

Disciplina: 7500043 - Análise Instrumental I

Ano: 2022/1

Curso: Análise Instrumental I

Capítulo 14 - Aplicações da Espectrometria de Absorção Molecular no Ultravioleta-Visível

Professores da disciplina:
Juliana Cristina Barreiro
Emanuel Carrilho

Estimativa da Absortividade Molar

- **Relação empírica da absortividade**

$$\varepsilon = 8,7 \times 10^{19} PA$$

- P é a probabilidade de transição eletrônica
- A é a área da seção transversal da molécula/partícula
- **Para moléculas orgânicas “típicas”**
 - $A \sim 10^{-15} \text{ cm}^2$
 - $0,1 < P < 1$
 - Portanto $\varepsilon_{\text{max}} = 10^4 - 10^5$
 - Valores reduzidos de ε_{max} ($\sim 10^3$) indicam transições proibidas ($P < 0,01$)

Processo de Absorção

- **1ª etapa: excitação eletrônica**



- **2ª etapa: relaxação**



- **O processo de absorção UV-vis envolve os elétrons de ligação**
 - Elétrons π , σ e n
 - Elétrons d e f
 - Transferência de carga

Espécies Contendo Elétrons π , σ e n

- **Moléculas e íons orgânicos e alguns ânions inorgânicos**
 - Como toda molécula orgânica possui ligações covalentes \therefore possui elétrons de valência que podem ser excitados a níveis energéticos mais elevados
 - Absorção no UV-vis depende da presença de grupos funcionais com elétrons de valência com energias de excitação menores \Rightarrow grupos ***cromóforos***

Transições Eletrônicas

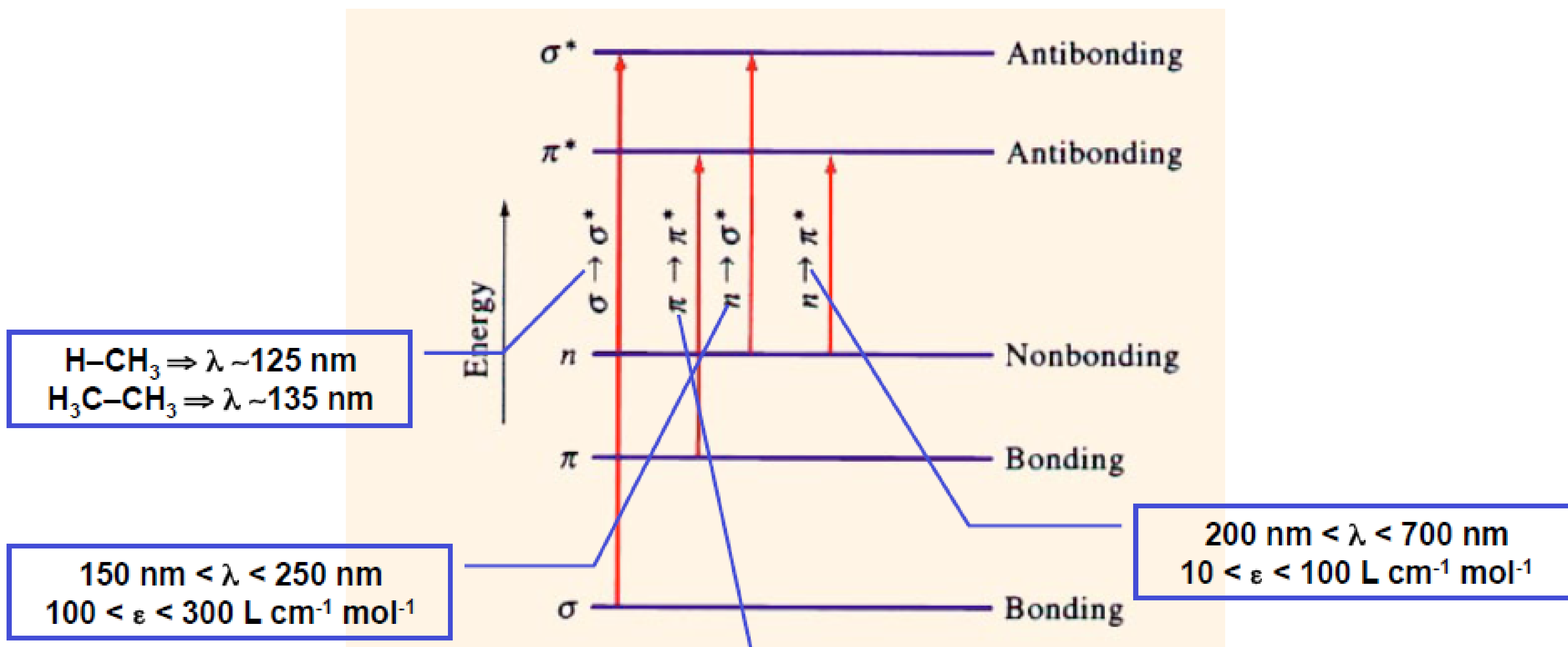


TABLE 14-2 Absorption by Organic Compounds Containing Heteroatoms with Nonbonding Electrons

Compound	λ_{max} nm	ϵ_{max}
CH_3OH	167	1480
$(\text{CH}_3)_2\text{O}$	184	2520
CH_3Cl	173	200
CH_3I	258	365
$(\text{CH}_3)_2\text{S}$	229	140
CH_3NH_2	215	600
$(\text{CH}_3)_3\text{N}$	227	900

Cromóforos Orgânicos

- Necessário ter insaturações
- Análise Qualitativa
 - Depende da estrutura global da molécula
 - Solvente

TABLE 14-1 Absorption Characteristics of Some Common Chromophores

Chromophore	Example	Solvent	λ_{max} , nm	ϵ_{max}	Transition Type
Alkene	$C_6H_{13}CH=CH_2$	<i>n</i> -Heptane	177	13,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkyne	$C_3H_3CH \equiv C-CH_3$	<i>n</i> -Heptane	178	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2000	—
Carbonyl	$CH_3C(=O)CH_3$	<i>n</i> -Hexane	225	160	—
			186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxyl	CH_3COOH	<i>n</i> -Hexane	180	large	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	CH_3CONH_2	Ethanol	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
		Water	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$CH_3N=NCH_3$	Ethanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	CH_3NO_2	Isooctane	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	C_1H_9NO	Ethyl ether	300	100	—
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrate	$C_2H_5ONO_2$	Dioxane	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

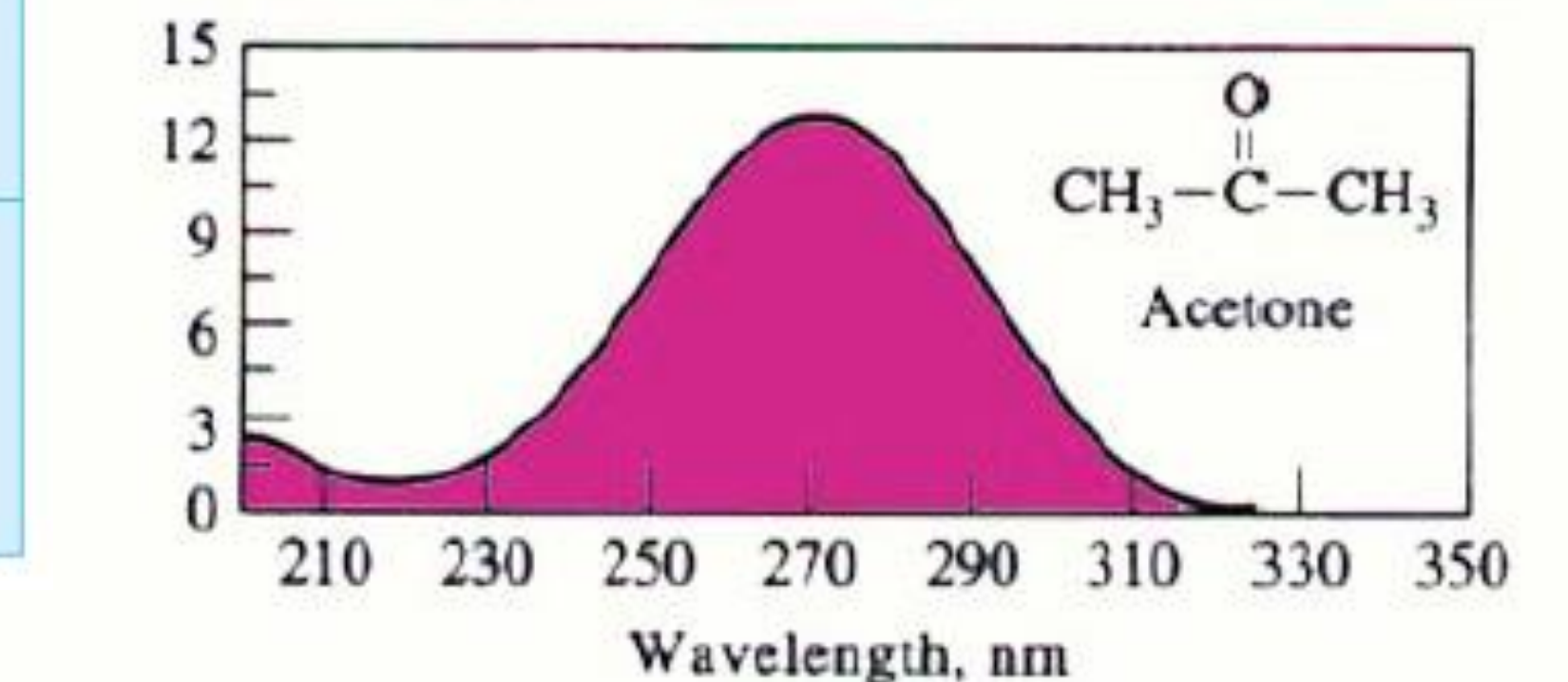
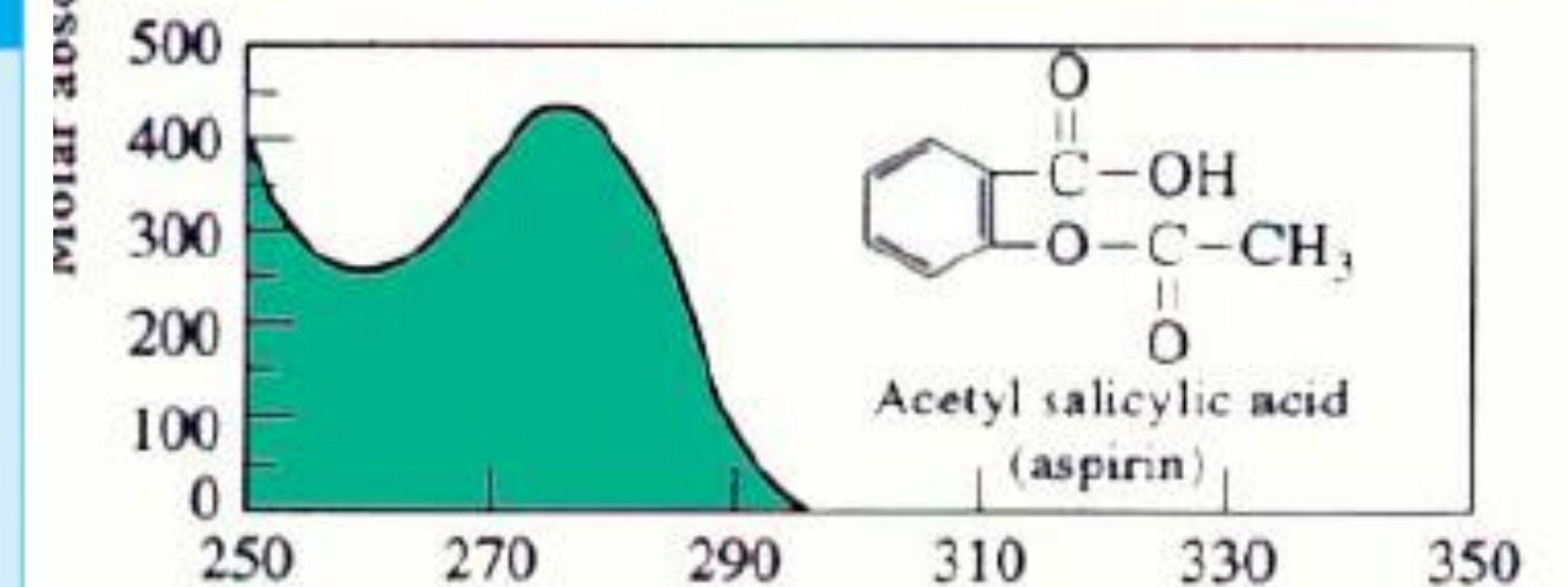
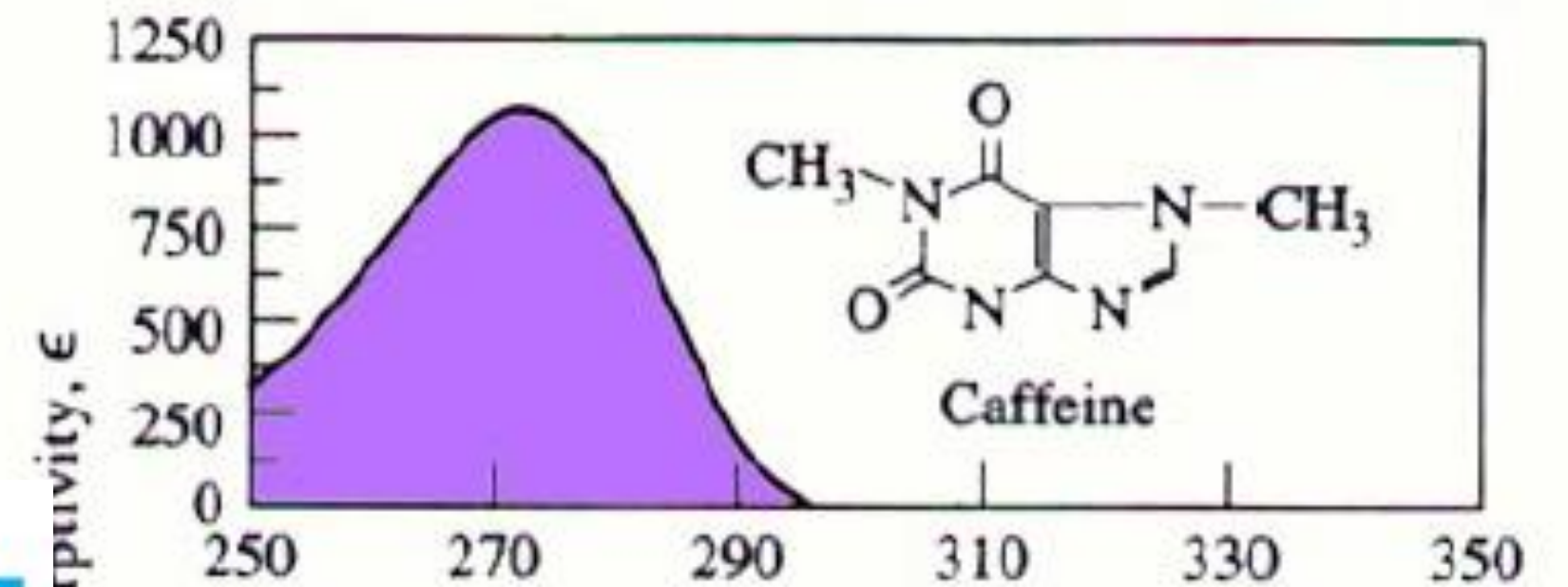
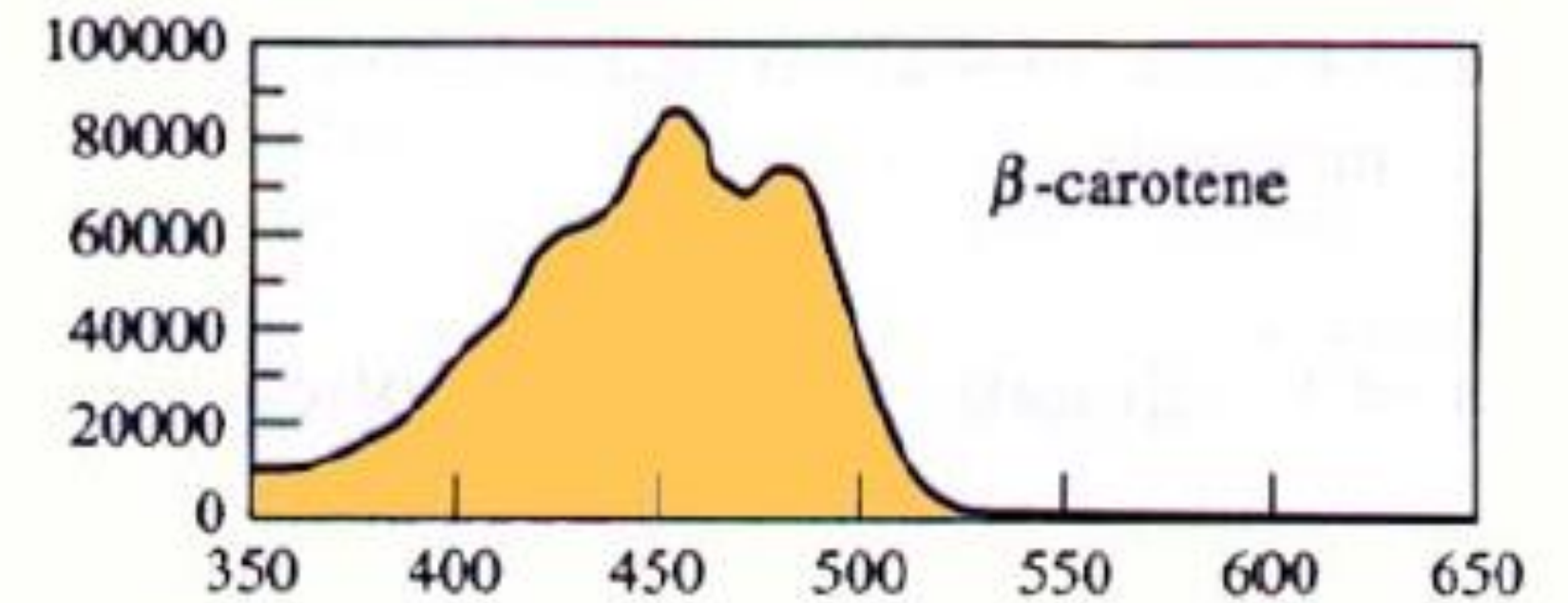


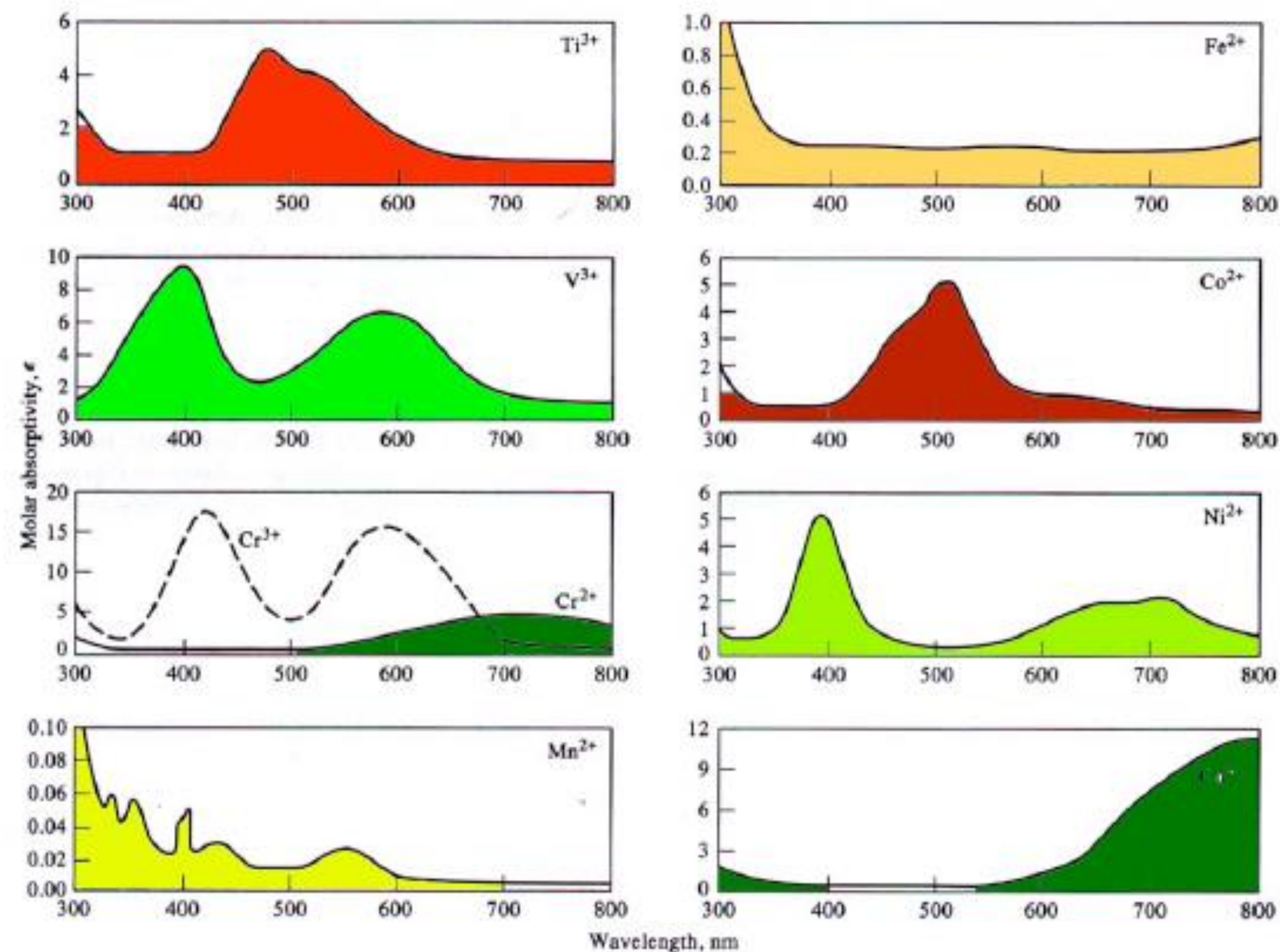
TABLE 14-1 Absorption Characteristics of Some Common Chromophores

Chromophore	Example	Solvent	λ_{\max} , nm	ϵ_{\max}	Transition Type
Alkene	$C_6H_{13}CH=CH_2$	<i>n</i> -Heptane	177	13,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkyne	$C_5H_{11}CH\equiv C-CH_3$	<i>n</i> -Heptane	178	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Carbonyl	$CH_3C(=O)CH_3$	<i>n</i> -Hexane	196	2000	—
			225	160	—
	$CH_3CH_2C(=O)CH_3$	<i>n</i> -Hexane	186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
Carboxyl	CH_3COOH	Ethanol	180	large	$n \rightarrow \sigma^*$
			293	12	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	CH_3CONH_2	Water	204	41	$n \rightarrow \pi^*$
			214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$CH_3N=NCH_3$	Ethanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	CH_3NO_2	Isooctane	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	C_4H_9NO	Ethyl ether	300	100	—
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrate	$C_2H_5ONO_2$	Dioxane	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

Absorção Envolvendo Elétron *d* e *f*

- Metais de Transição (Séries I e II)

- Íons e complexos das duas primeiras séries de transição produzem espectros de absorção largos e são fortemente influenciados pelo ambiente químico
- Teoria do *campo cristalino* vs orbitais moleculares



Absorção por Transferência de Carga

- Grande importância analítica $\rightarrow \epsilon_{\max} > 10000$
- Complexo formado entre espécie doadora de elétrons e outra receptora de elétrons \rightarrow a absorção da radiação acarreta na transferência de um e^- do doador para um orbital do receptor
- Estado excitado é um produto de um processo interno de oxi-redução

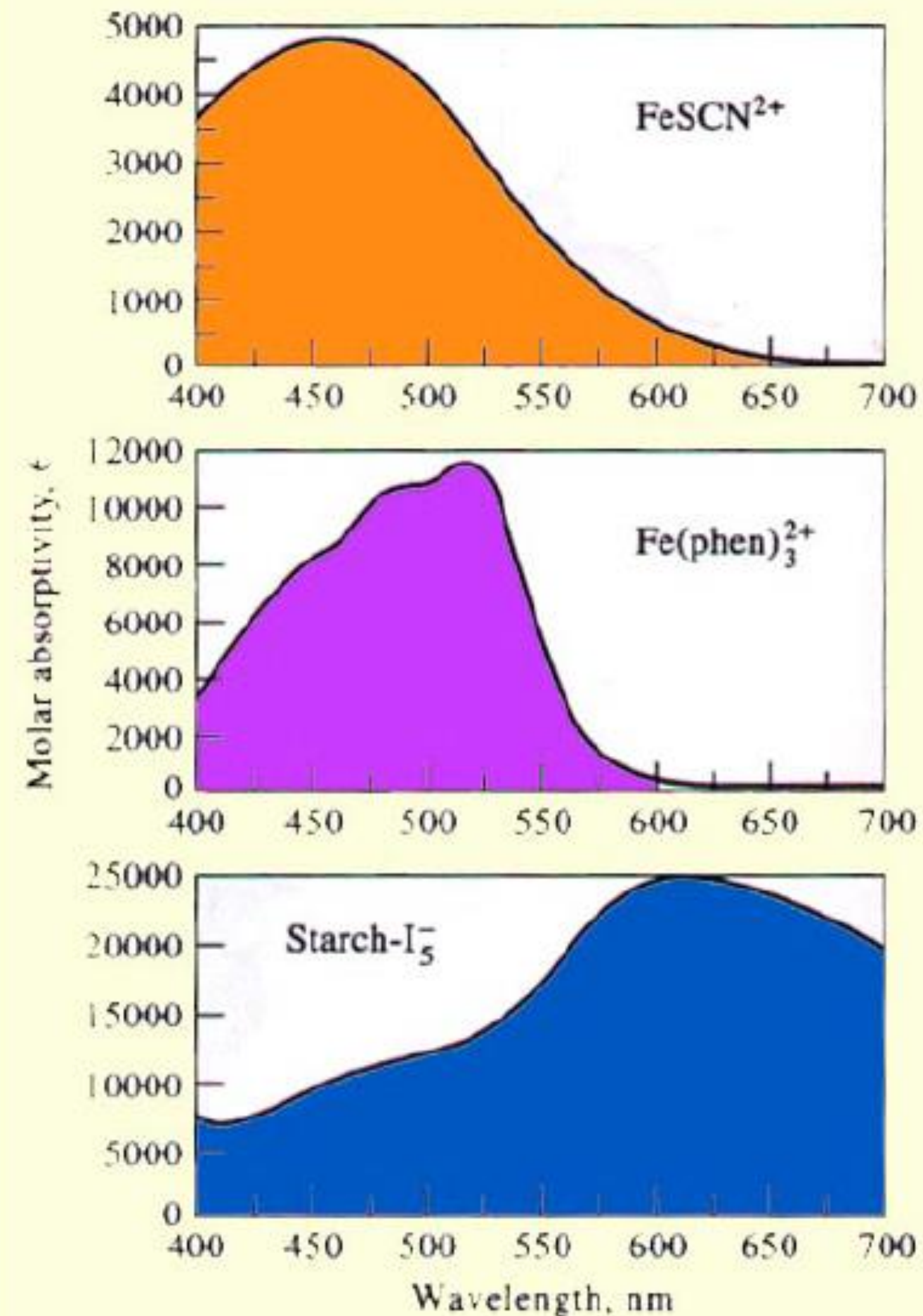


Figure 14-10 Charge-transfer spectra of three species.

Deslocamentos com o Aumento da Polaridade do Solvente

- **Transições $n \rightarrow \pi^*$**
 - Deslocamento *hipsocrômico* (deslocamento para o azul)
 - De comprimento de onda maior para comprimento de onda menor
 - Devido a maior solvatação do par de elétrons n não ligado e o abaixamento da energia do orbital n e o estado excitado (π^*) não é afetado
 - Maiores efeitos em solventes hidroxilados \rightarrow ligações de hidrogênio
- **Transições $\pi \rightarrow \pi^*$**
 - Deslocamento *batocrômico* (deslocamento para o vermelho)
 - De comprimento de onda menor para comprimento de onda maior
 - As forças de atração de polarização tendem a abaixar os dois estados, sendo mais efetivo para o estado excitado \rightarrow menores diferenças de energia

Conjugação de Cromóforos

• Deslocalização de elétrons π

- Envolvem 4 ou mais centros atômicos
- Abaixamento do nível energético do orbital π^* \rightarrow diminui as diferenças energéticas com deslocamento da absorção para o vermelho (comprimentos de onda maiores)

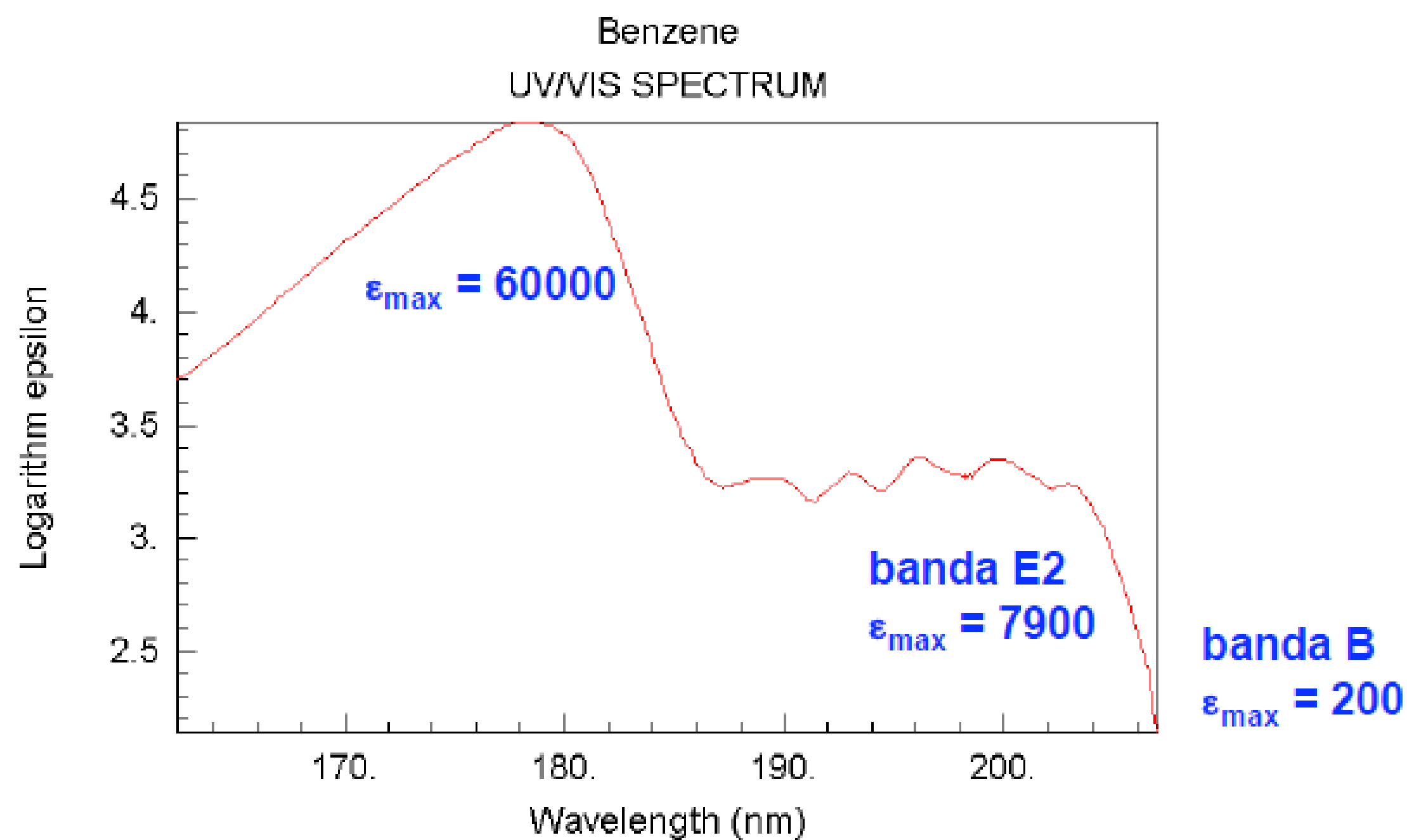
Composto	Tipo	$\lambda_{max}(nm)$	ϵ_{max}
$CH_3CH_2CH_2CH=CH_2$	Olefina	184	10000
$CH_2=CHCH_2CH_2CH=CH_2$	Diolefina (ñ conjugada)	185	20000
$CH_2=CHCH=CH_2$	Diolefina (conjugada)	217	21000
$CH_2=CHCH=CHCH=CH_2$	Triolefina (conjugada)	250	-
$CH_3CH_2CH_2CH_2(C=O)CH_3$	Cetona	282	27
$CH_2=CHCH_2CH_2(C=O)CH_3$	Cetona insaturada (nc)	278	30
$CH_2=CH(C=O)CH_3$	Cetona insaturada (conj)	324	24
		219	3600

TABLE 14-1 Absorption Characteristics of Some Common Chromophores

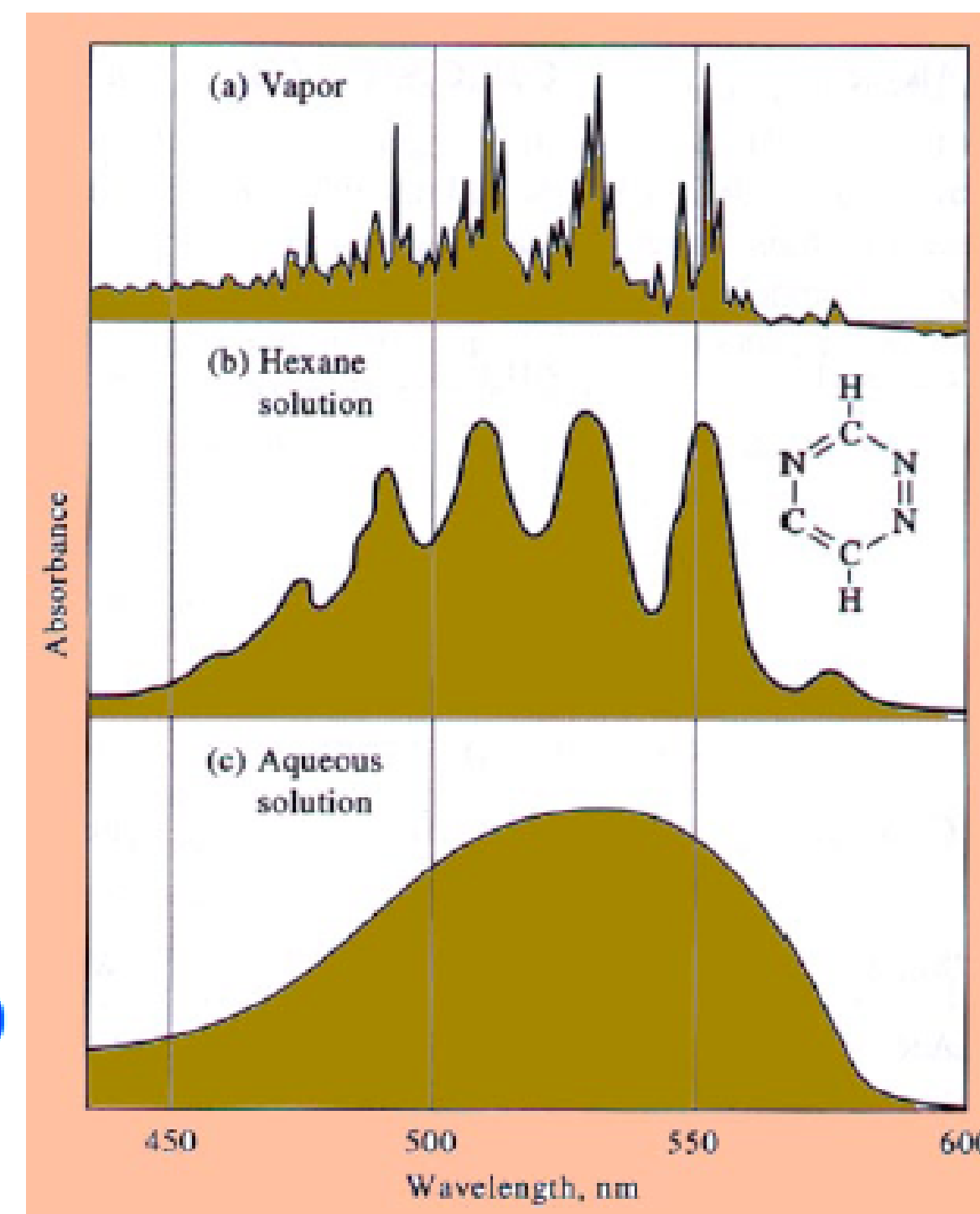
Chromophore	Example	Solvent	λ_{max}, nm	ϵ_{max}	Transition Type
Alkene	$C_6H_{13}CH=CH_2$	<i>n</i> -Heptane	177	13,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alkyne	$C_5H_{11}CH \equiv C-CH_3$	<i>n</i> -Heptane	178	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2000	—
			225	160	—
Carbonyl	$CH_3C(=O)CH_3$ $CH_3CH=O$	<i>n</i> -Hexane	186	1000	$n \rightarrow \sigma^*$
			280	16	$n \rightarrow \pi^*$
			180	large	$n \rightarrow \sigma^*$
Carboxyl	CH_3COOH	Ethanol	293	12	$n \rightarrow \pi^*$
			204	41	$n \rightarrow \pi^*$
Amido	CH_3CNH_2	Water	214	60	$n \rightarrow \pi^*$
Azo	$CH_3N=NCH_3$	Ethanol	339	5	$n \rightarrow \pi^*$
Nitro	CH_3NO_2	Isooctane	280	22	$n \rightarrow \pi^*$
Nitroso	C_4H_9NO	Ethyl ether	300	100	—
			665	20	$n \rightarrow \pi^*$
Nitrate	$C_2H_5ONO_2$	Dioxane	270	12	$n \rightarrow \pi^*$

Absorção em Sistemas Aromáticos

- **Sistemas aromáticos: 3 conjuntos de bandas características $\rightarrow \pi \rightarrow \pi^*$**



NIST Chemistry WebBook (<http://webbook.nist.gov/chemistry>)



- **Auxocromo: grupo funcional não absorvente que desloca o máximo de absorção do cromóforo para comprimentos de ondas maiores** **Ex. $-\text{OH}$ e $-\text{NH}_2$**

Efeitos de Grupos Auxocrômicos

Composto	Banda E2		Banda B	
	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}	λ_{\max} (nm)	ϵ_{\max}
Benzeno	204	7900	256	200
Tolueno	207	7000	261	300
Clorobenzeno	210	7600	265	240
Fenol	211	6200	270	1450
Fenolato	235	9400	287	2600
Anilina	230	8600	280	1430
Anilínio	203	7500	254	160
Naftaleno	286	9300	312	289
Vinilbenzeno	244	12000	282	450

Substituintes auxocrômicos possuem pelo menos um par de electrons n capaz de interagir com elétrons pi do anel. Estabilizando o estado pi anti-ligante, diminuindo sua energia e aumentando o comprimento de onda da banda correspondente.

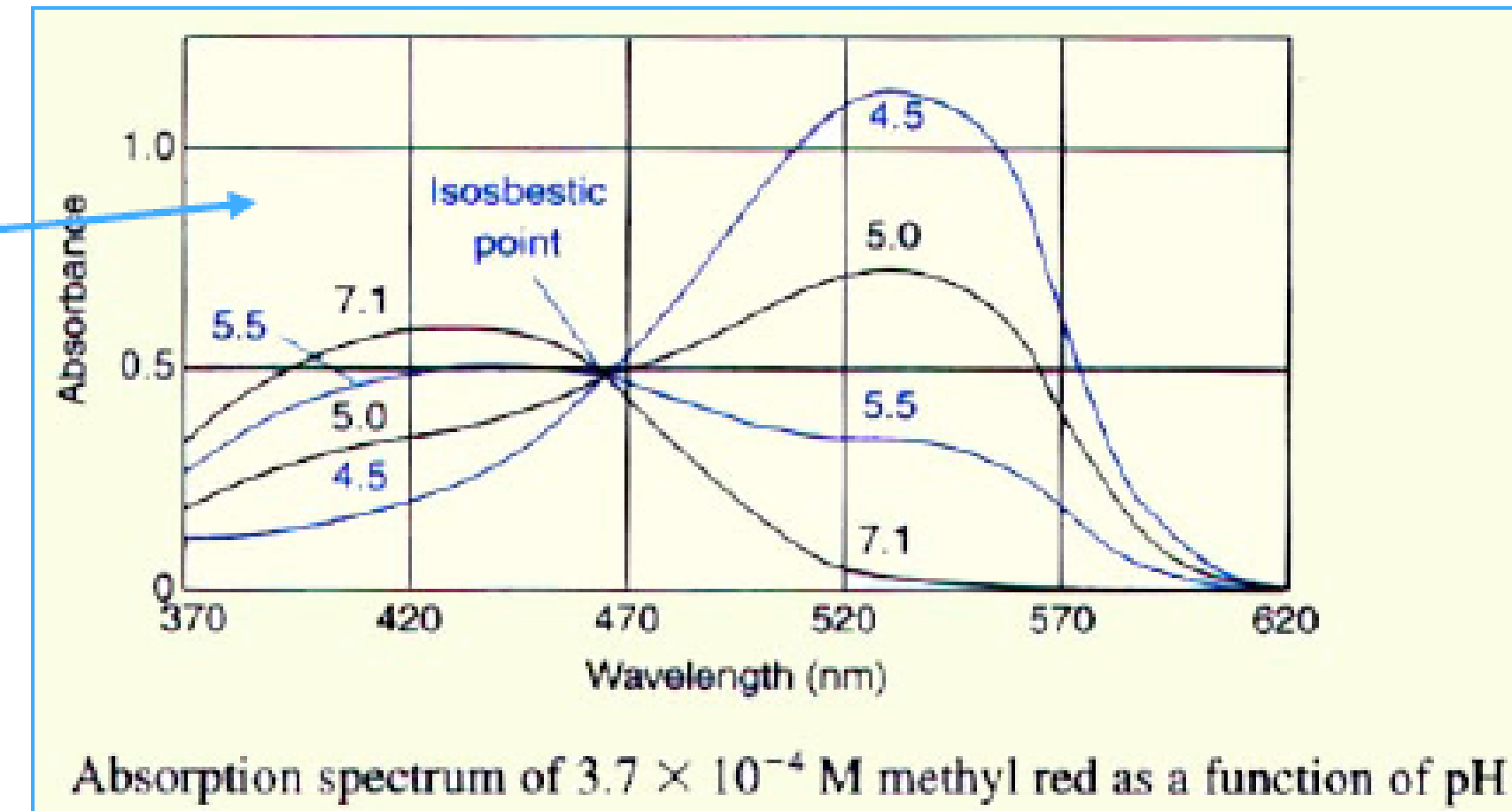
Aplicações

- **Análises de espécies absorventes**
- **Análises de espécies não absorventes**
 - Reações colorimétricas seletivas
 - Para desenvolver “cor”
 - Para aumentar o ϵ_{\max}
 - Exs.:
 - tiocianato (Fe, Co, Mo)
 - peróxido de hidrogênio (Ti, V, Cr)
 - iodeto (Bi, Pd, Te)
 - o-fenantrolina (Fe)
 - dimetilglioxima (Ni)
 - dietilditiocarbamato (Cu)
 - difenilditiocarbazona (Pb)

Procedimento Prático

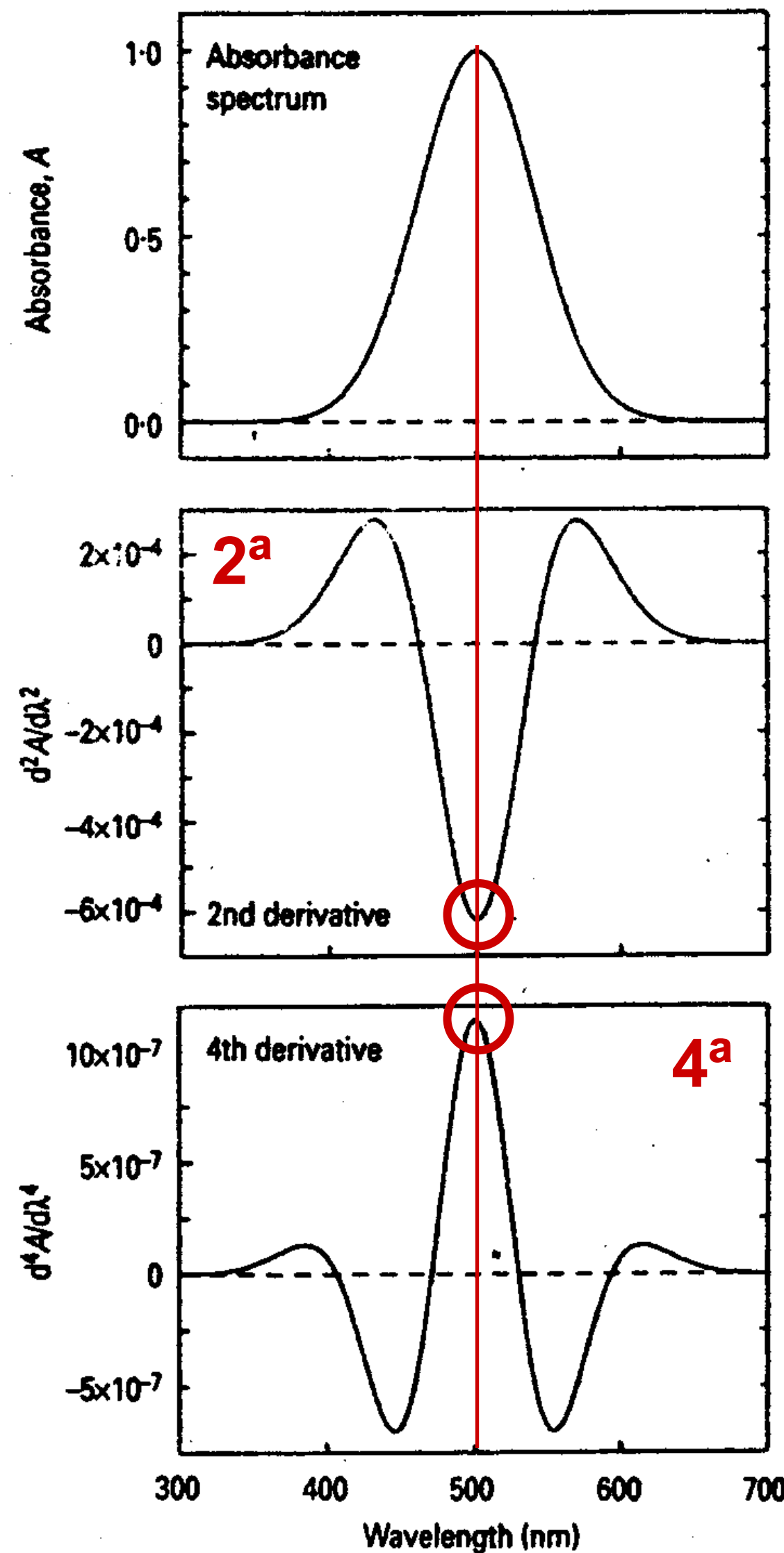
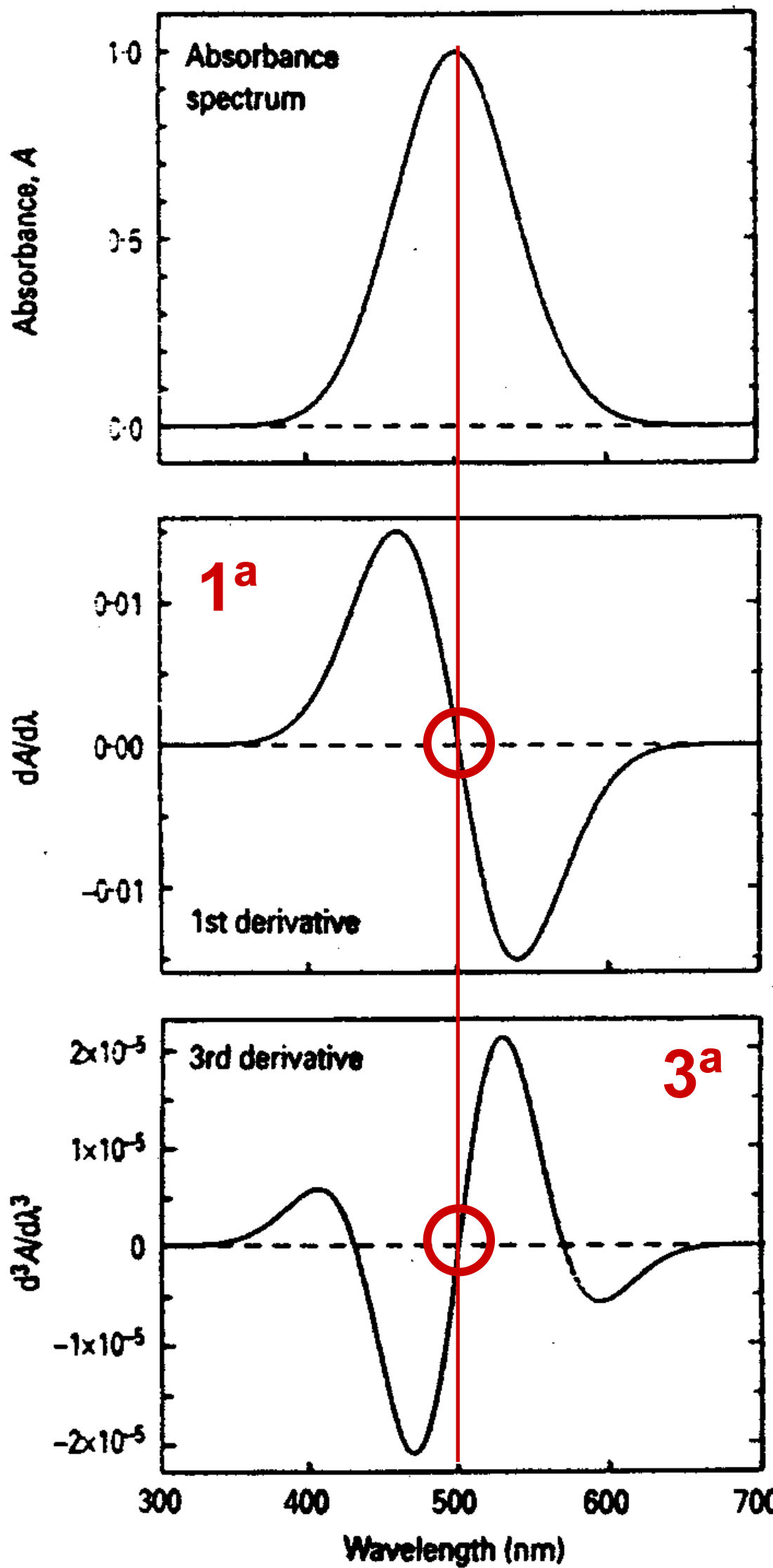
- **Seleção do comprimento de onda**
 - Máximo do pico → máxima sensibilidade
 - Mínimo desvio da lei de Beer → $\epsilon \sim$ constante
- **Atenção às variáveis que influenciam a Absorbância**

- Solvente
- Ph da solução
- Temperatura
- Força iônica
- Presença de interferentes

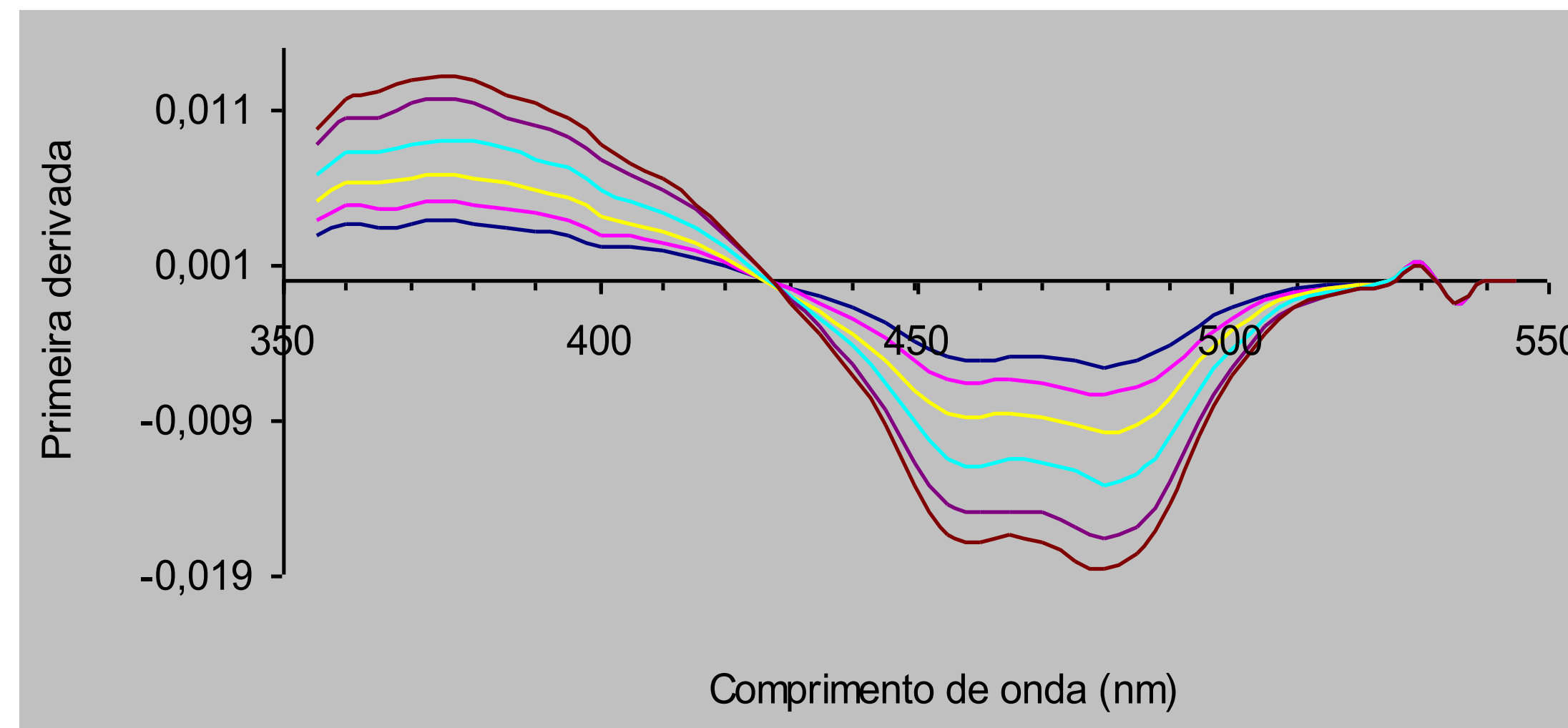
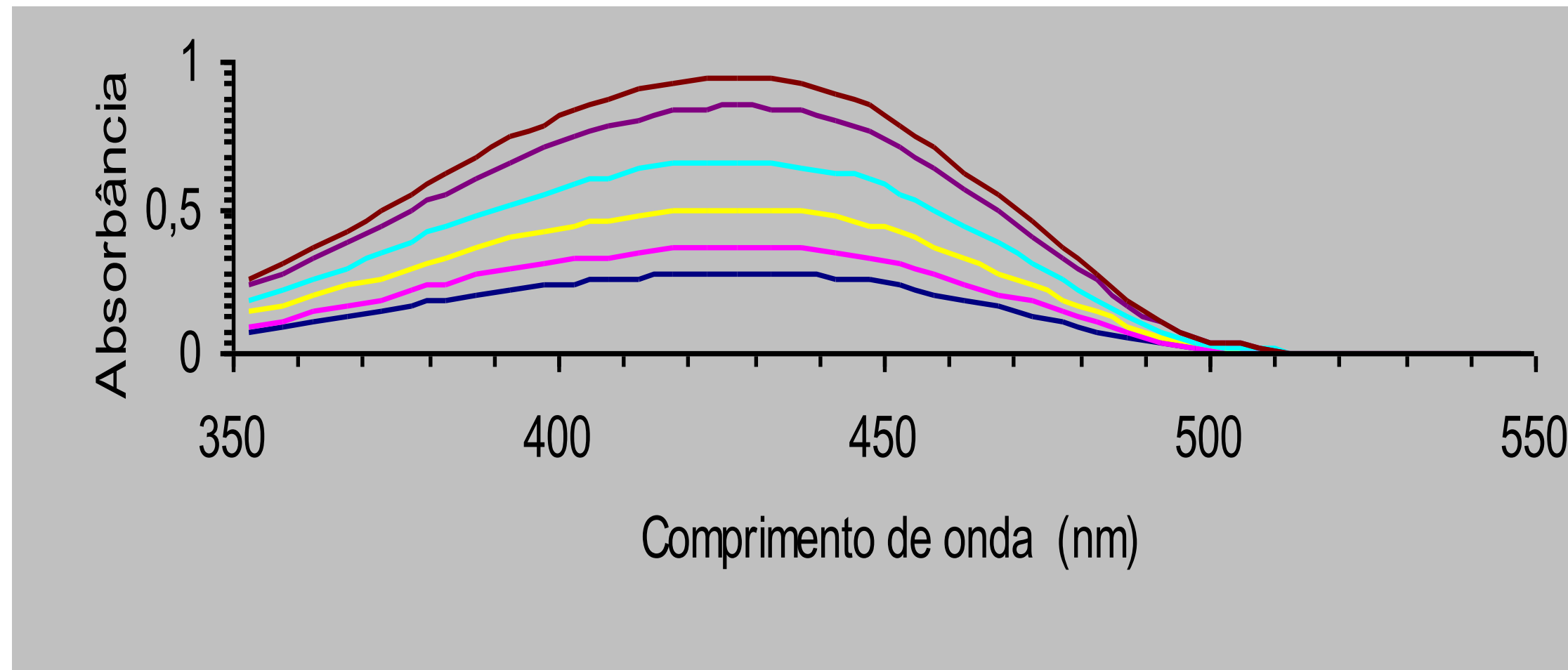


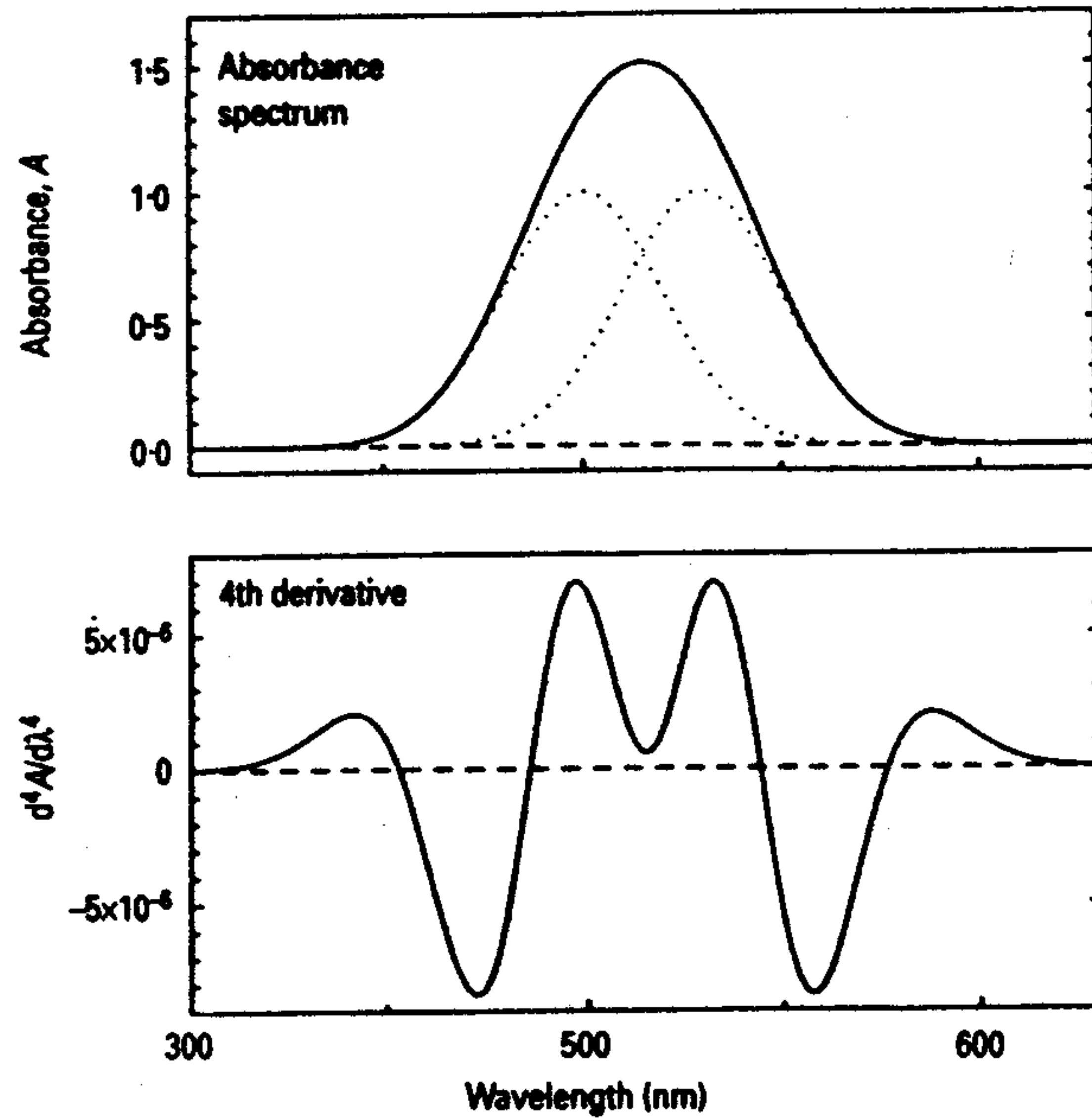
- **Manuseio das cubetas (células)**
 - Par casado de cubetas (calibração)
 - Limpeza com tecido embebido em metanol grau espectroscópico

Espectrofotometria Derivada



Localização do máximo

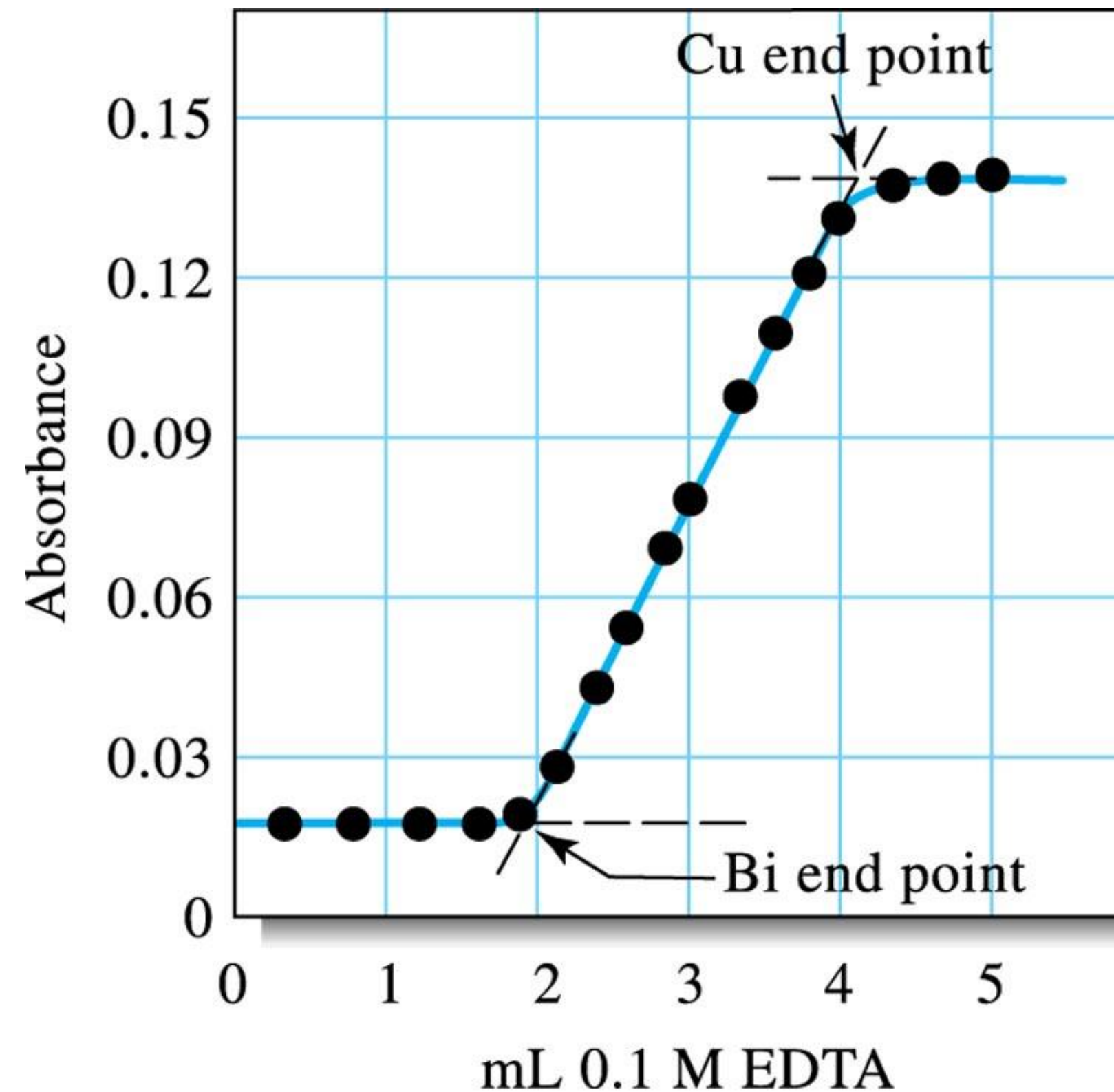




Resolução de duas bandas sobrepostas por meio da 4ª derivada.

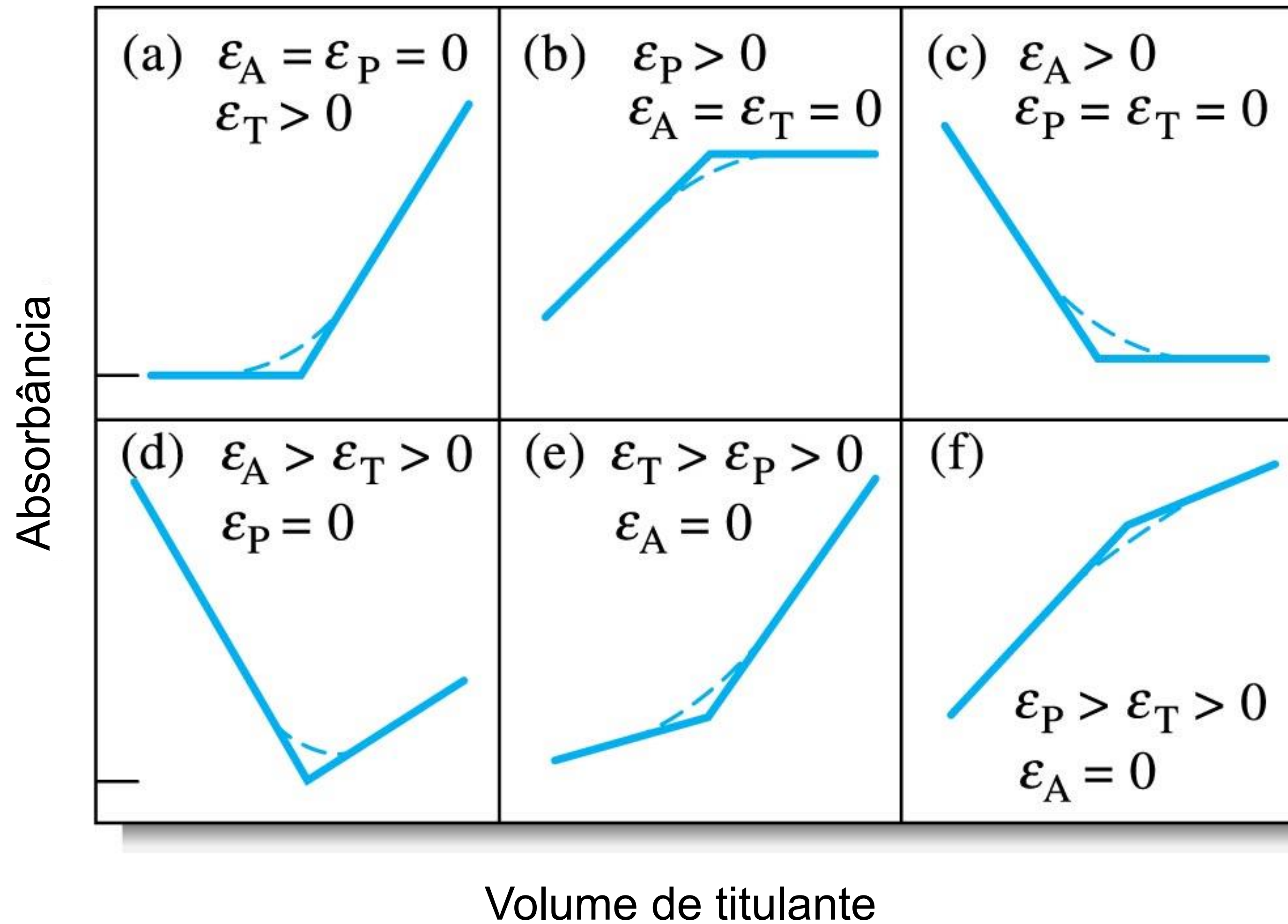
Titulações espectrofotométricas

Uma curva de titulação fotométrica é um gráfico da absorbância (corrigida para a variação do volume) em função do volume de titulante adicionado.



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Curva de titulação espectrofotométrica (a 745 nm) para 100 ml de solução 0,002 M de Bi^{3+} e Cu^{2+} utilizando 0,100M de EDTA como titulante.



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Curvas típicas para titulação espectrofotométrica. Absortividades molares do analito titulado, do produto, e do titulante são ϵ_A , ϵ_P , e ϵ_T , respectivamente.

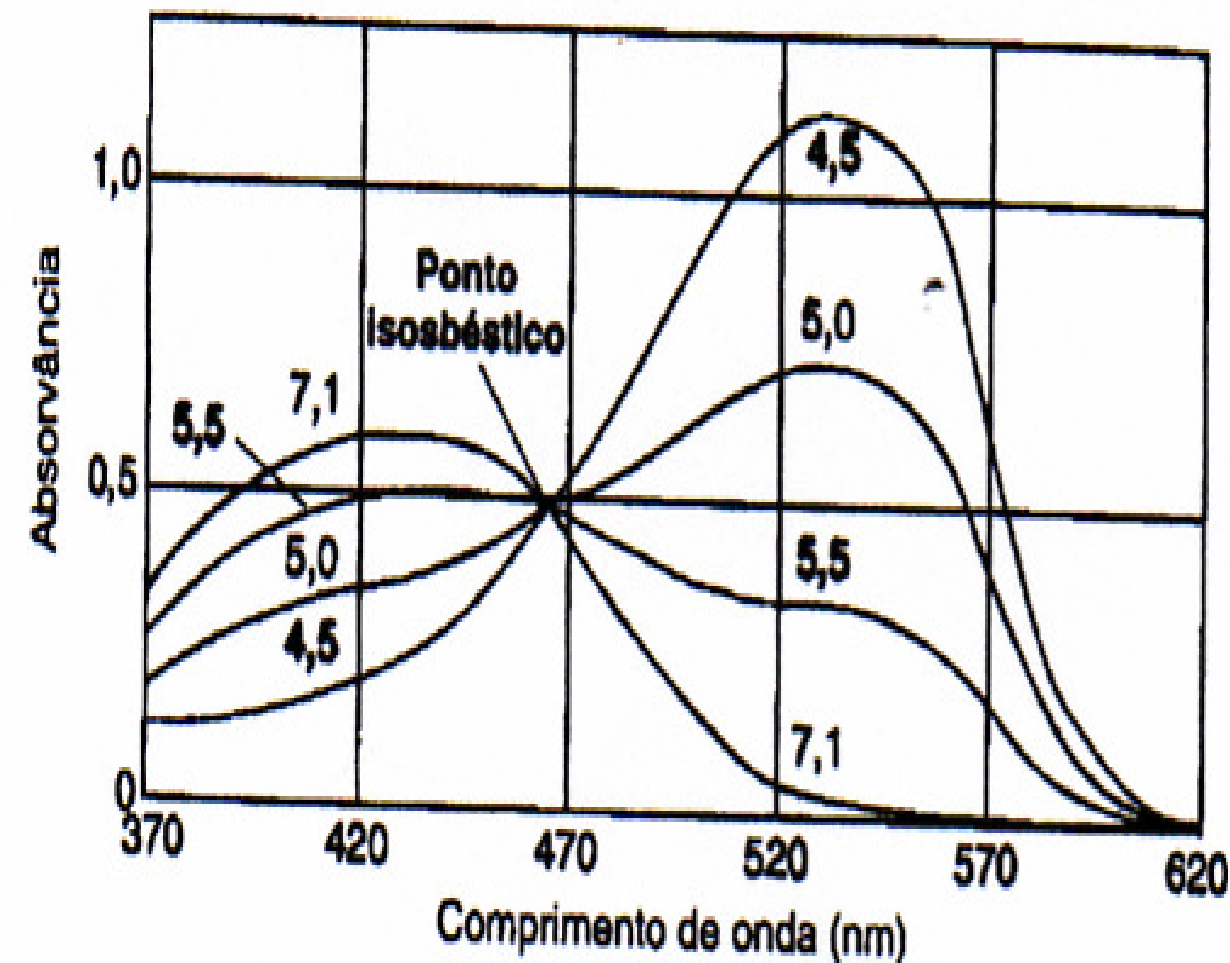
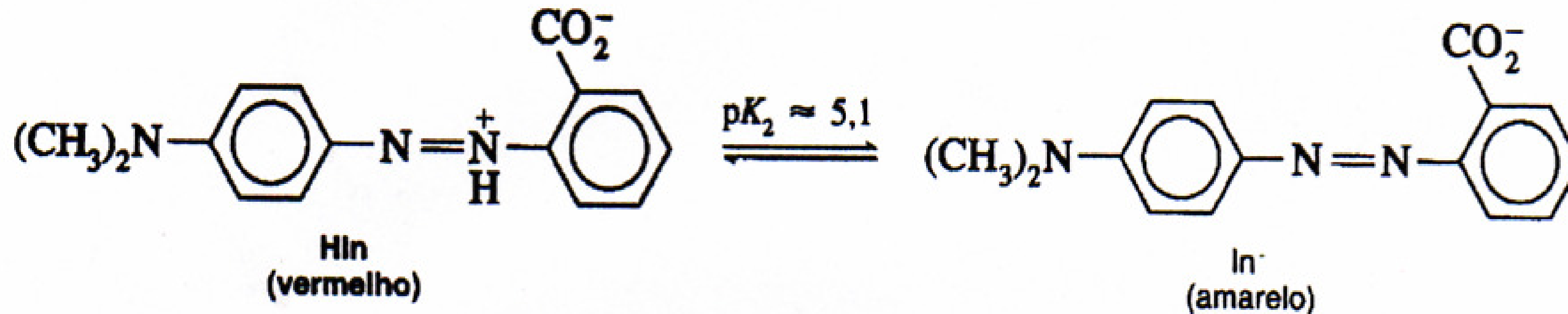
TITULAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA

- ⇒ Medidas fotométricas ou espectrofotométricas podem ser empregadas de modo vantajoso para localizar o ponto de equivalência de uma titulação quando o analito, o reagente ou o produto absorvem radiação. Alternativamente, um indicador que absorva pode propiciar a mudança de absorvância necessária para localização do ponto de equivalência.
- ⇒ Curva de titulação espectrofotométrica é um gráfico de absorvância, corrigida pela mudança de volume, em função do volume de titulante.
- ⇒ As titulações fotométricas freqüentemente fornecem resultados mais exatos que uma análise fotométrica direta, pois os dados de várias medidas são empregados para determinar o ponto final.
- ⇒ A presença de outras espécies absorventes podem não interferir, uma vez que apenas a variação na absorvância está sendo medida.
- ⇒ O ponto final fotométrico tem a vantagem sobre outros tipos usados comumente pelo fato de que os dados experimentais são medidos bem distante da região do ponto de equivalência.
- ⇒ As reações de titulação não precisam ter constantes de equilíbrio tão favoráveis como aquelas necessárias para uma titulação que depende de observações próximas ao ponto de equivalência. Pela mesma razão, soluções mais diluídas podem ser tituladas.

PONTOS ISOSBÉTICOS

⇒ Freqüentemente, uma espécie absorvente, X, é convertida em outra espécie absorvente, Y, durante o curso de uma reação química. Se os espectros X puro e Y puro cruzam um com outro em algum comprimento de onda, então todos os espectros gravados durante essa reação química cruzarão no mesmo ponto, chamado ponto isosbético.

⇒ A observação do ponto isosbéticos durante uma reação química é uma boa prova de que apenas as duas espécies principais estão presentes.



$$A^{465} = (\epsilon_{\text{HIn}})^{465} b [\text{HIn}] + (\epsilon_{\text{In}^-})^{465} b [\text{In}^-]$$

$$(\epsilon_{\text{HIn}})^{465} = (\epsilon_{\text{In}^-})^{465} = \epsilon^{465}$$

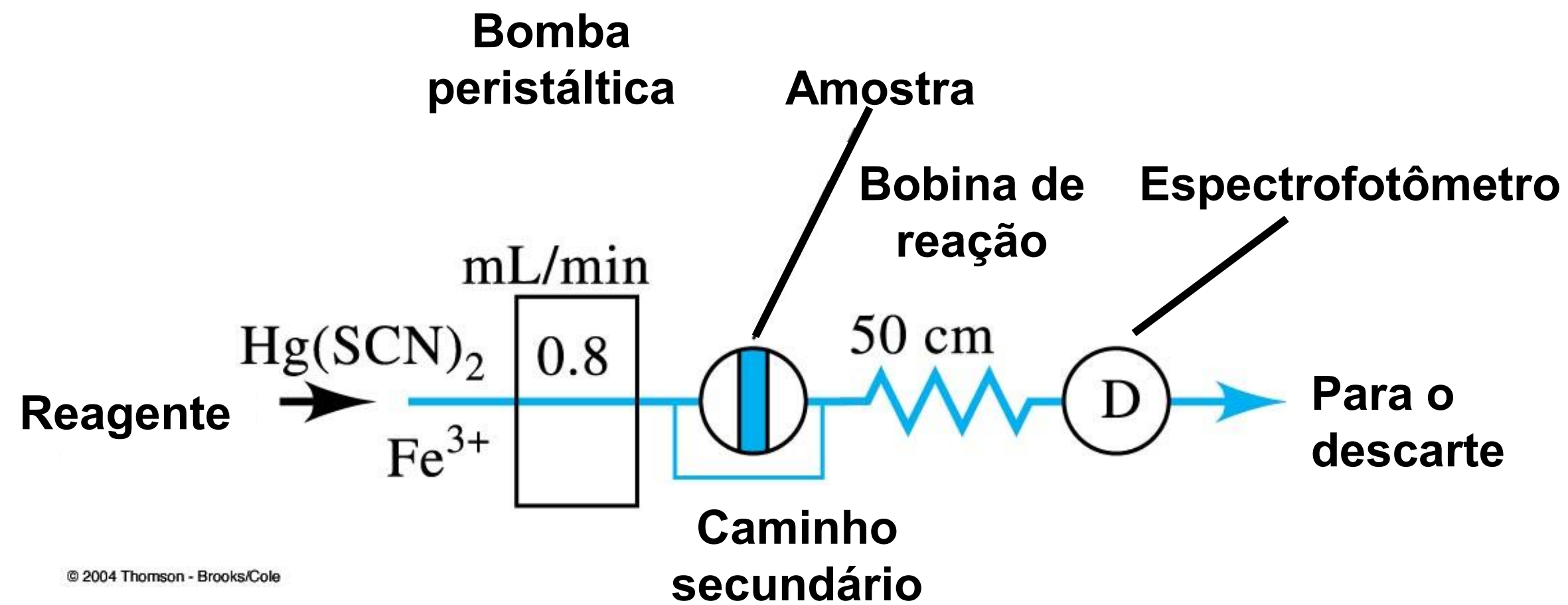
$$A^{465} = \epsilon^{465} b ([\text{HIn}] + [\text{In}^-])$$

Um ponto isosbético aparece quando:

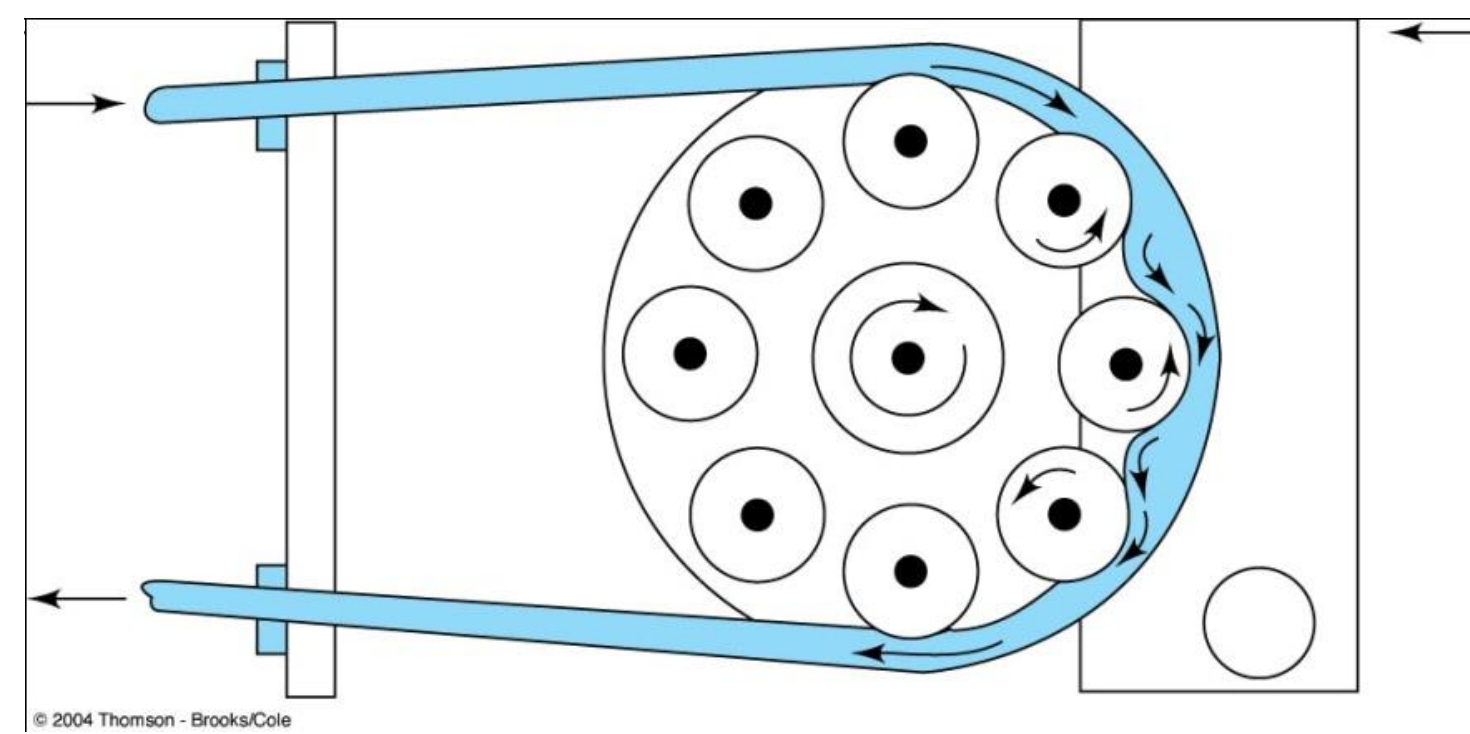
$$\epsilon_x = \epsilon_y \text{ e } [x] + [y] \text{ é constante} \quad 51$$

Análise por Injeção em Fluxo – (Flow Injection Analysis - FIA)

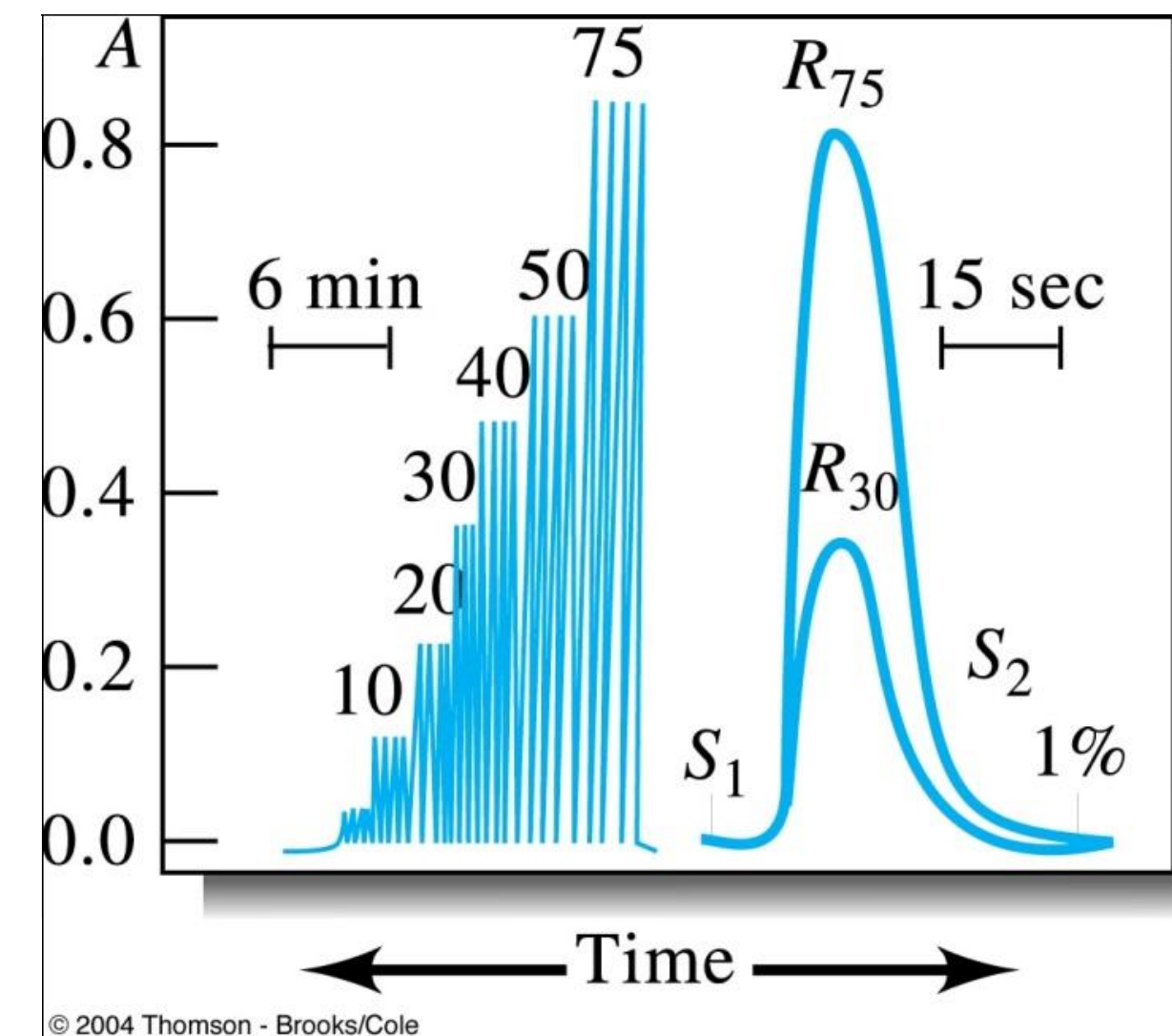
Na FIA a amostra é injetada no fluxo de líquido ao qual vários reagentes podem ser adicionados. Após um tempo adequado, a amostra já reagida chega à cela de detecção do espectrofotômetro.



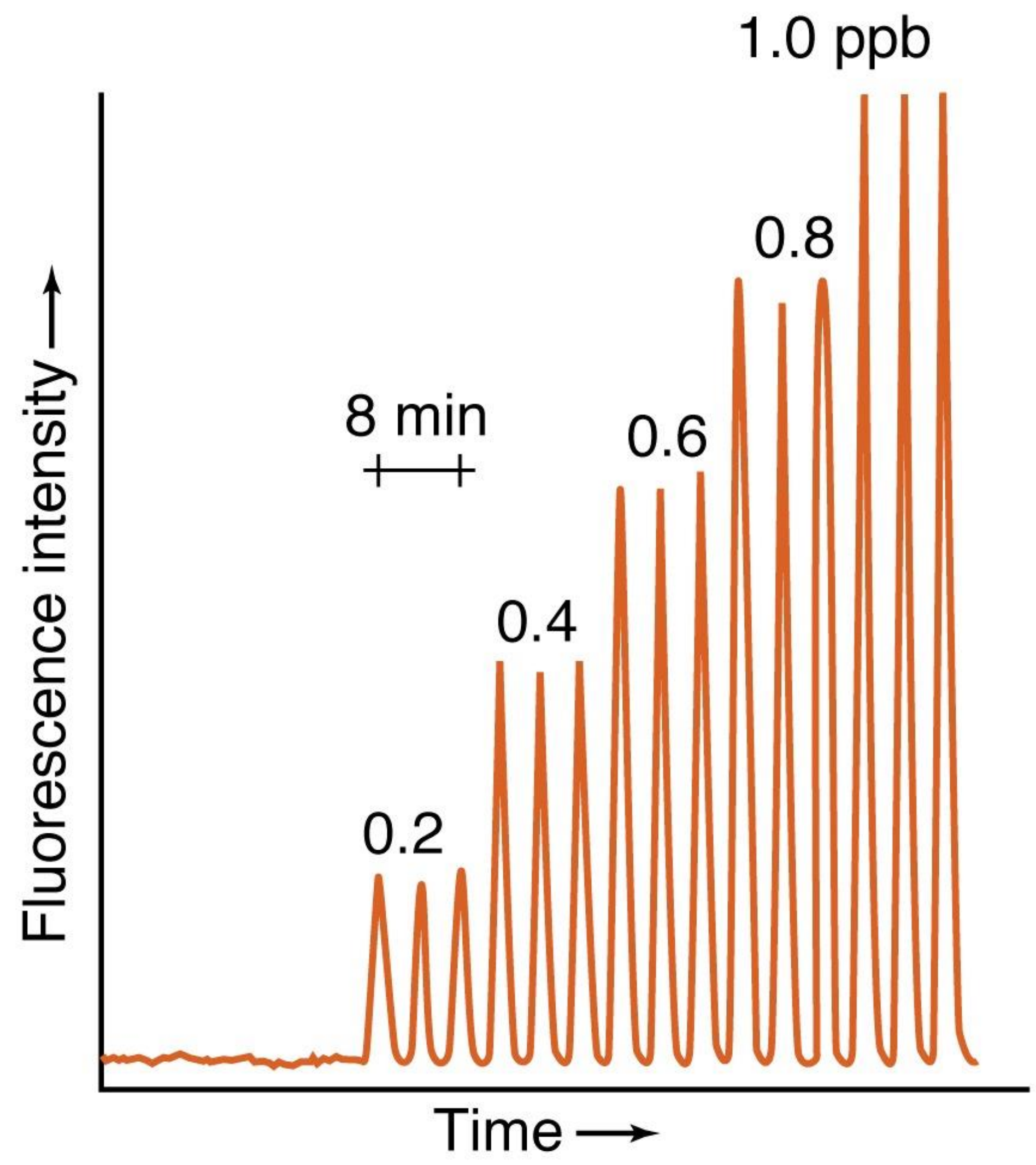
© 2004 Thomson - Brooks/Cole



© 2004 Thomson - Brooks/Cole



© 2004 Thomson - Brooks/Cole



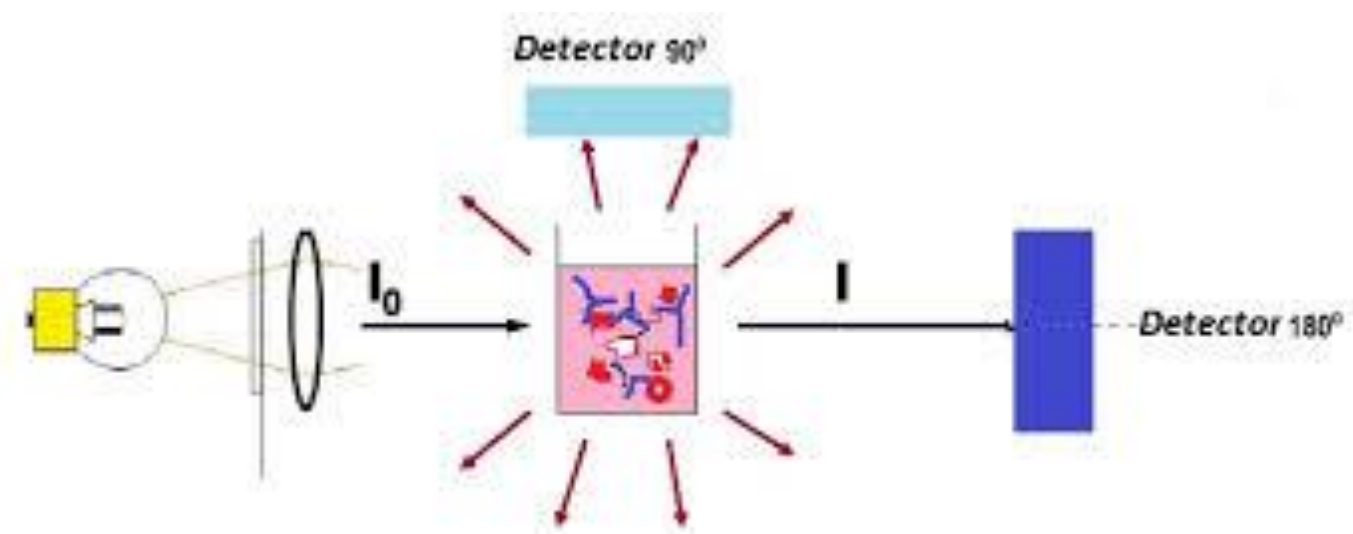
Fiograma para diferentes níveis de H₂O₂ em ar.

Turbidimetria e Nefelometria

- Métodos analíticos inversos mas que são utilizados juntos;
- Dependendo da concentração e da turbidez da amostra, parte da luz que é incidida é dispersada.

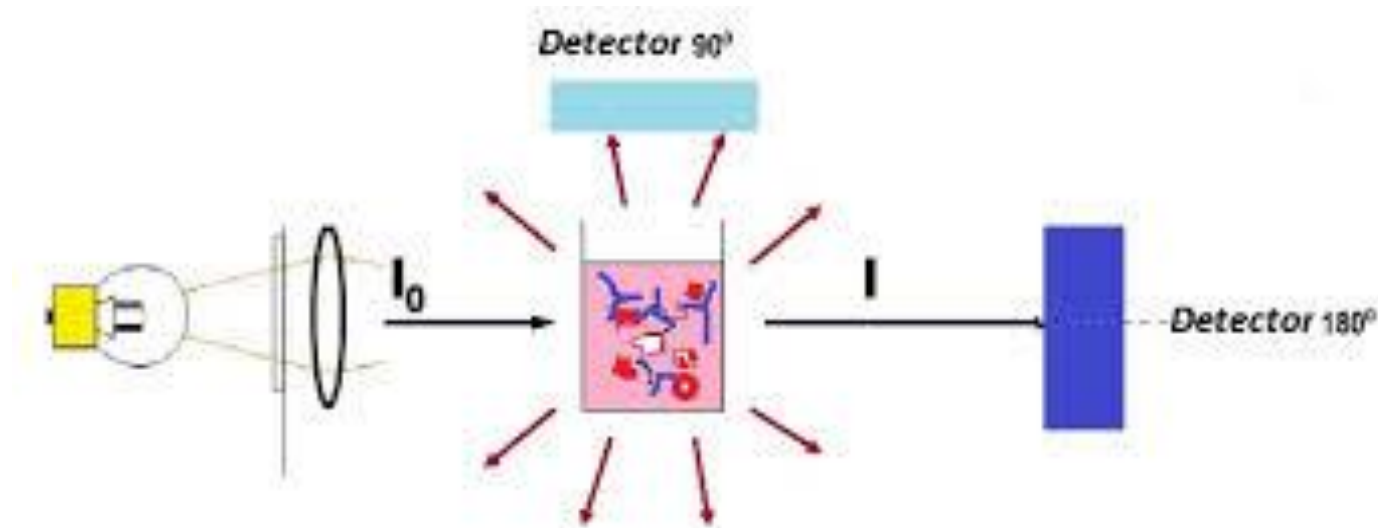
Turbidimetria

- Mede a luz **não** dispersada (a luz que passou) determinando a turbidez da amostra.
- É um método bem sensível e pode medir a absorbância.



Nefelometria

- É um método bem mais sensível pois mede a luz dispersada (inverso da turbidimetria) em ângulos entre 45 a 90 graus.
- Pode medir reações de precipitação.



Aplicações

- Analises ambientais: estudo da água (5,0 ntu) estudo do solo, erosão, da poluição...
- Analises químicas: amostras gasosas, liquidas, solidas.
- Dosagem de proteínas em fluidos, LCR, proteína C reativa, imunoglobulinas, apolipoproteínas...
- Reações de aglutinação

NTU

- NTU (unidade de turbidez nefelométrica) é a unidade de medição, que caracteriza a turbidez.



NTU

- Quanto mais turva for a amostra, maior será seu NTU.
- A água deve-se chegar a níveis de até 5,0 NTUs, de acordo com as normas internacionais de controle da água potável.

EX: NTU < 5 : A água é clara

5 < NTU < 30 : Água ligeiramente turva

NTU > 30 : Água Turva