



Disciplina: SQM0415 – Análise Instrumental I

Introdução à Espectrometria de Absorção Molecular UV/Vis

Professores:

Álvaro José dos Santos Neto

Emanuel Carrilho

Introdução à Espectroscopia Absorção Molecular no UV/visível – Capítulo 13

- **Medição da Transmitância e da Absorbância**
 - Definições e equações
- **A Lei de Beer**
 - Derivação, aplicações e limitações
- **Efeito do ruído instrumental nas medições espectrofotométricas**
 - Fontes de ruído e erros
- **Instrumentação**
 - Desenho e configurações

Medição da Transmitância e da Absorbância

- Espectroscopia de absorção molecular baseia-se na medida da *transmitância*, **T** ou da *absorbância*, **A** de uma solução contida em um recipiente transparente
- O valor de **T** ou **A** é correlacionado com a concentração **c** do analito responsável pela absorção e com o caminho ótico **b** do recipiente pela expressão:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon bc$$

- Medição deve ser feita comparativamente

$$T = \frac{P_{\text{solução}}}{P_{\text{solvente}}} = \frac{P}{P_0} \quad \text{ou} \quad A = \log \frac{P_{\text{solvente}}}{P_{\text{solução}}} \approx \log \frac{P_0}{P}$$

Termos e Símbolos em Absorção Molecular

Termos e Símbolos	Definição	Nome Alternativo
Potência Radiante P, P_0	Energia da radiação incidindo em uma área de 1 cm^2 de um detector por segundo	Intensidade da Radiação I, I_0
Absorbância A	$\log P_0/P$	Densidade ótica D , Extinção E
Transmitância T	P/P_0	Transmissão T
Caminho ótico da radiação b	-	l, d
Absortividade a	A/bc	Coeficiente de extinção k
Absortividade molar ϵ	A/bc	Coeficiente de extinção molar

Perdas por Reflexão e Espalhamento

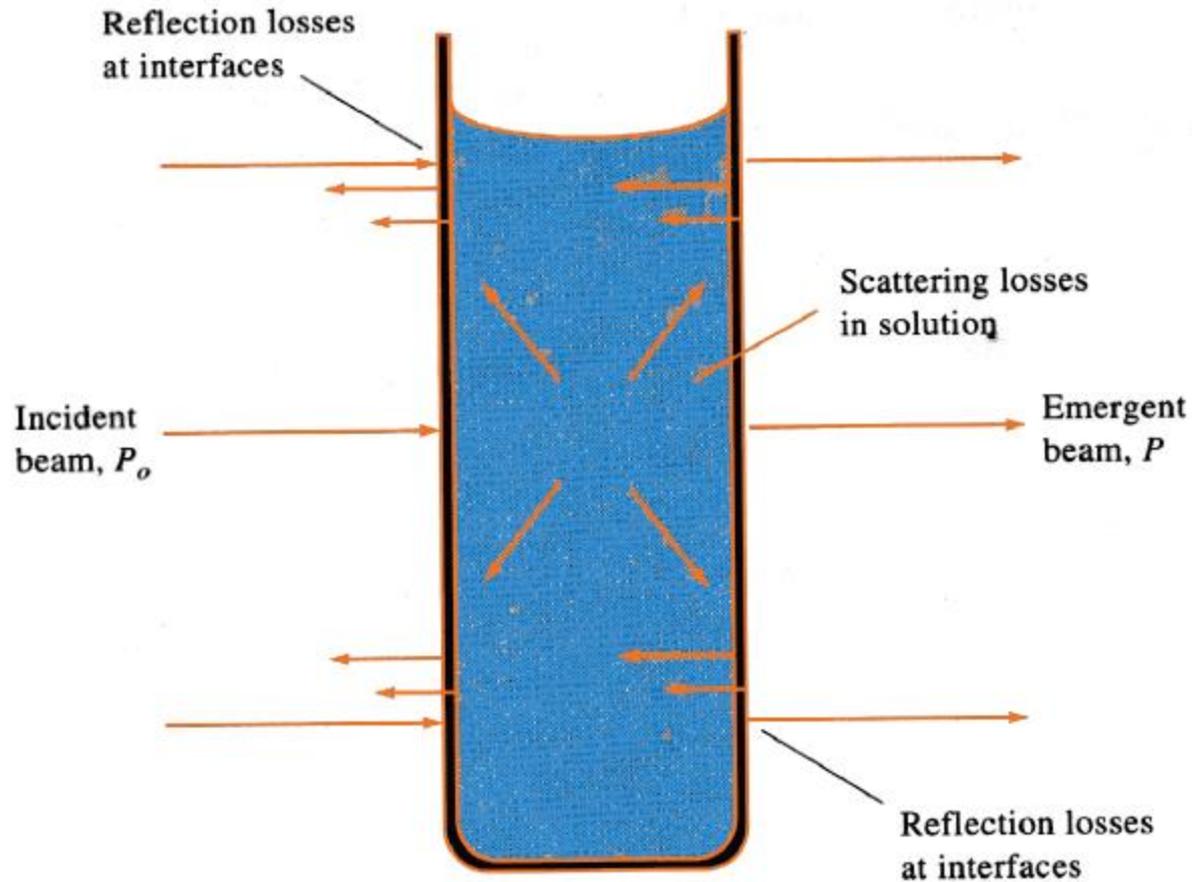


Figure 13-1 Reflection and scattering losses.

A lei de Beer

- Um feixe de radiação monocromática com potência P_0 atinge perpendicularmente a superfície
- A potência diminui para P após percorrer toda a extensão b do material contendo n partículas* absorventes de radiação
- Uma seção transversal do bloco com área S e espessura dx conterá dn moléculas que absorverão radiação
- Cada molécula preencherá uma fração dS da área indicando a probabilidade de absorção de um fóton por dS/S
- A potência do feixe entrando esta seção, P_x é proporcional ao no. de fótons por cm^2 e dP_x a quantidade absorvida dentro da seção

- A fração absorvida na seção transversal será $-dP_x/P_x$ que também representa a probabilidade média de absorção

$$-\frac{dP_x}{P_x} = \frac{dS}{S}$$

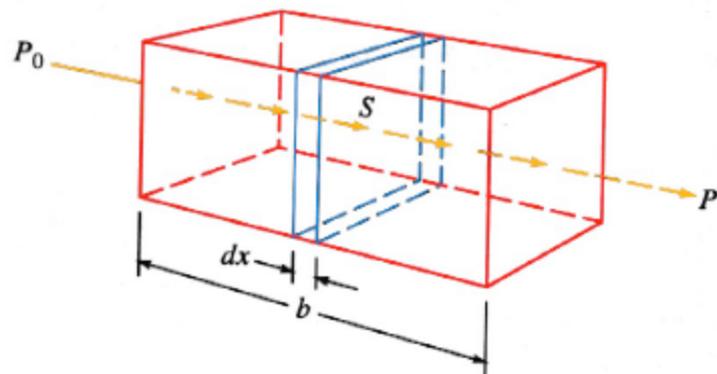


Figure 13-2 Attenuation of radiation with initial power P_0 by a solution containing c moles per liter of absorbing solute and with a path length of b cm. $P < P_0$.

A lei de Beer

- Sendo dS a soma das áreas de todas partículas absorvendo dentro da seção \therefore proporcional ao no. de partículas

$$dS = adn$$

e dn é o no. de partículas e a é uma constante de proporcionalidade \Rightarrow seção transversal de captura

$$-\int_{P_0}^P \frac{dP_x}{P_x} = \int_0^n \frac{adn}{S}$$

e resolvendo a equação temos

$$-\ln \frac{P_0}{P} = \frac{an}{S}$$

- Transformando em \log_{10}

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{an}{2,303S}$$

sendo n o número total de partículas no bloco de volume V em cm^3

- Relacionando a área em termos de volume

$$S = \frac{V \text{ cm}^3}{b \text{ cm}} = \text{cm}^2$$

temos a expressão logarítmica

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{anb}{2,303V}$$

A lei de Beer

- **Note que:**

- n/V tem unidades de concentração, ou seja o número de partículas por cm^3
- Convertendo em mol por litro

$$\text{no. mol} = \frac{n \text{ partículas}}{6,02 \times 10^{23} \text{ partículas/mol}}$$

e a concentração em mol/L

$$c = \frac{n}{6,02 \times 10^{23}} \text{ mol} \times \frac{1000 \text{ cm}^3/\text{L}}{V \text{ cm}^3} = \frac{1000n}{6,02 \times 10^{23} V} \text{ mol/L}$$

A lei de Beer

- Finalmente, combinando

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{anb}{2,303V}$$

com

$$c = \frac{1000n}{6,02 \times 10^{23} V} \text{ mol/L}$$

temos:

$$\log \frac{P_0}{P} = \frac{6,02 \times 10^{23} abc}{2,303 \times 1000}$$

- Finalmente, agrupando todas as constantes temos a **Lei de Beer**

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

Aplicação da Lei de Beer para Misturas

- O valor da absorvância em um dado comprimento de onda será a somatória das absorvâncias de cada espécie absorvendo em solução
 - É importante que não ocorra interação entre as espécies
 - Todas as espécies absorventes em solução obedecem a lei de Beer
 - Para um sistema com n espécies é necessário obter n determinações em comprimentos de ondas diferentes

$$A_{total}^{\lambda_1} = A_1^{\lambda_1} + A_2^{\lambda_1} + \dots + A_n^{\lambda_1}$$

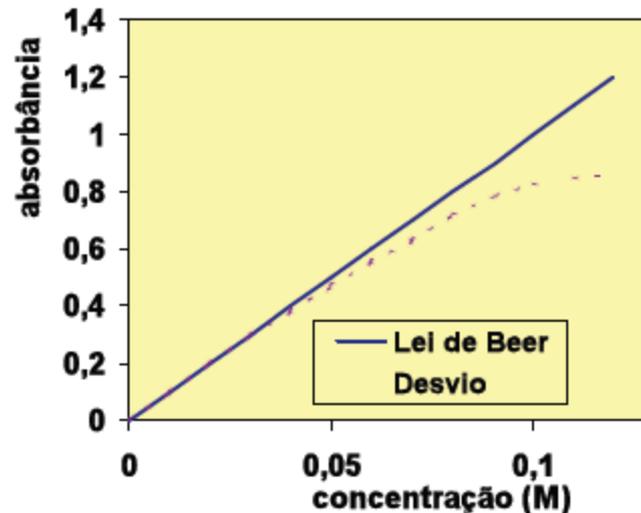
$$A_{total}^{\lambda_2} = A_1^{\lambda_2} + A_2^{\lambda_2} + \dots + A_n^{\lambda_2}$$

⋮

$$A_{total}^{\lambda_n} = A_1^{\lambda_n} + A_2^{\lambda_n} + \dots + A_n^{\lambda_n}$$

Limitações Da Lei De Beer

- Quando a correlação linear entre absorbância e concentração não é obedecida?



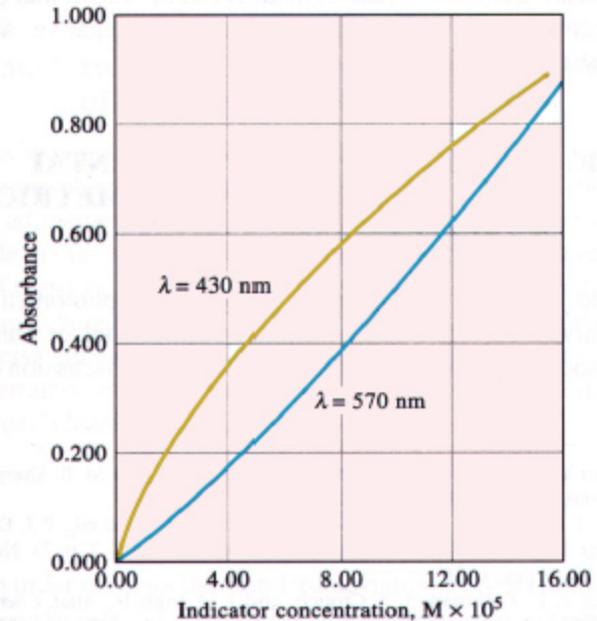
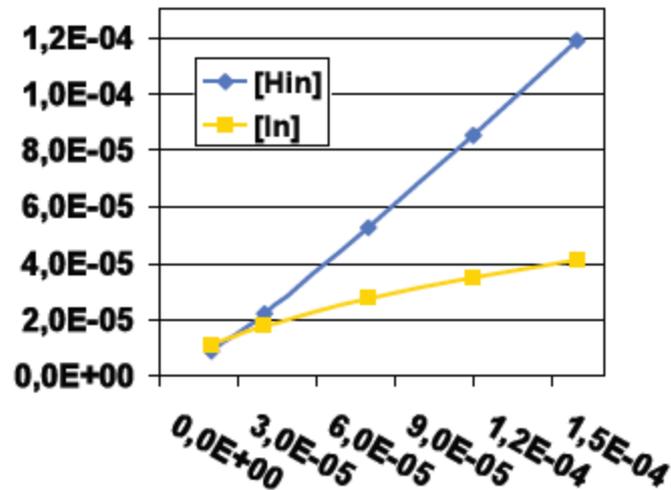
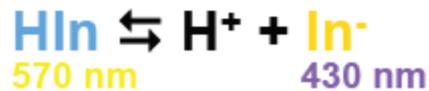
- Desvios/limitações instrumentais
 - São dependentes da forma como a medição é feita

Desvios Fundamentais / Limitações Reais da Lei de Beer

- **A lei de Beer é idealizada para soluções diluídas**
 - Em soluções relativamente concentradas ($>0,01 \text{ mol L}^{-1}$) a distância média entre moléculas absorventes diminui e interações entre as mesmas começam a afetar a distribuição de cargas
 - Este tipo de interação pode alterar a habilidade das espécies absorverem um dado comprimento de onda
 - Em soluções diluídas de analitos porém com grande concentração de outras espécies, p.ex., eletrólitos
 - Interações eletrostáticas podem alterar a absorvidade molar ϵ das espécies
 - Em casos extremos, soluções tão diluídas quanto $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ são necessárias para observação da lei de Beer
 - Em teoria, ϵ é dependente do índice de refração n . Se a concentração alterar significativamente $n \Rightarrow$ desvio da lei de Beer

Desvios Químicos Aparentes

- Principal causa de desvios químicos ocorre quando o analito se dissocia, associa ou reage com as moléculas do solvente gerando uma espécie química com espectro de absorção diferente
- Por ex., indicadores ácido-base ($K_a = 1,42 \times 10^{-5}$)



Desvios Instrumentais Aparentes com Radiação Policromática

- Outra limitação importante da lei de Beer \Rightarrow obtenção de radiação verdadeiramente monocromática

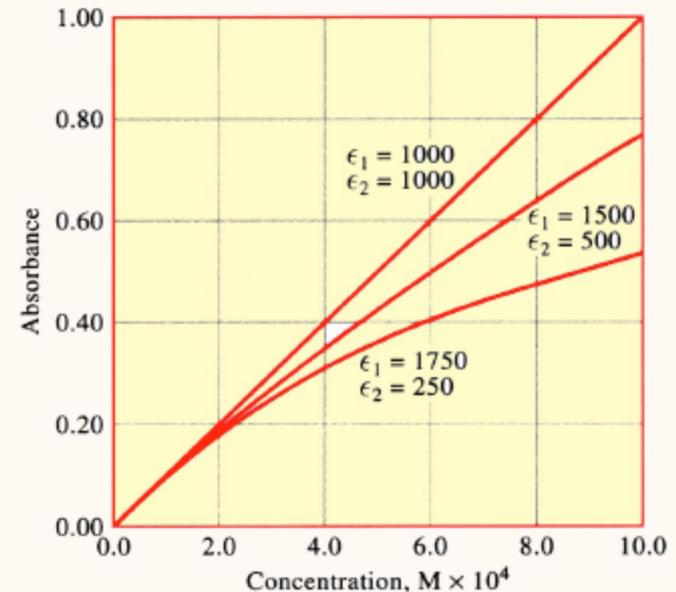
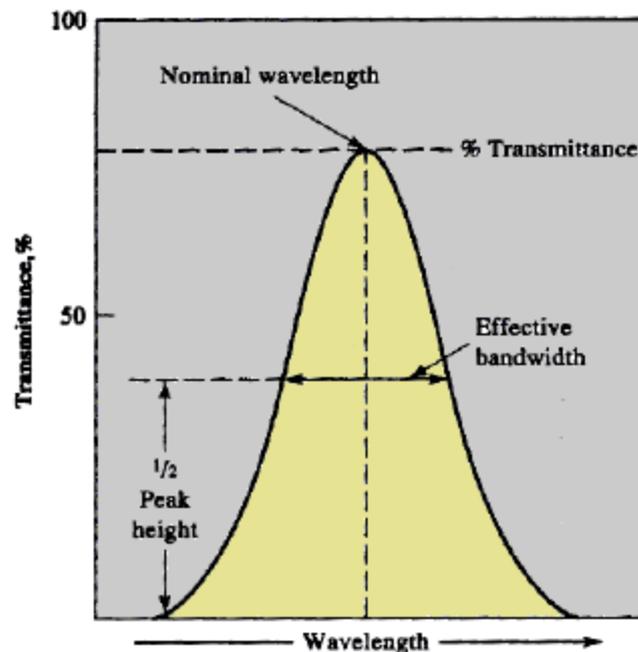


Figure 13-4 Deviations from Beer's law with polychromatic light. The absorber has the indicated molar absorptivities at the two wavelengths λ' and λ'' .

Como Escolher o Melhor λ

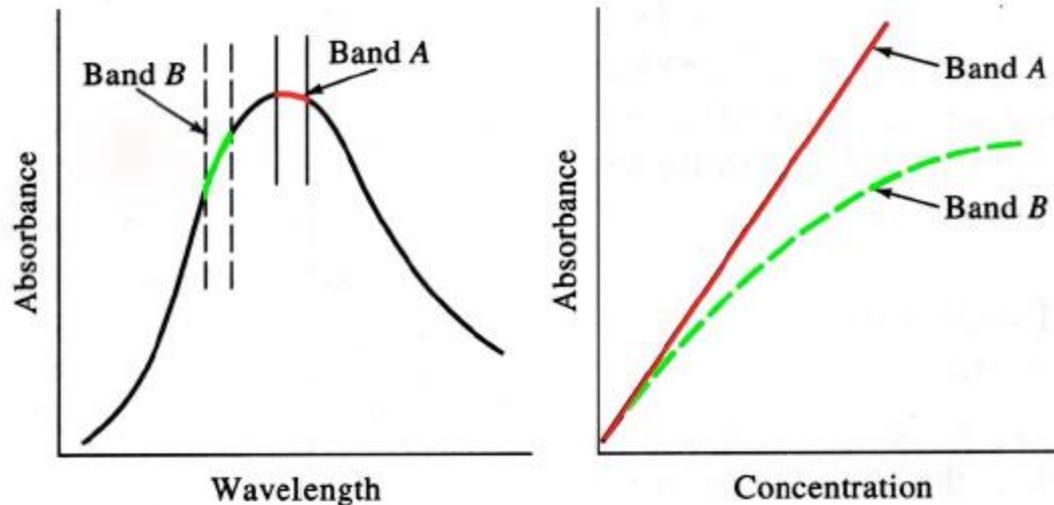


Figure 13-5 The effect of polychromatic radiation upon Beer's law. Band A shows little deviation because ϵ does not change greatly throughout the band. Band B shows marked deviation because ϵ undergoes significant changes in this region.

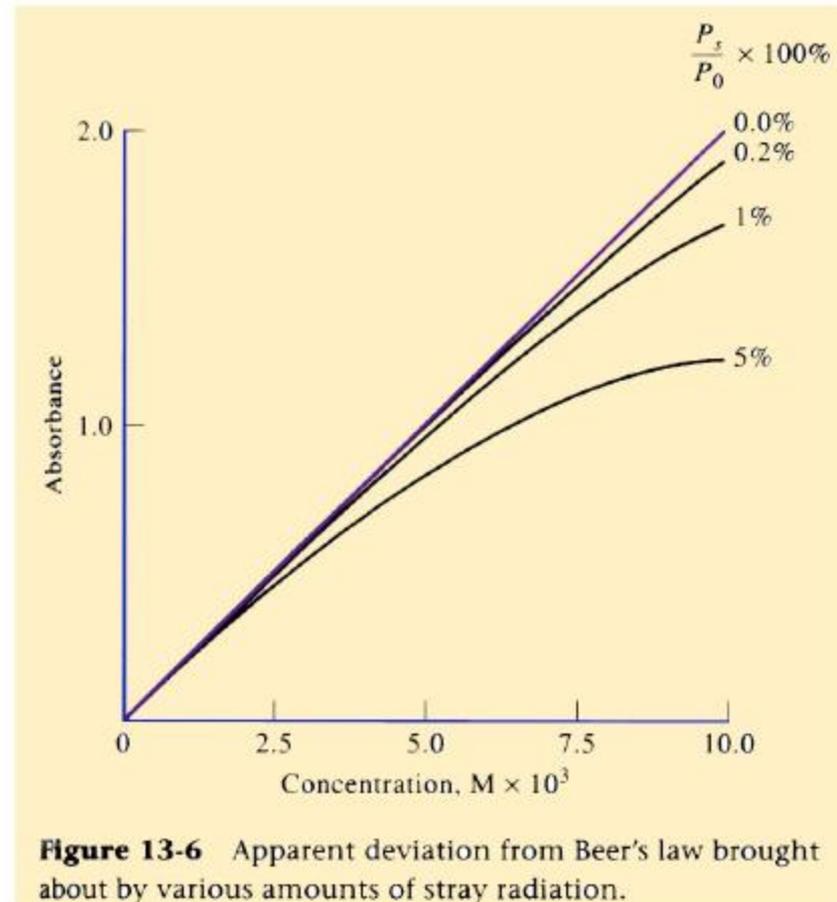
- Efeito desprezível se a largura da banda efetiva do monocromador (ou filtro) $< 1/10$ da metade da largura do pico a meia altura

Desvios Instrumentais na Presença de Radiação Espúria

- Se P_s for a radiação espalhada não absorvida pela amostra

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

Obs: note que desvios instrumentais são sempre negativos



Efeitos do Ruído Instrumental em Análises Espectrofotométricas

- Precisão e exatidão são normalmente afetadas pela incerteza associada com o ruído de um instrumento
- Uma medição instrumental é normalmente melhor representada pela relação sinal/ruído

$$\frac{S}{R} = \frac{\text{média}}{\text{desvio padrão}} = \frac{\bar{x}}{\sigma} = \frac{1}{dpr}$$

- **Fontes de ruído instrumentais – Eletrônica**
 - ruído térmico (Johnson)
 - ruído eventual (*shot*)
 - ruído trêmulo (*flicker*)
 - ruído ambiental

Erros Intrínsecos com a Medição da Transmitância

- **Ajuste de 0% T**
- **Ajuste de 100% T**
- **Medição de % T**
- **A incerteza na determinação da concentração c pode ser relacionado como:**

$$A = -\log T = \epsilon b c \Rightarrow$$
$$c = \frac{-\log T}{\epsilon b} = -\frac{0,434}{\epsilon b} \ln T$$

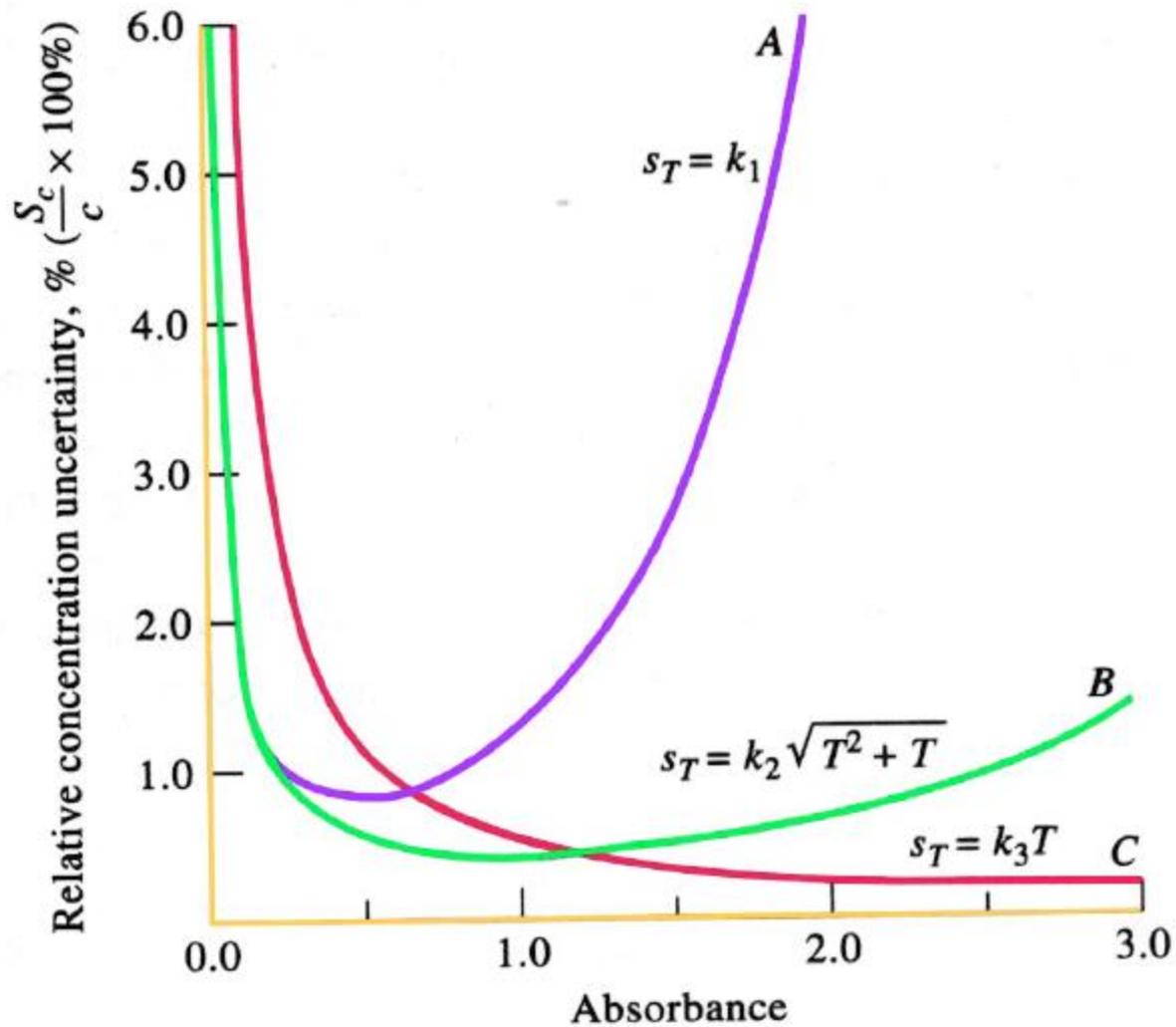
- **Após algumas transformações:**

$$\frac{s_c}{c} = \frac{0,434 s_T}{T \log T}$$

Fontes de Erros Instrumentais

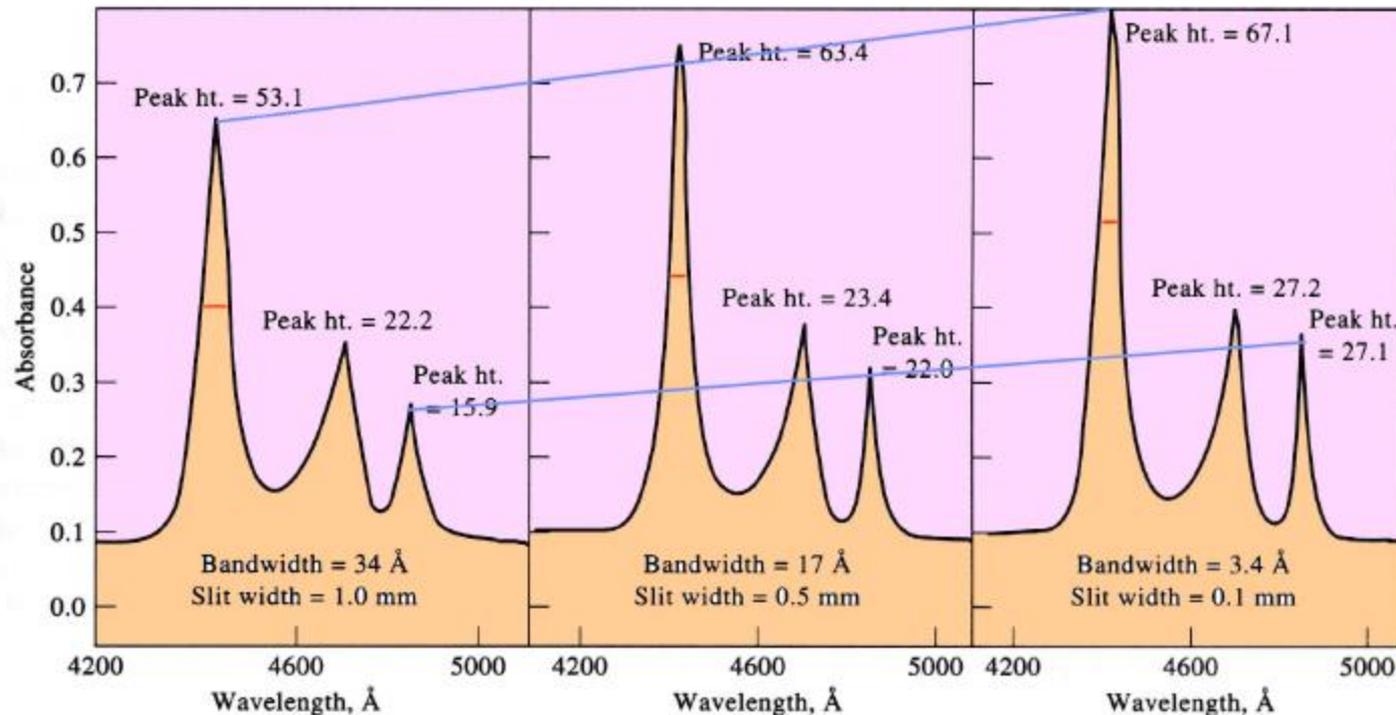
Categoria	Relação	Fontes Típicas	Relevância
Caso I	$S_T = k_1$	Resolução da leitura limitada	Fotômetros simples e com escalas pequenas
		Ruído Johnson em detectores de calor	Espectrofotômetros de IV
		Corrente de fundo e ruído do amplificador	Quando a intensidade da fonte e a sensibilidade do detector são baixas
Caso II	$S_T = k_2(T^2 + T)^{1/2}$	Ruído eventual de detector de fótons	Detectores UV-vis de boa qualidade
Caso III	$S_T = k_3T$	Incertezas no posicionamento da cela	Detectores UV-vis de boa qualidade
		Tremulação da fonte	Fotômetros baratos

Quanto Cada Erro Vale!



Efeito da Fenda na Medição de Absorbância

- Controla a quantidade de luz atingindo a amostra e conseqüentemente também o detector
- Limitante da resolução
- Importância qualitativa menor que quantitativa



Efeito do Espalhamento de Radiação

- A quantidade de radiação espalhada depende:
 - Qualidade do material ótico
 - Geometria do equipamento
 - Baixos comprimentos de onda
- Importância tanto qualitativa (falsos máximos de absorção) quanto quantitativa (uma das causas dos desvios da lei de Beer)

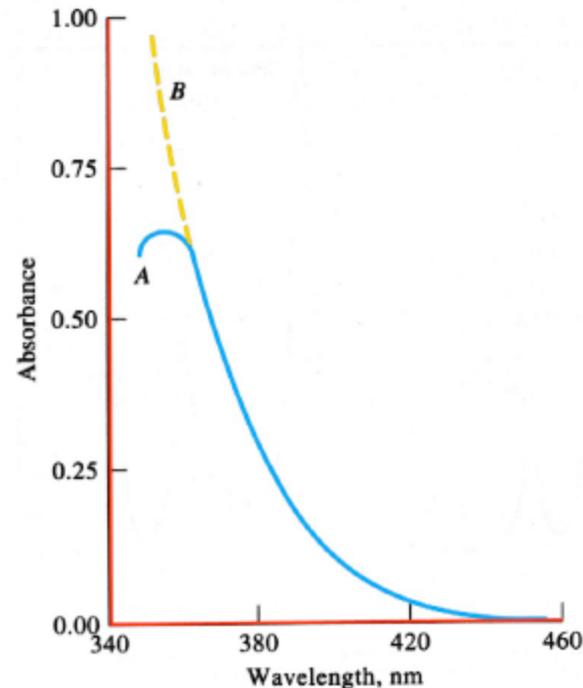
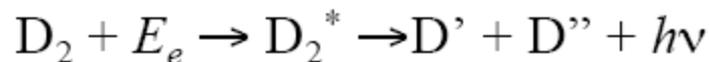


Figure 13-10 Spectra of cerium(IV) obtained with a spectrophotometer having glass optics (A) and quartz optics (B). The false peak in A arises from transmission of stray radiation of longer wavelengths.

Instrumentação Espectrofotometria UV-visível

- **Fontes de Radiação**

- Lâmpadas de deutério ou hidrogênio



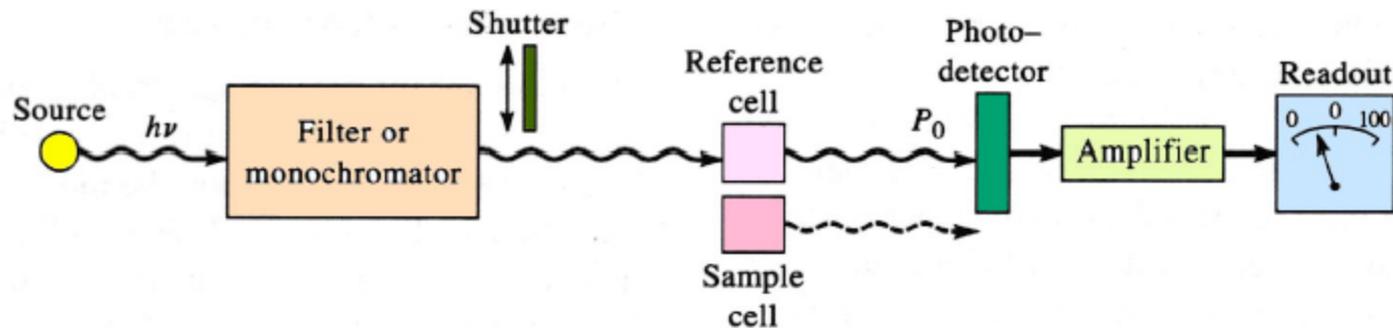
- Emissão contínua de 160 a 375 nm
- Lâmpada deve ser feita de quartzo
- Lâmpada de filamento de tungstênio
 - Utilizada para região do visível e IV
 - Emissão contínua de 350 a 2500 nm

- **Compartimento da Amostra**

- Cubetas de quartzo ($\lambda < 350$ nm)
- Vidros borossilicatos
- Plásticos
- $b = 1$ cm \Rightarrow padrão

Tipos de Instrumentos

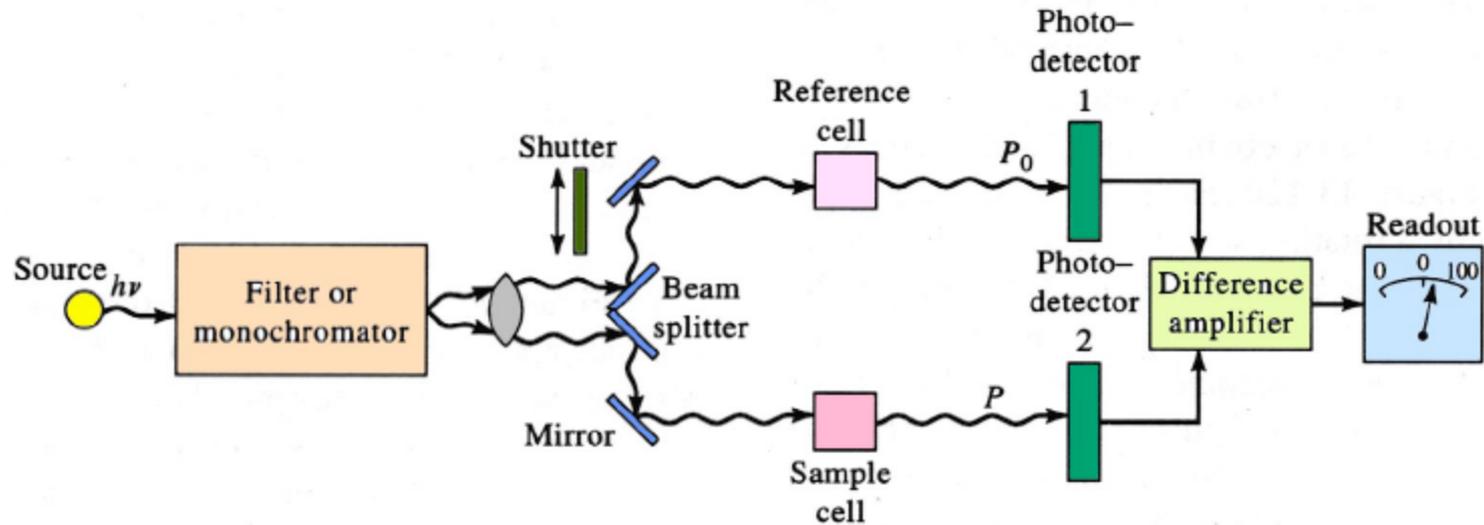
- Feixe único



- Os componentes podem ser simples ou sofisticados
- Geralmente de custo mais reduzido
- Cubetas idênticas são fundamentais

Tipos de Instrumentos

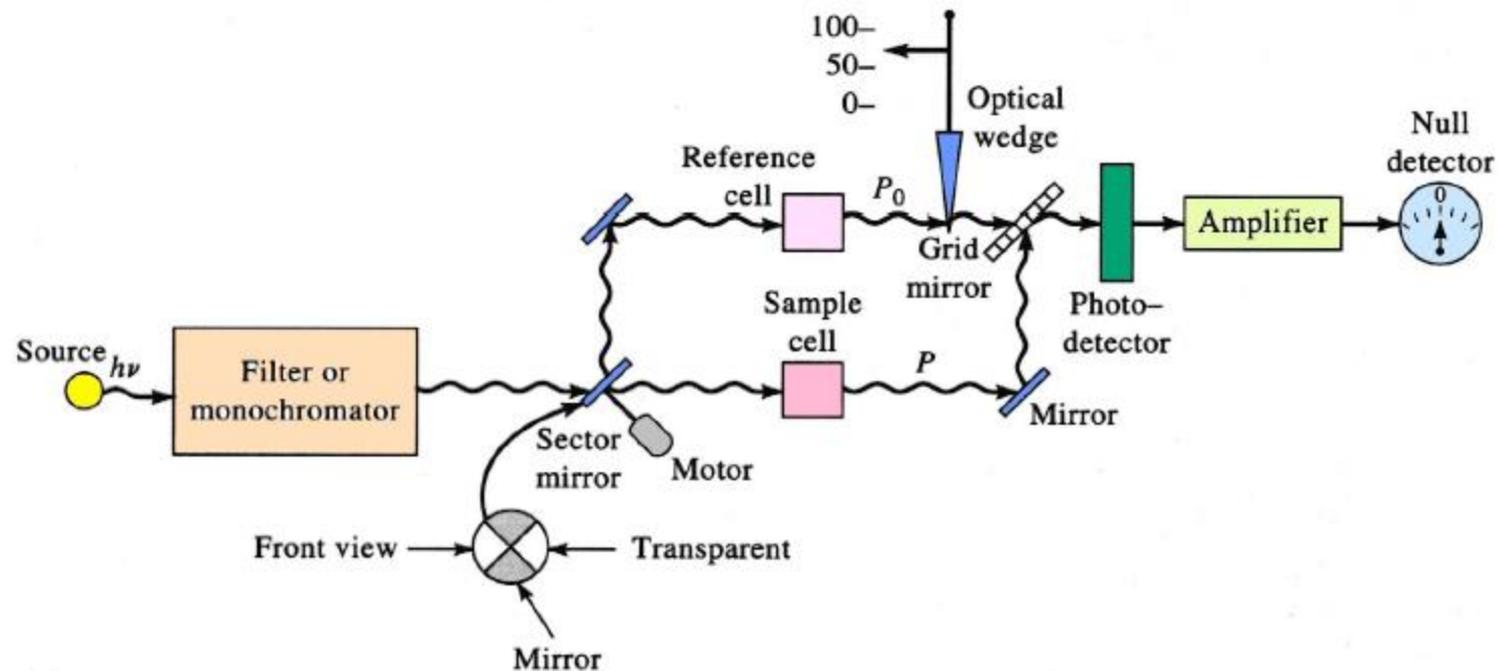
- Feixe duplo no espaço



- Usa um divisor de feixe e dois transdutores
- Ajuste de 0% T e mede-se % T
- Compensam flutuações na fonte de radiação

Tipos de Instrumentos

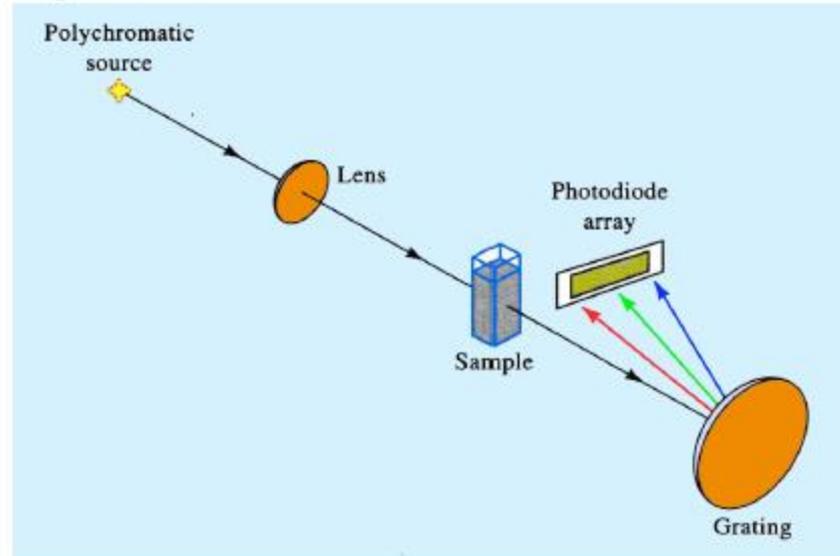
- Feixe duplo no tempo



- Compensação por variação de potência em função do λ
- A maioria dos espectrofotômetros modernos tem essa configuração

Tipos de Instrumentos

- **Canais múltiplos – DAD**



- **Vantagens**

- Determinação simultânea de todos os λ – rapidez
- Melhoria da relação sinal/ruído – sensibilidade
- Análises rápidas minimizam foto-decomposição