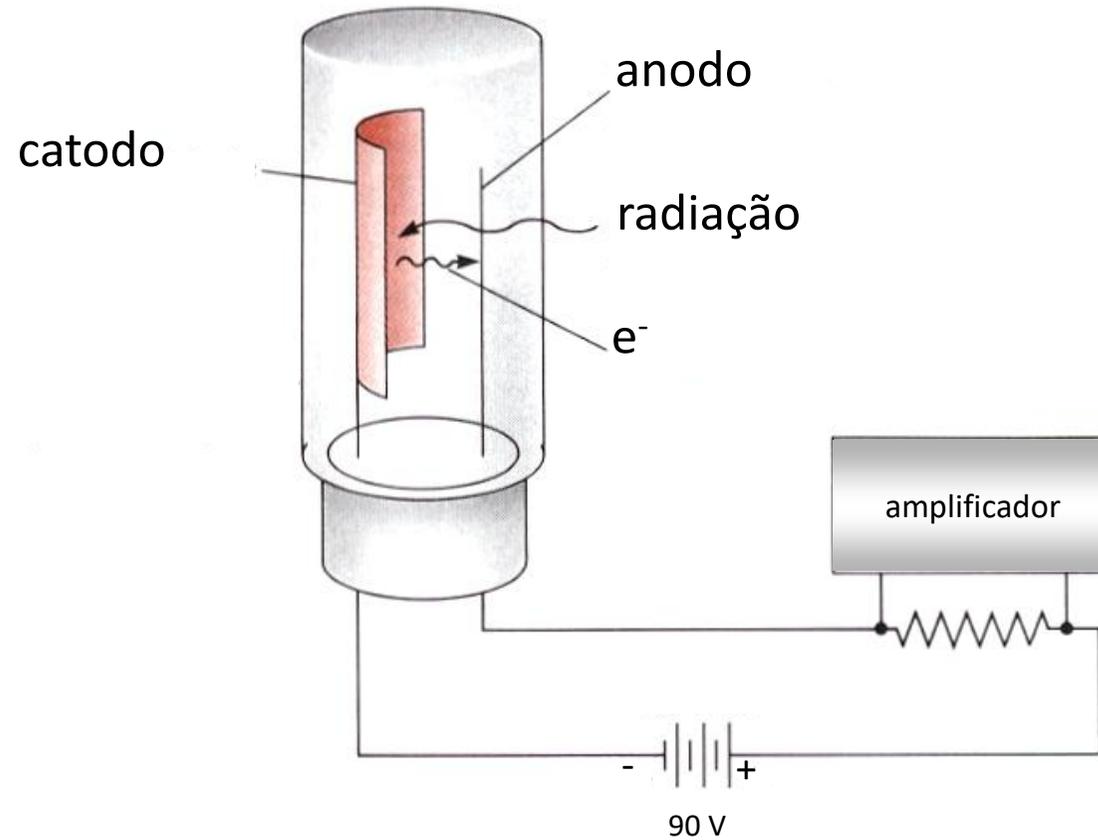
Produz sinal mensurável quando atingido por fótons
(sinal elétrico)

Respostas de diferentes detectores



Detetores

fototubo

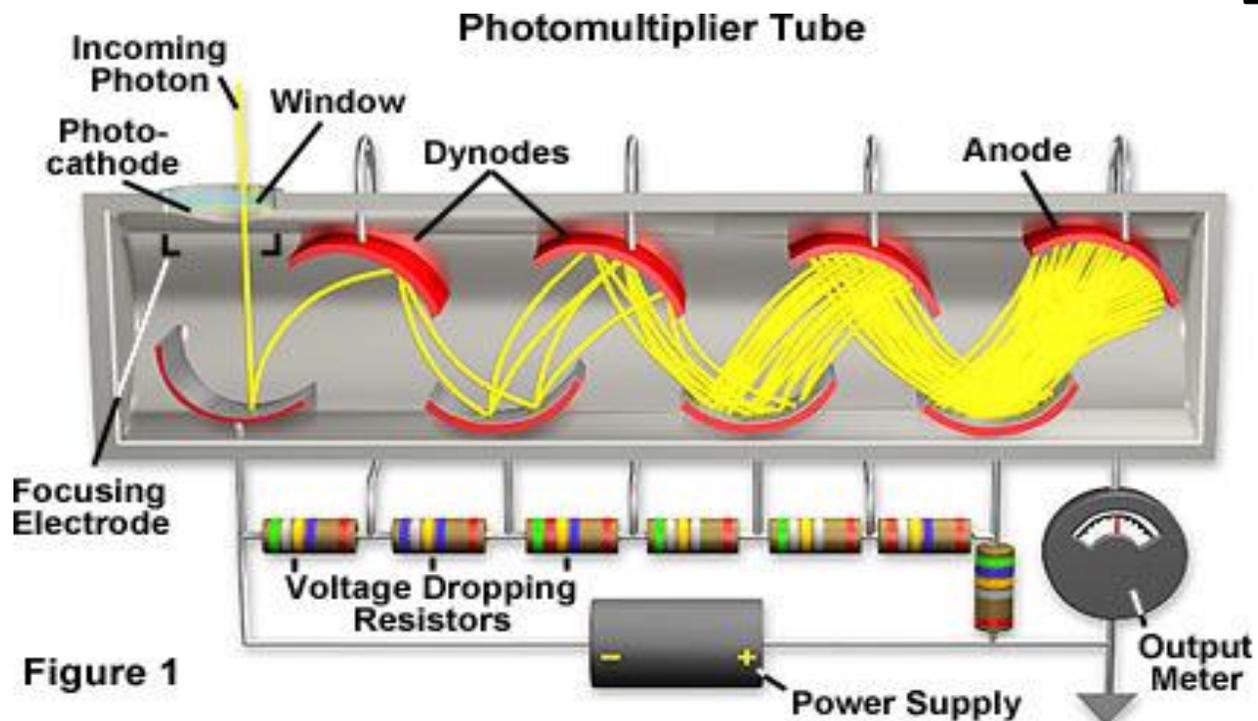


Detetores

Tubo fotomultiplicador

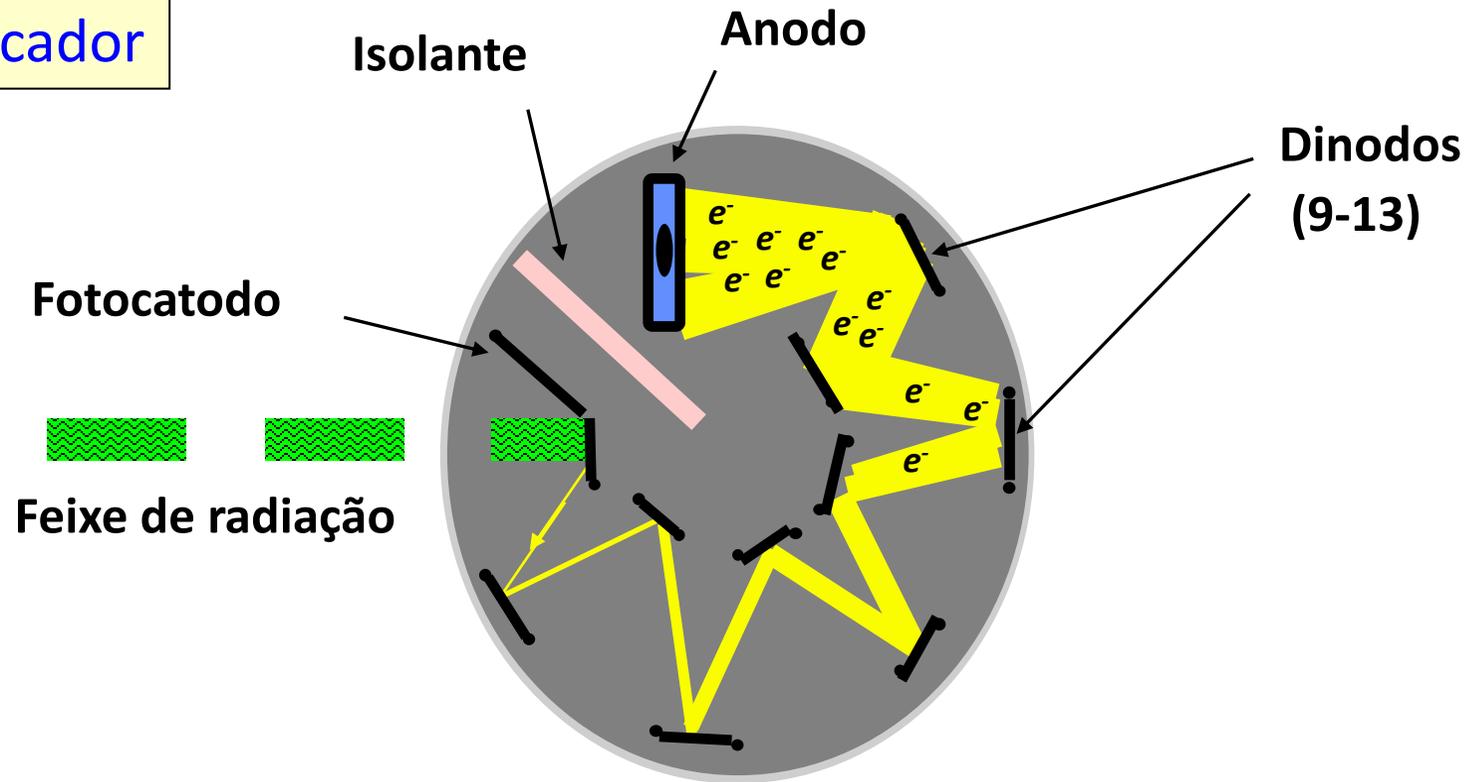
São dispositivos capazes de transformar a energia de um fóton de luz em energia elétrica.

“Efeito fotoelétrico”



Detectores

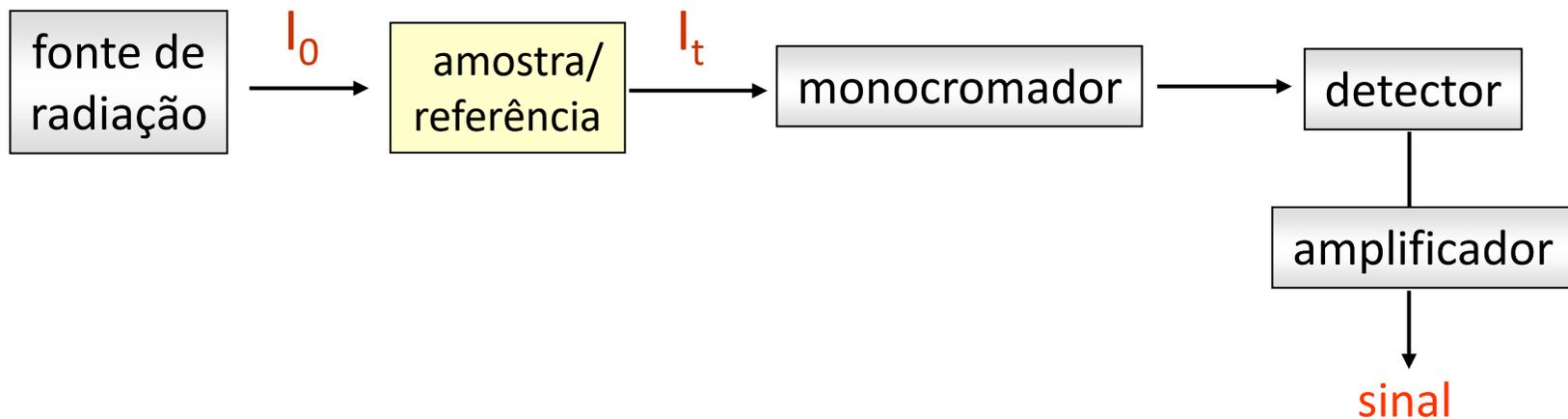
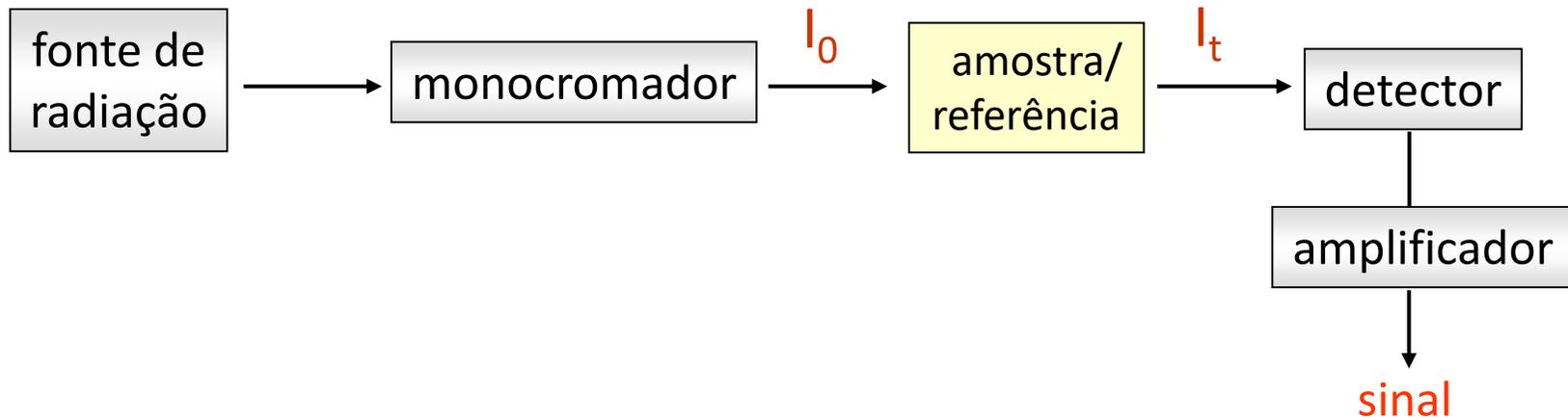
Tubo fotomultiplicador



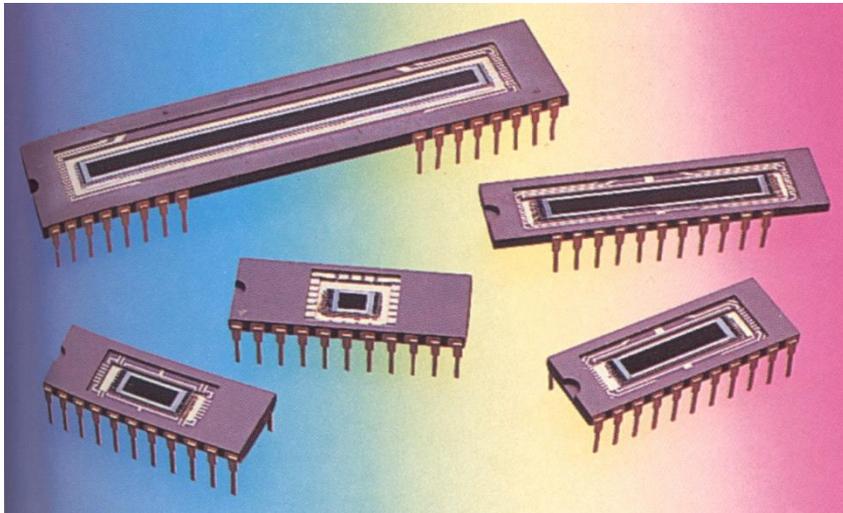
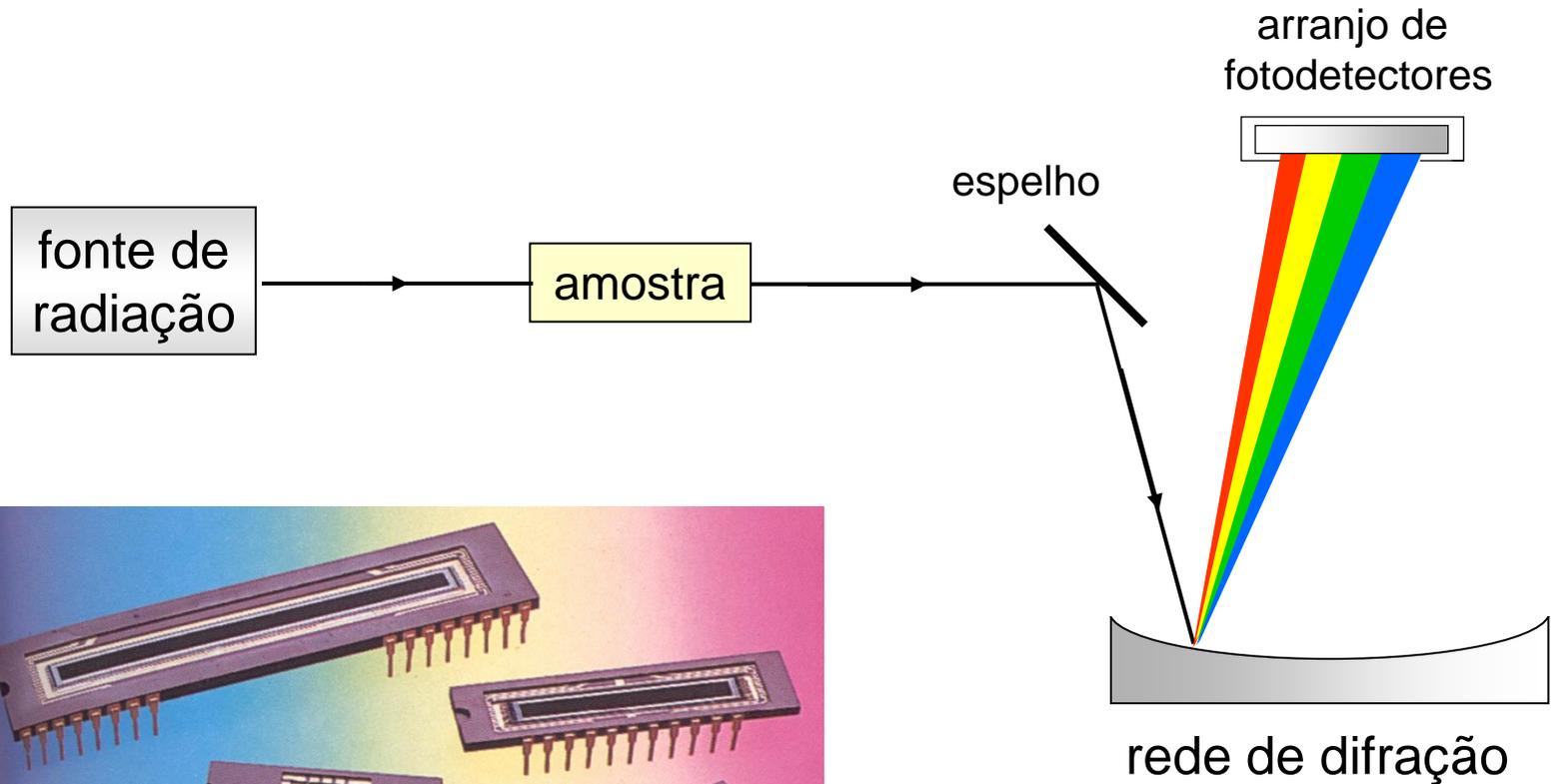
*Amplificação de sinal até 10^9

** Material do fotocatodo: Sb-Cs; Ag-O-Cs; Cs-Te; Mg

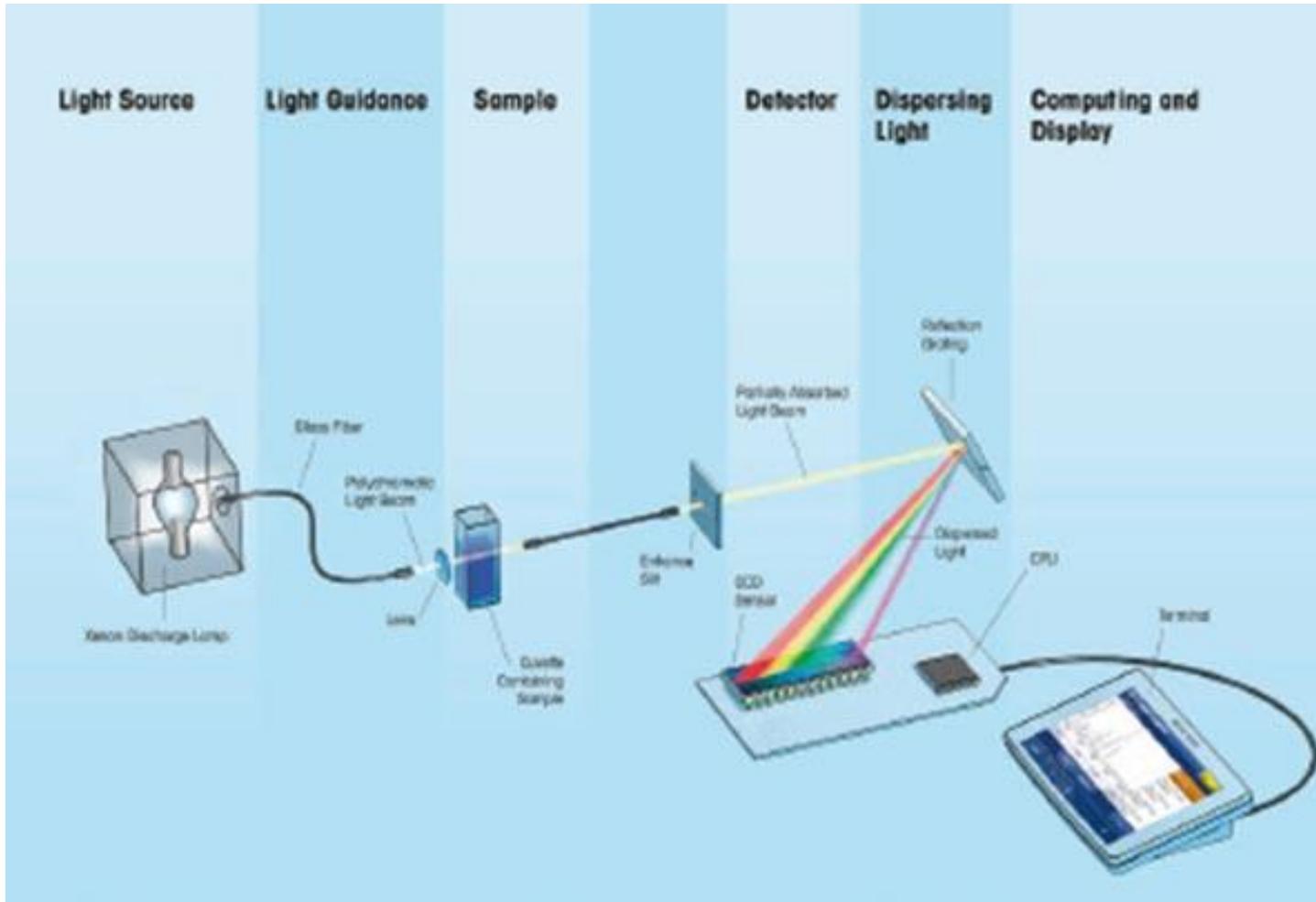
Espectrofotometria UV-Vis



Espectrofotômetro multicanal

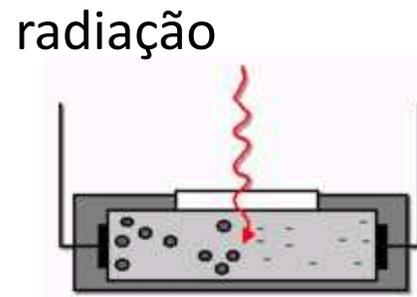
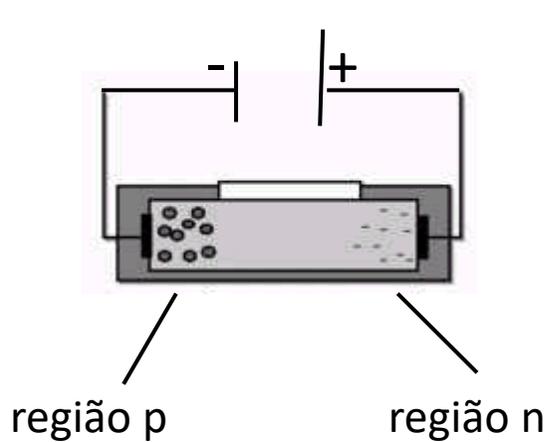
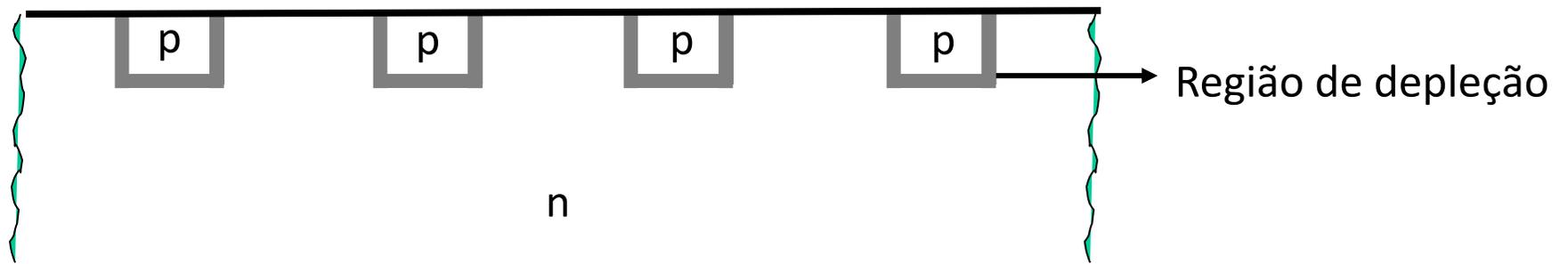


Espectrofotômetro multicanal



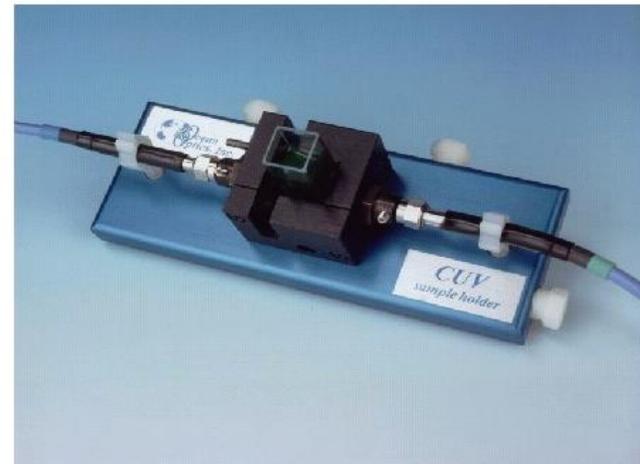
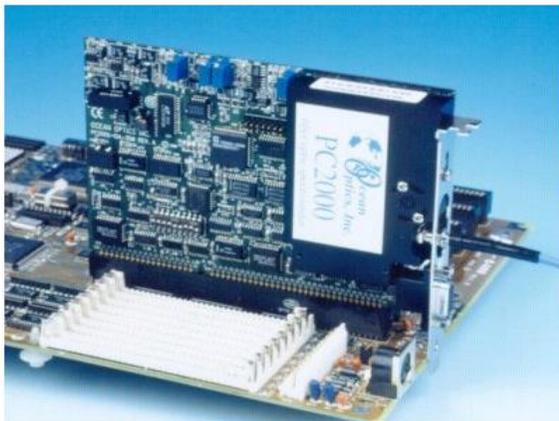
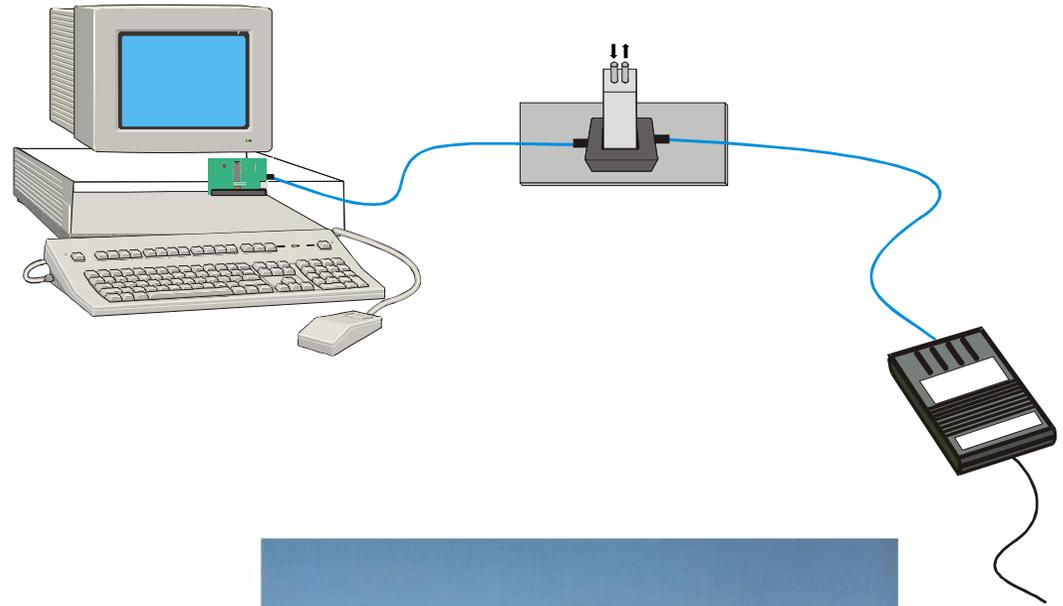
Detetores

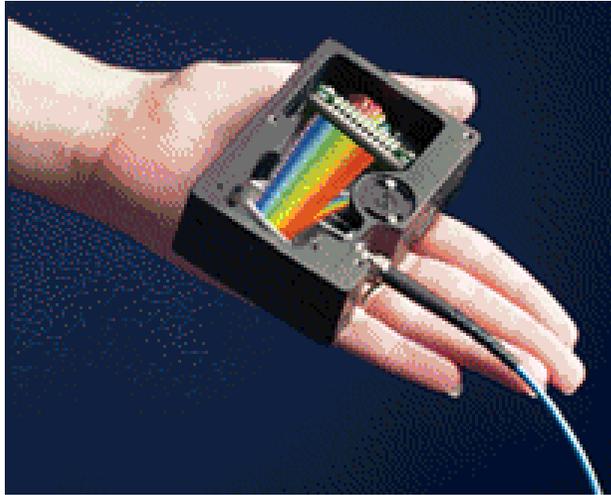
fotodiodo



Medida:
corrente necessária para
recarregar o fotodiodo

Espectrofotômetro com fibra óptica





Espectrofotômetro portáteis



Espectrofotometria UV-VIS

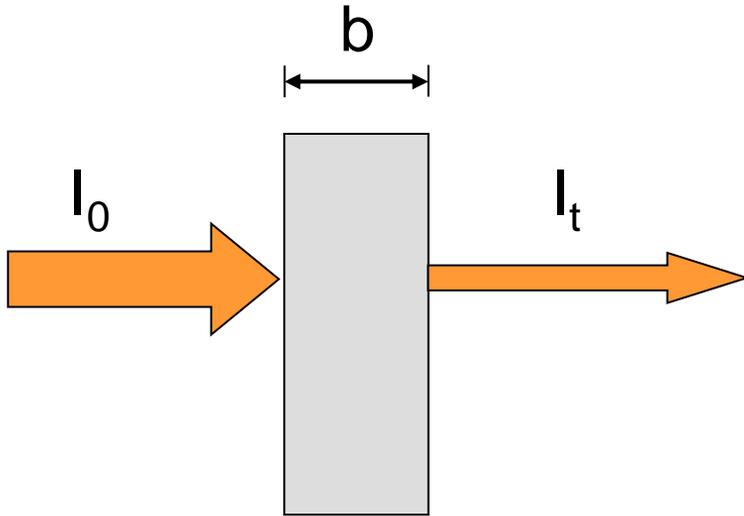
Skoog – Princípios de Análise Instrumental

Cap. 13 – Introdução à Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível

Cap. 14 – Aplicações da Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta/Visível

Espectrofotometria UV-vis: APLICAÇÕES

Lei de Beer



$$\Rightarrow T = I_t / I_0 \quad (\%T = 100 \times T)$$

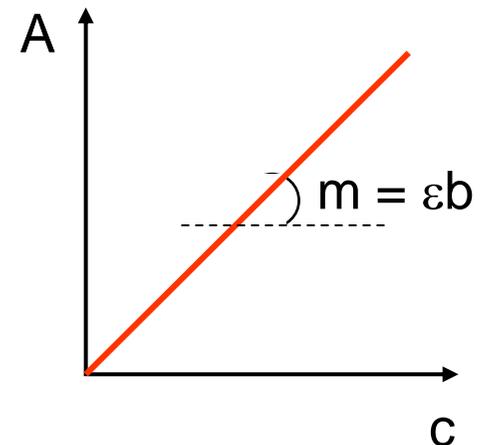
$$\Rightarrow A = \log (1 / T) = \log (I_0 / I_t)$$

$$A = 0 \Rightarrow T = 1 \Rightarrow 100\% \text{ transmiss\~ao}$$

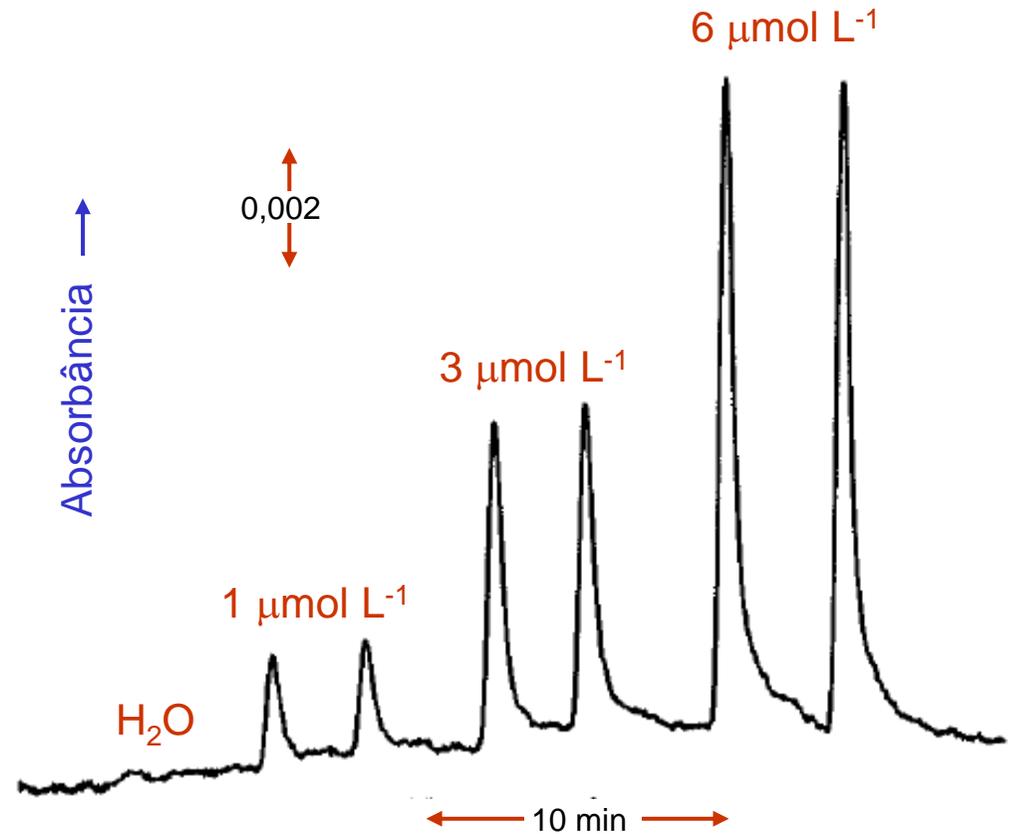
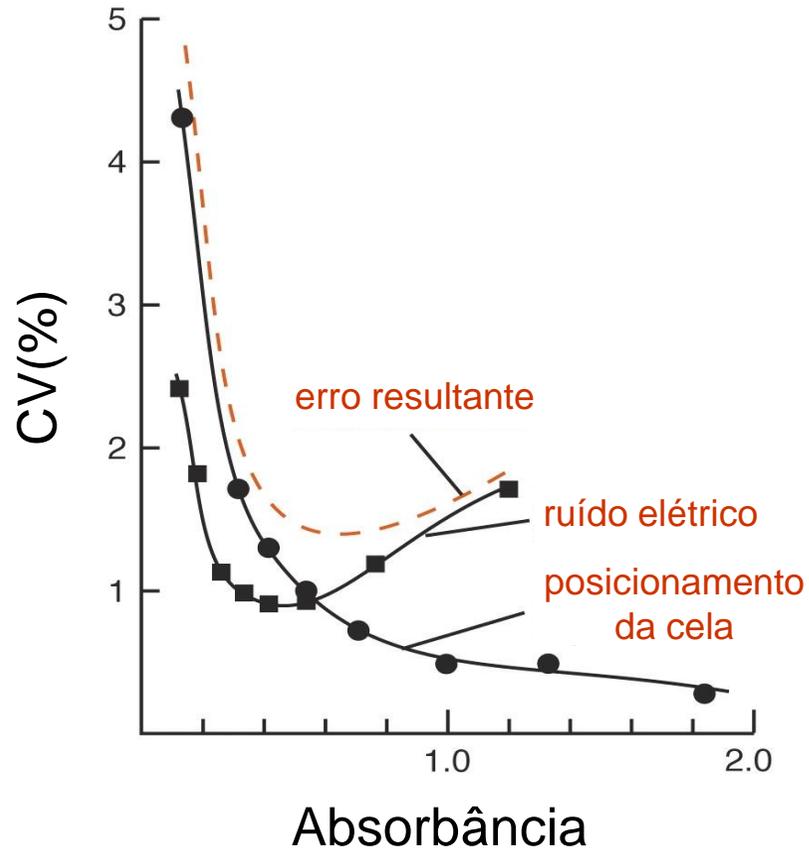
$$A = 1 \Rightarrow T = 0,1 \Rightarrow 10\% \text{ transmiss\~ao}$$

90% absor\~ao

$$\Rightarrow \text{Lei de Beer: } A = \epsilon bc$$



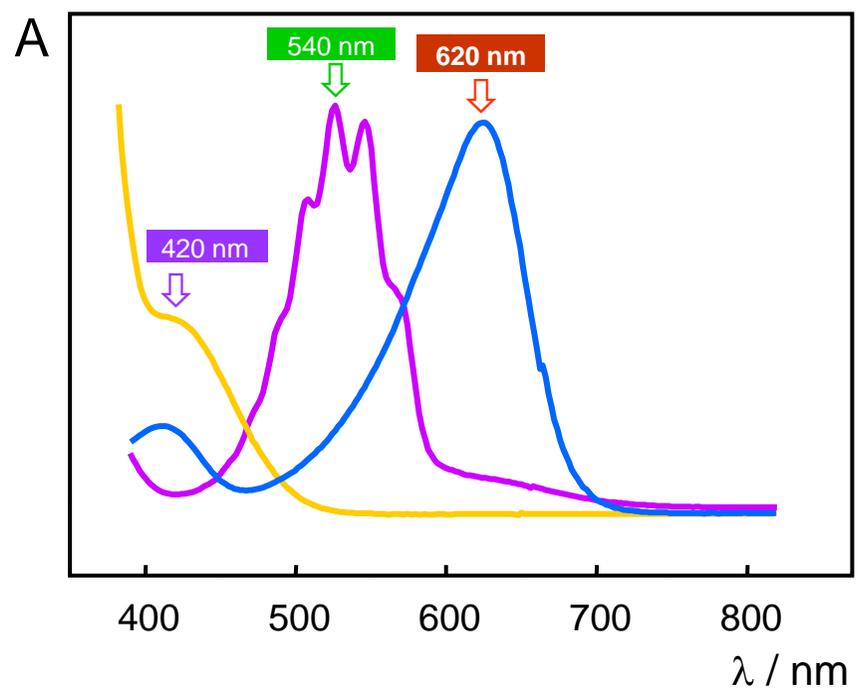
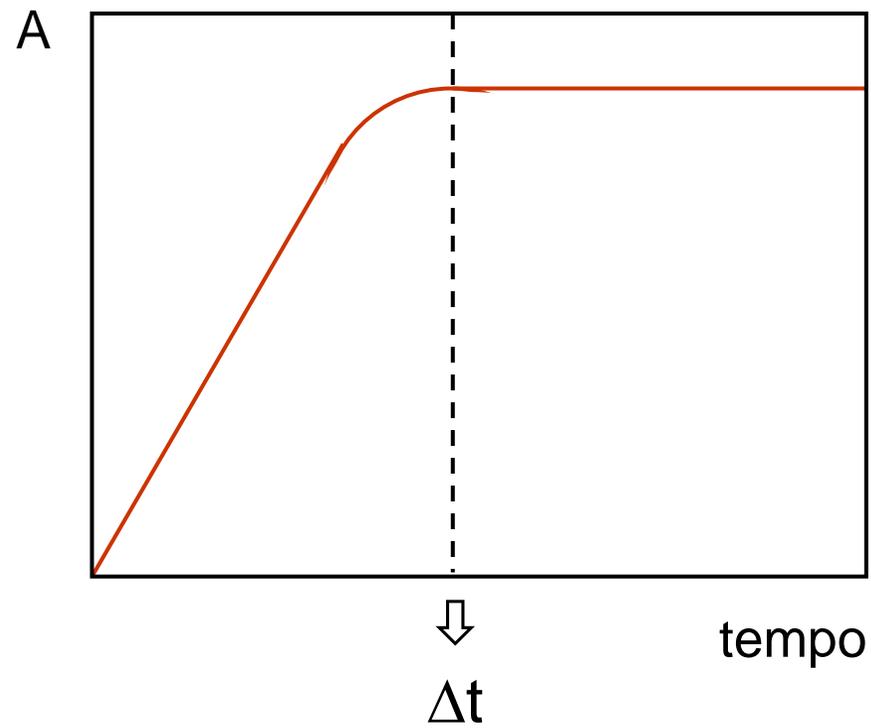
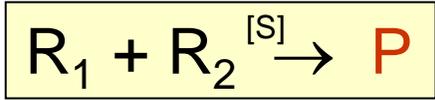
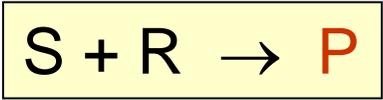
Razão sinal-ruído



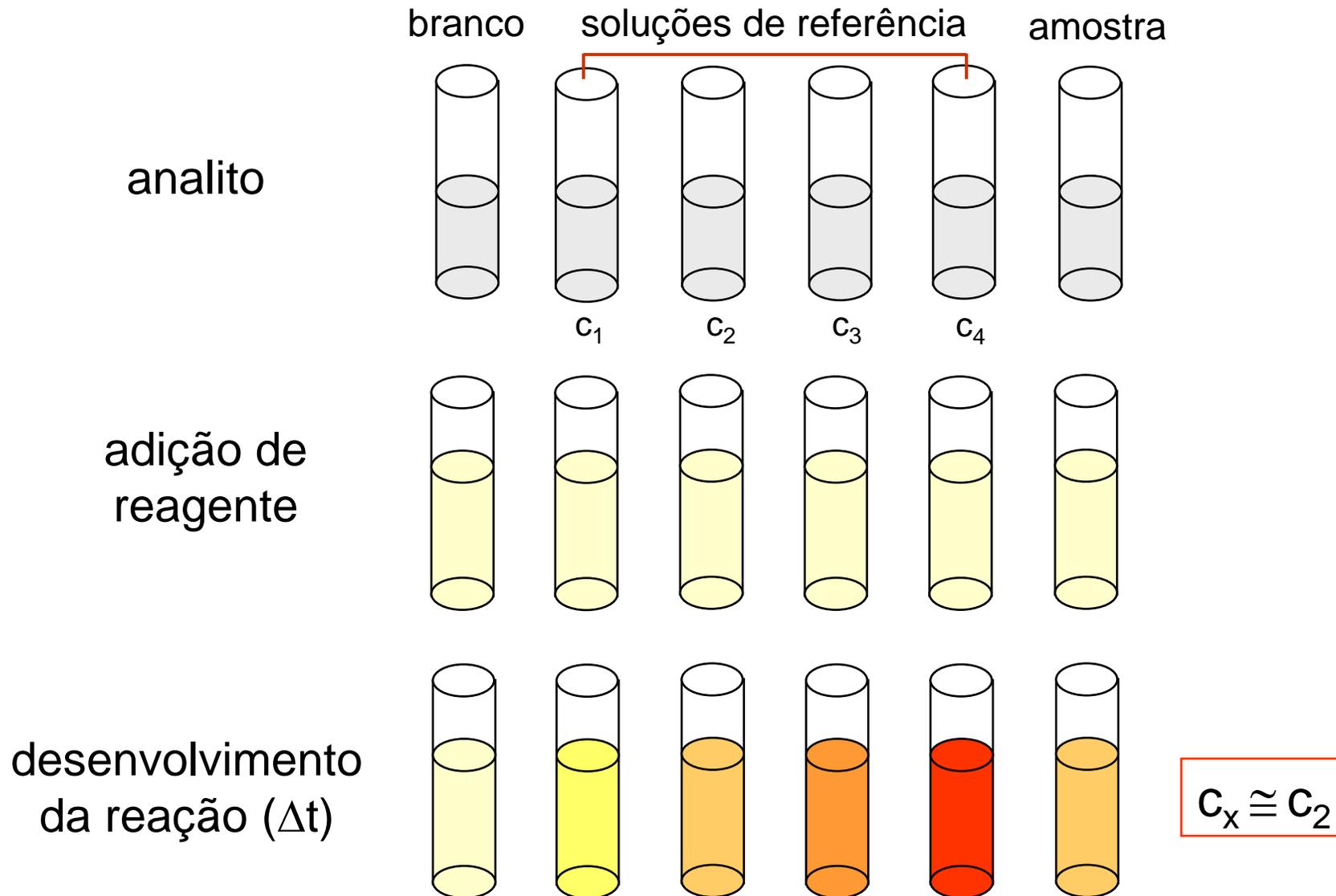
Y. Miura, K. Kusakari, Anal. Sci. 15 (1999) 923

Aplicação da Lei de Beer

- ⇒ radiação monocromática
- ⇒ soluções diluídas ($< 0,01 \text{ mol l}^{-1}$)
- ⇒ condições reacionais
(excesso de reagente, pH)
- ⇒ $A < 1,0$

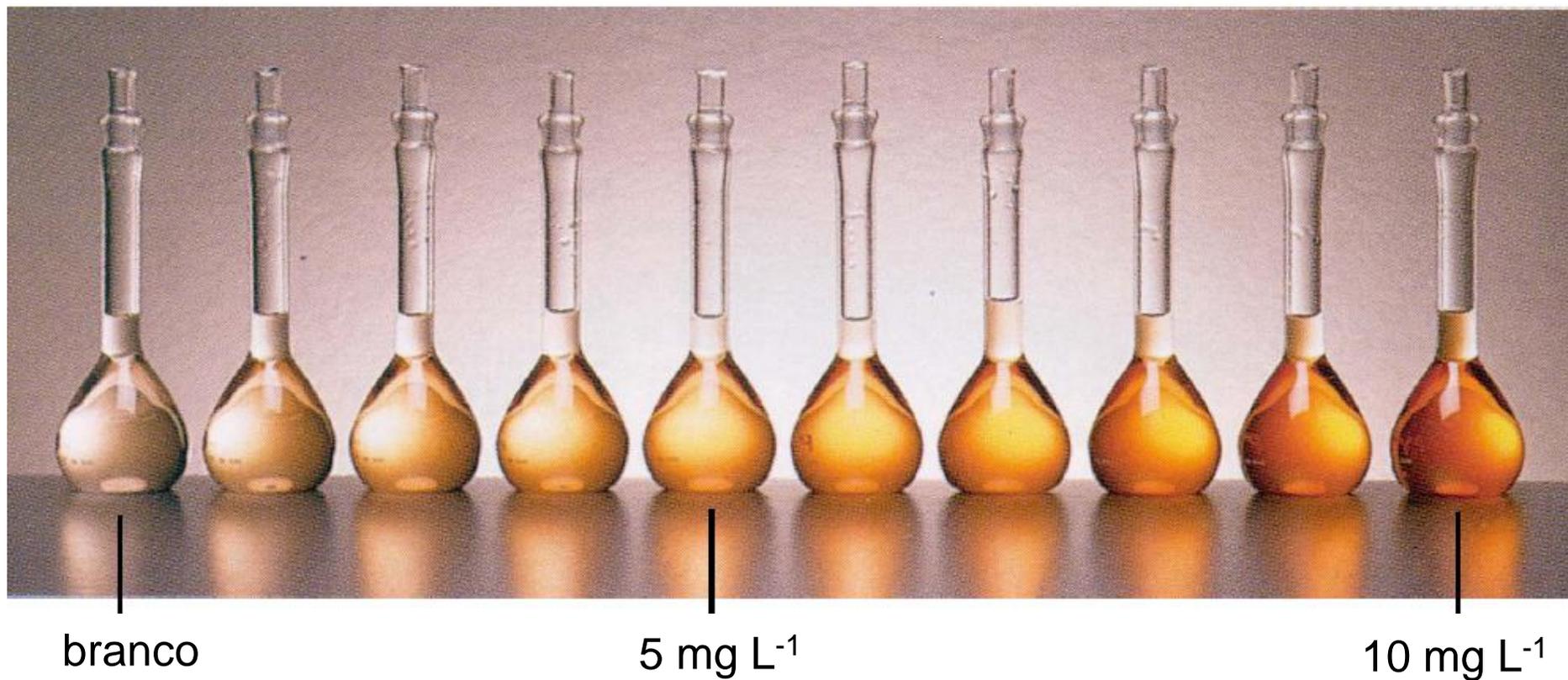
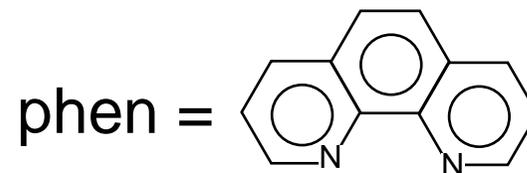
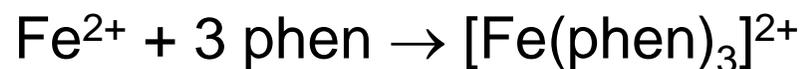


Análise quantitativa



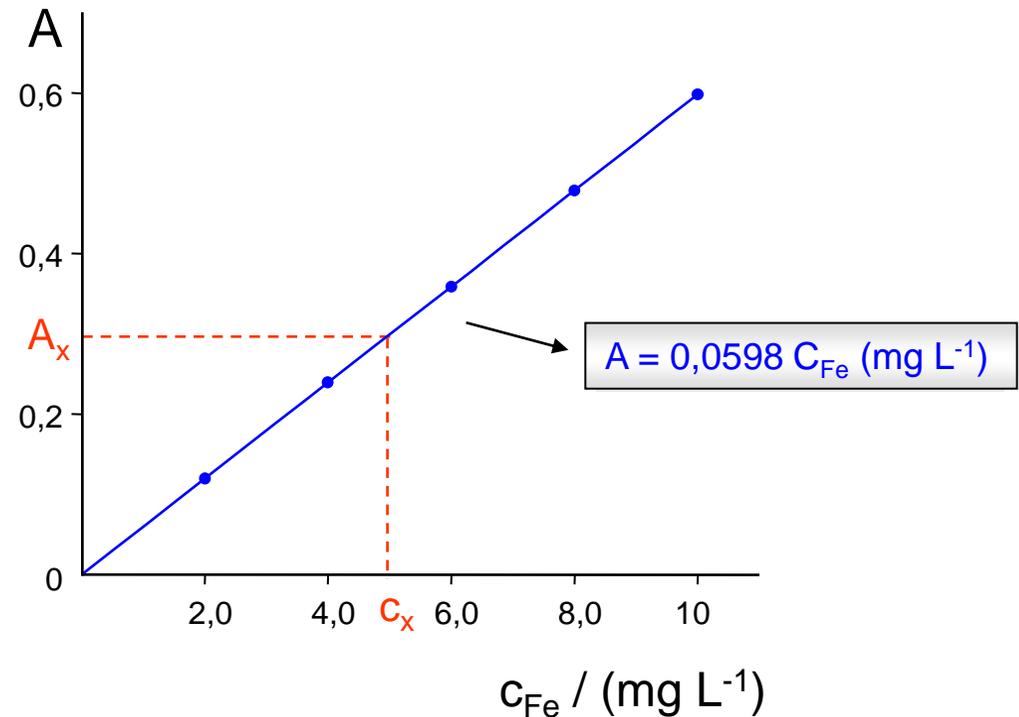
Análise quantitativa

⇒ Exemplo: determinação de ferro com 1,10-fenantrolina



Análise quantitativa

$c_{\text{Fe}} / \text{mg L}^{-1}$	A
2,0	0,120
4,0	0,239
6,0	0,359
8,0	0,478
10	0,598



$$A_x = 0,296$$

$$c_x = 0,296 / 0,0598 \text{ L mg}^{-1}$$

$$c_x = 4,95 \text{ mg L}^{-1}$$

Desvios da Lei de Beer

1. Fundamentais
2. Instrumentais
3. Químicos

1. Desvios fundamentais:

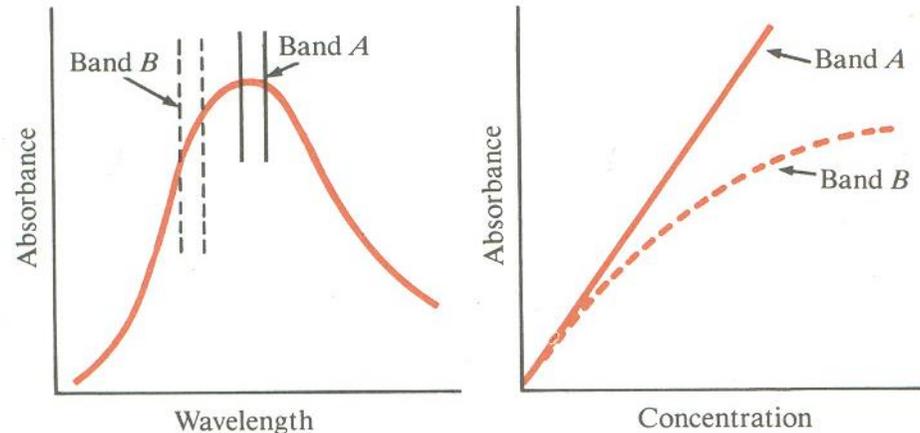
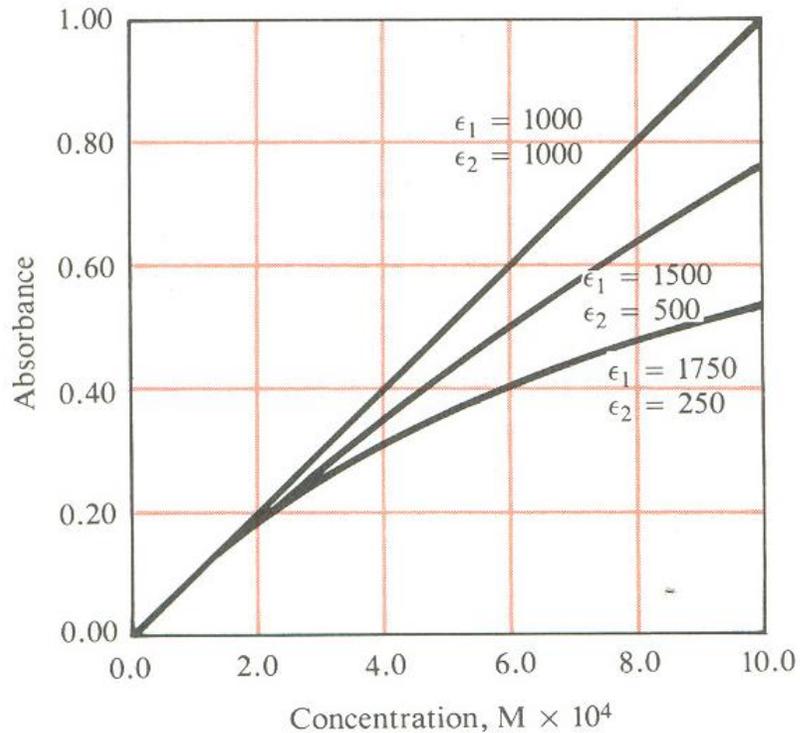
- ◆ $C > 0,01 \text{ mol l}^{-1}$ → mudança na distribuição de carga
 - ◆ Meio com alta concentração de outras espécies (eletrólitos)
→ interações eletrostáticas altera absorvidade molar
- Teste de diluição
 - Teste de adição e recuperação

Desvios da Lei de Beer

2. Desvios instrumentais:

$$A' = \log \frac{(P_0' + P_0'')}{(P' + P'')}$$

⇒ Radiação policromática



Desvios da Lei de Beer

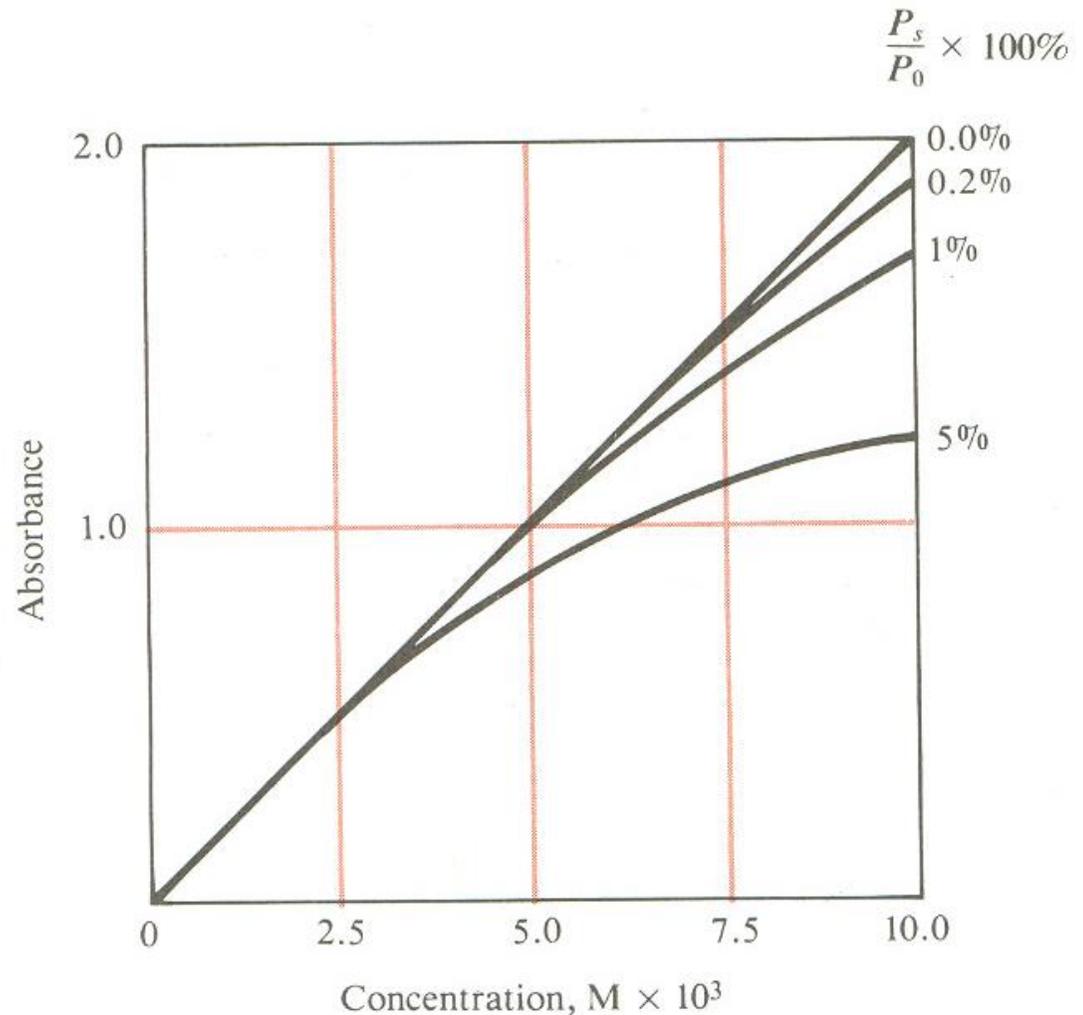
2. Desvios instrumentais:

⇒ Radiação espúria

$$A' = \log \frac{(P_0 + P_s)}{(P + P_s)}$$

P_s = radiação espúria

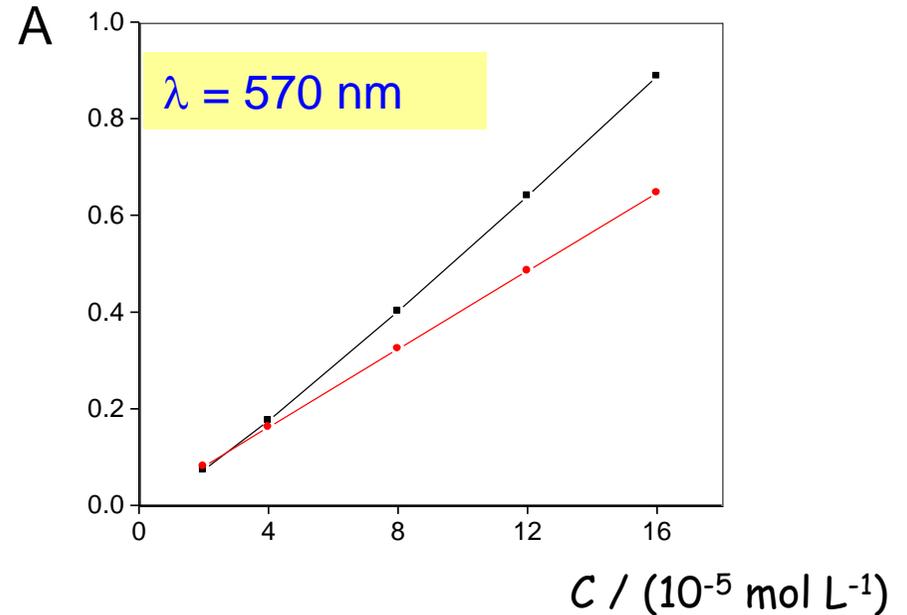
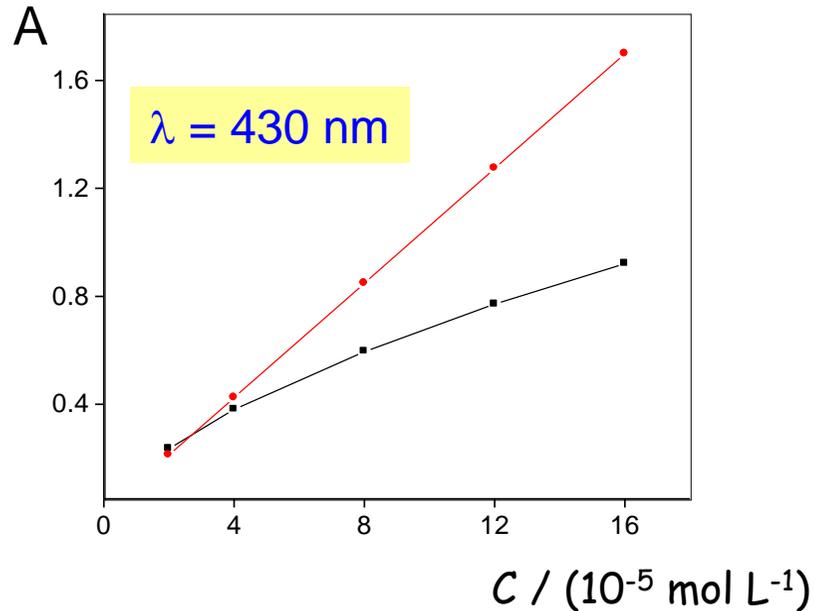
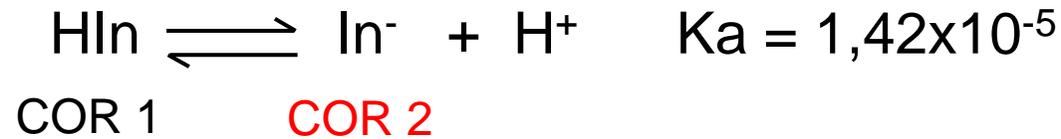
- Luz ambiente
- Reflexões
- Desvios instrumentais



Desvios da Lei de Beer

3. Desvios químicos

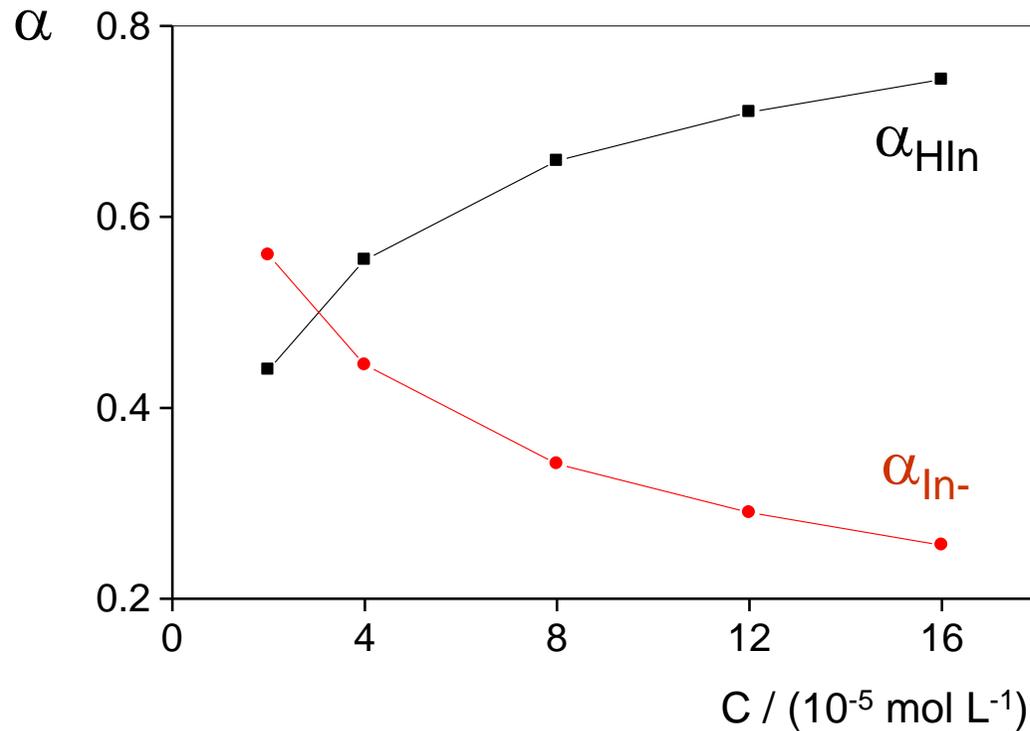
- Espécies que reagem com o solvente
- Variação na dissociação devido à diluição



Desvios da Lei de Beer



	$\epsilon_{430} (\text{L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1})$	$\epsilon_{570} (\text{L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1})$
HIn	$6,30 \times 10^2$	$7,12 \times 10^3$
In ⁻	$2,06 \times 10^4$	$9,60 \times 10^2$



Desvios da Lei de Beer



Para $C_{\text{total}} = 2,00 \times 10^{-5}$ mol/L de indicador: calcular concentrações de equilíbrio das formas HIn e In^-

$$K_a = 1,42 \times 10^{-5} = \frac{[\text{H}^+][\text{In}^-]}{[\text{HIn}]}$$

No equilíbrio: $[\text{H}^+] = [\text{In}^-]$

Concentração total de indicador: $C_{\text{total}} = 2,00 \times 10^{-5} = [\text{HIn}] + [\text{In}^-]$

$$\frac{[\text{In}^-]^2}{2,00 \times 10^{-5} - [\text{In}^-]} = 1,42 \times 10^{-5}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} [\text{In}^-] = 1,12 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \\ [\text{HIn}] = 0,88 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \end{array} \right.$$

Desvios da Lei de Beer

Para $C_{\text{total}} = 2,00 \times 10^{-5}$ mol/L de indicador

$$\left\{ \begin{array}{l} [\text{In}^-] = 1,12 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \\ [\text{HIn}] = 0,88 \times 10^{-5} \text{ mol/L} \end{array} \right.$$

$$\alpha_{\text{HIn}} = \frac{[\text{HIn}]}{C_{\text{total}}} = \frac{0,88 \times 10^{-5}}{2,00 \times 10^{-5}} = 0,44$$

$$\alpha_{\text{In}^-} = \frac{[\text{In}^-]}{C_{\text{total}}} = \frac{1,12 \times 10^{-5}}{2,00 \times 10^{-5}} = 0,56$$

Desvios da Lei de Beer

Para $C_{\text{total}} = 2,00 \times 10^{-5}$ mol/L de indicador

Calcular **A** nos dois comprimentos de onda ($b = 1$ cm)

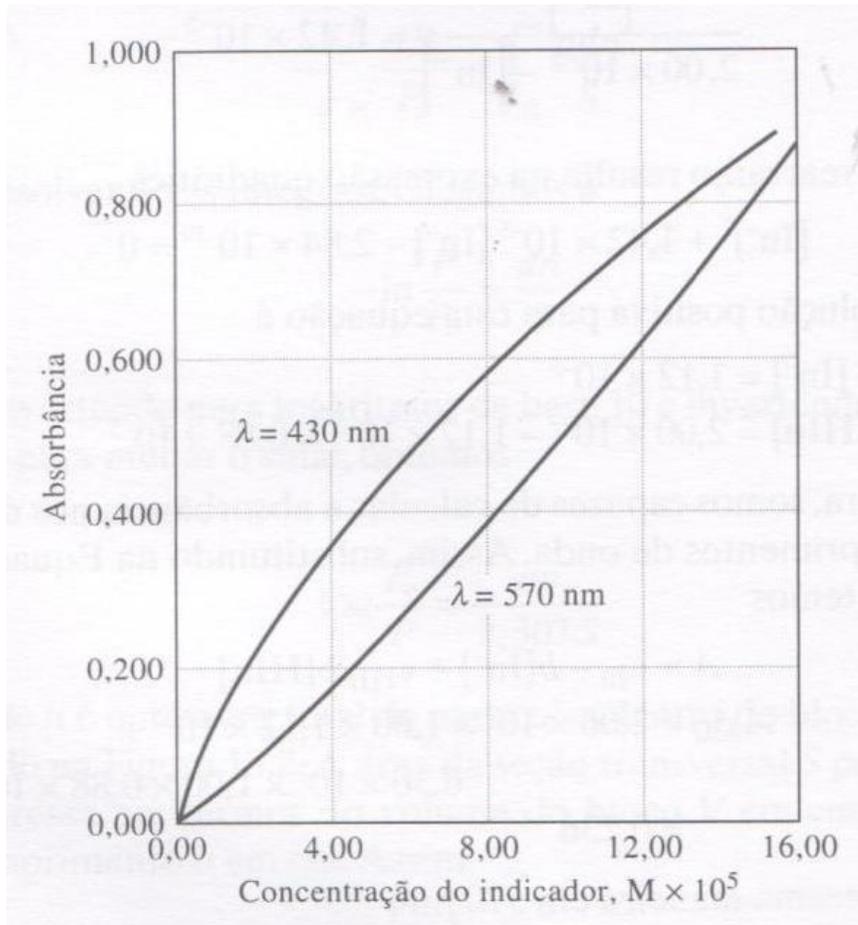
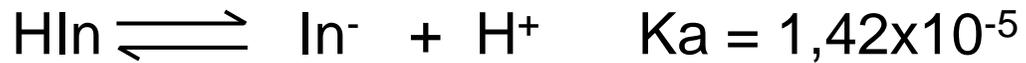
$$A_{\text{total}} = \varepsilon_{\text{In}^-} \times b \times [\text{In}^-] + \varepsilon_{\text{HIn}} \times b \times [\text{HIn}]$$

$$A_{430} = 2,06 \times 10^4 \times 1 \times 1,12 \times 10^{-5} + 6,30 \times 10^2 \times 1 \times 0,88 \times 10^{-5} = \mathbf{0,236}$$

$$A_{570} = 9,61 \times 10^2 \times 1 \times 1,12 \times 10^{-5} + 7,12 \times 10^3 \times 1 \times 0,88 \times 10^{-5} = \mathbf{0,073}$$

Atividade: Calcular as absorbâncias nos dois comprimentos de onda para outros valores de C_{total} (4×10^{-5} a 16×10^{-5} mol/L) e construir a curva A versus C_{total} (observar o desvio de linearidade da lei de Beer)

Desvios da Lei de Beer



Desvio da lei de Beer que surge quando o sistema absorvedor sofre dissociação ou associação

Desvios da Lei de Beer

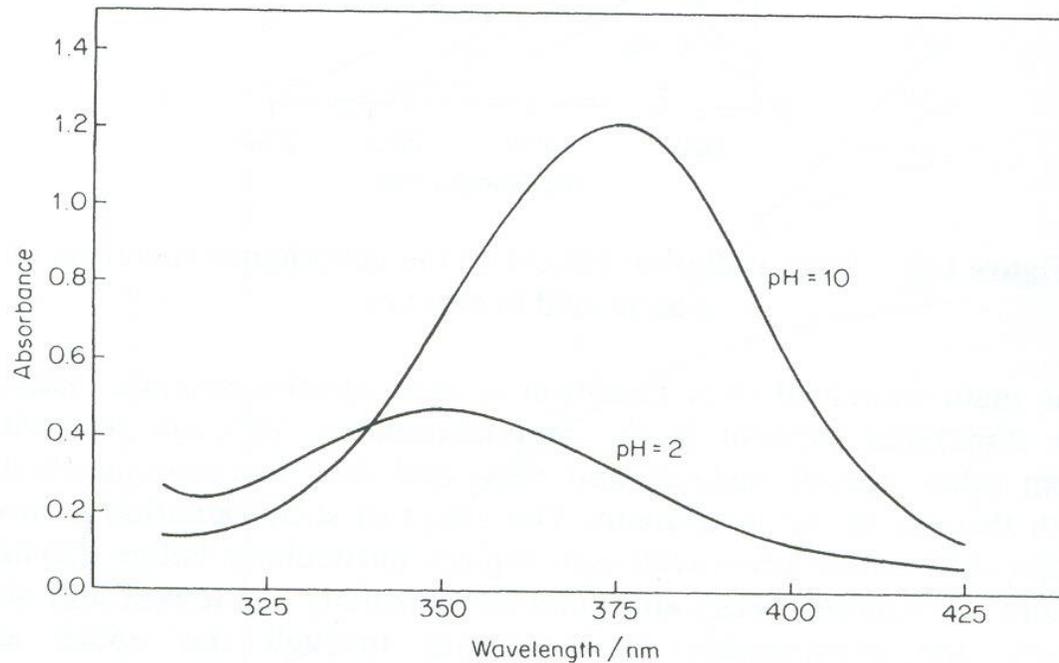
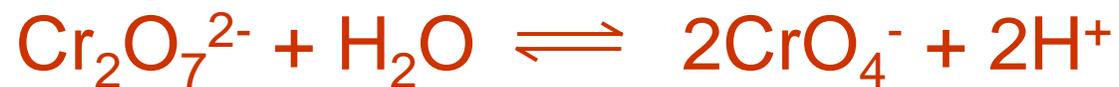


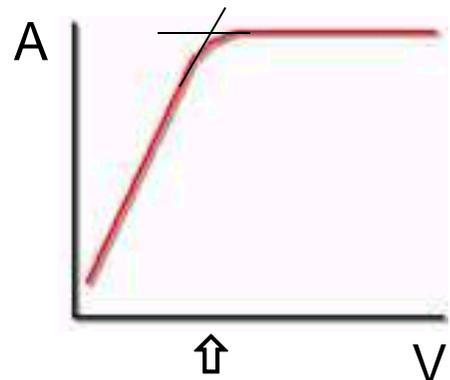
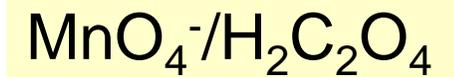
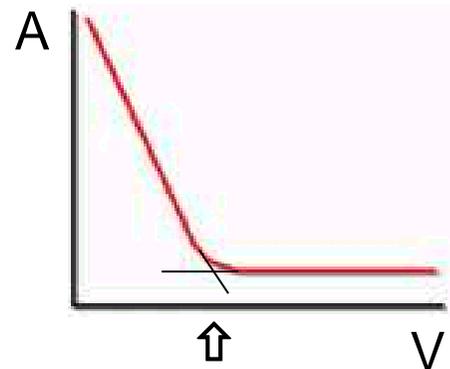
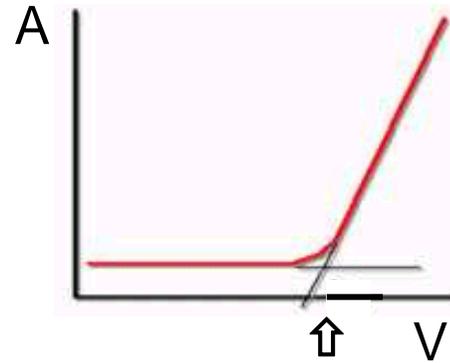
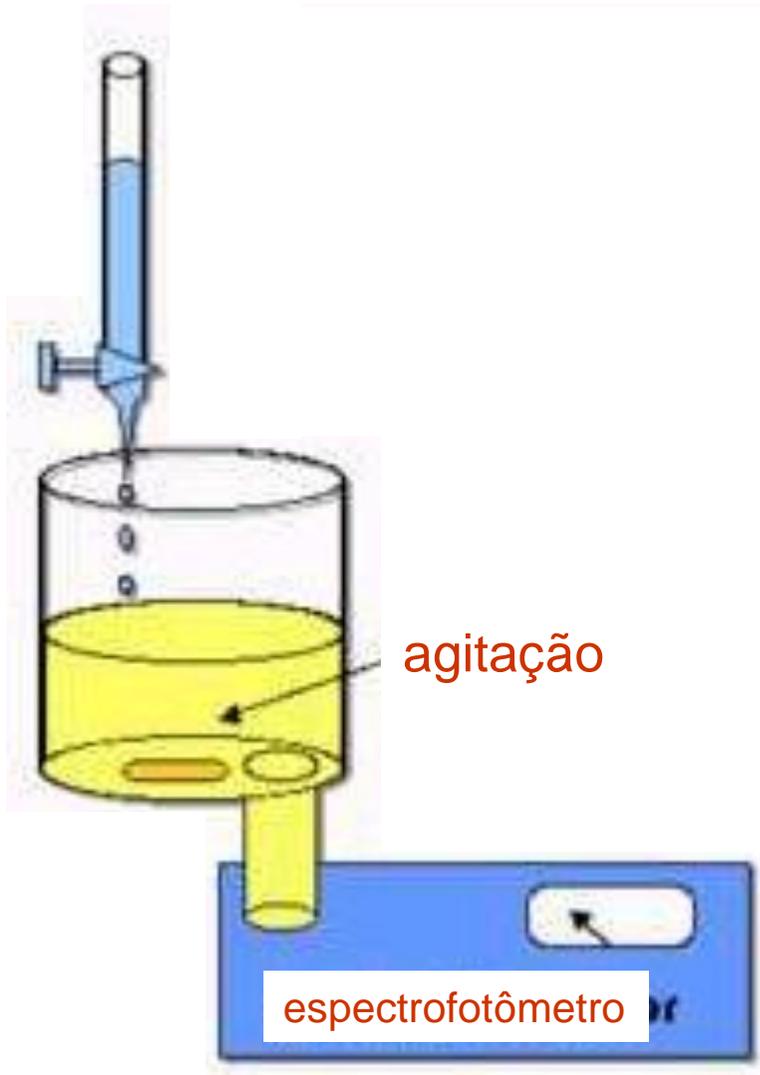
Figure 1.5d Visible absorption spectrum of potassium dichromate ($3 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$) recorded at pH 2 and 10



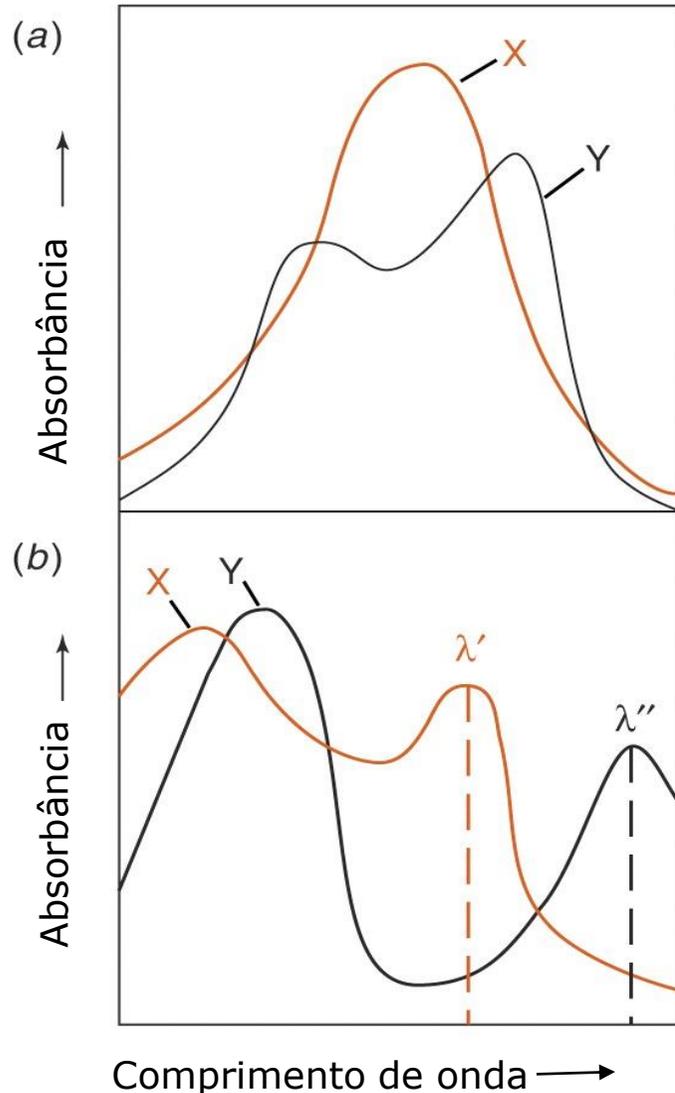
Aplicações da espectrofotometria

- ⇒ diretas
- ⇒ derivação química
- ⇒ acoplamento com técnicas/processos (FIA, cromatografia)
- ⇒ titulações espectrofotométricas

Titulações espectrofotométricas



Análise de misturas



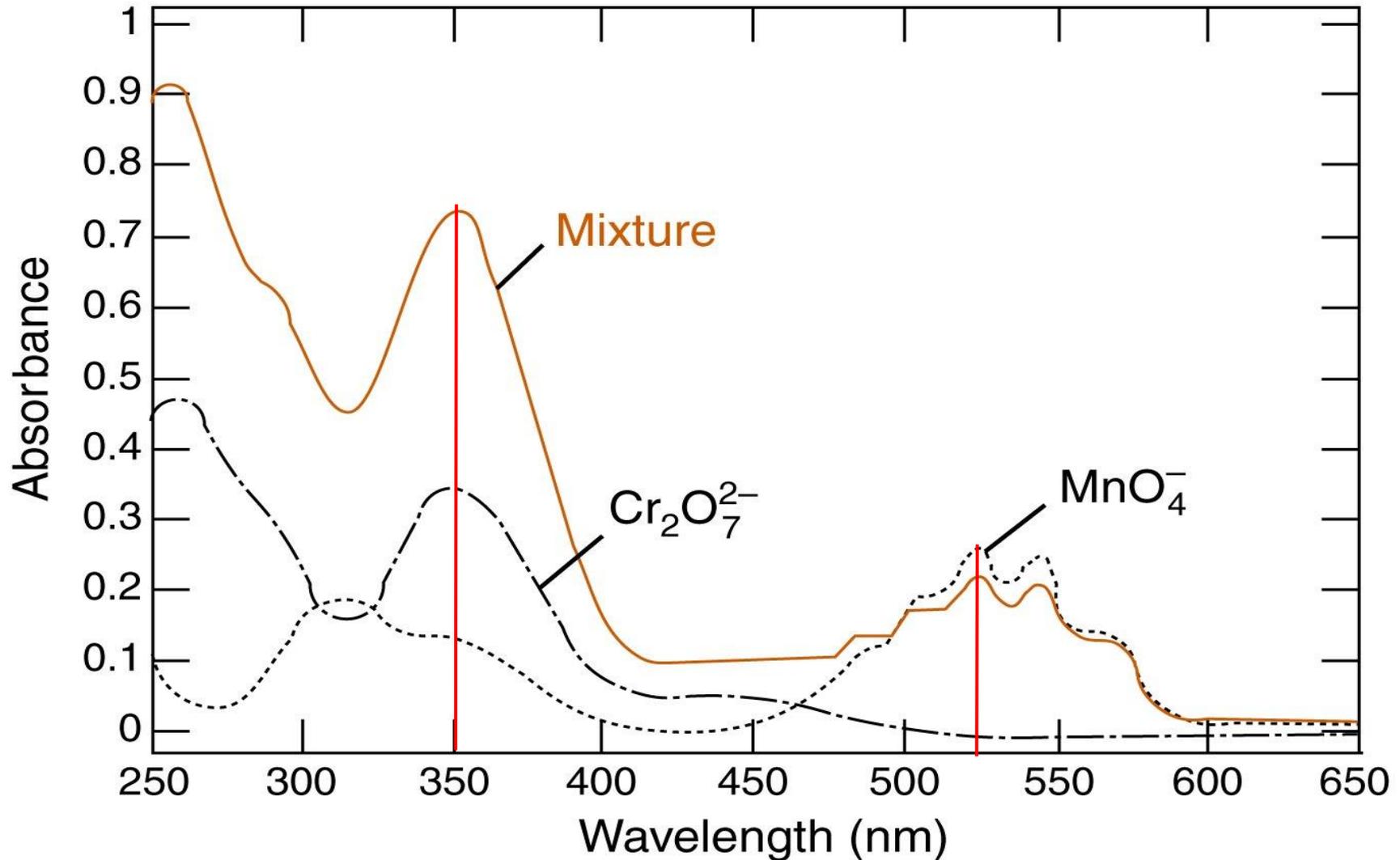
A absorbância de uma solução, em qualquer comprimento de onda, é a soma das absorbâncias de todas as espécies presentes em solução.

$$A = \varepsilon_x b c_x$$

$$A = \varepsilon_y b c_y$$

$$A = \varepsilon_x b c_x + \varepsilon_y b c_y$$

Análise de misturas



Análise de misturas

Tiocianato (SCN^-) e ácido sulfossalicílico (HSS) em mistura podem ser determinados pela formação de seus complexos com Fe^{3+} . A absorção máxima dos complexos $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ e $\text{Fe}(\text{HSS})^{2+}$ ocorrem em 475 nm e 420 nm, respectivamente. As absorptividades molares desses complexos em ambos os comprimentos de onda são:

Calcule a concentração molar de ambos os ligantes numa solução diluída sabendo que a mesma apresenta absorvância 0,283 em 475 nm e 0,184 em 420 nm na presença de excesso de ions Fe^{3+} , em cubeta de 1,000 cm.

	Absortividade molar ($\text{L cm}^{-1} \text{ mol}^{-1}$)	
	475 nm	420 nm
$\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$	7400	1580
$\text{Fe}(\text{HSS})^{2+}$	840	5600

Análise de misturas: Exercício

Um fotômetro equipado com um fotodetector que responde linearmente à intensidade de radiação incidente foi empregado para a determinação de fosfato em amostras de água. Foram preparadas 2 soluções, contendo 25,0 mL de amostra, 5,00 mL do reagente apropriado em 50,0 mL (solução 1) e 25,0 mL de amostra, 10,0 mL solução 10,0 mg/L fosfato e 5,00 mL do reagente apropriado em 50,0 mL (solução 2). Calcule a concentração de fosfato na amostra, sabendo que empregando a mesma cela, os sinais medidos foram 495 mV; 340 mV e 170 mV para água destilada, solução 1 e solução 2, respectivamente.

Referências

- ⇒ Harris, D.C., Análise Química Quantitativa, 6ª ed., LTC, Rio de Janeiro, 2005.
- ⇒ Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Princípios de análise instrumental, 5ª ed., Bookman, Porto Alegre, 1998.
- ⇒ Reev, R. N., Environmental analysis, John Wiley & Sons, Chichester, 1994
- ⇒ <http://ull.chemistry.uakron.edu/analytical/>