

Química Analítica Básica:

Os instrumentos básicos de laboratório

João Carlos de Andrade*

andradej@unicamp.br

Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química

Informações do Artigo

Histórico do Artigo

Criado em Novembro de 2011

Palavras-Chaves

balança, pesagem
pHmetro
calibração do pHmetro
eletrodo de vidro combinado
medidas de pH
espectrofotômetros e colorímetros
espectrofotometria UV-Vis
absorção de radiação
Lei de Beer, desvios da Lei de Beer
calibração do espectrofotômetro
cuidados operacionais

Resumo

O emprego correto dos equipamentos em um laboratório analítico está diretamente relacionado com a qualidade e a confiabilidade dos resultados obtidos. A seleção de um procedimento de análise deve considerar a natureza do problema como um todo, o que requer pleno conhecimento sobre a precisão e exatidão requeridas, a disponibilidade de amostra, o intervalo de concentração a ser medido, os interferentes potenciais, as propriedades físicas e químicas da matriz e a quantidade de medidas a serem efetuadas. Neste artigo descreve-se o uso dos equipamentos mais comuns em laboratórios, especificamente as balanças analíticas, os pHmetros e os espectrofotômetros UV-Vis, incluindo informações gerais sobre o uso apropriado de cada um deles e os cuidados operacionais que devem ser tomados durante as operações em laboratório.

Chemkeys. Licenciado sob Creative Commons (BY-NC-SA)

A Balança Analítica

É um dos instrumentos de medida mais usados no laboratório e dela dependem basicamente todos os resultados analíticos [1]. As balanças analíticas modernas, que podem cobrir faixas de precisão de leitura da ordem de 0,1 µg a 0,1 mg, já estão bastante aperfeiçoadas, ao ponto de dispensarem o uso de salas especiais para a pesagem. Entretanto, como o simples emprego de circuitos eletrônicos não elimina as interações do sistema com o ambiente, há procedimentos a serem observados para se garantir para uma pesagem correta e manter a confiabilidade das medidas [2,3].

A pesagem é um procedimento necessário em quase todas as análises, seja para a medida do tamanho da amostra, seja no preparo de soluções padrões, dentre outros.

Em um trabalho rotina, as massas pesadas podem variar de vários gramas a alguns miligramas, ou menos. Os pontos mais relevantes a serem considerados nas operações de pesagem já foram abordados anteriormente [2-4]. Dentre eles, os efeitos físicos são os mais importantes, pois não podem ser suprimidos.

Atualmente, as balanças analíticas eletrônicas digitais de prato único são as mais empregadas. Além da comodidade operacional, estão sujeitas a menos erros e falhas mecânicas. Entretanto, como os modelos podem diferir entre si, sugere-se a leitura atenta dos detalhes operacionais contidos nos manuais que devem acompanhar cada instrumento. A Figura 1 mostra o esquema eletroeletrônico de uma balança analítica típica. O conhecimento dos procedimentos de pesagem são detalhes importantes a serem considerados.

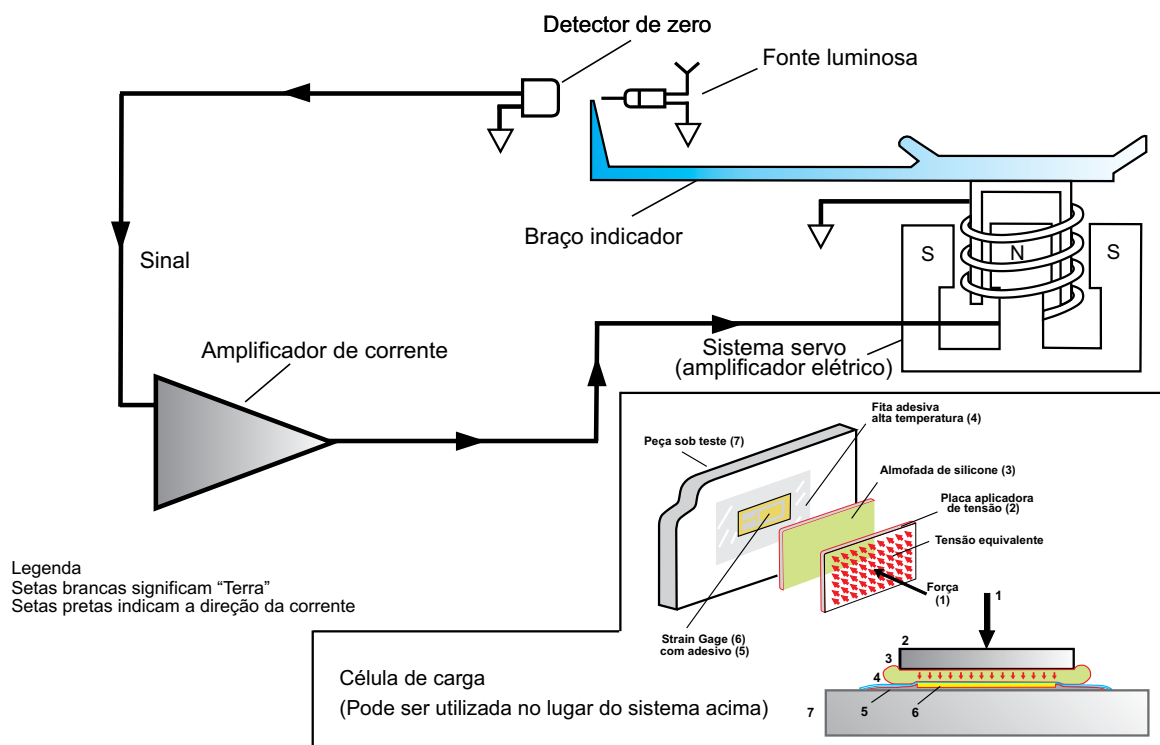


Figura 1. O esquema eletroeletrônico de uma balança analítica de prato único. Baseado no artigo de Schoonover [5]

Quando a quantidade de substância a ser pesada não necessita ser conhecida com muita precisão, pode-se empregar uma balança menos precisa, tipicamente com 2 ou 3 casas decimais, equivalentes a precisões entre ± 1 mg e ± 10 mg. Este procedimento é muito comum quando, por exemplo, deseja-se pesar reagentes para o preparo de soluções que deverão ser necessariamente padronizadas mais tarde, tal como é o caso da solução padrão de NaOH.

Se pesagens mais precisas forem necessárias, deve-se empregar balanças analíticas com uma precisão de pelo menos $\pm 0,1$ mg (quatro casas decimais). Estas balanças são empregadas, por exemplo, nas pesagens envolvidas em procedimentos gravimétricos, na pesagem de padrões primários para o preparo de soluções padrões e na pesagem inicial das amostras, quando a precisão das medidas for um parâmetro determinante da análise. Os dois tipos de balança mais comuns em laboratórios são mostrados na Figura 2. As balanças devem ficar protegidas de qualquer tipo de choque (para evitar danos nas suas partes mais sensíveis), devem ficar protegidas da poeira e da corrosão e devem ser colocadas onde não haja correntes de ar.

As técnicas de pesagem independem do tipo de balança e podem ser feitas por medidas diretas ou por diferença. As pesagens diretas são as mais óbvias, e podem ser empregadas quando a substância a ser pesada é estável e não higroscópica. Caso contrário, as pesagens por diferença são as recomendadas.



Figura 2: Balanças de uso comum em laboratórios. Acima: balança semi-analítica de prato único (para fins preparativos) e balança para uso analítico. Abaixo mostra-se um local de pesagem típico.

As pesagens por diferença consistem em tarar um pesa-filtro fechado contendo um pequeno estoque da amostra, transferir uma porção desta substância para outro frasco e repetir a pesagem do pesa-filtro. A diferença é a massa transferida, que será usada posteriormente no procedimento analítico. Estas operações estão mostradas na Figura 3



Figura 3. Ilustrações das operações de pesagem em um laboratório [6]. Acima se mostra com fazer uma pesagem direta; abaixo são mostradas algumas etapas da pesagem por diferença. Notar o cuidado em não tocar o pesa-filtro com os dedos.

Há algumas regras importantes com as quais se deve familiarizar antes de se trabalhar com qualquer tipo de balança, especialmente as balanças analíticas de precisão. São elas:

1. Nunca tocar com as mãos os objetos a serem pesados. Estes objetos devem ser manipulados com uma pinça ou com um pedaço de papel limpo (Figura 3).
2. Todo objeto deve ser pesado à temperatura ambiente para se evitar erros devidos à formação de correntes de convecção. Use dessecadores (Figura 4) para a estabilização da temperatura. Solicite instruções se não souber como utilizar um dessecador!
3. Nunca colocar reagentes diretamente sobre os pratos da balança, mas pesá-los em recipientes adequados, tais como pesa-filtro, béquer pequeno,

vidro de relógio ou até mesmo em papel apropriado para pesagem (papel acetinado). Sempre que alguma substância cair acidentalmente sobre o prato da balança, este deve ser imediatamente limpo com um pincel macio.



Figura 4 – Dessecadores em uso em um laboratório de análise.

4. Manter sempre as laterais da câmara de pesagem fechadas quando se faz a leitura em uma balança analítica, pois qualquer corrente de ar externa pode causar instabilidade e erros nas leituras.
5. Nunca colocar ou retirar objetos do prato de uma balança sem que esta esteja travada. Em caso de dúvida, consulte o manual do seu equipamento.

Resumidamente, os cuidados e detalhes operacionais que devem ser tomados durante uma pesagem são:

Antes de iniciar a pesagem

1. Verificar se o prato da balança está limpo e seco.
2. Verificar se todas as janelas estão fechadas.
3. Verificar se a balança está nivelada e estável.
4. Calibrar a balança com certa regularidade.

Durante a pesagem

1. Colocar o recipiente de pesagem sempre no centro do prato.
2. Tarar (zerar) a balança com as janelas fechadas.
3. Adicionar cuidadosamente a massa desejada no interior do recipiente.
4. Fechar as janelas e aguarde a sua estabilização.
5. Anotar o valor da massa até a última casa decimal
6. Retirar o frasco de pesagem.

Após a pesagem

1. Se necessário utilizar um pincel para a limpeza.
2. Deixar o prato da balança limpo e seco.
3. Fechar todas as janelas da balança.

4. Zerar a balança.
5. A bancada da balança deve estar sempre limpa e os frascos de reagentes fechados.

Outros cuidados importantes

1. Deixar sempre a balança no modo stand by, evitando a necessidade de novo tempo de aquecimento (warm up).
2. Usar sempre o menor frasco de pesagem possível.
3. A temperatura do frasco de pesagem e seu conteúdo devem estar na mesma temperatura do ambiente da câmara de pesagem.
4. Usar somente frascos de pesagem limpos e secos.
5. A massa total (frascos + amostra) não deve ultrapassar 200 g.
6. Não tirar a balança do lugar.
7. Utilizar espátula adequada para a pesagem.
8. Não apoiar cadernos sobre a balança ou sobre sua bancada.

O pHmetro e as medidas de pH [7]

As medidas de pH são efetuadas em potenciômetros ou, mais precisamente, em voltímetros eletrônicos com entrada de alta impedância. A necessidade básica desse sistema é que a medida da força eletromotriz (FEM) seja feita com corrente elétrica praticamente nula e por isso é que voltímetros comuns não podem ser usados para este fim. Os potenciômetros e os voltímetros eletrônicos com entrada de alta impedância permitem que as medidas sejam feitas na escala de milivolts (mV), em pX ($-\log$ da atividade do íon X), ou ainda em unidades de concentração, após a devida calibração. Quando estes equipamentos são usados para a determinação da concentração de íons H^+ (mais rigorosamente, a atividade dos íons H^+), recebem a denominação específica de pHmetro (ou peagâmetro).

A medida do pH de uma solução é o processo mais comum para se determinar a acidez ou basicidade de um meio aquoso, mas o conceito de pH não é tão simples como parece [7-11].

O pH pode ser definido como $-\log(aH^+)$, ou seja, o pH é inversamente proporcional à atividade dos íons hidrogênio. A atividade é o teor de íons H^+ efetivamente dissociados. Porém, em soluções diluídas ($\approx 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ou menos) pode-se considerar a atividade aproximadamente igual à concentração de H^+ . Portanto, a definição fica, aproximadamente, como: $\text{pH} = -\log [H^+]$. Teoricamente, a escala útil de pH em solução aquosa é de 1 a 14.

Os Eletrodos de vidro

As medidas são efetuadas usando uma célula eletroquímica composta de dois eletrodos, um de referência e um indicador (sensível à espécie de interesse), imersos na solução amostra, na ausência de corrente elétrica ou sob correntes muito baixas.

Os eletrodos são componentes essenciais nas medidas de pH. As medidas potenciométricas sempre devem ser feitas com dois eletrodos, sendo que um deles deve ser um eletrodo que tenha um potencial constante e estável em função do tempo, independente das propriedades da solução no qual está imerso. Este eletrodo é denominado eletrodo de referência, o qual será sempre o fator de comparação do eletrodo indicador.

Os dois eletrodos de referência mais empregados são o de calomelano saturado ($Hg/HgCl_2, KCl_{sat.}$) e o de prata/cloreto de prata ($Ag/AgCl, KCl_{sat.}$). Tanto um como o outro respondem à atividade do íon cloreto, de modo que é preciso manter a solução do eletrólito saturada com estes íons, para que os potenciais dos mesmos sejam constantes durante a medida. O eletrodo de $Ag/AgCl$ é mais usado porque apresenta algumas vantagens em relação ao de calomelano saturado, tais como a sua maior faixa de operação em função da variação da temperatura e sua construção mais simples.

O eletrodo de vidro combinado é o mais utilizado para medida de pH porque seu potencial não é afetado pela presença de agentes oxidantes e redutores e tem a vantagem de poder ser operado numa larga faixa de pH. Consiste de um corpo de vidro selado, dotado de uma membrana de vidro na forma de um bulbo na sua extremidade inferior (eletrodo indicador) e contendo internamente uma solução diluída de HCl em contato com um fio de prata recoberto com cloreto de prata ($Ag/AgCl$), o qual funciona como uma referência interna do eletrodo indicador. Essa referência interna é que vai responder à diferença de potencial da membrana devido à variação na concentração dos íons H^+ na solução a ser medida.

Considerando que as concentrações de íons cloreto e de íons H^+ permanecem constantes, o potencial interno do eletrodo também é mantido constante. Há também uma câmara contendo uma solução de KCl (geralmente uma solução saturada), que fica localizada externamente ao corpo de vidro interno. Dentro dela existe outro eletrodo de referência ($Ag/AgCl$), conforme mostra a Figura 5.

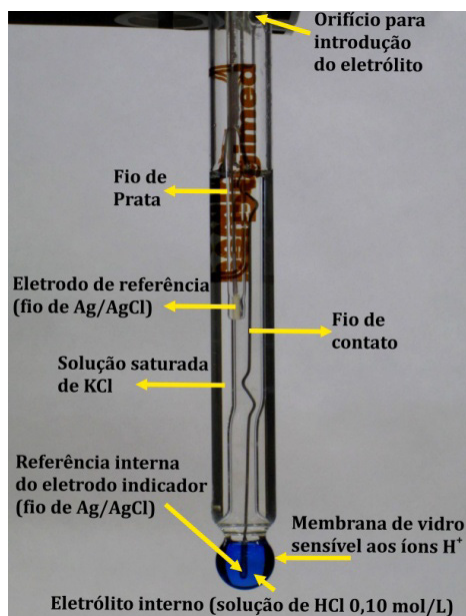


Figura 5. A anatomia de um eletrodo de vidro combinado. O sensor de pH deve estar limpo, sem a proteção que envolve a sua extremidade (geralmente de borracha ou plástico) e com o orifício superior desobstruído, para o efetivo contato elétrico. Quando estocado, este orifício deve estar fechado e o bulbo deve ser protegido.

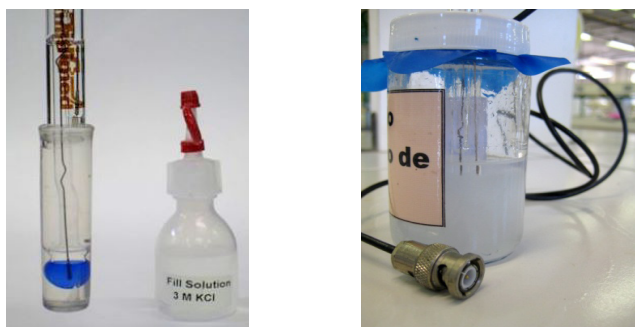


Figura 6. Modo convencional para a estocagem de eletrodos de pH (à esquerda). Se o eletrodo não tiver um protetor para seu bulbo, recomenda-se colocar um pedaço de algodão no fundo do recipiente de estocagem, para evitar o atrito direto deste com as paredes internas do recipiente (à direita). A capa de proteção do bulbo deve estar preenchida com o eletrólito de referência (neste caso, uma solução de $\text{KCl } 3,0 \text{ mol L}^{-1}$), para que a membrana não se deteriore.

O mecanismo de funcionamento do eletrodo é simples: como a solução de HCl apresenta uma concentração de H^+ constante, a variação na concentração de H^+ da solução a ser medida é que será a responsável pela variação de potencial na membrana de vidro. Quando colocado em solução aquosa, os cátions da membrana de vidro (por ex.: silicatos de Li^+ e Ba^{2+} ou de Na^+ e Ca^{2+}) são trocados por íons H^+ , formando uma fina camada de sílica ricamente hidratada, que funciona como uma membrana de troca catiônica, sensivelmente seletiva aos íons H^+ .

Assim, a variação de potencial na membrana de vidro está diretamente relacionada à medida de pH da solução, uma vez que o eletrodo de referência tem potencial constante.

Estes eletrodos têm um desempenho muito bom quando operados no intervalo de pH entre 1 e 9. Entretanto, dependendo da composição do vidro do eletrodo, tendem a indicar valores de pH mais baixos quando empregados para medidas em soluções mais alcalinas (chamado “erro de alcalino”). Também estão sujeitos ao chamado “erro ácido”, quando são empregados para medir valores de pH menores que um. Para mais informações, verifique o manual do fabricante do seu equipamento.

Na potenciometria direta, o valor de pH é lido diretamente no visor do pHmetro (potenciômetro; Figura7).



Figura 7. O pH da água destilada medida com um pHmetro

O potencial desenvolvido no eletrodo de vidro é uma função da atividade dos íons H^+ , definida pela equação de Nernst:

$$E = E^0 + \left(\frac{2,3RT}{F} \right) \log a_{\text{H}^+}$$

onde E^0 é o potencial padrão, R é a constante universal dos gases, T é a temperatura absoluta e F é a constante de Faraday. O fator $2,3 RT/F$ é denominado de potencial de Nernst, cujo valor é 59,16 mV a 25 °C. Desta forma, pode-se escrever que

$$E = K + \left(\frac{2,3RT}{F} \right) \log a_{\text{H}^+}$$

ou ainda,

$$E = \text{constante} - (2,3 \text{ RT/F}) \text{ pH}$$

de modo que se as medidas forem efetuadas à temperatura de 25 °C, tem-se:

$$E = \text{constante} - 59,16 \text{ pH}$$

ou seja, idealmente, para cada unidade de pH nesta temperatura, o potencial varia de 59,16 mV.

Calibração e uso do pHmetro

O uso de um medidor de pH (pHmetro) requer sua calibração prévia. Existe uma sequência básica de etapas a serem seguidas para a calibração dos pHmetros. Geralmente utilizam-se duas medidas de pH de duas soluções tampão com valores de pH diferentes entre si.

O pHmetro deve ser calibrado diariamente, antes de cada conjunto de medidas programado, porque o eletrodo de vidro não reproduz as medidas de força eletromotriz (FEM) por longos períodos.

A calibração deve ser feita com pelo menos duas soluções tampão (padrões). De modo geral, calibra-se o pHmetro usando-se tampões com valores de pH ao redor de 4,00 e 7,00 se as medidas posteriores forem efetuadas na região ácida e com tampões com valores de pH ao redor de 7,00 e 10,00, se as medidas posteriores estiverem localizadas na região alcalina. Se a faixa de pH das amostras a serem medidas for mais ampla, recomenda-se calibrar o aparelho com três tampões (ver aTabela 1).

Em geral os ajustes dos valores de pH dos tampões (padrões) são realizados com os botões “calibrate” (ou “calibration”) e “slope”. Os equipamentos mais modernos têm a opção da compensação automática de temperatura (Automatic Temperature Compensation – ATC) que deve ser empregado em medidas de precisão, desde que seja usado um eletrodo de vidro combinado com sensor de temperatura. Siga preferencialmente as instruções contidas no manual que acompanha o equipamento.

As instruções básicas a serem observadas antes de se operar um pHmetro são:

1. Verificar a voltagem do aparelho. Nos laboratórios é comum ter várias tomadas, podendo ser de 110 e/ou 220V.
2. Verificar se o sensor de pH e as soluções tampão estão em condições de uso.

3. Retirar a ponta protetora do sensor de pH (bulbo) do eletrodo de vidro. Com o auxílio de uma pisseta, lave-o bem e descarte a água de lavagem em um béquer ou em outro recipiente apropriado.

4. Caso o bulbo esteja engordurado, sugere-se também a lavagem manual com acetona e enxágüe com água destilada. Enxugue cuidadosamente o sensor. Utilize um lenço de papel macio para isso (Cuidado: nunca fricção o bulbo do eletrodo).

Instruções para a calibração de um pHmetro

1. Retire o eletrodo da sua capa de proteção e lave-o com água destilada (ou deionizada) e seque-o com um lenço de papel macio.
2. Introduza o eletrodo em cerca de 70-80 mL da solução tampão padrão (contida em um béquer de cerca de 100 mL, previamente limpo e seco) de pH ao redor de 7,00 (exatamente conhecido). Coloque uma barra de agitação pequena, sem que haja a possibilidade de toque no eletrodo durante a agitação. Leia o valor do pH *sem* agitação, após cerca de 15-20 s em repouso. **ATENÇÃO:** O eletrodo de vidro deve ser mergulhado de tal maneira que tanto o bulbo como a junção líquida (pequeno furo capilar localizado acima do bulbo) fiquem imersos na solução.
3. Ajuste o controle “slope” a 100%, exatamente.
4. Leia o pH do tampão. Se for diferente do valor padrão, ajuste-o com o botão “calibrate” até a leitura correta do pH do padrão utilizado.
5. Lave e seque o eletrodo como mencionado anteriormente e repita o procedimento usando um tampão com valor de pH próximo de 4,00 (se as medidas a serem feitas estiverem na faixa ácida de pH) ou um tampão com valor de pH próximo de 9,00 (se as leituras a serem feitas estiverem situadas na região alcalina de pH). Leia o pH do tampão.
6. Se o pH não for exatamente o valor do padrão (cerca de 7,00 ou 9,00) ajuste o controle “slope” até ler exatamente o valor de pH tampão.
7. Repita o procedimento novamente, até que seja possível ler exatamente os valores de pH dos tampões usados na calibração. Depois disto, o pHmetro está calibrado para as leituras subseqüentes.

Para efetuar a medida direta de pH em uma amostra, mergulhar o eletrodo limpo e seco na solução a ser analisada. Agitar suavemente e aguardar 15-20 segundos para a estabilização da medida e anotar o valor em seguida. Entre as medidas, é importante manter o eletrodo imerso na solução de descanso (solução de KCl 3 mol L⁻¹) e o pHmetro em *standy by*.

Na Tabela 1 descrevem-se as preparações das soluções tampão mais usadas para a calibração de eletrodos de vidro, para medidas de pH. Usar água destilada ou desionizada de boa qualidade, livre de dióxido de carbono. O CO₂ dissolvido pode ser eliminado por ebulição, mas não se esquecer de resfriar a água à temperatura ambiente antes do preparo das soluções (e das leituras). Se não houver menção em contrário, estas soluções se conservam por até três meses. As medidas devem ser idealmente realizadas em (25 ± 1) °C.

Tabela 1. As três soluções tampão mais usadas na calibração de eletrodos de pH

pH do Tampão	Modo de Preparo
4,008	Dissolver 10,21 g de hidrogenoftalato de potássio (KHC ₈ H ₄ O ₄ - biftalato de potássio) em aproximadamente 800 mL de água e completar o volume a 1000 mL. O sal deve ser secado por duas horas a 110–130 °C, antes de ser pesado. Esta solução se conserva por aproximadamente seis semanas
7,413	Dissolver 1,179 g de dihidrogenofosfato de potássio (KH ₂ PO ₄) e 4,30 g de hidrogenofosfato de sódio (Na ₂ HPO ₄) em cerca de 800 mL de água e completar o volume a 1000 mL
9,180	Dissolver 3,814 g de tetraborato de sódio (Na ₂ B ₄ O ₇ ·10H ₂ O) em aproximadamente 800 mL de água e completar o volume a 1000 mL

Os cuidados operacionais

Os cuidados básicos que devem ser dispensados na operação e manutenção dos eletrodos de vidro são os seguintes:

1. Manuseio: Os eletrodos devem ser lavados com água destilada de boa qualidade, ou com água desionizada, após cada medida. NUNCA esfregue o eletrodo, pois esta ação pode causar leituras errôneas, devido a cargas estáticas. Para remover o excesso de água, seque apenas a ponta do eletrodo com um lenço de papel macio.

2. Verificação do nível de eletrólito: Encher o eletrodo com a solução de eletrólito apropriada (geralmente KCl saturado), sempre que necessário, sem ultrapassar o nível do furo de enchimento. Deixar este furo sempre aberto, durante as medidas, para assegurar que a solução interna flua apropriadamente através da junção de referência (junção líquida).

3. Estocagem: Sempre mantenha o seu eletrodo de pH úmido. Recomenda-se a estocagem do eletrodo de pH em uma solução de KCl 3 mol L⁻¹. Se esta solução não estiver disponível no laboratório, use uma solução tampão de pH 4 ou 7. NUNCA estoque o seu eletrodo em água destilada ou desionizada, pois isto causará a lixiviação dos íons do eletrólito interno, através do bulbo de vidro, tornando-o inoperante.

4. Use o protetor de borracha: Muitos eletrodos são fornecidos com um protetor de borracha para o bulbo de vidro. Nestes casos, mantenha o seu eletrodo sempre estocado com o protetor, não esquecendo de preencher o receptáculo do protetor com solução de KCl 3 mol L⁻¹, de modo a manter o eletrodo sempre umedecido. Se o eletrodo não tiver um protetor para seu bulbo, recomenda-se colocar um pedaço de algodão no fundo do recipiente de estocagem, para evitar o atrito direto deste com as paredes internas do recipiente (Figura 6). Após longos períodos de estocagem, pode-se perceber a formação de cristais de KCl na parte exterior do corpo do eletrodo. Neste caso, simplesmente lave as paredes externas do eletrodo com água destilada ou desionizada e remova o excesso de água com lenço de papel fino. Isto não interferirá com as medidas.

O espectrofotômetro UV-Vis e sua utilização [7,12]

A luz branca é constituída por vários componentes que podem ser separados ao passar através de um elemento dispersivo (prisma ou grade de difração). Este é o mesmo fenômeno verificado na dispersão da luz solar por gotículas de água, que provoca o aparecimento do arco-íris.

É fácil perceber deste modo que, se um líquido transparente se apresenta vermelho, é porque absorveu todos os outros componentes. Assim, se uma solução absorve o amarelo (580-595 nm), apresentará cor azul (435-480 nm). O amarelo, portanto é a cor complementar do azul e vice-versa. De maneira geral podemos dizer então que a cor aparente de uma solução, ou de um objeto qualquer, é o complemento da cor que é absorvida, como mostrado na Figura 8.

Rev. Chemkeys, Campinas, SP, n.11, p.1-14, nov. 2011 - ISSN 2595-7430

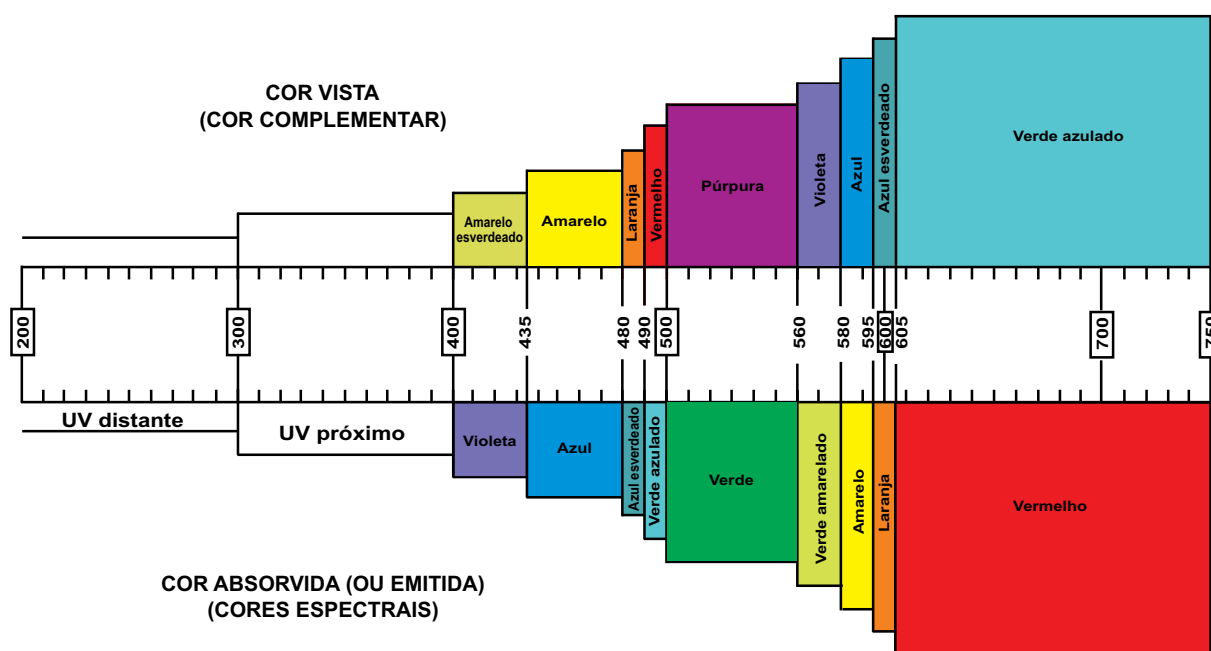


Figura 8. As cores espectrais e suas cores complementares na região do Visível. Ilustração proposta pelo Prof. Marcelo Ganzarolli de Oliveira, do Instituto de Química da UNICAMP. As cores mostradas são apenas indicativas. Publicado com permissão.

Isto é muito importante na colorimetria, onde a escolha do comprimento de onda é fundamental para o procedimento de análise. No caso de um corpo opaco colorido o fenômeno é o mesmo, ou seja, haverá a absorção de certos componentes sendo refletidos os demais ou apenas um deles. Quando um material se apresenta incolor (meio transparente) ou branco (meio opaco), podemos dizer que não houve absorção de qualquer comprimento de onda da região do visível. O mesmo fenômeno de absorção ocorre no ultravioleta e em outras regiões do espectro eletromagnético, sendo que o não aparecimento da cor se justifica pela não sensibilidade do olho humano a estes comprimentos de ondas.

Entretanto é sabido que o espectro eletromagnético é muito mais amplo que o espectro visível e que a interação da radiação com a matéria ocorre em qualquer região de comprimento de onda, que se estende desde os raios cósmicos ($\lambda \approx 10^{-9}$ nm) até as ondas de rádio ($\lambda > 1000$ m). Como ao comprimento de onda da radiação está associada uma energia, diversos tipos de espectroscopias podem ser usadas para fornecer informações analíticas. Dentre estes extremos, a região do ultravioleta e do visível, onde ocorrem as transições eletrônicas, que são do nosso interesse particular.

A absorção e a emissão de radiação no UV-Vis [13-15]

A radiação eletromagnética pode interagir com a matéria de diversas maneiras. Se a interação resultar na

transferência de energia de um feixe de energia radiante para a matéria, o processo é chamado absorção. O processo inverso, no qual uma porção da energia interna da matéria é convertida em energia radiante, é chamado de emissão.

Para explicar o processo de absorção nesta região do espectro é preciso considerar a natureza corpuscular da radiação, a qual estabelece que a energia dos fótons é quantizada,

$$E = h\nu$$

onde h é a constante de Planck ($h=6,626 \times 10^{-34}$ Js) e ν é a frequência da radiação (s^{-1}).

A teoria quântica propõe que se houver ocorrência de colisões entre fótons e receptores (átomos, íons ou moléculas), existe uma probabilidade finita de que esta energia associada aos fótons possa ser transferida aos receptores em um processo descontínuo. Quando o processo de absorção ocorre, ele pode ser descrito como



onde M^* é o receptor no estado excitado.

Os átomos de substâncias monoatômicas, na sua maioria, estão em um estado mais baixo de energia (chamado de estado fundamental). Estes átomos são capazes de absorver energia radiante somente através de um aumento nas suas energias eletrônicas, isto é, elevando elétrons a orbitais

de nível energético mais alto. Estas transições ocorrem somente se os fótons possuírem exatamente a mesma quantidade de energia necessária à transição eletrônica. Caso contrário isto não ocorre. Este é o princípio básico da técnica de absorção atômica, que não será abordada neste artigo.

Por outro lado, o estado de energia total de uma molécula inclui componentes eletrônicos, vibracionais e rotacionais, todos eles quantizados. Para cada nível eletrônico existem sub-níveis correspondentes aos estados vibracionais, que por sua vez, também apresentam sub-níveis rotacionais, de modo que a absorção de radiação por moléculas é um processo mais complexo que a absorção de radiação por átomos (Figura 9).

Sendo a interação matéria-energia um fenômeno reversível, as espécies que atingem um estado excitado podem emitir fótons de energias características, retornando ao estado fundamental. Da mesma maneira que no caso da absorção, a emissão (ex. fluorescência) pode ser molecular ou atômica.

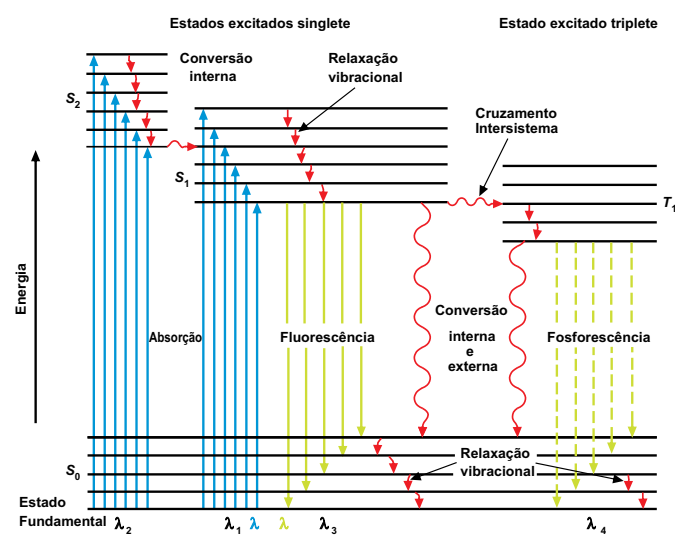


Figura 9. O diagrama de energia de Jablonski para transições moleculares

As leis quantitativas dos processos de absorção [7,16]

Em estudos quantitativos envolvendo absorção de radiação, o feixe de radiação é dirigido para uma amostra e a Potência da radiação transmitida é medida. A radiação absorvida pela amostra é determinada comparando-se a Potência Radiante [16] do feixe transmitido na ausência de espécies absorventes com a Potência Radiante transmitida na presença de espécies absorventes.

A Potência Radiante, P , de um feixe de radiação,

em qualquer ponto do absorvedor, é definida como a velocidade do fluxo de fótons, através de um plano perpendicular à direção do fluxo. A unidade é o Watt e a Potência pode variar em direção e espaço.

A Intensidade de radiação, I , é definida como a razão entre a Potência Radiante e o ângulo sólido de incidência. Quando a área iluminada, o ângulo sólido e o volume do absorvedor são pequenos, que é o caso das medidas para fins analíticos, a Potência da radiação pode ser tomada como a sua Intensidade.

Em 1852, August Beer verificou que a transmissão da luz através de uma determinada solução é proporcional à concentração da substância absorvedora (Figura10).

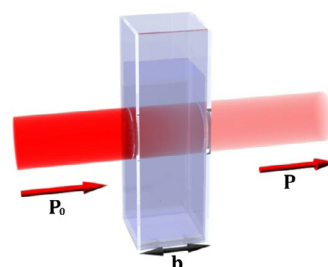


Figura 10. Representação gráfica das observações de Beer – Modificada do site Wikipedia [17]

O modelo físico que descreve a absorção de luz por uma solução (Figura 11) é simples: dentro de uma camada infinitesimalmente fina a diminuição da energia (dP) é proporcional à energia incidente (P), à concentração das espécies absorventes (c) e à espessura da seção (dx), onde P é a Potência Radiante

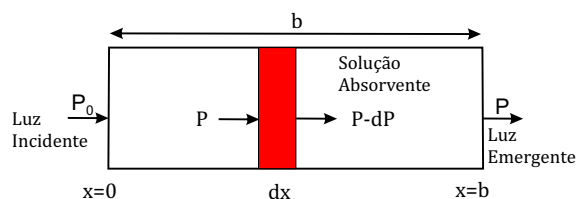


Figura 11. Modelo físico do processo de absorção de luz em uma solução homogênea.

Matematicamente:

$$dP = -\beta P c dx$$

$$\frac{dP}{P} = -\beta c dx \Rightarrow \int_{P_0}^P \frac{dP}{P} = -\beta c \int_0^b dx$$

$$(\ln P - \ln P_0) = -\beta cb \Rightarrow \ln\left(\frac{P}{P_0}\right) = -\beta cb$$

Mudando a base para decimal

$$A = \log(P_0/P) = \beta bc(\log e)$$

$$A = \beta(\log e)bc = abc$$

A absorvidade, a , é usada quando não se conhece a natureza do material absorvente (e portanto a sua massa molar), sendo a concentração expressa em gramas por litro. A absorvidade molar (ϵ ; concentração expressa em mol por litro) é empregada quando se deseja comparar quantitativamente a absorção de várias substâncias.

A relação $A = -\log_{10}(P/P_0) = \log_{10}(P_0/P) = \epsilon bc$, é chamada de absorvância por muitos autores de língua portuguesa. Outros (como no presente artigo) ainda preferem a derivação do inglês, absorvância.

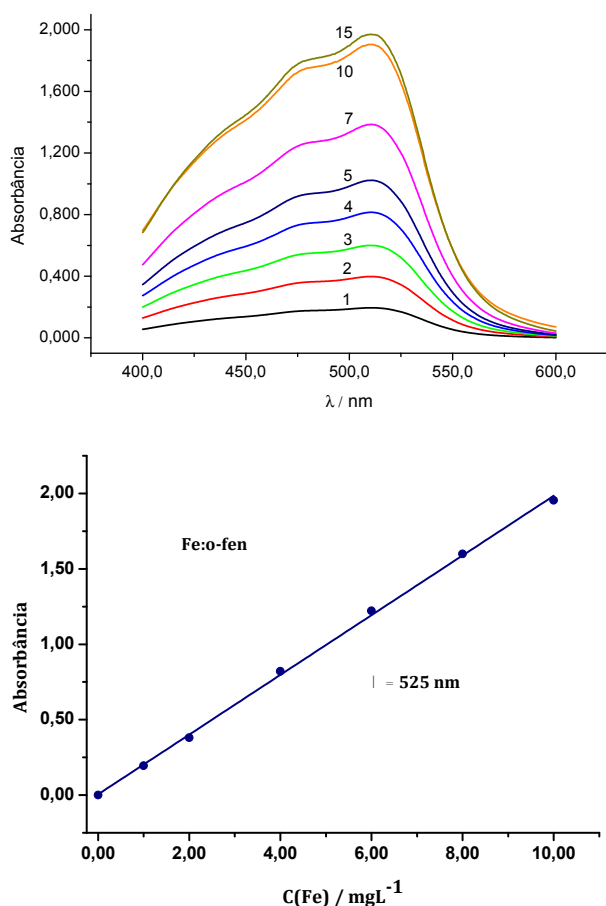


Figura 12 – Espectros das soluções padrão de ferro com o-fenantrolina e a representação gráfica da Lei de Beer na determinação espectrofotométrica de ferro. Dados obtidos usando o espectrofotometro de UV-Vis 1601 PC Shimadzu, com uma cela de vidro com espessura de 1,0 cm.

Percebe-se claramente a relação linear entre a absorvância, A , e a concentração c (Figura 12). A sensibilidade do método é dada diretamente pelo coeficiente angular da reta de calibração.

Uma outra característica particular da lei de Beer é a aditividade das absorvâncias, que nunca deve ser esquecida em medidas espectrofotométricas. A absorvância total devido às espécies presentes na solução pode ser expressa como a soma das absorvâncias de cada uma delas.

$$A_1 = A_{11} + A_{12} + A_{13} + \dots = \sum A_{ij}$$

$$A_i = \epsilon_{i1}c_1b + \epsilon_{i2}c_2b + \epsilon_{i3}c_3b + \dots = b \sum \epsilon_{ij}c_i$$

onde o subscrito i refere-se ao comprimento de onda e o subscrito j refere-se ao componente da mistura.

A espectrofotometria no UV-Visível

A estrita aderência à Lei de Beer é observada apenas quando uma radiação monocromática (λ único e constante) é utilizada. Esta dependência mostra seu caráter limitado, já que na prática isola-se apenas uma banda de radiação, composta por diversos comprimentos de onda, o que implica em desvios desta lei. Experimentalmente resolve-se este problema fazendo-se as medidas em uma região de máximo da banda de absorção, onde o valor de λ não varia significativamente e torna os desvios desprezíveis.

Além de ser estritamente válida apenas para radiação monocromática, a dedução da Lei de Beer também pressupõe que os centros absorventes atuam independentemente um dos outros, isto é, que não existem interações recíprocas destes centros, nem interações com outros íons e moléculas presentes. Desta forma, a Lei de Beer só pode ser aplicada corretamente a soluções diluídas, tipicamente com concentrações menores que 10^{-2} mol L⁻¹.

Em altas concentrações a distância média entre os centros absorventes é diminuída, ao ponto de afetar a distribuição de cargas dos seus vizinhos e alterar a eficiência da absorção. O mesmo efeito pode ser observado em soluções contendo baixas concentrações do absorvedor, mas com altas concentrações de outras espécies, como eletrólitos. A proximidade dos íons altera o valor de ϵ do absorvedor por interações eletrostáticas, mas este efeito pode ser diminuído.

A Absorvidade (a ou ϵ) depende do índice de refração do meio, n , de modo que a Lei de Beer também é afetada por

este parâmetro. Entretanto, via de regra, este efeito não é apreciável para concentrações menores que 10^{-2} mol L⁻¹.

Desvios aparentes da Lei de Beer podem ainda ser observados a partir de fenômenos químicos inerentes ao sistema ou sob a ação de efeitos físicos. Os fenômenos químicos mais comuns envolvidos são:

Dissociação ou Associação: pode deslocar o espectro da espécie absorvente, gerando o efeito batocrômico (deslocamento para λ maiores) ou o efeito ipsocrômico (deslocamento para λ menores). Muitas vezes em sistemas em equilíbrio, pode-se medir a absorvância em um ponto isoabsortivo, chamado isosbético. Neste comprimento de onda, todas as espécies absorventes do sistema têm a mesma absorvidade, de modo que a lei de Beer não é afetada pelo equilíbrio.

Solvólise: a mudança de solvente (polar para não polar e vice-versa) pode causar deslocamentos de espectros (máximos de absorção).

Formação de complexos: também pode provocar deslocamentos de espectros.

Temperatura: geralmente a variação máxima permitida é de ± 5 °C.

Efeitos de luz incidente: pode induzir dissociações, associações e reações fotoquímicas de decomposição ou polimerização, principalmente sob a ação da radiação UV.

Emissão secundária de radiação: associadas aos fenômenos de fluorescência e fosforescência, que não serão discutidas aqui.

Espalhamento de radiação: geralmente causados pela presença indesejável de substâncias em suspensão. Esta situação pode ser usada para medidas quantitativas sob condições especiais (turbidimetria e nefelometria).

Os fatores físicos mais comuns que também podem influir nas medidas da Absorbância são:

Abertura da fenda do monocromador: está relacionada com a intensidade da radiação incidente e é um parâmetro importante em espectroscopia atômica (absorção ou emissão), porque neste caso as bandas são muito estreitas (linhas atômicas). Em espectroscopia molecular, se for muito grande, deixará passar uma banda de radiação muito larga, acentuando os desvios

das medidas.

Luz espúria: resultado do espalhamento e reflexões das várias superfícies do monocromador. Difere grandemente dos comprimentos de onda da banda de radiação selecionada e pode ainda não ter passado pelo absorvedor (amostra). Se esta luz atingir o detector, tem-se uma medida aparentemente menor da absorvância.

Colorímetros e Espectrofotômetros

Os componentes básicos dos colorímetros e espectrofotômetros são a fonte de energia radiante, o sistema de seleção de comprimento de onda, os detectores de radiação e os sistemas medidas.

Os colorímetros geralmente são equipamentos mais simples, operando na região do visível e que normalmente usam filtros para seleção de uma faixa de comprimentos de onda da radiação incidente. Os espectrofotômetros diferem dos colorímetros por operarem através do uso de elementos dispersivos de radiação (monocromadores, construídos com prismas ou grades de difração), o que permite uma separação mais eficiente das faixas de comprimentos de onda. Com aparelhos deste tipo pode-se geralmente obter espectros da solução absorvedora, desde a região do UV até a região do infravermelho próximo.

A sensibilidade destes equipamentos é basicamente determinada pelo sistema de seleção de comprimento de ondas e pelo sistema de detecção de radiação. Os filtros (de absorção) são os dispositivos mais comuns usados para selecionar bandas de comprimento de onda, que são mais largas do que as obtidas usando prismas ou grades de difração. Para certas espécies químicas, cuja absorção ocorre em picos estreitos, a sensibilidade é maior nos espectrofotômetros com monocromadores de alta resolução ou em colorímetros equipados com filtros de interferência. Para outras espécies, cujos espectros de absorção são mais amplos, a utilização de colorímetros com filtros é perfeitamente viável.

A qualidade e o custo dos colorímetros e espectrofotômetros dependem do tipo e qualidade de seus componentes. A aquisição desses equipamentos deve-se basear sempre num conhecimento prévio das características de cada um deles e, se possível, na consulta a outras pessoas que já possuam o aparelho.

A calibração de um espectrofotômetro de feixe simples

Quando são usados aparelhos de feixe simples, o

procedimento consiste em ajustar o nível de 100% de transmitância (zero de absorvância) do equipamento com uma cubeta (Figura 13) contendo todos os componentes da solução a ser medida, menos a substância de interesse ("branco"), e o nível 0% de transmitância com o obturador do aparelho fechado. As demais medidas serão feitas em relação ao branco, substituindo-o pelas amostras.

O procedimento básico é o seguinte:

- 1 - Antes de conectar o equipamento à rede elétrica, verifique se a tensão é compatível com a voltagem descrita no equipamento;
- 2 - Conecte o cabo de força a rede elétrica;
- 3 - Ligue o equipamento utilizando a chave localizada no painel traseiro do aparelho;
- 4 - Recomenda-se um período de pré-aquecimento de 30 minutos, para melhor estabilidade e reprodutibilidade das medidas;
- 5 - Selecione o comprimento de onda desejado. É importante verificar a faixa de trabalho do instrumento. Na obtenção de um espectro com um equipamento de feixe simples, o instrumento deve ser calibrado com o branco a cada seleção de comprimento de onda;
- 6 - Para calibração do equipamento no comprimento de onda escolhido, colocar uma cubeta com o solvente utilizado (branco) e ajustar 100% de Transmitância (ou 0,000 de Absorvância);
- 7 - Para a leitura da Absorvância, colocar a cubeta contendo a amostra e efetuar a leitura (observar a posição correta da cubeta, alguns modelos possuem apenas dois lados polidos, estes devem estar no caminho do feixe).

Os sistemas de leitura do tipo analógico estão em desuso. Nos aparelhos mais modernos as medidas são feitas com sistemas de leitura digital, com possibilidade de uso de escalas de transmitância (%T), absorvância ou concentração.

Os equipamentos de feixe duplo

Para equipamentos de feixe duplo (Figura 14), a radiação proveniente do monocromador é igualmente dividida em dois feixes, que incidem em dois compartimentos, o de referência e o da amostra.

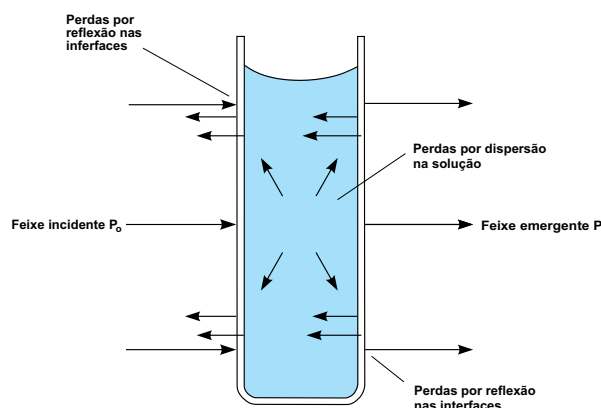


Figura 13. Cubeta (cela) espectrofotométrica e os fenômenos envolvidos na passagem da radiação através dela, no processo de uma medida espectrofotométrica.

O ajuste inicial é feito colocando-se o "branco" nos dois compartimentos e regulando-se o aparelho para absorvância zero, e as leituras são feitas substituindo-se o "branco" do compartimento da amostra pelas amostras a serem medidas (Figura 14). O usuário deverá ler atentamente o manual do seu equipamento para se informar sobre os demais detalhes operacionais.

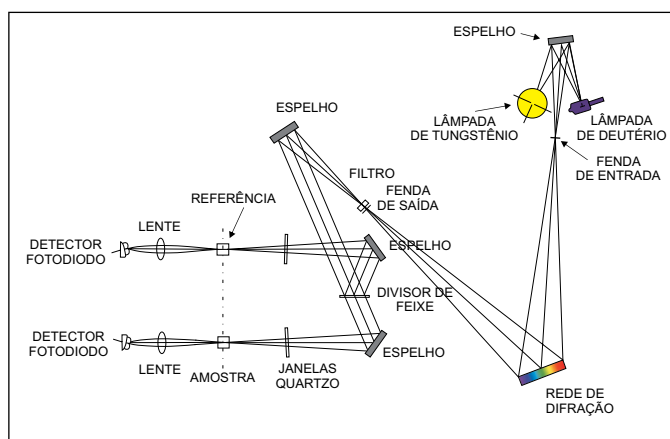


Figura 14. Foto e esquema óptico do espectrofotômetro UV-Vis de feixe duplo Shimadzu modelo 1601 PC.

Cuidados Experimentais

As curvas padrão usadas na colorimetria ou espectrofotometria. Rev. Chemkeys, Campinas, SP, n.11, p.1-14, nov. 2011 - ISSN 2595-7430

metria devem, em última análise, relacionar sempre a absorvância como uma variável dependente da concentração. Portanto, se a leitura for obtida em transmitância deve-se primeiro fazer a conversão para absorvância.

A faixa entre 15 e 65% T é a que apresenta o menor erro relativo da concentração em função de um erro fotométrico absoluto constante. Dessa forma é importante que as concentrações dos extratos sejam adequadas, de modo a se obter leituras dentro desses limites.

Como os métodos de análise quantitativos devem considerar a precisão e a exatidão dos resultados, além dos cuidados usuais a serem tomados no preparo das amostras e nas medidas da absorvância propriamente dita (ex.: evitar a presença de bolhas de ar, sujeiras e riscos nas celas de leitura, etc.), a aplicação de um método espectrofotométrico deve ainda levar em conta dois outros parâmetros:

A escolha do comprimento de onda: é um parâmetro importante. Geralmente deve ser posicionado na região de máxima absorção e o mais longe possível do máximo de absorção de outras espécies (ex. o agente complexante), já que as absorvâncias são aditivas. Cada procedimento deve ser estudado separadamente.

Interferentes: qualquer espécie, além daquela de interesse, que provoque um aumento ou diminuição de absorção de luz, é um interferente. Nestes casos, devem ser usados procedimentos de separação para diminuir ou eliminar os seus efeitos, tais como a cromatografia, a extração com solventes, etc.

Outros fatores químicos devem também ser observados, principalmente se reações químicas estiverem envolvidas no processo:

pH: tem um papel importante na formação de complexos. Caso exista um ponto isoabsortivo do sistema, independente do pH, este ponto deve ser preferencialmente usado na medida da absorvância.

Concentração dos reagentes: é ditada pela composição da(s) espécie(s) absorvente(s). Excesso ou falta de reagente pode influenciar na sensibilidade do método ou causar desvios na Lei de Beer.

Tempo: depende basicamente da cinética do sistema químico (s, min, h, etc.).

Temperatura: deve ser constante e também depende do sistema químico. Temperaturas mais altas podem resultar em decomposição ou em uma cinética mais rápida.

Ordem de mistura: a ordem de adição dos reagentes deve sempre ser obedecida, porque pode alterar o resultado da medida (ex. a cor não se desenvolve totalmente).

Estabilidade química: se a espécie absorvente não for estável, deve-se montar um esquema que permita medidas rápidas. Se a espécie for fotossensível, a medida deve também ser rápida ou deve-se adicionar um estabilizante para evitar a sua decomposição.

Mascaramento: as reações para fins espectrofotométricos, em geral, não são específicas e apenas algumas poucas são seletivas, de modo que o mascaramento de interferentes é quase sempre inevitável, quando não são totalmente eliminados por processos de separação.

Solvente: a escolha do solvente pode ser decisiva em medidas espectrofotométricas, pois muitos compostos apresentam valores da Absortividade Molar (ϵ) maiores em solventes orgânicos, quase sempre com um deslocamento do máximo de absorção. Por outro lado, quando solventes voláteis são usados como meio, deve-se tomar cuidados adicionais para evitar flutuações das medidas, por evaporação. Celas espectrofotométricas com tampas e o controle da temperatura são os cuidados mais imediatos a serem tomados.

Concentrações de sais: a força iônica do meio pode alterar o espectro de absorção de um composto, através da formação de complexos ou por associação iônica.

Referências

1. Afonso, J.C.; da Silva, R.M., A evolução da balança analítica, *Quim. Nova*, 2004, 27: 1021-1027.
2. Baccan, N.; Andrade, J. C. de; Godinho, O. E. S; Barone, J. S., *Química Analítica Quantitativa Elementar*. 3a. ed. revisada, 5ª reimpressão, São Paulo; Editora Edgard Blucher, Cap. 7, 2008.
3. Andrade, J. C. de; Custodio, R., O Uso da Balança Analítica, <http://chemkeys.com/br/>; ver também <http://chemkeys.com/br/2009/07/23/o->

- uso-da-balanca-analitica-app/ (animação 3D), (acessado em outubro de 2011).
4. **Jonhson, B.B.; Wells, J.D.**, Cautions concerning electronic analytical balances, *J. Chem. Educ.*, 1986, 86: 86-87.
 5. **Schoonover, R.M.**, A look at the electronic analytical balance, *Anal. Chem.*, 1982, 54: 974A-980A.
 6. **Seely, O.**, Helpful Hints on Chemical Procedure and Chemical Demonstrations, <http://www.csudh.edu/oliver/demos/index.htm>
 7. **van Raij, B.; Andrade, J.C. de; Cantarella, H; Quaggio J.A.**, Análise Química para Avaliação da Fertilidade de Solos Tropicais, Cap. 5, Instituto Agrônomo, Campinas, 2001.
 8. **Andrade, J.C. de**, Química Analítica Básica: Os conceitos ácido-base e a escala de pH, <http://chemkeys.com/br/> (acessado em outubro de 2011).
 9. **Kristensen, H. B.; Salomon, A.; Kokholm, G.**, International pH scales and certification of pH, *Anal. Chem.*, 1991, 63: 885A-891A).
 10. **Buck, R. P. (Chairman); Rondinini, S. (Secretary); Covington, A. K. (Editor); Baucke, F. G. K.; Brett, C. M. A.; Camões, M. F.; Milton, M. J. T.; Mussini, T.; Naumann, R.; Pratt, K. W.; Spitzer, P.; Wilson, G. S.**, Measurement of pH: definition, standards, and procedures, *Pure Appl. Chem.*, 2002, 74: 2169-2200, 2002 (IUPAC Recommendations 2002).
 11. **ASTM**, American Society for Testing and Materials, Standard test methods for pH of water, D 1293-99 (Reapproved 2005).
 12. **Perkampus, H-H.**, UV-Vis Spectroscopy and Its Applications, Springer-Verlag, Berlin, 1992.
 13. **Martelli C.; Atvars, T. D. Z.**, Espectroscopia Eletrônica de Emissão, <http://chemkeys.com/br/> (acessado em outubro de 2011).
 14. **Atvars, T. D. Z.; Martelli C.**, Espectroscopia Eletrônica de Absorção, <http://chemkeys.com/br/> (acessado em outubro de 2011).
 15. **Bassi, A.B.M.S.**, Conceitos Fundamentais em Espectroscopia, <http://chemkeys.com/br/> (acessado em outubro de 2011).
 16. **Custodio, R.; Kubota, L.T.; de Andrade, J. C.**, Lei dos Processos de Absorção da Radiação, <http://chemkeys.com/br/> (acessado em outubro de 2011).
 17. **A Lei de Beer**, em http://pt.wikipedia.org/wiki/Lei_de_Beer-Lambert (acessado em outubro de 2011).