

Apostila: Análise Instrumental

SUMÁRIO

1. Física Aplicada - óptica e ondulatória
2. Introdução os métodos instrumentais
3. Fundamentos da Espectrofotometria
4. Colorimetria e Espectrofotometria de Absorção no ultravioleta e visível
5. Espectrofotometria de absorção no infravermelho
6. Turbidimetria e Nefelometria
7. Introdução aos métodos espectroquímicos de chama
8. Espectrofotometria de Absorção Atômica
9. Espectrofotometria de Emissão de Chama
10. Introdução aos métodos cromatográficos
11. Cromatografia Gasosa (CG)
12. Cromatografia líquida da alta eficiência (HPLC)
13. Potenciometria
14. Condutimetria

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 adequam 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, utilizava-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 porque:

- 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 das 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) Deteção 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 10^7 vezes.
- c) Amplificação: geralmente os detectores que respondem transformando a informação original em um sinal elétrico, seja corrente ou voltagem, são preferidos devidos 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 se 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 líquido. 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

Propriedades características	Métodos instrumentais
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>
Fotometro	Lâmpada de W, filtro de vidro	Feixe de luz atenuado	Fotocelula ou fototubo	Corrente elétrica	Escala	Medidor de corrente
Espectrof. de Absorç atômica atômica	Chama	Radiação UV ou Vis	Válvula fotomultiplicadora	Potencial elétrico	Amplificador, monocromador	Unidade digital
pHmetro	Amostra/eletrodo de vidro	Atividade do íon 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.

Metodo	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

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

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.

1.6 CALIBRAÇÃO DE INSTRUMENTOS:

Instrumentos são usados para medir concentrações de várias maneiras. Às vezes, o instrumento serve para localizar o ponto final de uma titulação; neste caso, os cálculos para determinação da concentração são idênticos àqueles efetuados para titulações onde o ponto final é localizado por meio de um indicador.

Instrumentos também podem ser usados para medir algum parâmetro físico que possa ser relacionado à concentração da amostra. A medida pode ser alguma propriedade elétrica, óptica ou outra, frequentemente diretamente proporcional à concentração da amostra.

CALIBRAÇÃO= Processo que relaciona o sinal analítico medido (leitura) com a concentração conhecida da substância em uma solução padrão de referencia.

1.6.1 Método da Curva de Trabalho ou de Calibração:

Para o uso da técnica de curva de calibração, vários padrões que contêm concentrações do analito exatamente conhecidas são introduzidos no instrumento e feita a leitura. Normalmente, essa leitura é corrigida para o valor obtido para o branco no instrumento. Idealmente, o branco contém todos os componentes da amostra original, exceto o analito. Os dados resultantes são colocados num gráfico com a resposta do instrumento corrigida versus a concentração do analito no padrão.

PADRÃO OU SOLUÇÃO PADRÃO = solução preparada em laboratório de concentração exatamente conhecida da substância que se quer analisar na amostra. Contém todos os reagentes adicionados na amostra.

Portanto, esse método consiste em preparar um gráfico das leituras instrumentais em função da concentração de padrões, conhecido como curva de trabalho ou curva de calibração, e contém as concentrações dos padrões na abscissa e as leituras instrumentais correspondentes na ordenada. Para ser útil, o gráfico deve estender-se sobre todo o intervalo de concentrações possíveis para as amostras a serem analisadas.

Depois de preparada a curva de trabalho, localiza-se a leitura instrumental da amostra como um ponto sobre a curva e lê-se a concentração da amostra na coordenada que representa o eixo das concentrações.

Uma variação linear da leitura em função da concentração não é um requisito obrigatório para o uso do método. Uma vez preparada, a curva de trabalho pode ser usada para tantas análises quantas se deseje, desde que as condições experimentais não sejam modificadas. Quando a concentração da substância na solução amostra situar-se além dos valores da faixa de linearidade, é necessário diluí-la, efetuar nova leitura e incluir nos cálculos o fator de diluição.

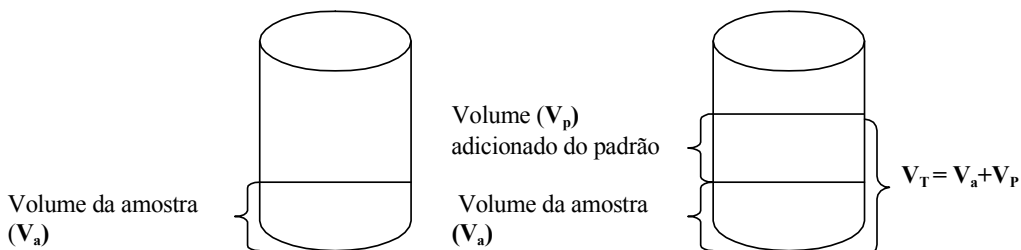
Este procedimento e medida, avaliação e construção do gráfico é usado em vários métodos instrumentais. Hoje dispõe-se de softwares que, além do traçado das curvas, efetuam o tratamento estatístico dos dados, facilitando a obtenção dos resultados em menor tempo (Planilha Excel).

Preparação da curva de calibração:

- ⌚ Vários padrões com Concentração conhecida da substância que se deseja analisar são introduzidos no instrumento e a leitura é registrada.
- ⌚ A resposta é corrigida para o valor obtido com o branco (solução que contém todos os componentes da amostra original, exceto a substância desejada)
- ⌚ Os dados são plotados num gráfico de Leitura x Cp
- ⌚ A curva é ajustada matematicamente pelo método dos mínimos quadrados (ou no Excel) e uma equação da reta é produzida: $Y = ax + b$, onde a Concentração pode ser calculada diretamente pela equação ($Y =$ leitura e $x =$ Concentração da substância na amostra)

Método da Adição de Padrão:

- ⌚ Usada para análise de misturas complexas em uma amostra.
- ⌚ Corresponde à adição de quantidades definidas de uma solução padrão a alíquotas da amostra de mesmo volume
- ⌚ Cada solução é diluída antes da leitura
- ⌚ Leitura: na amostra original e na amostra + padrão



Leitura amostra original $\mathcal{L}_1 = (V_a \times C_a) / V_T$

Leitura amostra+padrão $\mathcal{L}_2 = [(V_a \times C_a) / V_T] + [(V_p \times C_p) / V_T]$

$$C_a = \frac{L_1 \times C_p \times V_p}{(L_2 - L_1) \times V_a}$$

1.7 MATEMÁTICA PARA LABORATÓRIO:

1.7.1 Unidades do Sistema Internacional (SI):

O sistema SI é composto por unidades de medida básicas das quais outras se derivam. Padrões de comprimento, massa e tempo são o metro (m), o quilograma (Kg) e o segundo (s), respectivamente. A temperatura é medida em kelvins (K), a quantidade de substância em mols (mol), a corrente elétrica em ampère (A).

Quadro 2 - Unidades SI de base

GRANDEZA	[UNIDADES SI DE BASE]	
	NOME	SÍMBOLO
comprimento	metro	m
massa	quilograma	kg
tempo	segundo	s
corrente elétrica	ampère	A
temperatura termodinâmica	kelvin	K
quantidade de matéria	mol	mol
intensidade luminosa	candela	cd

As unidades derivadas são unidades que podem ser expressas a partir das unidades de base, utilizando símbolos matemáticos de multiplicação e de divisão. Dentre essas unidades derivadas, diversas receberam nome especial e símbolo particular, que podem ser utilizados, por sua vez, com os símbolos de outras unidades de base ou derivadas para expressar unidades de outras grandezas. O Quadro 3 fornece alguns exemplos de unidades derivadas expressas diretamente a partir de unidades de base. As unidades derivadas são obtidas por multiplicação e divisão das unidades de base.

Quadro 3 - Exemplos de unidades SI derivadas, expressas a partir das unidades de base.

GRANDEZA	[UNIDADE SI]	
	NOME	SÍMBOLO
superfície	metro quadrado	m ²
volume	metro cúbico	m ³
velocidade	metro por segundo	m/s
aceleração	metro por segundo ao quadrado	m/s ²
número de ondas	metro elevado à potência menos um (1 por metro)	m ⁻¹
massa específica	quilograma por metro cúbico	kg/m ³
volume específico	metro cúbico por quilograma	m ³ /kg
densidade de corrente	ampère por metro quadrado	A/m ²
campo magnético	ampère por metro	A/m
concentração (de quantidade de matéria)	mol por metro cúbico	mol/m ³
luminância	candela por metro quadrado	cd/m ²
índice de refração	(o número) um	1*

Por questões de comodidade, certas unidades derivadas, que são mencionadas no Quadro 4, receberam nome especial e símbolo particular. Esses nomes e símbolos podem ser utilizados, por sua vez, para expressar outras unidades derivadas.

Quadro 4 - Unidades SI derivadas possuidoras de nomes especiais e símbolos particulares.

GRANDEZA DERIVADA	UNIDADE SI DERIVADA		
	NOME	SÍMBOLO	EXPRESSIONADO EM OUTRAS UNIDADES SI
ângulo plano	radiano (a)	rad	
frequência	hertz	Hz	
força	newton	N	
pressão, esforço	pascal	Pa	N / m ²
energia, trabalho,	joule	J	N . m
quantidade de calor potência,	watt	W	J / s
fluxo de energia quantidade de eletricidade, carga elétrica	coulomb	C	
diferença de potencial elétrico, força eletromotriz	volt	V	W / A
capacidade elétrica	farad	F	C / V
resistência elétrica	ohm	Ω	V / A
condutância elétrica	siemens	S	A / V
fluxo de indução magnética	weber	Wb	V . s
indução magnética	tesla	T	Wb / m ²
indutância	henry	H	Wb / A
temperatura Celsius	grau Celsius (d)	°C	Ω
fluxo luminoso	lumen	lm	cd . sr
iluminamento	lux	lx	lm/m ²

Múltiplos e submúltiplos decimais das unidades do SI:

Quadro 5 - Prefixos SI

FATOR	PREFIXO	SÍMBOLO	FATOR	PREFIXO	SÍMBOLO
10 ²⁴	yotta	Y	10 ⁻¹	deci	d
10 ²¹	zetta	Z	10 ⁻²	centi	c
10 ¹⁸	exa	E	10 ⁻³	mili	m
10 ¹⁵	peta	P	10 ⁻⁶	micro	μ
10 ¹²	tera	T	10 ⁻⁹	nano	n
10 ⁹	giga	G	10 ⁻¹²	pico	p
10 ⁶	mega	M	10 ⁻¹⁵	femto	f
10 ³	quilo	K	10 ⁻¹⁸	atto	a
10 ²	hecto	H	10 ⁻²¹	zepto	z
10 ¹	deca	Da	10 ⁻²⁴	yocto	y

Certas unidades que não fazem parte do Sistema Internacional, porém estão amplamente difundidas, desempenham papel tão importante que é necessário conservá-las para uso geral com o Sistema Internacional de Unidades. Elas figuram no Quadro 6 a seguir.

Quadro 6 - Unidades fora do Sistema Internacional, em uso com o Sistema Internacional

NOME	SÍMBOLO	VALOR EM UNIDADE SI
------	---------	---------------------

Minuto	min	1 min = 60s
hora(a)	h	1 h = 60 min = 3.600s
dia	d	1 d = 24 h = 86.400s
grau(b)	°	1° = (π/180) rad
minuto	′	1′ = (1/60)° = (π/ 10 800) rad
segundo	″	1″ = (1/60)′ = (π/ 648 000) rad
litro	l, L	1 L = 1 dm ³ = 10 ⁻³ m ³
tonelada	t	t = 10 ³ kg

Do mesmo modo é necessário admitir algumas outras unidades não pertencentes ao Sistema Internacional, cujo uso é útil em domínios especializados da pesquisa científica, pois seu valor (a ser expresso em unidades SI) tem de ser obtido experimentalmente, portanto não é exatamente conhecido (Quadro 7).

Quadro 7- Unidades fora do SI, em uso com o Sistema Internacional, cujo valor em Unidades SI é obtido experimentalmente.

NOME	SÍMBOLO	DEFINIÇÃO	VALOR EM UNIDADES SI
eletronvolt	eV	1 eletronvolt é a energia cinética adquirida por um elétron atravessando uma diferença de potencial de 1 volt no vácuo: 1 eV = 1,602 19 x 10 ⁻¹⁹ , aproximadamente.	1 eV = 1,602 177 33 x 10 ⁻¹⁹ J
unidade de massa atômica	u	A unidade unificada de massa atômica é igual à fração 1/12 da massa de um átomo do nuclídeo 12C. 1 u = 1,660 57 x 10 ⁻²⁷ kg, aproximadamente.	1 u = 1,660 540 2 x 10 ⁻²⁷ kg
unidade astronômica	ua	A unidade astronômica é unidade de comprimento; seu valor é, aproximadamente, igual à distância média entre a Terra e o Sol.	1 ua = 1,495 978 706 91 x 10 ¹¹

O Quadro 8 menciona outras unidades fora do SI utilizadas de maneira corrente e com o SI, a fim de satisfazer às necessidades no campo comercial ou jurídico, ou a interesses científicos particulares.

Quadro 8 - Outras unidades fora do SI em uso com o Sistema Internacional

NOME	SÍMBOLO	VALOR EM UNIDADE SI
Milha marítima ^(a)		1 milha marítima = 1 852m
nó		1 milha marítima por hora = (1 852/3 600)m/s
angström	Å	1 Å = 0,1 nm = 10 ⁻¹⁰ m
are ^(b)	a	1 a = 1dam ² = 10 ² m ²
hectare ^(b)	ha	1ha = 1hm ² = 104 m ²

a) A milha é uma unidade especial utilizada na navegação marítima e aérea para expressar distâncias.

b) Estas unidades e seus símbolos são empregados para exprimir superfícies agrárias.

O Quadro 9 fornece as relações entre as unidade CGS e as unidades SI. O quadro menciona as unidades CGS com nomes especiais. No campo da mecânica, o sistema de unidades CGS se baseava em 3 grandezas de base e suas unidades: o centímetro, o grama e o segundo. No campo da eletricidade e magnetismo, as unidades foram também expressas em função dessas três unidades de base. Como essas unidades podiam ser expressas de várias maneiras, vários sistemas foram estabelecidos, como, por exemplo, o Sistema CGS Eletrostático, o Sistema CGS Eletromagnético e o Sistema CGS de Gauss. Nesses três últimos sistemas, o sistema de grandezas e o sistema de equações correspondentes são diferentes daqueles que se utilizam com as unidades SI.

Quadro 9 - Unidades CGS derivadas dotadas de nomes particulares

NOME	SÍMBOLO	VALOR EM UNIDADE SI
erg	erg	1 erg = 10 ⁻⁷ J
dina	dyn	1 dyn = 10 ⁻⁵ N
poise	P	1 P = 1 dyn.s/cm ² = 0,1Pa.s
Stokes	St	1 St = 1 cm ² /s = 10 ⁻⁴ m ² /s
gauss	G	1G = 10 ⁻⁴ T

Os nomes dos múltiplos e submúltiplos das unidades são formados mediante os seguintes prefixos:

FATOR PELO QUAL A UNIDADE É MULTIPLICADA	PREFIXO	SÍMBOLO
1 000 000 000 000 = 10 ¹²	Tera	T
1 000 000 000 = 10 ⁹	Giga	G
1 000 000 = 10 ⁶	Mega	M
1 000 = 10 ³	Quilo	k
100 = 10 ²	Hecto	h
10 = 10 ¹	Deca	da
0,1 = 10 ⁻¹	Deci	d
0,01 = 10 ⁻²	Centi	c
0,001 = 10 ⁻³	Mili	m
0,000 001 = 10 ⁻⁶	Micro	μ
0,000 000 001 = 10 ⁻⁹	Nano	n
0,000 000 000 001 = 10 ⁻¹²	pico	p

Os símbolos das unidades são expressos em caracteres romanos, em geral minúsculos; todavia, se os símbolos são derivados de nomes próprios, são utilizados caracteres romanos maiúsculos. Esses símbolos não são seguidos de ponto

UNIDADES	SÍMBOLO	UNIDADES	SÍMBOLO
•metro	m	ampère	A
•metro quadrado	m ²	volt	V
•metro cúbico	m ³	watt	W
•micron	μ	ohm	Ω
•litro	l	coulomb	C
•grama	g	farad	F
•tonelada	t	henry	H
segundo	s	hertz	Hz
erg	erg	poise	P
dina	dyn	newton	N
grau Celsius	°C	candela (vela nova)	cd
•grau absoluto	°K	lux	lx
caloria	cal	lúmen	lm
bar	bar	stilb	sb
hora	h		

1.7.2 Algarismos significativos:

O n° de algarismos significativos é o n° mínimo de dígitos necessários para escrever um dado valor em notação científica sem perda de exatidão. O n° 142,7 possui quatro algarismos significativos por que pode ser escrito como 1,427 x 10².

O último (o mais afastado à direita) algarismo significativo numa quantidade medida terá sempre uma incerteza associada a si.

• Adição e subtração:

Quando os números têm o mesmo expoente: soma/subtrai os números e conserva a potência de 10.

Ex.:

$$\begin{array}{r}
 + \quad 1,362 \times 10^{-4} \\
 \quad 3,111 \times 10^{-4} \\
 \hline
 \quad 4,473 \times 10^{-4}
 \end{array}$$

Quando os números não têm o mesmo expoente: converter todos à mesma potência de 10.

Ex.:

$$\begin{array}{r}
 + \quad 1,632 \times 10^5 \\
 \quad 4,107 \times 10^3 \\
 \quad 0,984 \times 10^6 \\
 \hline
 \end{array}
 \quad \Rightarrow \quad
 \begin{array}{r}
 + \quad 1,632 \times 10^5 \\
 \quad 0,04107 \times 10^5 \\
 \quad 9,84 \times 10^{-2} \\
 \hline
 \quad 11,51 \times 10^5
 \end{array}$$

- **Multiplicação e divisão:**

Quando é multiplicação: somam-se os expoentes da potência de 10
Quando é divisão: subtraem-se os expoentes da potência de 10

- **Arredondamento:**

Para se arredondar um número com casas após a vírgula:

↗ Sendo o último nº maior que 5: soma-se 1 ao nº. anterior a ele: Ex:

$$121,7948 \rightsquigarrow 121,795 = 121,80 = 122,0$$

↗ Sendo o último nº menor que 5: não modifica:

$$\text{Ex.: } 9,8413 \rightsquigarrow 9,841 = 9,84 = 9,8$$

↗ sendo o último nº igual a 5:

Se o anterior for par ↗ não modifica

$$\text{Ex.: } 12,25 \rightsquigarrow 12,2$$

Se o anterior for ímpar ↗ soma-se 1 ao nº anterior a ele.

$$\text{Ex.: } 12,35 \rightsquigarrow 12,4$$

1.7.3 Logaritmos e antilogaritmos:

- O logaritmo na base 10 de n é um nº. a cujo valor é tal que $n = 10^a$

$$\text{Logaritmo de } n \rightsquigarrow n = 10^a \rightsquigarrow \log n = a$$

Por exemplo:

$$2 \text{ é o logaritmo de } 100 \text{ porque } 100 = 10^2$$

$$\text{O logaritmo de } 0,001 \text{ é } -3 \text{ porque } 0,001 = 10^{-3}$$

Para encontrar o logaritmo de um número com a sua calculadora, digite o número e aperte a função log.

- Na equação acima, o nº. n é o **antilogaritmo de a** . Isso é, o antilog de 2 é 100 porque $10^2 = 100$.

Sua calculadora também possui uma tecla 10^x ou uma tecla antilog. Para encontrar o antilogaritmo de um nº, digite-o em sua calculadora e aperte 10^x ou antilog.

Exemplos:

$$\text{Log } 0,001237 = -2,9076$$

$$\text{Log } 1237 = 3,0924$$

$$\text{Log } 3,2 = 0,51$$

$$\text{antilog } 4,37 = 2,3 \times 10^4$$

$$10^{4,37} = 2,3 \times 10^4$$

$$10^{-2,6} = 2,51 \times 10^{-3}$$

1.7.4 Tipos de erros:

- **Erro sistemático:**

Também chamado de erro determinado, aparece de uma falha no projeto de um experimento ou de um equipamento. É reprodutível se você conduzir o experimento várias vezes exatamente da mesma maneira. Pode ser descoberto e corrigido, embora isso possa ser não muito fácil.

Por exemplo:

O uso de um peagâmetro que foi padronizado incorretamente produz um erro sistemático. O uso de uma bureta não calibrada.

- **Erro aleatório:**

Também chamado de erro indeterminado, resulta de efeitos de variáveis descontroladas nas medidas. Pode ser positivo ou negativo. Ele está sempre presente, não é corrigido, e é a última limitação na determinação de uma grandeza. Está associado à leitura de escala.

Por exemplo:

Diversas pessoas lendo a absorvância ou transmitância de um espectrofotômetro descreveriam uma faixa de valores. Uma pessoa lendo o mesmo instrumento diversas vezes provavelmente também obterá diversas leituras diferentes.

Pode resultar do ruído de um instrumento elétrico (instabilidade que gera flutuações positivas ou negativas e não são completamente eliminadas).

1.7.5 Precisão e exatidão:

Precisão é uma medida da reprodutibilidade de um resultado. Se você medir uma quantidade várias vezes e os valores forem muito próximos uns dos outros, sua medida é precisa. Se os valores variarem muito, sua medida não é precisa.

Exatidão se refere a quão próximo um valor de uma medida está do valor verdadeiro. Se um padrão conhecido estiver disponível, exatidão é o seu valor mais próximo do valor conhecido.

O resultado de um experimento pode ser completamente reprodutível, porém errado. Por exemplo, se você comete um erro na preparação de uma solução para uma titulação qualquer, tal solução não deverá ter a concentração desejada. Você pode, então, fazer uma série de titulações altamente reprodutíveis, mas com resultados incorretos, porque a concentração do titulante não era a que você esperava. Em cada caso, podemos dizer que a precisão dos resultados é excelente, mas a exatidão é pequena.

Ao contrário, é possível realizar uma série de medidas pouco reprodutíveis agrupadas em torno de um valor correto. Nesse caso, a precisão é pequena mas a exatidão é alta. Um procedimento ideal proporciona tanto precisão como exatidão.

Exercícios:

- 1- Os seguintes dados de calibração foram obtidos por um método instrumental para determinação da substância X em solução aquosa:

Concentração do padrão X (ppm)	Leitura instrumental
0	0,031
2	0,173
6	0,422
10	0,702
14	0,956
18	1,248

Construa a curva de calibração para a substância X. Duas amostras dessa substância obtiveram leituras iguais a 0,85 e 0,520, respectivamente. Encontre a concentração de X nas duas amostras pela curva de calibração.

- 2- Uma amostra de 25 mL contendo Cu^{+2} obteve uma leitura instrumental igual a 23,6 unidades (corrigida pelo branco). Quando foi adicionado à essa solução exatamente 0,5 mL de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ a 0,0287 M, a leitura instrumental aumentou até 37,9 unidades. Calcule a concentração de Cu^{+2} na amostra, assumindo que o sinal analítico é diretamente proporcional à concentração do analito.
- 3- A forma reduzida do dinucleotídeo da nicotinamida adenina (NADH) é uma coenzima fluorescente. Essa substância foi determinada em uma amostra a partir da sua curva de calibração, onde os padrões foram:

Concentração de NADH no padrão ($\mu\text{mol/L}$)	Intensidade de Fluorescência
0,1	2,24
0,2	4,52
0,3	6,63
0,4	9,01
0,5	10,94
0,6	13,71
0,7	15,49
0,8	17,91

Calcule a concentração de NADH em uma amostra cuja intensidade de fluorescência foi de 12,16.

- 4- Os volumes indicados na tabela abaixo foram pipetados de uma solução padrão contendo 1,10 ppm de Zn^{+2} . Cada uma dessas soluções sofreu 3 extrações com 5 mL de CCl_4 e um excesso de 8-hidroxiquinolina e diluídas a 25 mL com água. A leitura instrumental dessas soluções foi obtida de um aparelho colorimétrico e os resultados foram:

mL de solução padrão de Zn^{+2}	Leitura instrumental (%)
0	6,12
4	11,16
8	15,68
12	20,64

A partir da curva de calibração do Zn, encontre a concentração de Zn^{+2} em uma amostra cuja leitura foi igual a 10,46%.

- 5- Qual a concentração em mol/L de NaCl quando dissolvemos 32 g do sal em água e diluímos a 0,5 L?
- 6- Quantos gramas de metanol (CH_3OH) estão contidos em 0,1 L de uma solução aquosa a 1,71 mol/L de metanol?
- 7- Uma solução diluída tem densidade próxima de 1 g/mL. Suponha que a solução contém 1 ppm de soluto. Expresse a concentração do soluto em g/L, $\mu\text{g/L}$, $\mu\text{g/mL}$ e mg/L.
- 8- A concentração de $\text{C}_{20}\text{H}_{42}$ na chuva de inverno é de 0,2 ppb. Presumindo que a densidade da chuva é próxima de 1 g/mL calcule a concentração molar deste composto.
- 9- Converta as unidades:
- a) 15,5 ppm em g/L d) $3,9 \times 10^{-9}$ mg/L em $\mu\text{g/L}$ g) 41,5% em g/L
b) 3,4 mg/mL em g/L e) 2,35 g/L em % h) 5,6 ppm em %
c) $9,0 \times 10^{-25}$ g/L em mg/dL f) 7,8 g/dL em $\mu\text{g/mL}$

2. FÍSICA APLICADA:

2.1 RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

2.1.1 Natureza da luz - o que é a luz?

a) Teoria corpuscular:

- Em 1672, o físico inglês Isaac Newton apresentou uma teoria conhecida como **modelo corpuscular da luz**. Nesta teoria, a luz era considerada como um feixe de partículas emitidas por uma fonte de luz que atingia o olho estimulando a visão e por isso foi chamada de teoria ou modelo corpuscular da luz.

b) Teoria ondulatória:

- No século XIX, o cientista francês L. Foucault, medindo a velocidade da luz em diferentes meios (ar/água), verificou que a velocidade da luz era maior no ar do que na água, contradizendo a teoria corpuscular que considerava que a velocidade da luz na água deveria ser maior que no ar (Newton não tinha condições, na época, de medir a velocidade da luz).
- Na segunda metade do século XIX, James Clerk Maxwell, através da sua teoria de ondas eletromagnéticas, provou que a velocidade com que a onda eletromagnética se propagava no espaço era igual à velocidade da luz, cujo valor é, aproximadamente: $c = 3 \times 10^8 \text{ m/s} = 300\,000 \text{ km/s}$. Assim, Maxwell estabeleceu teoricamente que: A luz é uma modalidade de energia radiante que se propaga através de ondas eletromagnéticas.
- Quinze anos após a descoberta de Maxwell, Hertz comprovou experimentalmente a teoria ondulatória.

c) Dualidade onda/partícula:

- O modelo ondulatório falha na explicação de fenômenos associados com a absorção e a emissão de luz pela matéria. Para entender esses processos, é necessário recorrer a um modelo de partícula, onde a luz é encarada como um feixe de partículas discretas ou pacotes de ondas de energia, chamados FÓTONS. Essas duas formas de visão da luz como partícula e como onda não são mutuamente excludentes, mas sim complementares.
- Einstein mostrou que a energia de um feixe de luz era concentrada em pequenos pacotes de energia, denominados fótons. A natureza corpuscular da luz foi confirmada por Compton (1911).
- Atualmente se aceita o fato de que a luz tem caráter dual: os fenômenos de reflexão, refração, interferência, difração e polarização da luz podem ser explicados pela teoria ondulatória e os de emissão e absorção da luz podem ser explicados pela teoria corpuscular.

2.1.2 Definição:

- A RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA (REM) é uma forma de energia que se propaga no espaço a enormes velocidades, e que apresenta características ondulatórias (se comporta como uma onda) e corpusculares (se comporta como uma partícula de energia).

Radiação eletromagnética - A luz, como verificou Maxwell, é formada por ondas eletromagnéticas, que são campos elétricos e magnéticos paralelos se propagando no espaço. As ondas eletromagnéticas tem velocidade $c = \lambda f$, onde c é a velocidade da luz, λ o comprimento de onda, que é a distância entre os picos, e f é a frequência (o inverso do período de uma oscilação).

a) Por que vemos um objeto?

- Segundo o filósofo grego Platão, nossos olhos emitiam pequenas partículas que tornavam os objetos visíveis ao atingi-los.
- Atualmente, acredita-se que o objeto é que envia luz para os nossos olhos. Por isso, temos dois tipos de objetos:

⇨ Objetos luminosos ou fontes de luz: a luz é gerada por eles próprios (Sol, lâmpada acesa, chama); ⇨

Objetos iluminados: recebem luz de outros objetos (pessoas, livros, móveis, Lua, planetas);

- A maioria dos corpos reflete difusamente a luz que incide sobre eles, e quando esta luz penetra em nossos olhos, nós enxergamos o objeto.

b) A cor de um objeto:

- Até o século XVIII, a luz branca, como a luz solar, era considerada uma luz pura, constituída por uma única cor, sem mistura.
- Isaac Newton observou experimentalmente que um feixe de luz branca ao atravessar um prisma de vidro originava vários feixes coloridos, e postulou que a luz branca é uma mistura de todas essas cores, e sua separação é chamada dispersão da luz, e o conjunto de cores formado era o espectro da luz branca.
- Quando um objeto é iluminado com luz branca, ele absorve algumas cores do espectro dessa luz e reflete outras. A cor com que o objeto é visto será determinada pelas cores que ele reflete.
- Assim, um objeto de cor branca reflete todas as cores e não absorve nenhuma; o objeto de cor preta absorve toda a luz e não envia nenhuma luz para nossos olhos; já o objeto transparente (por exemplo, uma lâmina de vidro vermelha) absorve todas as outras cores deixando a cor vermelha passar através dele.

2.2 PROPRIEDADES ONDULATÓRIAS DA LUZ:

- A luz é um tipo de onda que pode se propagar no ar e no vácuo, e constitui um exemplo de ONDA ELETROMAGNÉTICA, que são ondas que não necessitam de um meio material para se propagar. Outros exemplos de onda eletromagnética são as ondas de rádio e de TV, as microondas, os raios X, gama, infravermelhos e ultravioletas.

Todas as ondas eletromagnéticas possuem a mesma velocidade de propagação no vácuo, e seu valor é de 300.000 km/s ($3 \cdot 10^8$ m/s), e são caracterizadas pelas grandezas: velocidade (c ou v); frequência (f) e comprimento de onda (λ)

Todas as ondas possuem três grandezas que as caracterizam: VELOCIDADE (v ou c), FREQUÊNCIA (f) e COMPRIMENTO DE ONDA (λ), que se relacionam entre si através de uma fórmula:

$$c = f \times \lambda$$

2.3 PARÂMETROS DE ONDA:

- **Amplitude (A):** comprimento do ponto máximo da onda.
- **Frequência (f):** nº de oscilações que ocorrem por segundo (Hz)
- **Comprimento de onda (λ):** distância linear entre dois pontos (máximos ou mínimos sucessivos) (nm, m, cm, Km, mm, Å, μ m)
- **Velocidade de propagação (v):** multiplicação da frequência pelo comprimento de onda (m/s)
⇨ se propagação no vácuo: $v = c$ (velocidade da luz no vácuo = 3×10^8 m/s = 3×10^{10} cm/s)

2.4 PROPRIEDADES CORPUSCULARES DA LUZ:

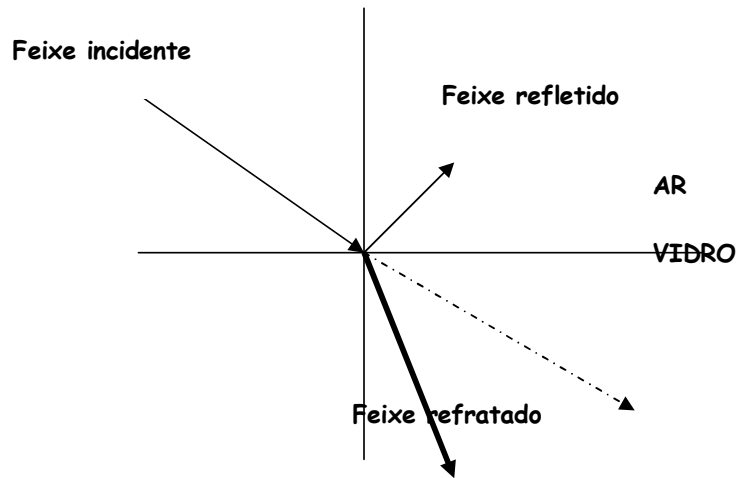
2.4.1 Refração da luz:

- A velocidade da luz varia de acordo com o meio em que ela está. Por exemplo, no vácuo ou no ar a velocidade da luz é de 300.000 Km/s.

Na água ⇨ $v = 230.000$ km/s

No vidro ⇨ $v = 200.000$ km/s

- Por isso, em qualquer meio material, a luz se propaga com uma velocidade menor que a sua velocidade de propagação no vácuo.
- Quando uma onda passa de um meio para outro ela se refrata, isto é, ocorre uma mudança em sua direção de propagação:



- Isso ocorre porque a velocidade de propagação da luz nos dois meios é diferente $\hat{=}$ muda a direção da propagação da luz;
- O índice de refração (n) é um número que expressa quantitativamente essas alterações:

$$n = \frac{\text{velocidade da luz no vácuo}}{\text{velocidade da luz no meio}} = \frac{c}{v}$$

- Exemplo: $n_{\text{vidro}} = 300.000/200.000 = 1,5$
- Como a velocidade da luz em qualquer meio é sempre menor que c $\hat{=}$ $n > 1$ e seu valor é tanto maior quanto menor for a velocidade da luz no meio. Veja a tabela abaixo:

Tabela 1 - Índices de refração de alguns materiais

Meio material	Índice de refração (n)
Ar	1,0
Água	1,3
Glicerina	1,4
Vidro	1,5
Zircônio	1,9
Diamante	2,5

2.4.2 Dispersão da luz:

- Quando um feixe de luz branca atravessa um prisma de vidro, ele se refrata ao entrar e sair do prisma (pois a velocidade de propagação da luz no ar e no vidro são diferentes), ocorrendo um desvio na direção da propagação do feixe, sofrendo dispersão, separando-se nas cores do espectro.

2.5 O ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO:

- Vimos que quando um feixe luminoso incide em um prisma, ele é decomposto em vários outros feixes, devido ao fenômeno da dispersão da luz. O raio luminoso, ao passar pelo prisma, sofre uma decomposição segundo suas frequências (ou comprimentos de onda) constituintes. Se fizermos a luz solar passar através de um prisma, ela será decomposta em várias cores que são popularmente

conhecidas como arco-íris. A imagem da luz decomposta é chamada ESPECTRO, obtido ou sobre uma tela branca ou sobre uma chapa fotográfica.

- O ESPECTRO ELETROMAGNÉTICO é o arranjo ordenado das radiações conforme seus comprimentos de onda. O espectro total abrange comprimentos de onda que se estendem desde trilionésimos de milímetro até milhares de quilômetros. O espectro eletromagnético foi dividido em várias regiões de acordo com a origem das radiações.
 - Todas as radiações, quando absorvidas pela matéria, produzem calor. Como as radiações com comprimentos de onda maiores que 3×10^{-3} mm podem ser detectadas pelo calor, elas são denominadas ONDAS DE CALOR, e abrangem a região do espectro eletromagnético chamada INFRAVERMELHO.
 - As radiações com comprimentos de onda de $7,5 \times 10^{-4}$ mm até 4×10^{-4} mm são detectadas pelo olho humano, e abrangem a região do VISÍVEL, e todas as radiações dessa faixa juntas são chamadas de luz branca, que corresponde às mais variadas cores, e é utilizada na determinação de substâncias que formam soluções coloridas.
 - A região ULTRAVIOLETA abrange comprimentos de onda menores que 4×10^{-4} mm, ou seja, mais curtos que os da luz visível e mais longo que os dos raios X. É invisível para o olho humano, e dividida em regiões denominadas UV próximo (400-300 nm), UV afastado (300-200 nm) e UV no vácuo (200-4 nm); estes últimos são prejudiciais, pois são absorvidos pela camada de ozônio da Terra.

2.5.1 Tipos de radiações eletromagnéticas (luz):

- Raios gama - é uma forma de radiação altamente energética, emitida a partir do núcleo de elementos radioativos.
- Raios X - radiação de alta energia que tem a capacidade de penetrar nos organismos, atravessando os tecidos de menor densidade e sendo absorvidos pelas partes densas do corpo, com dentes e ossos. ----
- Ultravioleta (UV) - é um tipo de radiação proveniente do Sol, retida em parte pela camada de ozônio.
- Radiação visível (VIS) - é a faixa de radiação que nos permite enxergar o mundo que nos cerca. A decomposição da radiação visível nos mostra que ela é constituída por sete cores: violeta, anil, azul, verde, amarelo, alaranjado e vermelho.
- Raios infravermelhos (IV) - esse tipo de radiação é emitida por objetos quentes. As chamadas lâmpadas infravermelho são utilizadas para ativar a circulação sanguínea e para diminuir processos inflamatórios.
- Raios hertzianos - essa forma de radiação apresenta baixa energia e sua recepção e transmissão são feitas por antenas. Estão incluídas as ondas de rádio AM e FM, e as ondas de TV.

Quadro 1- Características do espectro eletromagnético

Escala de Comprimento de onda	Raios gama	Raios X	Ultravioleta	Visível	Infravermelho	Microondas	Ondas de rádio
Ångstrom (Å)	1	10	1.800	3.800	7.800	-	-
Nanômetro (nm)	-	-	180	380	780	-	-
Micrômetro (µm)	-	-	-	-	0,7	400	-
Centímetro (cm)	-	-	-	-	-	0,04	25

2.6 PROPRIEDADES CORPUSCULARES DA LUZ:

A luz é constituída por partículas ou pacotes de energia, chamadas FÓTONS. A energia de um fóton depende da frequência (f) da radiação, e é dada por:

$$E = h \times f \quad \text{(equação 2)}$$

Onde: E = energia absorvida/emitada (erg ou Joule)

$f =$ frequência da luz incidente/emite (Hz = s⁻¹)
 $h =$ constante denominada Constante de Planck que tem o valor igual a
6,624 x 10⁻²⁷ erg/s ou 6,624 x 10⁻³⁴ Joule/s

Se: $f = c / \lambda$ (equação 3)

Onde: $\lambda =$ comprimento de onda (cm, m, km, mm, nm, Å, µm)
 $c =$ velocidade da luz no vácuo (3.10⁸ m/s = 3.10¹⁰ cm/s)

- Relacionando as propriedades ondulatórias e corpusculares da radiação, temos:

$$E = \frac{h \times c}{\lambda} \quad (\text{equação 4})$$

- Um fóton de alta frequência (f) e curto comprimento de onda (λ) é **mais energético** do que um com baixa frequência e longo comprimento de onda. Daí deduz-se que as ondas eletromagnéticas transportam energia e quanto maior for a frequência da onda, maior será a energia transportada por ela.
- Por exemplo: como a quantidade de energia por fóton varia de um tipo de radiação a outro, cada fóton está relacionado a um determinado comprimento de onda; como o comprimento de onda é inversamente proporcional à energia, um fóton de luz UV, de comprimento de onda pequeno, possui maior energia que um fóton de luz infravermelha, de comprimento de onda maior.

Exercícios:

- Calcule a energia de:
 - um fóton de raios X de 5,3 Å
 - um fóton de radiação visível de 530 nm
- Calcule a **frequência** em hertz, a **energia** em joules de um fóton de raios X que tem comprimento de onda de 2,70 Å.
- Calcule a **frequência** em hertz e a **energia** em joules associada à banda de absorção vibracional de 5,715 µm de uma cetona alifática.
- Calcule o **comprimento de onda e a energia** em joules associados a um sinal de RMN de 220 MHz.
- Calcule a **velocidade, a frequência e o comprimento de onda** da linha do sódio ($\lambda = 589$ nm) quando esta luz atravessa um material com índice de refração de 1,43.
- Qual o **comprimento de onda** de um fóton que tem três vezes mais energia que a de um fóton cujo comprimento de onda é igual a 500 nm?
- O iodeto de prata tem energia de ligação aproximadamente igual a 255 KJ/mol (AgI é um dos componentes dos óculos de sol). Qual é o **comprimento de onda** mais longo da luz que é capaz de quebrar as ligações do iodeto de prata?
- Calcule o **comprimento de onda** de:
 - linha de sódio a 589 nm em uma solução aquosa de $n = 1,35$
 - radiação de saída de um laser de 694,3 nm que atravessa um pedaço de quartzo com $n = 1,55$
- Supondo os seguintes níveis de energia para um átomo X:
 $nE_1 = 0$
 $nE_2 = 10,2$ J
 $nE_3 = 12,5$ J

$$nE_4 = 15,4 \text{ J}$$

Calcule a **Energia do fóton, o comprimento de onda emitido/absorvido e a frequência** associada às transições: $nE_1 \leftrightarrow nE_3$ e $nE_2 \leftrightarrow nE_1$

10. Calcule a **frequência** da radiação de 2.537 \AA emitida pelo Hg no vácuo. A que **cor** do espectro eletromagnético corresponde esta radiação?

CONVERSÃO DE UNIDADES:

$$1 \text{ \AA} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-8} \text{ cm}$$

$$1 \text{ nanômetro} = 1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10^{-7} \text{ cm}$$

$$1 \text{ micrômetro} = 1 \text{ }\mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m} = 10^{-4} \text{ cm}$$

$$1 \text{ elétron-volt} = 1 \text{ eV} = 1,602 \times 10^{-19} \text{ J}$$

$$1 \text{ Hertz} = 1 \text{ Hz} = 1 \text{ s}^{-1}$$

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:

1º ↗ 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.

2º ↗ 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.

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. Se

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.

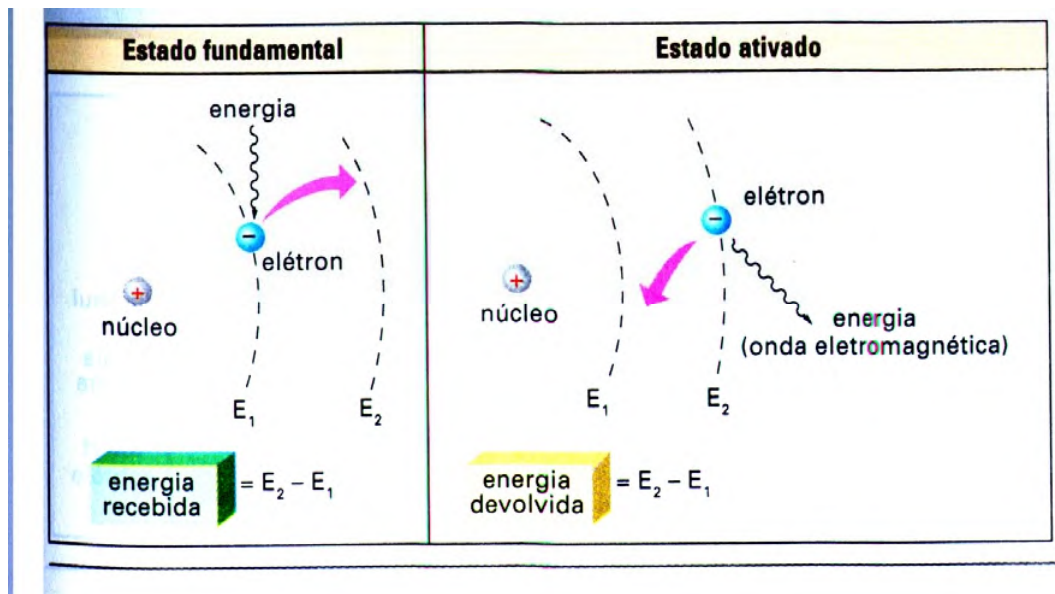
As partículas excitadas têm uma duração relativamente curta. Após aproximadamente 10^{-8} segundos, elas retornam ao estado fundamental, e a energia é devolvida ou em forma de calor (mais

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:

ABSORÇÃO

EMISSÃO



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 ível	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 frequências dos raios X são mais energéticas e são capazes de interagir com elétrons mais próximos do núcleo 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 retornam 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} s, 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 sob a 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 frequência 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) ESPECTRO 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, formando 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 infravermelho.

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 nº de fótons absorvidos é função da concentração ou nº 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.

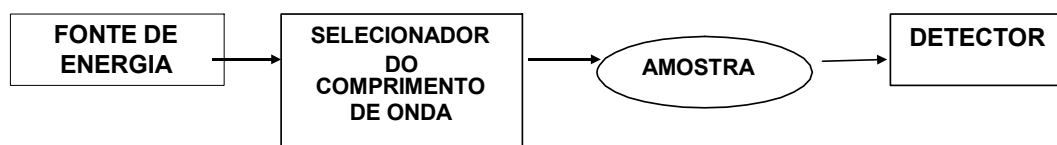


Fig. 1- Diagrama dos componentes usados em métodos analíticos baseados na absorção de energia radiante.

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.

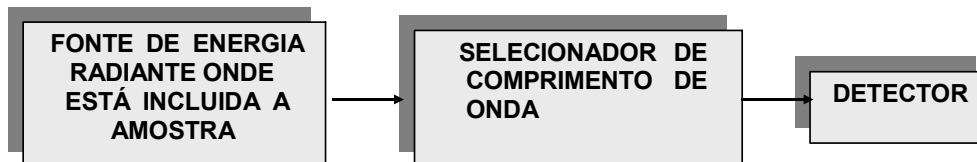


Fig. 2- Diagrama dos componentes usados nos métodos analíticos baseados na emissão da energia radiante.

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 substância seja branca ou a luz pode ser totalmente absorvida, neste caso a substância 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 substância e a estrutura eletrônica. Uma molécula ou íon exibirá uma absorvância 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.

A presença de insaturações ou ligações múltiplas é amplamente reconhecida como um processo característico da absorção ultravioleta.

⌚ Potencialmente, três tipos de estados de orbitais envolvem:
a) (sigma) molécula com ligações simples
b) (pi) molécula com ligações duplas e triplas
c) ligações tipo n

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 apresentará 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.

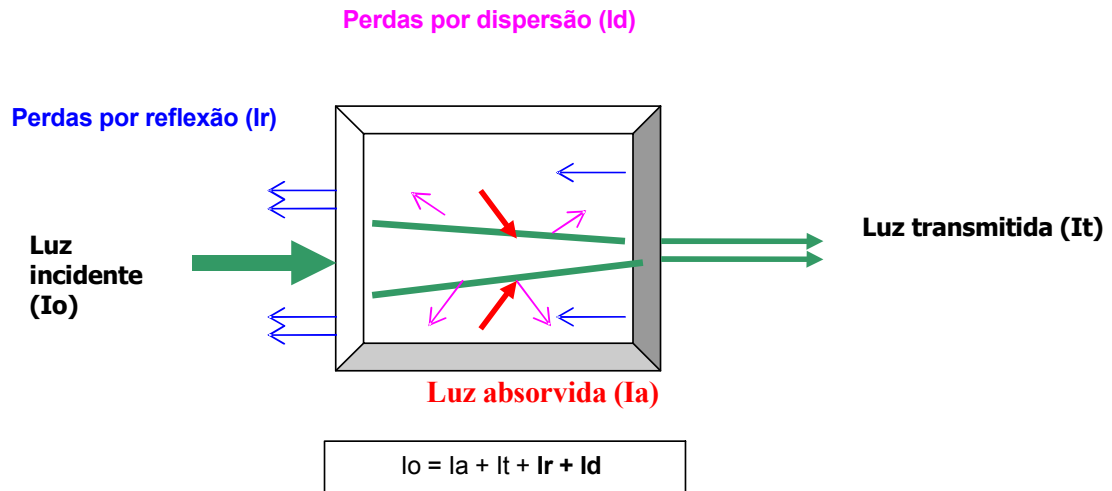


Fig 3- Efeito de um meio líquido ou gasoso sobre um feixe de luz policromática

4.3.1- A lei de Beer-Lambert:

A interação entre o feixe de luz e a solução contida no recipiente transparente pode ser exemplificada pela figura abaixo:

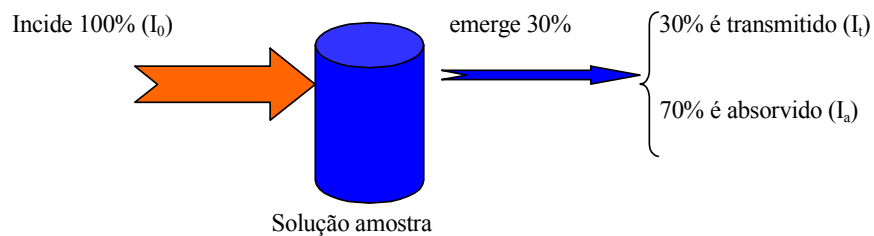


Fig.4- Transmissão e absorção da luz por uma solução

“Considerando um bloco de material absorvente (sólido, líquido ou gasoso), um feixe paralelo de luz monocromática com intensidade I_o incide sobre este bloco perpendicularmente à superfície. Após passar através de uma espessura b do material, que contém n átomos, íons ou moléculas absorventes, sua intensidade diminui como resultado da absorção de luz, proporcionalmente à concentração C do material absorvente.”

- A absorção da luz é quantificada por uma grandeza denominada ABSORBÂNCIA (A), onde a escala varia de 0 a 2. A absorbância é muito importante porque ela é diretamente proporcional à concentração das espécies absorventes de luz na amostra.
- A transmissão de luz é quantificada pela TRANSMITÂNCIA (T) e sua escala varia de 0 a 100%.

As investigações de J. H. Lambert e A. Beer permitiram concluir que a intensidade da luz transmitida depende:

- a) da intensidade da luz incidente (I_o)
- b) do comprimento percorrido pela luz (espessura do recipiente = b)

c) da concentração da espécie absorvente (C)

Estas relações podem ser expressas pela equação:

$$\log I_0/I_t = A = K \cdot b \cdot C \quad (1)$$

Onde:

I_0 = intensidade da luz incidente na amostra

I_t = intensidade da luz transmitida pela amostra

A = absorvância, representa a quantidade de luz absorvida pelo soluto da amostra, naquele comprimento de onda selecionado. É adimensional.

k = constante característica do soluto (absortividade molar ou específica).

b = espessura do recipiente que contém a solução, e representa o comprimento do caminho ótico através da amostra. Expressa em cm.

C = concentração do soluto, em gramas/Litro ou em moles/Litro.

A equação (1) também conhecida como a expressão matemática da Lei de Beer-Lambert e é o coração da espectrofotometria aplicada à análise química .

4 Quando a concentração é expressa em g/L e o comprimento do caminho ótico (b) em cm, a expressão acima torna-se: $A = a \cdot b \cdot C_{g/L}$, onde $k = a$ = absortividade específica.

4 Quando a concentração é expressa em mol/L e o comprimento do caminho ótico (b) em cm, a expressão acima torna-se: $A = \epsilon \cdot b \cdot C_{mol/L}$, onde $k = \epsilon$ = absortividade molar.

4 Essas duas constantes se relacionam entre si por: $\epsilon = a \times PM$, onde PM = peso molecular.

4.3.2- Relação entre absorvância (A) e transmitância (T):

A relação entre a luz transmitida (I_t) e a luz incidente (I_0) chama-se TRANSMITÂNCIA e o valor máximo que pode assumir é 100%:

$$T = I_t / I_0$$

Se determinada solução não absorve energia, então I_t e I_0 têm o mesmo valor (100%) e, conseqüentemente, $T = 1$. Como se usa a transmitância percentual para evitar operações com números decimais, T fica entre 0 e 100%.

A lei de Beer - Lambert estabelece a relação entre Transmitância (T) e Absorvância (A):

$$A = - \log T/100$$

Por esta expressão, entende-se que um valor em porcentagem de transmitância lido na escala do fotocolorímetro pode ser facilmente transformado em absorvância. Por ex., 20% de transmitância correspondem a uma absorção de 0,699.

TABELA 7 - Termos e símbolos usados na equação da Lei de Beer.

<i>Termo</i>	<i>Símbolo</i>	<i>Equação</i>
Absorvância	A	$A = - \log T$ e $A = k \cdot b \cdot C$
Transmitância	T	$T = (10^{-A}) \times 100$
Comprimento da trajetória (espessura da cela)	b	$b = A / k \cdot C$
Absortividade molar (coeficiente de absorção molar)	ϵ	$\epsilon = a \cdot PM$ ou $\epsilon = A/b \cdot C_{mol/L}$

Absortividade específica	a	$a = \epsilon/PM$ ou $a = A / b \cdot Cg/L$
--------------------------	---	---

- Exemplo:

Encontre a absorvância e a transmitância de uma solução 0,00240 M de uma substância com coeficiente de absorvância molar de 313 M⁻¹ cm⁻¹ numa célula com 2 cm de caminho óptico.

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 Absorvância 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 Absorvância ou em ambas. A figura abaixo ilustra graficamente as relações existentes entre transmitância, absorvância 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 fotolorímetro é ajustada em 100% de T ao inserir-se a solução de referência (branco); se o fotolorímetro 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)

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 absorvância 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 aquele que 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 absorvância dessa solução padrão em vários comprimentos de onda, dentre uma escala por ex. de 400 a 700 nm, onde a cada 50 nm determina-se uma absorvância.
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 \Rightarrow 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 $\Rightarrow \lambda$ 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):

$$F_c = \frac{C_p}{A_p}$$

Mas: $C_a = A_a \times F_c$

Substituindo F_c deriva a equação: $C_a = \frac{A_a \times C_p}{A_p}$

- *Ex.1: considere uma solução padrão contendo 0,5 mg/mL de Hg^{+2} com transmitância de 62% e uma solução desconhecida com 70% de transmissão, medida nas mesmas condições. Determine a concentração da solução desconhecida. (Resposta = 0,37 mg/mL)*
- *Ex.2: determine a concentração da solução problema cujos dados da análise são: Absorvância da amostra = 0,301 Absorvância da solução padrão = 0,502 concentração da solução padrão = 20 mg/L (Resposta = 12 mg/L)*

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:

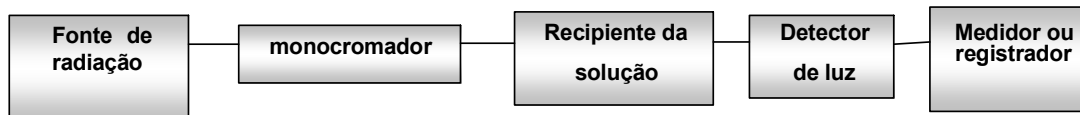


Fig.11 - Diagrama de blocos em um aparelho de absorção de luz.

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:

- 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 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 maior
- 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 césio 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:

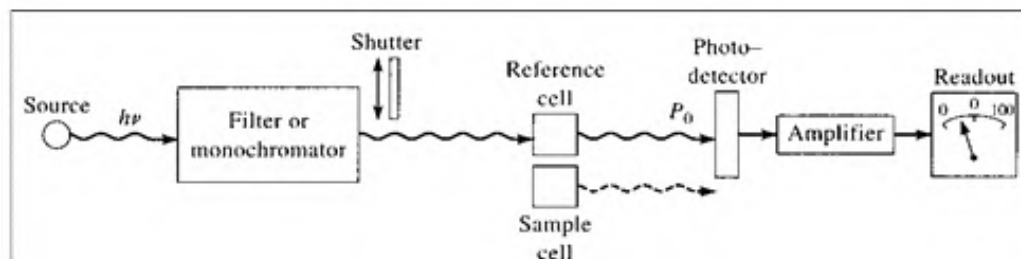
- 4 Qualquer tipo de detector absorve a energia dos fótons que chocam contra ele e a converte em uma quantidade mensurável, como a impressão em chapa fotográfica, uma corrente elétrica ou variações térmicas.
- 4 Qualquer tipo de detector deve gerar um sinal que está quantitativamente relacionado com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

Todo detector deve obedecer aos seguintes critérios:

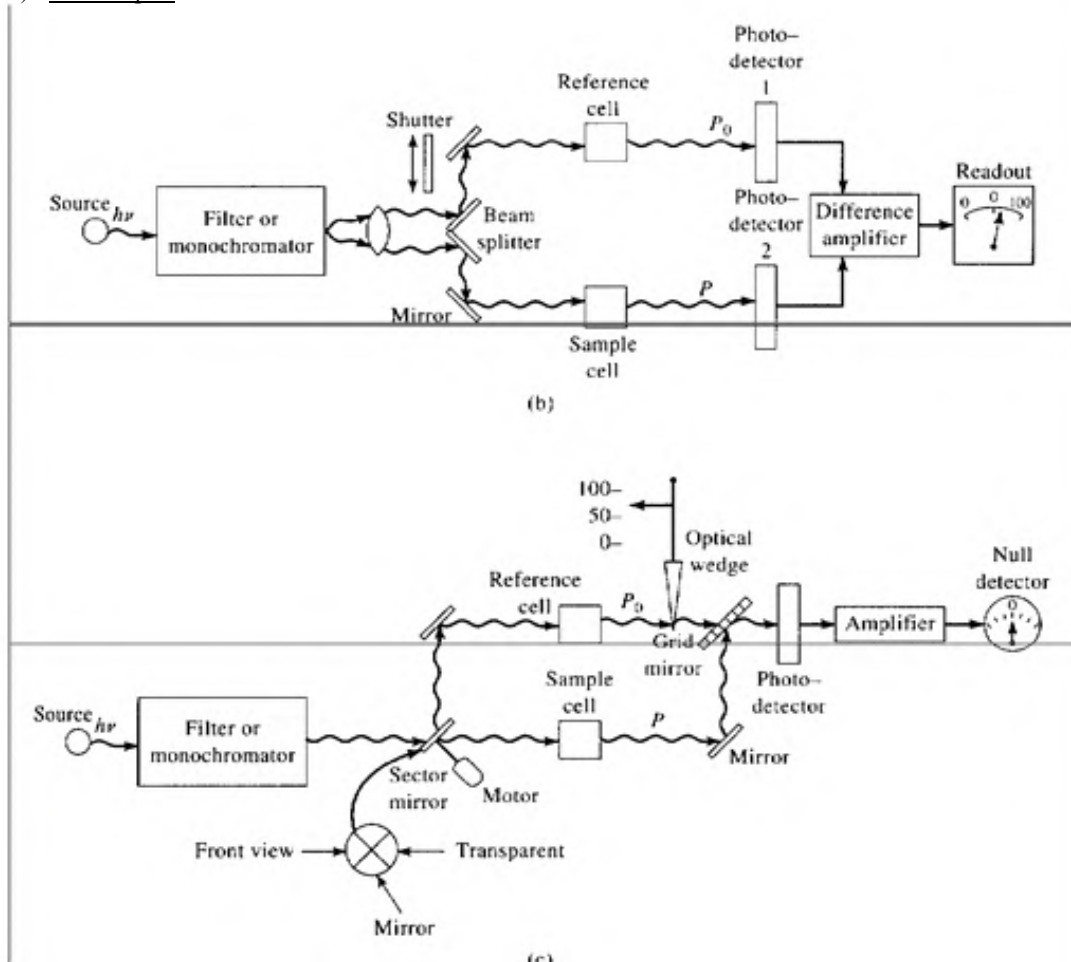
- alta sensibilidade;
- curto tempo de resposta;
- estabilidade a longo prazo para assegurar a exatidão das respostas quantitativas;
- sinal eletrônico facilmente amplificável por qualquer instrumento de leitura;

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 absorvâncias 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:

- 4 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%.
- 4 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 (< US\$ 1.000 até US\$ 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 US\$ 2.000 a US\$ 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 conseqüência, 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.

Exercícios:

- 1- Considere uma solução padrão contendo 0,5 mg de Me^{+n} / mL com transmitância igual 62%. Uma amostra dessa substância obteve uma transmitância igual a 70%, medida nas mesmas condições ($b = 1$ cm). Calcule a concentração do metal Me^{+n} na amostra.
- 2- Você está usando um colorímetro fotoelétrico e obteve os seguintes dados:
Leitura do padrão = 25% Leitura da amostra = 18% Concentração do padrão = 200 mg/100 ml. Calcule a concentração da amostra.
- 3- Usando um colorímetro fotoelétrico, a leitura da Absorbância do padrão é 0,42 e a leitura da amostra é 0,21. Sabendo que a concentração do padrão é 150 mg/100 ml, calcule a concentração da amostra (em g/L).
- 4- Qual é a absorvância de uma solução tendo uma transmitância de 85% ?
- 5- A absorvância de uma amostra é 0,17, e a do padrão é 0,13. A concentração do padrão é 100 μ g/100 ml. Qual é a concentração da amostra, em g/L?
- 6- Converta em absorvância: Converta em percentagem de transmitância:
 $T (\%) = 25,5 - 56,7 - 32,8 - 3,58 -$ $A = 0,0510 - 0,918 - 0,379 - 0,261 - 0,485$
- 7- Em uma determinação de cobre, se mede uma absorvância de 0,65. Sabe-se que existe uma concentração aproximada de 10^{-4} moles/L de um interferente com absorvidade molar de 100 L/moles.cm. Sabendo que a cubeta tem uma espessura de 1 cm, calcule a absorvância devida somente ao cobre.
- 8- A absorvância de uma solução de concentração igual a $2,31 \times 10^{-5}$ M de X é de 0,822, numa cubeta de 1 cm. Calcule a absorvidade molar de X.
- 9- A porcentagem de transmissão de uma solução desconhecida é 48%. Qual é a concentração desta solução se uma solução padrão de 100 mg/dL desta substância tem uma leitura de T de 75%?
- 10- Uma solução de 15 μ g/dL de nitrogênio de amônia tem uma Absorbância de 0,14. A Absorbância de uma amostra desconhecida de sangue é 0,12. Qual é a concentração da amostra de sangue?
- 11- Um colorímetro portátil registrou uma transmitância de 73,6% com uma solução do branco no caminho óptico. A substituição do branco por uma solução absorvente forneceu uma transmitância de 24,9%. Calcule:
 - a) A absorvância do branco e da solução absorvente
 - b) A transmitância esperada para uma solução na qual a concentração do absorvente seja 1/3 da solução da amostra original
 - c) A absorvância esperada para uma solução que apresenta duas vezes a concentração da solução na amostra.
- 12- Uma amostra de solução colorida que segue a Lei de Beer mostra 80% de T quando medida numa cela de 1 cm de comprimento.
 - a) Calcular a % T para a solução de concentração 2 vezes maior na mesma cubeta.
 - b) Calcular a % T da solução original quando contida numa cubeta de 0,5 cm de comprimento.
 - c) Se a concentração original for de 0,005% p/v qual o valor da absorvidade específica?
- 13- Várias soluções padrão de Y se empregam para traçar uma curva de calibração com os seguintes dados:

Concentração (ppm)	Absorbância
1,00	0,26
2,00	0,44
3,00	0,54
4,00	0,61

e uma solução problema tem uma absorvância de 0,50 nas mesmas condições, qual a concentração de Y em moles/l, sabendo que seu peso-molecular é 156 g/mol ?

14- Os seguintes valores de absorvância foram obtidos e anotados para um procedimento de determinação de concentração de glicose:

Reagente branco: 0,1 amostra desconhecida: 0,2 solução padrão: 0,3

O valor conhecido para a solução padrão é de 250 mg/100 ml. Que concentração de glicose, em g/L, deve ser apresentada por esta amostra?

15- Na construção da curva de calibração para uma análise com um colorímetro fotoelétrico, obtiveram-se os seguintes dados:

Padrão n°	Concentração, mg/L	%T
Branco	0,00	98,0
1	1,00	77,2
2	2,00	63,5
3	3,00	50,0
4	4,00	41,3
5	5,00	33,5
6	6,00	27,9
7	7,00	23,4
8	8,00	20,3
Padrão n°	Concentração, mg/L	%T
9	9,00	18,1
10	10,00	16,4

- Construir a curva de calibração %T x C.
- Calcular as absorvâncias e colocá-las num gráfico em função da concentração. Esses valores indicam um desvio positivo, negativo ou nenhum?

16- Uma solução de KMnO_4 , $1,28 \times 10^{-4}$ M tem uma T = 0,500 a 525 nm, em uma cela de 1 cm.

- Que absorvância tem essa solução?
- Se a concentração fosse reduzida à metade, qual seria a absorvância e a transmitância?
- Que concentração, em g/l, corresponderia a uma Transmitância de 0,750 nesta mesma cela ? (Dados: Massa Atômica: K = 39; Mn = 55; O = 16)

17- Descreva as diferenças entre os seguintes itens e liste as vantagens particulares de um sobre o outro:

- lâmpada de hidrogênio e deutério como fontes de radiação ultravioleta
- filtros e monocromadores como seletores de comprimento de onda
- células fotovoltaicas e células fotomultiplicadoras
- espectrofotômetros e colorímetros

18- O Zn (II) e o ligante L formam um complexo que absorve fortemente a 600 nm. Uma solução deste complexo a $1,60 \times 10^{-4}$ M tem absorvância de 0,464 em uma célula de 1 cm a 600 nm. Calcule:

- a porcentagem de transmitância desta solução
- a porcentagem de transmitância desta solução em uma célula de 2,5 cm
- a absorvidade molar do complexo.

19- Um procedimento comum para determinação de proteína é o ensaio de ligação de corante de Bradford. Neste método, o corante liga-se à proteína, e a sua cor muda de marrom para azul. A intensidade da cor azul medida pela absorvância da luz a um comprimento de onda de 595 nm, é proporcional à quantidade de proteína presente:

Proteína (μg):				
0,00	9,36	18,72	28,08	37,44
Absorvância a 595 nm:				
0,466	0,676	0,883	1,086	1,280

- Faça a curva de calibração da proteína.
- Uma amostra desconhecida de proteína forneceu uma absorvância de 0,973. calcule quantos micro gramas de proteína estão presentes na amostra.

20- A leitura da transmitância de sete soluções padrões de metano (CH_4) forneceram os dados:

CH_4 (%)					
0	0,062	0,122	0,245	0,486	0,971
Transmitância (%)					
97,19	81,25	28,75	19,38	9,56	4,75

- Construa a curva de calibração A x C.
- Medidas múltiplas de uma amostra desconhecida forneceram transmitâncias de 15,21%, 15,49%, 15,39% e 15,51%. Encontre a média e o desvio-padrão destes resultados para a amostra desconhecida.
- A partir da média das leituras, calcule a concentração de CH_4 na amostra.

5. ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO:

1.1 INTRODUÇÃO

A espectroscopia de absorção no infravermelho é umas das técnicas analíticas utilizadas em laboratórios de pesquisa, tanto nas indústrias quanto no meio acadêmico, tão importante como outros meios analíticos instrumentais modernos: a espectrometria no ultravioleta, a espectrometria de absorção atômica e a espectrometria de raios x.

Algumas das vantagens dessa técnica são a facilidade de preparação da amostra; a possibilidade do uso de amostras em filmes sólidos, amostras líquidas e gasosas; bem como o custo, o tamanho e a versatilidade do equipamento necessário para as análises. Outras técnicas para o preparo das amostras precisam de extração ou calcinação, ou ainda podem demandar equipamentos muito caros. Um espectrofotômetro de infravermelho custa menos que a metade de um aparelho de espectrometria de raios x.

A espectrofotometria é o processo instrumental de medição baseado nas propriedades de absorção e emissão de energia eletromagnética em alguma região do espectro eletromagnético. A porção do espectro percebida pelo olho humano (região visível) está compreendida entre comprimentos de onda de 380 nm e 780 nm e, acima desse limite, até cerca de 50.000 nm (faixa entre as regiões do visível e das microondas), a radiação é chamada infravermelha (IV). A região do infravermelho entre 2,5 mm e 15,0 mm (2.500 nm a 15.000 nm) concentra o maior interesse dos químicos, embora as regiões do infravermelho próximo (0,7 mm a 2,5 mm) e do infravermelho distante (14,3 mm a 50 mm) venham angariando maior atenção, ultimamente.

Tabela 8 - Regiões espectrais no infravermelho

<i>Região</i>	<i>Intervalo de comprimento onda (λ), μm.</i>	<i>Aplicações em amostras</i>
Próximo	0,78 a 2,5	Materiais comerciais sólidos ou líquidos, misturas gasosas.
Médio	2,5 a 50	Compostos puros e misturas complexas sólidas, líquidas ou gasosas,
Distante	50 a 1.000	Compostos puros sólidos ou líquidos, amostras atmosféricas, espécies puras inorgânicas ou organometálicas.
Mais usada	2,5 a 15	

O objetivo da espectroscopia de absorção no IV é a determinação dos grupos funcionais de um dado material. Cada grupo absorve em frequência característica de radiação na região do IV. Assim, um gráfico de intensidade de radiação versus frequência, o espectrograma de IV, permite caracterizar os grupos funcionais de um padrão ou de um material desconhecido.

Mesmo moléculas das mais simples podem produzir espectros extremamente complexos. O químico utiliza este fato vantajosamente, comparando o espectro de um composto desconhecido com o de uma amostra conhecida. Determinado o espectrograma da amostra desconhecida, a correlação pico a pico constitui boa prova de identidade, visto ser pouco provável a coincidência de espectros de dois compostos diferentes. Embora o espectro no IV seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos originam bandas mais ou menos na mesma frequência, independentemente da estrutura da molécula. É justamente a presença dessas bandas características de grupos funcionais que permite a obtenção de informações úteis para a identificação de estruturas, através de simples exame do espectro e consulta a tabelas. Os espectros de IV, em conjunto com outros dados espectrais, são úteis para a determinação das estruturas de moléculas - quase todos os laboratórios de universidades e indústrias dispõem de espectrofotômetros de IV, principalmente aqueles dotados de sistema óptico de duplo feixe.

2.2 INSTRUMENTAÇÃO:

Componentes do aparelho - Os espectrofotômetros de feixe duplo utilizados na determinação de espectros de IV (figura 1) consistem de cinco seções principais: fonte de radiação, área de amostras, fotômetro, monocromador e detector.

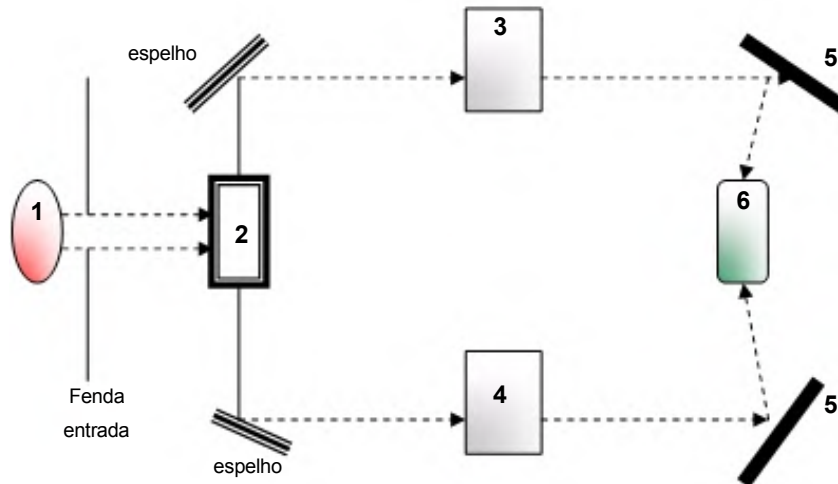


Fig. 18- Esquema de um Espectrofotômetro IV
(1- fonte; 2- espelho rotativo; 3- padrão; 4- amostra; 5- redes de difração; 6- detector)

a) Fonte de radiação: a radiação IV é produzida por uma fonte aquecida eletricamente, usualmente um filamento de Nernst ou um “globar”. Em grande parte das vezes, a fonte é constituída de óxidos de terras raras moldados em forma adequada, que emitem radiações na região do IV quando aquecidos a altas temperaturas, alcançando entre 1.000 oC e 1.800 oC. O filamento de Nernst é fabricado a partir de um adesivo de óxidos de zircônio, tório e cério, enquanto o “globar” é um pequeno bastão de carvão de silício. A máxima radiação emitida, no caso do “globar”, ocorre na região de 1,8 mm a 2,0 mm, reduzindo-se por um fator de aproximadamente 600, a medida em que se aproxima da região de 16,7 mm. O filamento de Nernst fornece energia máxima de radiação a aproximadamente 1,4 mm, e reduz-se de um fator de aproximadamente 1.000 nas regiões de baixa frequência.

b) Área de amostras: o feixe de radiação produzido pela fonte é dividido por dois espelhos. Em seguida, cada um dos feixes é focalizado na área de amostras, com o auxílio de outros dois espelhos. No compartimento, os feixes atravessam células, uma correspondendo a um material de referência, e outra à amostra desconhecida. Obturadores montados no compartimento da fonte permitem bloquear um ou outro feixe, independentemente. A área de amostras de um espectrofotômetro permite acomodar uma grande variedade de acessórios para a medida de gases, líquidos e sólidos, que incluem desde células de gás de grande caminho ótico até microcélulas.

c) Fotômetro: após incidir na referência e na amostra, a fração de radiação transmitida é comparada no fotômetro, a parte do aparelho responsável por indicar a diferença de energia entre amostra e referência, através da radiação pulsante. No fotômetro também são equalizadas as energias dos dois feixes, através da cunha óptica. Quando os dois feixes são de mesma intensidade, o instrumento está no zero ótico. A pena do registrador está neste momento a 100% de transmitância, desde que não haja amostra no feixe correspondente.

Um pente no feixe da amostra permite que se obtenha um balanceamento adequado. O atenuador desloca-se para dentro e para fora do feixe de referência, em resposta ao sinal criado no detector pelo feixe da amostra. Assim, quando o feixe é absorvido pela amostra, o atenuador é dirigido para dentro do feixe de referência até que sua intensidade seja a mesma do feixe da amostra.

d) Monocromador: a maior parte das análises espectroscópicas deve utilizar radiação composta por um pequeno conjunto de comprimentos de onda, de modo a conferir ao método instrumental a sensibilidade e a seletividade necessárias, entre outras propriedades. Para isso, o equipamento utiliza um monocromador, que dispersa a luz proveniente da fonte em diferentes comprimentos de onda. O dispositivo permite isolar bandas de comprimento de onda geralmente muito mais estreitas que as obtida por filtros, sendo formado por um elemento de dispersão, que pode ser um prisma ou uma rede de difração, junto com duas fendas estreitas que servem como aberturas de entrada e de saída de radiação.

Quanto menor a largura das fendas, maior será a resolução obtida. Na maior parte dos instrumentos, a largura das fendas é programada de modo a aumentar quando a energia emitida pela fonte diminui, mantendo a energia do feixe de referência constante. Obtém-se um máximo de resolução usando-se as redes apenas em suas faixas de maior poder de dispersão; nos instrumentos modernos de alta resolução, é costume a utilização de duas ou mais redes.

O monocromador também tem como funções principais dispersar a radiação em seus comprimentos de onda, selecionar o comprimento de onda particular da radiação a ser transmitida ao detector, e manter aproximadamente constante a energia no detector para todos os comprimentos de onda. Durante a varredura, filtros são inseridos automaticamente no caminho da radiação, para eliminar toda radiação indesejável, inclusive as harmônicas da frequência medida, provenientes da rede.

e) Detector: a medição da energia radiante é feita através do detector, que utiliza o efeito térmico da radiação para quantificá-la. Após deixar a fenda de saída do monocromador, o feixe é refletido por um espelho plano para um espelho elipsoidal, cujos focos estão na fenda de saída e no detector. Os detectores podem ser divididos em duas classes gerais: seletivos e não seletivos. Os seletivos respondem em função do comprimento de onda da radiação incidente (placas fotográficas, fotocélulas e celas de fotocondutividade); os não seletivos, mais adequados para trabalhos espectroscópicos, respondem em função da energia da radiação incidente.

Os dois tipos comuns de detectores não seletivos são o termopar e o bolômetro. No caso dos termopares, a energia radiante aquece uma das duas junções bimetálicas do dispositivo, produzindo uma força eletromotriz proporcional ao aquecimento. Os bolômetros baseiam-se na medida da variação da resistência com o aquecimento. O detector é montado como um dos braços de uma ponte, de modo que a mudança de temperatura provoca um desequilíbrio no sinal através do circuito, que pode ser amplificado e registrado ou, ainda, utilizado para ativar um servomecanismo para restabelecer o balanço.

Como o detector recebe alternadamente o feixe de referência e o da amostra, qualquer mudança na intensidade da radiação devida à absorção de energia é detectada como um sinal diferente de zero. O sinal assim obtido é amplificado, e usado para posicionar o atenuador óptico de modo que a radiação dos feixes de referência e de amostra mantenham-se na mesma intensidade. A quantidade de atenuação necessária é uma medida direta da absorção pela amostra - o movimento do atenuador é registrado, então, pela pena do instrumento.

3.3 A FORMAÇÃO DO ESPECTRO:

As fontes utilizadas em equipamentos comerciais emitem radiações com comprimentos de onda variando entre $2,5 \times 10^{-4}$ cm até $1,5 \times 10^{-3}$ cm, ou seja, com número de onda desde 4.000 cm^{-1} a 200 cm^{-1} . Suponhamos que uma amostra possa absorver energias correspondentes aos números de onda 3.100 cm^{-1} , 1.550 cm^{-1} , 1.080 cm^{-1} e 610 cm^{-1} . A amostra, após o preparo, é colocada na posição adequada e inicia-se a análise. A fonte começa a irradiar a amostra e a referência, simultaneamente, com fótons de 4.000 a 200 cm^{-1} .

Porém, nem todos esses números de onda chegam simultaneamente ao detector, pois caso isso ocorresse, a análise ficaria prejudicada. Essa é justamente a função da rede de difração.

A rede de difração é responsável pela separação da radiação (fótons) de acordo com o seu comprimento de onda, e sua função pode ser representada esquematicamente como na figura 2, onde se observa que apenas fótons com 4.000 cm^{-1} chegam ao detector.

Por meio de um movimento circular, a rede de difração focaliza no detector, um a um, todos os comprimentos de onda separadamente (4.000 cm^{-1} , 3.999 cm^{-1} , 3.998 cm^{-1} e 3.997 cm^{-1}), e assim sucessivamente até completar a varredura.

No detector, só incidem os fótons de 4.000 cm^{-1} vindos da referência e da amostra. Como estas não absorvem nenhum fóton em 4.000 cm^{-1} - aliás, a referência não absorve nenhum fóton na faixa $4.000\text{ cm}^{-1} - 200\text{ cm}^{-1}$ -, não ocorrerá diferença de potencial no detector, nem tampouco movimento no servomecanismo que aciona a pena do registrador. Assim, tem-se um ponto que corresponde a 0 de absorbância, ou 100% de transmitância. A amostra nada absorve, transmitindo toda a radiação, como se vê na figura 4.

As redes de difração movimentam-se continuamente. O mesmo fenômeno descrito anteriormente acontece nos números de onda 3.999 cm^{-1} , 3.998 cm^{-1} , ..., 3.101 cm^{-1} , porém, quando as redes de difração focalizam no detector 3.100 cm^{-1} , por exemplo, algo diferente acontece, pois a amostra absorveu parte dos fótons deste número de onda.

Deste modo, a intensidade de fótons que passa a amostra em 3.100 cm^{-1} é menor que a intensidade que passa pela referência, o que gera uma corrente no detector que aciona o servomecanismo, e a pena no registrador registra um pico que nada mais é que o registro da parte da energia absorvida pela amostra (figura 5).

Pode-se ver que 80% da energia com número de onda igual a 3.100 cm^{-1} foi absorvida. Com a continuação do movimento de rotação das redes de difração, chega-se novamente em números de onda que não puderam ser absorvidos pela amostra. Neste ponto, a corrente no detector volta a ser nula, e retorna-se à linha base do aparelho (0% de absorção). Isto se dá abaixo de 3.100 cm^{-1} . No espectrograma da figura 6, o fenômeno é retratado como um pico em 3.100 cm^{-1} , pois a amostra absorve este número de onda.

Continuando o movimento de rotação das redes de difração até o número de onda 200 cm^{-1} , o espectro final da molécula será semelhante ao da figura 7. Picos aparecem nos valores 1.550 cm^{-1} , 1.080 cm^{-1} e 610 cm^{-1} , onde a molécula absorve a radiação.

5.4- OS TIPOS DE VIBRAÇÃO:

Basicamente, o termo espectroscopia tem sido utilizado para designar métodos analíticos em que se estuda a interação de radiações eletromagnéticas com moléculas ou partículas. Tanto radiações, como moléculas, porém, possuem energias características, cuja consequência é a propriedade de uma molécula absorver energia proveniente de uma radiação. O fenômeno, no entanto, não ocorre em todos os casos, mas somente naqueles onde a energia do fóton (outra forma de se chamar radiação) for compatível com a energia da vibração molecular.

Deste modo, se um feixe de fótons com intensidade I_0 incidir sobre uma amostra com moléculas que apresentam energia de vibração incompatível com a energia dos fótons, nenhuma energia será absorvida e todos os fótons passarão pela amostra, isto é, o feixe I , que emerge da amostra, tem a mesma intensidade que o feixe I_0 ($I_0 = I$). Por outro lado, se a energia dos fótons for compatível com a energia vibracional, cada molécula absorverá um fóton, aumentando seu movimento vibracional. Como consequência, a intensidade dos fótons que deixa a amostra será menor do que a intensidade incidente ($I_0 > I$), pois parte dos fótons foi absorvido. Depreende-se que, quanto maior for o número de moléculas presente na amostra, menor será a intensidade final, pois maior será a chance dos fótons serem absorvidos.

5.5 PROBLEMAS NOS ESPECTROFOTÔMETROS IV:

Espectrofotômetros de IV dispersivos são amplamente utilizados há mais de quarenta anos. À medida que as pesquisas na tecnologia de IV progrediram, melhoramentos foram feitos, como, por exemplo, a substituição dos prismas pelas redes de difração, como elemento dispersivo. Esses progressos

tornaram os instrumentos mais precisos e com maior sensibilidade. Instrumentos dispersivos trabalham razoavelmente bem. No entanto, as aplicações constantemente exigem maior velocidade, sensibilidade e precisão. Estes equipamentos apresentam os seguintes problemas:

- Grande número de partes móveis:

Mesmo o sistema dispersivo mais simples apresenta grande número de partes móveis:

- a) Um mecanismo de modulação ou “chopping”, que alterna o feixe entre a amostra e a referência, produzindo um sinal no detector;
- b) Um complexo e preciso motor de rotação da rede de difração, que dispersa espacialmente o feixe nas suas frequências individuais;
- c) Para os espectrômetros convencionais de duplo feixe, um atenuador deve ser usado na referência para igualar a intensidade de energia entre os feixes da amostra e da referência;
- d) Controladores de fenda utilizados para determinar a resolução. A largura da fenda também muda ao longo do espectro, para manter constante a intensidade de energia através da fenda;
- e) Trocadores de filtro que eliminam a energia indesejada;
- f) Registrador analógico (e não digital) para registro do espectro nos sistemas mais antigos.

Todas essas partes estão sujeitas ao desgaste mecânico e perda de precisão com o tempo. Se qualquer parte for danificada, o espectrômetro torna-se inoperável.

- Baixa velocidade de varredura

Somente um elemento de resolução é detectado de cada vez. Isto significa que o tempo requerido para obter um espectro é determinado pelo tempo que o instrumento detecta cada elemento de resolução, multiplicado pelo número de elementos de resolução no espectro. As baixas velocidades de varredura dos instrumentos dispersivos tornam impraticável o monitoramento pelo espectro total de uma amostra que sofre rápidas modificações físicas ou químicas. Assim, o monitoramento cinético é geralmente limitado a uma única banda de absorção, o que limita a extensão da informação desses experimentos.

- Decréscimo da sensibilidade do sistema com os efeitos de fenda

O mecanismo de fendas que determina a resolução bloqueia a maior parte da luz proveniente da fonte para a obtenção do espectro. A sensibilidade do sistema decresce, criando um problema para amostras que apresentam baixa transmissão, ou para acessórios que não são opticamente eficientes. O problema é ainda maior em maiores resoluções, quando as fendas são muito estreitas, permitindo a passagem de ainda menos energia para o detector, e decrescendo a sensibilidade proporcionalmente.

- Não existe referência interna

Não há referência interna para a calibração das frequências. Cada espectro deve ser calibrado externamente, através do espectro de algum material com frequências de absorção conhecidas - por exemplo, o poliestireno ou o indeno - para determinar a diferença entre a frequência conhecida e aquela que foi obtida. Além disso, os erros de calibração não são constantes ao longo do espectro, o que significa que o espectro deve ser calibrado em diversas áreas. A adição de um sistema de tratamento de dados ao espectrômetro dispersivo permite que se armazene a curva de calibração, que pode, então, ser usada para corrigir o espectro obtido.

Entretanto, a calibração pode ser afetada por outros fatores, como a temperatura, o que implica em “correr” o padrão de calibração frequentemente. Isto requer mais tempo do operador e aumenta o custo de cada análise.

- Permite luz espúria

Devido à modulação do feixe infravermelho pelo “chopper” numa frequência constante, contribuições da luz espúria dentro do sistema são lidas pelo detector, e causam erros nas leituras de intensidade. Por

exemplo, pode-se encontrar luz em uma área do espectro onde a amostra absorve inteiramente. Esta luz espúria é difícil, ou quase impossível de eliminar.

A luz espúria faz com que análises quantitativas nos instrumentos dispersivos sejam difíceis. Conforme a lei de Beer, existe uma relação linear entre a absorbância medida e a concentração da amostra. Instrumentos dispersivos não são confiáveis para análises quantitativas em amostras com absorbância superior a 1,0 (níveis de luz abaixo de 10% de transmitância). Como resultado, mais tempo deve ser empregado preparando um filme mais fino ou uma amostra mais diluída para enquadrar a banda analítica na faixa adequada de leitura. Novamente, o custo de cada análise aumenta.

- Aquecimento da amostra

A amostra, usualmente posicionada próxima da fonte, pode sofrer aquecimento, e alimentar a possibilidade de decomposição, ou outras modificações, particularmente, em amostras sólidas.

- Emissão da amostra

Uma amostra aquecida, como mencionado anteriormente, pode emitir radiação. Em alguns esquemas de duplo feixe, a luz passa através da amostra antes de chegar ao “chopper”. Para esse tipo de sistema, qualquer radiação emitida pela amostra será lida pelo detector. Bandas de emissão são “negativas” em relação às bandas normais de transmissão, mas quando ambas aparecem simultaneamente no espectro, a interpretação pode ser dificultada.

Exercícios:

1- Explique a diferença entre a espectrofotometria no infravermelho e no ultravioleta e visível. 2-

Qual o objetivo da análise química por espectrofotometria de infravermelho?

3- Como é o mecanismo de detecção de substâncias por esta técnica?

4- Cite vantagens e desvantagens do método, sucintamente.

5- Explique como é a absorção de luz no infravermelho, baseando-se no comportamento vibracional molecular.

6- Como se faz a análise qualitativa de substâncias no IV? 7- E

a análise quantitativa?

8- Cite os componentes do espectrofotômetros de infravermelho.