

Análise de Alimentos II

Espectroscopia de Absorção Molecular

Prof^a Dr^a Rosemary Aparecida de Carvalho



Pirassununga/SP
2018

- **Introdução**
- **Espécies Absorventes**
- **Instrumentos para Espectroscopia óptica**
- **Fonte**
- **Seletor de Comprimento de onda (λ)**
- **Amostra e recipientes**
- **Detector**
- **Tipos de Espectrofotômetros**

Introdução

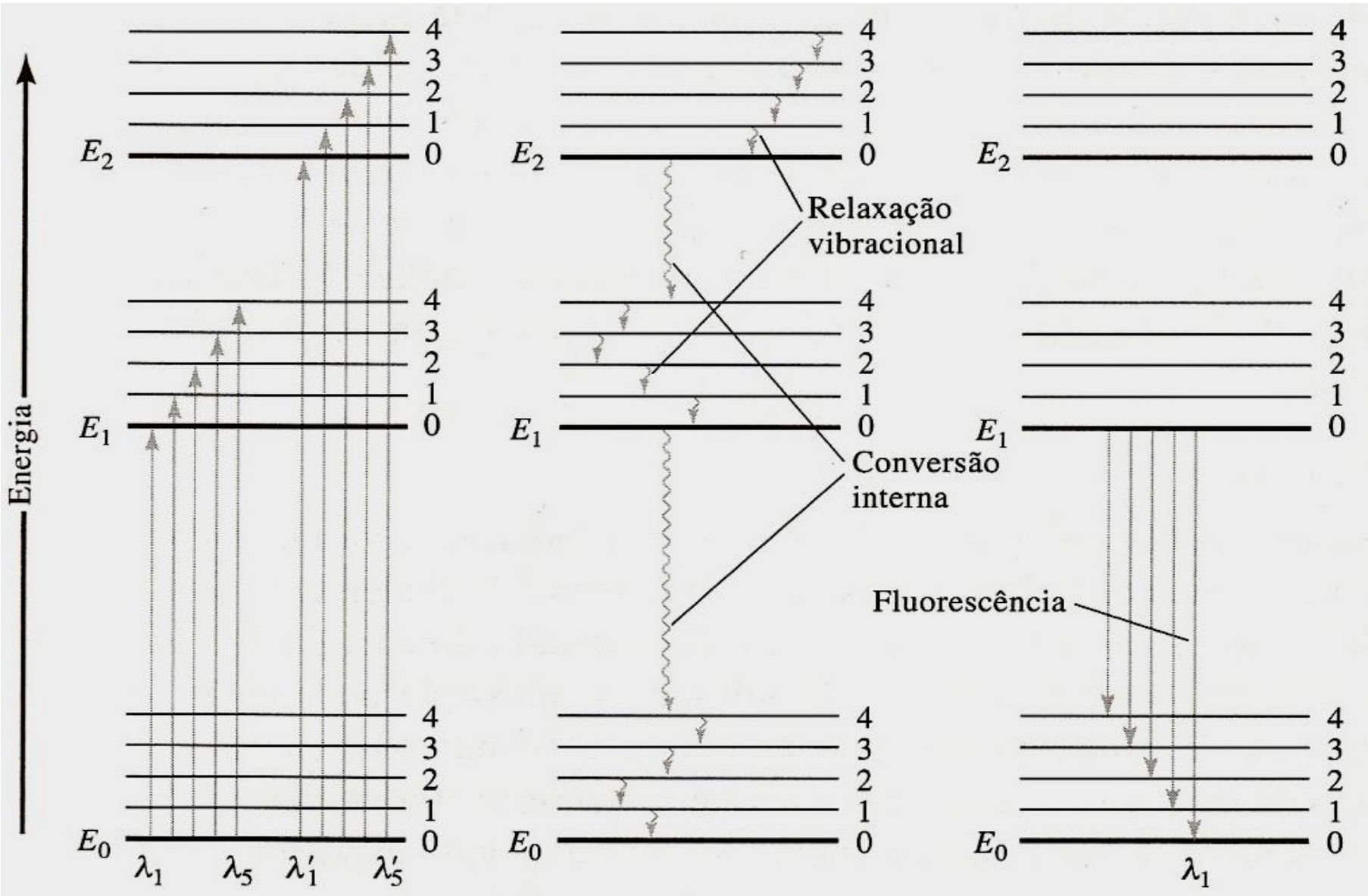
A absorção de radiação no UV/Vis por uma espécie química (M) pode ser considerada um processo em duas etapas.

Excitação



Relaxação

Diagrama de níveis de energia mostrando alguns processos que ocorrem durante: absorção, relaxação não radiativa e emissão fluorescente por espécies moleculares



Espécies Absorvedoras

Espécies absorvedoras: moléculas e íons orgânicos (alguns ânions inorgânicos).

Todos compostos orgânicos são capazes de absorver radiação eletromagnética → elétrons de valência.

Absorção de UV/Vis → restrita a grupos funcionais chamados cromóforos.

Espectros de moléculas orgânicas contendo cromóforos → superposição de transições vibracionais com transições eletrônicas leva a uma combinação complexa de linhas superpostas e o resultado é uma banda larga.

Espécies Absorvedoras

Natureza complexa do espectro: torna a análise teórica detalhada difícil.

Informações com relação aos tipos de transições eletrônicas responsáveis por um dado espectro de absorção podem ser obtidas a partir de considerações de orbitais moleculares.

Tipos de Transições

Elétrons na molécula: localizados nos orbitais.

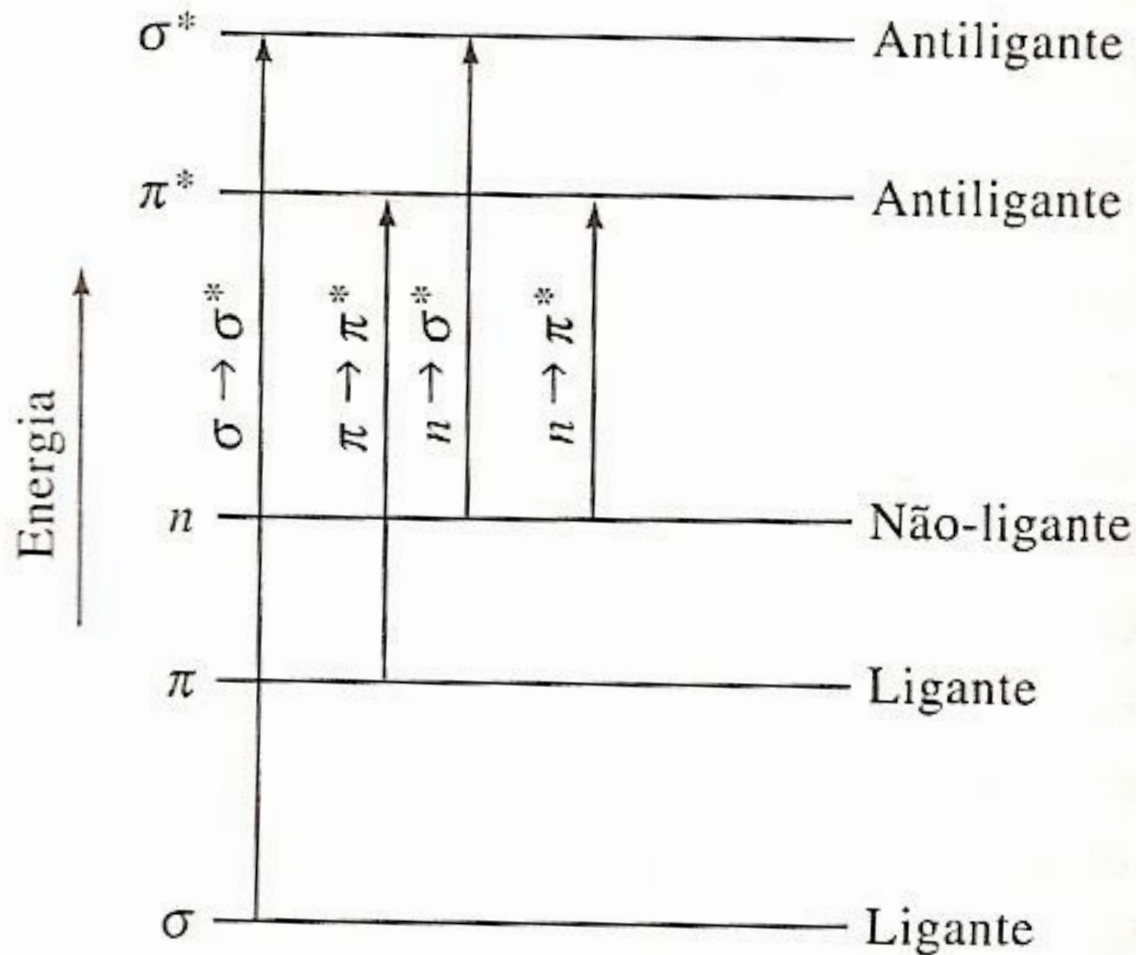
Moléculas também possuem orbitais não ocupados:
orbital antiligante.

Absorção da radiação UV/Vis resulta em uma transição eletrônica para os orbitais antiligantes.

Classificação dos elétrons em uma molécula:

- ✓ Elétrons da camada interna não envolvidos em ligações;
- ✓ Elétrons envolvidos em ligações covalentes simples (δ);
- ✓ Elétrons não ligantes ou externos (n);
- ✓ Elétrons em ligações duplas ou triplas (π).

Níveis de energia eletrônica molecular



Considerações:

Transições $\delta \rightarrow \delta^*$:

Energia necessária:

Alta (corresponde a frequência UV de vácuo).

Máximos de absorção devidos à transições $\delta \rightarrow \delta^*$: não são observados na região de UV/Vis.

Transições $n \rightarrow \delta^*$: compostos saturados contendo átomos com pares de elétrons não compartilhados.

Energia necessária:

$$\lambda = 150 \text{ a } 280 \text{ nm.}$$

Número de grupos funcionais orgânicos com picos $n \rightarrow \delta^*$ na região UV/Vis: relativamente pequeno.

Exemplos de absorção devido a transições $n \rightarrow \delta^*$

Absorção de Compostos Orgânicos Contendo Heteroátomos Insaturados

Composto	$\lambda_{\text{máx}}$, nm	$\epsilon_{\text{máx}}$
CH ₃ OH	167	1.480
(CH ₃) ₂ O	184	2.520
CH ₃ Cl	173	200
CH ₃ I	258	365
(CH ₃) ₂ S	229	140
CH ₃ NH ₂	215	600
(CH ₃) ₃ N	227	900

Transições $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$:

Energia necessária: $\lambda =$
280 a 700nm.

Presença de um grupo
funcional insaturado.

Efeito do solvente

Picos associados a transições $n \rightarrow \pi^*$: geralmente deslocados para λ menores (deslocamento hipsocrômico) ao se aumentar a polaridade do solvente

Picos associados a transições $\pi \rightarrow \pi^*$: geralmente deslocados para λ maiores (deslocamento batocrômico) ao se aumentar a polaridade do solvente.

A) Absorção de compostos orgânicos

Absorção de radiação por moléculas orgânicas: resulta da interação entre fótons e elétrons que estão participando diretamente da formação de uma ligação química ou estão localizados sobre os átomos como (S, N dentre outros).

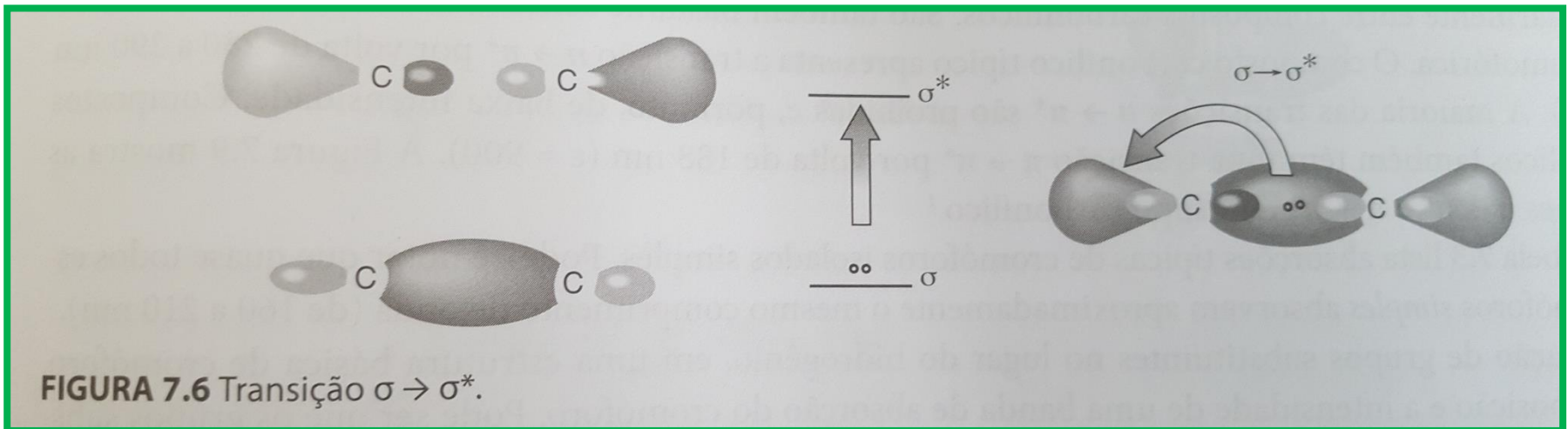
Elétrons envolvidos em ligações duplas ou triplas: não estão fortemente presos → facilmente excitados pela radiação (espécies com ligações insaturadas geralmente exibem picos de absorção úteis).

Grupos orgânicos insaturados que absorvem nas regiões do UV/VIS são conhecidos como cromóforos.

Exemplos: absorção de alguns cromóforos

a) Alcanos

- ✓ Ligações simples e sem átomos com pares isolados de elétrons
- ✓ Transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$
- ✓ Alta energia envolvida \Rightarrow λ da UV absorvida muito curta



b) Alcoóis, éteres, aminas e compostos de enxofre

- ✓ Moléculas saturadas: átomos com pares isolados de elétrons
- ✓ Transição $n \rightarrow \sigma^*$
- ✓ Alta energia mas absorvem radiações dentro de uma faixa acessível experimentalmente

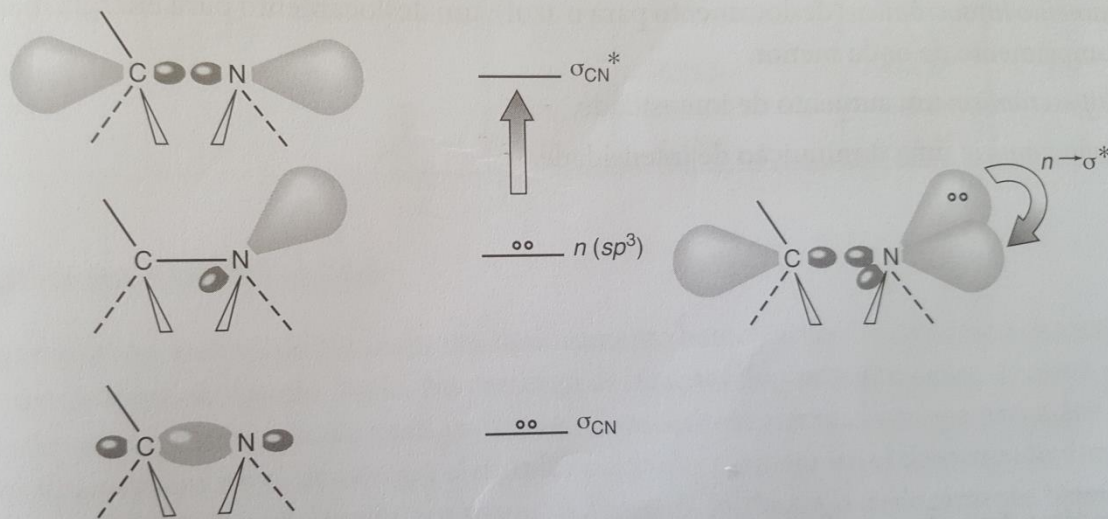


FIGURA 7.7 Transição $n \rightarrow \sigma^*$.

Molécula	λ (nm)
Alcoóis	175 a 200
Aminas	175 a 200
Tióis orgânicos	200 a 220
Sulfetos	200 a 220

c) Alcenos e Alcinos

- ✓ Moléculas não saturadas
- ✓ Transição $\pi \rightarrow \pi^*$
- ✓ Energia maior, mas suas posições são sensíveis à presença de substituintes

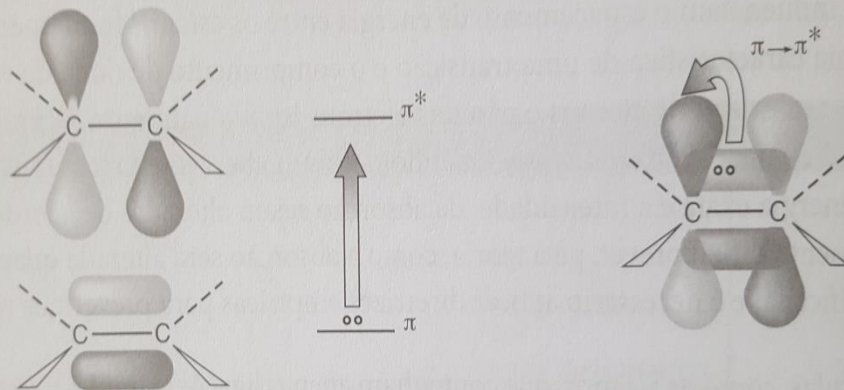
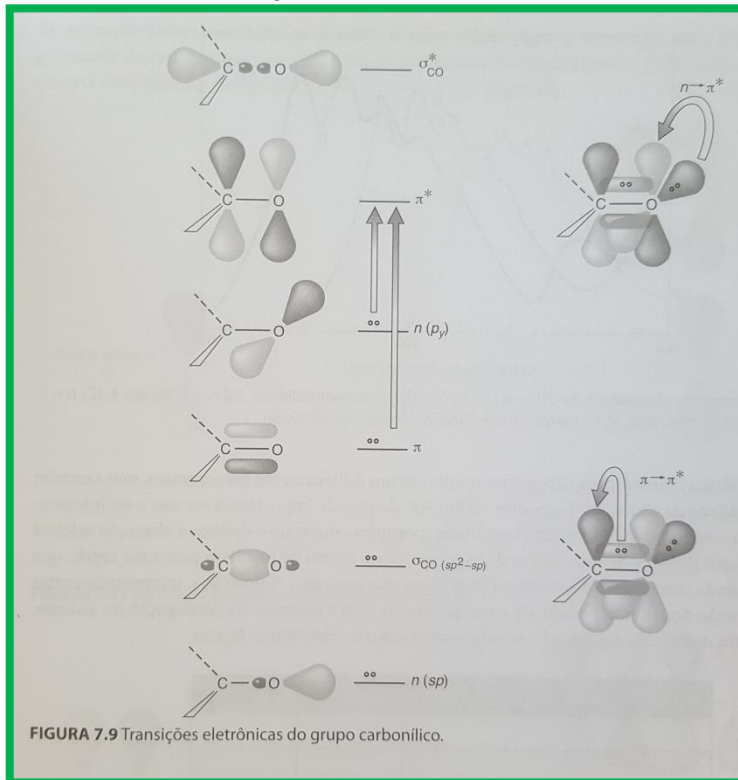


FIGURA 7.8 Transição $\pi \rightarrow \pi^*$.

Molécula	λ (nm)
Alcenos	175
Alcinos	170

d) Compostos carbonílicos

- ✓ Moléculas não saturadas que contenham átomos como oxigênio e hidrogênio
- ✓ Transição $n \rightarrow \pi^*$



Moléculas	λ (nm)	ϵ
Transição $n \rightarrow \pi^*$	280 a 290	15
Transição $\pi \rightarrow \pi^*$	188	900

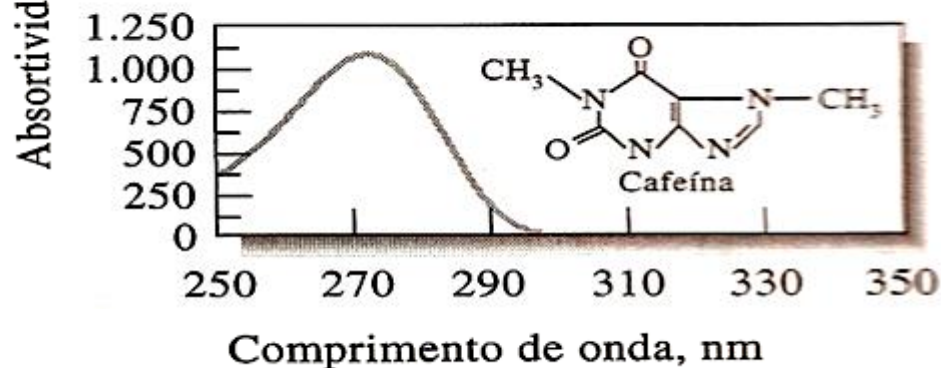
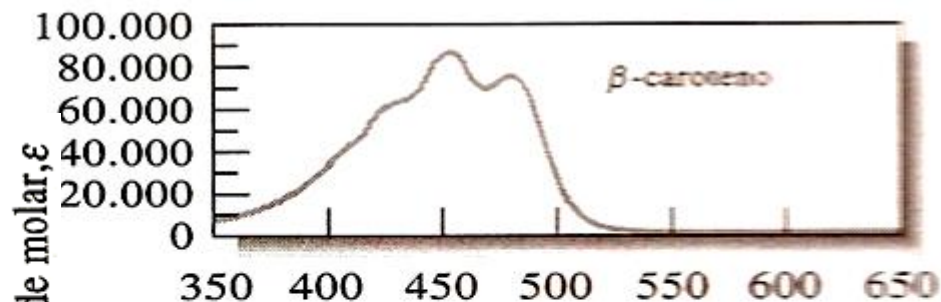
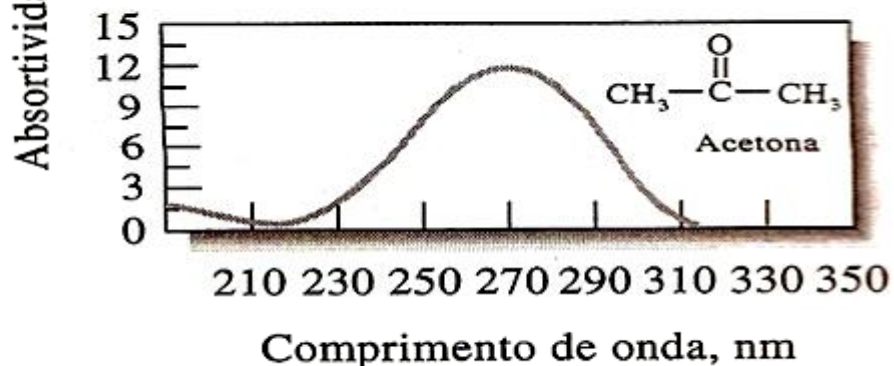
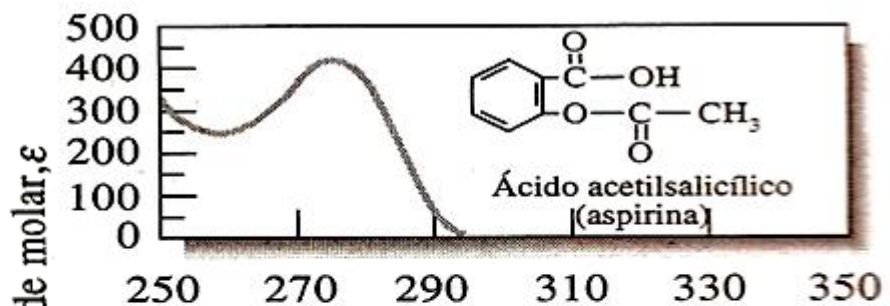
e) Absorções típicas de cromóforos isolados simples

Tabela 7.3 Absorções típicas de cromóforos isolados simples

Classe	Transição	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\log \epsilon$	Classe	Transição	$\lambda_{\text{máx}}$ (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

λ entre 160 e 290 nm

Exemplos: Espectros de absorção



Efeito da conjugação de cromóforos

A conjugação entre dois ou mais cromóforos tende a causar deslocamentos do máximo do pico para comprimentos maiores. Além de aumentar a intensidade da absorção.

Elétrons π tornam-se mais deslocados por conjugação \rightarrow assim os orbitais envolvem quatro (ou mais) centros atômicos. A deslocação provoca redução do nível de energia do orbital π e a promoção de um caráter menos antiligante \rightarrow máximos deslocados para comprimentos maiores.

Efeito da conjugação de cromóforos

Tabela 7.4 Efeito da conjugação em transições eletrônicas

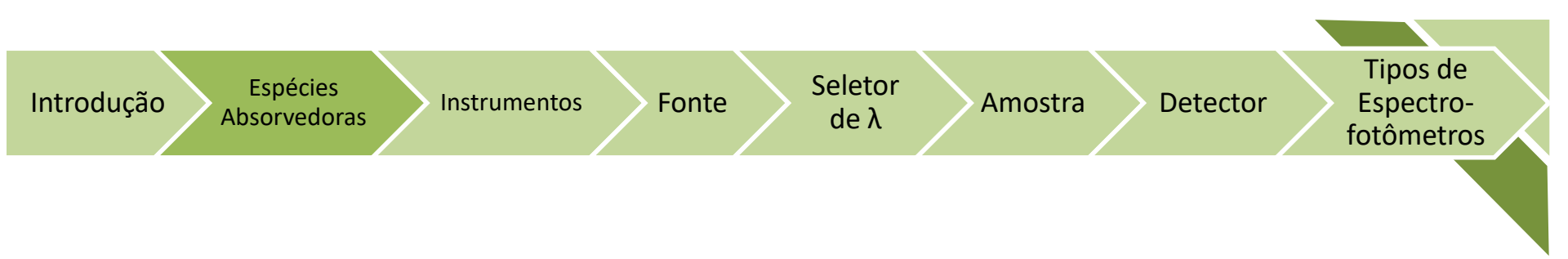
	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	ϵ
Alcenos		
Etileno	175	15.000
1,3-butadieno	217	21.000
1,3,5-hexatrieno	258	35.000
β -caroteno (11 ligações duplas)	456	125.000
Cetonas		
Acetona		
$\pi \rightarrow \pi^*$	189	900
$n \rightarrow \pi^*$	280	12
3-buten-2-ona		
$\pi \rightarrow \pi^*$	213	7.100
$n \rightarrow \pi^*$	320	27

Composto	Tipo	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	Olefina	184
$\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$	Diolefina (não-conjugada)	185
$\text{H}_2\text{C}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	Diolefina (conjugada)	217
$\text{H}_2\text{C}=\text{CHCH}=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	Triolefina (conjugada)	250
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3 \end{array}$	Cetona	282
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{CCH}_3 \end{array}$	Cetona insaturada (não-conjugada)	278
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_2=\text{CHCCH}_3 \end{array}$	Cetona α, β -insaturada (conjugada)	324
		219

B) Absorção de compostos aromáticos

Auxocromo: grupo funcional que não absorve na região UV/Vis, mas tem o efeito de deslocar picos dos cromóforo para λ maiores, bem como aumentar sua intensidade.

Composto	Banda E ₂		Banda B		
	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\epsilon_{\text{máx}}$	$\lambda_{\text{máx}}(\text{nm})$	$\epsilon_{\text{máx}}$	
Benzeno	C ₆ H ₆	204	7.900	256	200
Tolueno	C ₆ H ₅ CH ₃	207	7.000	261	300
<i>m</i> -Xileno	C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂	–	–	263	300
Clorobenzeno	C ₆ H ₅ Cl	210	7.600	265	240
Fenol	C ₆ H ₅ OH	211	6.200	270	1.450
Íon fenolato	C ₆ H ₅ O ⁻	235	9.400	287	2.600
Anilina	C ₆ H ₅ NH ₂	230	8.600	280	1.430
Íon anilínio	C ₆ H ₅ NH ₃ ⁺	203	7.500	254	160
Tiofenol	C ₆ H ₅ SH	236	10.000	269	700
Naftaleno	C ₁₀ H ₈	286	9.300	312	289
Estireno	C ₆ H ₅ CH = CH ₂	244	12.000	282	450



Introdução

Espécies
Absorvedoras

Instrumentos

Fonte

Seletor
de λ

Amostra

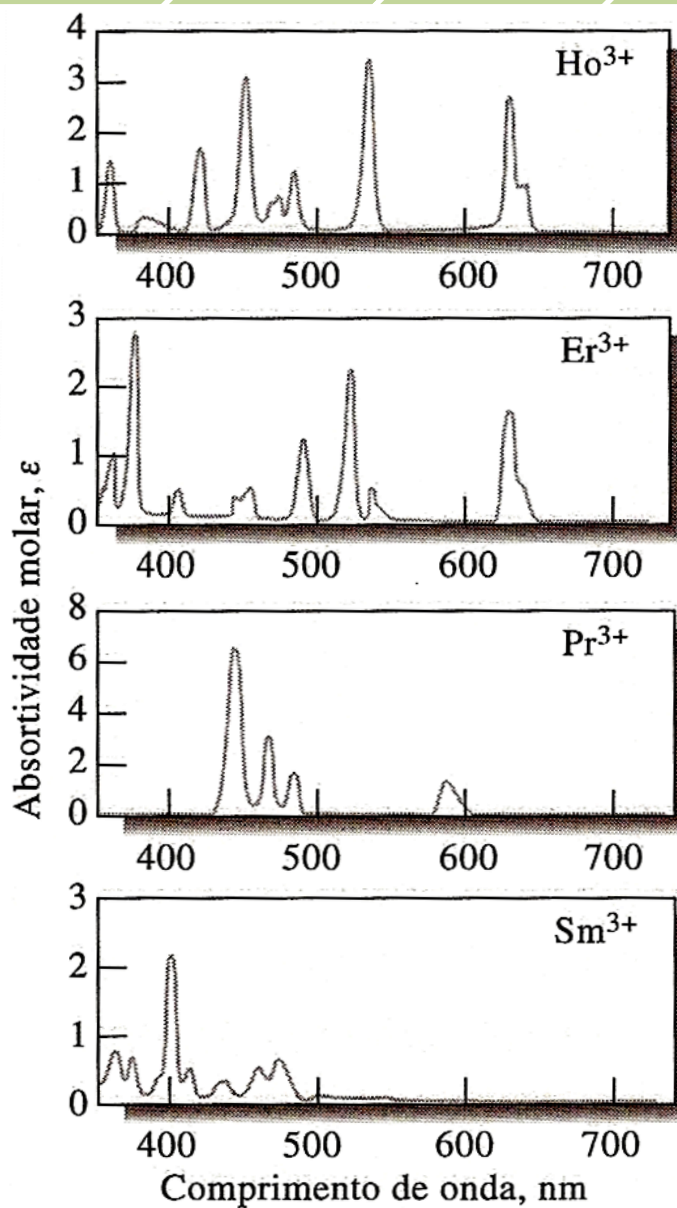
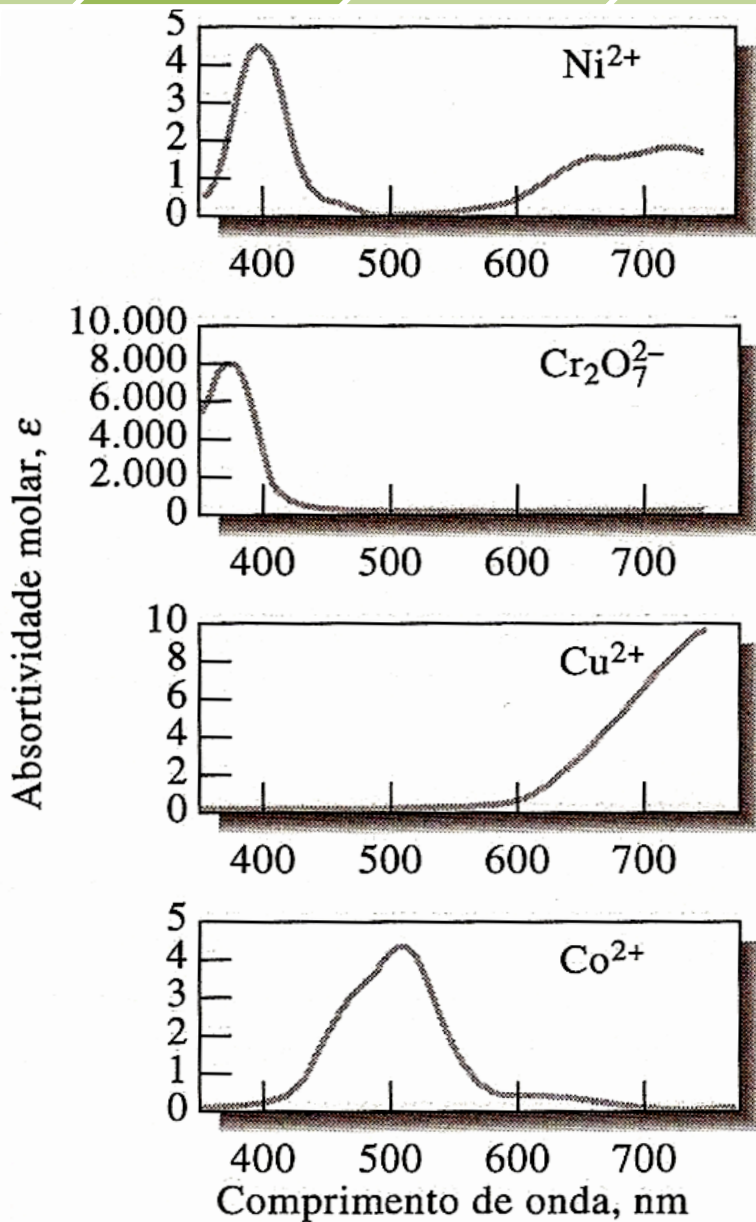
Detector

Tipos de
Espectro-
fotômetros

C) Absorção de compostos inorgânicos

Íons e os complexos dos elementos das duas primeiras séries de transição absorvem as bandas largas da radiação Vis.

Nesta caso a absorção envolve a transição entre os orbitais d preenchidos e não-preenchidos com energias que dependem dos ligantes dos átomos metálicos.



Introdução

Espécies
Absorvedoras

Instrumentos

Fonte

Seletor
de λ

Amostra

Detector

Tipos de
Espectro-
fotômetros

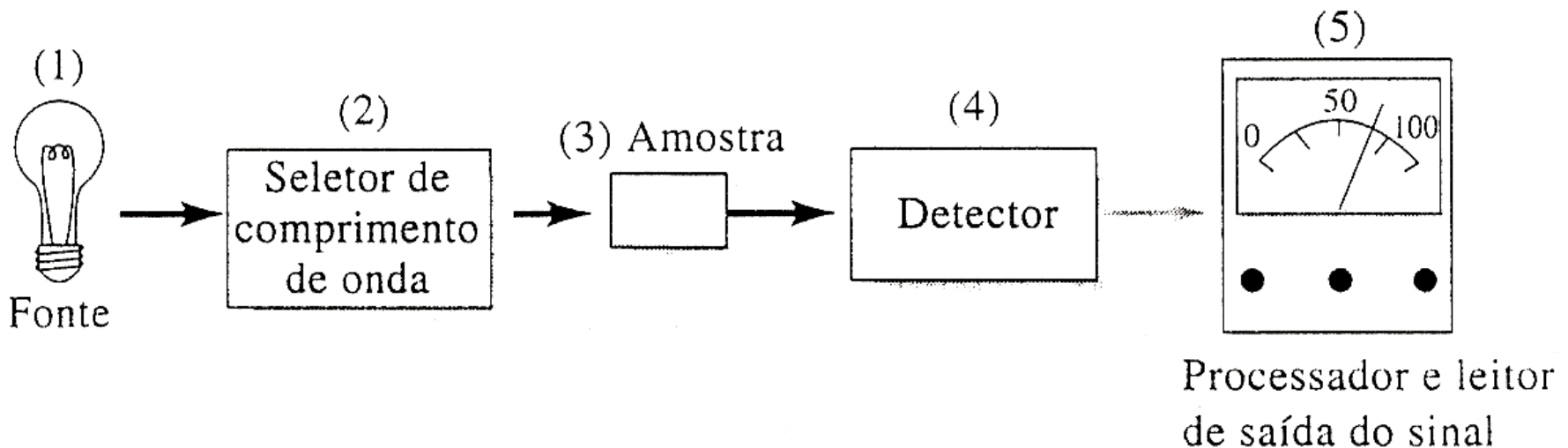
Instrumento para a espectroscopia óptica

Espectrofotômetros: instrumentos capazes de registrar dados de absorbância ou transmitância em função do comprimento de onda.

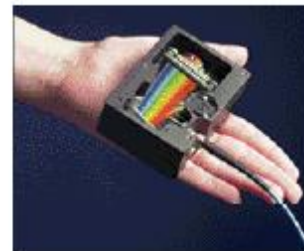
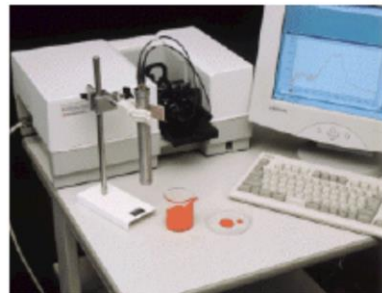
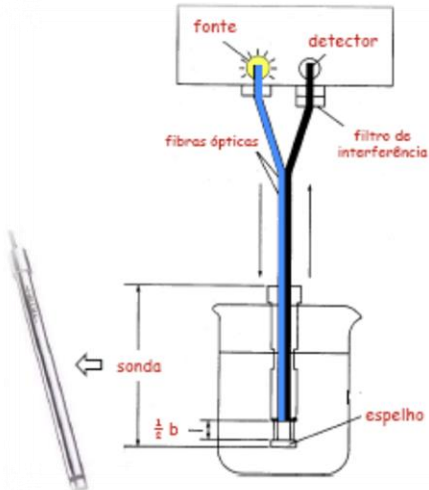
A característica mais importante dos espectrofotômetros: seleção de radiações monocromáticas, o que possibilita inúmeras determinações quantitativas regidas pela Lei de Beer.

Instrumento para a espectroscopia óptica

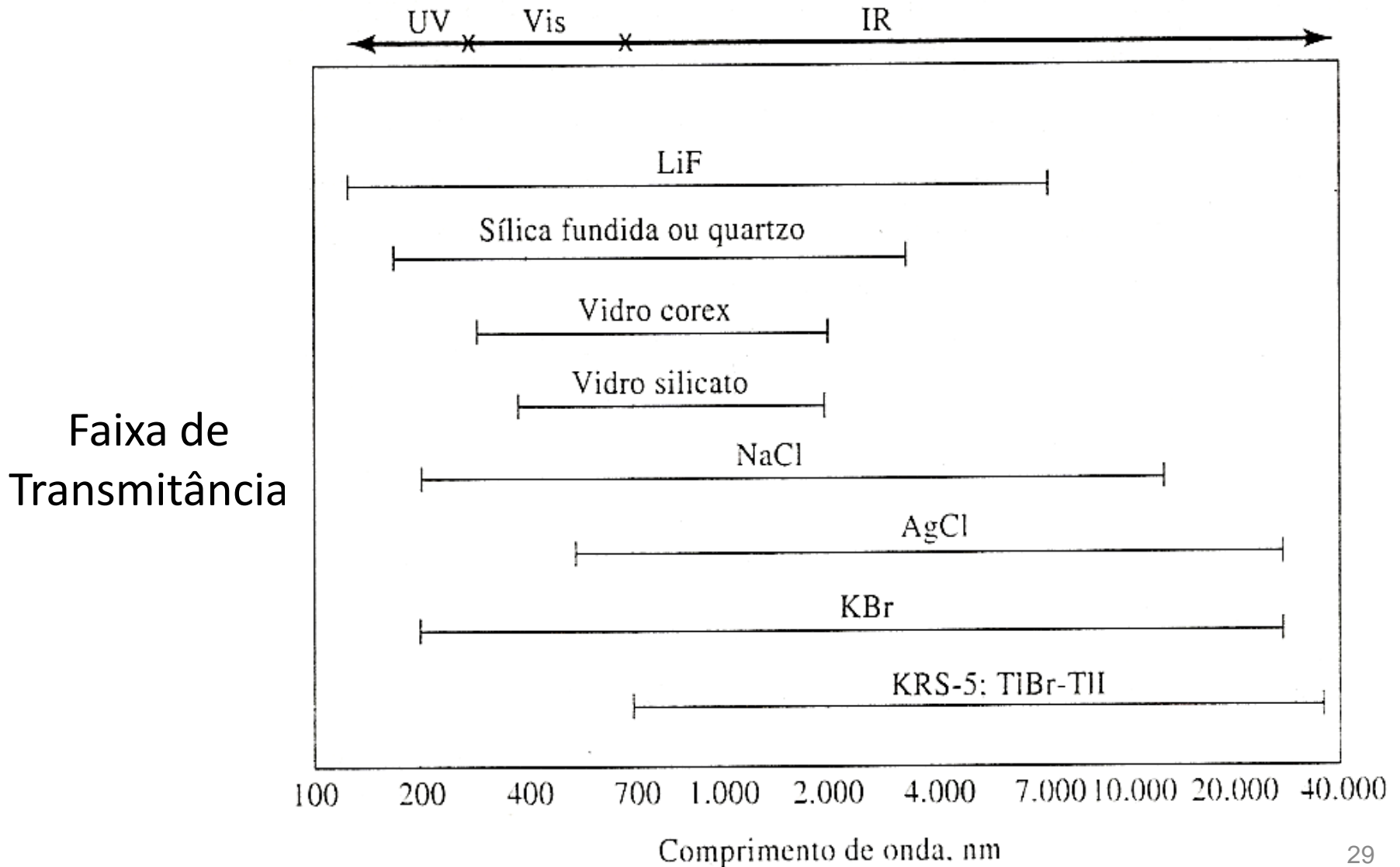
Instrumentos espectroscópicos para uso nas regiões do UV/Vis apresentam, de um modo geral, cinco componentes.



Exemplos de equipamentos



Materiais ópticos: células, janelas, espelhos e elementos de seleção de comprimento de onda, devem transmitir a radiação de comprimento de onda investigada.



Fontes Espectroscópicas

Características para que uma fonte seja considerada de boa qualidade para atuar na faixa espectral UV/Vis:

Deve gerar radiação contínua;

Deve ter intensidade de potência radiante suficiente para permitir sua detecção;

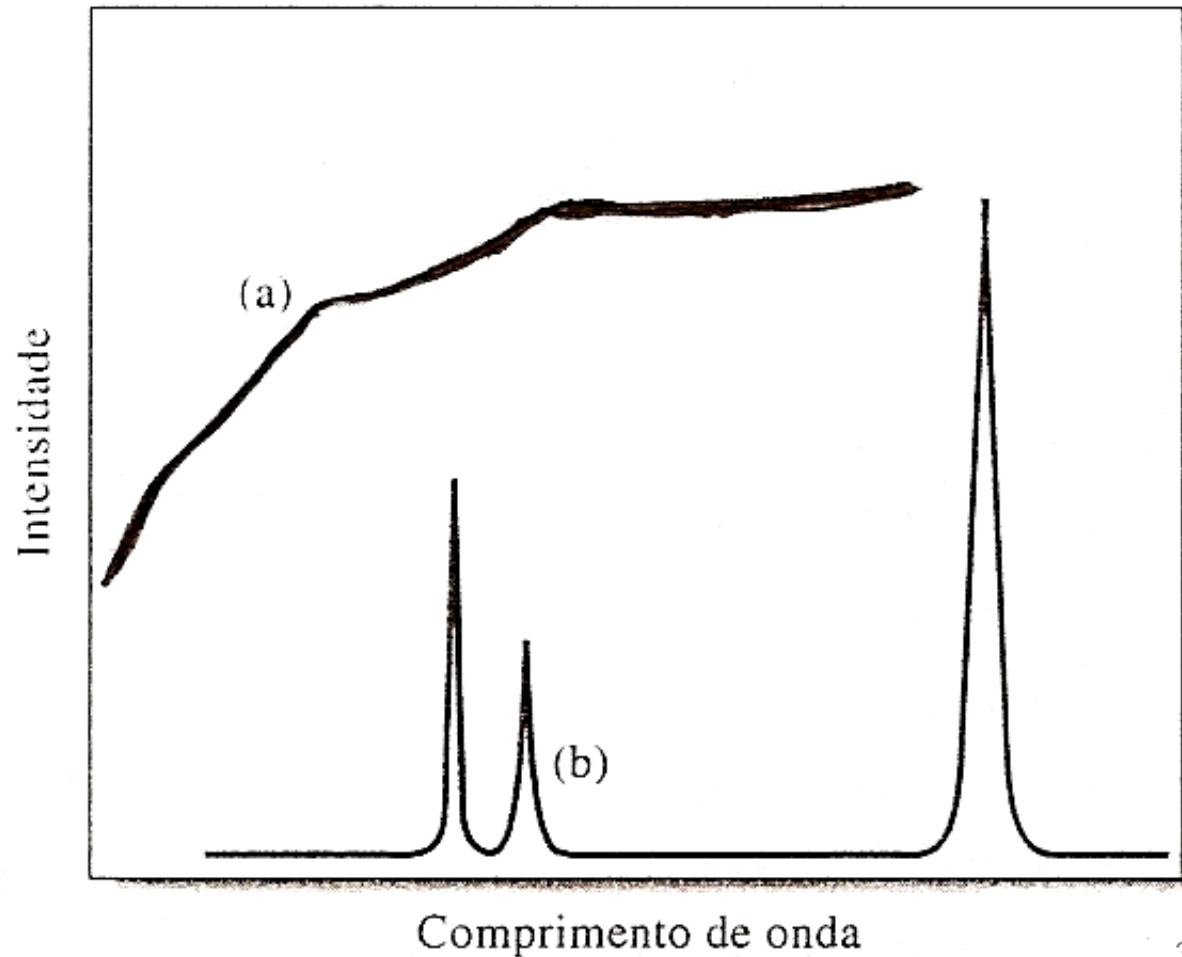
Potência de saída deve ser estável por períodos razoáveis.

Fontes Espectroscópicas

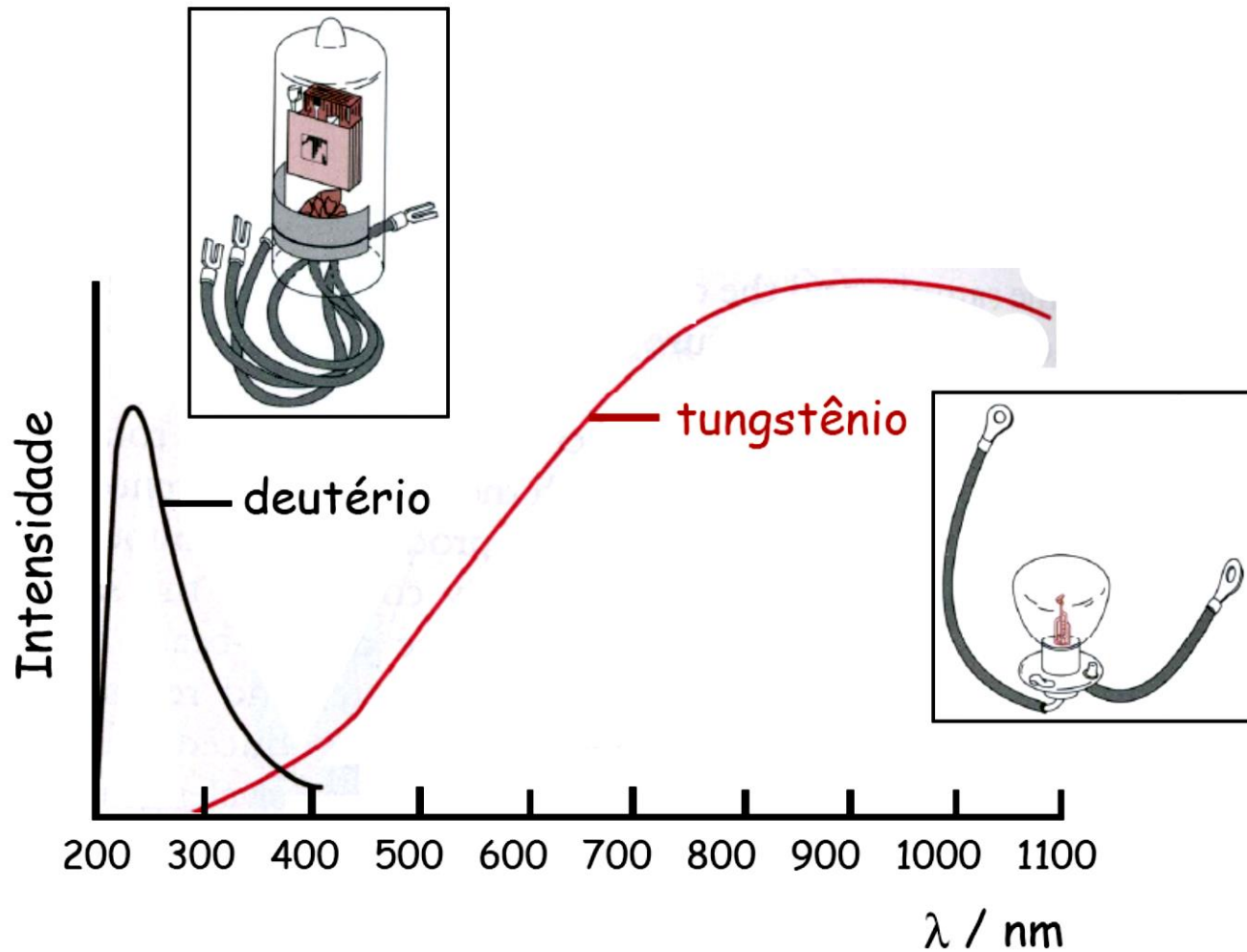
Tipos de Fontes

a) Fonte Contínua

b) Fonte de Linha



Fontes de radiações contínuas mais comuns (UV/Vis): baseiam-se na incandescência.



Seletores de comprimentos de onda

Instrumentos espectroscópicos para as regiões UV/Vis são equipados com dispositivos (seletores) para restringir a radiação que está sendo medida dentro de uma banda estreita que é absorvida ou emitida pelo analito.

Monocromadores ou filtros são usados para isolar a banda de comprimento de onda desejada.

Para medidas de absorbância: bandas estreitas de radiação reduzem bastante a chance de desvios da Lei de Beer do uso da radiação policromática.

A qualidade de um espectrofotômetro UV/Vis depende muito da largura da banda espectral selecionada pelo monocromador.

Recipientes para amostras

Recipientes para conter amostras são geralmente denominados células ou cubetas.

Devem possuir faces ópticas perfeitamente polidas, paralelas e transparentes.

Transmitância de
alguns materiais

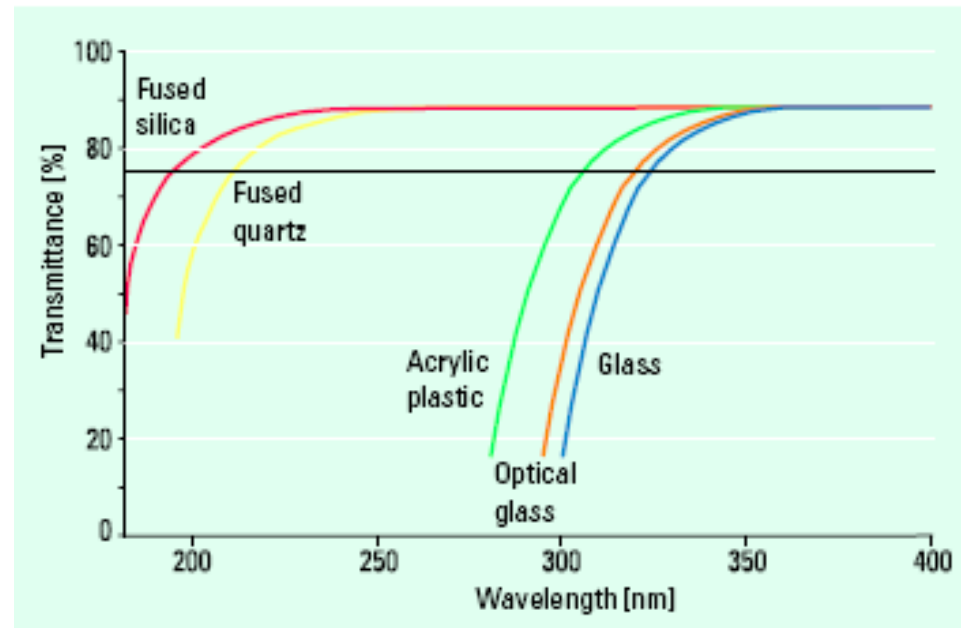


Figure 38
Optical transmission characteristics of some cell materials



Marrom (0,1cm)



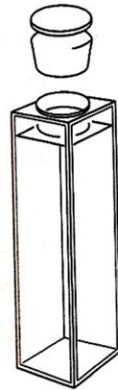
Verde (0,2cm)



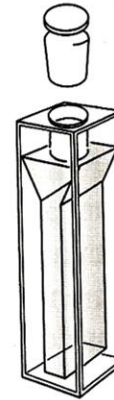
Azul (0,4cm)



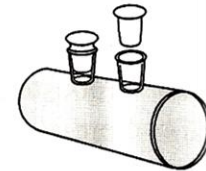
Embalagens Individuais - Estéreis



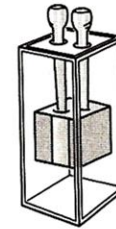
Normal com batoque



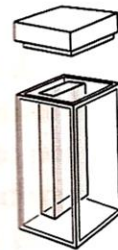
Semimicro com batoque



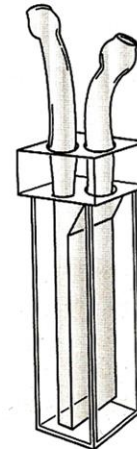
Cilíndrica



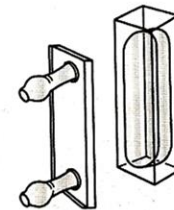
Semimicro de fluxo



Micro de altura mínima



Cela de amostragem



Desmontável de fluxo

Detectores

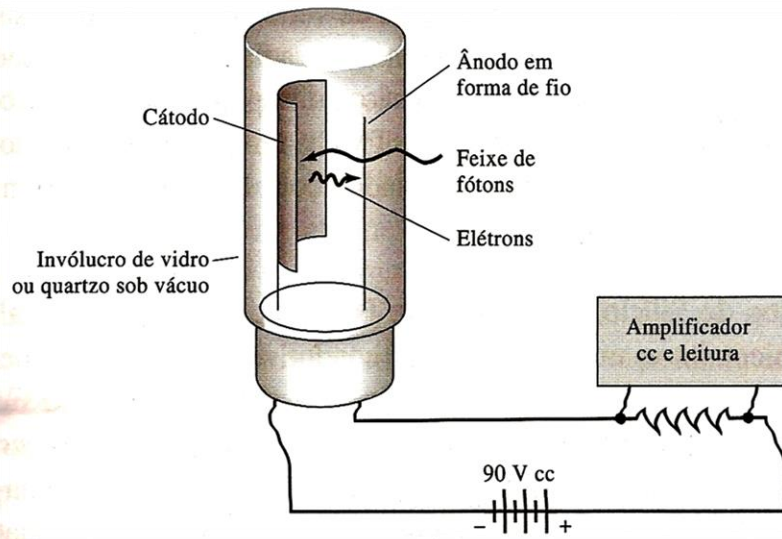
Tipos de detectores de fótons:

Baseados na interação da radiação com uma superfície reativa para produzir elétrons (fotoemissão).

Capazes de promover elétrons para estados energéticos nos quais podem conduzir eletricidade (fotocondução).

Detectores

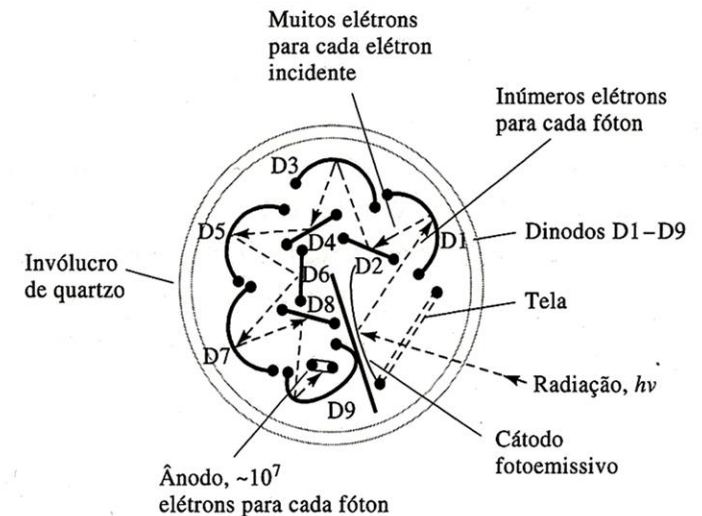
Fototubos



Fotomultiplicadores



(a)



(b)

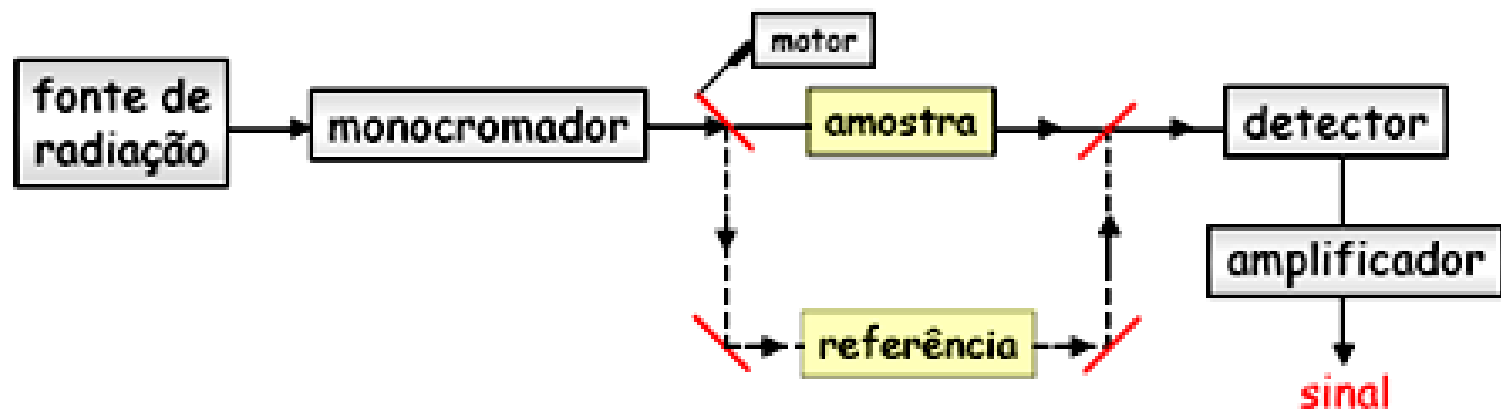
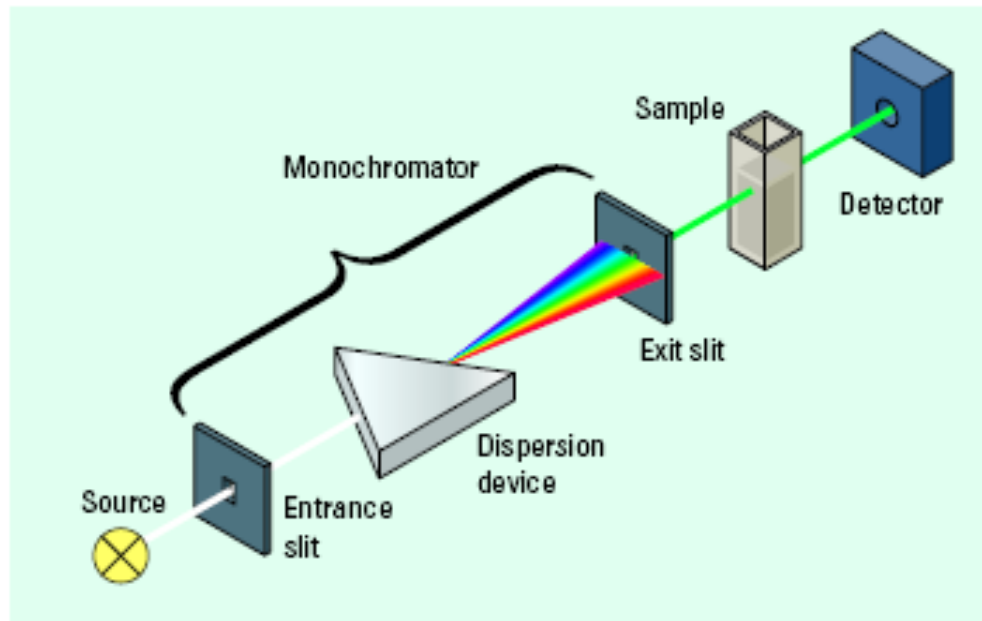
Tipo de Espectrofotômetros

Espectrofotômetros de feixe simples

Espectrofotômetros de duplo feixe

Espectrofotômetros Multicanal

Espectrofotômetro de feixe simples



Espectrofotômetro de duplo feixe

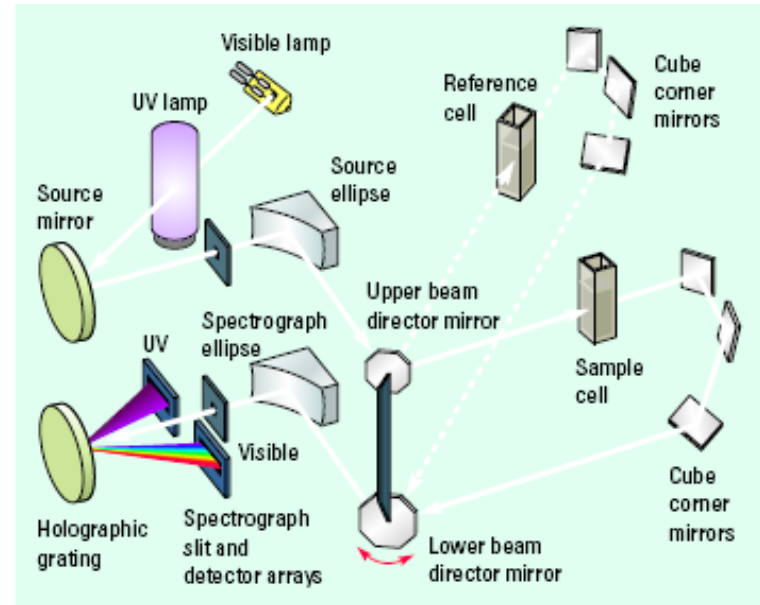
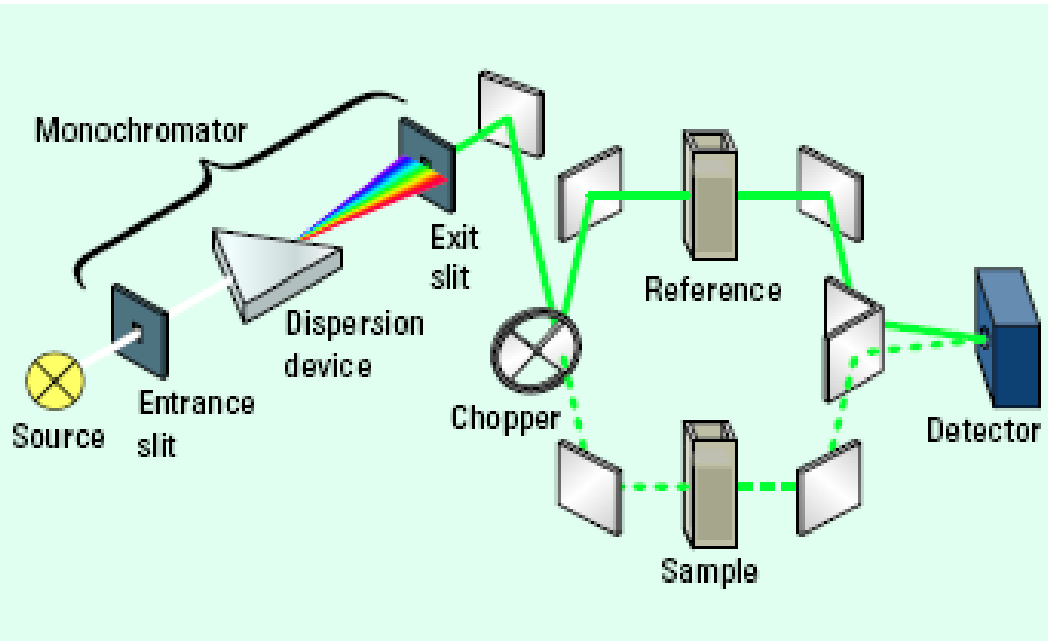
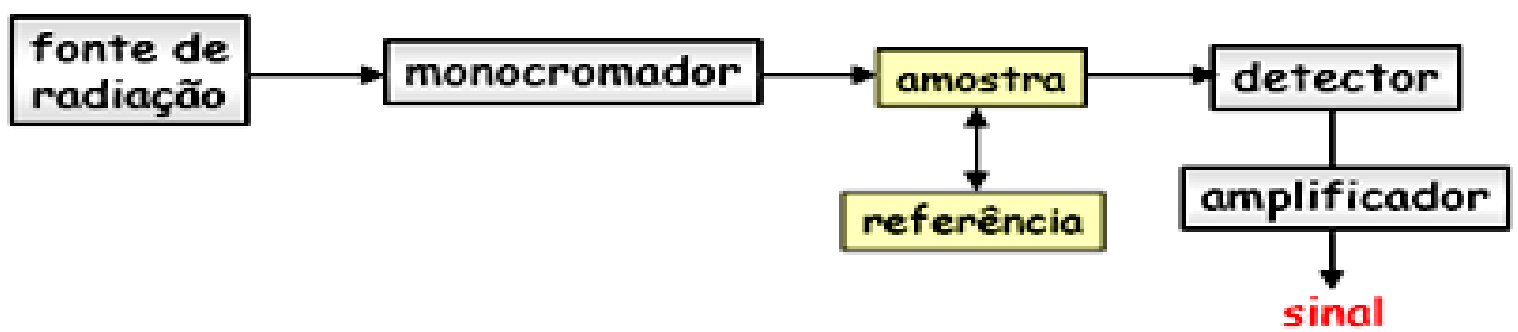


Figure 27
Optical system of the HP 8450A diode array spectrophotometer

Figure 26
Optical system of a dual-beam spectrophotometer



Espectrofotômetro Multicanal

