

ANÁLISE QUÍMICA

Análise Instrumental



Prof. Juarez Denadai

2011

APRESENTAÇÃO

A Química Analítica compreende o conjunto de técnicas e métodos que visam caracterizar a natureza e determinar a composição de amostras de diferentes origens, em termos de elementos, espécies ou agrupamentos de átomos ou moléculas.

O desenvolvimento de métodos analíticos depende do aparecimento de novos instrumentos de medida e da eletrônica. Porém, os princípios básicos que norteiam as determinações analíticas instrumentais continuam basicamente os mesmos de anos atrás.

Devido à necessidade de determinação de concentrações extremamente baixas de diferentes espécies químicas, com rapidez, a análise química encontra-se dependente da disponibilidade de equipamentos modernos o que, em muitos casos, permite a automação das análises. Entretanto, não se deve esquecer que, na maioria dos casos, uma titulação ou um simples ensaio qualitativo por via úmida pode fornecer a informação procurada, e que os métodos volumétricos e gravimétricos tradicionais continuam sendo extremamente úteis nos laboratórios de ensino, pesquisa e industrial.

Não restam dúvidas de que, à medida que o tempo passa, o mercado e os clientes internos ou externos das empresas tornam-se mais exigentes no que se refere à qualidade dos produtos e à própria análise química.

Hoje, os profissionais da química contam com vários equipamentos, a maioria controlada por computadores com softwares que fornecem curvas, resultados rápidos e variados das mais importantes análises químicas.

Aliado a isso, para que a determinação ou a quantificação de componentes de uma amostra material forneça um resultado analítico preciso e confiável, é necessário uma calibração correta dos equipamentos, um espaço físico conveniente, equipamentos funcionais e, ainda mais importante, a formação e treinamento adequado do pessoal técnico.

E é pensando nesse treinamento básico que elaboramos esta apostila, onde procuramos ilustrar os principais temas relacionados à Análise Instrumental, de uma maneira simples, didática e objetiva, que servirão de base aos futuros técnicos químicos para que, ao ingressarem no mercado de trabalho e ao terem contato com equipamentos analíticos variados, não se tornem somente “seguidores de receitas” ou “leitores de manual de aparelhos”, mas que sejam profissionais que entendam o que estão operando e analisando, e que procurem ter iniciativa e criatividade no desempenho do seu trabalho.

1. INTRODUÇÃO AOS MÉTODOS INSTRUMENTAIS

1.1 A ANÁLISE QUÍMICA:

A análise química pode ser realizada de duas formas, dependendo da necessidade do analista:

1ª - quando se deseja determinar quais substâncias estão presentes em determinada amostra

2ª - quando se deseja determinar a quantidade de cada componente ou de certos componentes, presentes na amostra.

No primeiro caso, denomina-se Análise química Qualitativa, e no segundo, Análise química Quantitativa.

As etapas gerais de uma análise química são:

- Formulação da questão (problema)
- Seleção dos procedimentos analíticos
- Amostragem
- Preparação da amostra
- Análise química clássica ou instrumental
- Relatório e interpretação
- Conclusões

Dentre as aplicações práticas da análise química estão:

- Desenvolvimento de novos produtos: onde se determinará se a composição da mistura apresenta certas características que adequem à sua finalidade.
- Análise quantitativa do ar, água e solo para determinar a quantidade de poluentes.
- Análise de solos
- Composição geológica de rochas e amostras de solos
- Controle de qualidade de alimentos

Nos primeiros anos da Química, a maioria das análises era realizada por separação dos componentes da amostra por precipitação, extração ou destilação. Em análises qualitativas os componentes separados eram identificados por sua cor, ponto de fusão ou ebulição, solubilidade, odor, atividade ótica ou seus índices de refração. Em análises quantitativas, utilizavam-se medidas titulométricas ou gravimétricas.

Ainda hoje os laboratórios empregam muitos métodos clássicos de separação e determinação de analitos, mas sua aplicação está diminuindo em função dos novos métodos instrumentais.

Devido ao desenvolvimento tecnológico a que os processos estão sujeitos, a análise química também se desenvolveu e, atualmente, a maioria das análises tanto qualitativas quanto

quantitativas, são realizadas através de instrumentos ou aparelhos próprios, desenvolvidos para realizar uma gama muito grande de análises, surgindo, então a Análise Instrumental.

A análise instrumental não dispensa, entretanto, o conhecimento das análises via úmida tradicionais (qualitativa e quantitativa), nem os fundamentos básicos da instrumentação utilizada, visto que o técnico químico não deve tornar-se um mero “seguidor de receitas ou de roteiros” e, muito menos, um “leitor de manuais de aparelhos”.

Métodos Convencionais de análise química:

Estes métodos não envolvem nenhum equipamento sofisticado, utilizando apenas vidrarias e reagentes. As análises quantitativas que utilizam os métodos convencionais geralmente são baseadas na:

- gravimetria, através de uma balança de precisão;
- volumetria, através de vidrarias ou recipientes cuidadosamente calibradas.

Métodos instrumentais de análise química:

Neste caso são utilizados equipamentos eletrônicos mais sofisticados. Apesar de mais utilizado em relação aos convencionais, podem ter seu uso limitado em função dos seguintes motivos:

1. Alto custo dos equipamentos eletrônicos;
2. Não existência de um equipamento disponível para determinada análise;
3. Existência de requerimento de um método convencional sob o aspecto legal, por se tratar de um método oficial;
4. Em casos raros, os métodos convencionais podem apresentar resultados melhores que os instrumentais.

Exatidão dos resultados analíticos:

Os métodos gravimétricos e volumétricos podem alcançar uma exatidão de até 99,9%, quando o composto analisado se encontra em mais de 10% na amostra. Para componentes presentes em quantidades menores que 10%, a exatidão cai bastante, e então a escolha do método apropriado deve recair em métodos mais sofisticados e exatos como métodos instrumentais.

Quantidade relativa do componente analisado:

Os componentes podem ser classificados em maiores (mais de 1%), menores (0,01 – 1%), micros (menores de 0,01%) e traços (ppm e ppb) em relação ao peso total da amostra. Para os componentes maiores, são perfeitamente aplicáveis os métodos gravimétricos e volumétricos. Para os componentes menores e micro, é geralmente necessário o emprego de técnicas mais sofisticadas e altamente sensíveis, como métodos instrumentais.

1.2 A CIÊNCIA DA INSTRUMENTAÇÃO:

1.2.1 O método instrumental:

Os métodos que dependem da medição de propriedades elétricas, e os que estão baseados na determinação da absorção da radiação, ou na medida da intensidade de radiação emitida, exigem o emprego de um instrumento (por exemplo, espectrofotômetro, condutivímetro, etc.) e, por isso são denominados métodos instrumentais.

Os sistemas instrumentais aplicados à análise e controle químicos, são amplamente aceitos como métodos rápidos, requerem menos separações químicas e são seguros e sensíveis, e são amplamente aplicados na indústria.

A vantagem que se tem sobre os métodos de análise por “via úmida” é de que determinam a composição química através da medição das propriedades físicas, tais como: índice de refração, cor, susceptibilidade magnética, condutividade elétrica, grau de acidez e muitas outras.

Apesar das vantagens oferecidas pelos métodos instrumentais, a sua generalizada adoção não tornou obsoletos os métodos puramente químicos ou clássicos por que:

a) A aparelhagem necessária para os procedimentos clássicos é barata e encontra-se com facilidade em todos os laboratórios; muitos instrumentos, no entanto, são caros e a sua adoção só se justifica quando são muitas as amostras a analisar, ou quando se trata da determinação de substâncias em quantidades diminutas (análise de traços).

b) Nos métodos instrumentais é necessário efetuar uma operação de calibração, em que se usa amostra do material com a composição conhecida como substância de referência.

c) Enquanto um método instrumental é o ideal para a execução de um grande número de determinações de rotina, no caso de uma análise episódica, fora da rotina, é muitas vezes mais simples usar um método clássico do que ter o trabalho de preparar os padrões indispensáveis e calibrar o instrumento.

1.2.2 A natureza de uma medição:

O instrumento para a análise química converte a informação armazenada nas características físicas e químicas da substância em um tipo de informação que pode ser manipulada e interpretada pelo homem. Para conseguir esta informação, é necessário fornecer um ESTIMULO (na forma de energia elétrica, mecânica, nuclear, eletromagnética), para se obter a RESPOSTA do sistema em estudo.

Por exemplo: a passagem de um feixe de luz visível de uma estreita faixa de comprimentos de onda através da amostras para medir o quanto foi absorvido pela substância.

O processo de medição é básico em um método instrumental. Portanto, é importante conhecer os diversos passos envolvidos em qualquer determinação, tais como:

a) Geração de Sinal: a maioria das medições físicas são registros da resposta de uma substância a um sinal imposto. Exemplo: uma determinação da condutividade requer uma corrente elétrica e uma medição da absorção requer um feixe de luz. Quase sempre, os sinais ópticos se originam em uma fonte, e os elétricos em um gerador.

b) Detecção e Tradução: geralmente, a informação é detectada e transformada em uma forma de saída útil através de um só componente. Por exemplo, um tubo fotoelétrico não somente detecta sinais de luzes como as transforma em correntes elétricas. Se substituir por um tubo

fotoelétrico multiplicador, este proporcionará 3 tipos de ações: detecta a luz; transforma em corrente; a amplifica 10⁷ vezes.

c) Amplificação: geralmente os detectores que respondem transformando a informação original em um sinal elétrico, seja corrente ou voltagem, são preferidos devido à possibilidade de amplificação através do uso da eletrônica.

d) Computação: sua função é a conversão do sinal a uma forma útil de apresentação. Por exemplo, nos espectrofotômetros de leitura direta, as concentrações são calculadas automaticamente, usando os dados brutos dos sinais.

e) Apresentação ou Saída: representada por valores impressos em papel ou mostrados em visores, indicador de deflexão de um medidor, etc.

1.2.3 Tipos de métodos instrumentais:

Os principais métodos empregados na análise quantitativa estão baseados:

a) No desempenho quantitativo de reações químicas apropriadas, seja pela medição do reagente necessário para completar a reação (análise volumétrica), seja pela determinação da quantidade de produto obtido na reação (análise gravimétrica).

b) Em medições elétricas apropriadas (por exemplo, potenciometria).

c) Na medição de certas propriedades ópticas (por exemplo, espectrofotometria de absorção).

Assim, temos:

• **MÉTODOS INSTRUMENTAIS ELÉTRICOS:** envolvem a medição de corrente, de voltagem (tensão), ou de resistência, em função da concentração de uma certa espécie em solução. As técnicas que podem ser incluídas nessa categoria são:

- Potenciometria (medida do potencial de um eletrodo em equilíbrio com um íon a ser determinado);

- Condutimetria (medida da condutividade elétrica de uma solução);

- Eletrogravimetria (pesagem do depósito sólido de um eletrodo decorrente da eletrólise da solução).

• **MÉTODOS INSTRUMENTAIS ÓTICOS:** dependem ou da medição da quantidade de energia radiante de um certo comprimento de onda que é absorvida pela amostra (métodos de absorção), ou da emissão de energia radiante e da medição da quantidade emitida com um certo comprimento de onda (métodos de emissão). Podem ser divididos em:

a) Métodos óticos de absorção de luz:

- Espectrofotometria no visível (colorimetria);

- Espectrofotometria no ultravioleta

- Espectrofotometria no infravermelho.

- Espectroscopia de absorção atômica: envolve atomização da amostra (pulverização de uma solução da amostra numa chama) seguida pela determinação da quantidade de luz absorvida.
- Turbidimetria: determina a quantidade de luz absorvida por uma suspensão.

b) Métodos óticos de emissão de luz: envolvem o tratamento da amostra pelo calor ou pela eletricidade, de modo que os átomos são promovidos a estados excitados que proporcionam a emissão de energia; mede-se a intensidade desta energia emitida. As técnicas usuais da excitação são:

- Espectroscopia de emissão, na qual a amostra é sujeita a um arco elétrico ou a uma centelha e examina-se a luz emitida;
- Fotometria de chama, na qual uma solução da amostra é injetada numa chama;
- Fluorimetria, em que uma substância conveniente em solução (comumente um complexo de reagente fluorescente com um metal) é excitada pela irradiação com luz visível ou ultravioleta.

• **MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE SEPARAÇÃO:** a Cromatografia é um processo de separação empregado para separar as substâncias de um mistura, amplamente utilizada para identificar componentes de um mistura e determiná-los quantitativamente. Aplica-se a técnica de separação em que os componentes da solução passam através de uma coluna em velocidades diferentes. A coluna está cheia de um recheio de sólido finamente dividido (usa-se pó de celulose, sílica-gel e alumina) ou de um liquido. Introduzindo-se a solução amostra na coluna junto com um solvente apropriado, os componentes da amostra podem ser separados por adsorção ou partição, em tempos diferentes. Esta técnica pode ser realizada por via úmida (método clássico) ou por via instrumental (automatizada).

TABELA 2 – Propriedades físicas e químicas empregadas em métodos instrumentais

<i>Propriedades características</i>	<i>Métodos instrumentais</i>
Emissão da radiação	Espectroscopia de emissão (raios X, UV, Vis); fluorescência, fosforescência
Absorção da radiação	Espectrofotometria e fotometria (UV, Vis, raios X, IV, RMN)
Espalhamento da radiação	Turbidimetria, nefelometria, RAMAN
Refração da radiação	Refratometria
Difração da radiação	Difração de raios X
Rotação da radiação	Polarimetria
Potencial elétrico	Potenciometria
Carga elétrica	Coulometria
Corrente elétrica	Amperometria, polarografia
Resistência elétrica	Condutimetria

1.3 INSTRUMENTOS PARA ANÁLISE:

Um instrumento para análise química converte a informação armazenada nas características físicas e químicas do analito em um determinado tipo de informação, que pode ser manipulada ou interpretada pelo homem. Geralmente, os instrumentos para análise química compreendem alguns componentes básicos, como os da tabela 3.

TABELA 3 – Alguns exemplos de componentes instrumentais

<i>Instrumento</i>	<i>Fonte de energia (estímulo)</i>	<i>Informação analítica</i>	<i>Transdutor de entrada</i>	<i>Domínio de dados da informação</i>	<i>Processador da informação</i>	<i>Dispositivo de leitura de saída</i>
Fotômetro	Lâmpada de W, filtro de vidro	Feixe de luz atenuado	Fotocélula ou fototubo	Corrente elétrica	Escala	Medidor de corrente
Espectrof. de absorção atômica	Chama	Radiação UV ou Vis	Válvula fotomultiplicadora	Potencial elétrico	Amplificador, monocromador	Unidade digital
pHmetro	Amostra/eletrodo de vidro	Atividade do ion H	Eletrodos vidro-calomelanos	Potencial elétrico	Amplificador	Unidade digital
Comparador de cores	Luz do sol	Cor	Olho	Sinal no nervo ótico	Cérebro	Resposta visual à cor

1.4 SELEÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO:

Como as técnicas apresentadas têm diferentes graus de complicação, sensibilidade, seletividade, custo e tempo, é importante escolher a melhor técnica para realizar uma determinação analítica. Para isso, é necessário levar em consideração:

- a) Tipo de análise: elementar ou molecular, rotineira ou episódica.
- b) Problemas decorrentes da natureza do material investigado: substâncias corrosivas, radioativas, afetadas pela água, calor, etc.
- c) Interferências de outros componentes do material.
- d) Intervalo de concentração que precisa ser investigado.
- e) Exatidão exigida.
- f) Facilidades disponíveis (tipo de equipamento)
- g) Tempo necessário para completar a análise
- h) Número de análises de mesmo tipo que devem ser efetuadas.
- i) Natureza da amostra
- j) Espécie de informação que se procura
- k) Quantidade da amostra disponível

TABELA 4 – Critérios para seleção dos métodos analíticos

Precisão	Limite de detecção
Sensibilidade	Faixa de concentração
Seletividade	Velocidade
Habilidade requerida do operador	Facilidade e conveniência
Custo e disponibilidade	Custo por amostra

TABELA 5 – Comparativo entre as técnicas instrumentais de análise.

Método	Velocidade	Custo	Domínio de concentração (pC)	Exatidão
Gravimetria	L	B	1-2	E
Titrimetria	M	B	1-4	E
Potenciometria	M-R	S-M	1-7	M
Espectrofotometria	M-R	S-M	3-6	M
Absorção atômica	R	M-E	3-9	M
Espectrometria de emissão	R	E	5-9	M
Cromatografia (CLG;CLAE)	R	M-E	3-9	M
Fluorescência de raios X	R	E	0.1 – 0.000001 g	E

pC = log (1/C mol/L); R = rápida; E = elevado; B = baixo; M = moderado; L = lento

1.5 OBTENÇÃO DOS RESULTADOS:

Uma vez escolhida a técnica analítica, a análise deverá ser realizada em duplicata ou, preferivelmente, em triplicata. No caso de técnicas analíticas clássicas, os resultados experimentais devem ser anotados em um registro de análise. Para métodos de análise instrumentais, muitos instrumentos são acoplados a computadores e os resultados analíticos podem ser expostos num monitor e registrados na impressora.

Um cálculo simples converterá os dados experimentais na percentagem do componente presente na amostra. Quando se utilizam computadores acoplados ao instrumento, o registro impresso dará o valor procurado em percentagem, direto.

2. MÉTODOS ESPECTRAIS - ÓPTICOS

Os métodos espectrais antigamente referiam-se ao espectro luminoso - radiações visíveis, que separados em seus comprimentos de onda componentes, produziam um espectro. Hoje a aplicação da espectroscopia foi expandida a outros tipos de radiação eletromagnética, tais como: Raio-X, Ultravioleta, infravermelho, microondas, radiofrequência, dentre outros.

Dentro da análise instrumental, os métodos espectrais são os mais amplamente empregados e se baseiam na interação da energia radiante com a matéria. Nessa aula veremos as características e propriedades das radiações eletromagnéticas e discutiremos a relação entre suas interações com a matéria e as regiões do espectro.

RADIAÇÕES ELETROMAGNÉTICAS - REM

As radiações eletromagnéticas são formas de transferência de energia radiante em linha reta, através de oscilações ortogonais de campo elétrico e magnético. As radiações eletromagnéticas apresentam propriedades de onda e de partículas.

Um grande número de fenômenos óptico pode ser descrito tratando-se as Radiações Eletromagnéticas como ondas como: refração, reflexão, interferência, difração, polarização e dispersão. Entretanto, diferentemente de outros fenômenos ondulatórios, como o som, as radiações eletromagnéticas não precisam de meio material para ser propagadas. Ou seja, a característica ondulatória não é suficiente para explicar as características das Radiações Eletromagnéticas, desse modo é preciso assumir a existência de partículas discretas de energia, chamadas fótons.

Propriedades ondulatórias

As radiações eletromagnéticas têm a componente de um campo elétrico alternado no espaço, sendo essa ortogonal a componente do campo magnético. Entretanto somente a componente elétrica interage com o meio material e por essa razão somente o campo elétrico é considerado para estudo das radiações. Desse modo é importante considerarmos as seguintes propriedades de uma radiação.

Frequência (ν)

A frequência é definida como o número de oscilações de uma onda por segundo, sua unidade usual é o Hertz ($1\text{Hz} = 1\text{ciclo/s}$).

Comprimento de onda (λ)

É a distância linear entre duas cristas de uma onda (ou quaisquer outros dois pontos correspondentes; Figura 1), pode ter como unidades o μm (micrômetro, 10^{-6} m), o nm (nanômetro 10^{-9} m) ou o Å (Ångstron, 10^{-10} m), dependendo da região espectral.

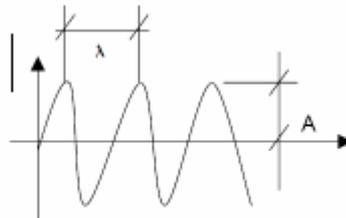


Figura 1: Esquema do Comprimento de onda e da amplitude de uma onda.

Amplitude (A)

É a distância linear ortogonal à direção de propagação, correspondente a distância do máximo ao eixo ou do mínimo ao eixo de propagação (Figura 1).

Número de onda ($\tilde{\nu}$)

Corresponde ao número de oscilações por distância linear (cm^{-1} ou m^{-1}), corresponde ao inverso do comprimento de onda e como tal é dependente do índice de refração do meio.

Velocidade de propagação (c)

A velocidade de propagação é de aproximadamente $2,99 \times 10^8\text{ m/s}$ no vácuo. As relações entre essas propriedades das ondas podem ser obtidas pela Equação 1 abaixo:

$$v = \frac{c}{\lambda} = \nu \cdot c$$

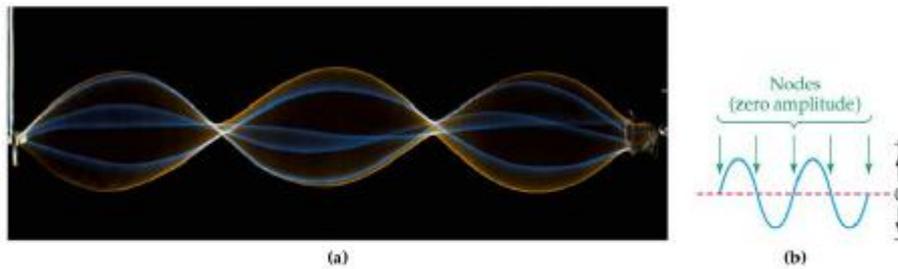
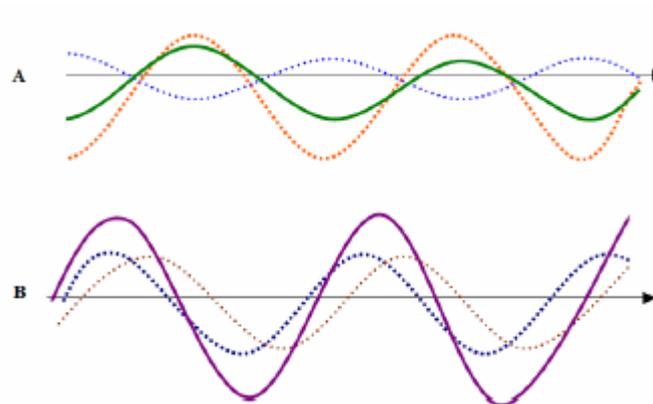


Figura 2: Propagação de uma onda.

Interferências

Tal como outras ondas as Radiações Eletromagnéticas interagem umas com as outras produzindo uma resultante de forças de intensidade maior ou menor dependendo das fases das ondas originais. Esse fenômeno é chamado de interferência.



3. FUNDAMENTOS DA ESPECTROFOTOMETRIA

Muitos métodos analíticos quantitativos e qualitativos fazem uso da interação da energia radiante (radiação eletromagnética = REM = luz) com a matéria são chamados métodos fotométricos ou métodos óticos de análise.

Os métodos fotométricos medem a quantidade de radiação de determinado comprimento de onda que é absorvida ou emitida por uma amostra líquida ou gasosa. No primeiro caso, são chamados métodos óticos de absorção de luz, e no segundo caso, métodos óticos de emissão de luz.

3.1. INTERAÇÃO ENTRE A MATÉRIA E A ENERGIA RADIANTE:

3.1.1- Estados energéticos das espécies químicas:

A teoria quântica, proposta por Marx Planck em 1900, procura explicar as propriedades da radiação emitida por corpos aquecidos. A teoria foi posteriormente estendida para explicar outros processos de emissão e absorção de luz, através de dois postulados importantes:

1° → átomos, íons e moléculas podem existir somente em certos estados discretos de energia. Quando uma espécie altera seu estado, absorve ou emite uma quantidade de energia exatamente igual à diferença de energia entre os estados.

2° → quando átomos, íons ou moléculas absorvem ou emitem radiação ao efetuar uma transição de um estado de energia para outro, a radiação de frequência f ou de comprimento de onda λ está relacionada à diferença de energia entre dos dois estados pela equação:

$$E_1 - E_0 = h.f = \frac{h.c}{\lambda}$$

E_1 = estado de energia mais elevado ou excitado

E_0 = estado de energia mais baixo ou fundamental

c = velocidade da luz no vácuo

h = constante de Planck

λ = comprimento de onda

f = frequência

A energia de um átomo é tanto maior quanto mais distante do núcleo estiver localizada a órbita que o elétron percorre. Geralmente, para um átomo qualquer, quando os elétrons percorrem órbitas situadas o mais próximo possível do núcleo, a energia do átomo é mínima, e o átomo encontra-se no estado fundamental. Os estados de maior energia nos quais um ou mais elétrons percorrem órbitas mais externas, são chamados estados excitados.

Regiões do espectro

O espectro das Radiações Eletromagnéticas é dividido em algumas regiões, para maior conveniência de seu estudo. Essas regiões foram obtidas através de limites práticos adequados a métodos experimentais de produção de detecção de radiações. Essas regiões ainda informam o tipo e o mecanismo de interação com a matéria. As regiões mais importantes são mostradas abaixo.

As de maior importância nas pesquisas e nas aplicações práticas, em função do comprimento de onda (propriedade que fornece uma das principais características da onda): Raios-X (faixa de 10^{-1} a 10 \AA), ondas ultravioletas (faixa de 1 a 400 ηm), o espectro de luz visível (faixa de 400 a 700 ηm), ondas infravermelhas (faixa de 700 ηm a 1 mm) e faixas de radiofrequência que variam de 20 cm até 105 m. (Figuras 5 e 6 e Tabela 1)

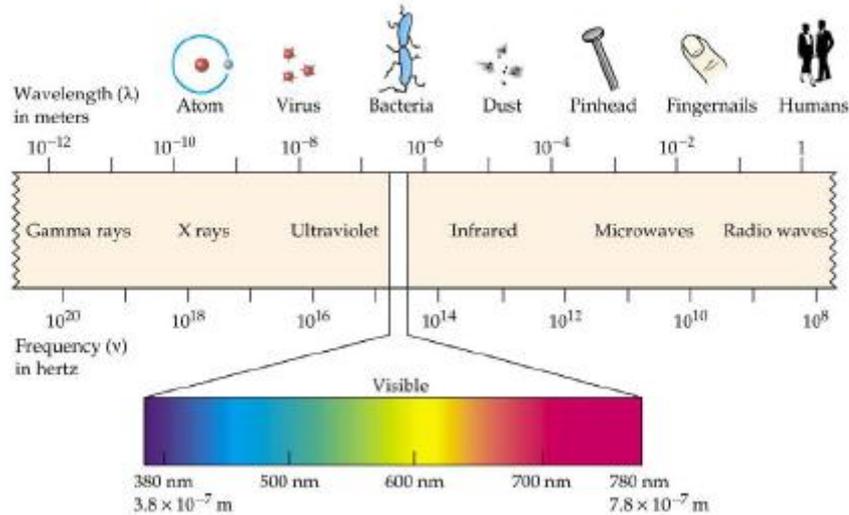


Tabela 1- Relação entre os comprimentos de onda e a interação com a matéria.

Tipos de Radiação	Faixa de Frequência (Hz)	Comprimento de Onda	Tipo de Transição
Raios Gama	$10^{20} - 10^{24}$	< 1 pm	Nuclear
Raio X	$10^{17} - 10^{20}$	1 pm - 1 nm	Elétron interno
ultravioleta	$10^{15} - 10^{17}$	1 nm - 400 nm	Elétrons de valência
visível	$4 - 7,5 \cdot 10^{14}$	400 nm - 750 nm	Elétrons de valência
Infravermelho Próximo	$1 \cdot 10^{14} - 4 \cdot 10^{14}$	750 nm - 2,5 μ m	Vibração molecular dos elétrons de valência
infravermelho	$10^{13} - 10^{14}$	2,5 μ m - 25 μ m	Rotação molecular e Vibração molecular
microondas	$3 \cdot 10^{11} - 10^{13}$	25 μ m - 1 mm	Rotação molecular, elétron com spin excitado
Ondas de radio	$< 3 \cdot 10^{11}$	> 1 mm	Spin excitado em relação ao núcleo

3.1.2- Absorção da radiação eletromagnética:

Quando um feixe de radiação atravessa um meio material – sólido, líquido ou gasoso – certas frequências podem ser seletivamente absorvidas. A energia dos fótons absorvida é fixada por átomos ou moléculas da amostra, que conseqüentemente, sofrem excitação, passando de seu estado energético fundamental para estados energéticos superiores. Por isso, dizemos que quando uma molécula absorve um fóton, a energia da molécula aumenta.

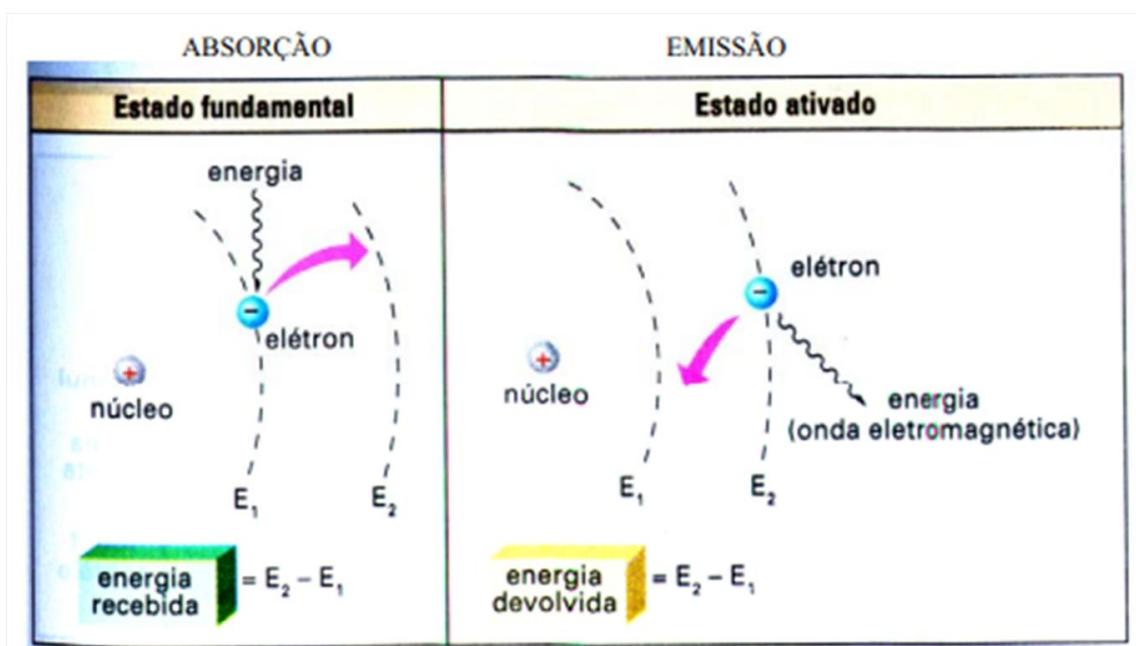
Os átomos, as moléculas e os íons possuem um número limitado de níveis energéticos quantizados. Para que a absorção possa ocorrer, o fóton excitador deve possuir uma energia apropriada ($E = h.f$). Essa excitação pode ser produzida por varias formas, tais como:

- Bombardeamento com elétrons
- Exposição a uma corrente elétrica
- Exposição ao calor de uma chama
- Irradiação com um feixe de radiação eletromagnética ou fonte de luz
- Reação química exotérmica.

As partículas excitadas têm uma duração relativamente curta. Após aproximadamente 10^{-8} segundos, elas retornam ao estado fundamental, e a energia é devolvida ou em forma de calor (mais freqüente), ou a espécie excitada sofre uma transformação química (reação fotoquímica) ficando a energia retida no sistema, ou em outros casos, a radiação é reemitida como fluorescência ou fosforescência.

Então, quanto uma molécula emite um fóton, a energia da molécula diminui.

Exemplificando:



As mais importantes transições atômicas ou moleculares são:

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Raios X | Elétrons das camadas K e L |
| Ultravioleta afastado | Elétrons das camadas intermediárias |
| Ultravioleta próximo e visível | Elétrons de Valência |
| Infravermelho próximo e médio | Vibrações moleculares |
| Infravermelho afastado e microondas | Rotações moleculares |

As radiações visível e ultravioleta tem energia suficiente para provocar transições somente dos elétrons da camada mais externa, ou dos elétrons de ligação. Por outro lado, as

freqüências dos raios X são mais energéticas e são capazes de interagir com elétrons mais próximos dos átomos.

3.1.2.1- Fluorescência e fosforescência:

São importantes processos analíticos de emissão, nos quais os átomos ou moléculas são excitados por um feixe de radiação eletromagnética; então, a emissão radiante ocorre quando as espécies excitadas retomam ao estado fundamental. A fluorescência ocorre mais rapidamente que a fosforescência e geralmente se completa após 10^{-5} segundos a partir do instante da excitação. A emissão fosforescente acontece em períodos superiores a 10^{-5} segundos, e pode permanecer ativa por minutos e até horas.

3.1.3- Emissão de radiação eletromagnética:

Quando o elétron perde a excitação ou a energia absorvida, isto é, passa de um estado energético mais elevado para outro menos elevado, ele emite energia na forma de radiação eletromagnética.

Quanto maior é o salto energético que o elétron realiza ao deslocar-se de uma órbita mais externa para outra mais interna, maior é a freqüência do fóton emitido (e menor seu comprimento de onda) e maior é a energia emitida.

A radiação emitida pelos átomos excitados ao retornarem ao estado fundamental, pode ser exibida em ESPECTROS DE EMISSÃO, como se fossem “fotografias” das transições eletrônicas dos átomos ou moléculas das espécies químicas.

Temos dois tipos de espectros de emissão:

a) ESPECTROS DE LINHAS OU ATÔMICO:

É composto por uma série de linhas estreitas paralelas correspondentes a cada comprimento de onda emitido, geradas pela excitação de átomos individuais do elemento químico, na fase gasosa. São emissões de REM na região do visível e UV e é tanto mais cheio de linhas quanto maior for o número de transições eletrônicas que o átomo pode realizar. Por isso, é característico (específico) para cada elemento, e serve para identificá-lo.

b) ESPECTRO CONTÍNUO OU MOLECULAR:

É composto por uma faixa de comprimentos de onda emitidos, formado por uma banda sem diferenciação entre uma faixa e outra. São emissões de REM provocadas por um sólido incandescente (filamento de uma lâmpada, por exemplo), nas regiões do UV, visível e IF.

3.1.4 – Aplicabilidade analítica da absorção/emissão da radiação

a) Métodos de Absorção - baseados na medida dos comprimentos de onda ou das intensidades da REM absorvidas pela amostra: na análise quantitativa, o n^o de fótons absorvidos é função da concentração ou n^o de átomos, íons ou moléculas das espécies absorventes; na análise qualitativa, os comprimentos de onda absorvidos são característicos dos átomos, íons ou moléculas que os absorvem.

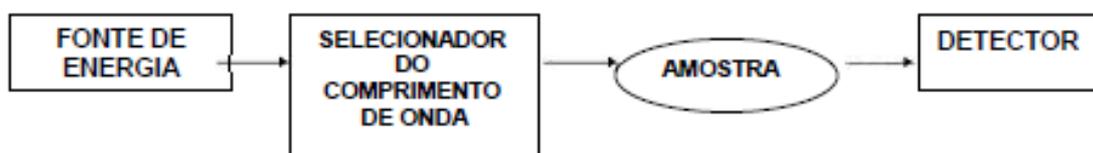


Fig. 1- Diagrama dos componentes usados em métodos analíticos baseados na absorção de energia radiante.



Fig. 2- Diagrama dos componentes usados nos métodos analíticos baseados na emissão da energia radiante.

b) **Métodos de Emissão** - baseados na emissão da energia radiante emitida por átomos, íons ou moléculas excitados. Na análise qualitativa, se baseia na medição dos comprimentos de onda de radiação e na análise quantitativa, se mede a intensidade da radiação emitida.

Os métodos espectrométricos abrangem um grupo de métodos analíticos baseados na espectroscopia atômica e molecular. Espectroscopia é um termo geral para a ciência que estuda a interação de diferentes tipos de radiação com a matéria.

Os métodos espectrométricos ou fotométricos mais amplamente utilizados fazem uso da radiação eletromagnética, que é um tipo de energia que toma diferentes formas, sendo a luz visível e o calor radiante as mais facilmente reconhecíveis. As interações mais sofisticadas incluem os raios gama e raios X, bem como a radiação ultravioleta, microondas e radiofrequência.

Os diferentes métodos espectrométricos empregados pelos químicos para identificação e determinação dos elementos presentes nas várias formas de matéria incluem:

<i>Tipo de espectroscopia</i>	<i>Intervalo de comprimento de onda de trabalho</i>	<i>Tipo de transição quântica</i>
Emissão de raios gama	0,005 a 1,4 Å	Nuclear
Absorção, emissão, fluorescência e difração de raios X	0,1 a 100 Å	Elétrons internos
Absorção, emissão e fluorescência ultravioleta e visível	180-780 nm	Elétrons de ligação
Absorção infravermelha e Raman	0,78 a 300 µm	Rotação / vibração de moléculas
Absorção de microondas	0,75 a 3,75 mm	Rotação de moléculas
Ressonância magnética nuclear	0,6 a 10 m	Spin dos núcleos em um campo magnético

4. COLORIMETRIA E ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL:

4.1. INTRODUÇÃO:

Desde que a cor foi reconhecida como uma característica de certos materiais, ela tem sido utilizada como um meio de identificação. Porém, as análises qualitativas baseadas na coloração são limitadas tanto em precisão como em alcance, já que se baseia no olho humano como detector da energia radiante.

A construção de outros detectores de radiação junto com o avanço da instrumentação tem produzido uma grande extensão das técnicas neste campo, que cobrem todo o espectro eletromagnético desde a região do infravermelho até o ultravioleta.

As técnicas fotométricas estão baseadas na capacidade que as substâncias têm de interagir com frequências de radiação características. Como cada espécie isolada de íon, átomo ou molécula exibirá um conjunto de níveis de energia definidos, absorverá somente as frequências eletromagnéticas que correspondem à excitação de um nível ao outro.

Trataremos dos métodos analíticos baseados na absorção da REM. A luz tem radiações para as quais a vista humana é sensível, e as ondas de comprimentos de onda diversos provocam cores diferentes.

A percepção visual das cores é provocada pela absorção seletiva, por um objeto corado, de certos comprimentos de onda da luz incidente. Os outros comprimentos de onda são refletidos ou transmitidos, e são percebidos como a cor do objeto. Se um corpo sólido opaco tem aparência de branco, todos os comprimentos de onda são refletidos; se o corpo parece negro, a reflexão da luz de qualquer comprimento de onda é mínima; se um corpo parece azul, são refletidos os comprimentos de onda que correspondem à cor azul, e assim sucessivamente.

A variação da cor de um sistema com a modificação da concentração de um certo componente é a base da ANÁLISE COLORIMÉTRICA. A cor é provocada pela formação de um composto corado, resultante da adição de um reagente apropriado, ou pode ser intrínseca do constituinte analisado.

A COLORIMETRIA visa a determinação da concentração de uma substância pela medida da absorção relativa da luz, tomando como referência a absorção da substância numa concentração conhecida.

Na COLORIMETRIA VISUAL usa-se como fonte a luz branca natural ou artificial. As determinações são feitas num instrumento chamado COLORÍMETRO OU COMPARADOR DE CORES.

Quando a vista é substituída por uma célula fotoelétrica (dispositivo detector de radiação) a técnica é chamada de COLORIMETRIA FOTOELÉTRICA e o instrumento é o FOTOCOLORÍMETRO. Neste instrumento, usa-se a luz que está numa banda estreita de comprimentos de onda, que se consegue pela passagem da luz através de filtros (dispositivo selecionador de comprimento de onda), que são materiais coloridos na forma de placas de vidro, gelatina, etc., que só transmitem a luz numa região espectral limitada.

Na ESPECTROFOTOMETRIA a fonte de radiação emite da região visível até a região UV

(160 a 780 nm) do EEM, o que necessita de um instrumento mais complicado, e por isso, mais caro – o ESPECTROFOTÔMETRO.

A principal vantagem dos métodos colorimétricos e espectrofotométricos é a de proporcionarem um meio simples de determinar quantidades diminutas de substâncias.

4.2. ORIGEM DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO UV-VIS:

Quando a luz branca passa por uma amostra, a luz pode ser totalmente refletida, caso a substancia seja branca ou a luz pode ser totalmente absorvida, neste caso a substancia tem a cor negra.

Contudo, apenas uma porção da luz é absorvida e uma parte refletida, a cor da amostra é determinada pela cor refletida. Assim:

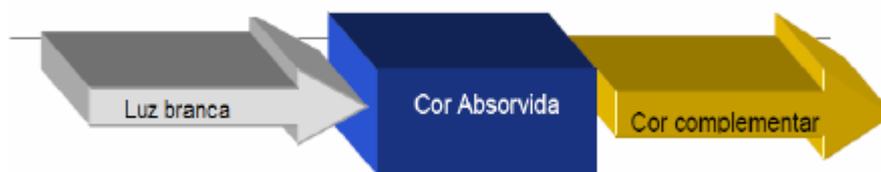
Quando a luz incide em uma amostra, ela pode:

- _ ser totalmente refletida
- _ ser totalmente absorvida
- _ somente uma parte ser é absorvida e restante é refletida

As cores são complementares.

- _ Se o Violeta é absorvido, a amostra é amarelo-esverdeado.
- _ Se o Amarelo é absorvido, a amostra é azul.

Há uma relação entre as cores da substancia e a estrutura eletrônica. Uma molécula ou íon exibirá uma absorbância nas regiões do ultravioleta, quando a radiação for originária de uma transição eletrônica no interior do átomo ou molécula. A energia fornecida por uma fonte de luz promoverá os elétrons do estado fundamental para o estado excitado.



4.2.1- Cromóforos:

Um grupo cromóforo é um grupo funcional, não conjugado com outro grupo, o qual exibe um espectro de absorção característico na região Ultra-Violeta ou Visível.

Um cromóforo é um grupo no qual, quando introduzido a um hidrocarboneto saturado, produz um composto o qual possuem uma banda de absorção entre 180 e 1000 nm. Por exemplo, n-octano é um hidrocarboneto saturado o qual é transparente nesta região. Entretanto, se um grupo nitrila é introduzido no radical octil o composto octilnitrila é produzido. O grupo nitrila é classificado como um cromóforo e apresentara um espectro diferente do n-octano.

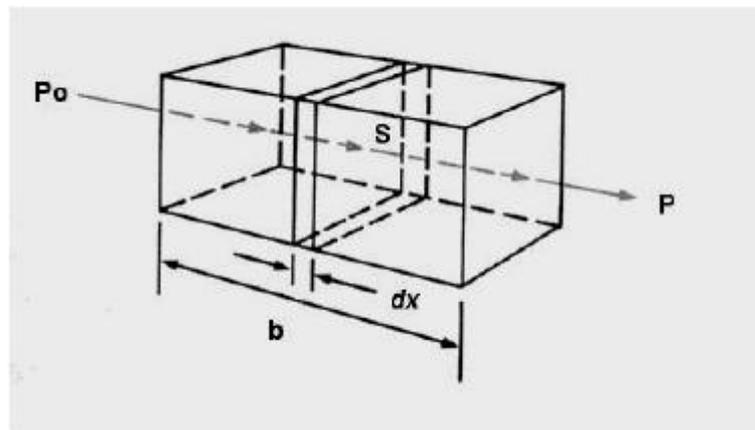
A tabela abaixo ilustra um pequeno grupo de simples cromóforos com seus comprimentos de onda máximo e absortividade molar. A absortividade molar é a medida da intensidade da banda de absorção. Como se pode observar, a intensidade de absorção de diversos cromóforos varia acentuadamente de um grupo para outro.

4.3. TEORIA DA COLORIMETRIA E ESPECTROFOTOMETRIA:

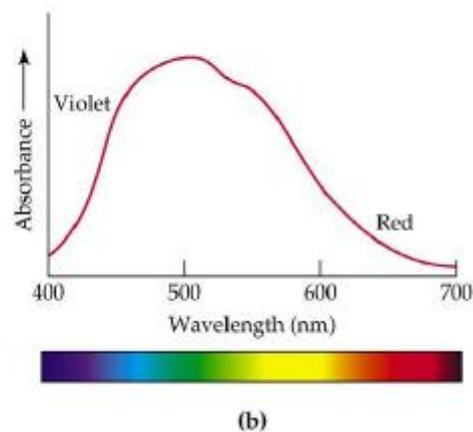
Quando a luz (monocromática ou heterogênea) passa através de um meio, por exemplo, um gás ou líquido, ocorre uma certa perda de intensidade, em decorrência de que uma parcela da luz incidente é refletida, outra parcela é absorvida no meio e o restante é transmitido.

Absorciometria

No estudo das interações das radiações com a matéria é necessário estudar o modelo:



Nesse modelo, observa-se uma quantidade de energia luminosa (P_0) entrando no volume de estudo e a intensidade final (P) saindo desse volume



Transmitância

A relação entre P_0 (intensidade inicial da radiação) e P (intensidade final da radiação que deixa o meio material) é chamada transmitância (T).

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Normalmente a Transmitância é expressa em porcentagem:

$$T = \frac{P}{P_0} \times 100$$

Entretanto a transmitância não é suficiente para converter as intensidades luminosas em concentração, pois a correlação entre T e concentração não é linear.

Daí o emprego de outro conceito chamado de Absorbância.

Absorbância

É a relação que expressa a relação entre a intensidade da radiação e a concentração do composto absorvedor. A relação entre a absorbância (A) e a transmitância (T) é dada pelas Equações abaixo:

$$A = -\log \frac{P}{P_0}$$

$$A = -\log T$$

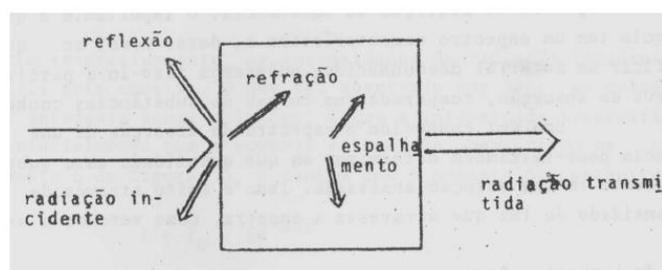
Ao se considerar a transmitância, ou a absorbância, e a fim de continuar nosso estudo devemos estudar como essas propriedades variam.

4.3.1- A lei de Beer-Lambert:

Lambert estudou a transmissão de luz por sólidos homogêneos. Beer estendeu o trabalho de Lambert ao estudo de soluções. Pode-se apresentar as conclusões dos dois pesquisadores na forma de uma lei conhecida como a Lei de Lambert-Beer.

Através dessa lei, intensidades da radiação incidente e emergente podem ser relacionadas com as concentrações do material presente na solução. Vamos discorrer brevemente sobre essa lei, com os seguintes esclarecimentos:

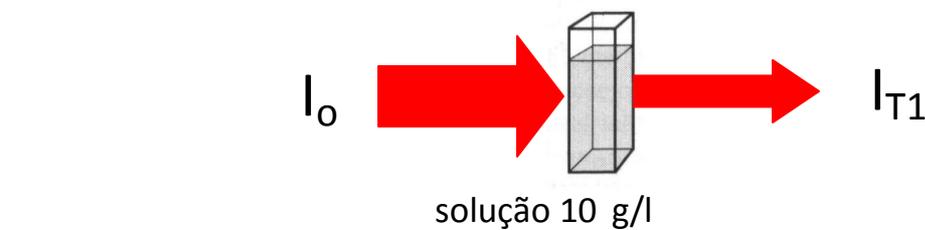
1. São considerados desprezíveis os efeitos de reflexão, refração e espalhamento.



2. A radiação incidente deve ser monocromática, isto é, conter somente um comprimento de onda. I_0 e I são, respectivamente, as intensidades da radiação incidente e transmitida pela amostra. Muitas vezes, a intensidade transmitida decai exponencialmente com o aumento do caminho percorrido na solução (comprimento l), e também com o aumento da concentração c .

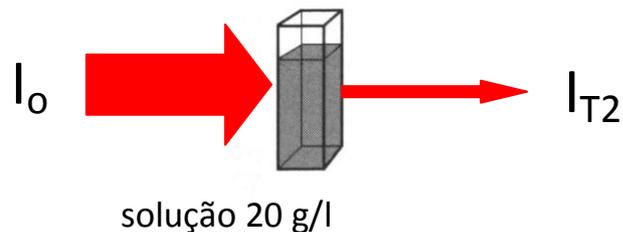
Suponha-se que uma radiação monocromática de potência I_0 incide sobre as faces planas e paralelas de uma cubeta de espessura b , a qual contém uma solução de uma espécie química que absorve energia radiante. Designando por I , a potência da radiação que emerge da cubeta, sabe-se que $I < I_0$, devido à absorção da radiação pela espécie química contida na solução que preenche a cubeta.

É fácil perceber que a diminuição da potência da radiação incidente é dependente do número de partículas absorventes encontradas pelo feixe ao atravessar a cubeta. Isso é o mesmo que dizer que a atenuação da potência da radiação depende da concentração da solução (c) e do percurso da radiação (b) no interior da cubeta.

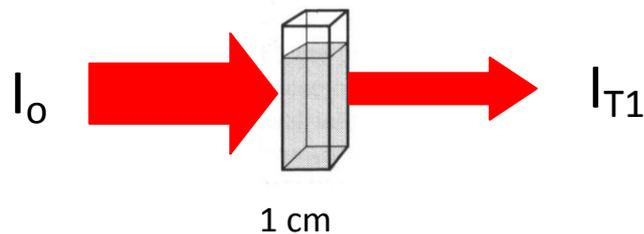


feixe de luz de

.....

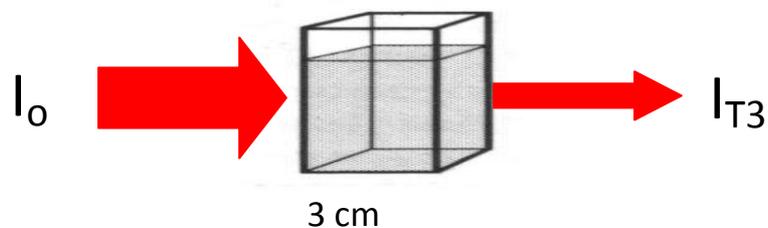


2. A absorção da luz é tanto maior quanto maior for à distância percorrida pelo feixe luminoso através das amostras:



feixe de luz de

.....



Juntando (1) e (2), temos a **lei de Beer-Lambert**:

Absortividade

absorvância

$$A_{\lambda} = \epsilon_{\lambda} \cdot c \cdot l$$

distância percorrida
pelo feixe luminoso

concentração
da solução
absorvente

sendo c a concentração do material em estudo, l o comprimento interno do recipiente que contem a solução, e ϵ_{λ} (epsilon) é *absortividade* ou *coeficiente de absorção*, um fator característico da substancia absorvedor (e o solvente), que depende do comprimento de onda da radiação.

A absortividade molar (ϵ) é preferível quando se deseja comparar quantitativamente a absorção de várias substâncias. Para uma mesma espessura do absorvedor (caminho óptico), quanto maior o valor de ϵ maior a sensibilidade do método. \square é uma medida da quantidade de luz absorvida por unidade de concentração".

A absorbividade molar é uma constante para uma substância específica, de modo que se a concentração da solução é reduzida para a metade, também a absorbância cairá pela metade, que é o que nós esperaríamos.

Nesta equação,

$$A_{\lambda} = \log_{10} \frac{I_0}{I_T}$$

I_0 – luz incidente

I_T – luz transmitida

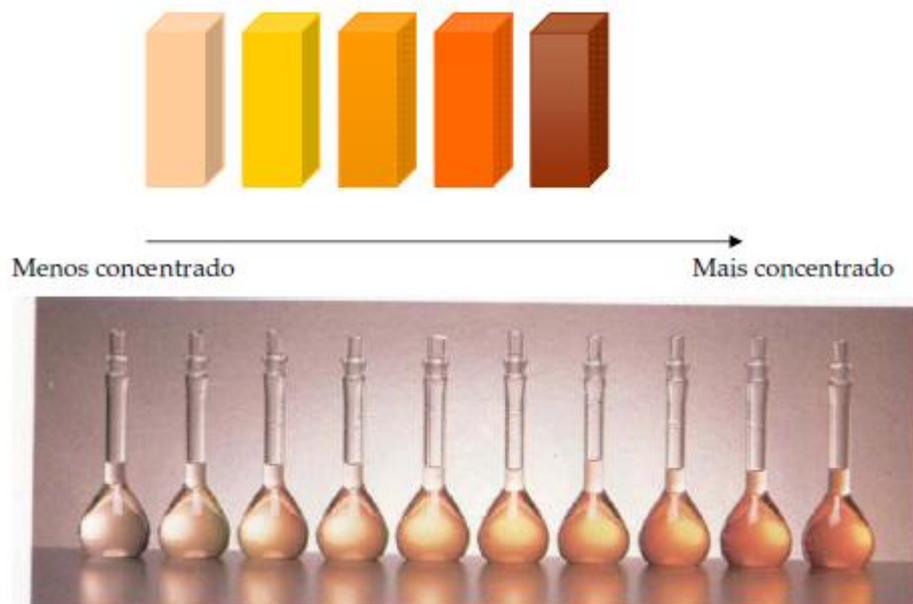
ϵ_{λ} –absortividade molar ou coeficiente de absorção.

c – concentração da substância (em moles/l)

Normalmente usam-se *cupetas* com 1 cm de comprimento, de modo que a equação fica:

Ou seja, a **absorbância** da luz a cada comprimento de onda λ é **diretamente proporcional à concentração** da solução contida na cubeta. Esta linearidade deixa de ocorrer a concentrações muito elevadas da substância, podendo nesses casos diluir previamente a amostra a medir.

Sabe-se que sais coloridos, diluídos em diferentes proporções apresentam diferentes nuances de cor. Por exemplo, o cromato de potássio deve se apresentar semelhante à figura a seguir:



Ou seja, aumentando-se a concentração diminui-se a intensidade de luz que atravessa o meio contendo nossa substância de estudo.

De uma maneira geral, para uma solução de dada substância, em um certo solvente, analisada a um certo comprimento de onda da radiação, pode-se traçar uma curva da *absorbância* A em função da concentração c ; a partir dessa curva será possível determinar a concentração de qualquer amostra dessa solução.

4.4. CURVA DE CALIBRAÇÃO:

Uma curva de calibração mostra a resposta de um método analítico para quantidades conhecidas de constituinte.

- Soluções contendo concentrações conhecidas de uma substância são chamadas soluções-padrão.
- Soluções contendo todos os reagentes e solventes usados na análise, mas sem a adição da substância de interesse, são chamadas soluções branco. O “branco” mede a resposta do procedimento analítico para impurezas ou espécies interferentes nos reagentes.

A relação entre Absorbância de uma solução e a sua concentração é proporcional, de maneira que é possível utilizar tais valores para construir curvas de calibração ou analíticas.

Os instrumentos atuais estão calibrados para fazer leituras seja em % de Transmitância, em Absorbância ou em ambas. A figura abaixo ilustra graficamente as relações existentes entre transmitância, absorbância e concentração, em um determinado comprimento de onda.

Os valores de absorvância plotados em papel milimetrado, quando a Lei de Beer é obedecida, formam uma reta perfeita, o que não ocorre nas curvas feitas com %T.

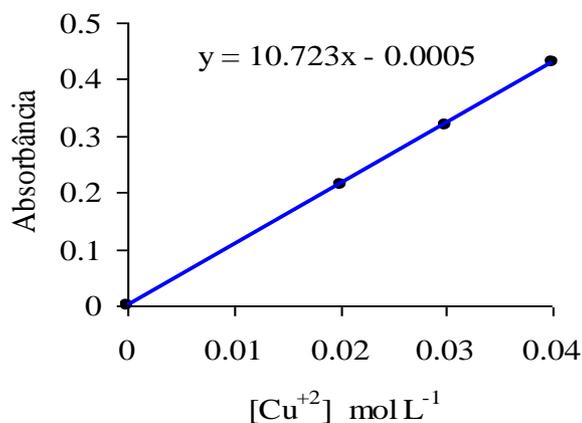
Uma relação linear (reta) em qualquer um dos gráficos indica que a substância em solução obedece a Lei de Beer, nas condições da análise, e pode servir de curva de calibração para a determinação da concentração de soluções de mesma natureza. Quando há uma resposta linear o sinal analítico corrigido (= sinal da amostra – sinal do branco) é proporcional à quantidade de constituinte.

Atualmente, a maioria dos equipamentos dispõe de programas (softwares) que expressa os resultados da análise e constrói sua curva de calibração, armazenando-as para quando forem necessárias em outras determinações.

4.4.1- Procedimento para construção da curva de calibração no espectrofotômetro:

1. Prepara-se uma série de soluções padrão contendo a espécie em estudo, a diferentes concentrações perfeitamente conhecidas, cobrindo uma faixa conveniente de concentração;
2. A resposta do fotocolorímetro é ajustada em 100% de T ao inserir-se a solução de referência (branco); se o fotocolorímetro apresenta A no lugar de %T, a leitura do branco estaria fixada em 0 (zero).
3. Determina-se a absorvância (ou %T) de cada uma dessas soluções padrão e constrói-se o gráfico de A (absorvância) em função de C (concentrações das soluções padrão), em papel milimetrado.
4. Pode ser usado o aplicativo Excel para tabular as leituras e concentrações das soluções padrão. O ajuste da reta é feito pelo método dos mínimos quadrados, e uma equação da reta é apresentada, facilitando o cálculo da concentração da amostra pela equação (ver capítulo 2).

O conjunto de soluções de números 1 a 5 constitui o que se denomina *curva de calibração ou curva padrão*, e é o nosso referencial indispensável para determinar a concentração de qualquer solução, desde que se conheça sua absorvância. Ela pode ser representada em um gráfico de coordenadas cartesianas como uma reta, o que já era indicado pela Lei de Beer, que permite calcular concentrações graficamente, conforme indicado na Figura.



4.4.2- Desvios da lei de Beer-Lambert:

Esses desvios podem ser classificados como positivos ou negativos, e ocorrem quando algumas das seguintes condições ideais para as determinações não são respeitadas:

- comprimento de onda determinado para a espécie absorvente em questão
- meio homogêneo (sem turbidez)
- ausência de reações indesejáveis entre moléculas do soluto e solvente

Alguns destes desvios podem ocorrer como consequência da maneira como as medidas de absorbância foram feitas ou como resultado de mudanças químicas associadas com variações de concentração. A lei de Beer é bem sucedida ao descrever o comportamento da absorção de soluções com concentrações relativamente baixas (usualmente $< 0,01$ M).

Os desvios podem ser divididos em dois grupos: desvios químicos e desvios devido ao instrumento :

Desvios químicos:

- interação química do soluto com reagentes de análise ou impurezas
- alta concentração da solução (maior que $0,01$ mol/L)
- variações no pH
- pureza e estabilidade dos reagentes
- tempo de leitura (estabilidade química) temperatura na qual desenvolve-se a cor

Desvios devido ao instrumento:

- desgaste nos fotodetectores
- troca de lâmpada por outra não correspondente
- pó sobre a ampola da lâmpada
- uso de filtros de outros aparelhos. Cada vez que se troca um filtro, o instrumento deverá ser recalibrado.
- Uso de tubos de vidro comum ao invés de cubetas especialmente fabricadas para o aparelho
- Perda de calibração do comprimento de onda
- Flutuações na fonte de radiação.

4.5. A CURVA DE ABSORÇÃO:

Para se encontrar a máxima absorção de uma substância devemos saber qual o comprimento de onda de luz adequado para que ela absorva mais intensamente.

Quando esse comprimento de onda que deverá estar calibrado o aparelho para aquela análise não for disponível, deve-se construir uma Curva de Absorção para aquela substância que se quer determinar a sua concentração , da seguinte forma:

1. Prepara-se uma solução padrão da substância a analisar.
2. Determina-se a absorbância dessa solução padrão em vários comprimentos de onda, dentro de uma escala por ex. de 400 a 700 nm, onde a cada 50 nm determina-se uma absorbância.

3. Plota-se os valores obtidos de absorvância nas ordenadas e de comprimento de onda na abscissa. No valor de máxima absorção (pico) seus comprimentos de onda correspondente será o ótimo para realizar a análise daquela substância.

Espectro de absorção ® gráfico que mostra a variação de A com comprimento de onda.

4.6. DETERMINAÇÃO NUMÉRICA DA CONCENTRAÇÃO DE UMA SOLUÇÃO:

Requisitos:

a espécie a ser analisada deve absorver luz em λ conhecido ® λ de absorção deve ser diferenciado de outras substâncias presentes na amostra.

Preparo de um “branco”: solução que contém todos os reagentes presentes na solução da espécie a ser analisada (amostra), **menos** a espécie a ser analisada. Subtrai-se Absorvância do branco da Absorvância da amostra antes de realizar os cálculos.

a) Por comparação com uma solução padrão FÓRMULA MATEMÁTICA:

É necessário ler a absorvância (A_p) de uma solução padrão de concentração conhecida (C_p) e a absorvância da solução amostra (A_a).

Considerando que a absorvância é proporcional à concentração do soluto, essa relação permite o cálculo da concentração da solução amostra (C_a) pelo FATOR DE CALIBRAÇÃO (F_c): $F_c = C_p/A_p$

Mas: $C_a = A_a \times F_c$

Substituindo F_c deriva a equação: $C_a = A_a \times C_p / A_p$

b) Utilizando a curva de calibração (manual ou automática) PELA CURVA:

1. Preparam-se as soluções padrão da substância problema numa faixa de concentração próxima do valor esperado, considerado normal. Por ex., no caso de uma curva para determinação de fósforo, em que o valor estimado da substância encontra-se em torno de 4 ppm, as soluções padrão devem abranger valores compreendidos pelo menos entre 2 e 6 ppm.
2. Com os valores obtidos no espectrofotômetro, constrói-se a curva de calibração plotando-se as leituras de absorvância na ordenada (eixo y) e as concentrações na abscissa (eixo x). Se a leitura for em %T, calcula-se a absorvância para que a curva seja linear.
3. Faz-se a leitura da solução problema (amostra) e localiza o valor da absorvância da amostra no eixo y da curva, interceptando-a para encontrar a concentração correspondente no eixo x.
4. A curva deve ser traçada em papel milimetrado.
5. A curva pode ser traçada em planilhas eletrônicas (*Excel*) que traçam gráficos a partir de resultados experimentais em tabelas, e calculam a concentração a partir das curvas de calibração, fazendo o ajuste da reta pelo método dos mínimos quadrados, o qual dá uma equação do tipo $y = ax + b$, usada para calcular a concentração da amostra.

Observações para o preparo da curva de calibração:

- As condições de trabalho para a construção da curva com soluções padrão devem ser mantidas em relação à solução problema (seleção do mesmo comprimento de onda, cubeta, lâmpada, pH, reagentes, temperatura).
- Se a curva for construída com diluição de 1:10, por exemplo, a solução problema deverá ser diluída de 1:10.
- A curva deverá compreender faixas úteis, ou seja, valores situados abaixo do normal, dentro do normal e acima do normal do elemento ou substância pesquisada.
- A curva deverá ser traçada numa faixa de concentração da substância que siga a Lei de Beer, utilizando o comprimento de onda de máxima absorção.

4.7. INSTRUMENTAÇÃO:

Espectrofotômetros em geral são instrumentos compostos por um conjunto de componentes do seguinte tipo:

- uma **fonte de radiação eletromagnética**
- um conjunto de **componentes ópticos** que levam esta radiação até a amostra
- um **compartimento de amostra** e um ou mais **detectores** que medem a intensidade de radiação.

Dependendo da finalidade e do fabricante os arranjos ópticos destes instrumentos podem ser bastante diferentes. Este texto se refere apenas aos espectrofotômetros de absorção, operando na região, espectral do ultravioleta (UV) ($\lambda = 200/380\text{nm} - 400 \text{ nm}$), visível (Vis) ($\lambda = 380/400 \text{ nm} - 700/800 \text{ nm}$)

Os componentes de um sistema fotométrico de absorção de luz são:



Fig.11 – Diagrama de blocos em um aparelho de absorção de luz.

4.7.1- Fonte de radiação:

Será denominada radiação eletromagnética o feixe proveniente de uma fonte emissora (lâmpada). Nos espectrofotômetros de absorção estas fontes são lâmpadas que emitem feixes na região do espectro denominada óptica. Por isto dão lugar à chamada espectroscopia óptica.

Se a fonte emitir na região do visível, a radiação é conhecida como luz. A fonte de radiação (comumente chamada de lâmpada) ideal para um espectrofotômetro é aquela que apresenta uma intensidade aproximadamente constante em toda faixa de comprimento de onda de operação, com pouco ruído e longo período de estabilidade.

Função da fonte de radiação:

Proporcionar uma radiação contínua de energia constante sobre a região de comprimento de onda desejado.

As fontes de radiação são constituídas por substâncias que podem ser excitadas a um estado de energia mais elevado mediante uma descarga elétrica de alta voltagem ou por aquecimento elétrico, e quando retornam aos estados de energia menores ou a seu estado fundamental, emitem luz.

Tipos:

a) *Fontes de radiação ultravioleta – lâmpadas de hidrogênio e de deutério.* Baseiam-se na incandescência, onde qualquer substância a uma temperatura acima de zero emite radiação. São constituídas por um par de eletrodos colocados dentro de um tubo de vidro com uma janela de quartzo, cheio de hidrogênio ou deutério à pressões relativamente altas; quando se aplica uma alta voltagem constante aos eletrodos, se provoca uma descarga elétrica que excita os elétrons dos gases a estados de maior energia; quando os elétrons retornam ao seu estado fundamental, emitem radiação m que é contínua na região entre **180 e 350 nm** aproximadamente. **A lâmpada de xenônio** também é usada como fonte de radiação UV, proporcionando uma radiação de maior intensidade, porém não constante com a lâmpada de hidrogênio. A lâmpada de hidrogênio é vantajosa quanto ao uso e baixo custo, porém seu espectro se estende a comprimentos de onda maio

b) *Fontes de radiação visível - lâmpada de tungstênio,* constituída por um filamento de tungstênio que se aquece mediante uma corrente contínua e emite radiação contínua na região entre **350 e 2.500 nm**.

Normalmente a região espectral em que se pode medir os espectros é a região chamada UV-Vis ($\lambda = 200 \text{ nm}$ a 800 nm). Normalmente a troca de uma lâmpada por outra ocorre durante a varredura do espectro de modo completamente automático, de modo que o operador muitas vezes não toma conhecimento do fato.

O desempenho fotométrico de um espectrofotômetro é grandemente relacionado ao desenho do sistema ótico. O sistema ótico do instrumento deve:

- a) Acoplar eficientemente a luz proveniente da lâmpada.
- b) As fendas de entrada e saída devem permitir que os feixes de luz possam passar sem ocorrer em perda de luz.
- c) Focalizar os feixes na amostra.
- d) Coletar a luz da amostra e direcioná-la ao detector, sem causar instabilidade.

4.7.2- Seletor de comprimento de onda:

Os aparelhos que podem ser usados para selecionar regiões particulares de comprimento de onda na região visível e ultravioleta do espectro eletromagnético incluem o uso de:

a) *Filtros Ópticos* - são usados nos colorímetros fotoelétricos, e permitem somente a transmissão de regiões de comprimento de onda limitado, absorvendo a maior parte da radiação de outros comprimentos de onda. A cor da luz absorvida pelo filtro é o complemento da cor da própria solução: um líquido parece vermelho, por exemplo, porque transmite a porção vermelha do espectro eletromagnético, mas absorve a verde. É a intensidade da radiação verde que varia com a concentração: um filtro verde, portanto, deveria ser usado. Assim, em geral, o filtro mais apropriado para uma análise fotométrica será a cor complementar da solução que está sendo analisada. Consistem em películas delgadas de gelatina com diferentes corantes, ou em lâminas de vidro colorido, onde os fabricantes informam as várias faixas de transmissão para os vários filtros. Nos dias de hoje, são raramente usados; no entanto, têm a vantagem de serem mais baratos e muito satisfatórios para medidas que não exigem muita precisão.

b) *Monocromadores*: permite isolar uma banda de comprimentos de onda mais estreita que a obtida por um filtro, empregados para se ter uma resolução maior do espectro, não só no visível, mas também na região UV. Um monocromador desdobra a radiação policromática nos comprimentos de onda que a formam, e separa estes comprimentos de onda em bandas. É constituído por:

- uma fenda de entrada por onde penetra a radiação policromática da fonte de luz (lâmpada);
- um espelho ou lente, para colimar (estretar) o feixe admitido;
- um elemento dispersor da radiação, como um prisma ou uma rede de difração, que desdobra a radiação nos comprimentos de onda componentes (separa a luz nos seus vários comprimentos de onda);
- uma lente ou espelho para focar (direcionar) a radiação dispersa;
- uma fenda de saída, que seleciona o comprimento de onda da radiação que irá incidir sobre a amostra.

Tipos de elemento de dispersão do monocromador:

Prismas: os prismas são elementos dispersantes convenientes entre o UV próximo e as regiões do infravermelho médio. A dispersão depende do índice de refração do material do prisma variar com o comprimento de onda. Os prismas de vidro podem ser empregados na região visível, entre 400 e 1000 nm, uma vez que o vidro absorve no ultravioleta. Abaixo de 400 nm (UV) são usados prismas de quartzo ou sílica, fundidos.

Redes de Difração: observou-se que um feixe de radiação monocromática, ao passar por uma placa transparente que possui um grande número de linhas paralelas bem finas riscadas sobre ela, origina vários feixes. As redes consistem numa placa fina de vidro ou plástico, com várias riscas, que difrata a luz, dispersando os diferentes comprimentos de onda.

Nos espectrofotômetros para o UV e visível, as redes tem entre 10.000 e 30.000 linhas/cm, que proporcionam uma dispersão mais elevada que a obtida pelos prismas; uma única rede pode cobrir a região do espectro entre 200 e 900 nm.

A forma com que a radiação eletromagnética sofre difração através de uma grade está baseada na lei de difração de Bragg. A finalidade deste componente é a de difratar a luz de modo que

diferentes comprimentos de onda irão incidir sobre a amostra permitindo que se determine sua absorvância em cada um destes comprimentos. Este conjunto de dados resulta no que se chama espectro de absorção.

Uma grade de difração é um componente óptico que contém uma série de ranhuras, que são justamente os elementos responsáveis pela difração. Dependendo do número de ranhuras por milímetro, haverá uma maior ou menor resolução dos espectros. Instrumentos com melhor resolução espectral terão grades de difração com maior número de ranhuras por milímetro, e, conseqüentemente, este é um (mas não o único) parâmetro a ser avaliado na seleção de um instrumento.

Em épocas passadas as ranhuras eram feitas mecanicamente, porém atualmente estas são feitas através de processos denominados holográficos. Neste caso é feito um depósito de uma camada muito fina de um material sobre um substrato de vidro ou de quartzo, que é, posteriormente, corroído em certas regiões definidas por uma figura de interferência gerando sobre este material um conjunto de vales e topos denominados ranhuras.

A qualidade de uma grade de difração é controlada pelo número de ranhuras por unidade de área e pela precisão com que estas foram feitas.

4.7.3- Recipientes para a amostra:

Chama-se cubeta, feita de material transparente à radiação na região espectral de trabalho. Têm a forma retangular, com uma largura óptica de 1 cm. Para o uso de soluções aquosas existem células baratas de poliestireno. As células padrão são feitas em vidro, para operar nos comprimentos de onda de 340 a 1.000 nm (visível), mas para operar em comprimentos de onda mais baixos (até 185 nm, UV), as células devem ser feitas de sílica ou de quartzo.

As espessuras das células variam de 1 a 10 cm. As células de absorção devem manter-se rigorosamente limpas, pois tanto as impressões digitais como restos de amostras anteriores podem ser, causas de erros consideráveis nas determinações quantitativas.

Acessórios de multi-cubetas

O acessório de multi-cubeta ambiente ou termostatizável consiste de dois conjuntos de seis cubetas que se movem através do transportador de amostra posicionado no interior do compartimento de amostras. O multi-cubetas possui as seguintes possibilidades:

- Utilizar campos de rotação magnética para promover agitação das cubetas.
- Utilizar aquecimento.
- Utilizar um canal de água para controle de temperatura.

Quando conectado ao acessório controlador de temperatura, a bomba de aquecimento pode ser usada para transferir calor das cubetas para a água circulante, ou transferir aquecimento da água para a cubeta. Usando este sistema é possível ajustar a temperatura de -10 a 100 graus Celsius.

4.7.4- Detectores de radiação:

O outro conjunto importante de elementos que compõe um espectrofotômetro é o tipo de detector que emprega. Assumindo-se que se está tratando de sistemas que empregam como elemento de difração da radiação uma grade, o tipo de detector irá definir todo o conjunto de elementos ópticos adicionais.

Duas grandes classes de espectrofotômetros estão disponíveis: os que utilizam como sistema de detecção um tubo fotomultiplicador e os que utilizam arranjo de diodos. Já um colorímetro fotoelétrico utiliza-se da célula fotoelétrica para detectar a radiação transmitida.

a) Célula fotoelétrica: usadas na região do visível e ultravioleta. Constituída por um bulbo de vidro que tem parte da sua superfície interna revestida por uma camada delgada, sensível, de um material com óxido de céσιο ou de potássio, com óxido de prata (material que emite elétrons quando iluminado); uma parte da superfície do bulbo é transparente à luz. A camada sensível é o cátodo e no centro do tubo. Quando a luz entra no bulbo e atinge a camada sensível (cátodo), há emissão de elétrons que provocam a circulação de uma corrente no circuito externo, e é uma medida da quantidade de luz. Usada nos fotocolorímetros.

b) Tubo fotomultiplicador: é formado por um tubo de vidro ou de quartzo sob vácuo, no qual existe um conjunto de placas metálicas interligadas. Quando a radiação incide sobre estas placas metálicas elas induzem uma corrente elétrica, de acordo com o que é descrito pelo efeito fotoelétrico proposto por Einstein. Em função do fato destas placas estarem interligadas e de uma diferença de potencial elétrico estar sendo aplicada entre elas, esta fotocorrente é amplificada por um circuito eletrônico adequado, de modo que um sinal muito baixo de corrente elétrica pode ser detectado e registrado. Pode ser considerado um tipo de célula fotoelétrica amplificada (da ordem de 10^6 vezes), usada nos espectrofotômetros. É mais sensível, mede intensidades 200 vezes mais fracas do que as medidas por uma célula fotoelétrica. Um instrumento que se utiliza deste detector deve fazer com que comprimentos de onda individuais o atinja, de modo que para cada um deles seja detectado um sinal de corrente, que será transformado, segundo uma certa escala, em um sinal de absorbância. Deve ter ainda algum tipo de sistema que permita eliminar o sinal de fundo, comumente chamado de background.

c) Arranjo de diodos (ou detectores do tipo fotodiodo): de modo simplificado, um arranjo de diodos consiste em uma série de detectores fotodiodo posicionado lado a lado em um cristal de silício, de modo que cada comprimento de onda difratado pela grade atinge um ponto deste arranjo, e conseqüentemente um detector. Cada diodo tem um capacitor dedicado e está conectado por um interruptor tipo transistor para uma linha de saída comum a todos. Deste modo, a radiação que atravessa a amostra é integral e instantaneamente analisada determinando-se, portanto, a absorbância em todos os comprimentos de onda é determinada de modo simultâneo. Este tipo de instrumento é bastante simplificado na sua óptica, se comparado aos instrumentos com fotomultiplicadoras como detectores, e os espectros são obtidos mais rapidamente, mas é um instrumento com menor sensibilidade.

Assim:

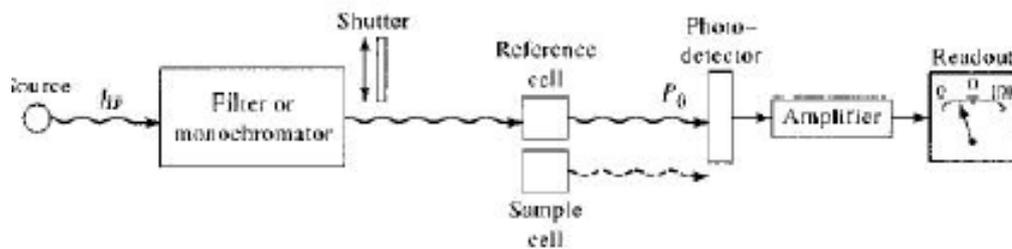
- Qualquer tipo de detector absorve a energia dos fótons que chocam contra ele e a converte em uma quantidade mensurável, como a impressão em chapa fotográfica, uma corrente elétrica ou variações térmicas.
- Qualquer tipo de detector deve gerar um sinal que está quantitativamente relacionado com a radiação recebida.

Todo detector deve obedecer aos seguintes critérios:

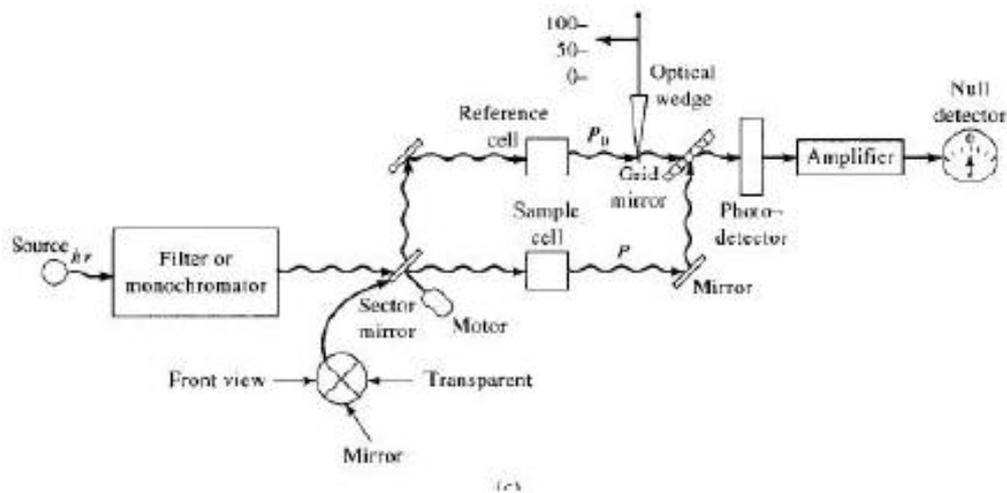
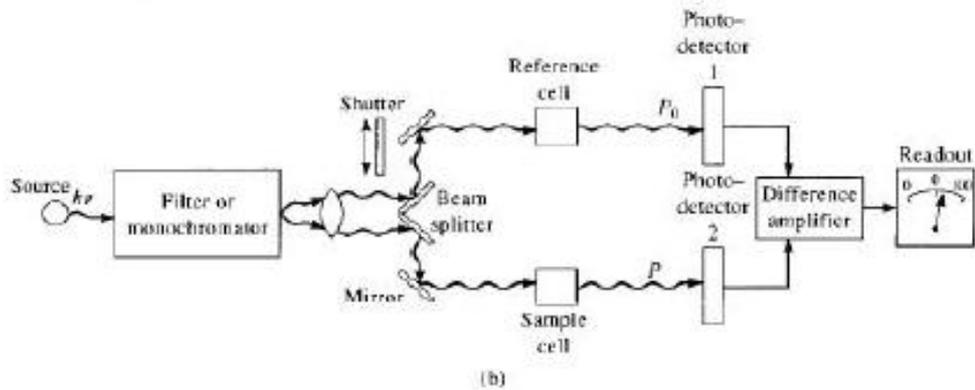
- alta sensibilidade;
- curto tempo de resposta;
- estabilidade a longo prazo para assegurar a exatidão das respostas quantitativas;
- sinal eletrônico facilmente amplificável por qualquer instrumento de leitura;

4.7.5- Tipos de instrumentos:

a) Feixe simples:



b) Feixe duplo:



4.8. ESQUEMA DE FUNCIONAMENTO DOS ESPECTROFOTOMETROS E COLORÍMETROS:

4.8.1- Colorímetros visuais (comparador colorimétrico):

São instrumentos em que se utiliza o olho humano como detector e o cérebro como amplificador e como dispositivo de apresentação. A dificuldade está relacionada à detecção visual, pois esta está limitada a poucas aplicações, por apresentar algumas desvantagens: região espectral limitada, pouca exatidão para distinguir as intensidades das cores, alto grau de fadiga e lentidão de resposta.

Dentre os tipos de fotômetros visuais temos: **comparador Helige**, que utiliza vários conjuntos de modelos de filtros de vidro, de absorbâncias variáveis. Para determinar a concentração de uma substância desconhecida, insere-se o disco apropriado e seus filtros, e compara-se visualmente com a amostra; ambas devem estar iluminadas pela mesma fonte. Os filtros são calibrados em termos de concentração para um comprimento da trajetória da cela de amostra que o instrumento contém. Quando a cor da solução amostra é igual à cor do filtro empregado, se conhece imediatamente a concentração aproximada. Usam-se padrões de vidros coloridos para determinações de: amônia, oxigênio dissolvido, cobre, nitrato, cloro residual em água.

4.8.2- Colorímetro fotoelétrico:

São instrumentos em que a faixa espectral a ser usada na medida da transmitância é selecionada com auxílio de filtros. O uso de fotocolorímetros se restringe à região visível do espectro eletromagnético. As faixas isoladas pelo filtro são relativamente largas e de baixa pureza espectral. Em geral, os fotocolorímetros dispõem de numerosos filtros, cada um dos quais transmite uma diferente porção do espectro; a escolha do filtro depende da natureza do sistema absorvente; dá-se preferência ao filtro com cor complementar à da solução problema.

Mecanismos de funcionamento:

- ✓ A luz proveniente de uma fonte (ex. lâmpada de tungstênio) é delimitada, no percurso ótico, por uma abertura variável (fenda); o filtro seleciona a faixa espectral desejada. Após atravessar a cubeta contendo a solução amostra ou solvente (“branco”), a luz transmitida alcança a fotocélula; a corrente gerada é medida pelo galvanômetro, sobre uma escala de 0 a 100%.
- ✓ Inicialmente, o medidor é ajustado mecanicamente para leitura zero. Em seguida, o aparelho deve ser calibrado para 100% de transmitância, com relação ao solvente puro (“branco”): coloca-se o solvente na cubeta e regula-se a 100% de T. Finalmente, coloca-se a na cubeta a solução amostra e lê-se a transmitância. A escala do medidor dá diretamente a percentagem de transmitância; em muitos casos, a escala do medidor dá os correspondentes valores de absorbância.
- ✓

Colorímetro no visível: lâmpada de filamento de tungstênio, lente, filtro óptico, célula fotovoltaica.

Colorímetro no ultravioleta: lâmpada de vapor de mercúrio, filtro óptico, célula fotoelétrica.

4.8.3 - Espectrofotômetros:

Os espectrofotômetros utilizam monocromadores para isolar uma banda espectral desejada, empregado no intervalo do visível ao UV. O campo de trabalho deste instrumento se estende de 220 nm a 1000 nm., e dispões de 2 fontes de radiação: uma lâmpada de hidrogênio ou deutério para a região UV, e uma lâmpada de tungstênio para o visível e infravermelho. O instrumento tem dois fototubos, um para ser usado acima de 600 nm e outro, abaixo de 600 nm. O monocromador é constituído por um prisma de quartzo ou uma rede de difração.

Ao deixar o monocromador, a feixe de radiação é refletido por uma série de espelhos para atingir o obturador eletromecânico. No caso dos espectrofotômetros convencionais, o obturador eletromecânico é formado por um disco giratório dividido em três partes: uma parte espelhada (*mirror*), uma parte sólida pintada de preto (*solid matt black*) e a outra vazada (*cut out*). Este disco gira a uma certa velocidade, de modo que o feixe que o atravessa será modulado na mesma freqüência em que as aberturas do disco passarem pelo ponto de incidência do feixe, gerando um sinal luminoso.

Quando o feixe atinge a parte vazada atravessa e segue um caminho óptico; quando ele atinge a parte espelhada é refletido e segue um outro caminho; e finalmente, quando atinge a região negra, o feixe é absorvido pelo disco. Portanto, a finalidade do obturador é a de alternar o caminho óptico do feixe. Como ele gira a uma velocidade maior que a velocidade de varredura da grade, cada comprimento de onda selecionado pela grade que incide sobre o disco irá, alternadamente, fazer um ou outro caminho óptico. Um destes caminhos fará com que o feixe atravesse a amostra; o outro caminho fará com que o feixe atravesse uma solução padrão ou “branco”.

Ambos os feixes serão posteriormente dirigidos, por espelhos até o detector (tubo fotomultiplicador), de modo que este estará medindo a intensidade do feixe que, alternadamente, passa pela amostra e pela referência, a cada comprimento de onda.

Um circuito eletrônico compara estes dois sinais e os converte em uma escala apropriada de absorbância a cada comprimento de onda, corrigida eletronicamente.

- Espectrofotômetro para a região visível: projetados para operar no intervalo de λ de 380 a 800 nm, simples construção, de feixe único e rede de difração, relativamente baratos (< U 1.000 até U\$ 3.000), resistentes e portáteis. Aplicação mais comum é a análise quantitativa. Possui fonte de filamento de tungstênio, rede de difração simples, célula fotoelétrica.
- Espectrofotômetros para a região UV/visível: faixa de medição de λ de 190 a 210 nm (extremo inferior) e 800 a 1.000 nm (extremo superior), equipado com lâmpadas intercambiáveis de tungstênio e hidrogênio ou deutério, tubos fotomultiplicadores e redes de difração, leitura digital. Seu preço varia de U\$ 2.000 a U\$ 8.000.
- Espectrofotômetros computadorizados: operam na região de 190 a 800 nm de λ , com varredura de λ . As amostras são lidas e as absorbâncias calculadas com a ajuda de softwares. Possui várias opções de tratamento dos dados e apresentação, como absorbância, transmitância, derivadas, espectros de absorção, cálculos de concentração, etc.

Mecanismo de funcionamento: a luz emitida da lâmpada (2) é purificada nos filtros (3) e condensada sobre a fenda de entrada (4). O feixe de luz atravessa a fenda de entrada, é refletido pelo espelho plano, sendo condensado pelo espelho colimador sobre a rede de difração (5), que obtém-se a varredura dos comprimentos de onda. O feixe de luz que passa pela fenda de saída atravessa o compartimento de amostras (7) – cubeta – e atinge o detector (8).

Diferença entre colorímetro e espectrofotômetro:

O termo colorímetro é geralmente restrito aos instrumentos visuais e fotoelétricos mais simples para a região visível. O termo espectrofotômetro usa bandas de comprimentos de onda mais estreitos, produzidas por um monocromador. Todas as formas devem ter certas características e componentes em comum; alguns dos instrumentos mais simples podem

omitir um ou mais itens, e a seqüência na qual a radiação passa de um item para o outro não é a mesma:

4.9 Manuseio da amostra no UV/Vis:

A amostra é lida em solução ou vapor. Existem no mercado células de quartzo para a determinação de amostras em fase vapor, no ultravioleta. Estas células são providas de uma entrada e saída para o gás, e algumas permitem circulação de um líquido que mantém constante a temperatura no interior da célula.

Para analisar amostras em solução, retira-se alíquotas e dilui sucessivamente, conforme procedimento recomendado pelo método. É de máxima importância que as cubetas estejam limpas, e costuma-se enxaguá-las várias vezes entre uma leitura e outra. Pode ser necessário limpar as células com detergente ou ácido nítrico a quente para remoção de traços de amostras anteriores.

Muitos solventes são usados na região do UV-Vis: ciclohexano, etanol 95% e 1,4-dioxano, desde que corretamente purificados. Outros solventes de pureza espectroscópica adequados para o UV encontram-se atualmente no mercado. Estes solventes são classificados como de “grau espectroscópico” e encontram-se livres da absorção devido a interferentes.

4.10 Aplicação na análise qualitativa:

A absorção de radiação no UV por muitos compostos ocorre numa faixa muito reduzida de comprimentos de onda, o que faz com que suas curvas se sobreponham, quase que impossibilitando sua identificação.

Como consequência, a absorção no UV oferece menos possibilidades para a identificação de grupos funcionais que outros métodos espectroscópicos, tais como o IV (infravermelho) e o RMN (ressonância magnética nuclear). Mesmo assim, a espectroscopia UV é muito utilizada na identificação dos constituintes de diversas plantas e na determinação de impurezas em amostras orgânicas.

4.11 Aplicação na análise quantitativa:

A espectroscopia UV-Vis é regida pela Lei de Beer, onde a maior parte dos equipamentos registra diretamente a leitura em absorbância, onde posteriormente será construída a curva de calibração para a determinação da concentração das amostras.

A espectrofotometria VIS determina quantidades de compostos inorgânicos (metais e ânions inorgânicos tais como fosfato, sulfato, cromato, etc.) em amostras líquidas (água, solução de solo, alimentos, tintas, combustíveis, bebidas, etc.).

Algumas aplicações da espectrofotometria UV são as determinações de:

- compostos aromáticos
- produtos naturais como esteróides e clorofila
- corantes e vitaminas
- estabilizantes e antioxidantes

