

CEN 0260

Métodos instrumentais de análise química

Espectrofotometria de absorção molecular

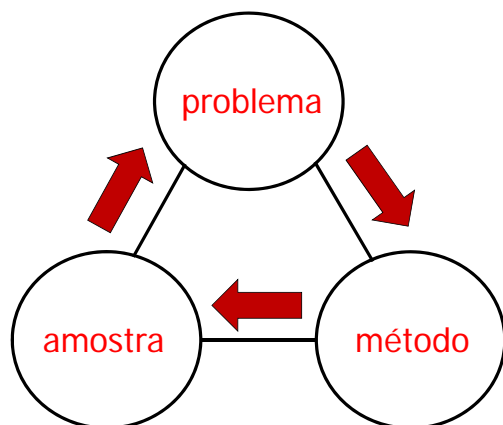
Fábio R. P. Rocha

(frprocha@cena.usp.br)

O que é importante saber?

- ✓ Qual o fundamento da técnica?
- ✓ Qual a aplicabilidade para a análise de alimentos?
- ✓ Quais as vantagens/limitações?
- ✓ Como funcionam os equipamentos?
- ✓ Como a técnica se compara às demais?
- ✓ Como preparar as amostras?

TRINDADE DA QUÍMICA ANALÍTICA



H. Bergamin Filho, 1996

Espectrofotometria de absorção molecular

Aplicações em análises de alimentos

⇒ digeridos sulfúricos

- NH_4^+ , PO_4^{3-}

- digeridos nitro-perclóricos ou nítricos

- SO_4^{2-} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$

⇒ extratos aquosos

- Cl^- , NO_3^- , NO_2^-

- Taninos, flavonoides, anti-oxidantes, vitaminas, açúcares, ácidos graxos, edulcorantes, conservantes, corantes, toxinas

Espectrofotometria

- ✓ UV-vis
- ✓ absorção molecular
- ✓ absorção em solução

Qual o fundamento da técnica?

A

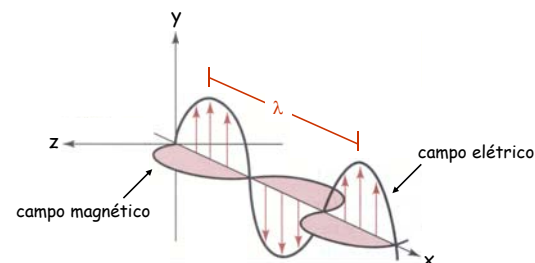


B



Radiação eletromagnética

radiação eletromagnética

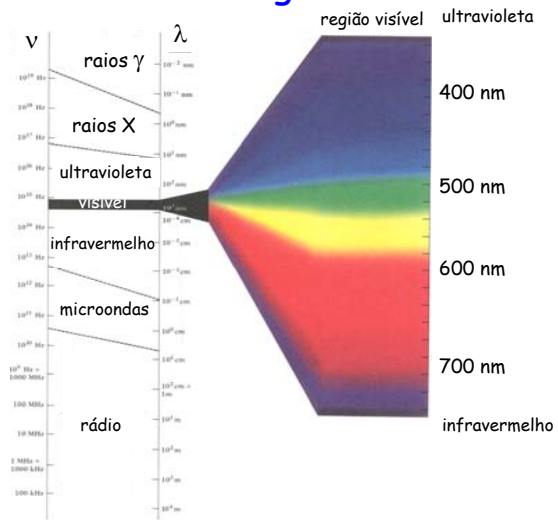


$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

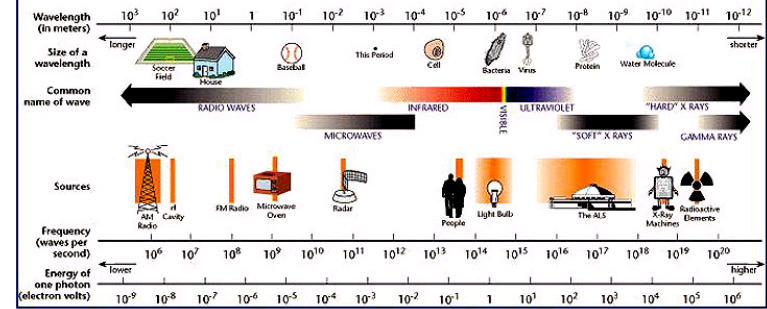
$$h \cong 6,6 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

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

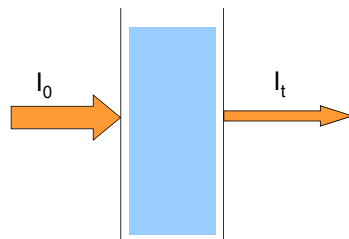
Espectro eletromagnético



THE ELECTROMAGNETIC SPECTRUM

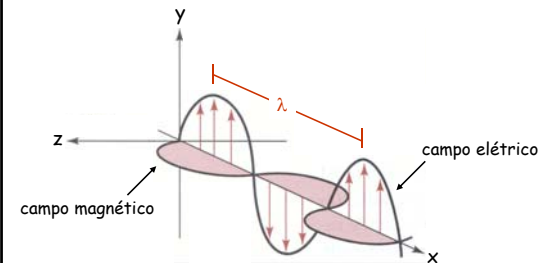


absorção



Radiação eletromagnética

radiação eletromagnética

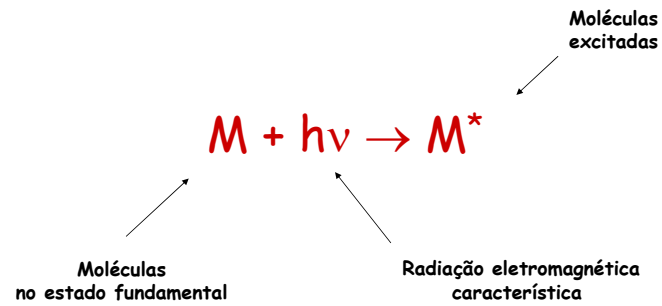


$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

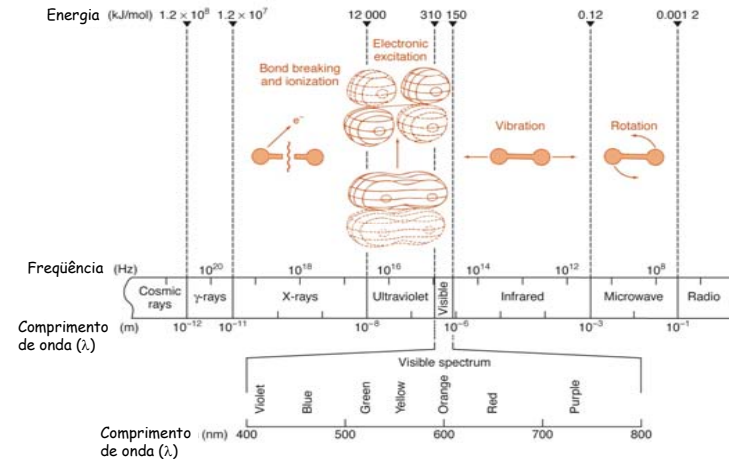
$$h \cong 6,6 \times 10^{-34} \text{ J s}$$

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

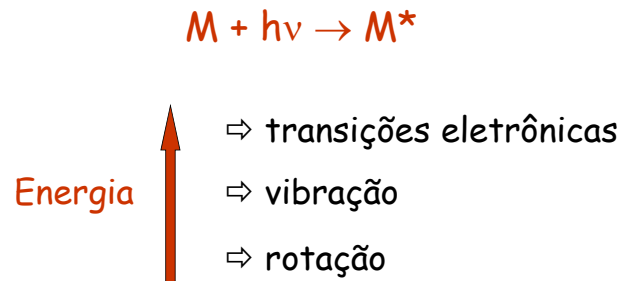
Espectrometria de absorção molecular

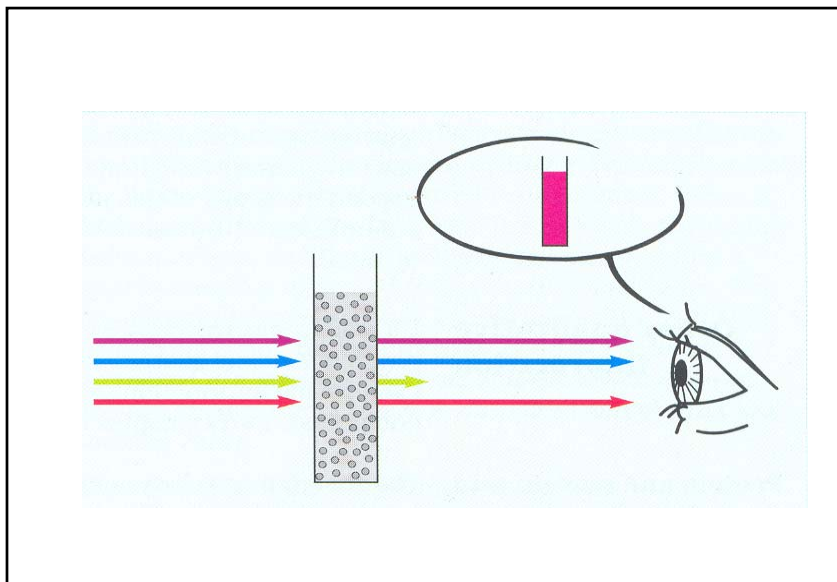


Absorção de radiação eletromagnética



Absorção de radiação por espécies moleculares





λ / nm	absorvida	transmitida
	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

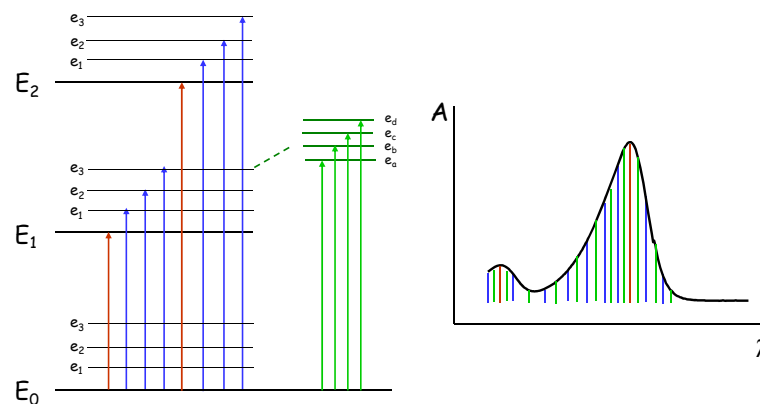
Absorção de radiação por espécies moleculares



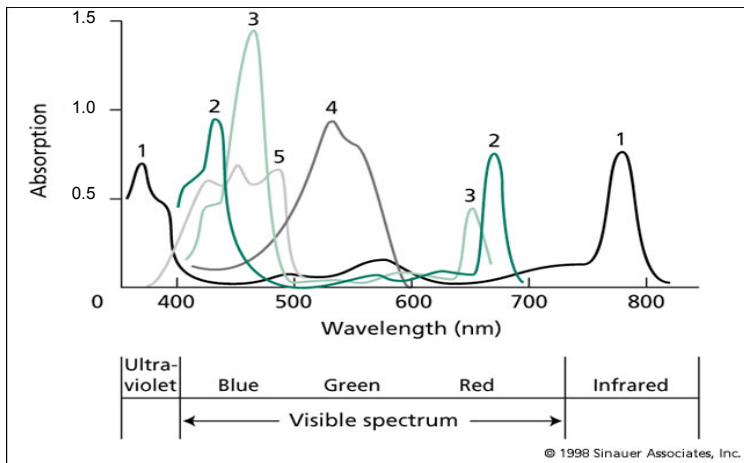
Energia ↑

- ⇒ transições eletrônicas
- ⇒ vibração
- ⇒ rotação

Absorção de radiação eletromagnética



Espectros de absorção de diferentes substâncias



absorção

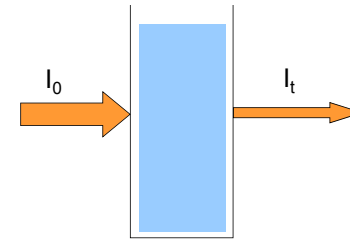


TABELA 14-2 Características de Absorção de Alguns Cromóforos Comuns

Cromóforo	Exemplo	Solvente	$\lambda_{\text{máx}}$ (nm)	$\epsilon_{\text{máx}}$	Tipo de Transição
Alceno	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptano	177	13.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			178	10.000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alcino	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	<i>n</i> -Heptano	196	2.000	-
			225	160	-
Carbonila	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{CCH}_3 \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	186	1.000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxila	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{CH} \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	180	grande	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxila	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{COH} \\ \text{O} \end{array}$	Etanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	CH_3CNH_2	Água	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	Etanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	CH_3NO_2	Isooctano	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	Éter etílico	300	100	-
Nitrato	$\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$	Dioxano	665	20	$n \rightarrow \pi^*$
			270	12	$n \rightarrow \pi^*$

Aplicações em análises de alimentos

⇒ digeridos sulfúricos

- NH_4^+ , PO_4^{3-}

- digeridos nitro-perclóricos ou nítricos

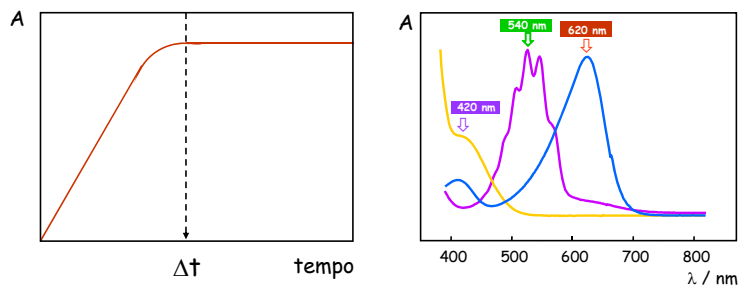
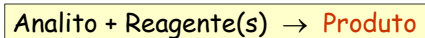
- SO_4^{2-} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$

⇒ extratos aquosos

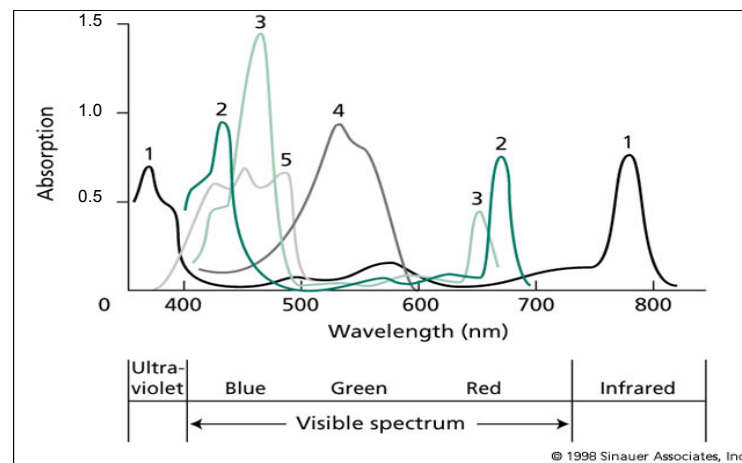
- Cl^- , NO_3^- , NO_2^-

- Taninos, flavonoides, anti-oxidantes, vitaminas, açúcares, ácidos graxos, edulcorantes, conservantes, corantes, toxinas

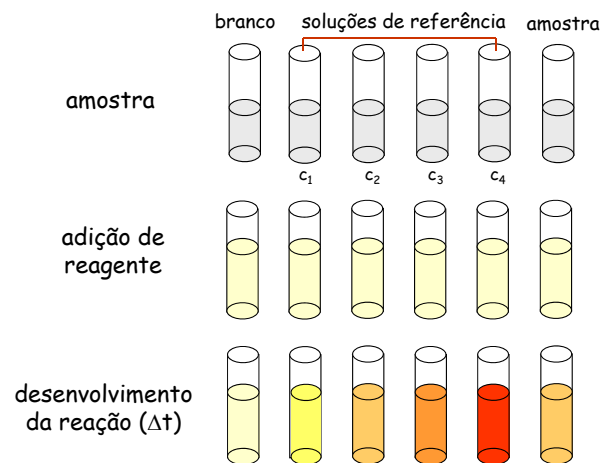
Derivação química



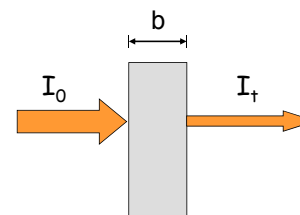
Espectros de absorção de diferentes substâncias



Análise quantitativa



Lei de Beer



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

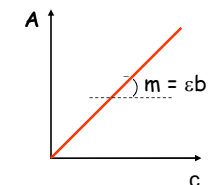
$$\Rightarrow A = \log(1 / T) = \log(I_0 / I_+)$$

$$A = 0 \Rightarrow T = 1 \Rightarrow 100\% \text{ transmissão}$$

$$A = 1 \Rightarrow T = 0,1 \Rightarrow 10\% \text{ transmissão} \\ 90\% \text{ absorção}$$

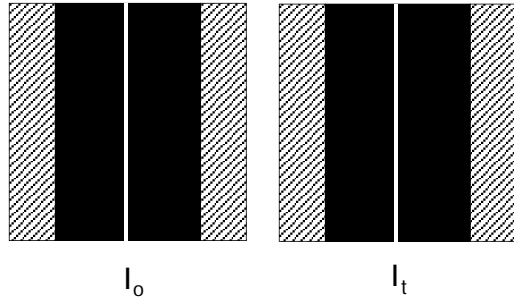
$$\Rightarrow \text{Lei de Beer: } A = \epsilon bc$$

$$[b] = \text{cm}; [c] = \text{mol L}^{-1} \Rightarrow [\epsilon] = \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$



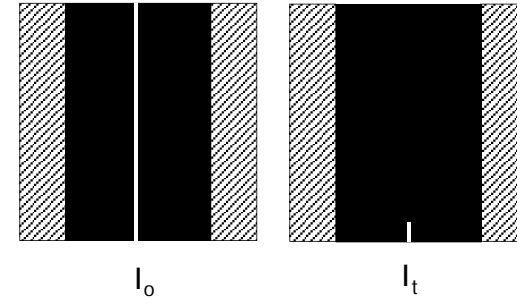
$$I_t = I_o$$

$$\text{Absorbância} = \log_{10} \frac{I_o}{I_t} = 0,000$$



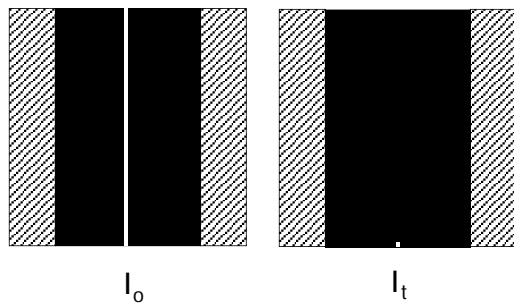
$$I_t = 10\% I_o$$

$$\text{Absorbância} = \log_{10} \frac{I_o}{I_t} = \log_{10} 10 = 1,000$$

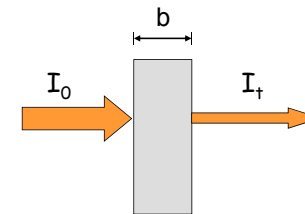


$$I_t = 1\% I_o$$

$$\text{Absorbância} = \log_{10} \frac{I_o}{I_t} = \log_{10} 100 = 2,000$$



Lei de Beer



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

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

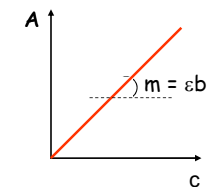
$$A = 0 \Rightarrow T = 1 \Rightarrow 100\% \text{ transmissão}$$

$$A = 1 \Rightarrow T = 0,1 \Rightarrow 10\% \text{ transmissão}$$

90% absorção

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

$$[b] = \text{cm}; [c] = \text{mol L}^{-1} \Rightarrow [\epsilon] = \text{L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$



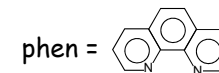
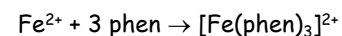
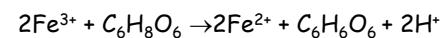
Exercício

Uma solução contendo $1,00 \times 10^{-5}$ mol/L de uma substância apresentou absorvância de 0,540 em uma cela de 1 cm.

- Calcule a absorvância molar da substância;
- Qual a concentração da substância em uma solução que apresentou 40% de transmissão?

Análise quantitativa

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



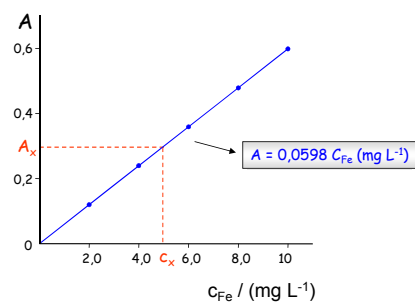
branco

5 mg L⁻¹

10 mg L⁻¹

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



$$A_x = 0,296$$

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

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

Exercício

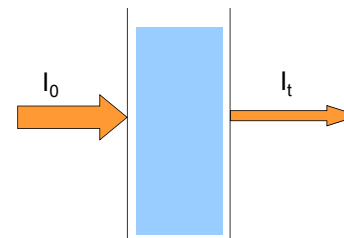
Para a determinação de ferro, uma amostra de espinafre (500 mg) foi digerida em forno de micro-ondas com mistura de HNO_3 e H_2O_2 e o volume do digerido foi ajustado para 20,0 mL. Após derivação química, foi obtida a curva de calibração definida pela equação: $A = 0,0142 C_{\text{Fe}} (\text{mg/L}) + 0,0002$. Valores médios de absorvância de 0,0812 e 0,0015 foram medidos para o digerido e para a solução do branco, respectivamente.

- O que é a solução do branco? Por que a medida de branco é necessária?
- Explique como a equação da curva de calibração foi obtida.
- Calcule a quantidade de ferro na amostra em mg/kg.

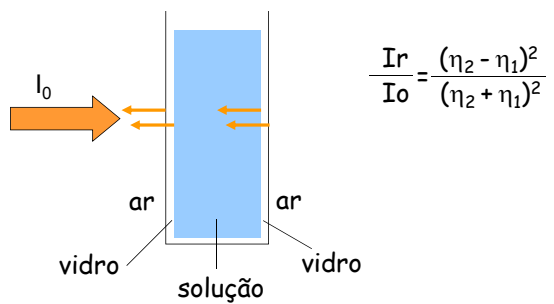
Aplicação da lei de Beer

- ⇒ radiação monocromática
- ⇒ soluções diluídas
- ⇒ condições reacionais
(excesso de reagente, pH)
- ⇒ $A < 1,0$

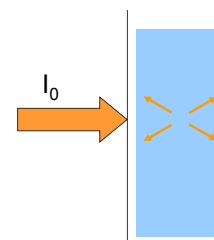
absorção



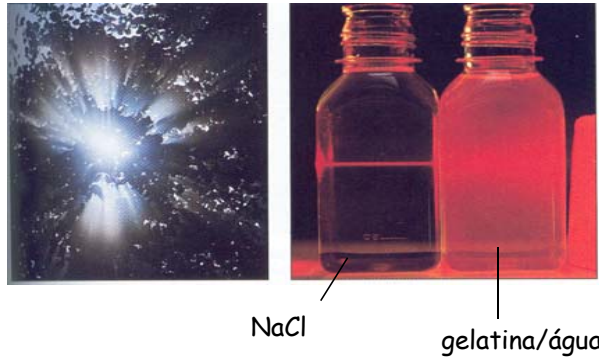
reflexão



espalhamento



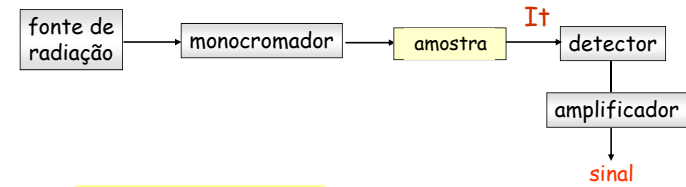
Efeito Tyndall



NaCl

gelatina/água

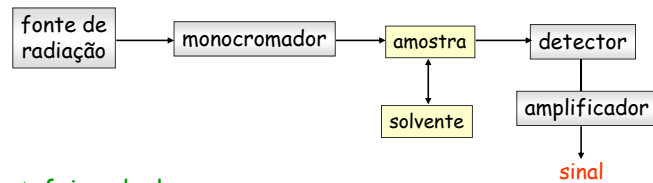
Espectrofotômetros



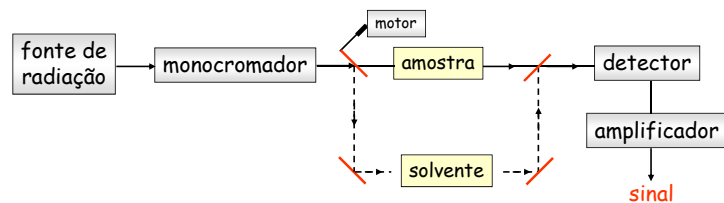
$$A = \log(I_0/I_t)$$

Espectrofotômetros

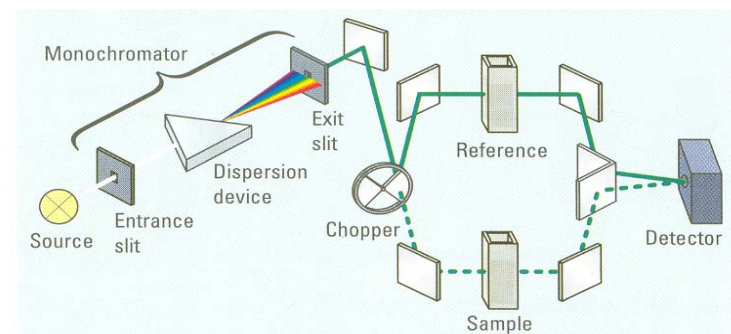
⇒ feixe simples



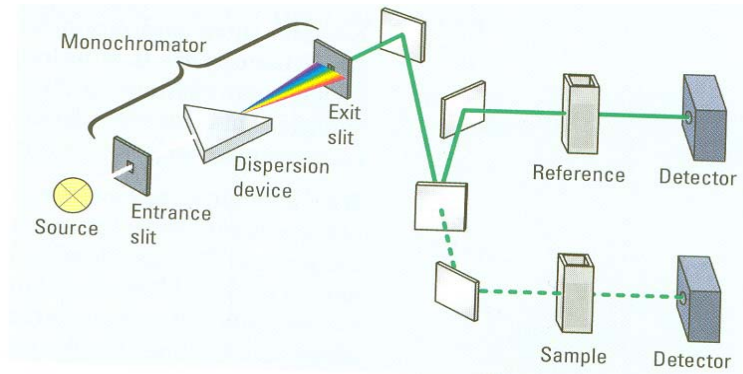
⇒ feixe duplo



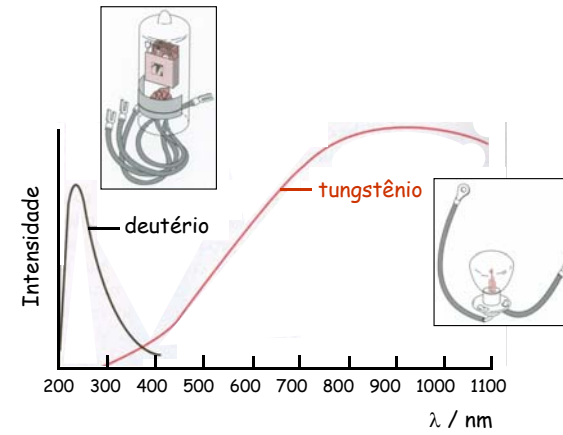
Espectrofotômetros com duplo feixe



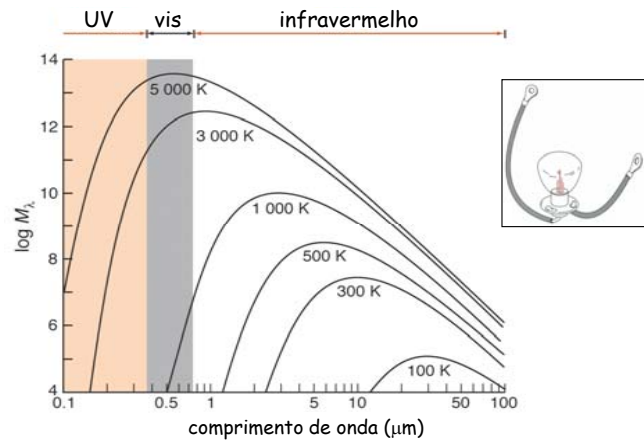
Espectrofotômetros com duplo feixe



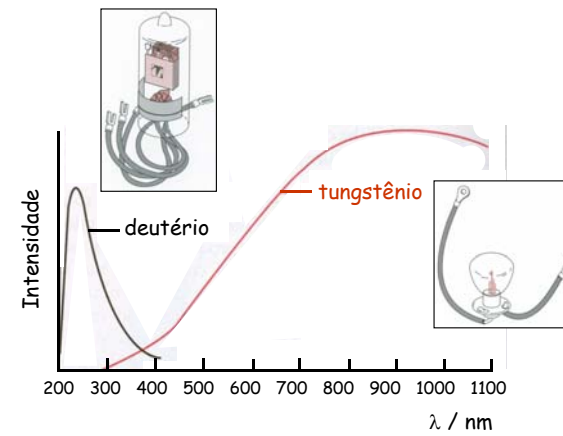
Fontes de radiação



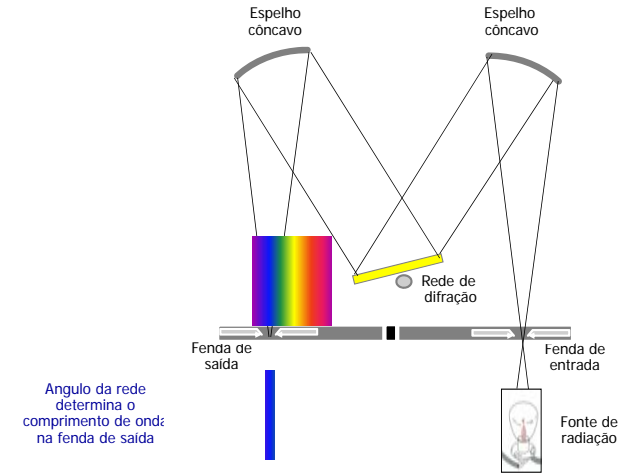
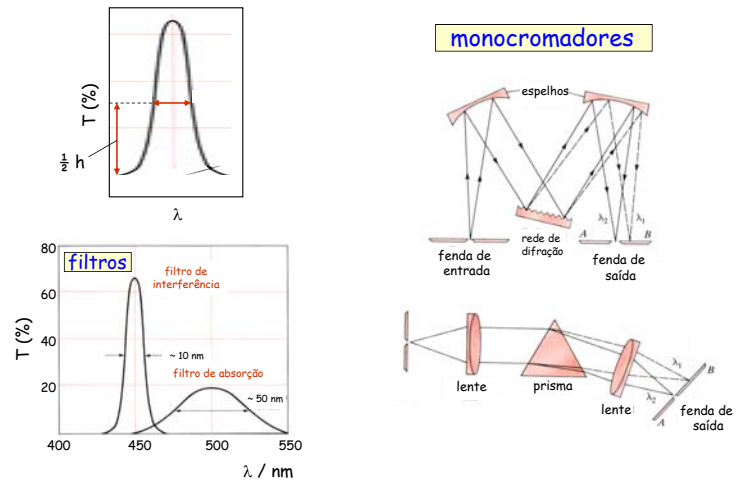
Lâmpadas de tungstênio



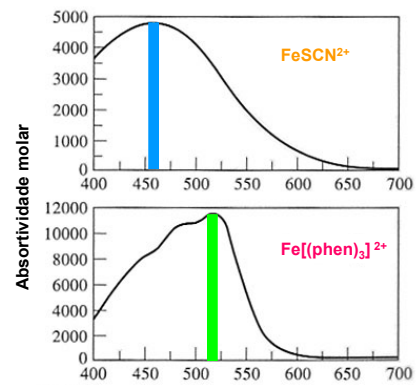
Fontes de radiação



Sistema óptico



Espectros de absorção



Celas de medida

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



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



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

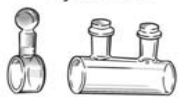
$10 \mu\text{L} < V < 200 \mu\text{L}$

Celas de medida

Standard
1-cm path



Cylindrical



Micro cells



5-mm path



1-mm path



20-mm path



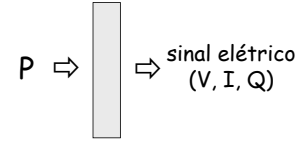
Flow



Thermal

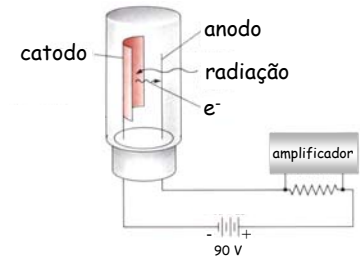


Deteciores



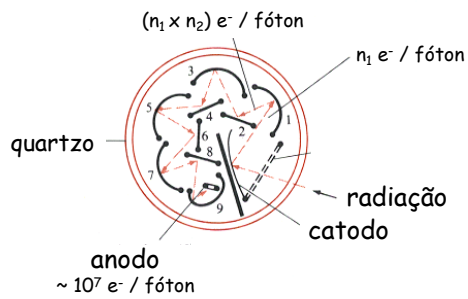
Transdutor ideal:	
\uparrow sensibilidade	\uparrow sinal / ruído
resposta rápida	$\uparrow \Delta\lambda$
$S = kP + k'$	

fototubo

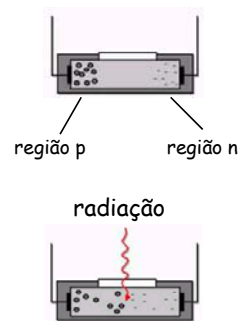


Deteciores

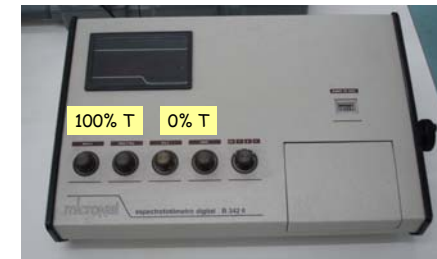
fotomultiplicadora



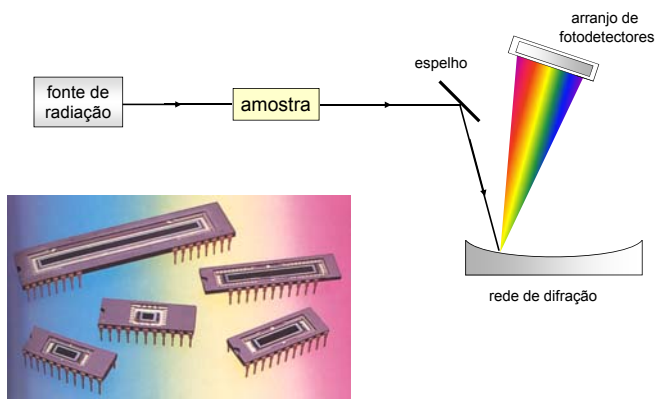
fotodiodo



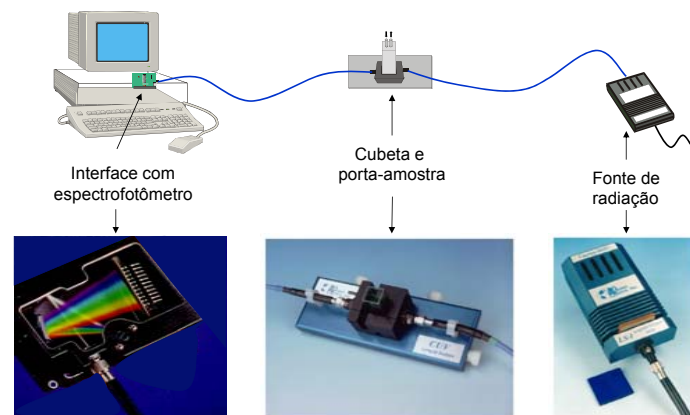
Espectrofotômetros



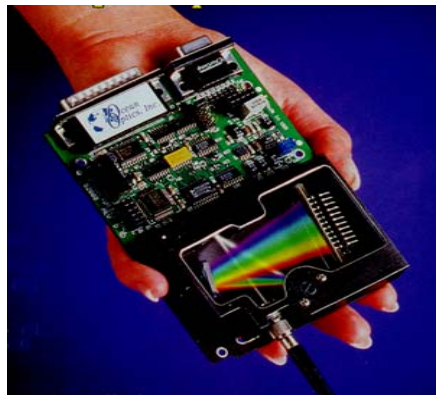
Espectrofotômetro multicanal



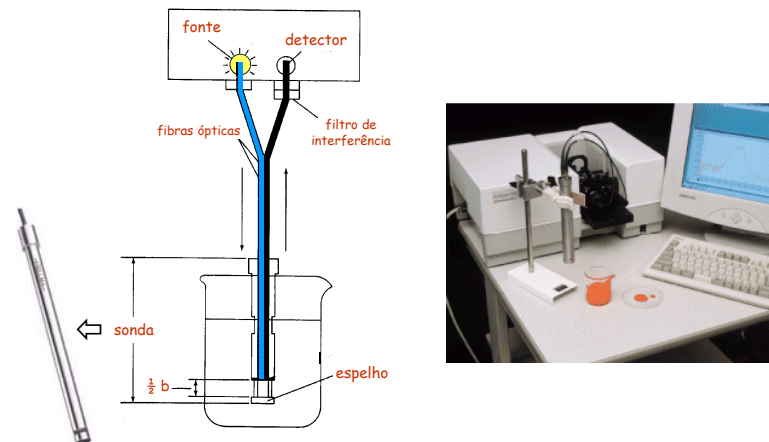
Espectrofotômetro com fibras ópticas

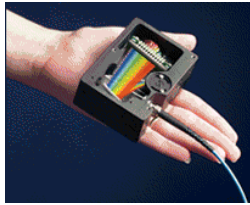


Monocromador Ocean Optics Inc



Espectrofotômetros com fibra óptica





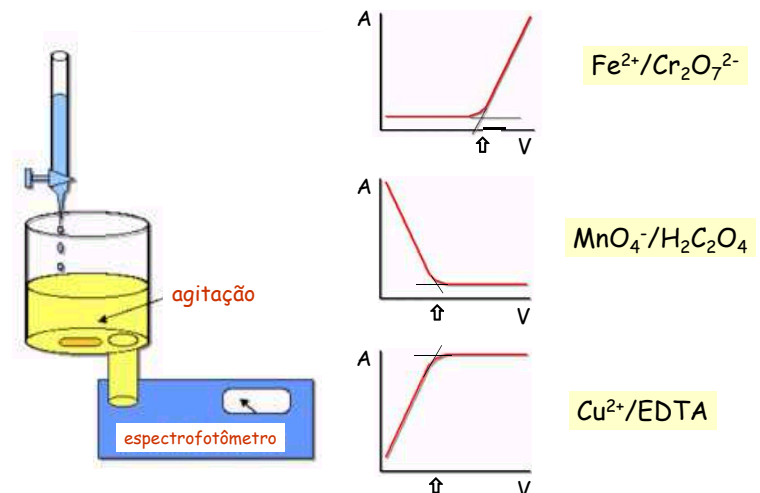
Espectrofotômetros portáteis



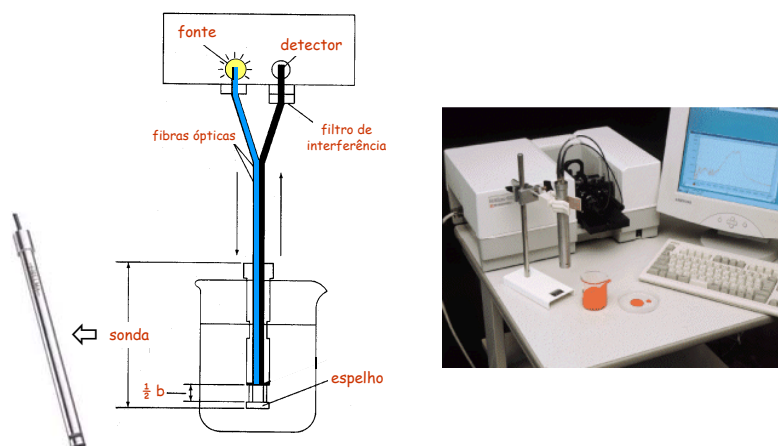
Aplicações da espectrofotometria

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

Titulações espectrofotométricas

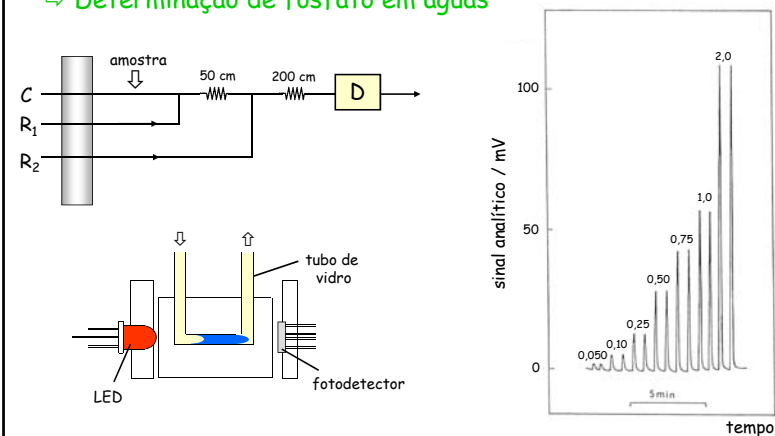


Espectrofotômetros com fibra óptica

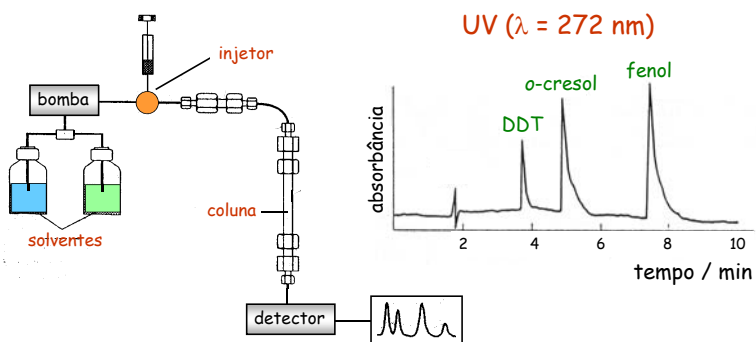


Análises em fluxo

⇒ Determinação de fosfato em águas



Detector em cromatografia líquida



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.
- ⇒ Apostila - espectrofotometria