

Treinamento *on-line* em espectrofotometria

Maciel Santos Luz

*Palestra on line ministrada internamente para técnicos do
Unidade de Negócios em Materiais Avançados*

A série "Comunicação Técnica" compreende trabalhos elaborados por técnicos do IPT, apresentados em eventos, publicados em revistas especializadas ou quando seu conteúdo apresentar relevância pública.



Seu desafio é nosso

Treinamento *on-line* em Espectrofotometria

Laboratório de Processos Metalúrgicos – LPM

Materiais Avançados

Maciel Santos Luz

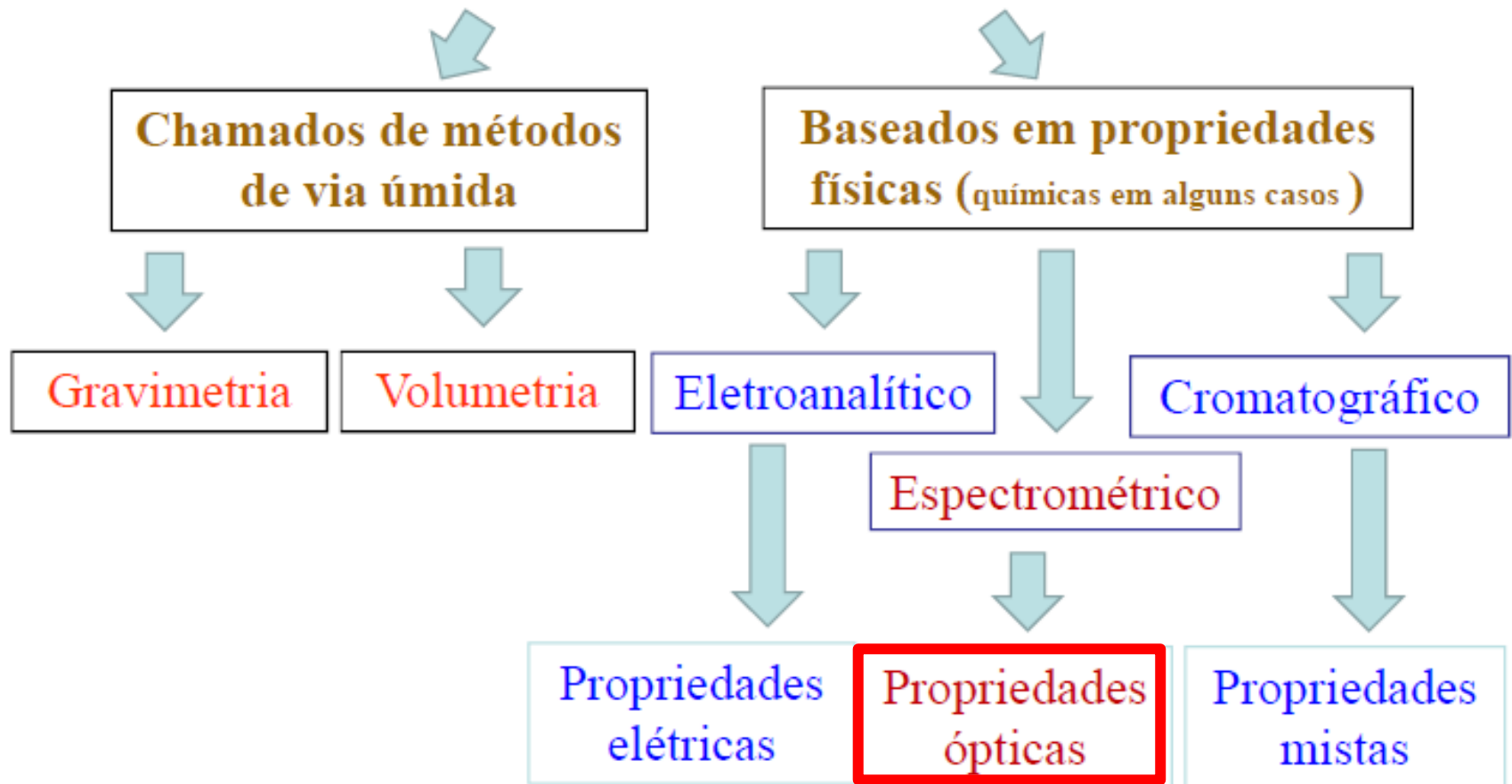
22/02/2020

Demanda

Auditoria Interna do Sistema de Gestão da Qualidade do LCPP, ciclo 2020.

- IPT18081 – Determinação do teor de cromo VI

CLASSIFICAÇÃO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS (CLÁSSICOS E INSTRUMENTAIS)



Espectroscopia

- Em geral, a espectroscopia é a ciência do estudo da interação entre matéria e energia irradiada.
- Mais tecnicamente, a espectroscopia analisa a interação entre qualquer matéria e radiação.
- Processo de medida que, basicamente, emprega as propriedades dos átomos e moléculas de absorver e/ou emitir energia eletromagnética em uma das regiões do espectro eletromagnético.

Espectroscopia

Os métodos espectroscópicos de análise consistem na medida da quantidade de radiação **emitida** ou **absorvida** por moléculas ou átomos. Tais métodos são classificados nas diferentes regiões do espectro eletromagnético — como **raios gama**, **raios X**, **ultra-violeta**, **visível**, **infravermelho** e **radiofrequência** —, que fornecem diferentes informações sobre a matéria em estudo ou as aplicações de interesse.

Em geral, a **espectroscopia** é a ciência do estudo da interação entre matéria e energia irradiada, enquanto a **espectrometria** é o método usado para adquirir uma medida quantitativa do espectro.

A espectroscopia (scopy significa *observação*) não gera nenhum resultado. É a abordagem teórica da ciência.

A espectrometria (*medição de meios de medição*) é a aplicação prática em que os resultados são gerados. É a medida da intensidade da radiação usando um dispositivo eletrônico.

Frequentemente, esses termos são usados de forma intercambiável, mas toda espectrometria não é espectroscopia (por exemplo, espectrometria de massa)

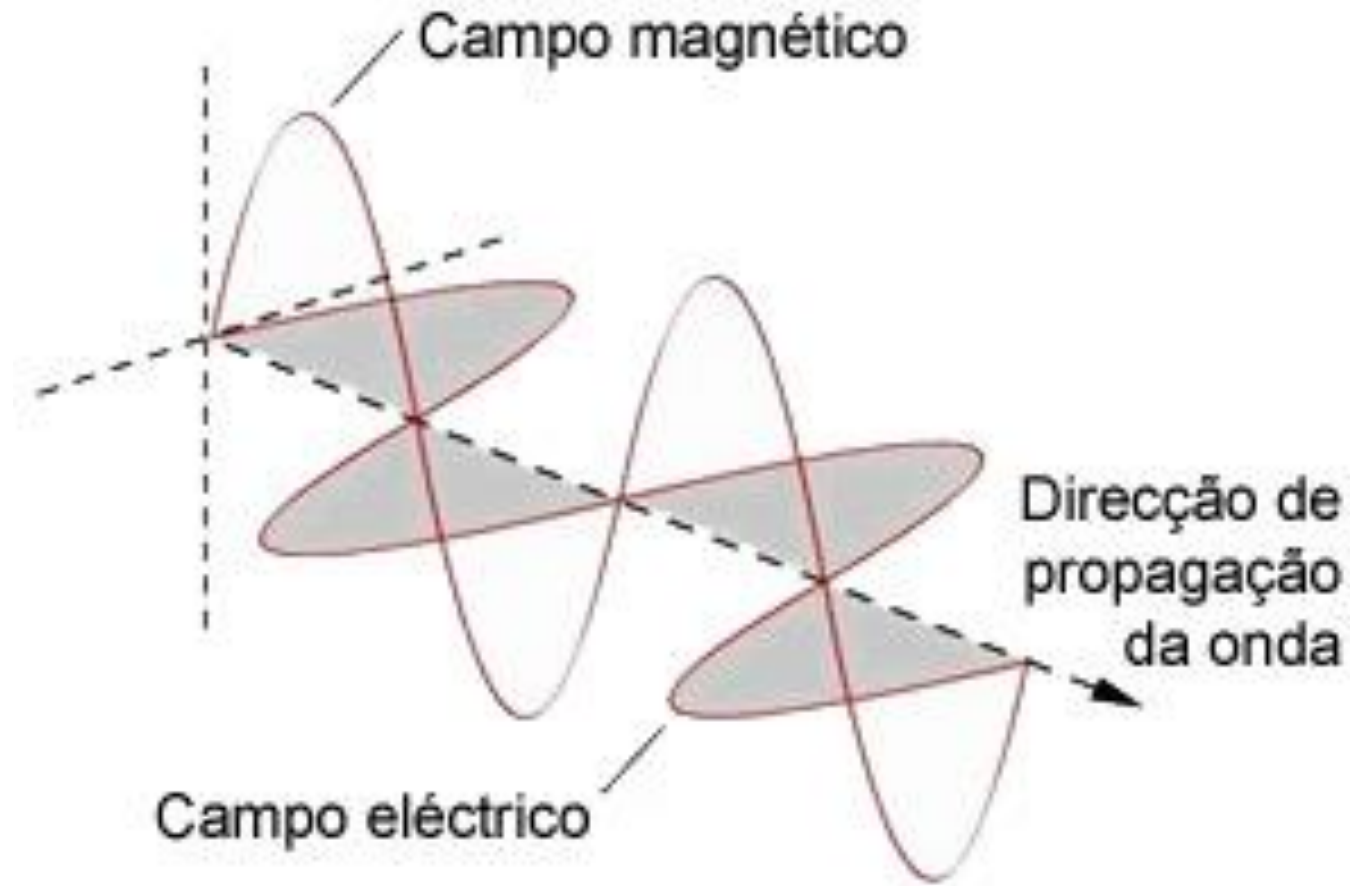
Radiação eletromagnética

A luz, em determinados momentos, se comporta como uma onda; e, em outros momentos, como partícula. Dizemos que ela apresenta, então, uma **dualidade onda-partícula**.

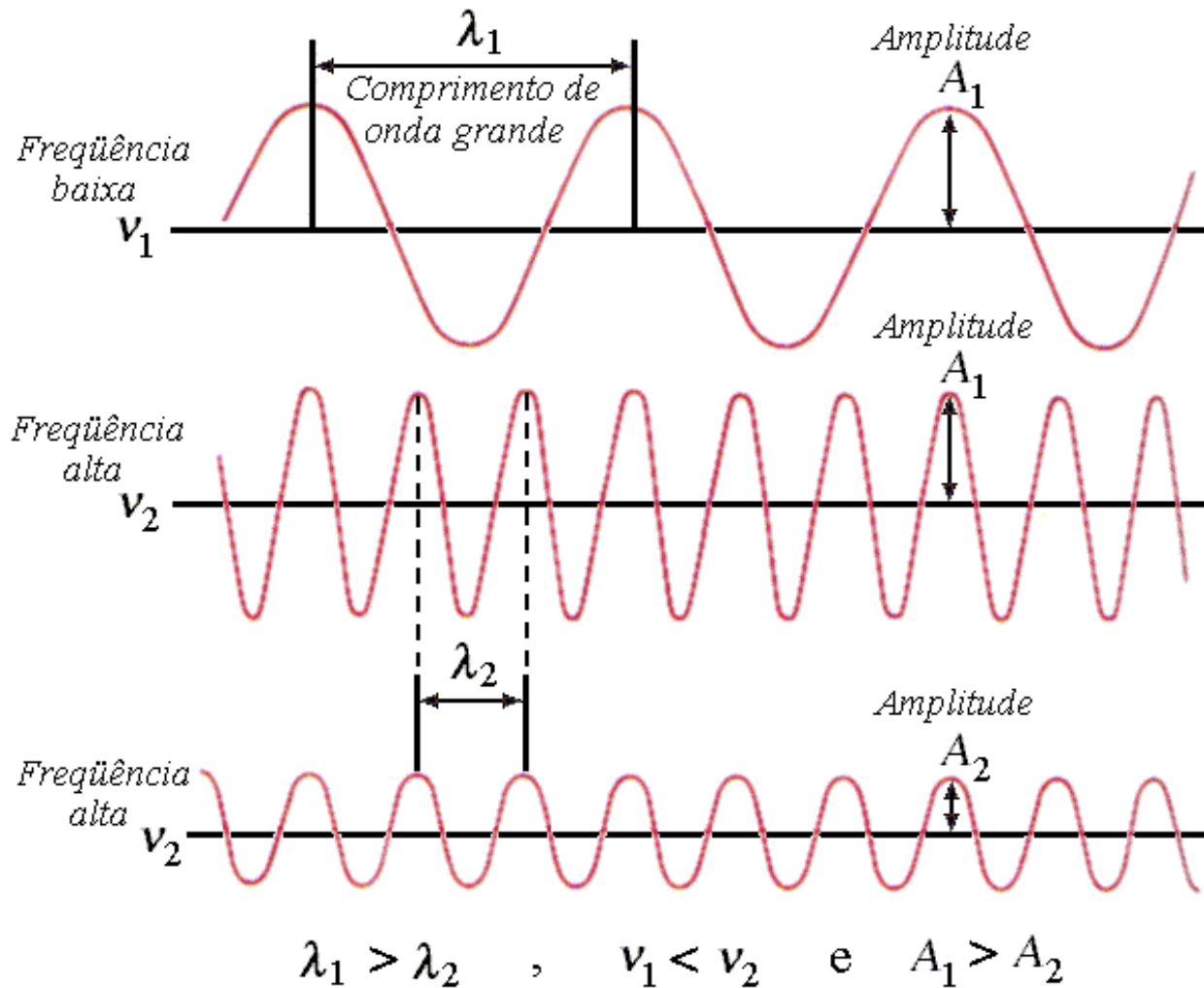
Assim, podemos afirmar que quando a luz se propaga no espaço, ela se comporta como onda, mas quando a luz incide sobre uma superfície, passa a se comportar como partícula.

FÓTONS

Radiação eletromagnética



Radiação eletromagnética



Características de uma Onda

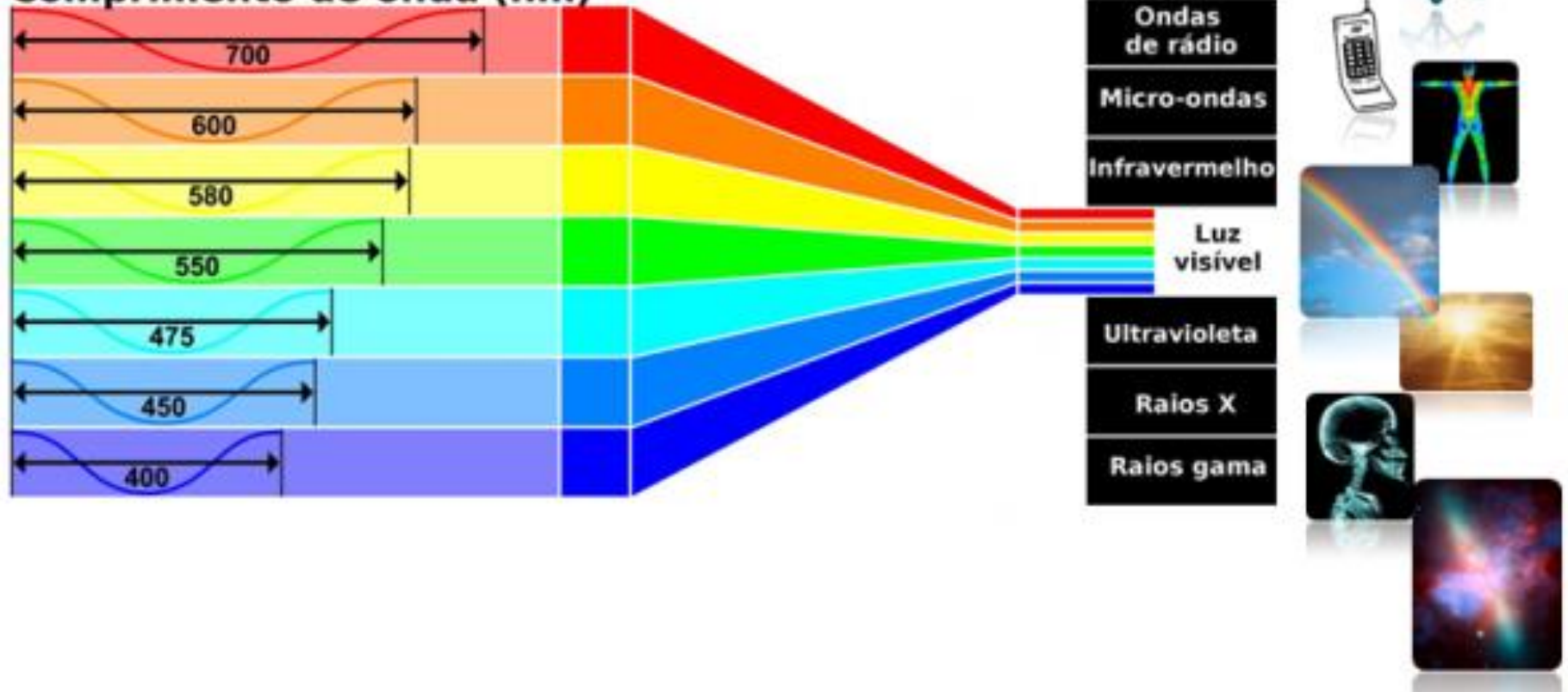
- **Frequência (ν)(Ni)**: corresponde ao número de ciclos de onda (cristas ou vales sucessivos) que passam em um dado ponto por unidade de tempo. Unidade: hertz, s^{-1} (1 Hz = 1 ciclo por segundo).
- **Comprimento de onda (λ)(Lambda)**: é a distância entre cristas sucessivas (ou vales sucessivos). Pode ser dado em metros (m), em nanômetros (nm) ou em qualquer unidade de comprimento que seja conveniente.
- **Amplitude (A)**: corresponde a altura de uma crista (ou a profundidade de um vale).

Espectro eletromagnético



Espectro eletromagnético

Comprimento de onda (nm)



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

$$E = h\nu = \frac{h.c}{\lambda}$$

h : constante de Planck = $6,626 \times 10^{-34}$ J.s

c : velocidade da luz no vácuo = $3,00 \times 10^8$ m/s

Espectro eletromagnético

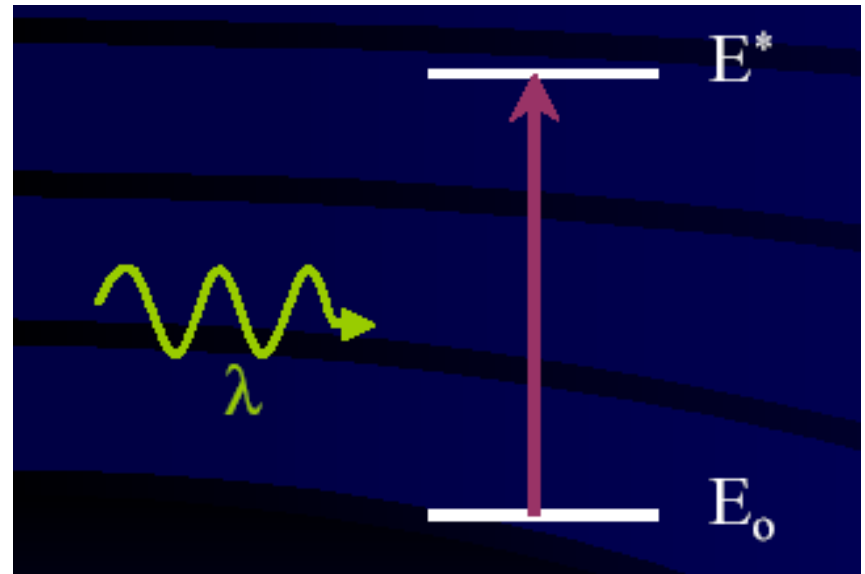
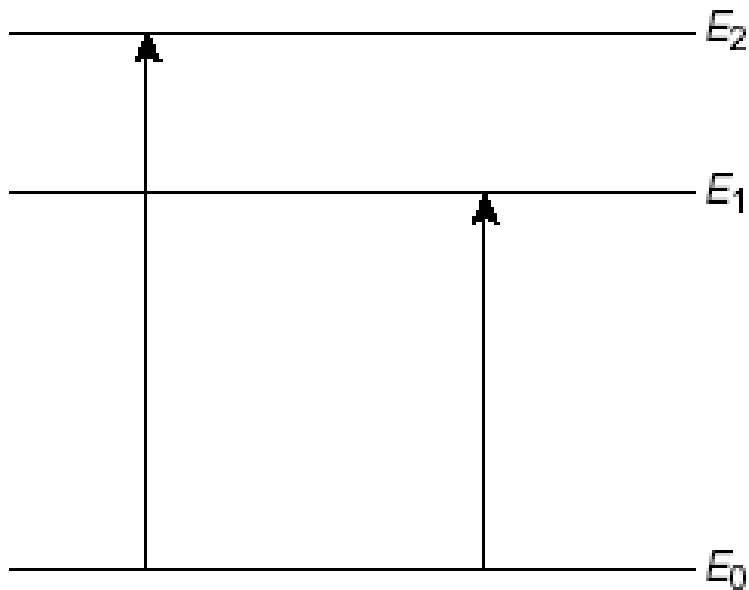
Frequência	λ (m)	Energia	Nome	Uso
10^{20} a 10^{21}	10^{-12}	Nuclear	Raios-g	Medicina
10^{17} a 10^{19}	10^{-10}	Eletrônica	Raios-X	Diagnóstico por imagens
10^{15} a 10^{16}	10^{-7}	Eletrônica	Ultra-Violeta	Higienização
10^{13} a 10^{14}	10^{-6}	Eletrônica	Visível	Iluminação
10^{12} a 10^{13}	10^{-4}	Vibracional	Infravermelho	Aquecimento
10^9 a 10^{11}	10^{-2}	Rotacional	Microondas	Cozimento
10^5 a 10^8	10^2	Eletrônica	Rádio Frequência	Comunicação

Interação



Região	Transições
raios γ	nucleares
raios X	eletrônicas
ultravioleta	eletrônicas
visível	
infravermelho	vibracionais e rotacionais
microondas	rotacionais
ondas de rádio	spin

Absorção

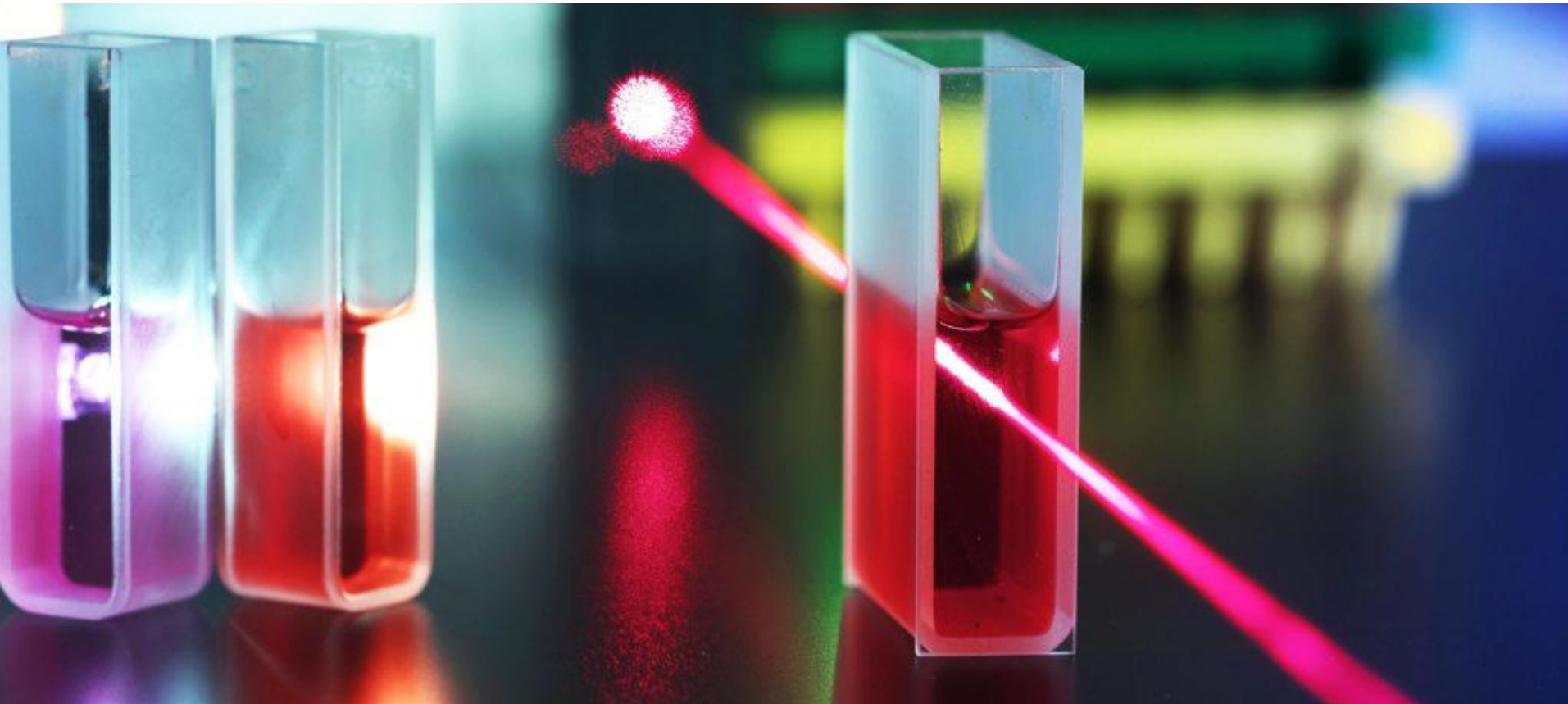


$$E = \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

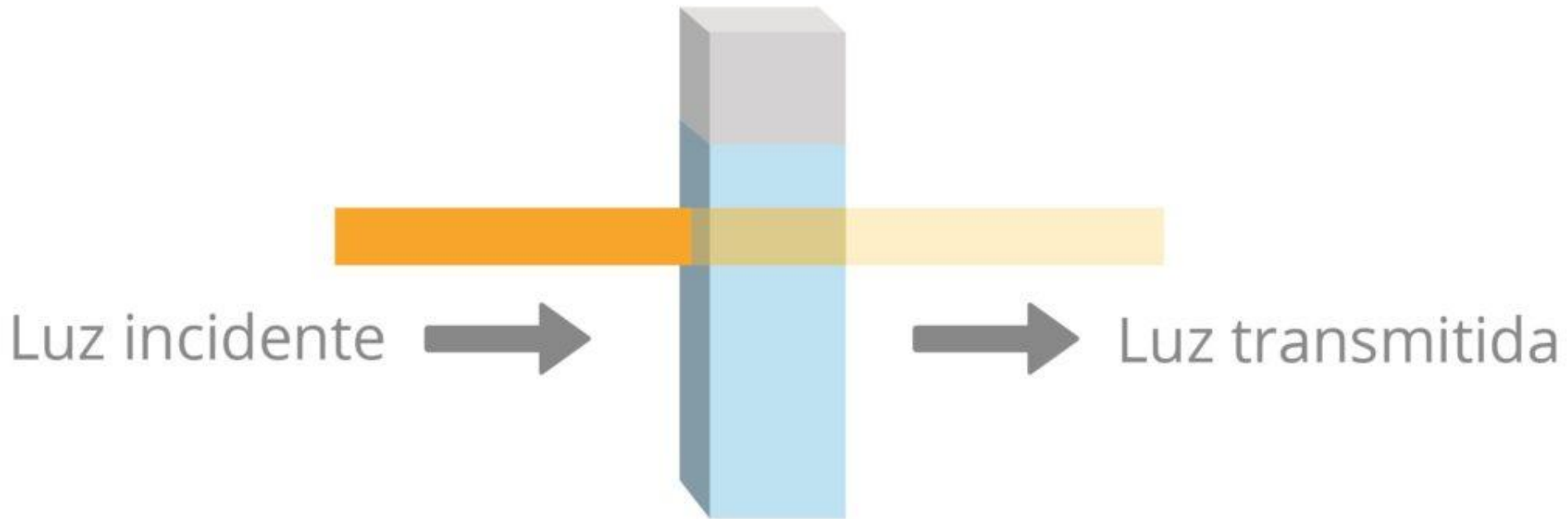
h : constante de Planck = $6,626 \times 10^{-34}$ J.s

c : velocidade da luz no vácuo = $3,00 \times 10^8$ m/s

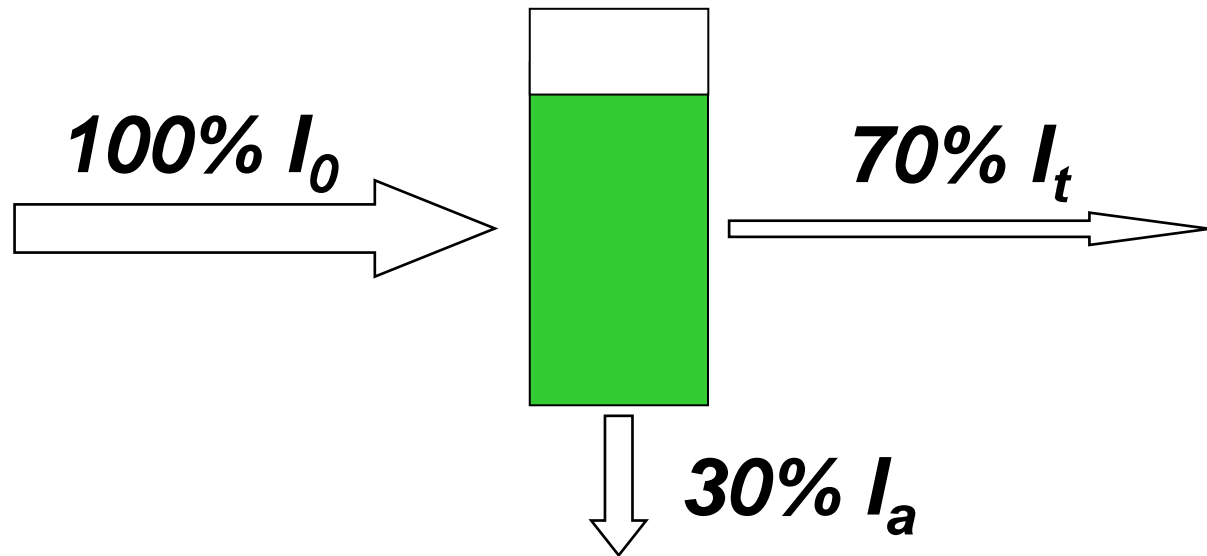
Absorção



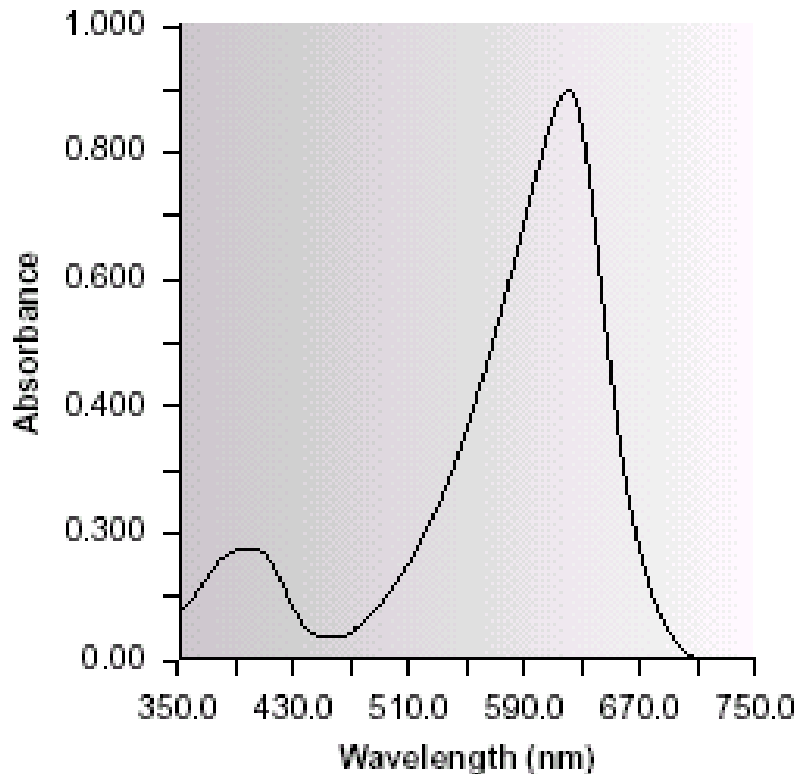
Absorção



Absorção



Absorção



ABSORÇÃO: é a atenuação da luz (fótons) quando esta passa por uma amostra.

ESPECTRO DE ABSORÇÃO: gráfico da absorção da radiação eletromagnética *versus* comprimento de onda.

Absorção

- Dependente da estrutura eletrônica da substância química;
- Envolve a transição eletrônica de elétrons presentes em orbitais tipo σ , π , e elétrons não-ligantes do estado fundamental para orbitais anti-ligantes de maior energia (estado excitado).

Absorção

- **Cromóforo:** é o grupamento insaturado responsável pela absorção eletrônica.



TODOS contêm elétrons π .

Absorção

- **Auxocromo:** é o grupamento saturado que, quando ligado ao cromóforo, altera o comprimento de onda e a intensidade do máximo de absorção.

-OH

-NH₂

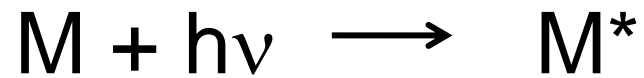
-Cl

TODOS contêm elétrons não ligantes.

Absorção

- Energia para transição $\sigma \rightarrow \sigma^*$ é muito alta, portanto compostos nos quais todos os elétrons da camada de valência estão envolvidos na formação de ligações simples **NÃO** apresentam absorção na região do visível e ultravioleta.

Absorção

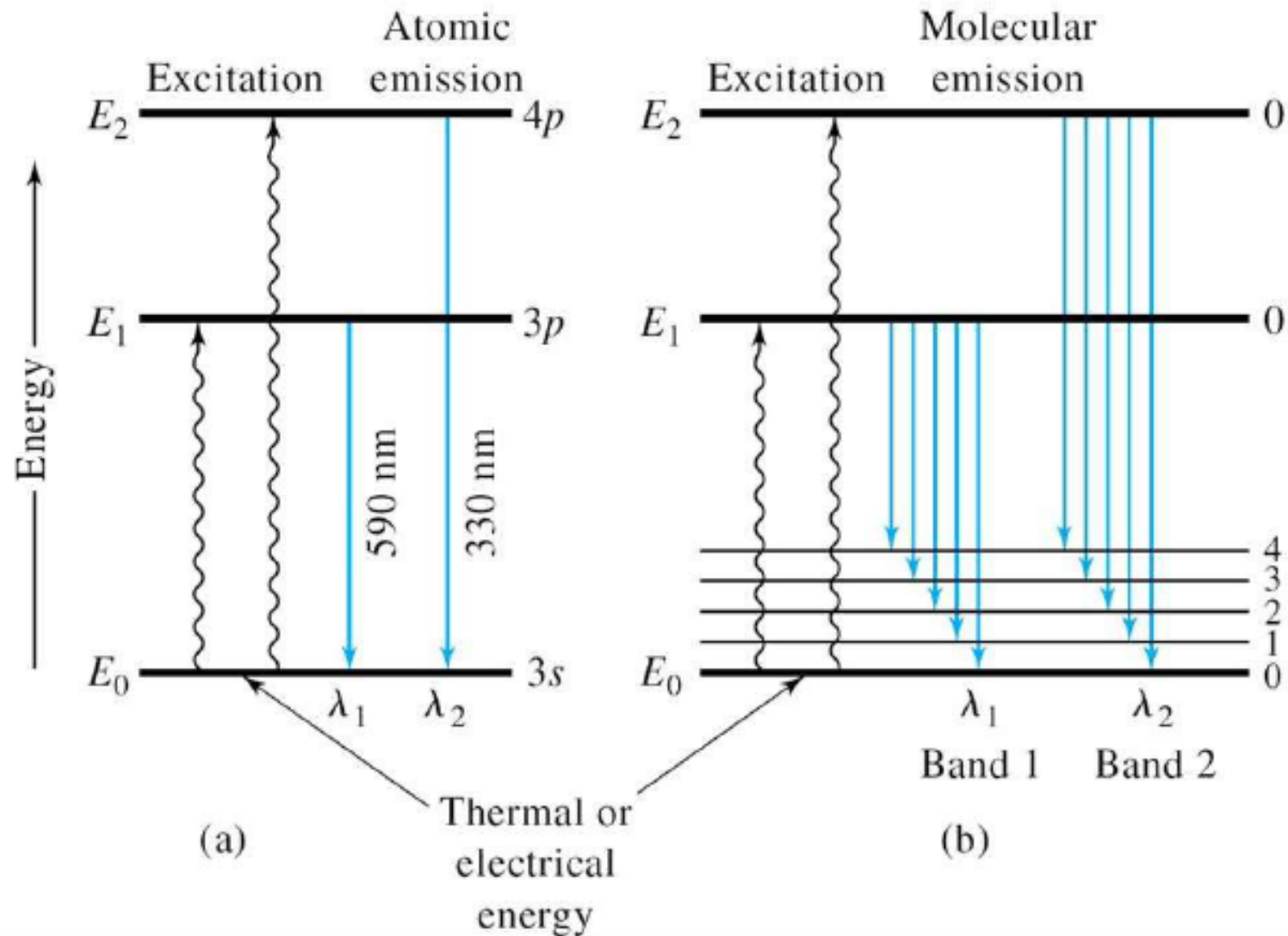


Excitação



Relaxação

Absorção/Emissão



Absorção

➤ Espectros de linhas:

Produzido por partículas atômicas independentes;

O comprimento de onda da radiação emitida depende da diferença de energia entre os níveis energéticos envolvidos.

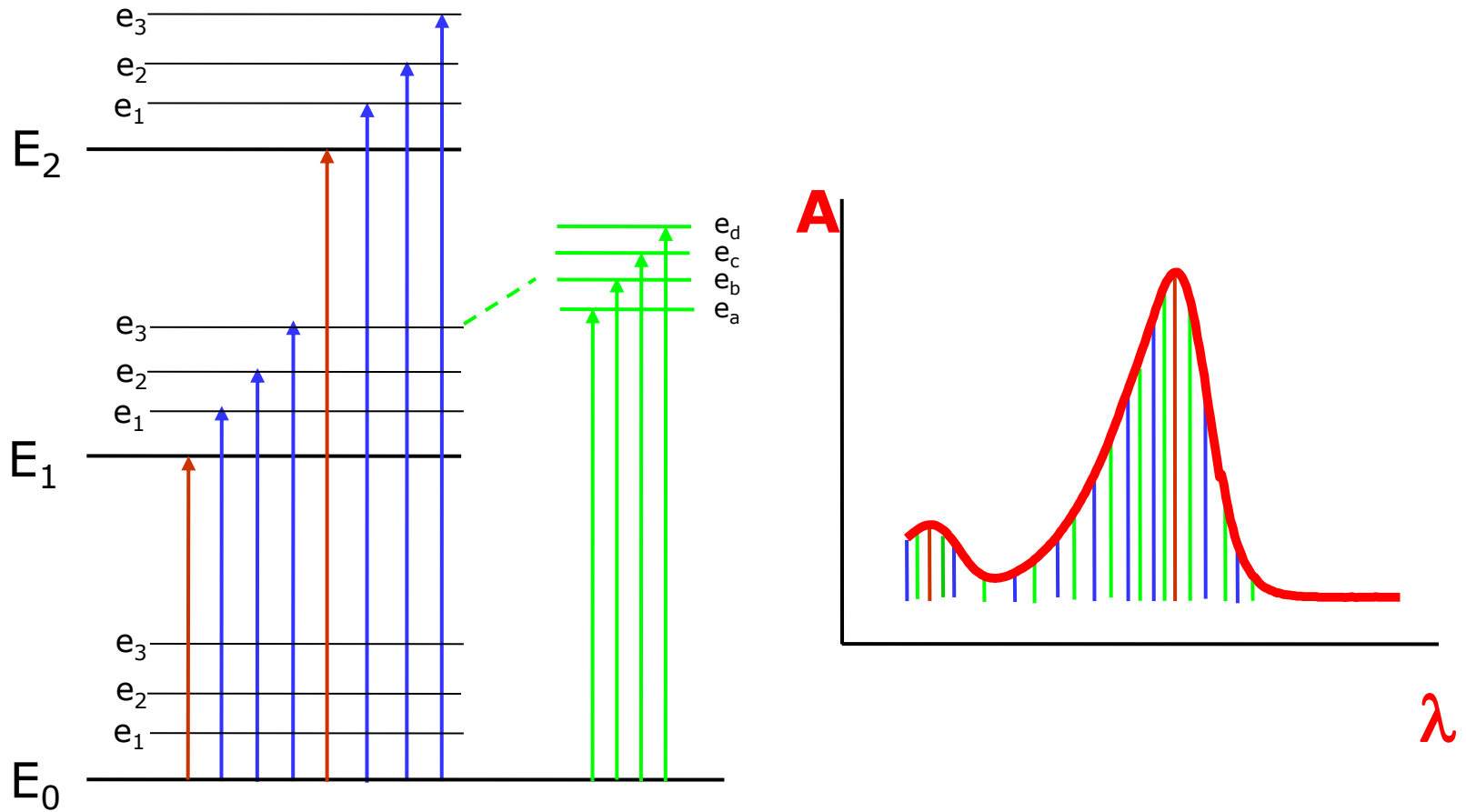
- Elétrons externos → UV/visível
- Elétrons internos → raios X

➤ Espectros de bandas:

Normalmente obtidos na presença de moléculas e partículas e consistem de uma série de transições muito próximas que não conseguem ser resolvidas pelo instrumento para se obter o espectro;

São devido a presença de vários níveis vibracionais sobrepostos ao nível fundamental eletrônico.

Absorção



Equipamento



Equipamento

- **Boa sensibilidade**
- **Baixo custo de análise**
- **Fácil operação**
- **Equipamentos robustos**

Diagrama de blocos

Fonte

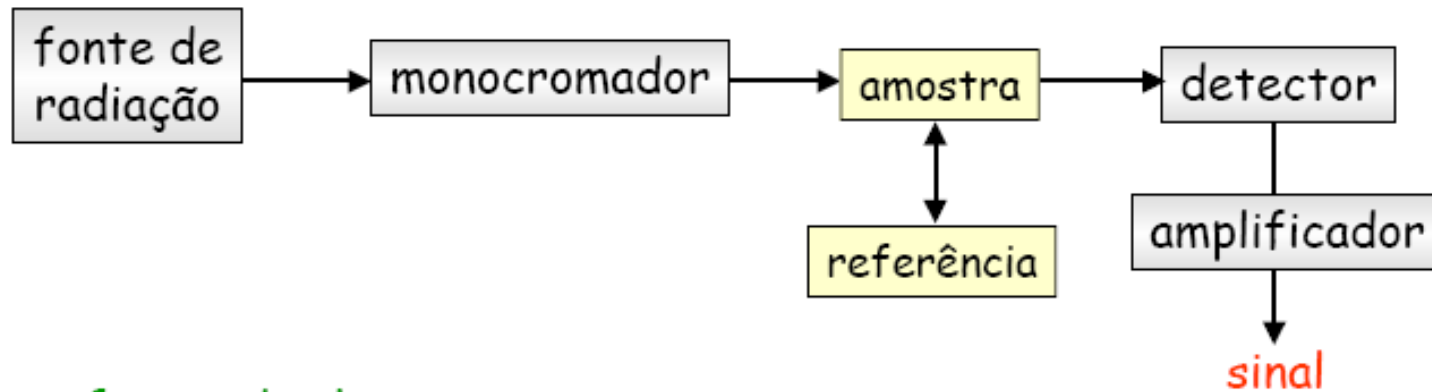
Monocromador

Cela

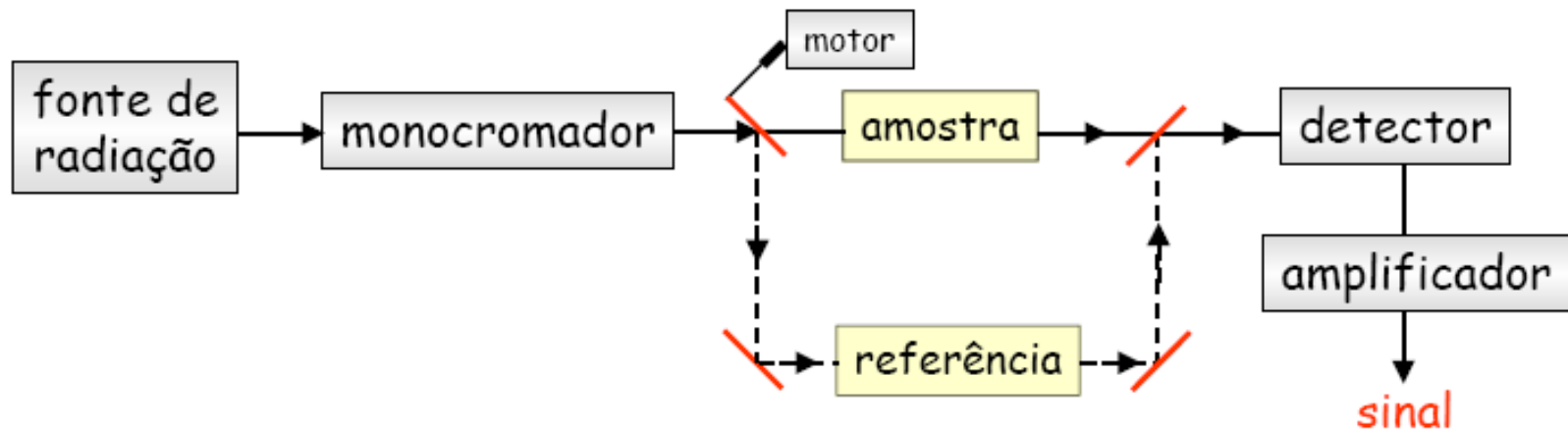
Detector

Equipamento

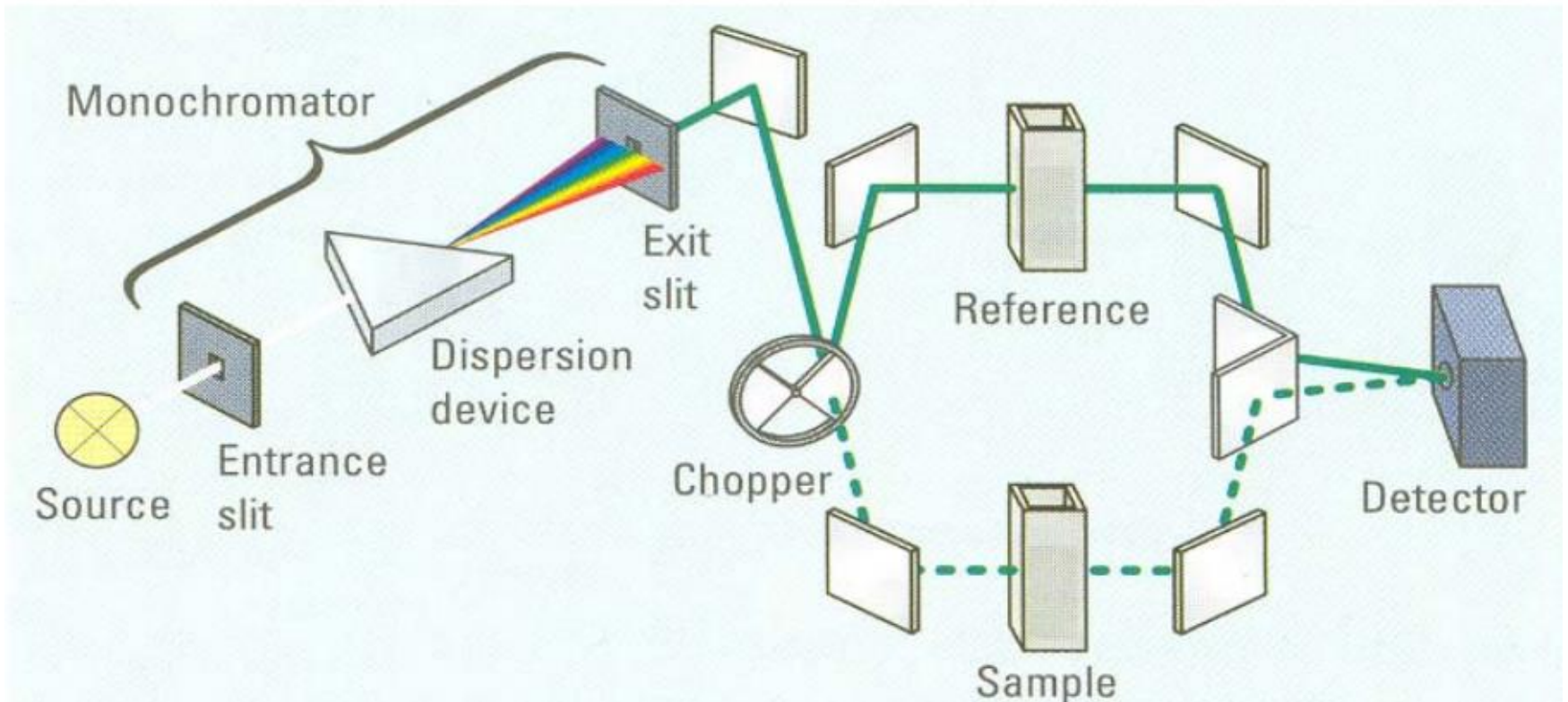
⇒ feixe simples



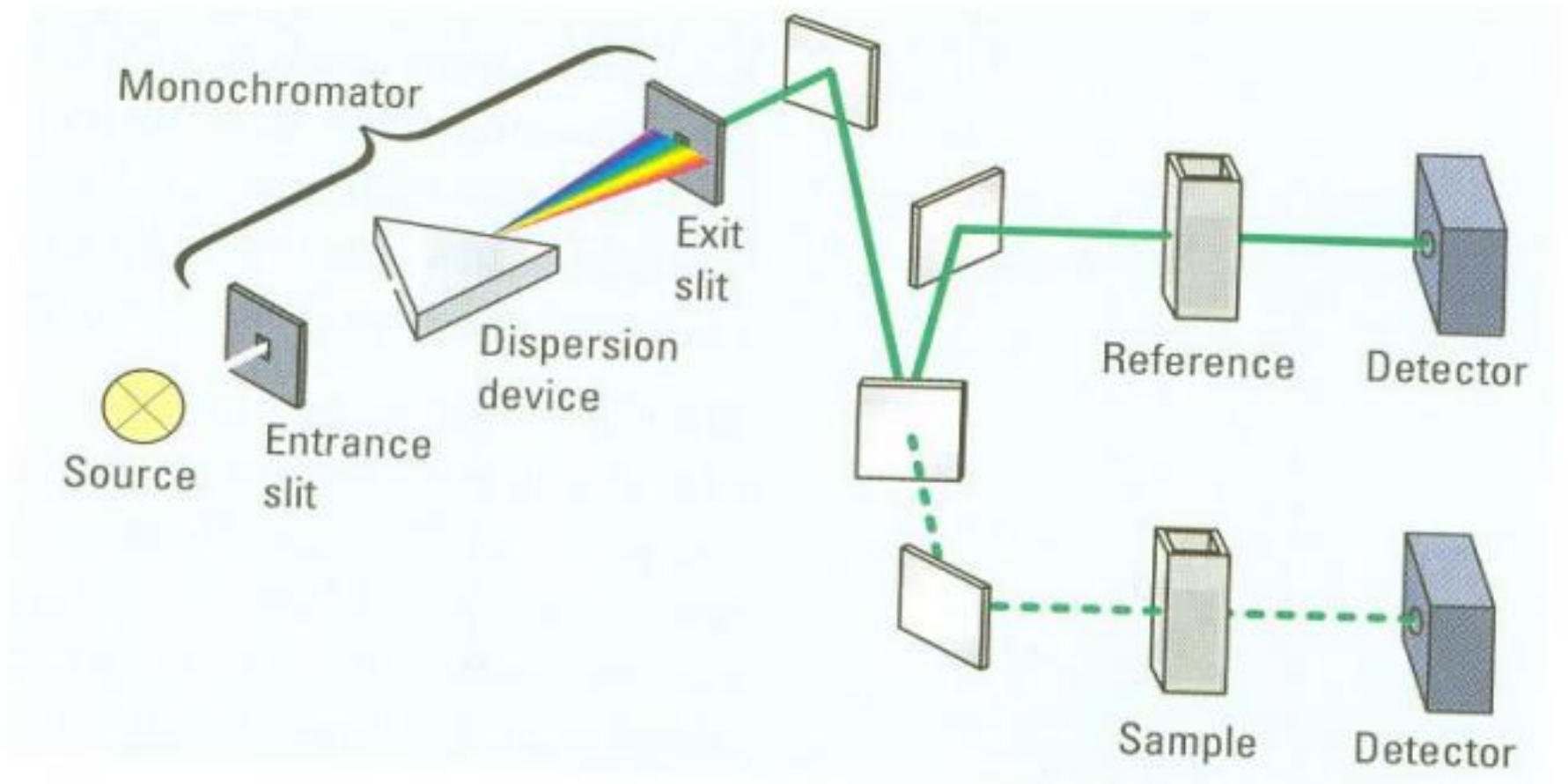
⇒ feixe duplo



Equipamento – duplo feixe



Equipamento – duplo feixe



Equipamento

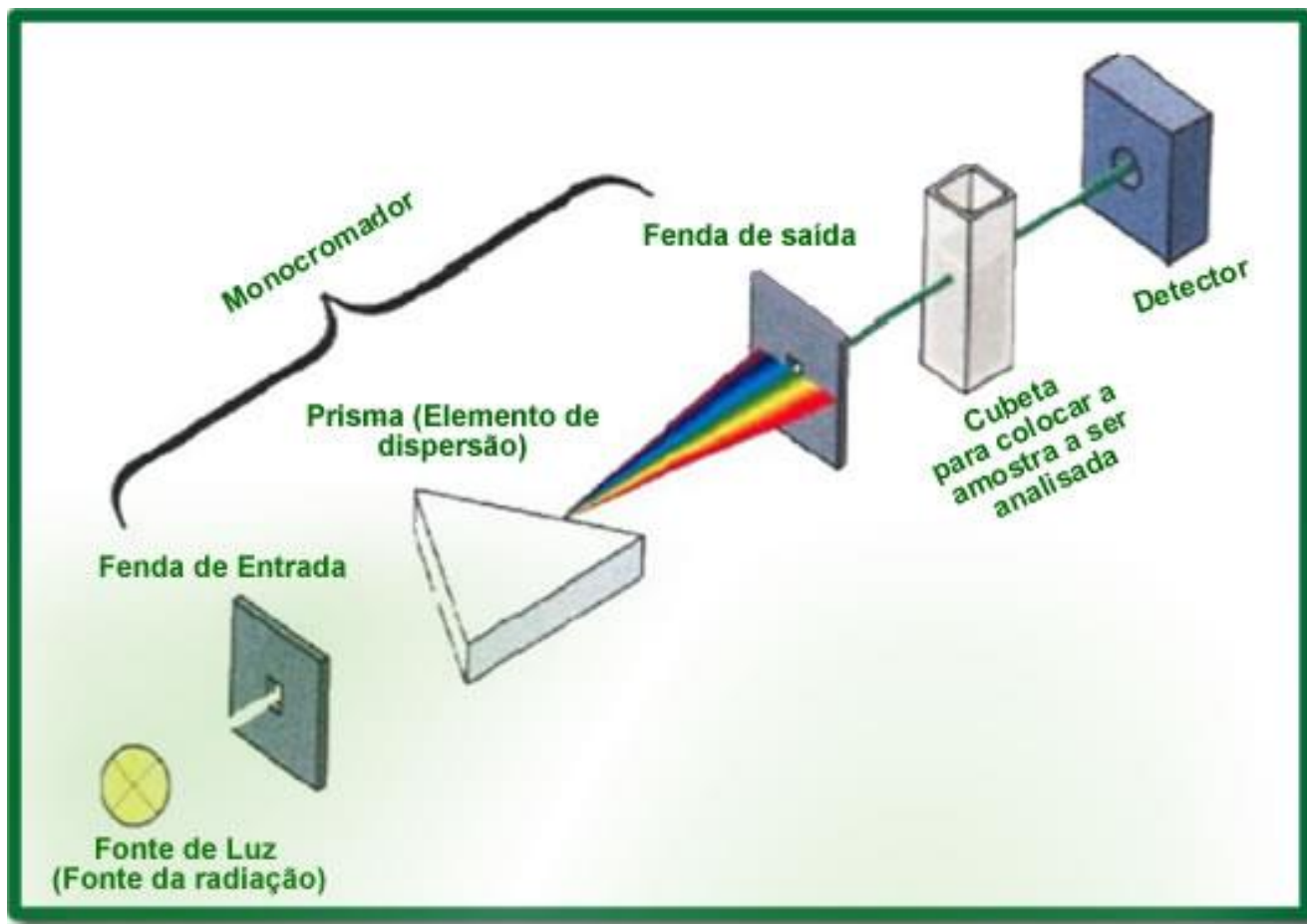


Diagrama de blocos

Fonte

Monocromador

Cela

Detector

Fontes

Região UV: 160 a 380 nm



Lâmpada de
Vapor de Hg



Lâmpada de arco
de Xenônio



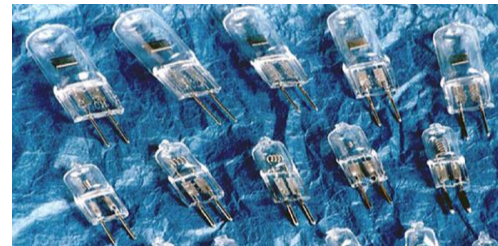
Lâmpada
de Deutério

Fontes

Região Visível: 380 a 780 nm



Lâmpada de arco
de Xenônio



Lâmpada de filamento de tungstênio
ou tungstênio-halogênio (halógenas)

Fontes

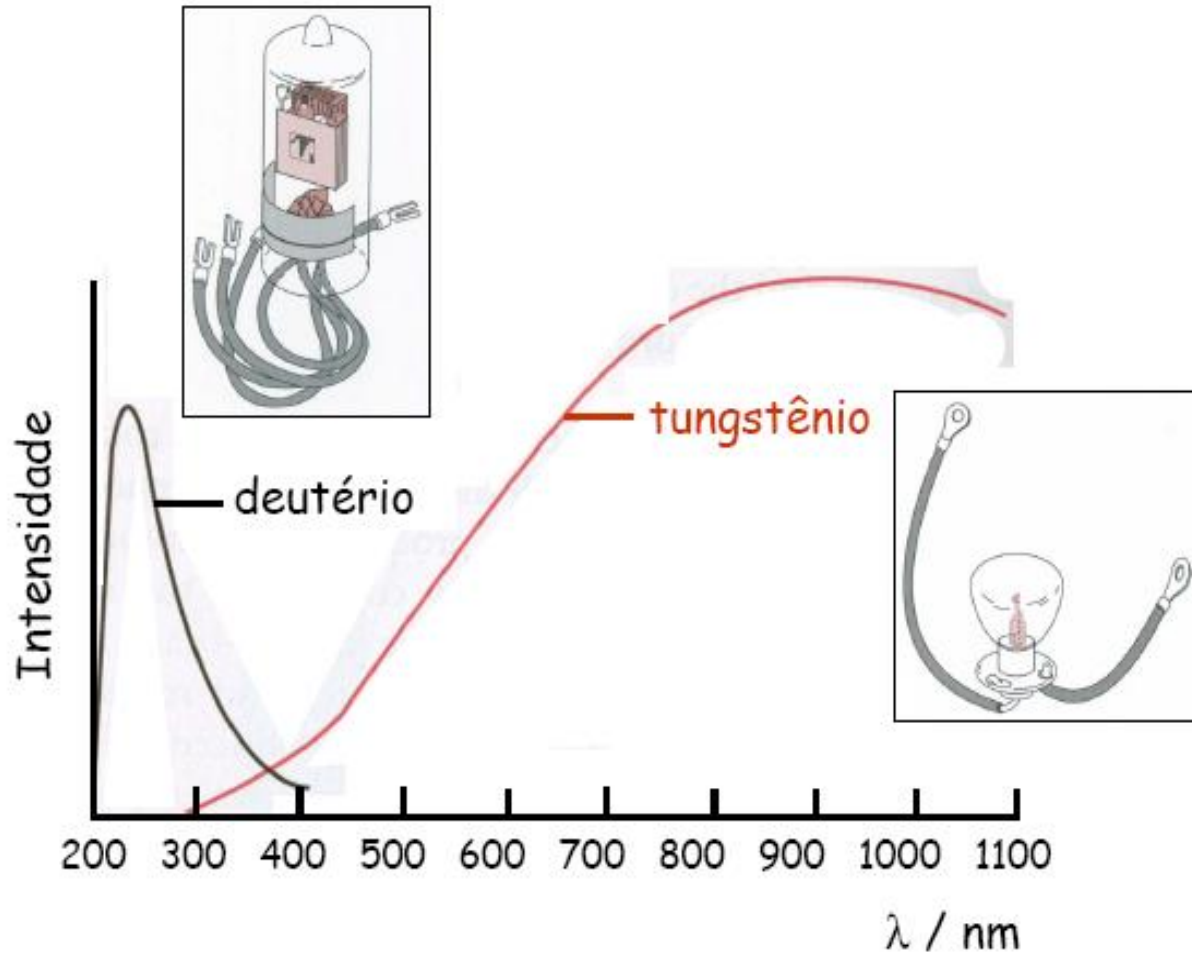


Diagrama de blocos

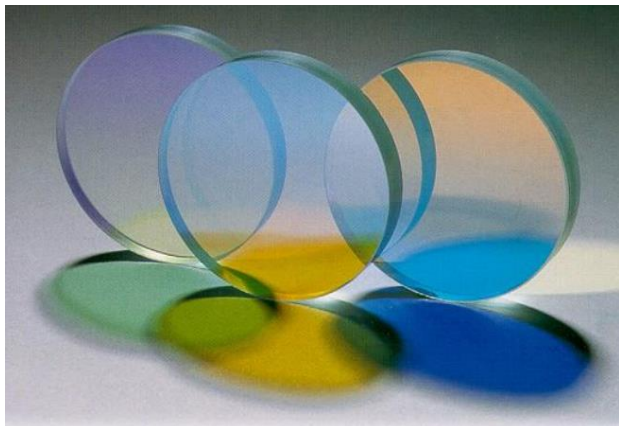
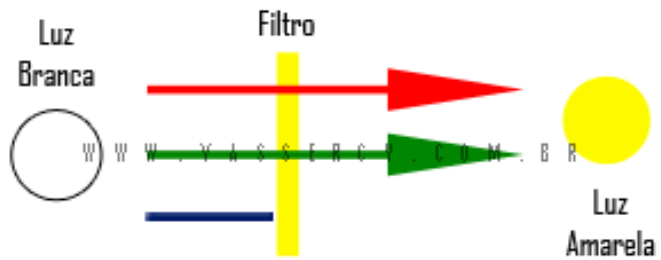
Fonte

Monocromador

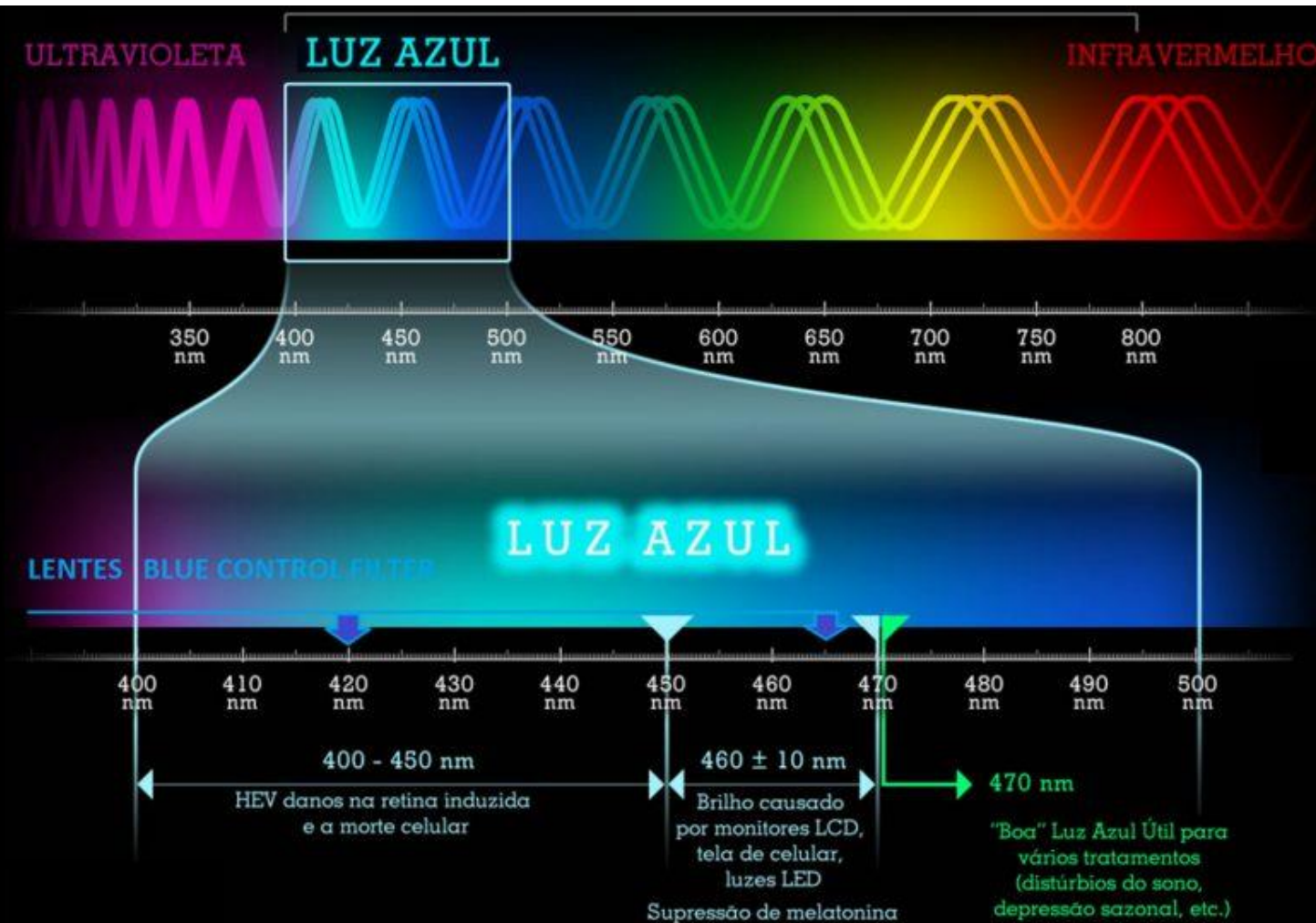
Cela

Detector

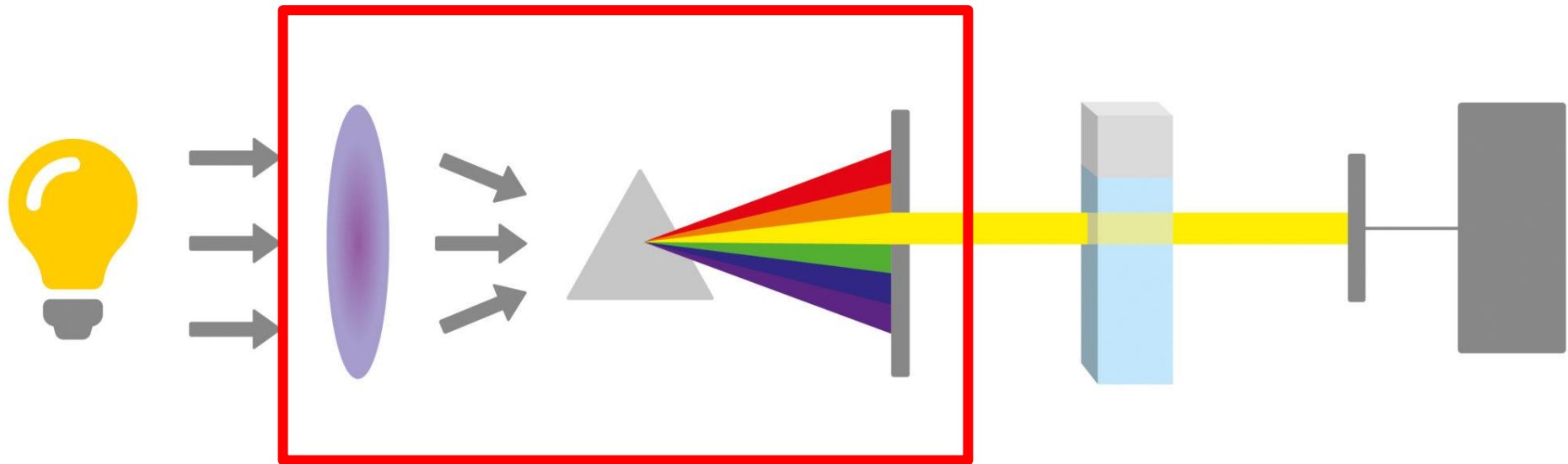
Filtro



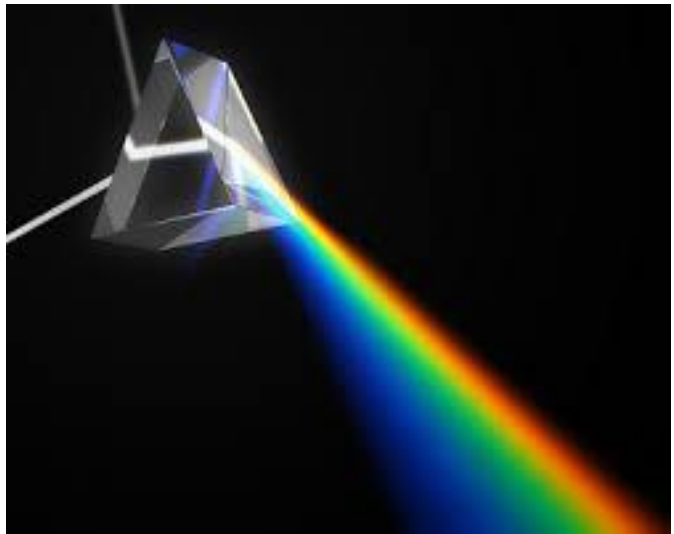
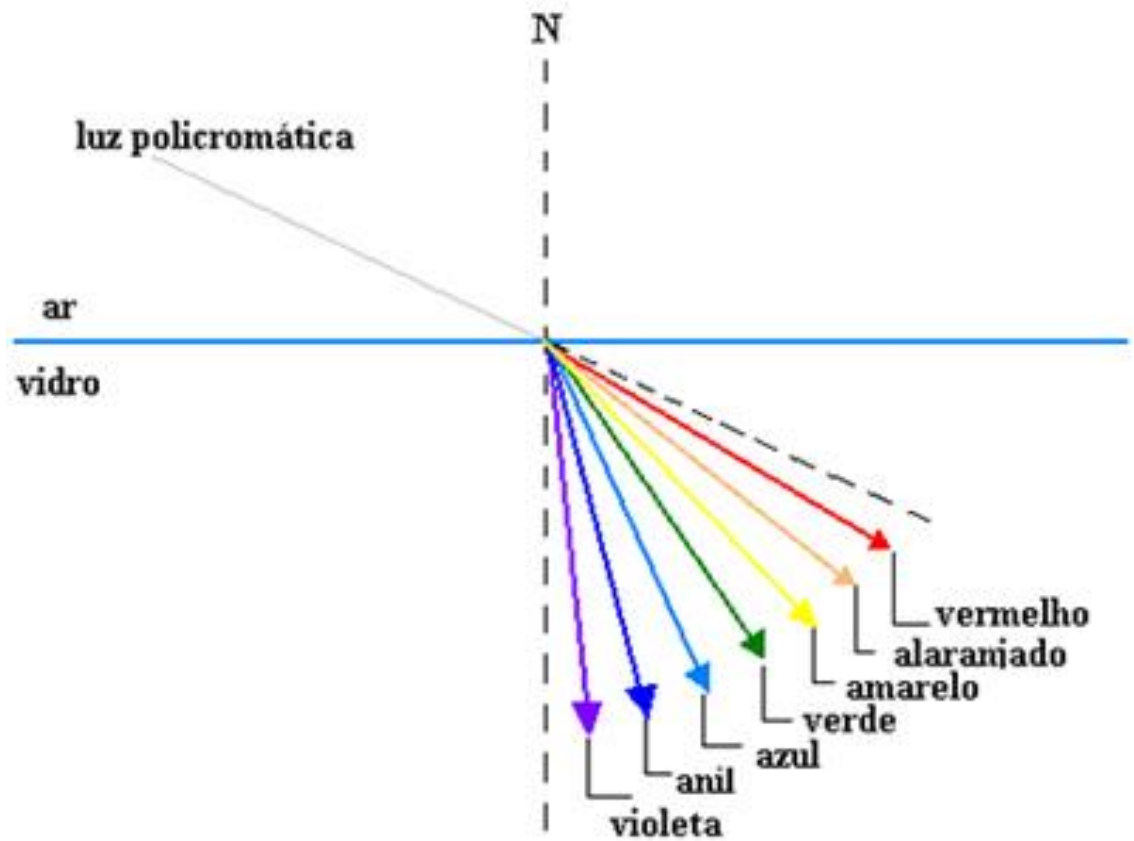
Filtro



Monocromador



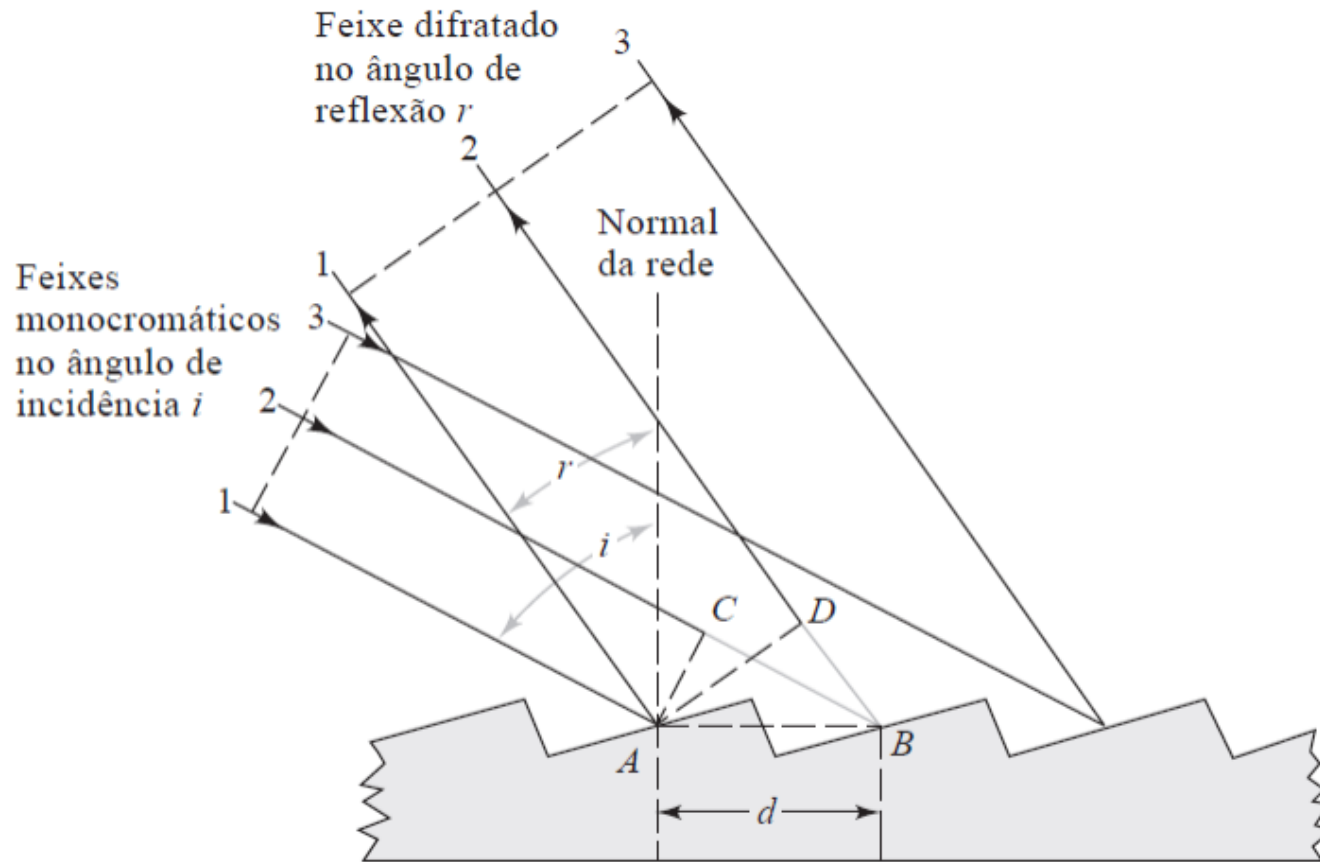
Monocromador



Monocromador



Monocromador



Monocromador

monocromadores

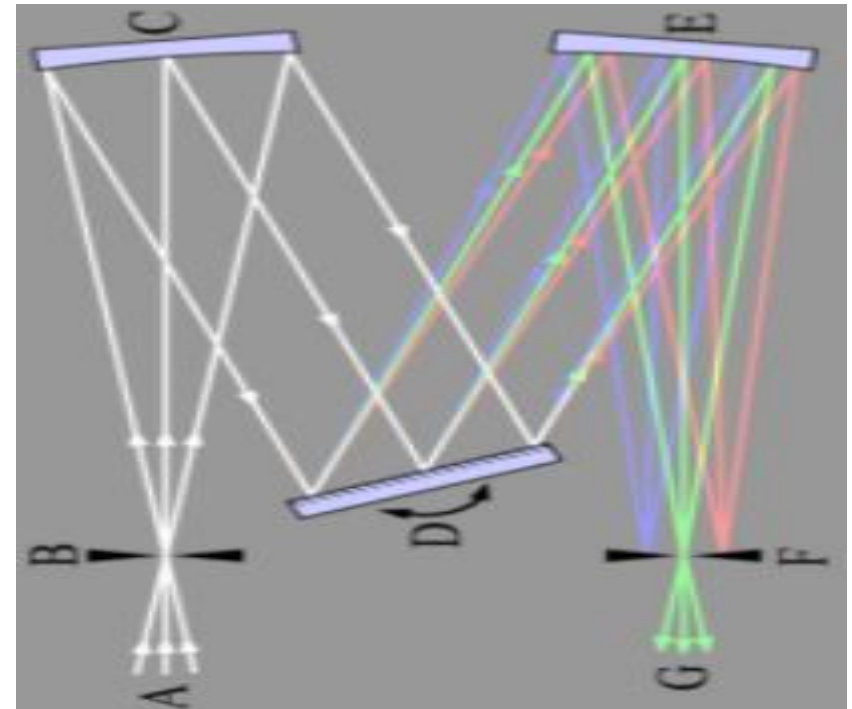
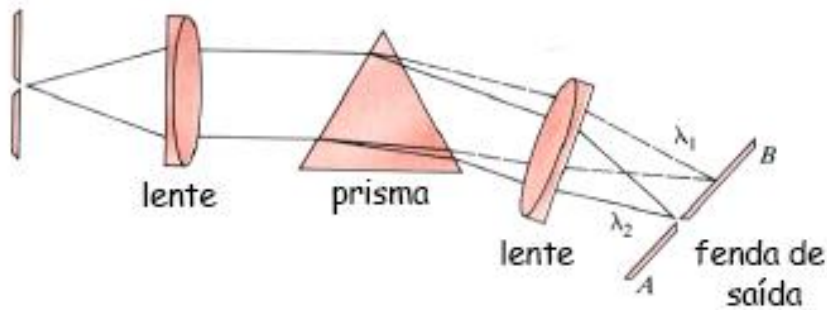
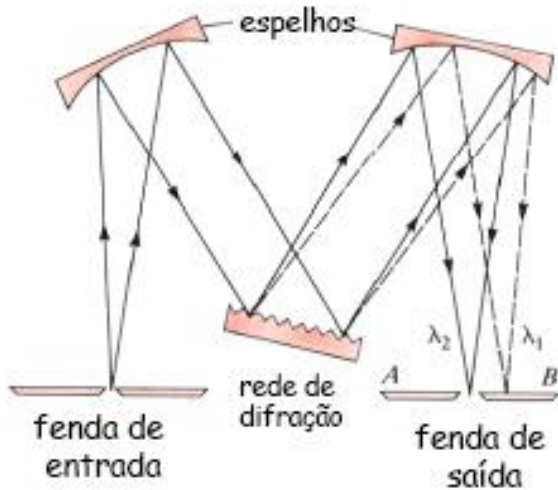


Diagrama de blocos

Fonte

Monocromador

Cela

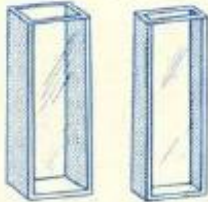
Detector

Cela



Cela

CUBETA PADRÃO COM TAMPA DE TEFLON



TIPO 1

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45,0 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

T-1

SEMI-MICRO CUBETA COM TAMPA DE TEFLON

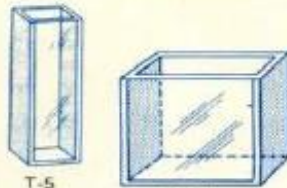


TIPO 9

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 5, 10, 20, 30, 40, 50 mm
- Largura interna: 4 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45,0 mm
- Volume interno: 1,4 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

T-9

CUBETA PADRÃO E RETANGULAR COM TAMPA DE TEFLON



TIPO 5

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 10 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45,0 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H.

TIPO 523

- 2 janelas polidas de 35 mm
- Caminho óptico: 10 mm
- Dimensões externas: 13,5 x 35
- Volume interno: 12 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G.

T-5

T-523

CUBETA DE FLUXO CONTÍNUO



TIPO 58

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 10 mm
- Largura interna: 7 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 58,0 mm
- Volume interno: 2,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

T-58

CUBETA ANAERÓBICA



TIPO 26

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 2, 5 e 10 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Tubo de evacuação e bolsa com rosca esmerilhada
- Material de Construção: G, H, I e S.

T-26

CUBETA CILÍNDRICA COM ROLHA DE TEFLON



TIPO 34

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 50 e 100 mm
- Dimensões externas: 22 x 35,5 mm
- Volume interno: 31,4 mL (100 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

T-34

CUBETA PADRÃO COM ROLHA DE TEFLON OU VIDRO



TIPO 21

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 1, 2, 5, 10, 20, 30, 40 e 50 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 49 mm
- Volume interno: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de Construção: G, H, I e S.

TIPO 31

- 2 janelas polidas
- Caminho óptico: 10 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 65
- Volume interno: 2,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: H, I e S.

T-21

T-31

CUBETA PADRÃO PARA FLUORÍMETRO COM TAMPA DE TEFLON

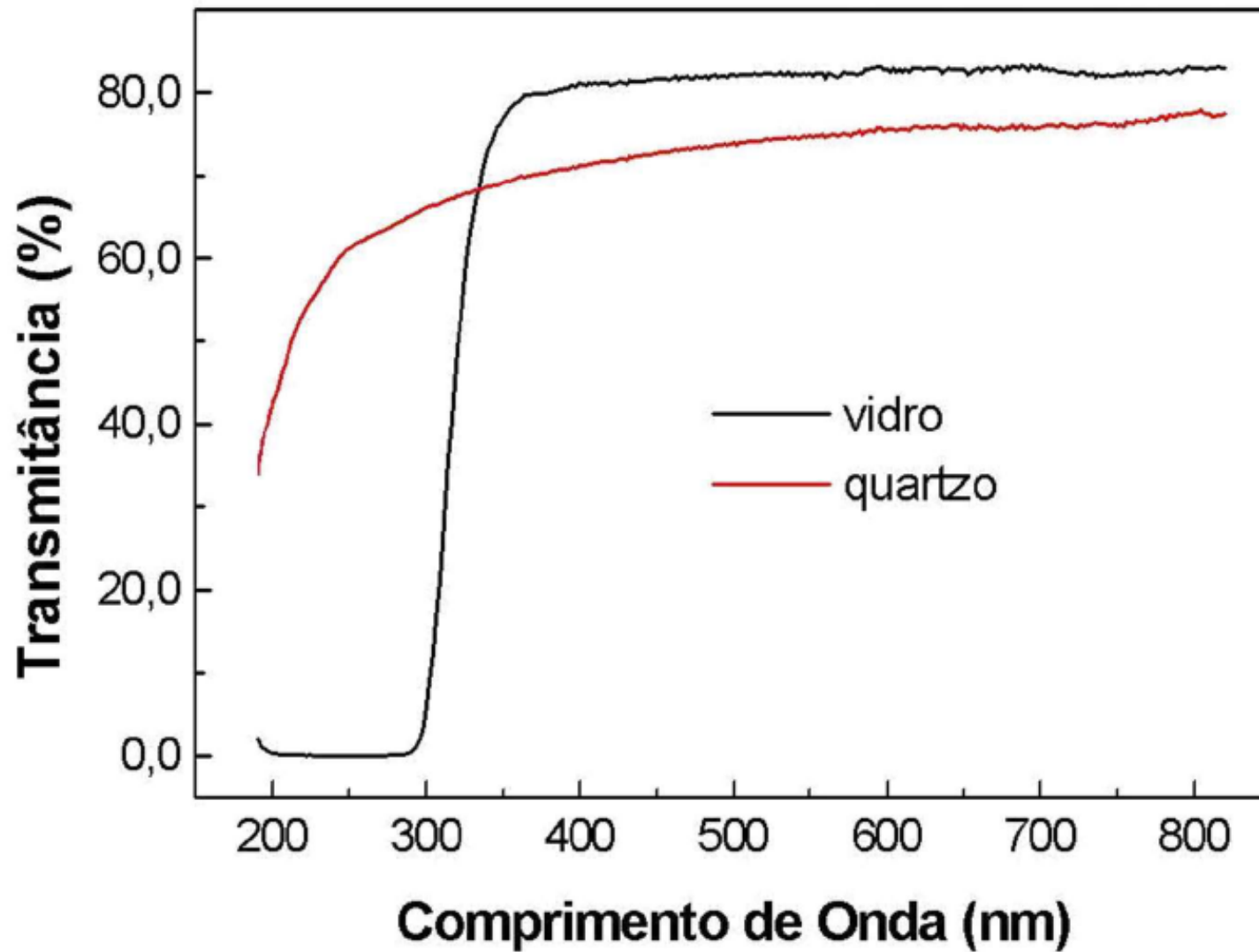


TIPO 3

- 4 janelas polidas
- Caminho óptico: 5, 10, 20, 40 mm
- Dimensões externas: 12,5 x 45 mm
- Volume: 3,5 mL (10 mm)
- Materiais de construção: G, H, I e S.

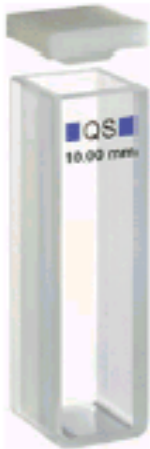
T-3

Cela



Cela

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



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



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

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

Cela



Cela

Usar cubetas em par (mesmo índice de refração)!

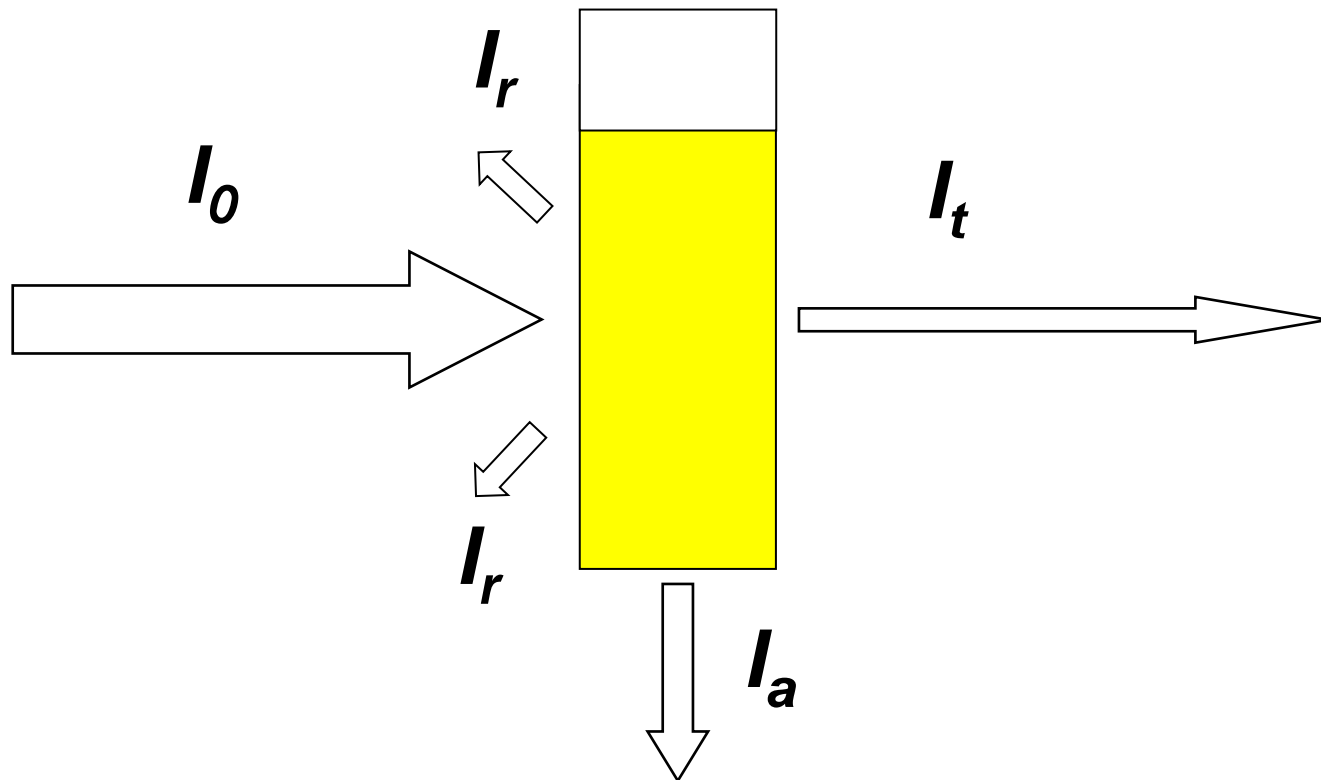


Diagrama de blocos

Fonte

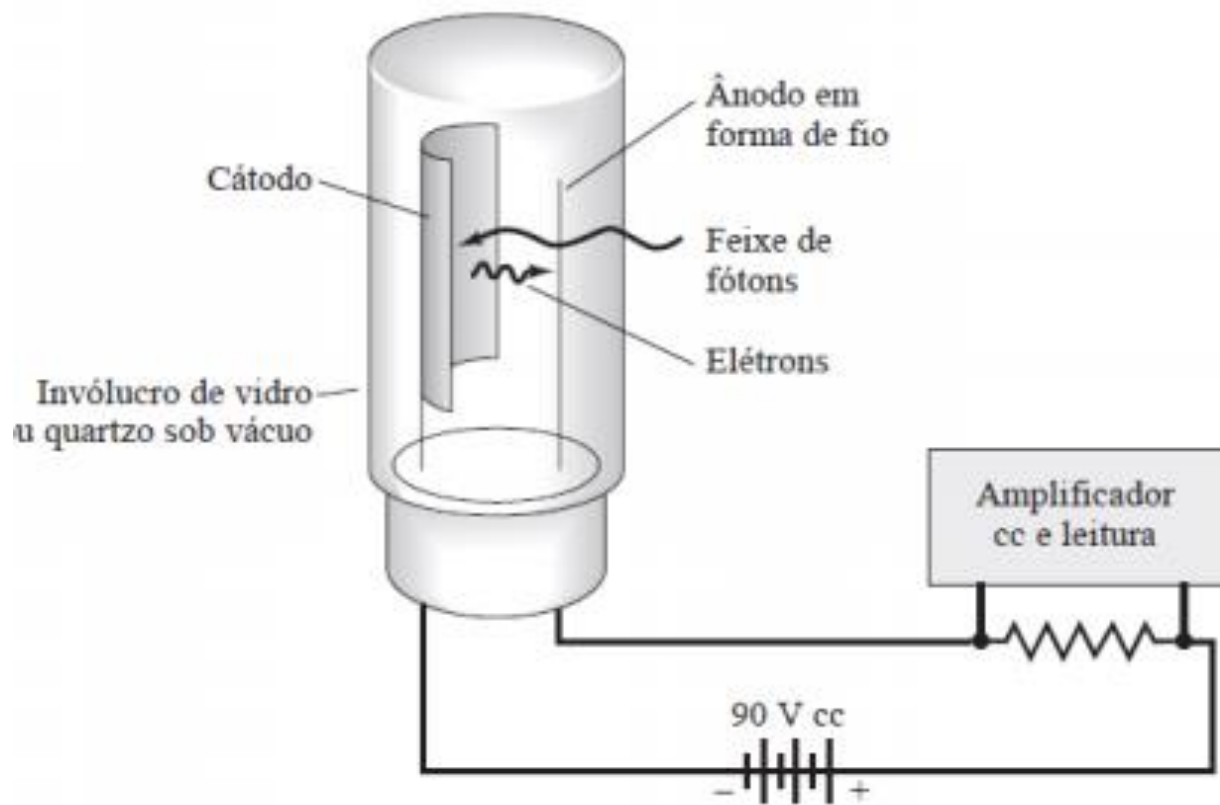
Monocromador

Cela

Detector

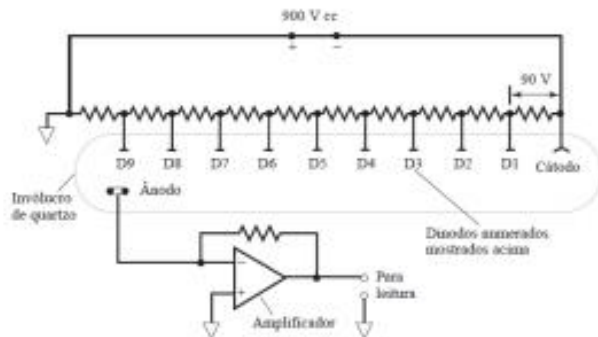
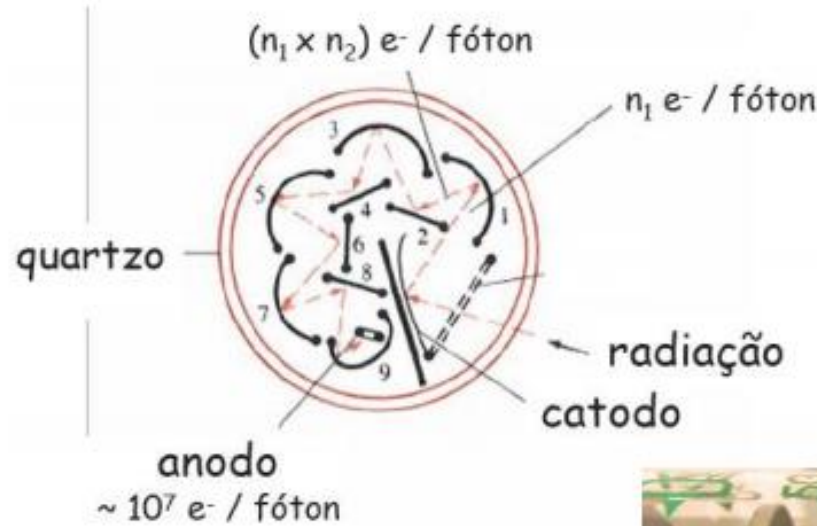
Detector

Fototubo



Detector

Fotomultiplicadora



<http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/f/Dynodes.jpg/600px-Dynodes.jpg>

Detector

Photomultiplier Tube

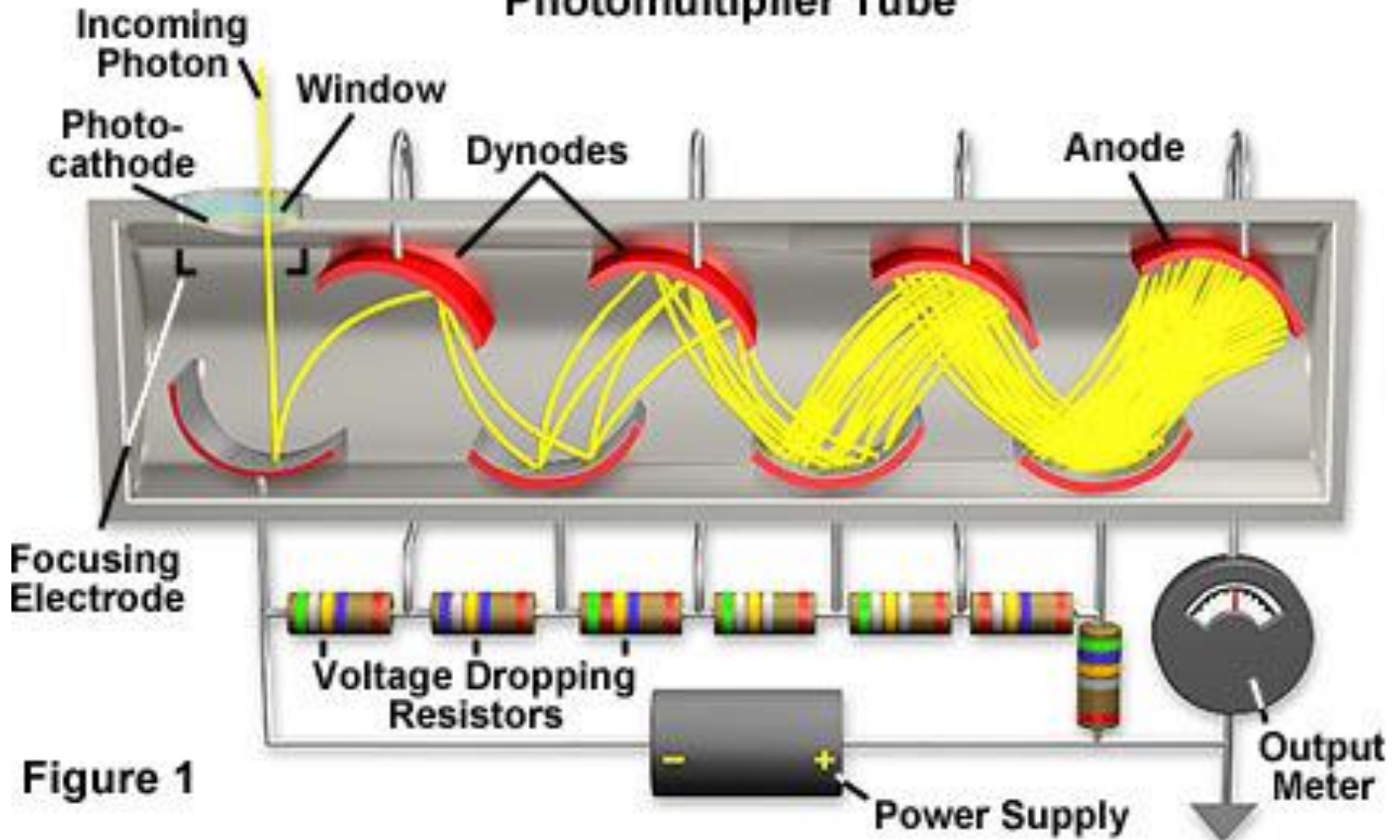
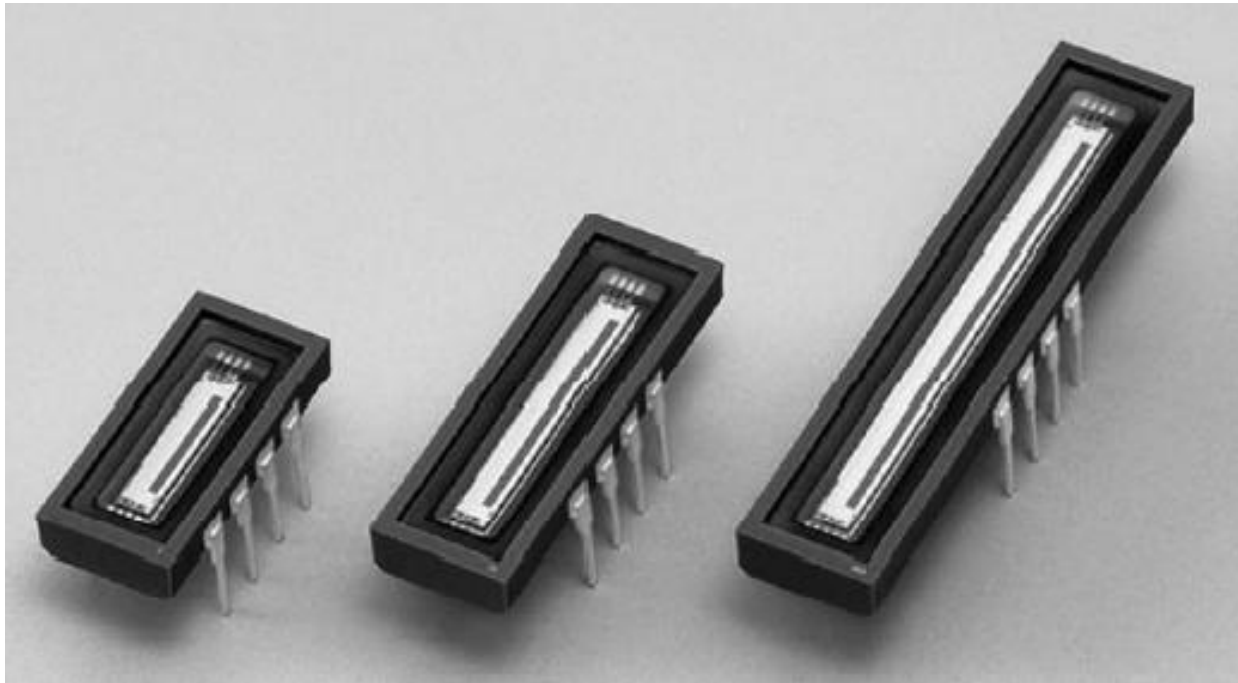


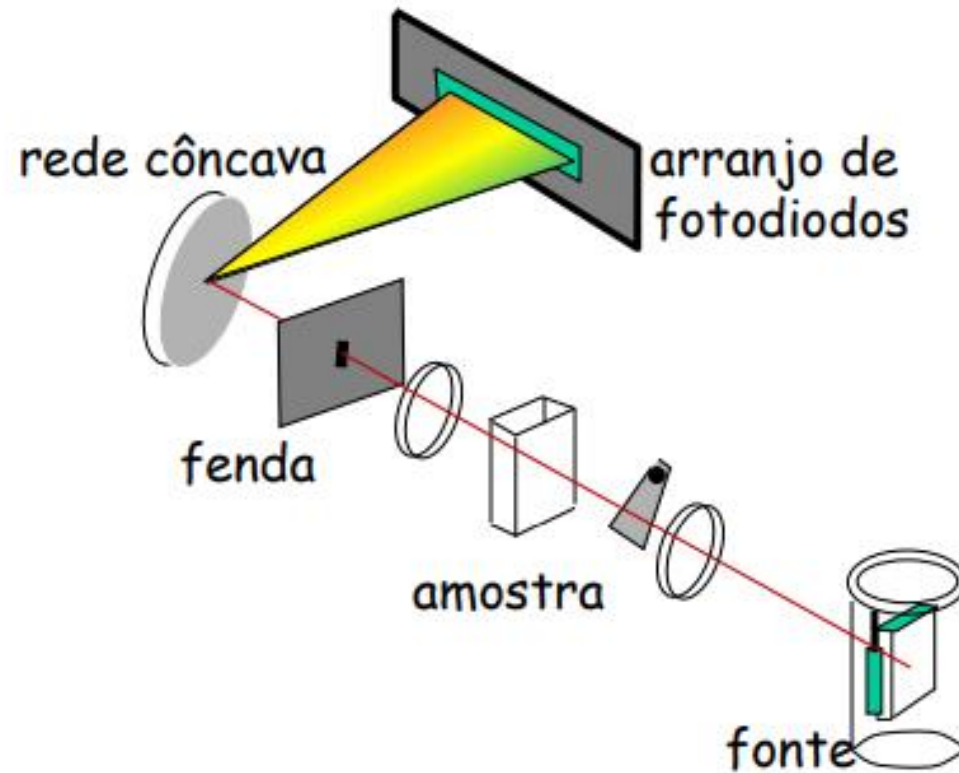
Figure 1

Detector

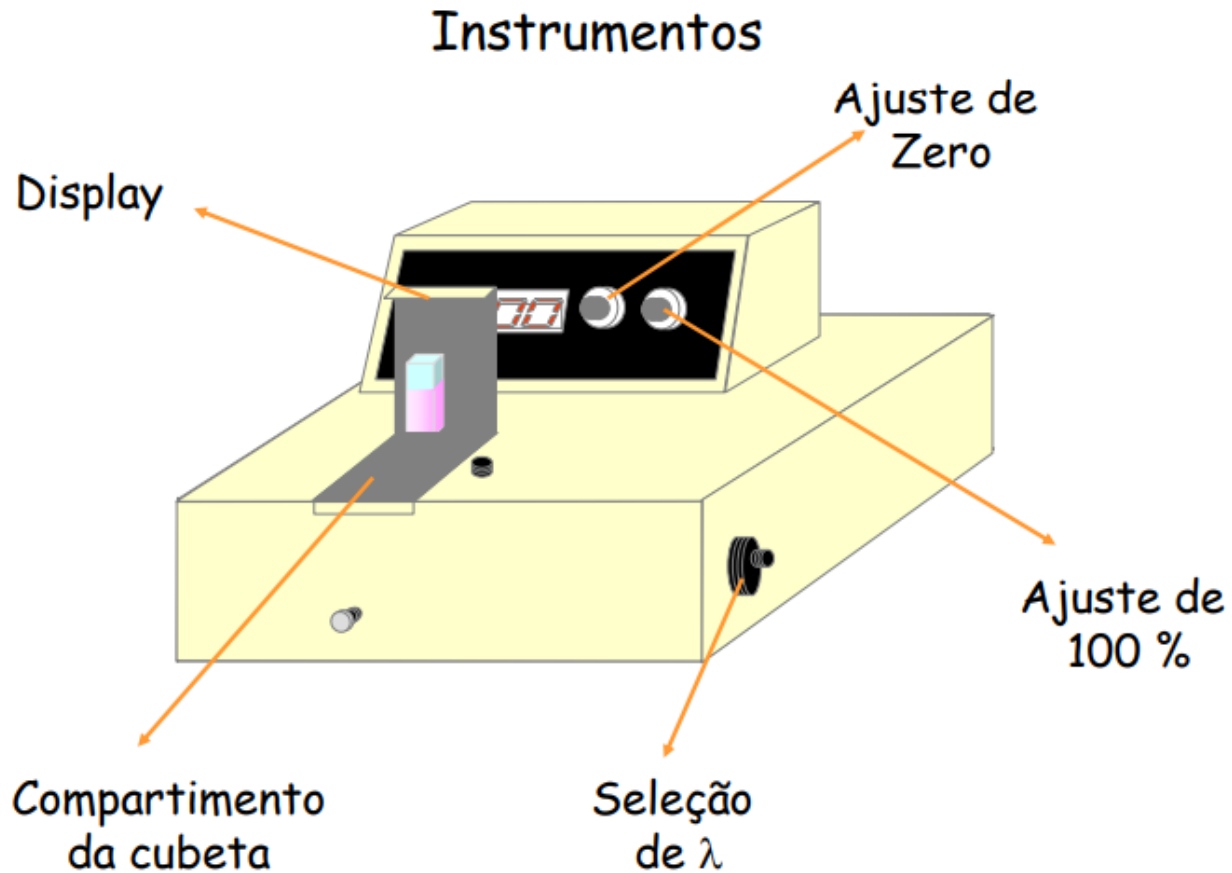
Arranjo de fotodiodos



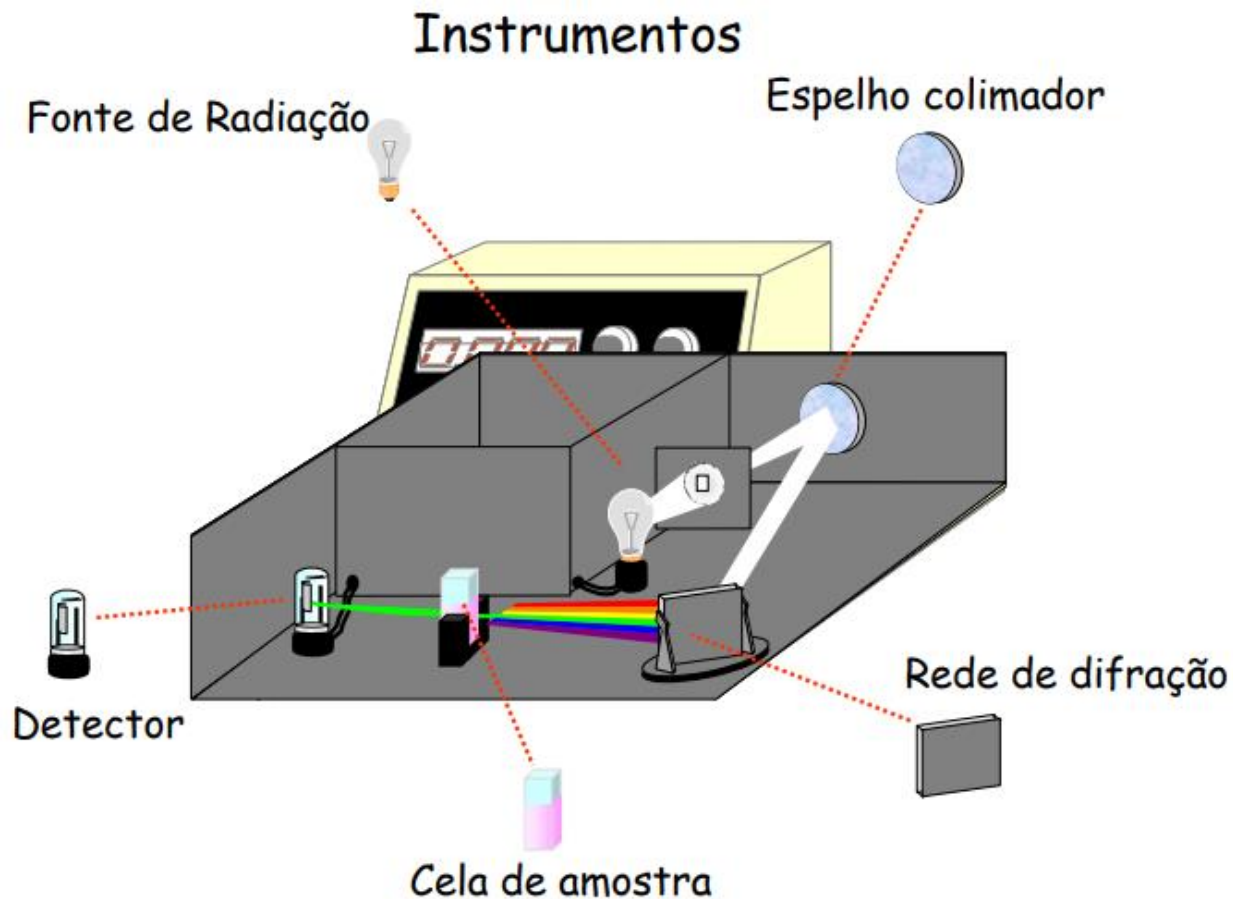
Tipos de equipamentos



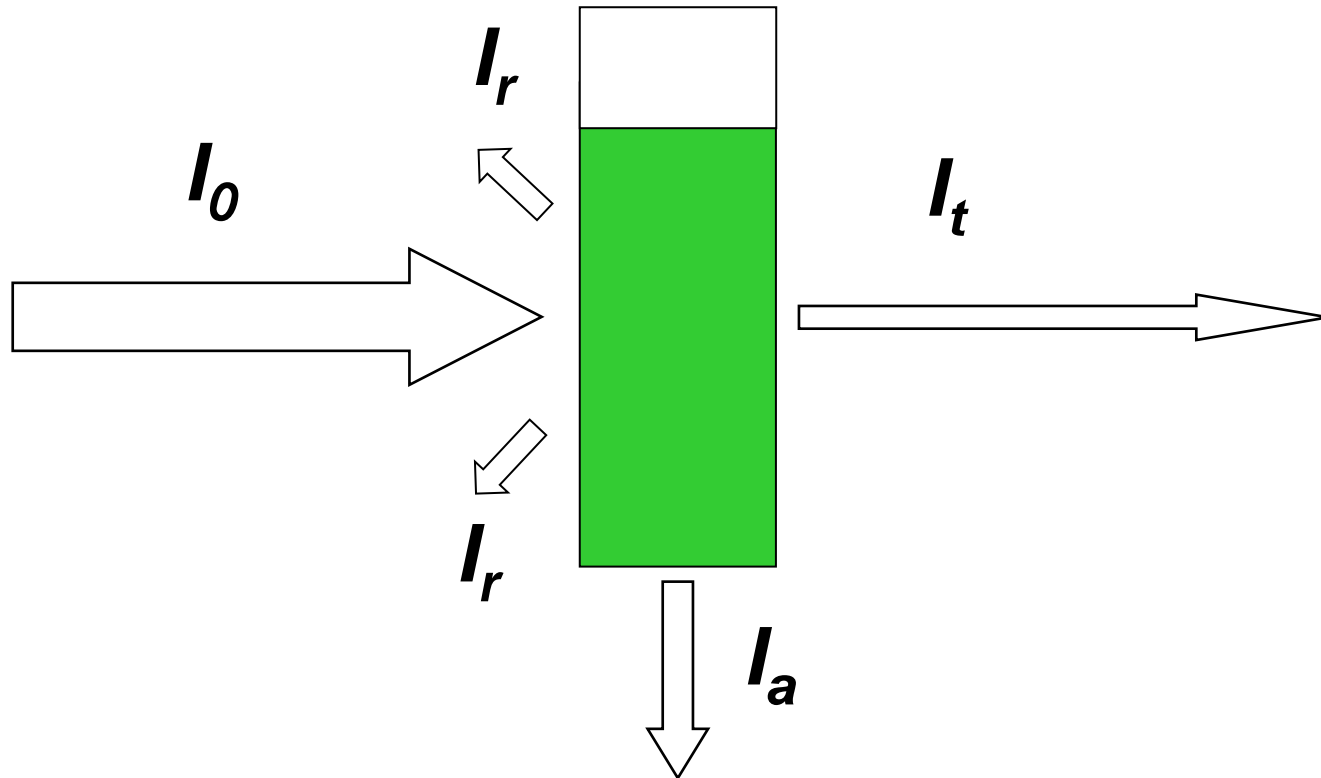
Equipamento



Equipamento



Absorção



Absorção

Quando a luz incide sobre um meio homogêneo, uma parcela da luz incidente é refletida, outra parcela é absorvida no meio e o restante é transmitido. Se a intensidade da radiação da luz incidente for representada por I_0 , e a da luz absorvida por I_a , a da transmitida por I_t e a da refletida por I_r , então:

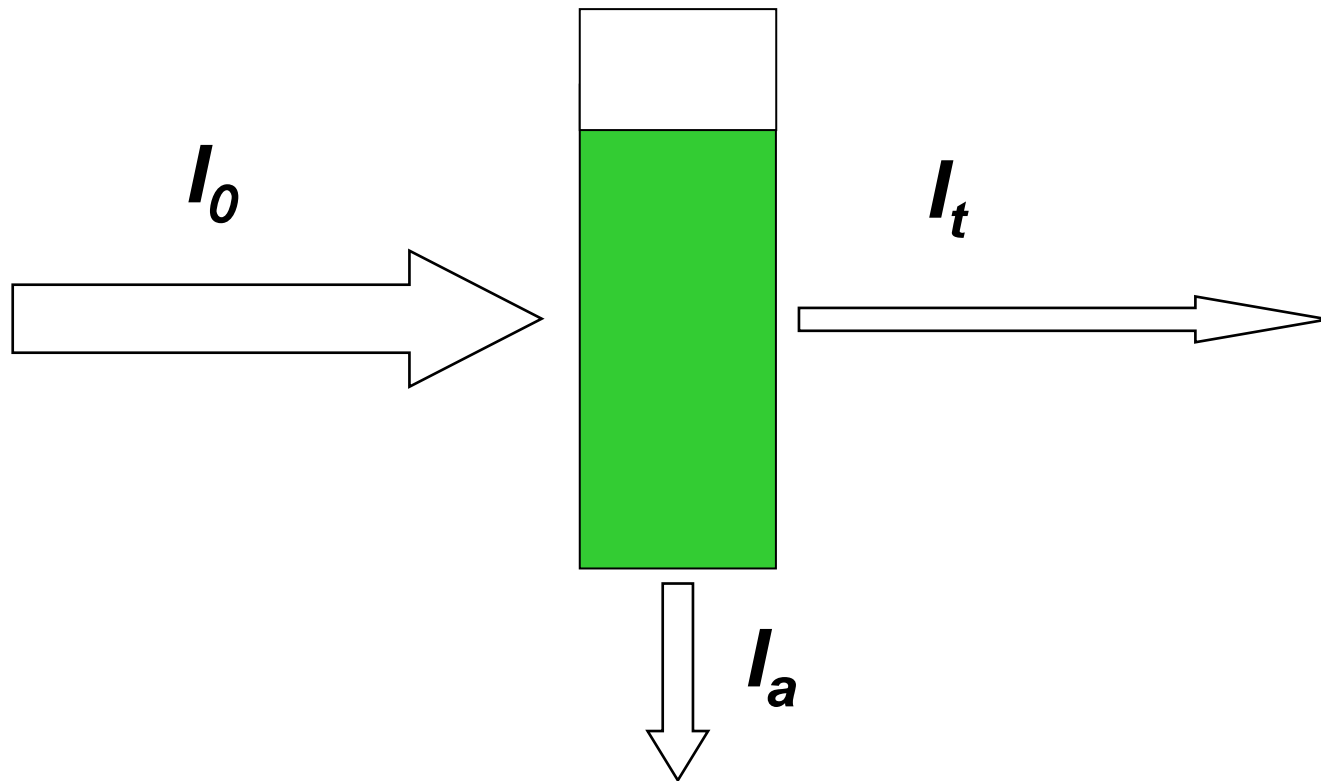
$$I_0 = I_a + I_t + I_r$$

Absorção

Numa interface ar-vidro, sempre presente quando se usam células de vidro, pode-se admitir que cerca de 4% da luz incidente sejam refletidos. A parcela I_r é usualmente eliminada graças ao uso de um controle, como células de comparação, reduzindo a equação a:

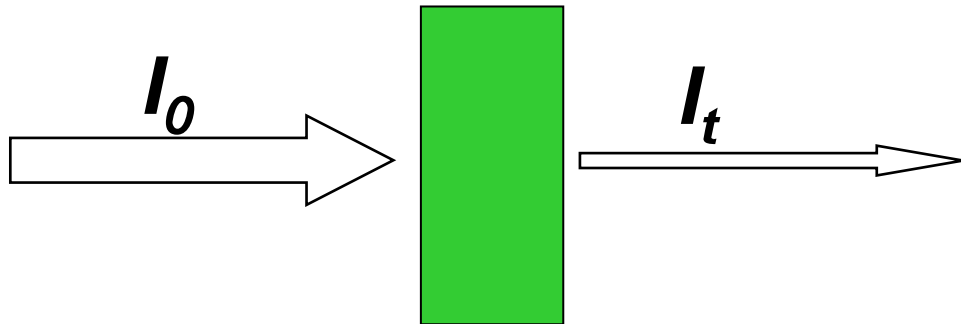
$$I_0 = I_a + I_t$$

Absorção



Absorção

Transmitância: é a relação existente entre a luz incidente e a luz transmitida:



$$\% T = \frac{I_t}{I_0} \times 100$$

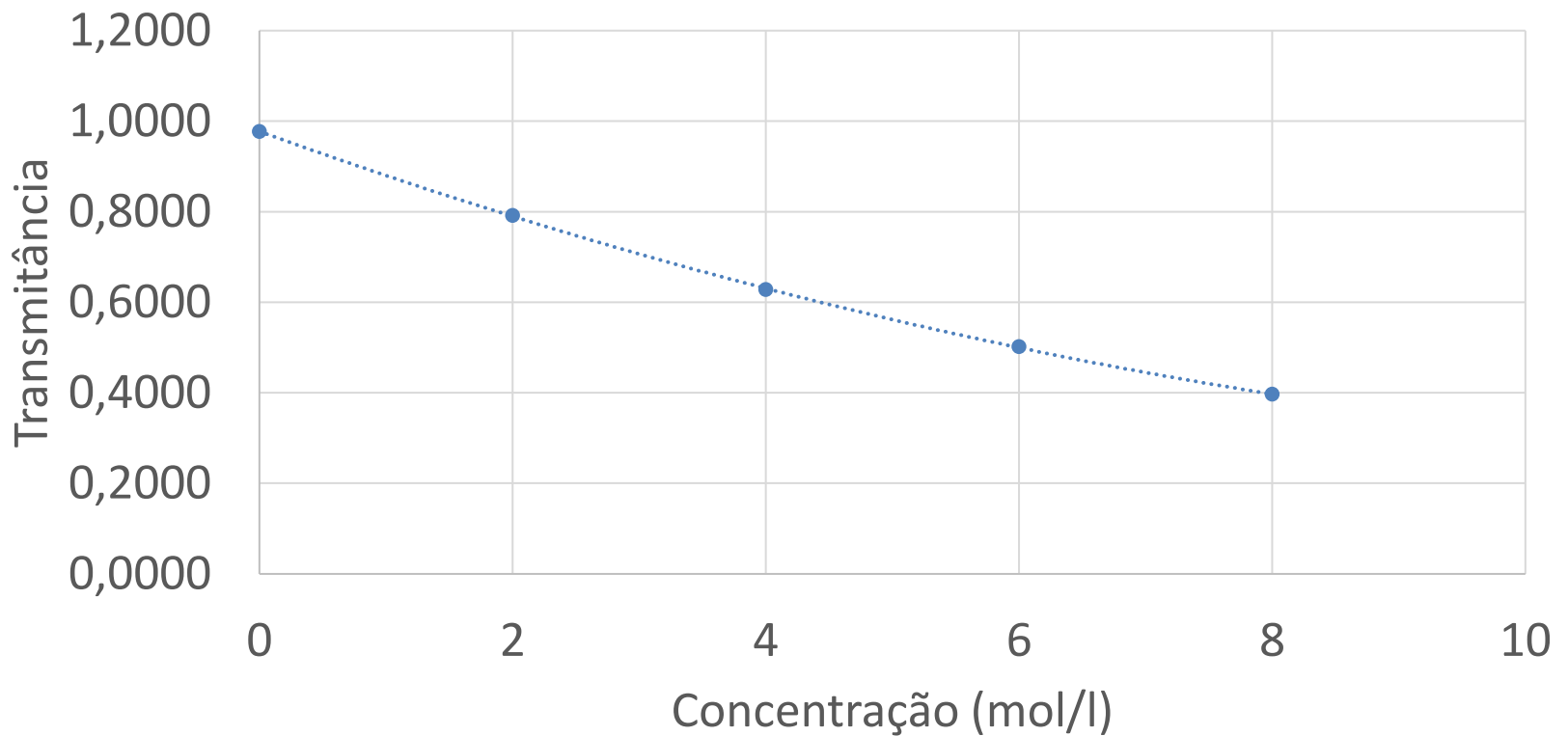
Absorção

C (mol/l)	T
0,001	0,89
0,002	0,79
0,004	0,63
0,008	0,40
0,016	0,16

Absorção

C (mol/l)	T
0,001	0,89
0,002	0,79
0,004	0,63
0,008	0,40
0,016	0,16

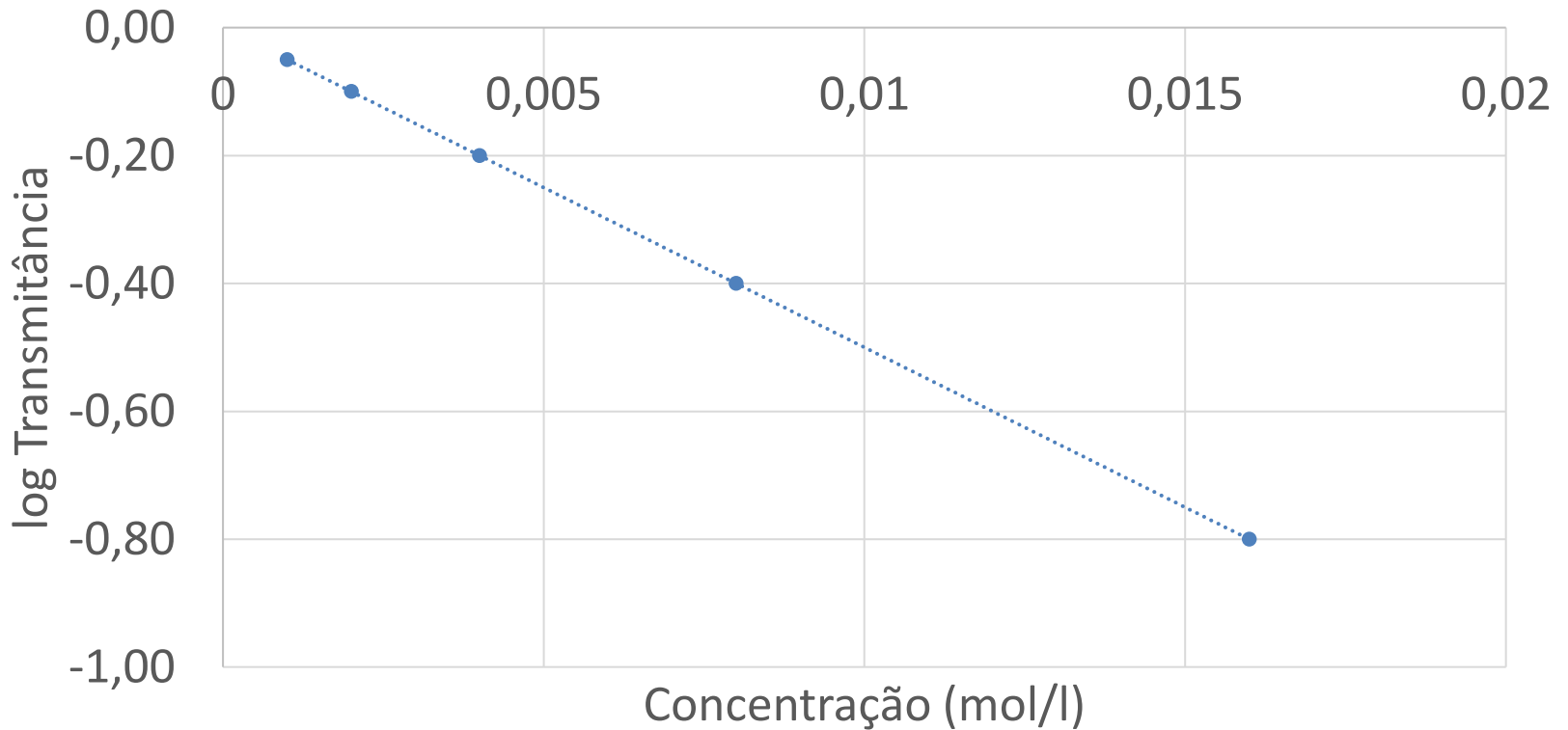
T Vs. C



Absorção

C (mol/l)	T	log T
0,001	0,89	-0,05
0,002	0,79	-0,10
0,004	0,63	-0,20
0,008	0,40	-0,40
0,016	0,16	-0,80

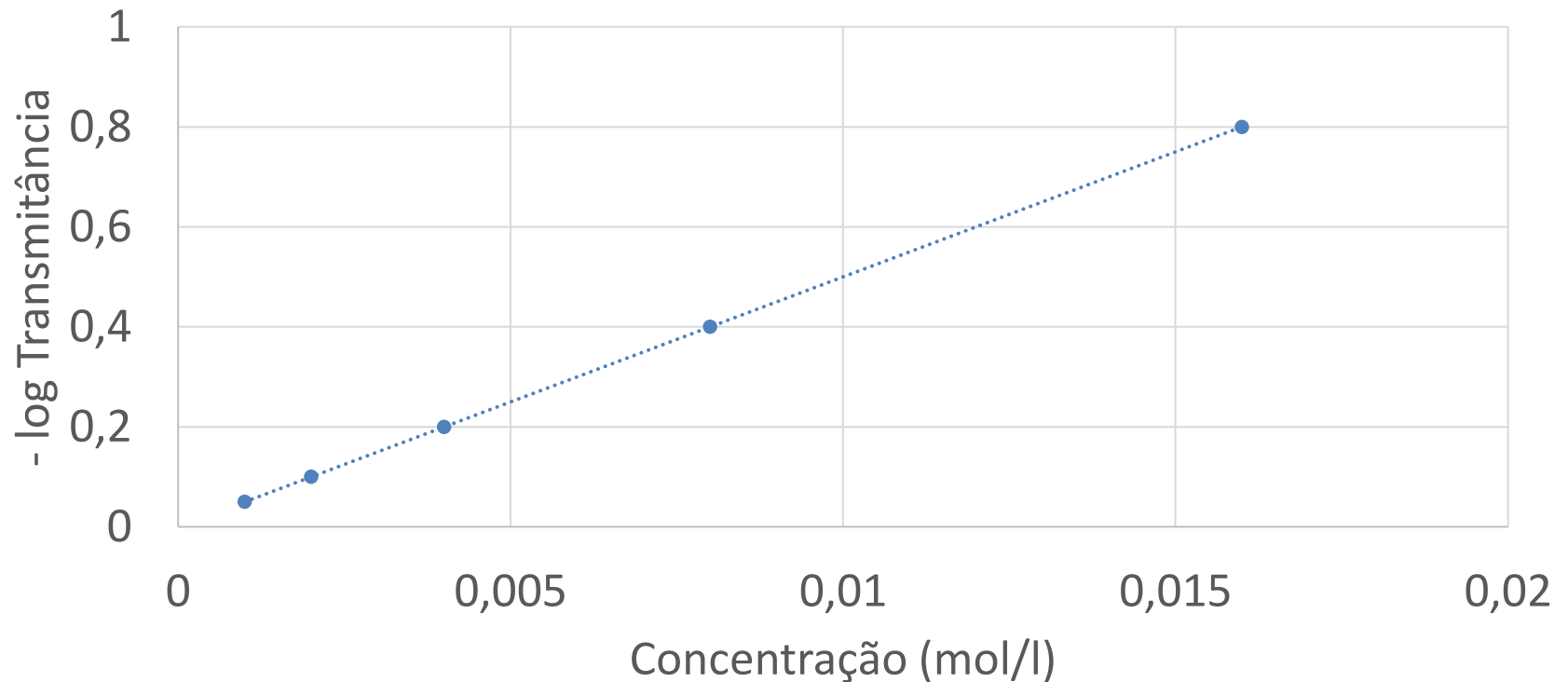
log T Vs. C



Absorção

C (mol/l)	T	- log T
0,001	0,89	0,05
0,002	0,79	0,10
0,004	0,63	0,20
0,008	0,40	0,40
0,016	0,16	0,80

- log T Vs. C

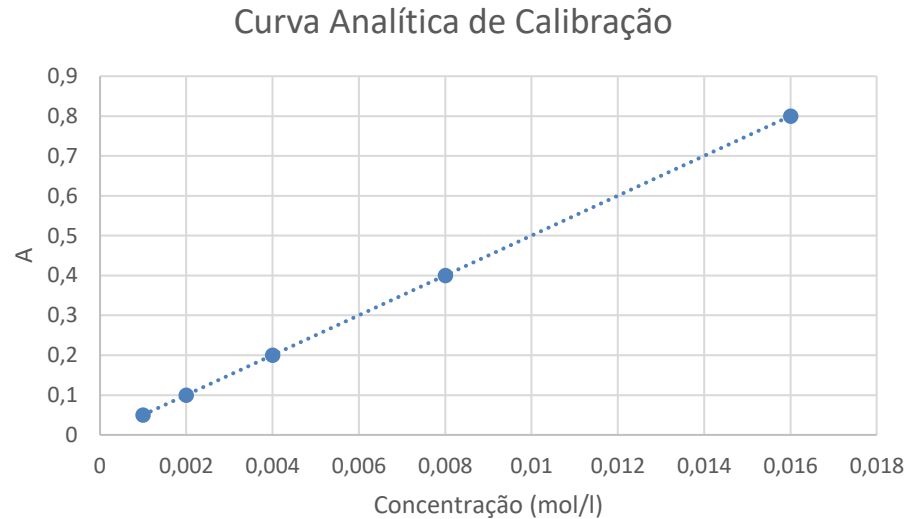


Absorbância

$$C \propto (-\log T)$$

$$-\log T = A$$

$$A \propto C$$



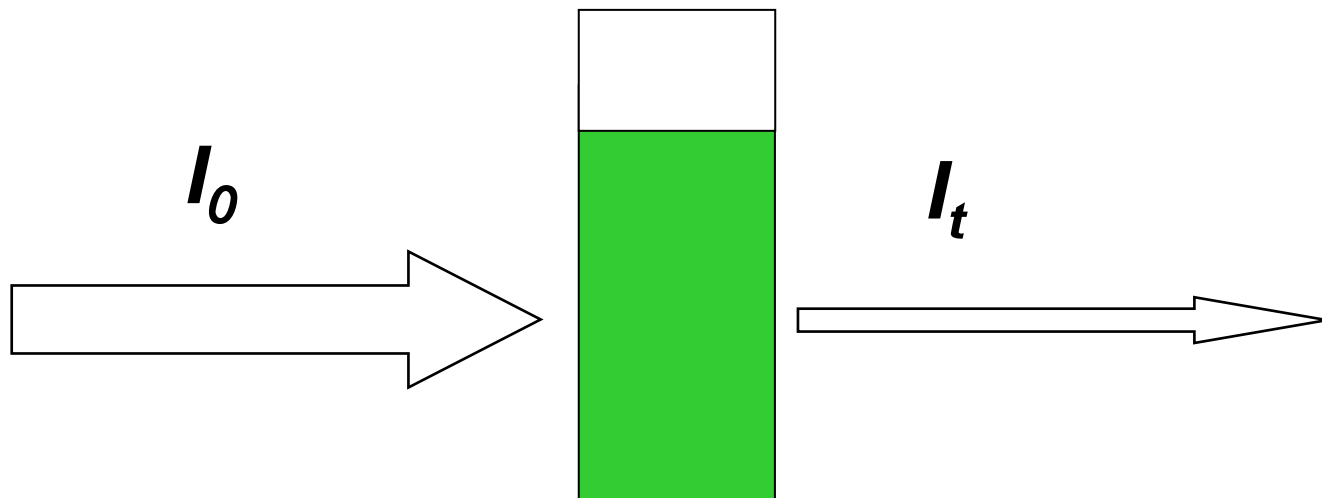
$$A = -\log T$$

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

Lei de Lambert-Beer

Lambert: Quando a luz monocromática passa através de um meio que a absorve, tem-se uma diminuição da intensidade que varia exponencialmente com a espessura do meio

Beer: A intensidade de um feixe de luz diminui exponencialmente com a concentração da substância absorvedora.



Lei de Beer

Como a maioria das medidas fotométricas é realizada com espessura constante da solução, variando-se somente a concentração, é comum mencionar a Lei de Lambert-Beer como a **Lei de Beer**.

Enunciado da Lei de Beer: *a absorvância é proporcional à concentração de soluto e ao comprimento da espessura da solução atravessada pelo raio luminoso.*

Lei de Lambert-Beer

$$A = \epsilon b c$$

A – Absorbância

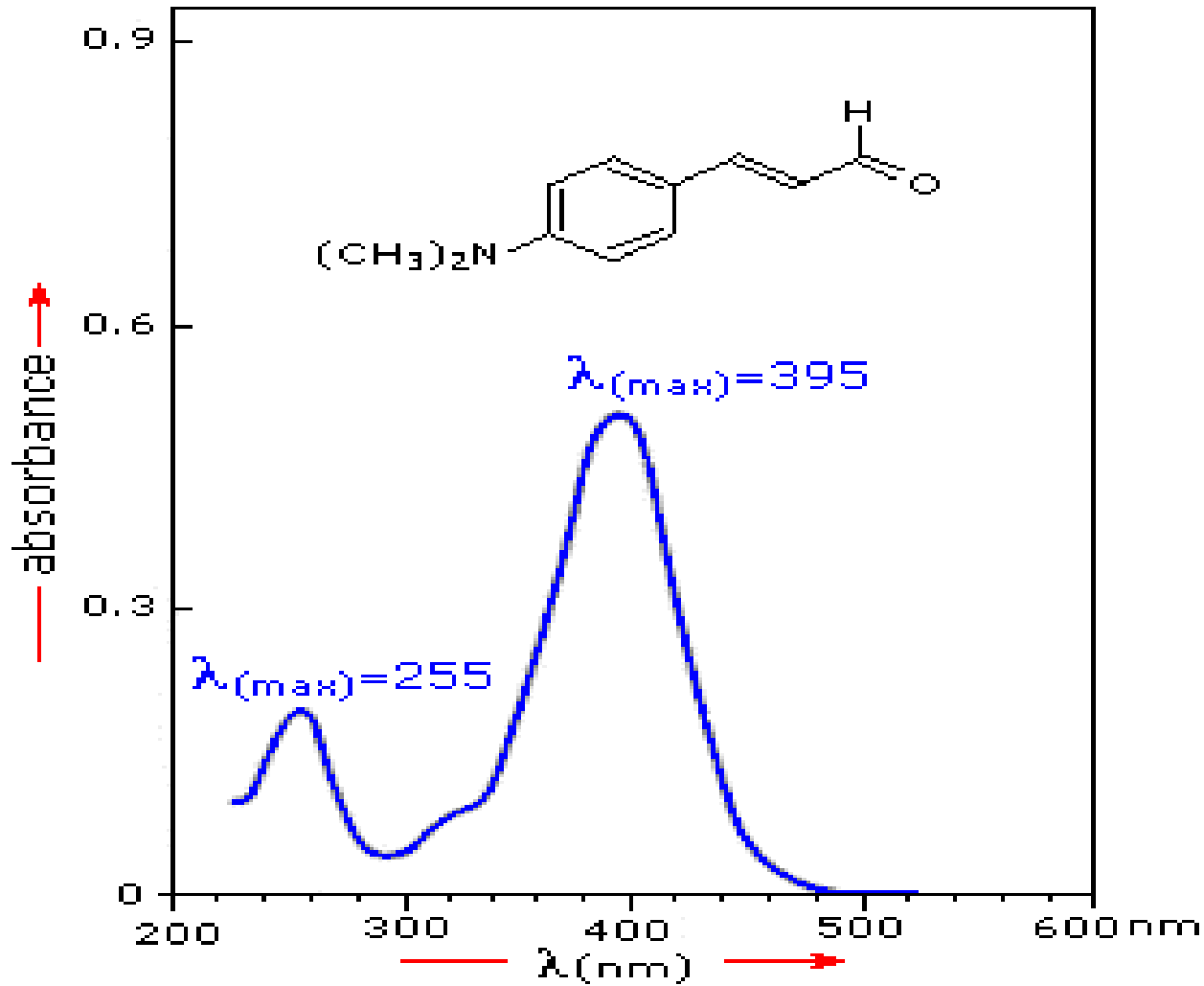
Absortividade molar

~~*a – absorbância específica (característica do soluto)*~~

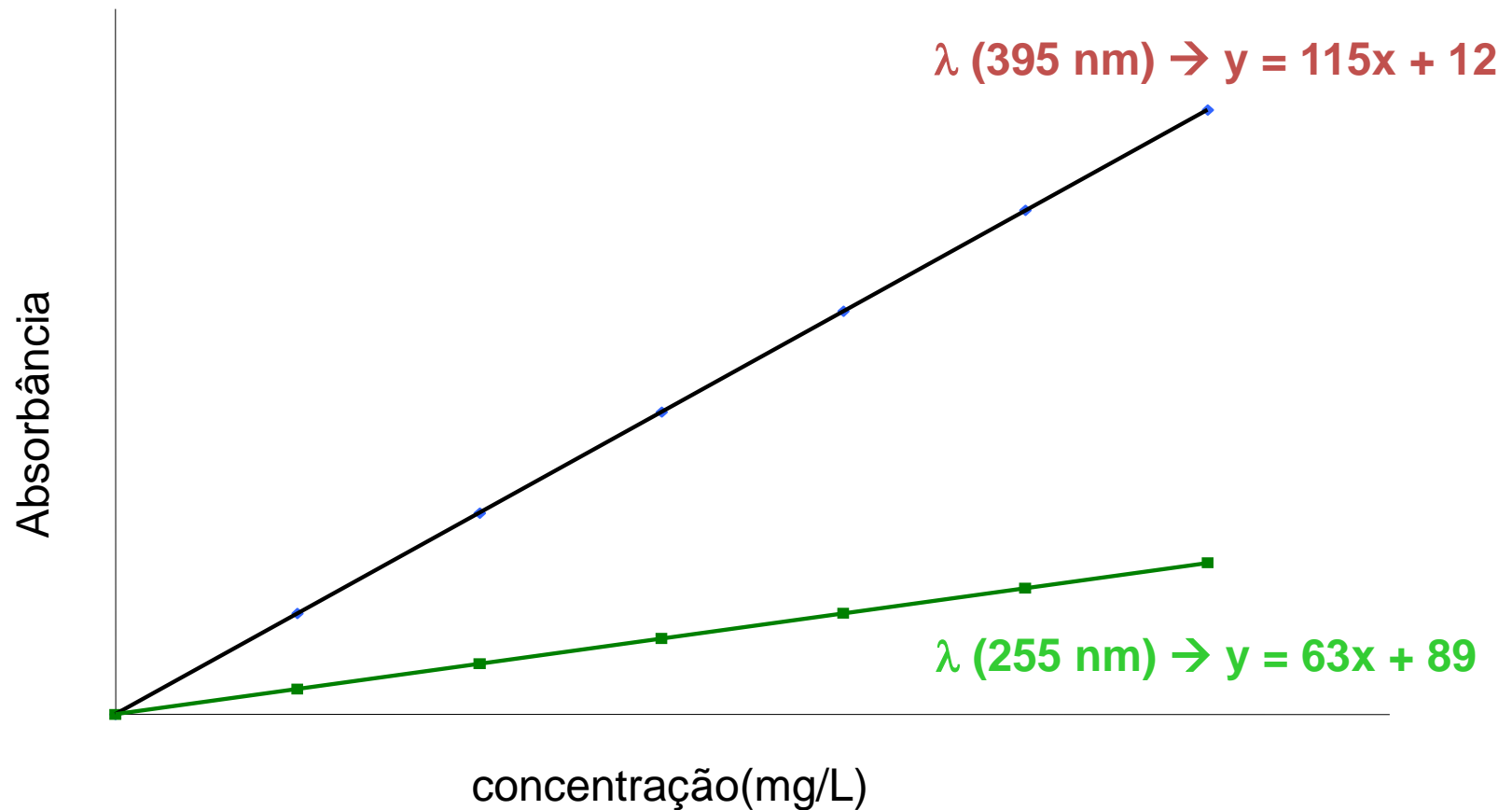
b – espessura do meio

c- concentração da solução

Escolha do comprimento de onda



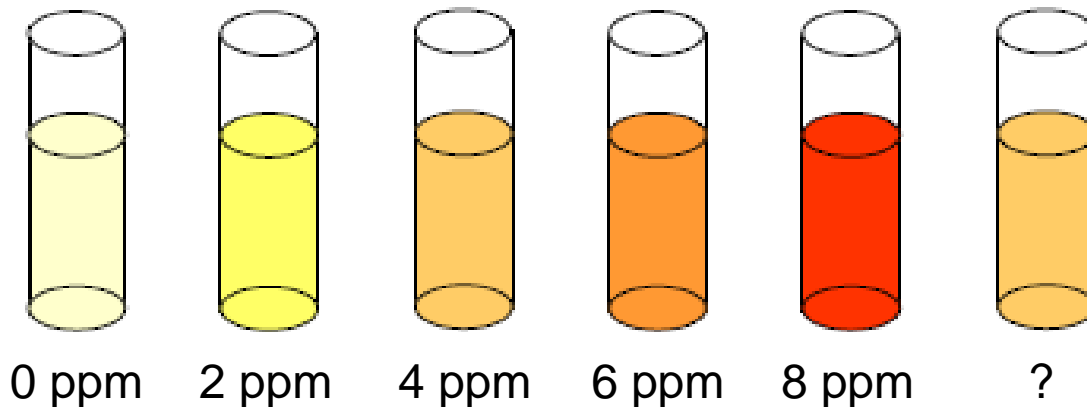
Curva analítica de calibração



Curva analítica de calibração

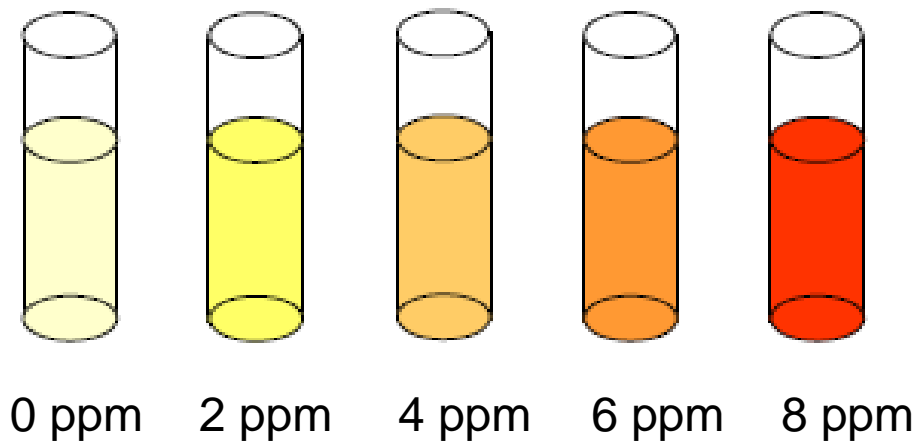
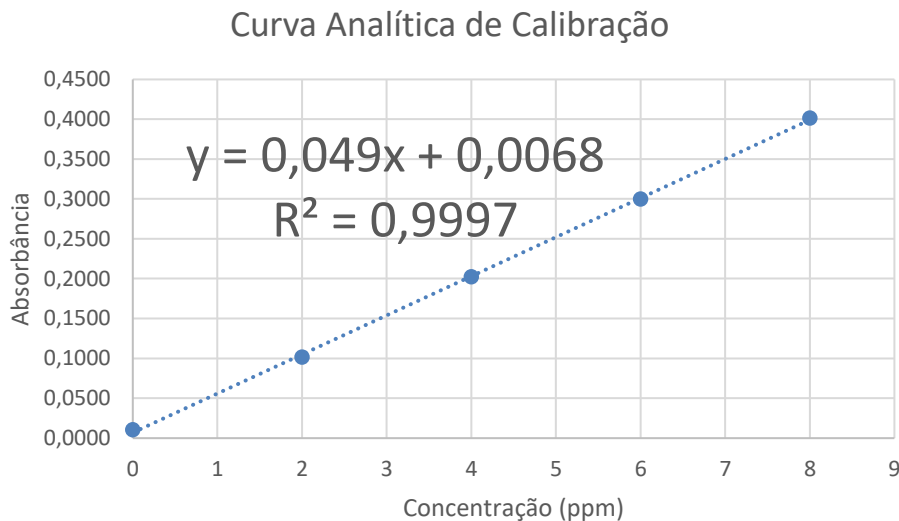
- **Determinação de concentrações**
 - Utilizando-se curvas analíticas

branco soluções de referência amostra



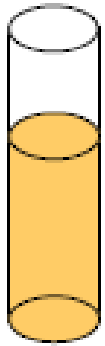
Curva analítica de calibração

C (ppm)	T	A
0	0,9768	0,0102
2	0,7916	0,1015
4	0,6281	0,2020
6	0,5014	0,2998
8	0,3967	0,4015

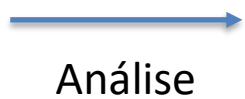


Curva analítica de calibração

$$y = 0,049x + 0,0068$$



Amostra



$$A = 0,1873$$

$$0,1873 = 0,049x + 0,0068$$

$$x = 3,7 \text{ ppm}$$

E a Lei de Beer?

$$y = mx + n$$

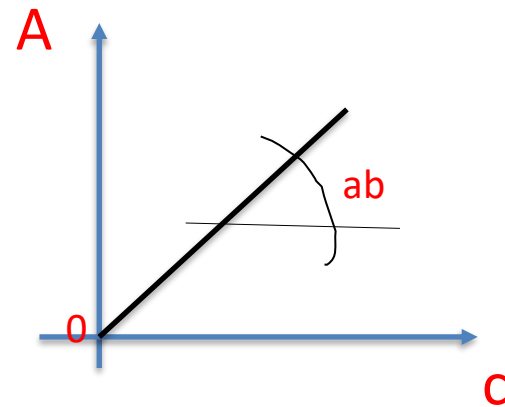
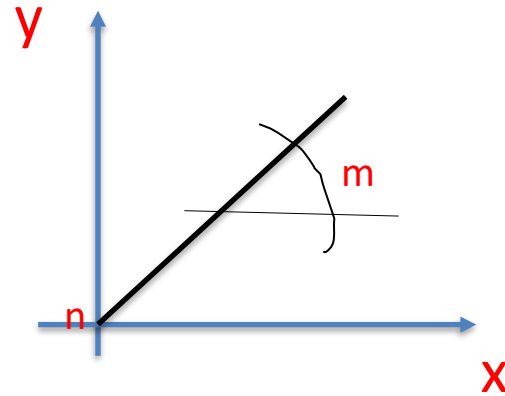
$$A = abc + 0$$

$$y = A$$

$$x = c$$

$$m = ab$$

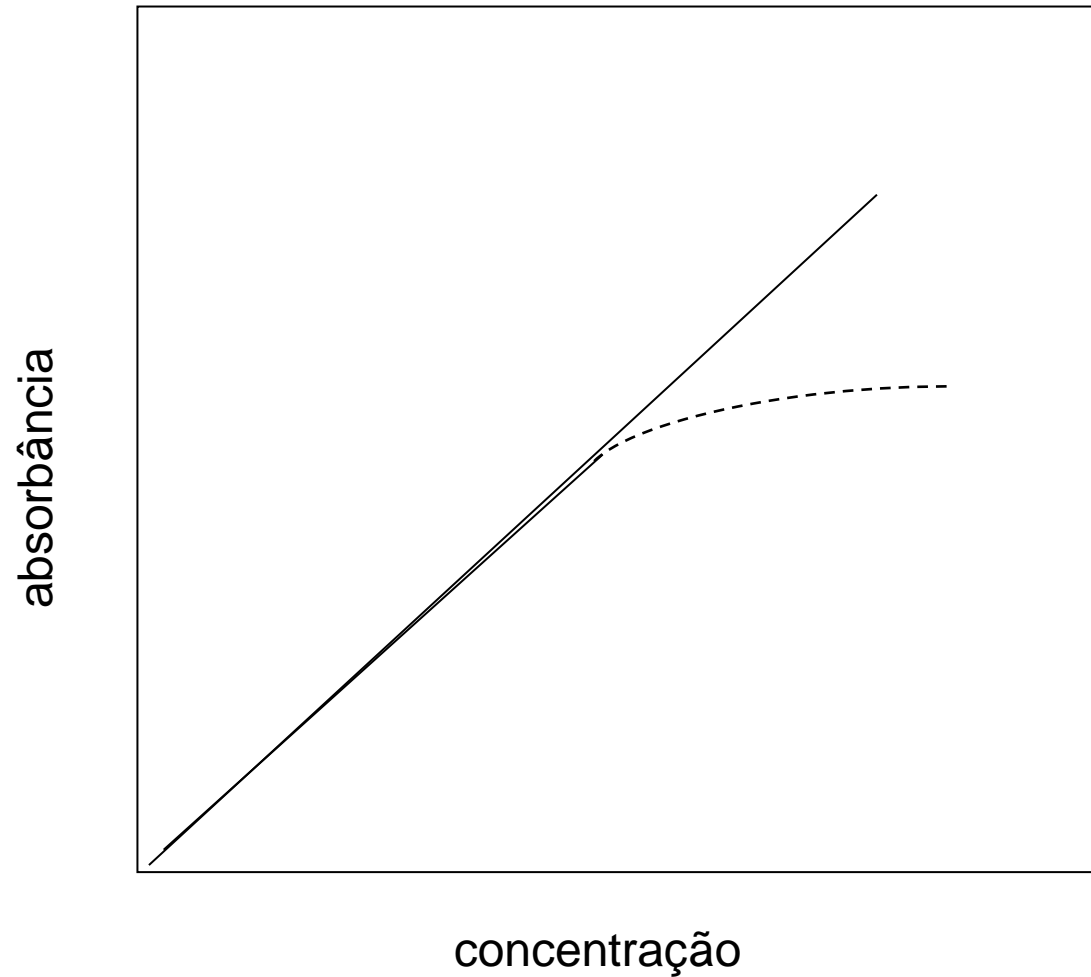
$$n = 0$$



Lei de Beer

- luz monocromática
trabalhar com mesmo comprimento de onda
- meio homogêneo
(mesmo índice de refração em todas as direções)
- ausência de reações indesejáveis entre as moléculas do soluto e moléculas do solvente

Desvios da Lei de Beer



Desvios da Lei de Beer

- A lei de Beer é idealizada para soluções diluídas ($< 0,01$ mol/L)
Nas soluções concentradas a distância entre as moléculas é menor (possibilidade de interações).
- Variação da densidade de carga
- A concentração de outras espécies presentes pode alterar o ϵ
- Interações eletrostáticas – espécies carregadas (Ex.: sais)
- Índice de refração (menos comum)

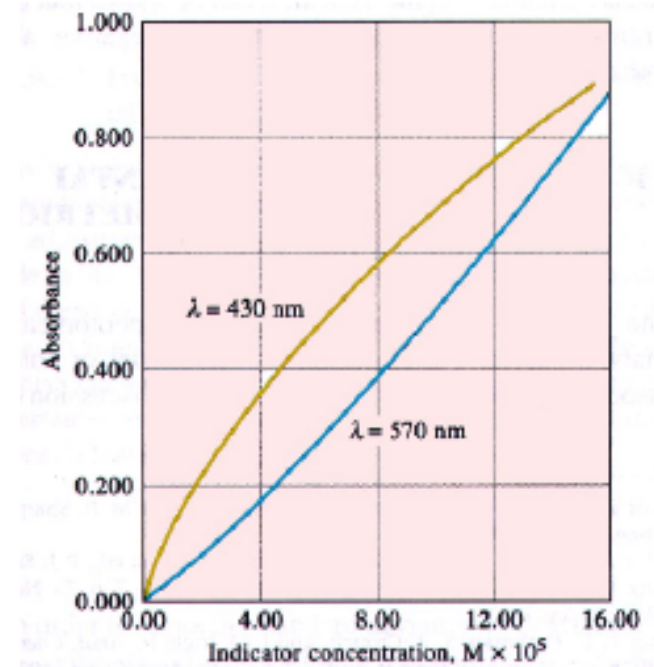
Desvios da Lei de Beer

- Dissociação, associação ou reação com solventes



$$K_a = 1.42 \times 10^{-5}$$

	ϵ_{430}	ϵ_{570}
HIn	6.3×10^2	7.12×10^3
In ⁻	2.06×10^4	9.61×10^2



Desvios da Lei de Beer

- Dissociação, associação ou reação com solventes



$\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ cor laranja (350 nm)

CrO_4^{2-} cor amarela (373 nm)

Desvios da Lei de Beer

- Dissociação, associação ou reação com solventes

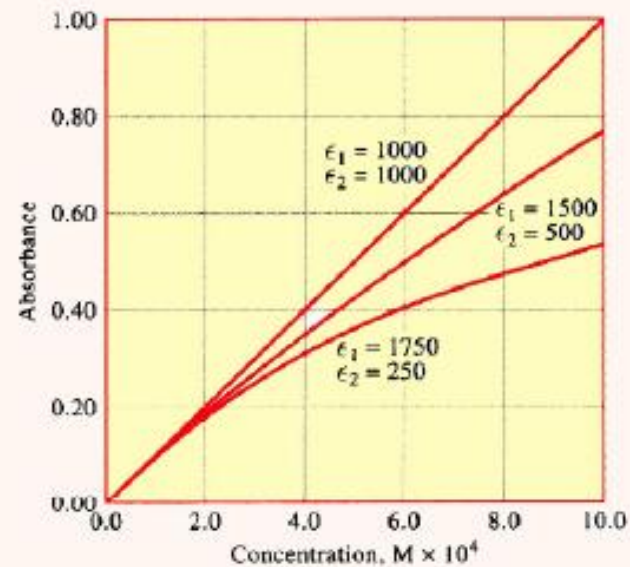
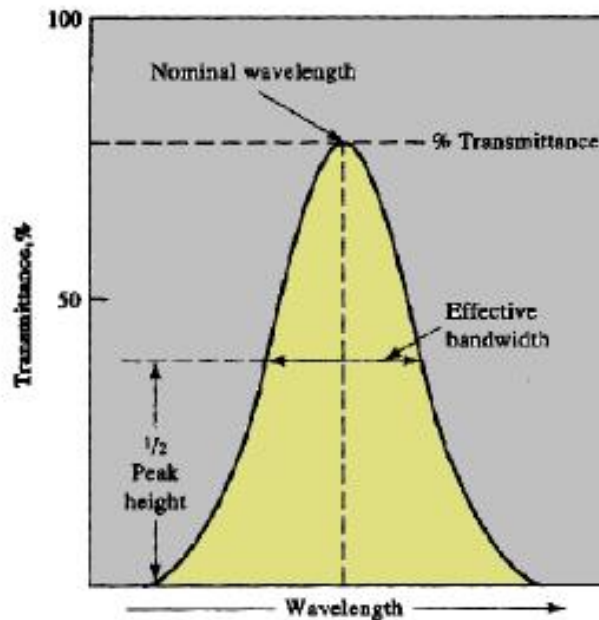
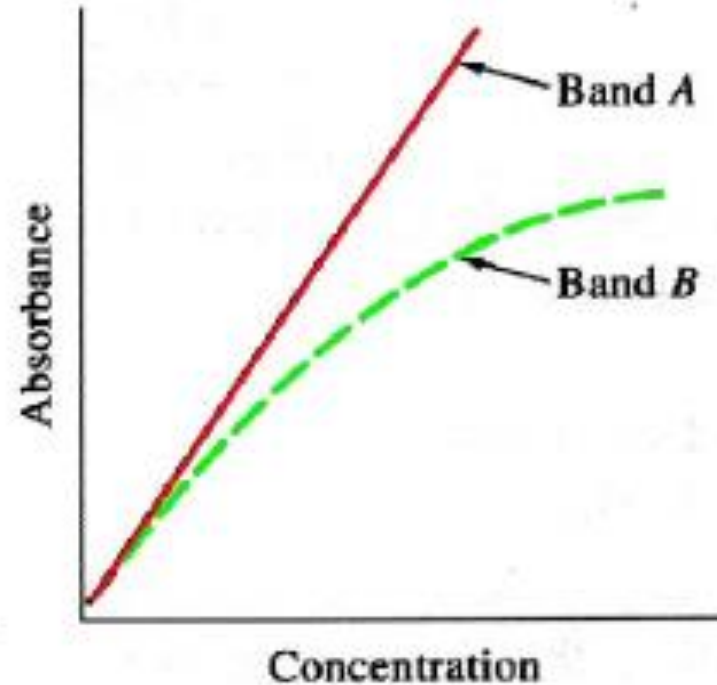
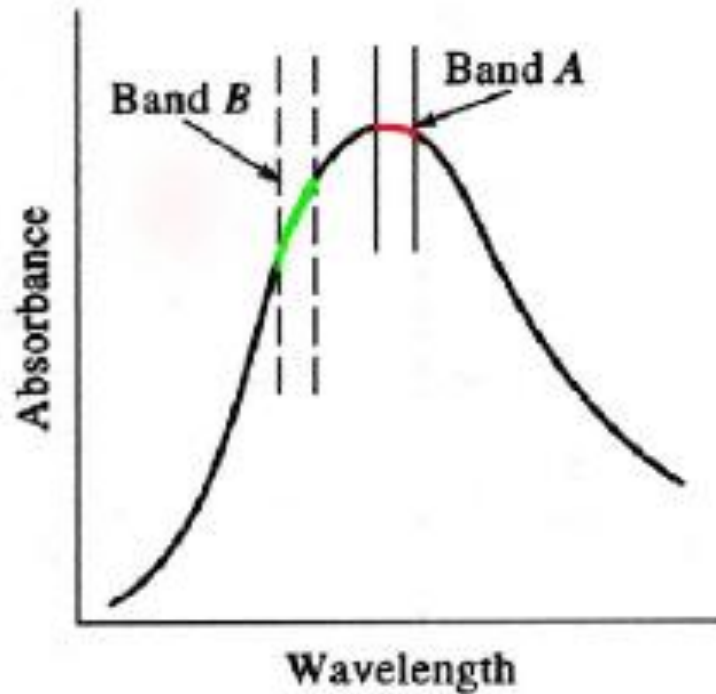


Figure 13-4 Deviations from Beer's law with polychromatic light. The absorber has the indicated molar absorptivities at the two wavelengths λ' and λ'' .

Desvios da Lei de Beer

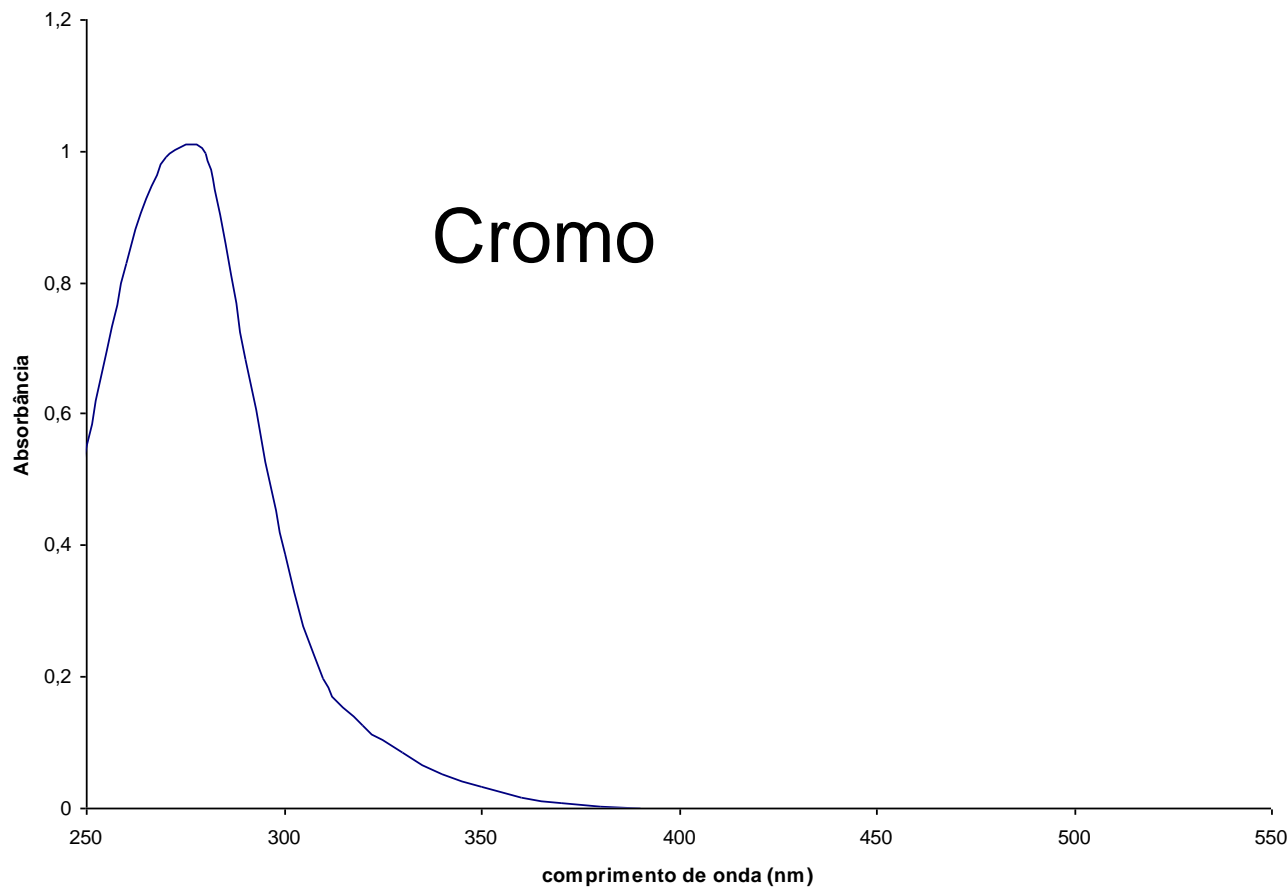
Como escolher o melhor λ com relação a linearidade ?



Reações de Derivação (Derivatização)

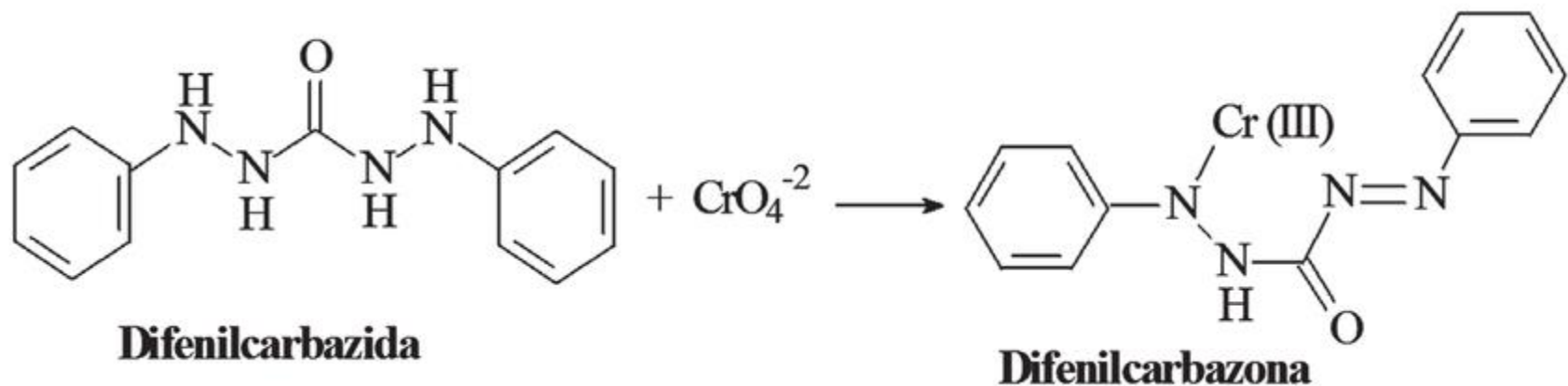
- Reações químicas realizadas entre o analito e um agente derivatizante
 - melhor a detectabilidade do analito

Reações de Derivação (Derivatização)

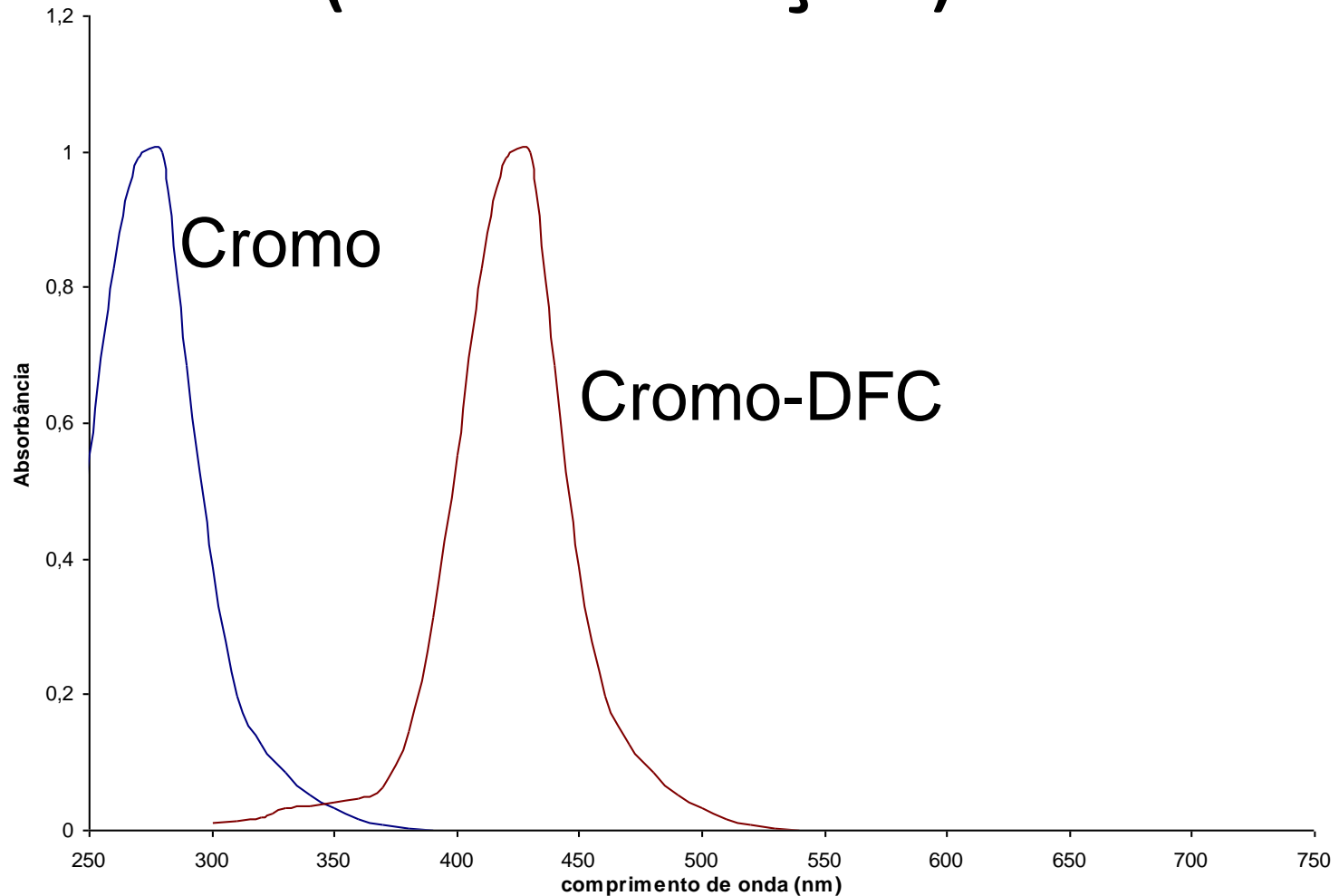


Reações de Derivação (Derivatização)

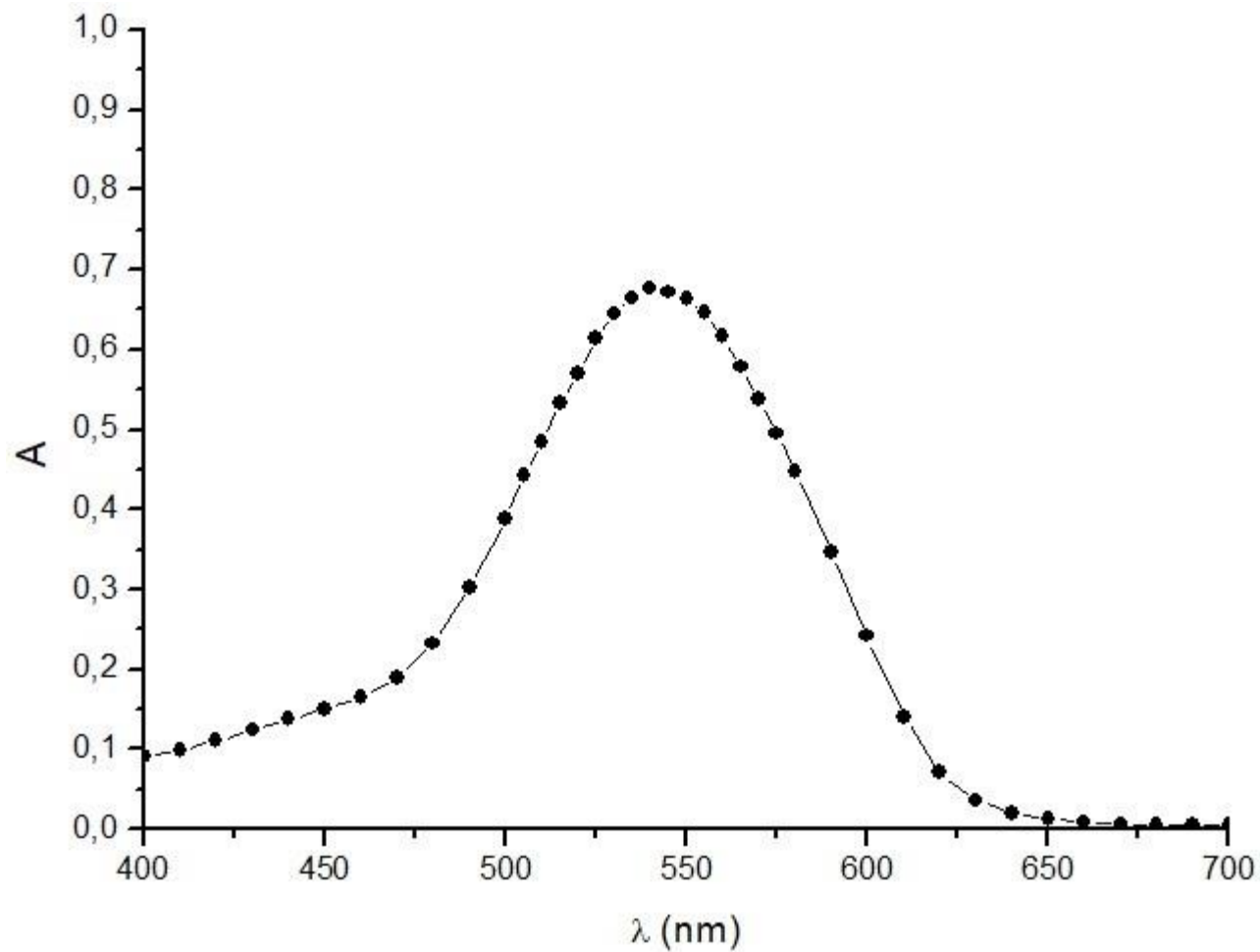
difenilcarbazida (incolor) Cr(VI) (amarelo pálido) → Cr-DFC (vermelho)



Reações de Derivação (Derivatização)

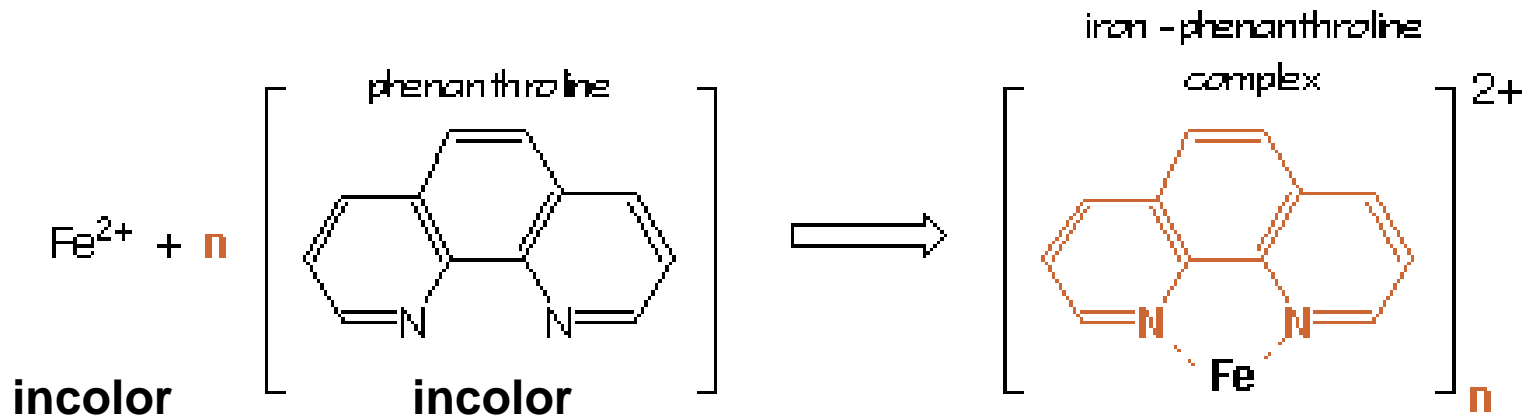


ERRATA: espectro correto de DFC-Cr



Reações de Derivação (Derivatização)

Determinação de Fe em amostras de água



where n = the number of phenanthroline molecules reacting with the iron (II).

complexo vermelho-laranjado

Reações de Derivação (Derivatização)

Determinação de glicose em soro humano (glicemia)

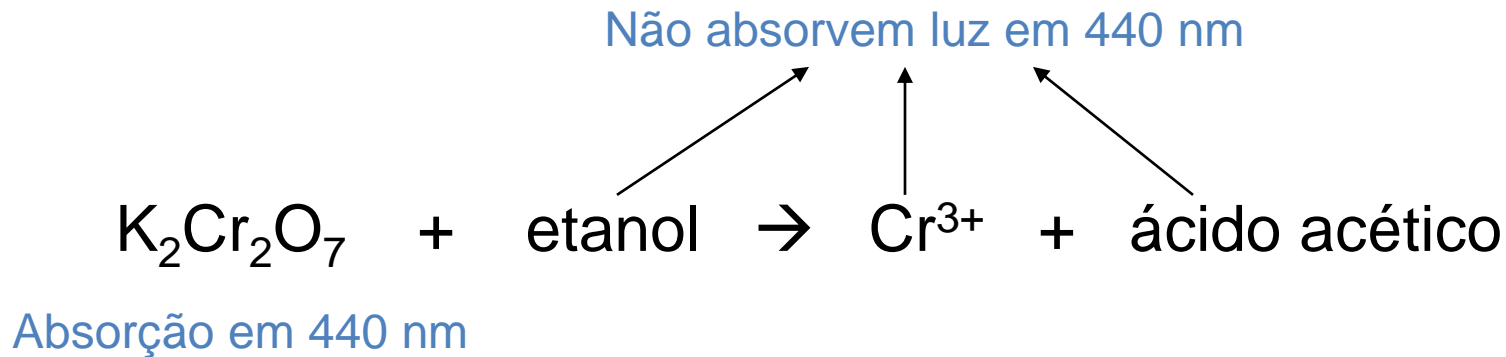
Glicose + o-toluilina → complexo de coloração verde

Determinação de proteínas totais em soro humano

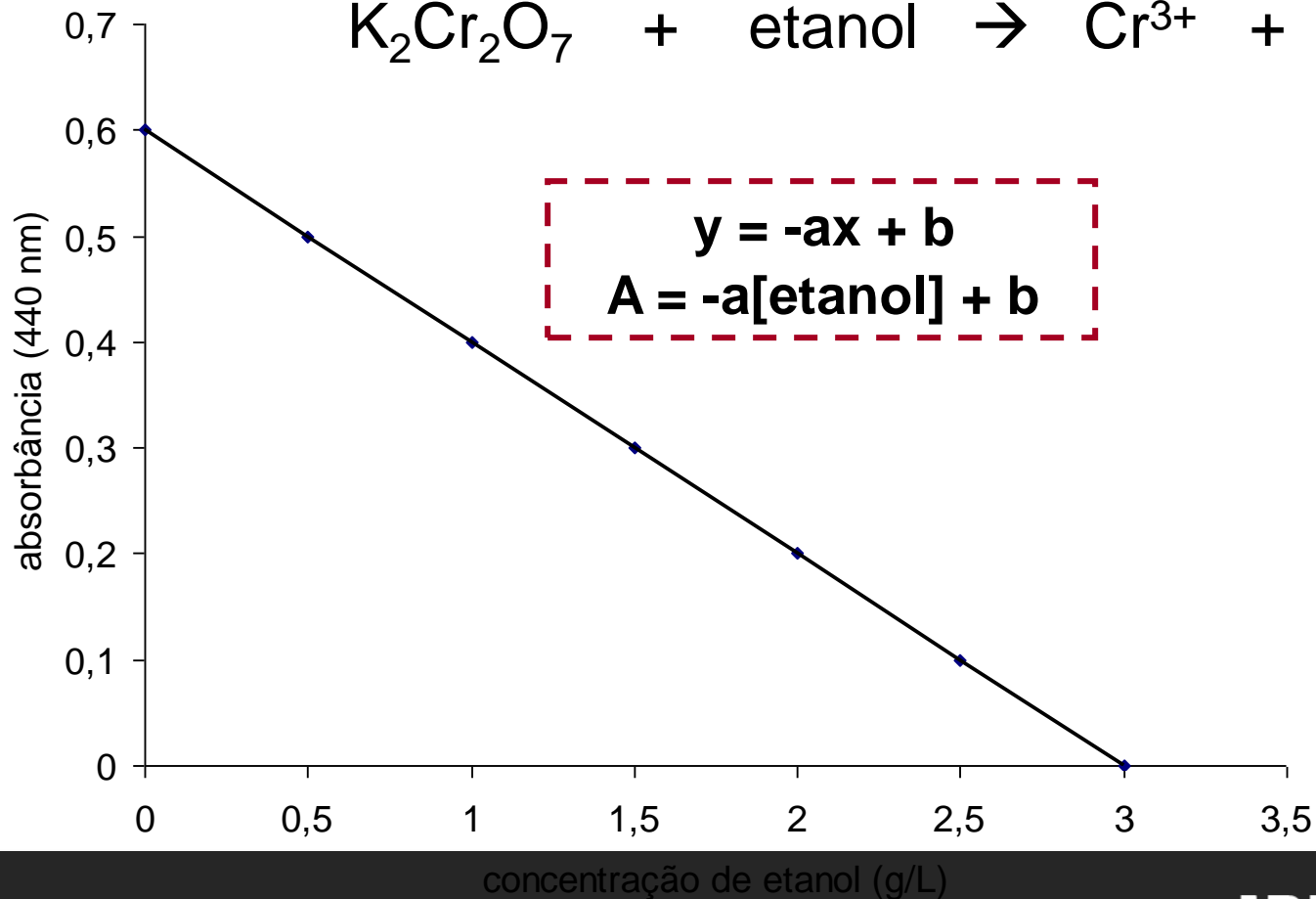
Proteínas + Cu^{2+} + NaOH → complexo de coloração azul-violeta

Reações de Derivação (Derivatização)

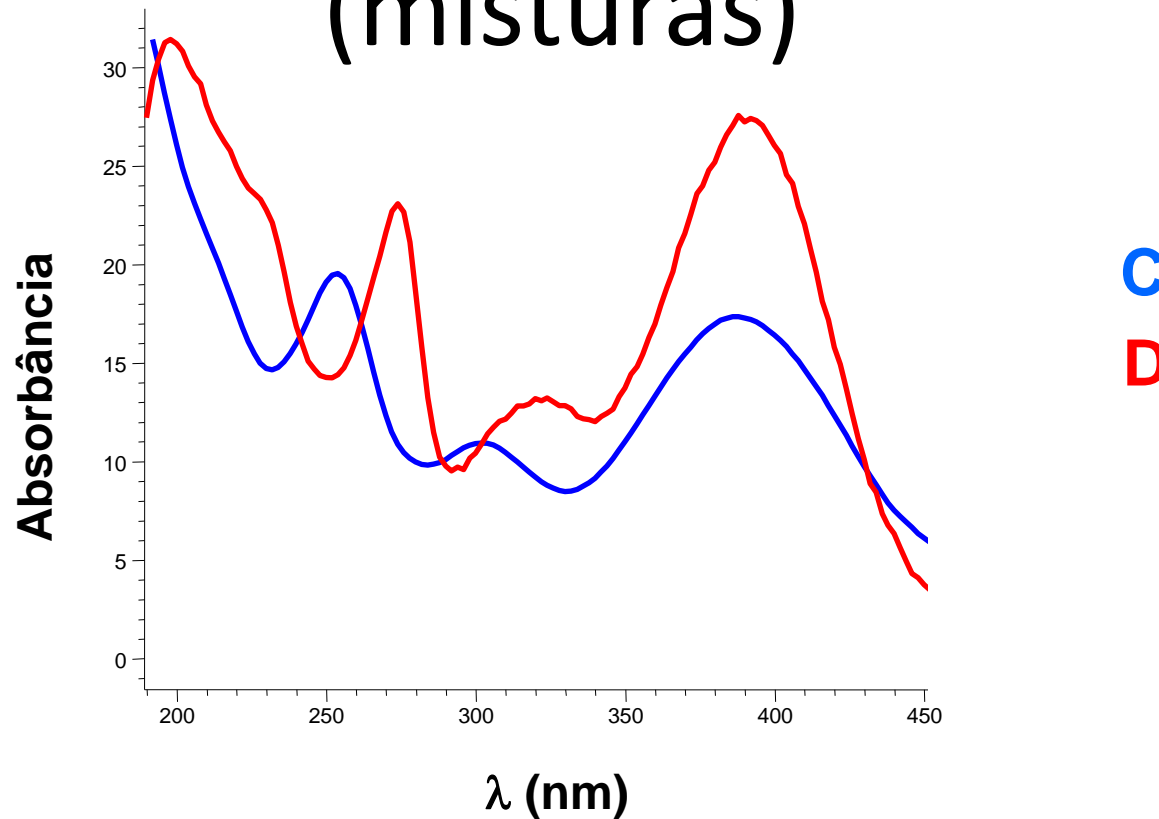
Determinação de etanol



Reações de Derivação (Derivatização)



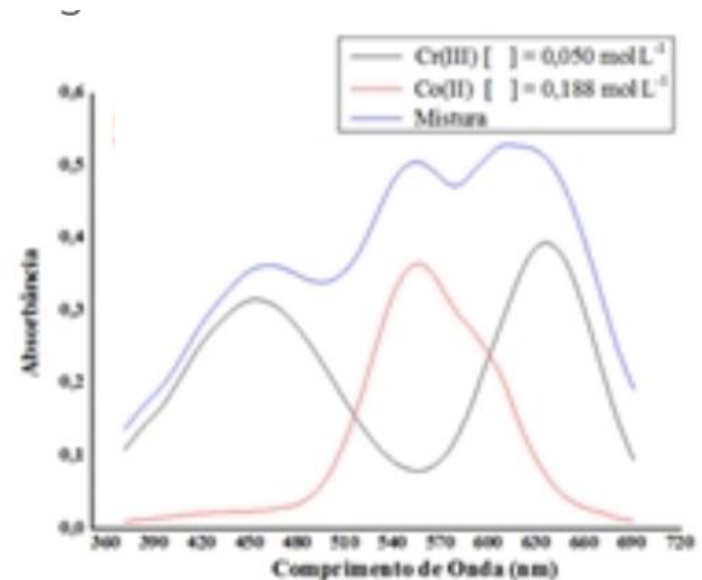
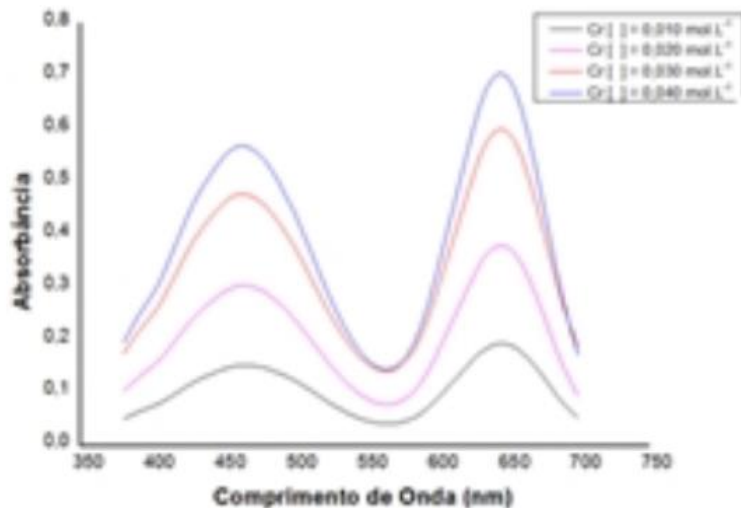
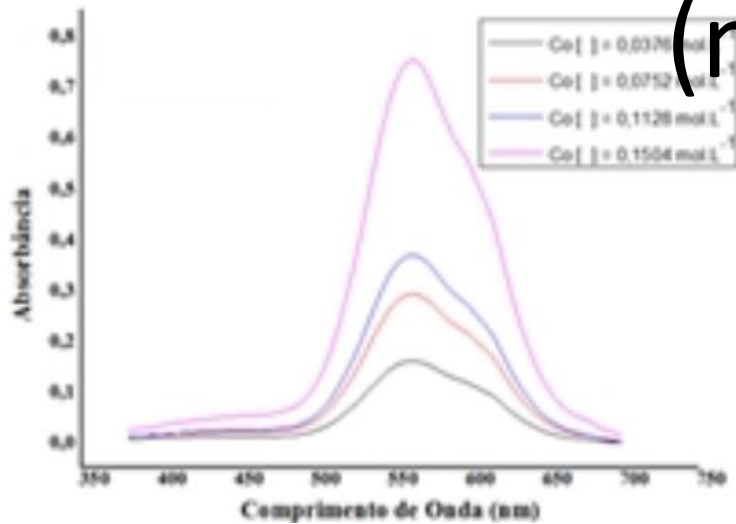
Aditividade da lei de Beer (misturas)



$$A = \epsilon_{C(390\text{nm})} \cdot C_C \cdot b + \epsilon_{D(390\text{nm})} \cdot C_D \cdot b$$

$$A = \epsilon_{C(250\text{nm})} \cdot C_C \cdot b + \epsilon_{D(250\text{nm})} \cdot C_D \cdot b$$

Aditividade da lei de Beer (misturas)



Dúvidas?



Seu desafio é nosso.

macielluz@ipt.br