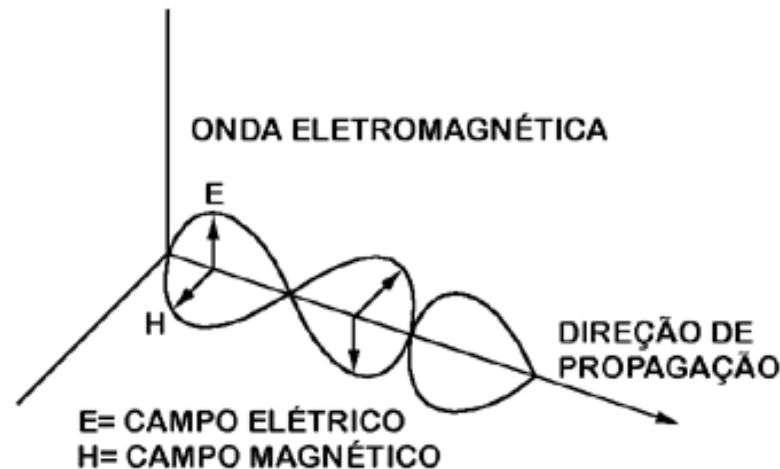


Introdução aos métodos espectrométricos

A espectrometria compreende um grupo de métodos analíticos baseados nas propriedades dos átomos e moléculas de absorver ou emitir energia eletromagnética em uma determinada região do espectro eletromagnético.

Propriedades da radiação eletromagnética

A luz pode ser considerada como uma forma de energia radiante que é propagada como ondas transversas.



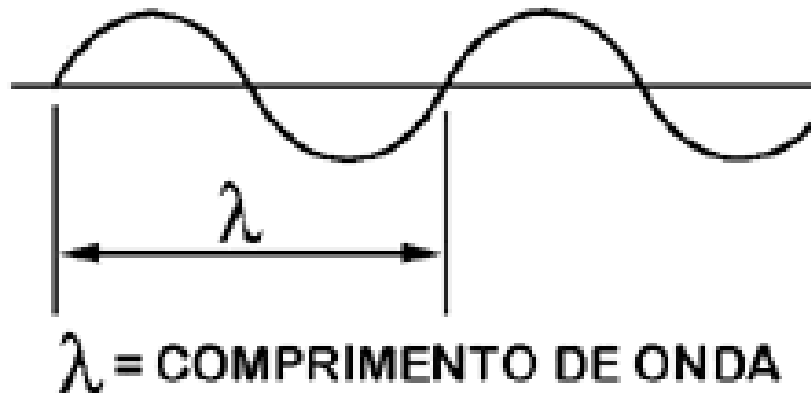
Propagação da radiação eletromagnética

Parâmetros de uma onda

COMPRIMENTO DE ONDA (λ): corresponde a distância entre duas cristas de onda, medida em direção à progressão de onda.

FREQÜÊNCIA (ν): representa o número de oscilações completas que uma onda faz a cada segundo. A unidade de freqüência é s^{-1} . Uma oscilação por segundo é também chamada de 1 Hertz (Hz).

VELOCIDADE DE PROPAGAÇÃO (v_i): multiplicação da freqüência pelo comprimento de onda ($v_i = \nu \lambda_i$). A unidade é em metros por segundo.



- Quando a radiação eletromagnética é emitida ou absorvida, ocorre uma transferência permanente de energia no objeto emissor ou no meio absorvente. Para descrever esse fenômeno, é necessário entender a radiação eletromagnética não como uma coleção de ondas mas sim como uma corrente de partículas discretas chamadas FÓTONS.

- Toda a radiação eletromagnética é quantizada em fótons: isto é, a menor porção de radiação eletromagnética que pode existir é um fóton, qualquer que seja seu comprimento, frequência ou energia.

- Fótons estão sempre se movendo a velocidade da luz (a qual varia de acordo com o meio no qual ela viaja) em relação a todos os observadores.

- Os fótons são partículas que apresentam propriedades interessantes. Vejamos algumas dessas propriedades:

- 1º) São partículas que não apresentam massa.

- 2º) São partículas que possuem energia bem definida.

Relação

A relação entre FREQUÊNCIA e COMPRIMENTO DE ONDA é:

$$\frac{1}{\text{comprimento de onda}} = \text{número de onda} = \frac{\text{frequência}}{\text{velocidade da luz}}$$

$$\frac{1}{\lambda} = \bar{\nu} = \frac{\nu}{c}$$

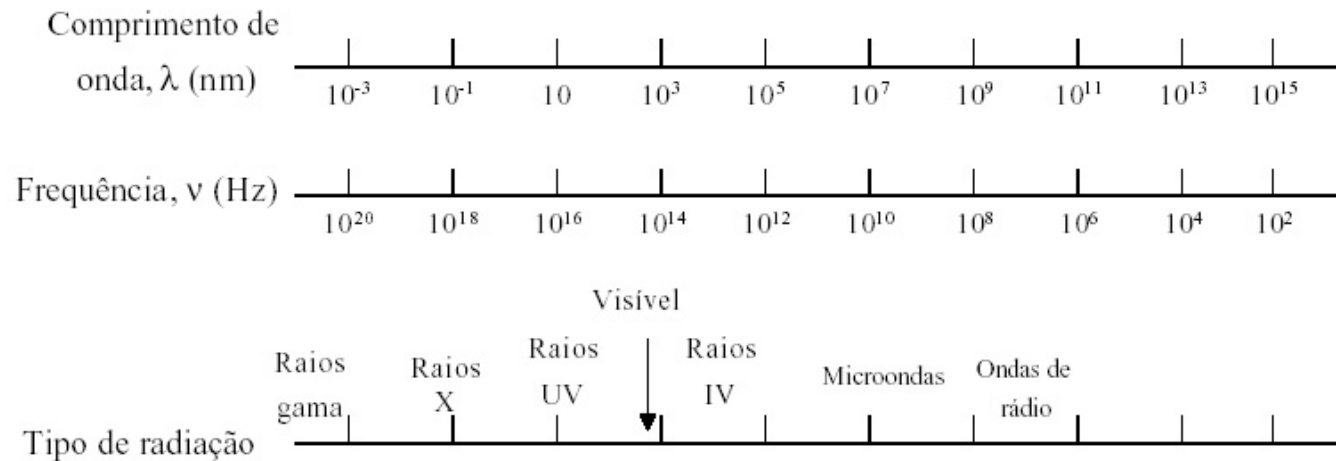
$$c = 2,99793 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$$

A relação entre ENERGIA e COMPRIMENTO DE ONDA é:

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

$$h = \text{constante de Planck} = 6,6 \times 10^{-34} \text{ m}^2\text{kgs}^{-1}$$

Espectro eletromagnético



1. A pequena banda denominada **luz** compreende o conjunto de radiações para as quais o sistema visual humano é sensível.
2. A banda do **ultravioleta** é formada por radiações **mais energéticas** que a luz (tem **menor comprimento de onda**); é por isso que penetra mais profundamente na pele, causando queimaduras quando você fica muito tempo exposto à radiação solar.
3. A banda de **raios X** é mais energética que a ultravioleta e mais penetrante; isso explica porque é utilizada em medicina para produzir imagens do interior do corpo humano.
4. As radiações da banda **infravermelha** são geradas em grande quantidade pelo Sol, devido à sua temperatura elevada; entretanto podem também ser produzidas por objetos aquecidos (como filamentos de lâmpadas).

Absorção de radiação eletromagnética

Região	Tipo de transição
raios γ	transições nucleares
raios X	transições eletrônicas
ultravioleta	transições eletrônicas
visível	
infravermelho	vibração e rotação
microondas	rotação
ondas de rádio	acoplamento de spins
ondas de rádio	acoplamento de spins

Estados energéticos das espécies químicas

- Átomos, íons e moléculas podem existir somente em certos estados discretos, caracterizados por quantidades definidas de energia (estados eletrônicos).
- Se uma energia de uma certa magnitude for aplicada no átomo, a energia será absorvida por este e os elétrons serão promovidos para camada de maior energia.



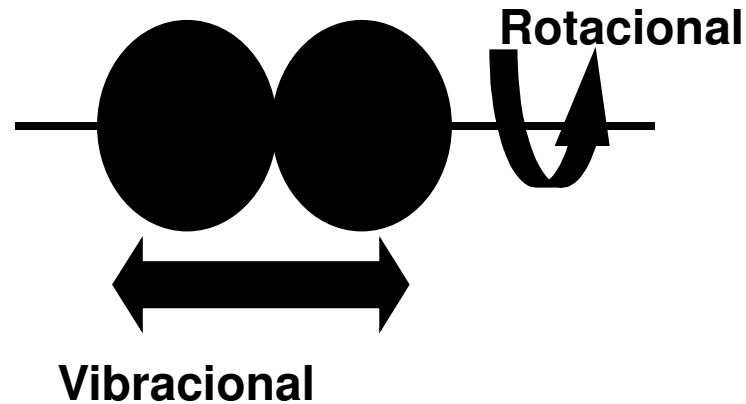
- Ao efetuar essa transição de um estado de energia para outro, a radiação de frequência ou de comprimento de onda está relacionada com a diferença de energia entre os dois estados pela equação:

$$E_1 - E_0 = \frac{hc}{\lambda}$$

Além de apresentarem estados eletrônicos, as moléculas também apresentam:

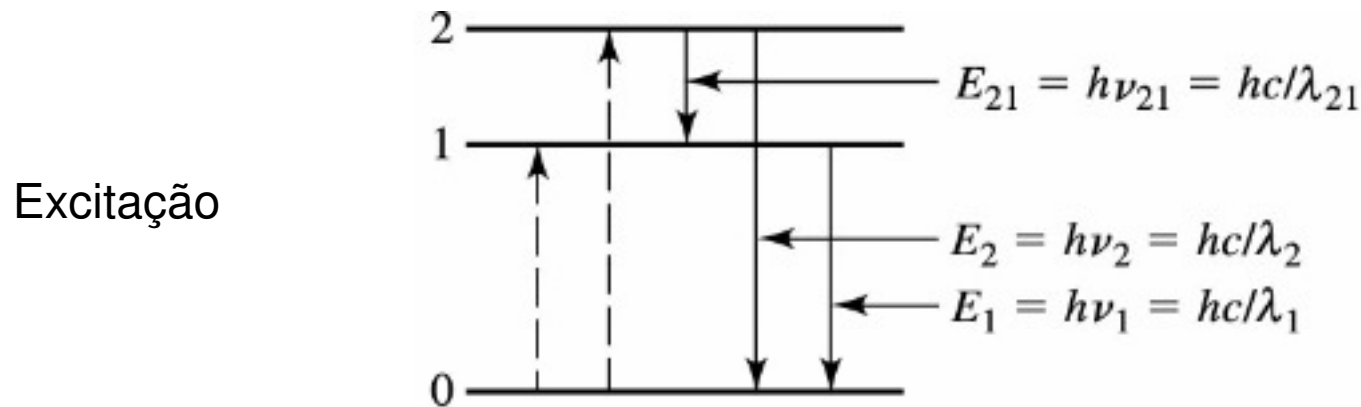
Estados vibracionais quantizados que estão associados à energia das vibrações interatômicas

Estados rotacionais quantizados que provêm da rotação das moléculas em torno de seus centros de gravidade.

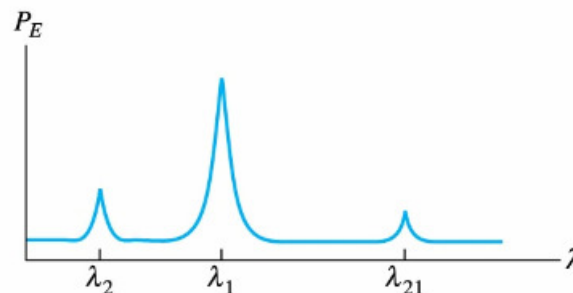


Emissão de radiação

- A radiação eletromagnética é produzida quando uma partícula excitada (átomos, íons ou moléculas) relaxa para níveis de energia mais baixos, fornecendo seu excesso de energia como fótons.



- A radiação de uma fonte excitada é convenientemente caracterizada por meio do *espectro de emissão*, que normalmente tem a forma de um gráfico de potência relativa da radiação emitida em função do comprimento de onda ou frequência.



Tipos de espectros

LINHAS: composto por uma série de **picos estreitos e bem definidos** gerados pela excitação de átomos individuais. Este tipo de espectro é **característico de átomos ou de íons excitados** que emitem energia na forma de luz de comprimento de onda bem característico.

BANDAS: consiste de muitos **grupos de linhas tão próximas que não são completamente resolvidas**. Grupos de linhas se aproximam cada vez mais até chegar a um limite, a cabeça da banda. Este tipo de espectro é **característico de moléculas excitadas**.

CONTÍNUO: responsável pelo aumento da radiação de fundo que ocorre acima de 350nm. **São emitidos por sólidos incandescentes** e, neles, linhas claramente definidos estão ausentes. **Essa classe de radiação térmica, que é chamada de radiação do corpo negro**, é característica da superfície emissora, e não do material que compõe a superfície.

Absorção da radiação

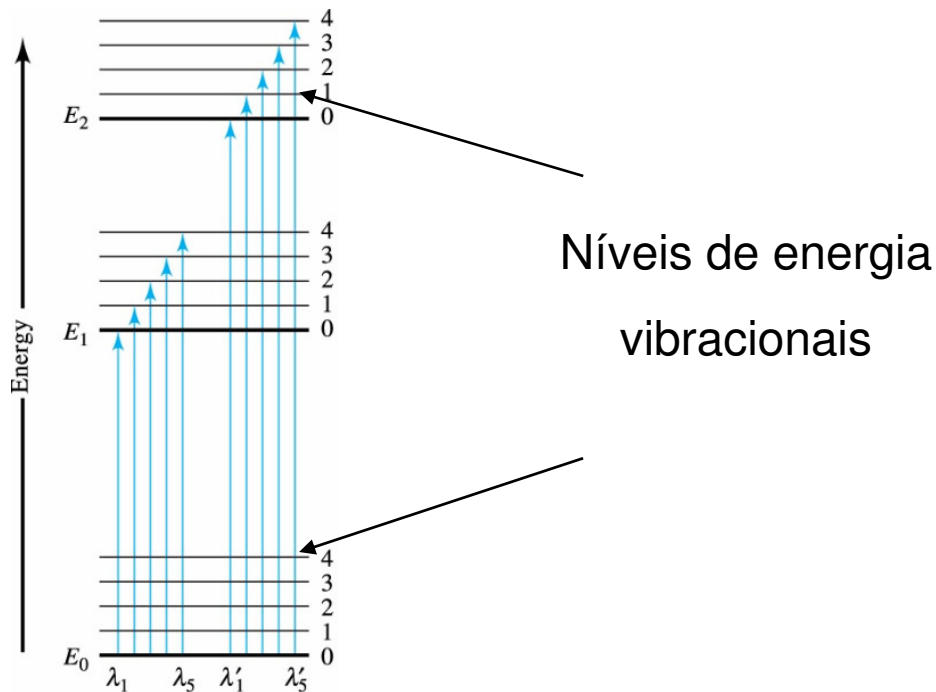
- Quando a radiação atravessa uma camada de sólido, líquido ou gás, algumas frequências são seletivamente removidas pela **absorção, um processo no qual a energia eletromagnética é transferida para átomos, íons, moléculas que compõem a amostra.**
- As radiações visível e ultravioleta têm energia suficiente para provocar as transições somente de elétrons da camada mais externa, ou dos elétrons de ligação.
- As frequências dos raios X são muitas ordens de grandeza mais energéticas e são capazes de interagir com os elétrons mais próximos do núcleo dos átomos.

Absorção molecular

▪ Os espectros de absorção para moléculas poliatômicas → mais complexos → número de estados de energia das moléculas é geralmente enorme quando comparado com o número de estados de energia para os átomos isolados.

▪ A energia associada às bandas de uma molécula, é constituída de três componentes.

$$E = E_{\text{eletrônica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}}$$

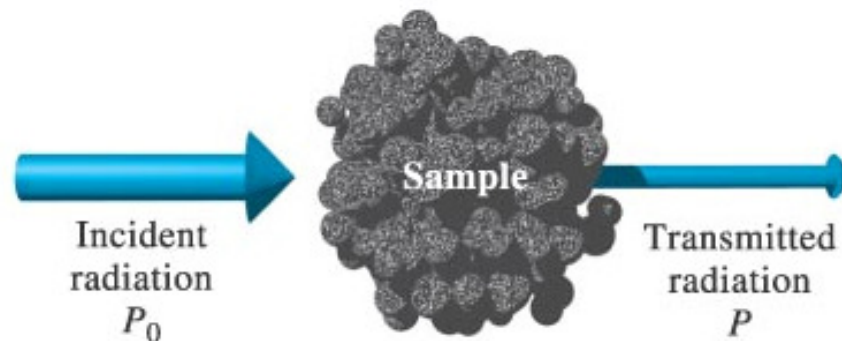


Aspectos quantitativos

Principais classes de métodos espectroquímicos

Classe	Potência de radiação medida	Relações de concentração	Tipos de métodos
Emissão	Emitida, P_e	$P_e = kc$	Emissão atômica
Luminescência	Luminescência, P_t	$P_t = kc$	Fluorescência atômica e molecular, fosforescência e quimiluminescência
Espalhamento	Espalhada, P_{sc}	$P_{sc} = kc$	Espalhamento Raman, turbidimetria e nefelometria
Absorção	Incidente, P_0 e transmitida, P	$-\log P/P_0 = kc$	Absorção atômica e molecular

- Todas as classes precisam da medida de *potência radiante*, P , que é a energia de um feixe de radiação que incide em uma determinada área por segundo.
- Métodos de absorção → requerem duas medidas de potência: uma antes que um feixe passe através do meio que contém o analito (P_0) e outra depois (P).



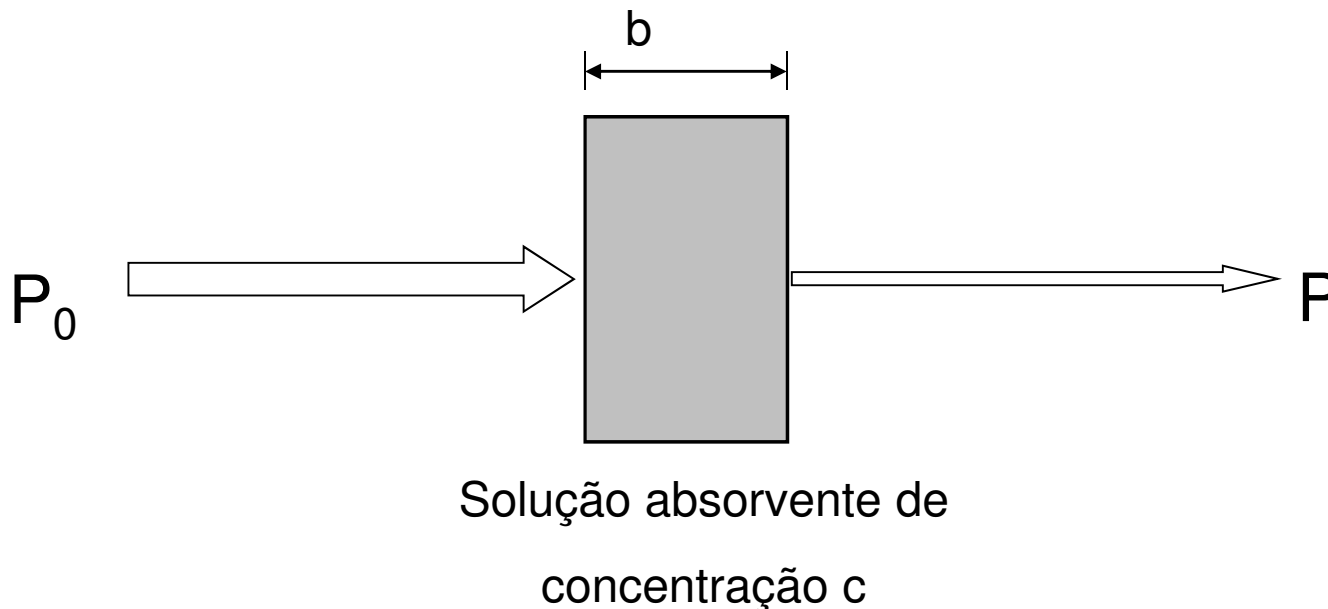
Métodos de absorção

- **Transmitância (T):** fração da radiação transmitida através do meio

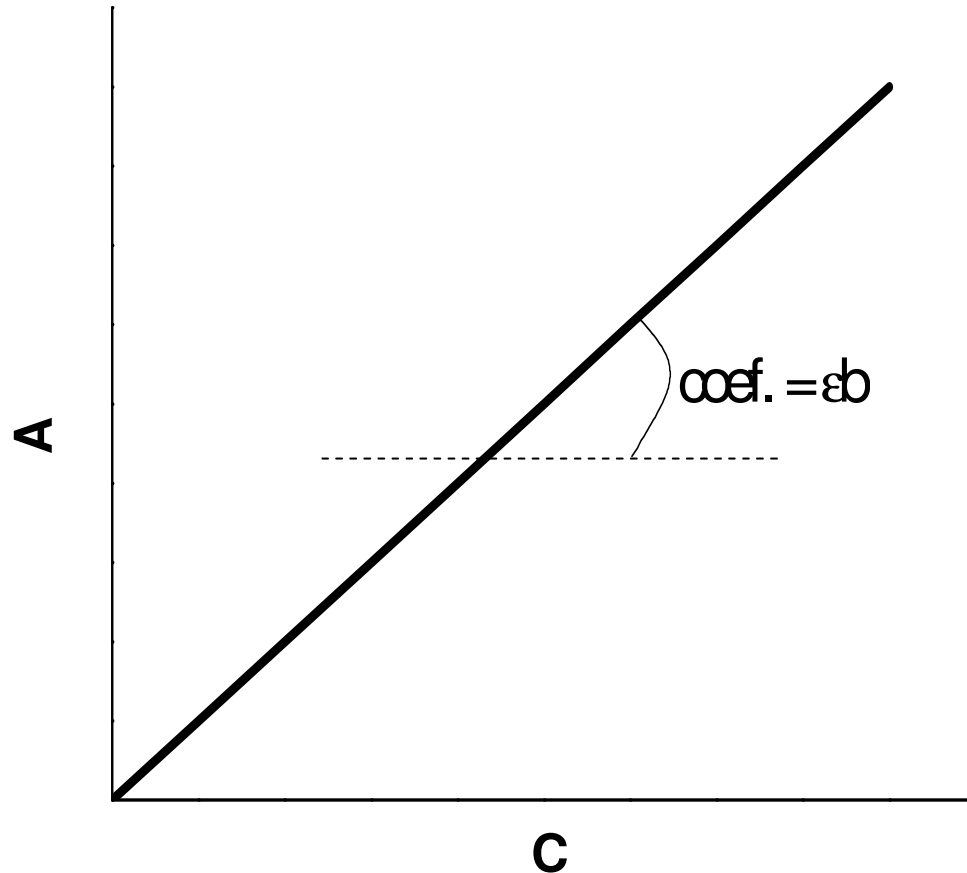
$$T = \frac{P}{P_0}$$

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

- **Absorbância (A):** é definida pela equação: $A = -\log_{10} T = \log \frac{P_0}{P}$



Lei de Beer



$$A = \epsilon b c$$

ϵ : absorptividade molar
($\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$)

b : comprimento do
caminho óptico (cm)

c : concentração do
analito (mol L^{-1})

Exemplo

A 452 nm, uma solução com $1,68 \times 10^{-3} \text{ g L}^{-1}$ de clorofila B em etanol apresentou transmitância igual a 49,7%. Sabendo que sua absortividade molar nesse comprimento de onda é de $1,63 \times 10^5 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, calcule o peso molecular da clorofila B, considerando $b = 1,00 \text{ cm}$.

Componentes dos instrumentos ópticos

Os instrumentos espectroscópicos comuns têm cinco componentes, incluindo:

- ✓ Uma fonte estável de energia radiante
- ✓ Um recipiente transparente para conter a amostra
- ✓ Um dispositivo que isole uma região restrita do espectro para a medida
- ✓ Um detector de radiação, que converta a energia radiante para um sinal útil (normalmente elétrico)
- ✓ Um processador e um dispositivo de saída que apresenta o sinal transluzido em uma escala de medida, em um medidor digital ou registrador gráfico.

Introdução à espectrometria de absorção molecular no UV/Vis

- Aplicável na região de comprimento de onda entre 160 e 780nm.
- Está baseada na medida de transmitância ou absorbância.
- Espécies que absorvem no ultravioleta ou no visível (espécies coloridas).
- Espécies que não absorvem: reação com cromóforo.
- Cromóforo: grupo funcional que tem um espectro de absorção característico na região do UV-Vis.
- Lei de Beer
- Aplicação da lei de Beer a misturas:

$$\begin{aligned}A_{\text{total}} &= A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n \\ &= \varepsilon_1 bc_1 + \varepsilon_2 bc_2 + \varepsilon_3 bc_3 + \dots + \varepsilon_n bc_n\end{aligned}$$

Limitações da Lei de Beer

Limitação real:

- A lei é válida somente para baixas concentrações.
- Altas concentrações = interação entre as moléculas afeta a distribuição de carga, havendo assim um desvio linear de $A \times c$.

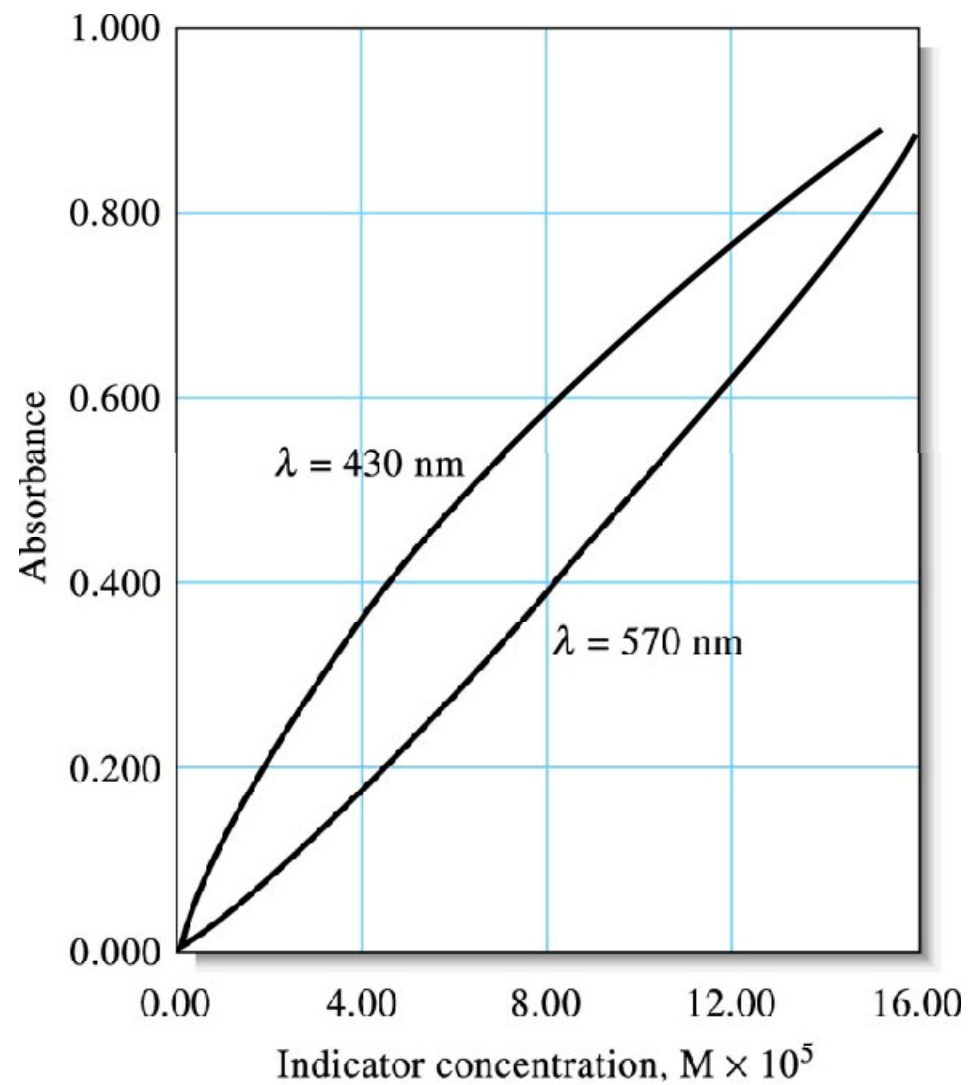
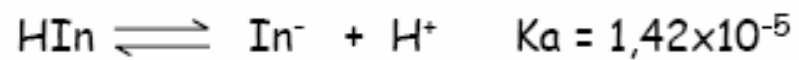
Desvios químicos:

- Surgem quando um analito se dissocia, se associa ou reage com um solvente para dar um produto que tem um espectro de absorção diferente.

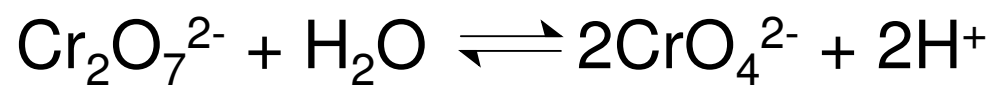
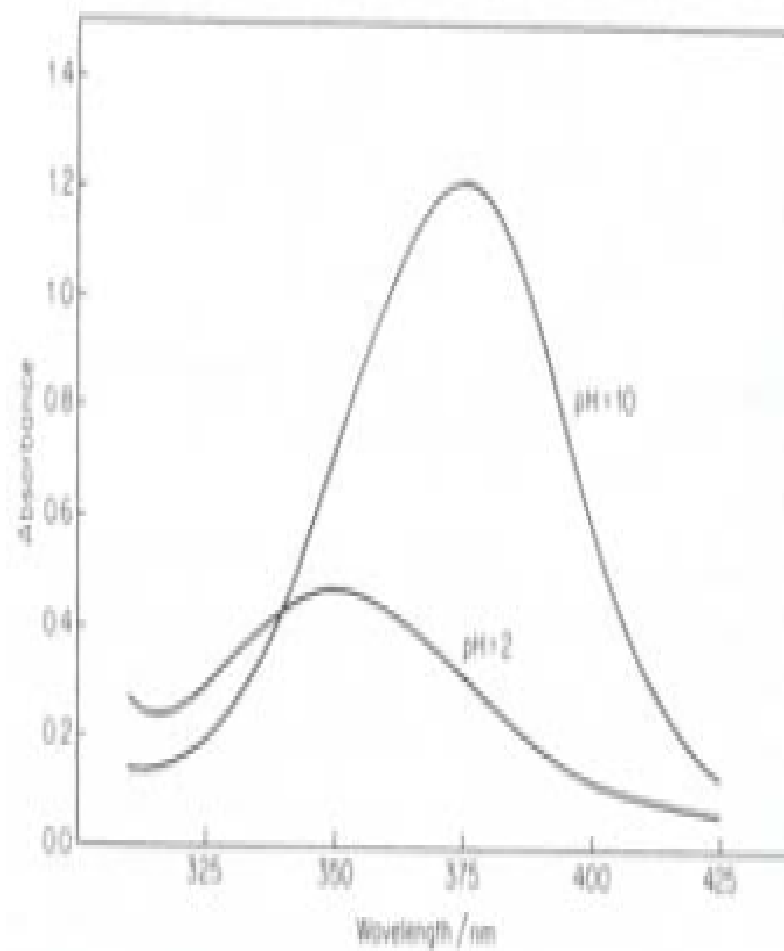


- CONDIÇÃO DE LINEARIDADE: Uso de um tampão ou $\epsilon_{\text{HA}} = \epsilon_{\text{A}^-}$

Desvios químicos



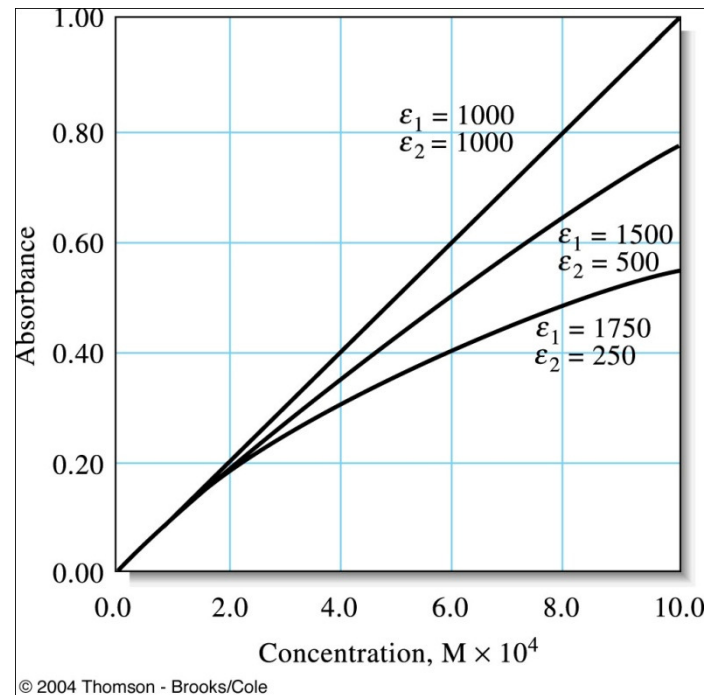
Desvios químicos



Desvios instrumentais

A lei só é válida para radiação monocromática, ou seja, para um único comprimento de onda (λ).

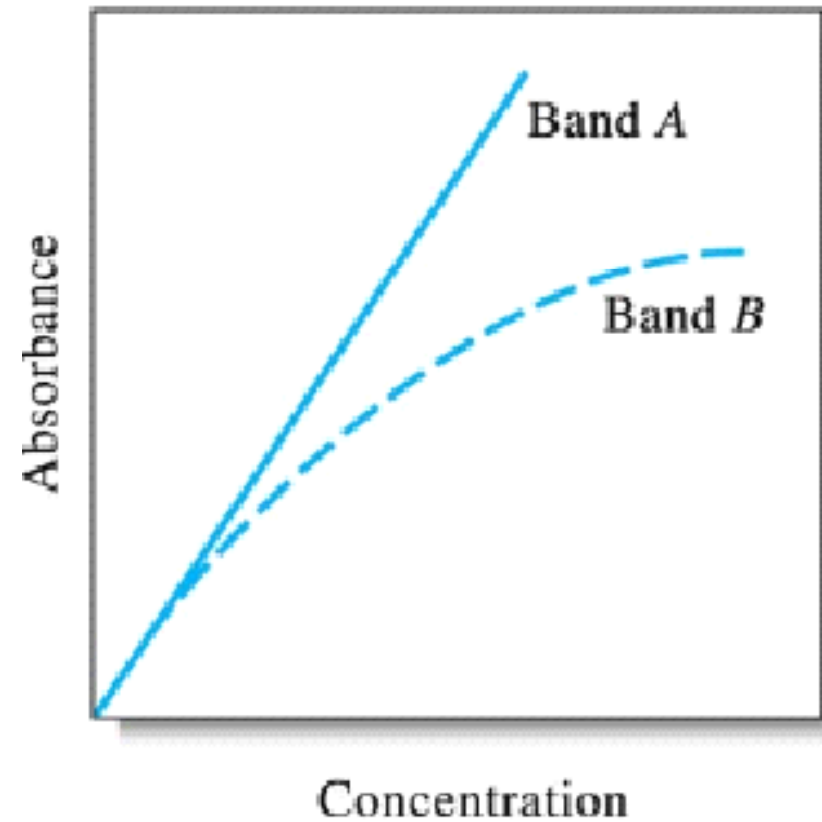
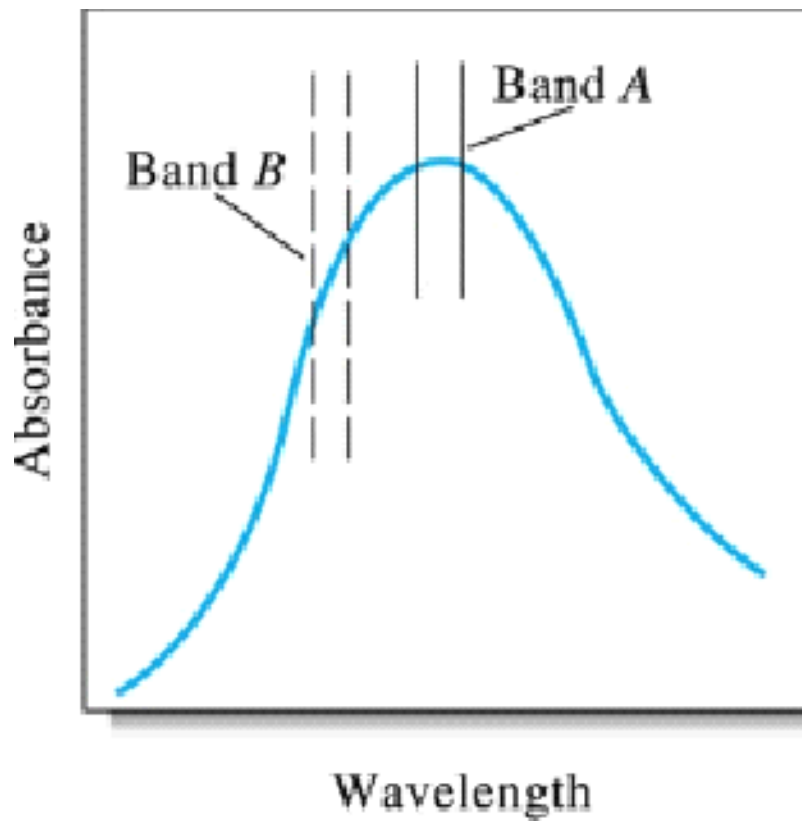
A concentração da absorbância medida não é mais linear quando as absortividades molares diferem. Mais ainda com o aumento da diferença entre elas podem ser esperados maiores desvios da linearidade.



Desvios instrumentais

COMO MINIMIZAR O DESVIO?

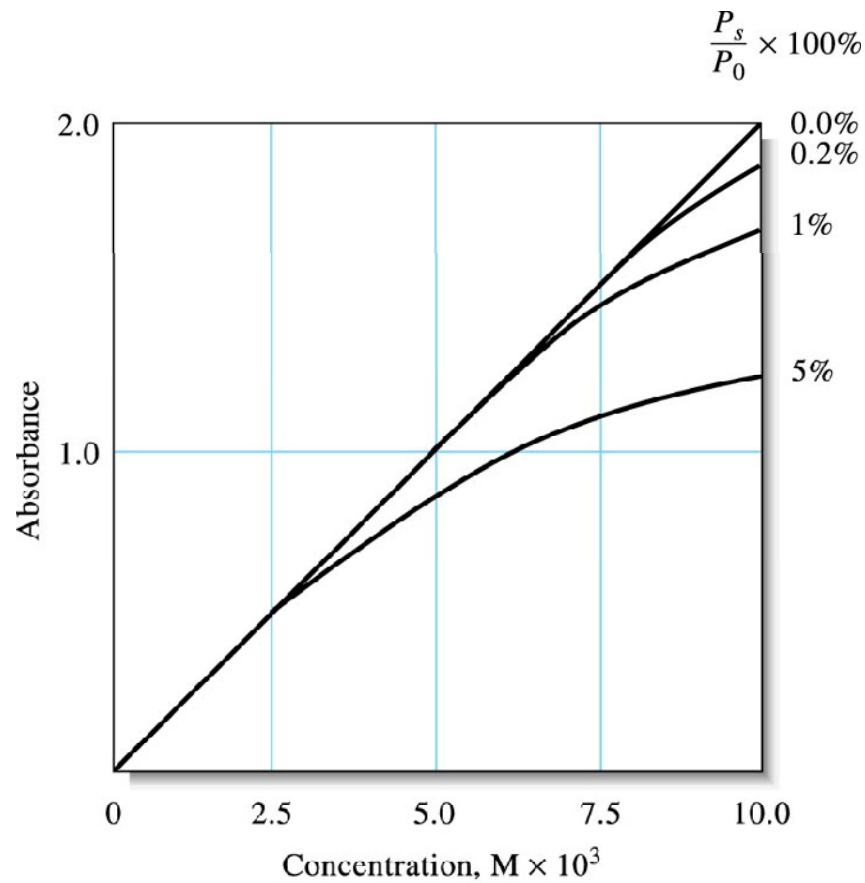
Escolher região onde o ϵ é constante na banda selecionada.



Desvios instrumentais

Radiação espúria $A' = \log \frac{P_0 + P_s}{P + P_s}$

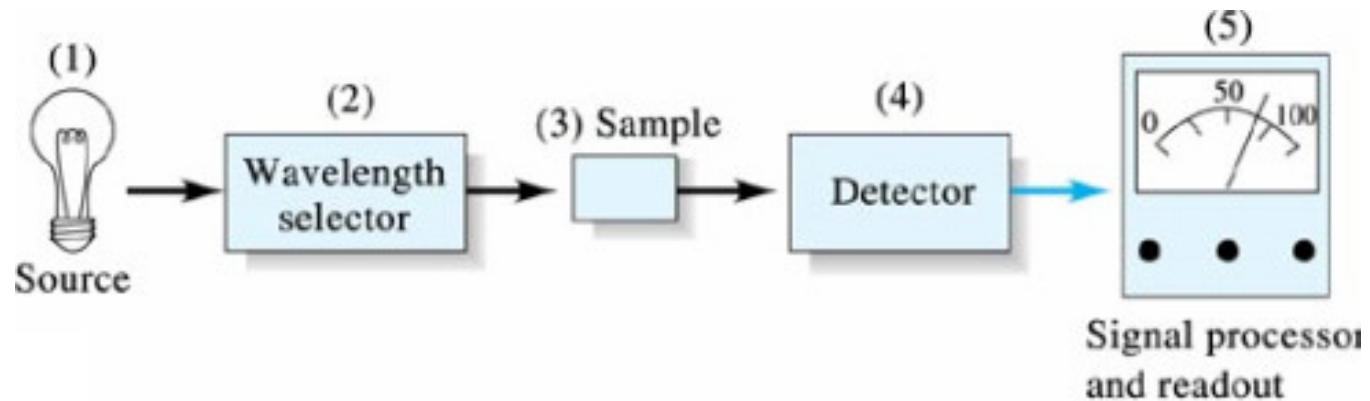
P_s = potência de radiação espúria não-absorvida



Aplicação da Lei de Beer

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

Instrumentação



✓ Fontes

✓ Seletores de comprimento de onda

✓ Recipientes para amostra

✓ Transdutores de radiação

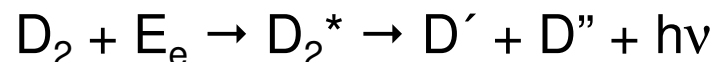
✓ Processadores de sinal e dispositivos de leitura

Fontes

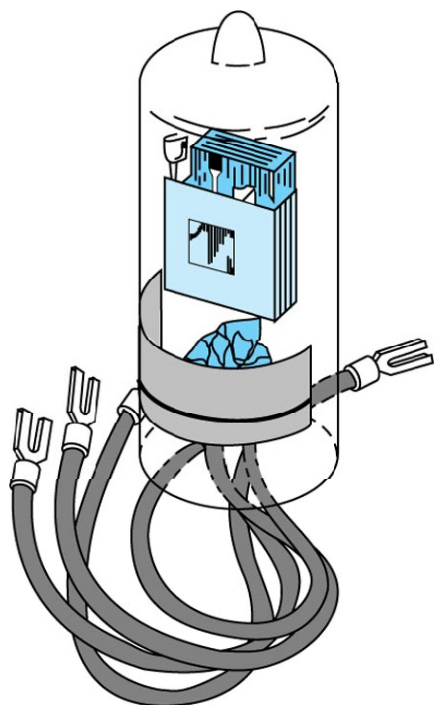
Necessita-se de uma fonte contínua cuja potência não varie bruscamente em uma faixa considerável de comprimento de onda.

Lâmpadas de deutério e hidrogênio

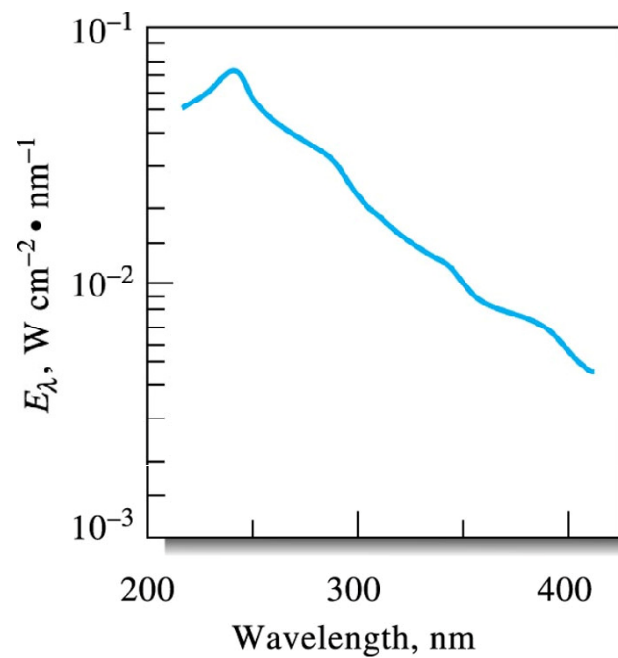
Um espectro contínuo na região do ultravioleta é produzido por excitação elétrica de deutério ou hidrogênio em baixa pressão.



Onde E_e é a energia elétrica absorvida pela molécula e D_2^* é a molécula de deutério excitada.



© 2004 Thomson - Brooks/Cole



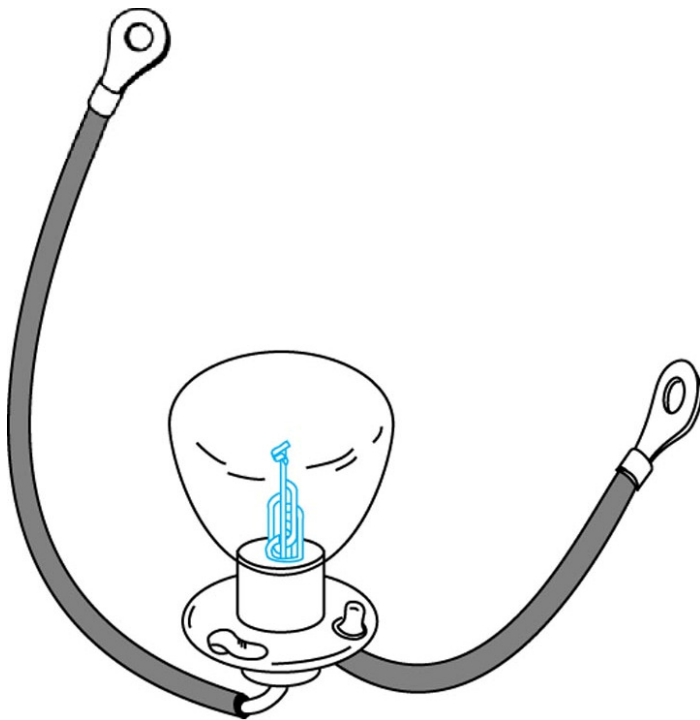
© 2004 Thomson - Brooks/Cole

Emissão de uma lâmpada de deutério

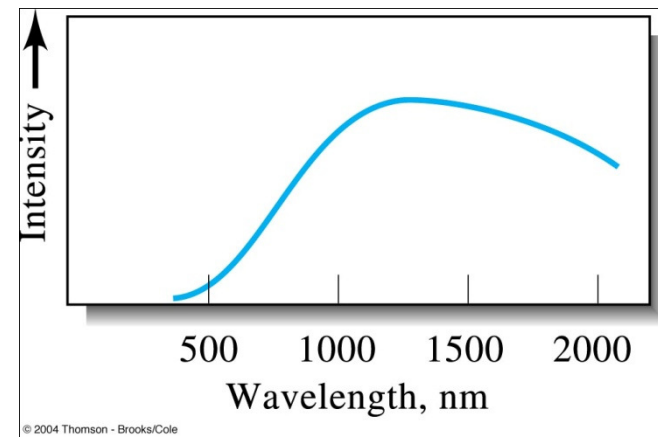
Lâmpadas de filamento de tungstênio

A distribuição de energia dessa fonte aproxima-se da de um corpo negro e é, portanto, dependente da temperatura.

Útil na região de comprimentos de onda entre 350 e 2500nm.



© 2004 Thomson - Brooks/Cole



Lâmpadas de arco de xenônio

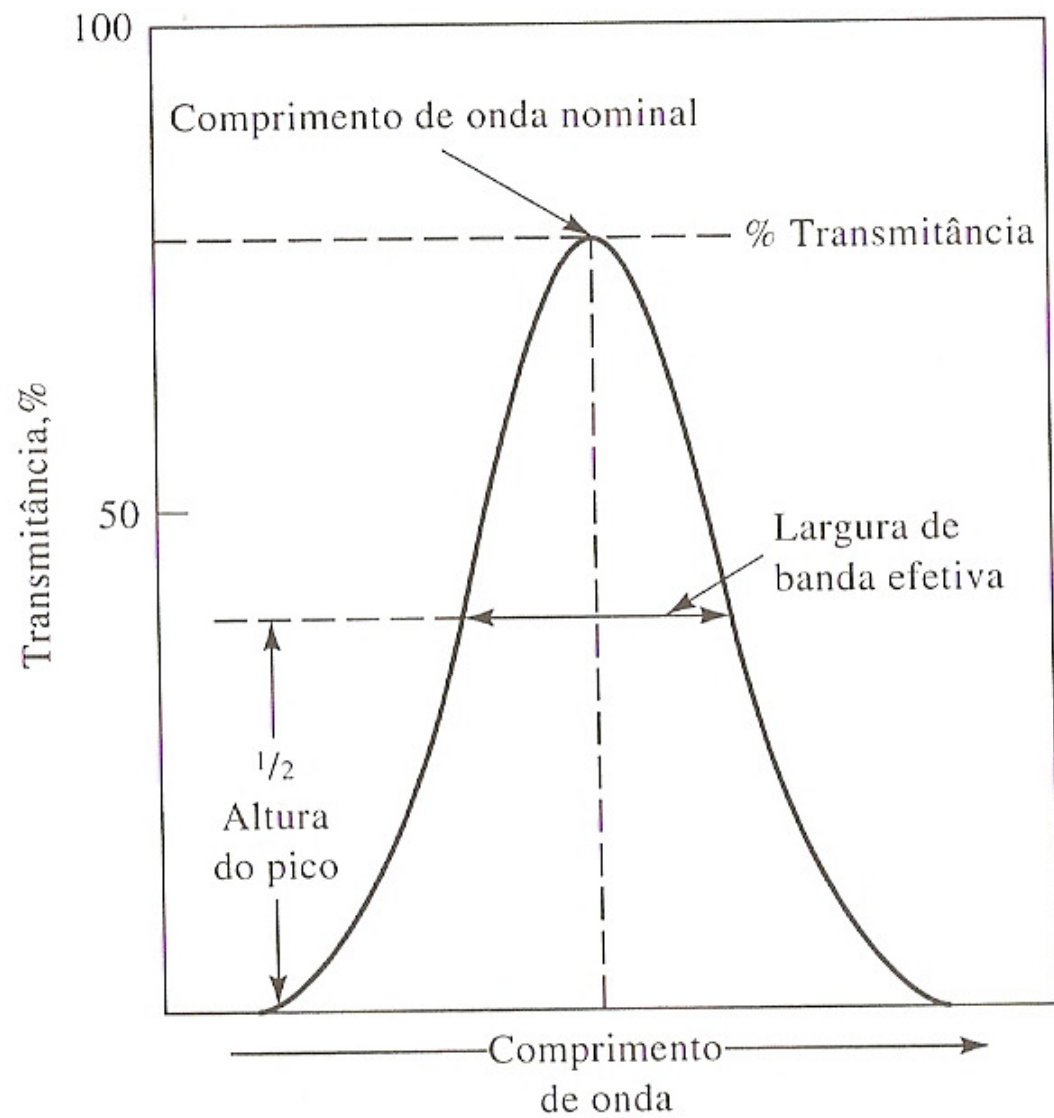
Produz radiação intensa pela passagem de corrente em uma atmosfera de xenônio.

O espectro é contínuo na faixa entre 200 e 1000nm.

Seletores de comprimento de onda

Para a maioria das análises espectroscópicas, é necessária radiação constituída de um grupo estreito de comprimentos de onda, limitado e contínuo chamado BANDA.

Uma largura de banda estreita aumenta a *sensibilidade* de medidas de absorbância, pode fornecer *seletividade* para o método de absorção, e é freqüentemente um pré-requisito, do ponto de vista da obtenção de uma *relação linear* entre o sinal óptico e a concentração.



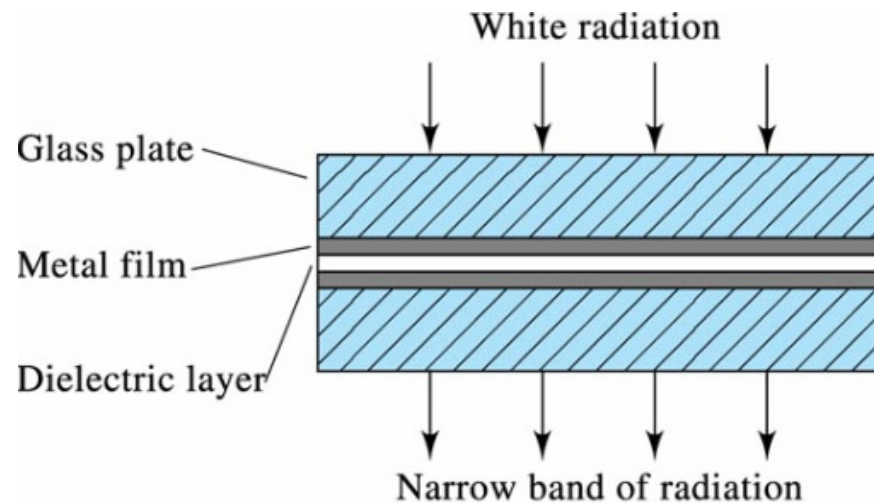
Saída de um seletor de comprimentos de onda típico

Tipos

FILTROS e MONOCROMADORES

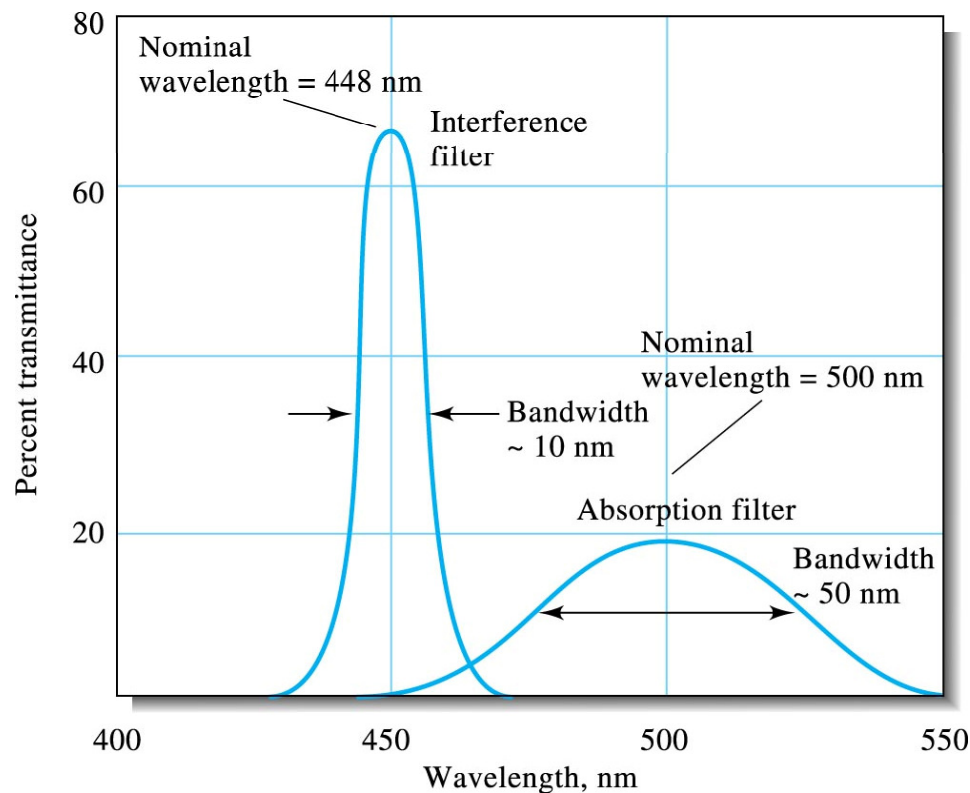
FILTROS

Filtros de interferência: estão disponíveis para as regiões UV, VIS e infravermelho do espectro. Utilizam a interferência óptica para fornecer bandas estreitas de radiação.



Filtros de absorção: são geralmente mais baratos que os filtros de interferências. São restritos à região visível do espectro.

O tipo mais comum consiste de vidro colorido, ou de um corante suspenso em gelatina e disposto entre placas de vidro.

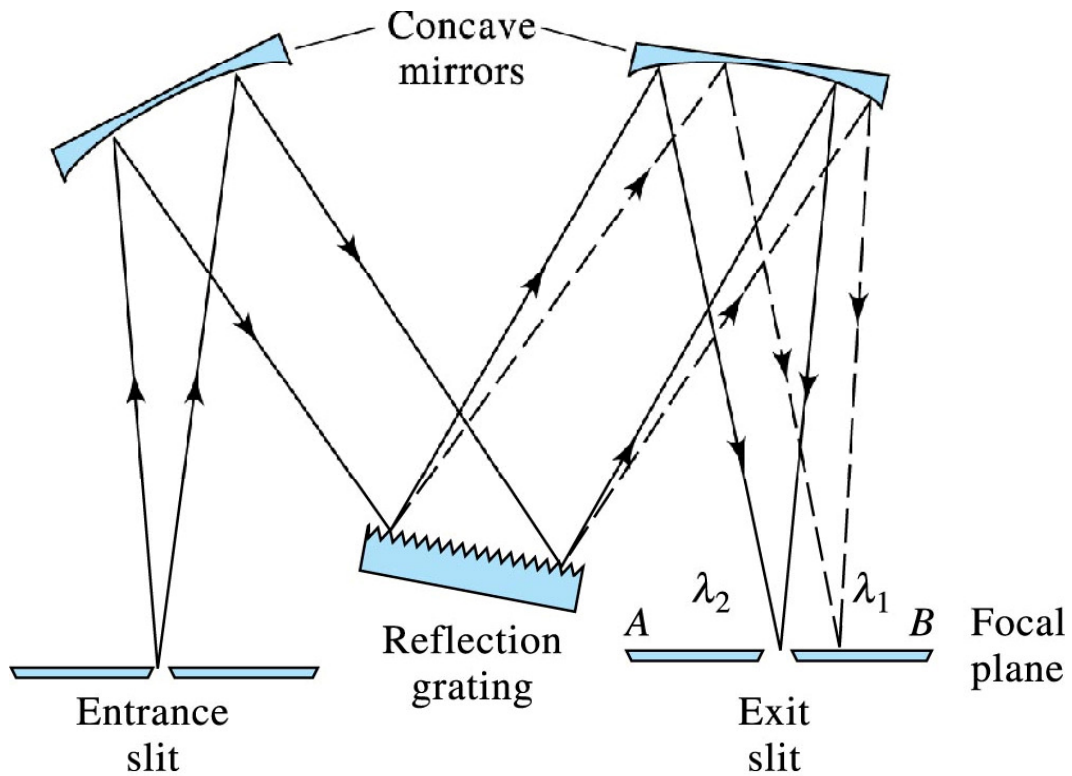


MONOCROMADORES: são projetados para varredura espectral.

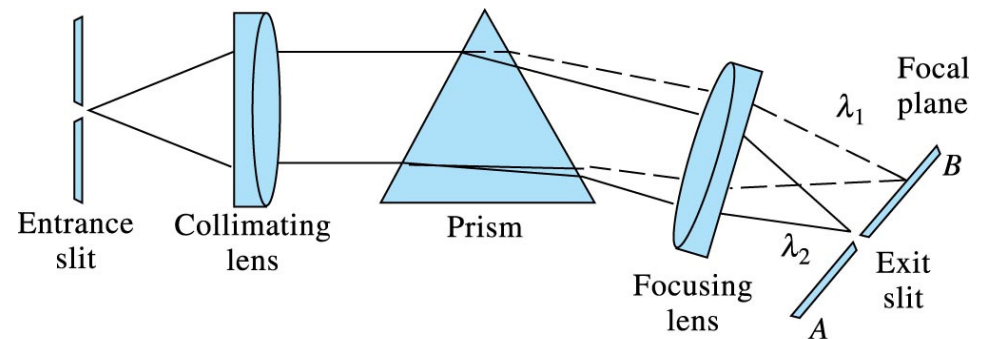
Em termos de construção mecânica empregam fendas, lentes, espelhos, janelas e redes ou prismas.

Os materiais empregados na fabricação desses componentes dependem da região de comprimento de onda em que se pretende usá-los.

Componentes dos monocromadores

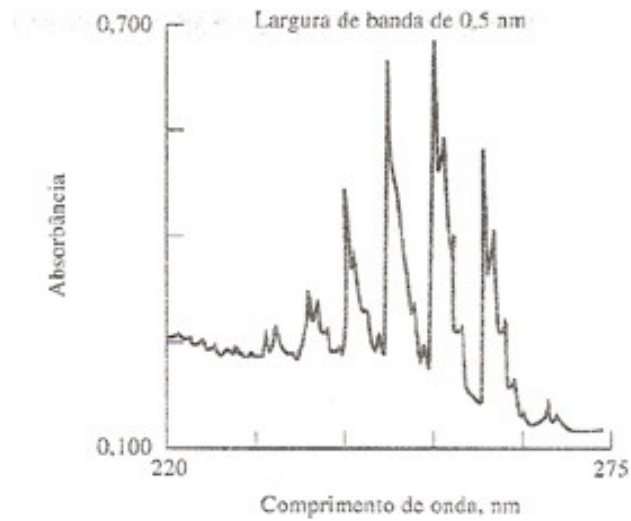


© 2004 Thomson - Brooks/Cole

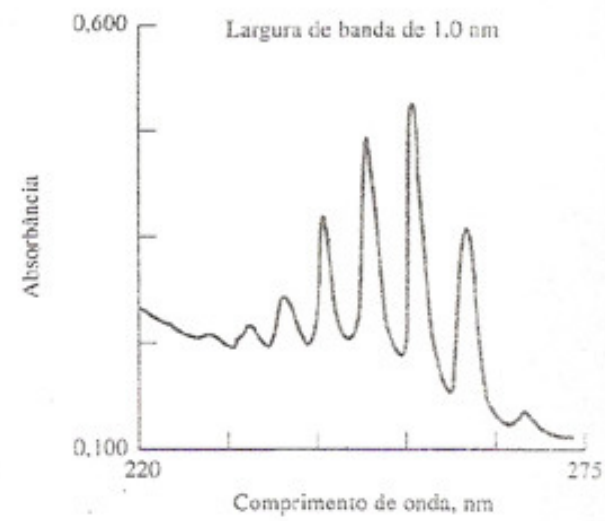


© 2004 Thomson - Brooks/Cole

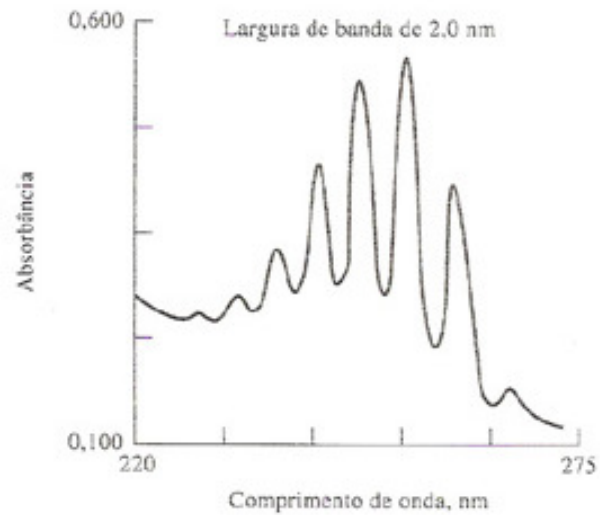
Efeito da largura da fenda sobre a resolução



(a)



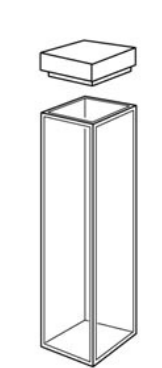
(b)



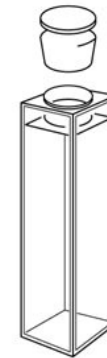
(c)

Recipientes para amostra

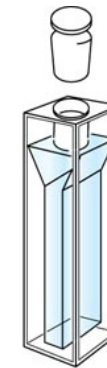
material	transparência	aplicabilidade
quartzo	150-3000 nm	UV, visível
vidro	375-2000 nm	visível
plástico	380-800 nm	visível



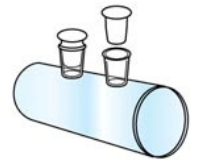
Open-top
normal with lid



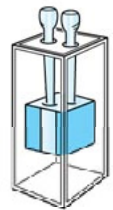
Stoppered
normal



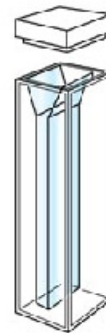
Stoppered
semimicro



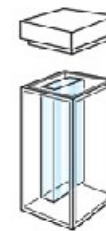
Cylindrical



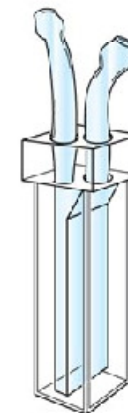
Semimicro
flow



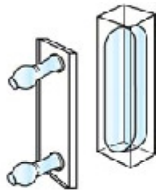
Tall micro



Minimum height
micro



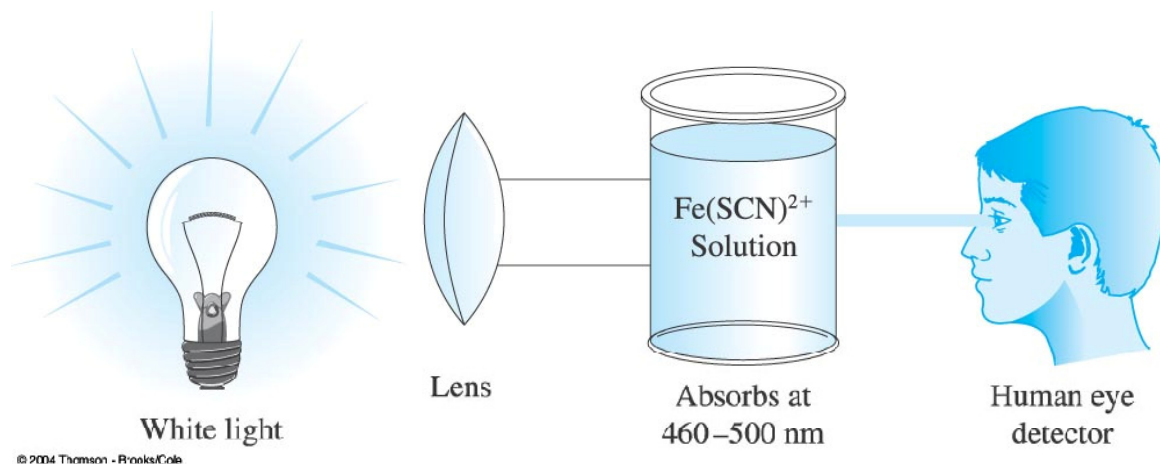
Sampling



Demountable
flow

Detectores

Nos primeiros instrumentos espectroscópicos, os detectores eram o olho humano ou uma placa ou filme fotográfico.



Esses meios de detecção foram substituídos por transdutores, que convertem energia radiante em sinais elétricos.

Ideal → apresentar uma alta sensibilidade, uma alta relação sinal- ruído, uma resposta constante sobre um intervalo considerável de comprimentos de onda e um tempo de resposta rápido.

Dois tipos: um responde a fótons (detectores fotoelétricos) e outro a calor.

Transdutores fotoelétricos

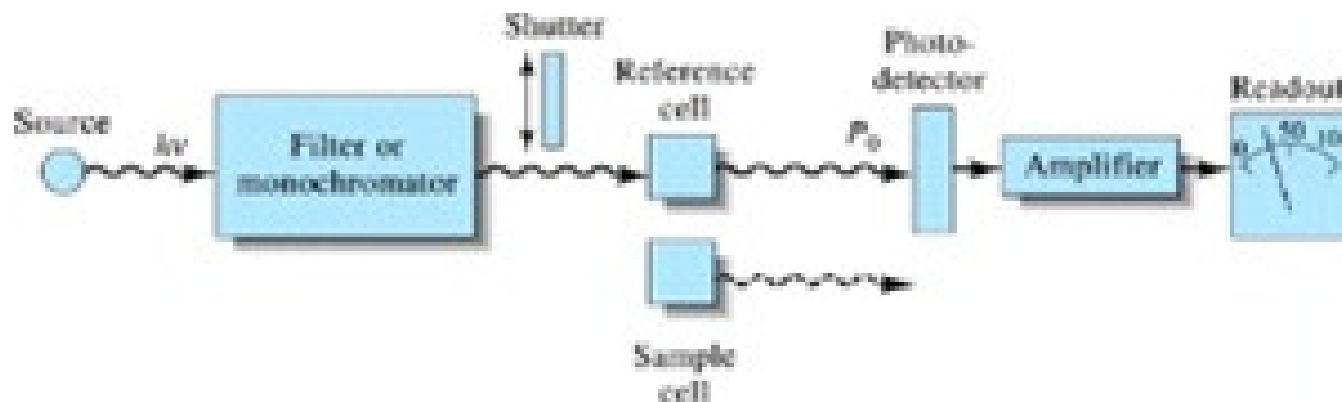
- Células fotovoltaicas**, nas quais a energia radiante gera uma corrente na interface na interface entre uma camada de material semicondutor e um metal.
- Tubos fotomultiplicadores**, que contêm superfície fotoemissora, além de várias superfícies adicionais que emitem uma cascata de elétrons quando atingidas por elétrons provenientes da área fotossensível.

Transdutores de diodo de silício

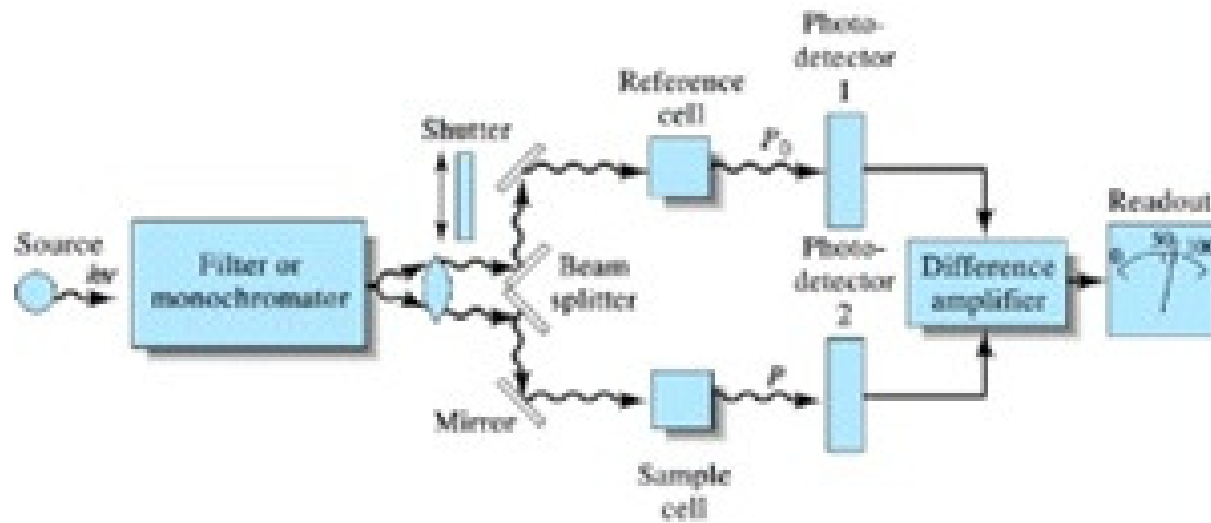
- consiste de uma junção pn inversamente polarizada formada em um chip de silício.
- menos sensíveis que os tubos fotomultiplicadores
- respondem na faixa espectral em torno de 190 a 1100nm.

Tipos de instrumentos

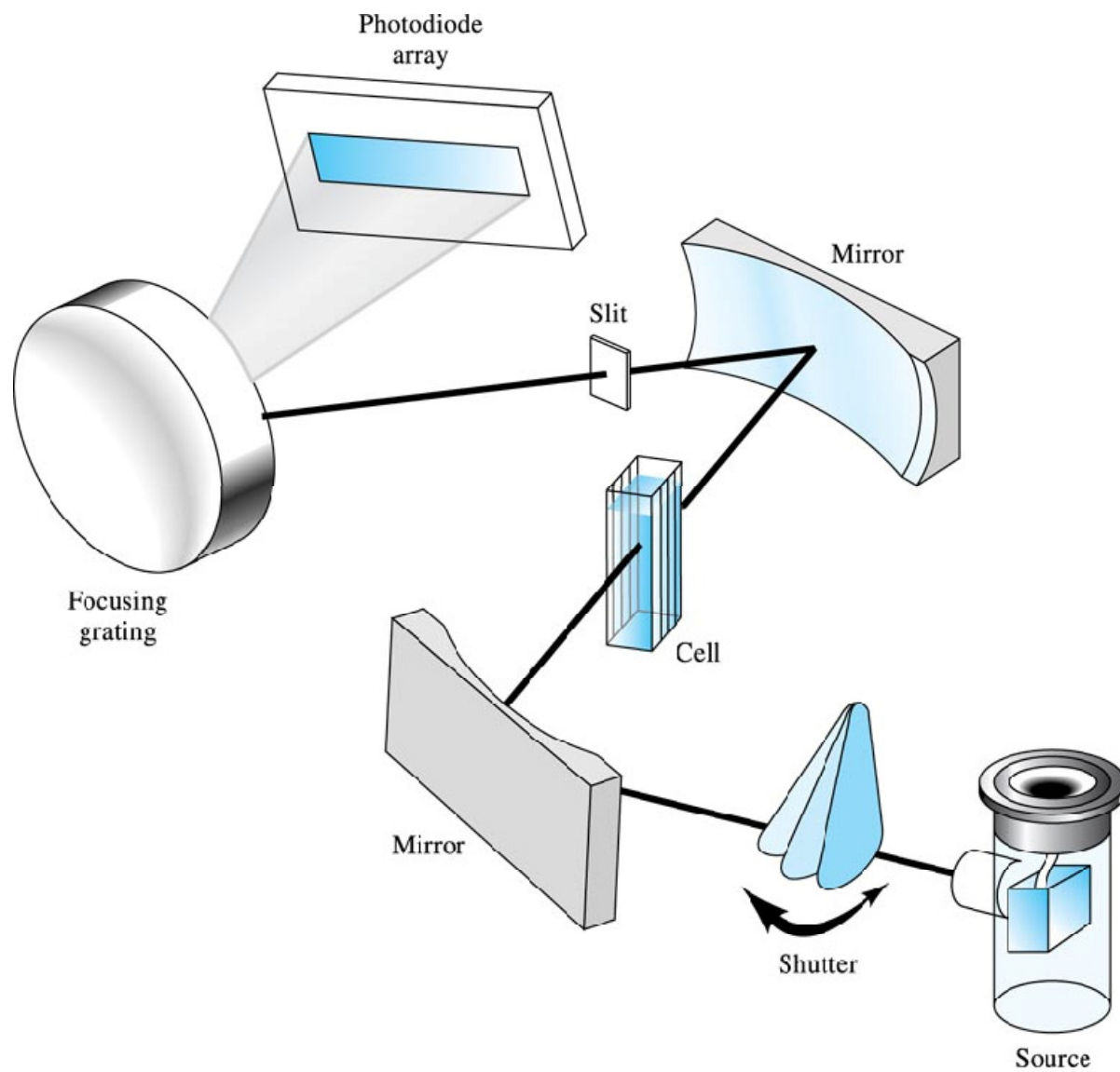
Feixe único



Feixe duplo



Multicanal

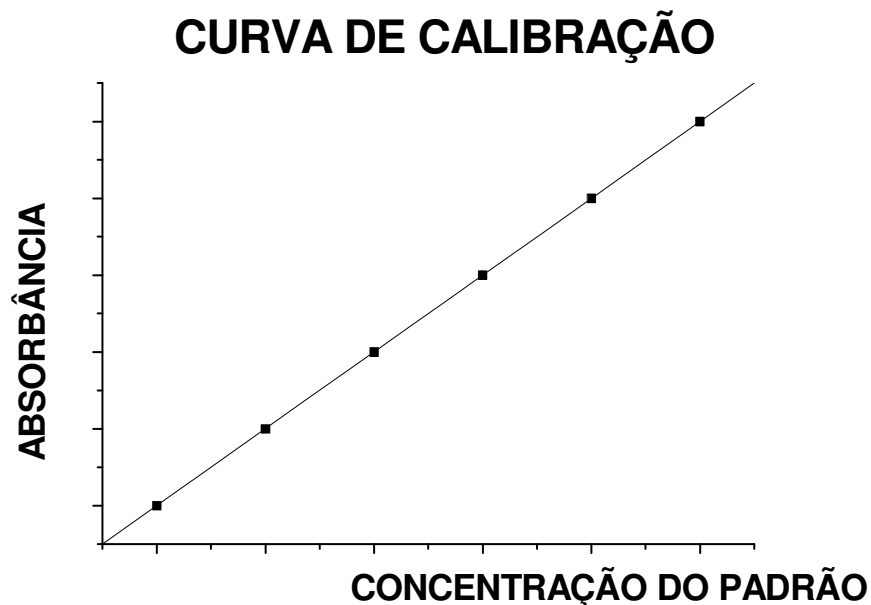
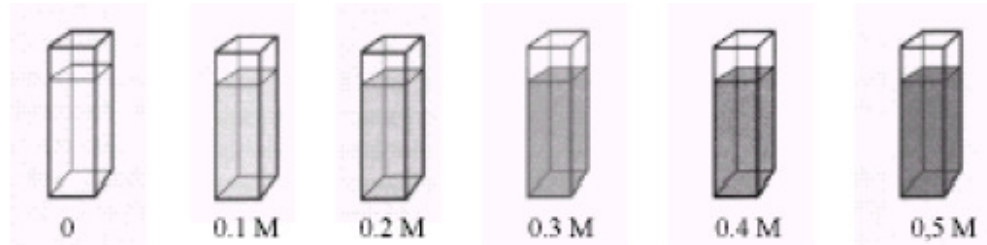


Desenvolvimento de um método

- Espectro: registro de um espectro na região de interesse → seleção do λ
- Fixação de comprimento de onda: monitoramento da absorbância no λ desejado
- Cinético: registro da absorbância em função do tempo.
- Os efeitos das variáveis que influenciam a absorbância devem ser conhecidos.
- Limpeza e manuseio das células
- Determinação da relação entre absorbância e concentração.

Análise quantitativa

A leitura do sinal para a amostra e padrão é lida separadamente e a identificação do composto desejado é feita através da comparação do comprimento de onda.



$$\text{Absorbância} = a + b \cdot \text{concentração}$$

$$\text{Absorbância} = \epsilon b C$$

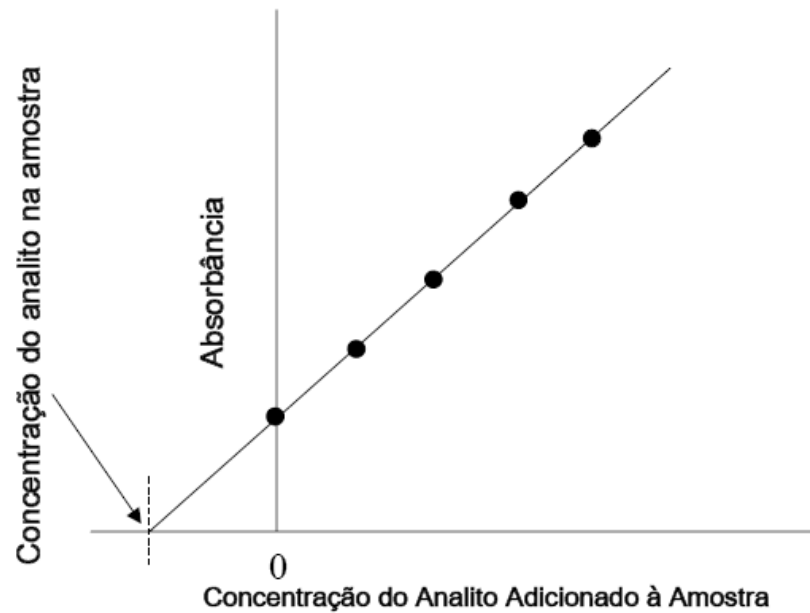
Exemplo

$[\text{MnO}_4^-] / \text{mmol L}^{-1}$	Absorbância
1	0,180
2	0,370
3	0,600
4	0,800
5	0,990
Amostra 1	0,400
Amostra 2	0,189

Método da adição de padrão

- Adições de quantidades conhecidas do analito na amostra (*spiking*)
- Elimina ou minimiza interferências introduzidas pela matriz de amostras complexas
- A matriz permanece quase inalterada após cada adição, a única diferença é concentração do analito.

$$S = \frac{kV_s c_s + kV_x c_x}{V_t}$$



A equação da reta é: **$y = a + bx$**

y = resposta do instrumento

x = concentração da solução padrão

b = inclinação da reta

a = intersecção no eixo dos y

$$a = \frac{kV_x c_x}{V_t}$$

$$b = \frac{kV_s}{V_t}$$

Exemplo

Uma amostra de 2,00 mL de urina foi tratada com um reagente para gerar cor com fosfato; após, a amostra foi diluída a 100 mL. A uma segunda amostra de 2,00 mL, foram adicionados exatamente 5,00 mL de uma solução de fosfato contendo 0,0300 mg de fosfato / mL, a qual foi tratada do mesmo modo que a amostra original. A absorbância da primeira solução foi 0,428; a segunda, 0,538. Calcule a concentração em mg de fosfato por mL da amostra.

Análise de uma mistura

$$\begin{aligned} A_{\text{total}} &= A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n \\ &= \varepsilon_1 bc_1 + \varepsilon_2 bc_2 + \varepsilon_3 bc_3 + \dots + \varepsilon_n bc_n \end{aligned}$$

O que fazer quando os espectros se sobrepõem?

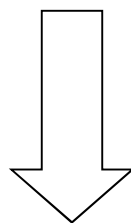
➤ **trabalhar com vários comprimentos de onda**

$$\frac{A_m}{A_{X_s}} = \frac{[Y]}{[Y]_s} \left(\frac{A_{Y_s}}{A_{X_s}} \right) + \frac{[X]}{[X]_s}$$

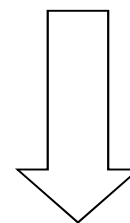
X_s = solução padrão de X

Y_s = solução padrão de Y

m = mistura



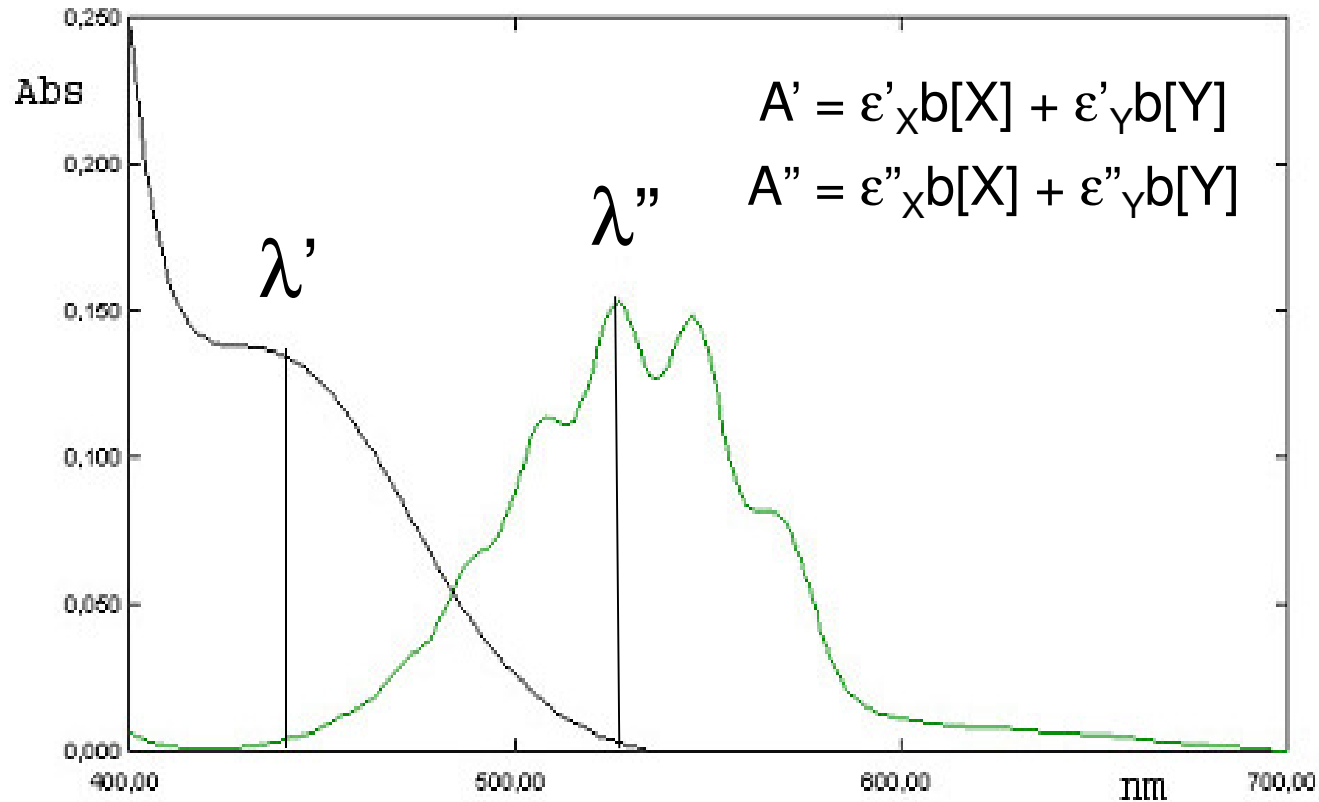
Inclinação



Intersecção

Análise de uma mistura

O que fazer quando os espectros estão bem resolvidos?



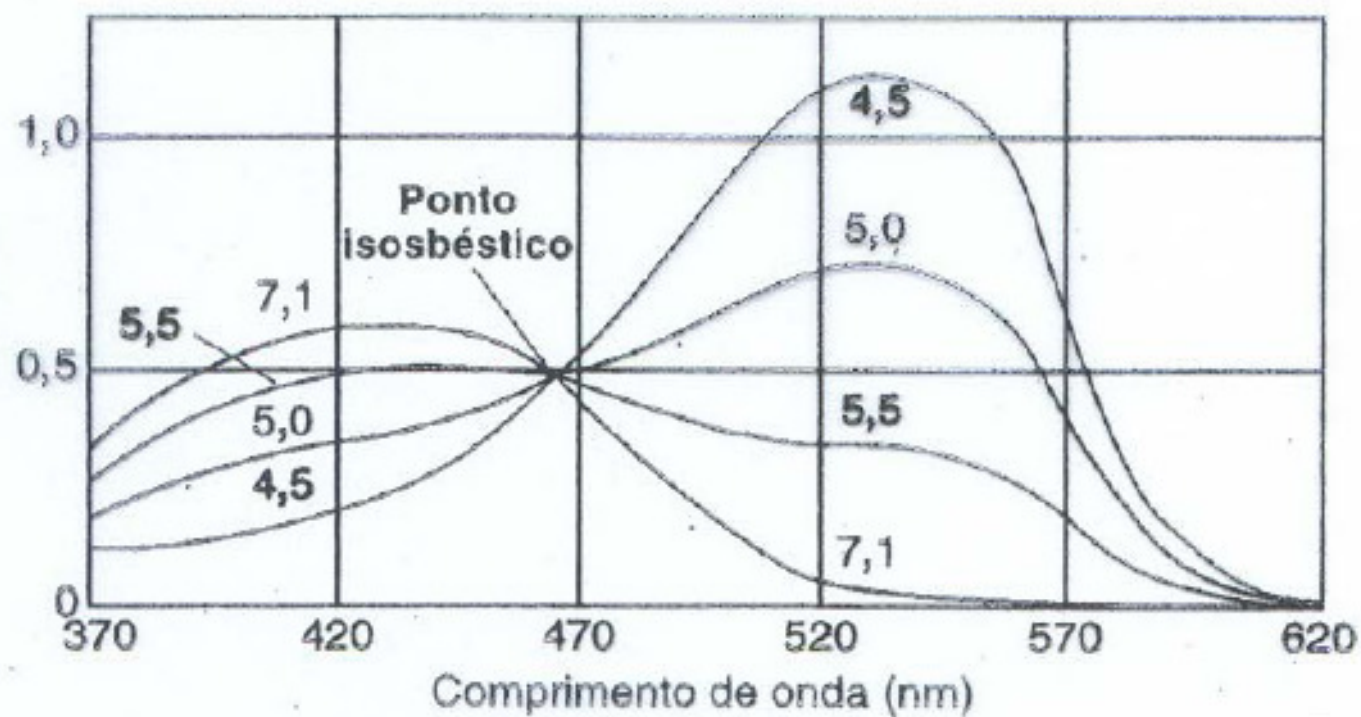
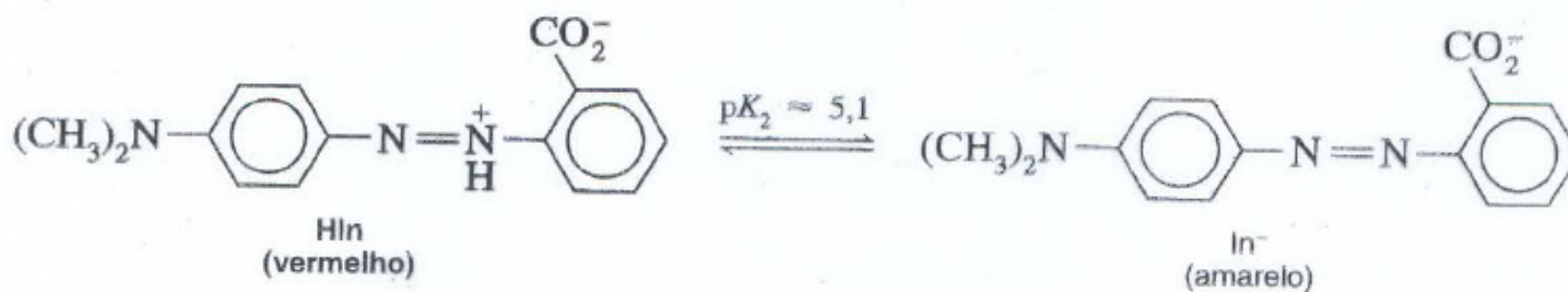
ϵ se aplicam a cada espécie em cada comprimento de onda – devem ser medidos em experimentos separados

Exemplo

Uma mistura dos compostos X e Y numa célula de 1,000 cm apresentou uma absorvância de 0,957 em 272 nm e de 0,559 em 327 nm. Encontre as concentrações de X e Y na mistura.

	ϵ (mol L ⁻¹ cm ⁻¹)	
λ (nm)	X	Y
272	16.440	3.870
327	3.990	6.420

Ponto isosbético



Ponto isosbético

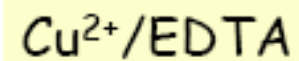
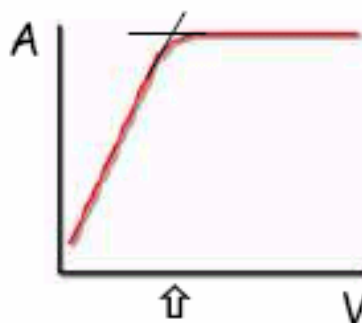
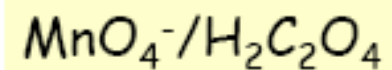
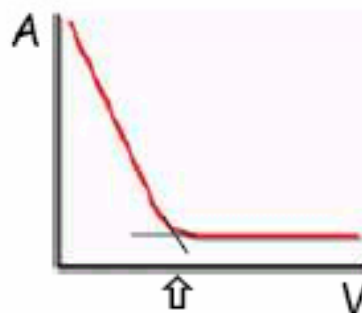
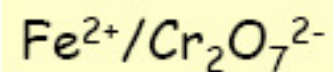
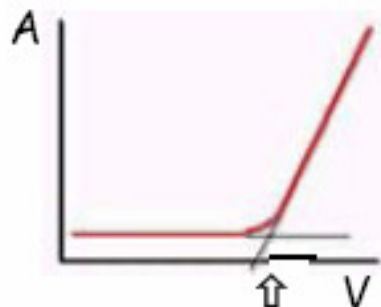
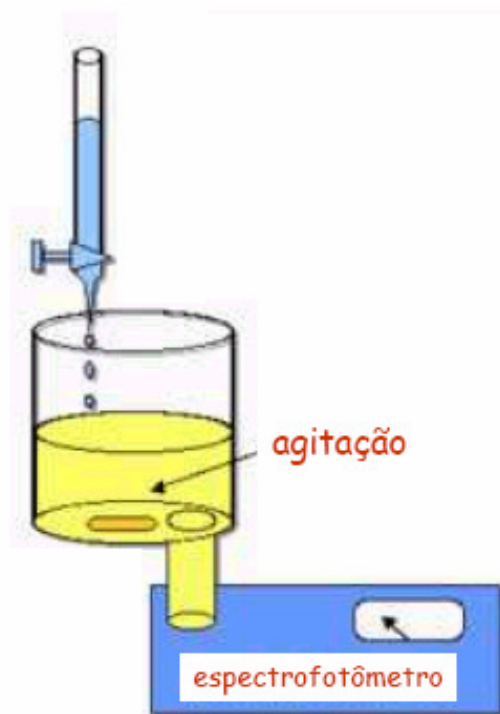
$$A^{465} = \varepsilon_{HIn}^{465} b[HIn] + \varepsilon_{In^-}^{465} b[In^-]$$

Em 465nm:

$$\varepsilon_{HIn}^{465} = \varepsilon_{In^-}^{465} \quad e \quad [HIn] + [In^-] = cte$$

Titulações espectrofotométricas

Analito, reagente ou produto absorvem radiação

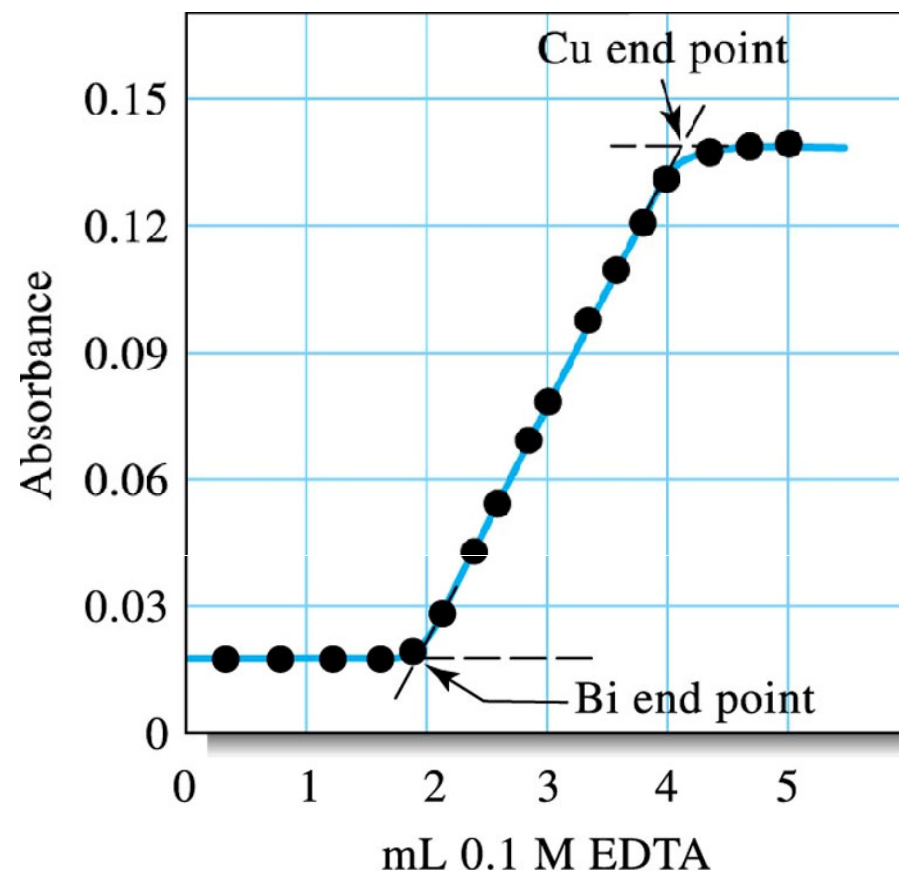


Vantagens

- Resultados mais exatos.
- Presença de outras espécies absorventes podem não interferir, uma vez que apenas uma variação na absorbância está sendo medida.
- Os dados experimentais são medidos bem distante da região do ponto de equivalência.
- Soluções relativamente diluídas podem ser tituladas.

Exemplo

Cu^{2+} e $\text{Bi}^{3+} \rightarrow 2,0 \text{ mmol L}^{-1}$, $\lambda = 745\text{nm}$



© 2004 Thomson - Brooks/Cole

$\lambda = 745\text{nm} \rightarrow$ nenhum dos cátions e nem os reagentes absorvem, nem complexo de bismuto mais estável formado, somente o complexo de cobre.