Laboratório de Análise Instrumental 2020/1

Prof. Renato Camargo Matos

http://www.ufjf.br/nupis

DIA/MÊS	ASSUNTO
03/mar	Apresentação do curso
10/mar	PRÁTICA 1: Determinação de cobre (II) por colorimetria visual e espectrofotometria
17/mar	PRÁTICA 2: Propriedades colorimétricas desejáveis e indesejáveis – Sistema Fe-Tiocianato
24/mar	PRÁTICA 3: Propriedades colorimétricas desejáveis e indesejáveis – Sistema Fe-o-Fenantrolina
31/mar	PRÁTICA 4: Determinação espectrofotométrica de ferro
07/abr	PRÁTICA 5: Determinação espectrofotométrica do pKa de um indicador
14/abr	PRÁTICA 6: Análise espectrofotométrica de mistura
21/abr	Feriado
28/abr	PRÁTICA 7: Titulação espectrofotométrica de ferro com EDTA
05/mai	**1ª Prova de Laboratório (valor = 30 pontos)**
12/mai	PRÁTICA 8: Determinação de sódio e potássio em bebidas isotônicas
19/mai	PRÁTICA 9: Tratamento de amostra de leite em pó
26/mai	PRÁTICA 10: Determinação de ferro em leite em pó por AAS
02/jun	PRÁTICA 11: Verificação da influência do pH na extração de Fe(III) com éter etílico
09/jun	PRÁTICA 12: Estudo da eficiência de uma resina de troca iônica
16/jun	PRÁTICA 13: Determinação de paracetamol e cafeína em medicamentos por HPLC
23/jun	**2ª Prova de Laboratório (valor = 30 pontos)**
30/jun	**Seminário**

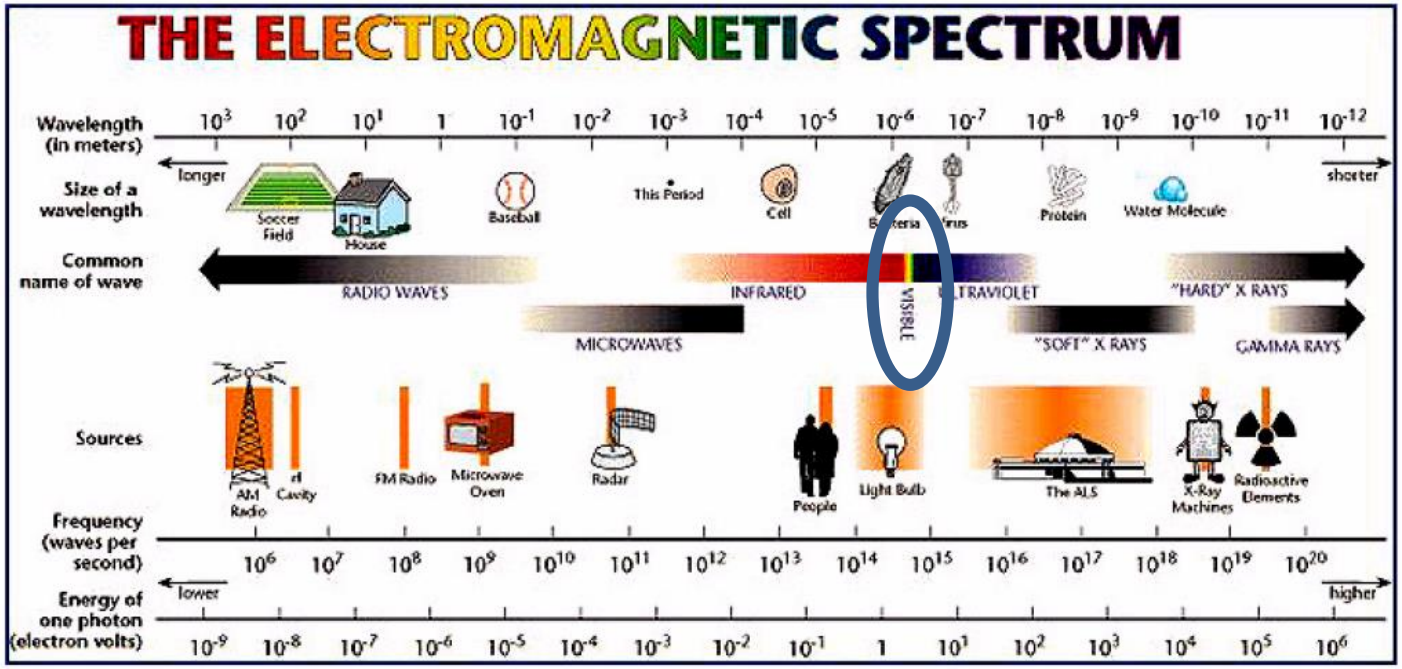
Nota Final = 1ª Prova de laboratório (30 pontos) + 2ª Prova de laboratório (30 pontos) + Caderno de Laboratório (10 pontos) + Atividades (10 pontos) + Seminário (20 pontos)

Caderno de Laboratório

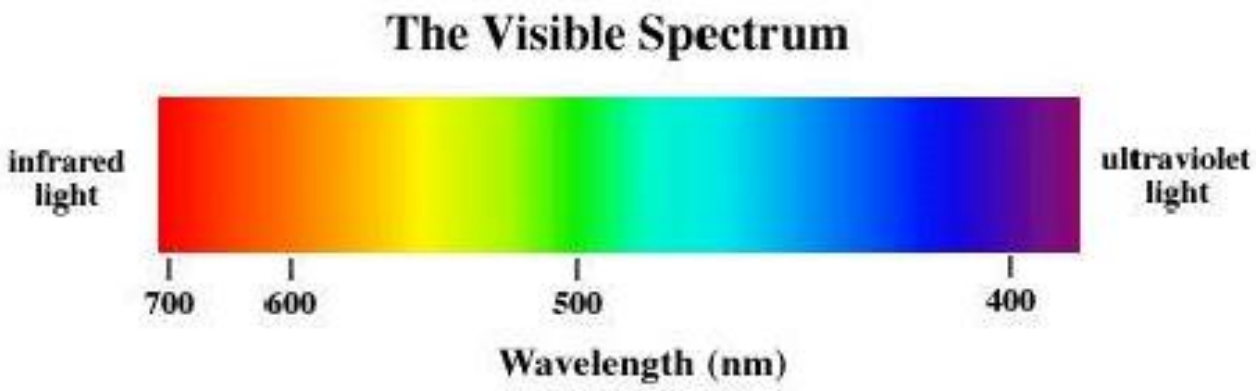
1. Título
2. Introdução
3. Objetivo
4. Parte Experimental
    4.1. Reagentes e Soluções (descrever as concentrações)
    4.2. Vidrarias (descrever quantidade e a capacidade)
    4.3. Equipamentos
    4.4. Reações
5. Resultados e Discussões
    (Nesta etapa devem ser colocadas as tabelas e os gráficos)
    Colocar as legendas das tabelas e das figuras.
6. Conclusão
7. Referências Bibliográficas

Introdução à espectrometria

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



Espectro da luz visível



Relação comprimento de onda com cores transmitidas e absorvidas

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

Espectrofotometria na Região do UV-VIS

Métodos de absorção molecular são uns dos mais utilizados na análise quantitativa em laboratórios químicos e clínicos de todo o mundo.

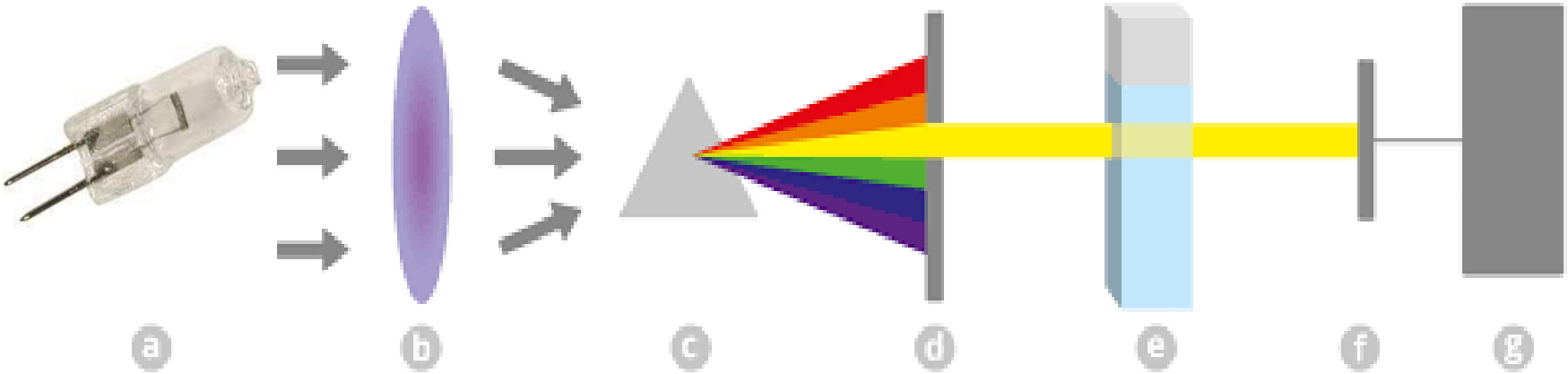
- ✓Boa Sensibilidade
- ✓Baixo Custo de Análise
- ✓Fácil Operação
- ✓Equipamentos Robustos

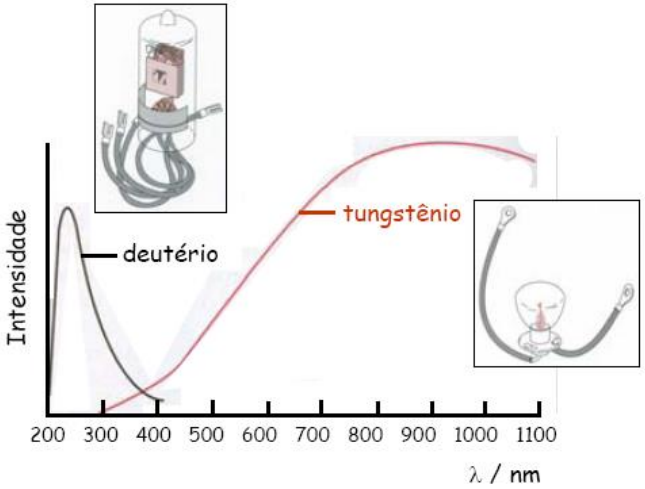
Aplicações

-Espécies que absorvem no ultravioleta ou no visível (espécies coloridas).

-Espécies que não absorvem: reação com cromóforo

Espectrofotômetro





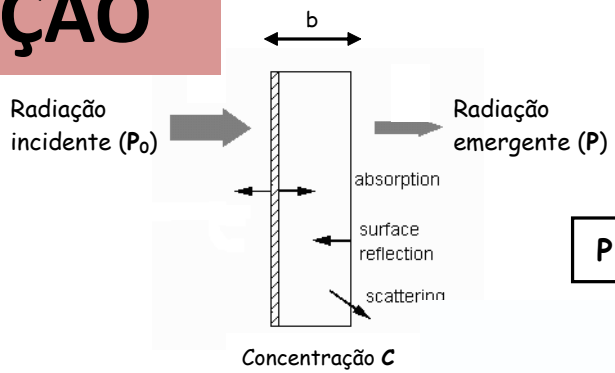
material	transparência	aplicabilidade
quartzo	150-3000 nm	UV, visível
vidro	375-2000 nm	visível
plástico	380-800 nm	visível

0,1 cm < b < 10 cm

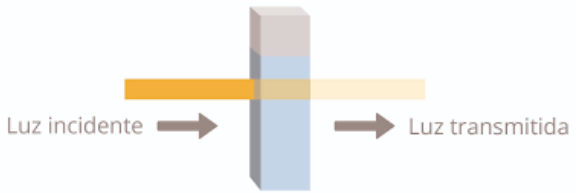
0,1 cm < b < 5 cm

10 μL < V < 200 μL

ABSORÇÃO



$P < P_0$



Quando um feixe de radiação monocromática (P_0) incide sobre uma amostra absorvente (concentração **C** e caminho **b**), uma certa quantidade de luz é absorvida e a potência do feixe emergente diminui (**P**).

Transmitância (T) é a fração de luz original que passa pela amostra. Pode ser expressa em percentagem de T.

Deutério: UV
Tungstênio: Visível

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

(0 a 1)

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

(0 a 100%)

$$A = \text{Log}\,\frac{P_0}{P} = -\,\text{Log}\,T = 2 - \text{Log}\,\%T$$

Absorvância (A) é diretamente proporcional a concentração (C) da espécie que absorve a luz na amostra.

Para uma radiação monocromática, a absorvância é diretamente proporcional ao caminho ótico e a concentração das espécies absorventes.

$$\boxed{A = a \cdot b \cdot c}$$

Onde

a = absortividade ($L \cdot g^{-1} \cdot cm^{-1}$)
b = Caminho ótico (cm)
C = concentração ($g \cdot L^{-1}$)

Quando **C** é expresso em ***mol·L^{-1}*** e **b** em **cm**, a constante de proporcionalidade é chamada de **absortividade molar** e representada por ε ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$)

$$\boxed{A = \varepsilon \cdot b \cdot c}$$

A **absortividade molar** ou **coeficiente de extinção** é característica de uma substância em um dado meio para um dado λ.
Indica a quantidade de luz absorvida em um dado λ.

Os critérios para uma análise espectrofotométrica satisfatória são:

- Especificidade da reação colorimétrica
- Proporcionalidade entre a cor e a concentração
- Estabilidade da cor
- Reprodutibilidade
- Limpidez da solução
- Alta sensibilidade

PRÁTICA 1: Determinação de cobre (II) por colorimetria visual e espectrofotometria

Objetivo: Determinação de uma amostra contendo Cu(II) por colorimetria visual e por espectrofotometria. Apresentação de uma sistemática geral simples de uma análise espectrofotométrica.

$$Cu^{2+} + 4\ NH_4OH \rightleftharpoons \mathbf{[Cu(NH_3)_4]^{2+}} + 2\ H_2O$$

Interferentes: Níquel, cobalto, Fe^{3+} , Al^{3+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} , Bi^{3+} e Ag^{+} .

Colorimetria visual

a) Preparar 6 balões volumétricos de 10,00 mL usando diferentes volumes da solução estoque de cobre (II) 2000 mg L^{-1} com concentração variando de 100 a 600 mg L^{-1};

b) Acrescentar solução de amônia em cada balão volumétrico no mesmo volume de padrão de cobre (II) adicionado. Diluir com água destilada até completar 10,00 mL;

c) Marcar os tubos de ensaio igualmente aos balões e transferir a solução do complexo preparada para cada um dos respectivos tubos;

d) Preparar a amostra desconhecida transferindo 1 mL para um balão volumétrico de 10,00 mL e adicionando 2 mL da solução de amônia. Diluir com água destilada até 10,00 mL (em triplicata);

e) Comparar a coloração apresentada pela solução da amostra com as dos padrões preparados e estimar a concentração do cobre (II) na amostra analisada.

Espectrofotometria

a) Utilizar o padrão 4 para traçar o espectro de absorção do complexo de cobre (II) com amônia. Ler os valores de absorvância do complexo variando o comprimento de onda de de 400 a 700 nm;

Comprimento de onda / nm	Absorvância
400	
420	
440	
460	
480	
500	
520	
540	
560	
580	
600	
620	
630	
640	
660	
680	
700	

c) Medir os valores de absorvância dos 6 padrões preparados anteriormente usando o comprimento de onda de máxima absorção;

Padrão	Volume da solução estoque de Cu(II) / mL	[Fe(II)] / µmol L^{-1}	Absorvância
1	0,50		
2	1,00		
3	1,50		
4	2,00		
5	2,50		
6	3,00		
Amostra 1	1,00	---	
Amostra 2	1,00	---	
Amostra 3	1,00	---	

Questões:

1) Determine visualmente a concentração de cobre na amostra analisada.

2) Construa o espectro de absorção do complexo cobre-amônia e determine o comprimento de onda de máxima absorção.

3) Construa a curva analítica e determine a absortividade molar do complexo estudado.

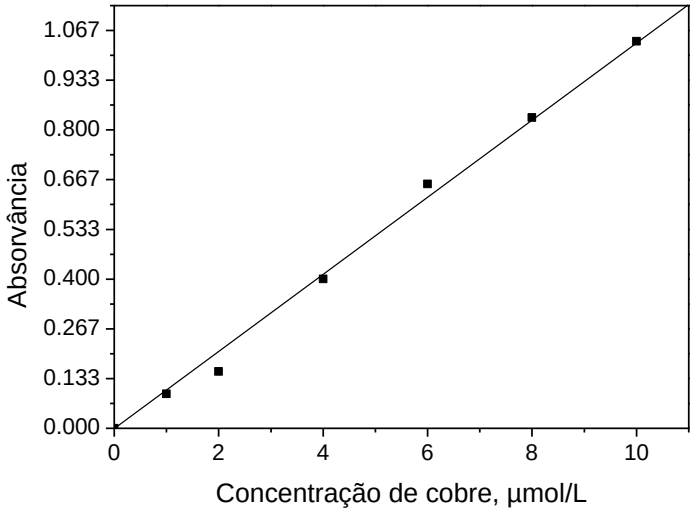
4) Determine a concentração de cobre usando a curva analítica e compare com o resultado obtido visualmente.

CURVA ANALÍTICA

1ª Etapa: Soluções padrão: Prepara-se soluções de concentrações conhecidas e diferentes do constituinte em análise. Geralmente estas soluções são obtidas por conveniente diluição de uma solução padrão estoque.

2ª Etapa: Medidas de sinal analítico: Medidas do sinal instrumental para as soluções padrão e branco (5 níveis de concentração no mínimo).

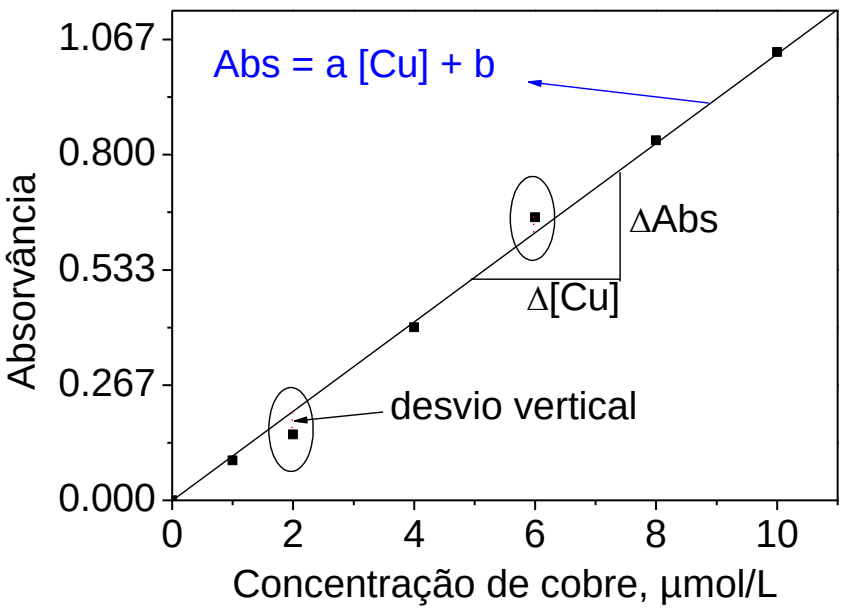
3ª Etapa: Construção do gráfico do sinal obtido x concentração do analito.



- Ajuste da curva analítica:

  Consiste em traçar a melhor reta que se ajuste aos pontos experimentais que possuem algum erro e não descrevem exatamente uma reta.

MÉTODO DOS MÍNIMOS QUADRADOS



$$a = \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n\sum x_i^2 - \left(\sum x_i\right)^2}$$

$$b = \bar{y} - a\bar{x}$$

$$r = \frac{n\sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{\left[n\sum x_i^2 - \left(\sum x_i\right)^2\right]\left[n\sum y_i^2 - \left(\sum y_i\right)^2\right]}}$$

Y = A + B * X

Parâmetro	Valor	Desvio
A	-0.28669	0.24177
B	1.5999	0.04303

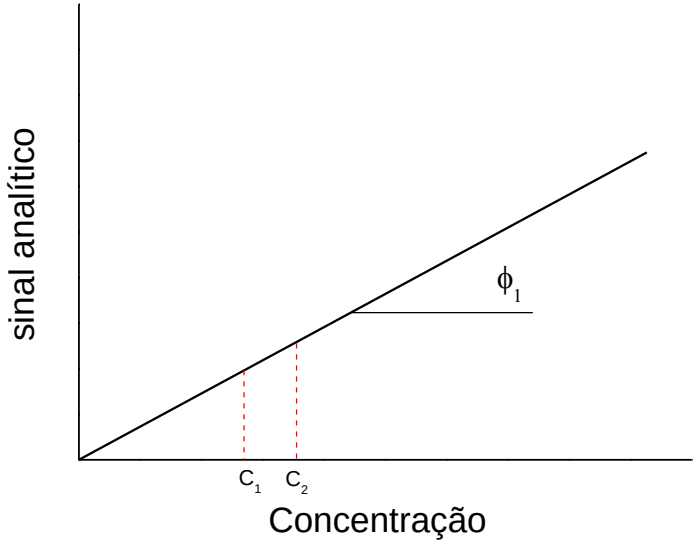
R	SD	N	P
0.9982	0.39369	7	<0.0001

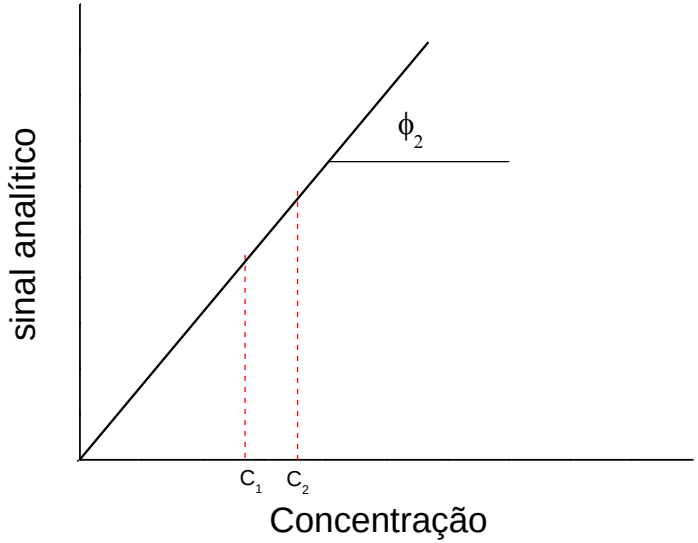
- SENSIBILIDADE ANALÍTICA:

É a capacidade de responder de forma confiável e mensurável às variações de concentração do analito.

Também expressa a capacidade técnica em diferenciar dois valores de concentração próximos, assim a sensibilidade do método depende da inclinação da curva.

Exemplo: 10,1 g/L e 10,2 g/L





$$sensibilidade_analítica = \frac{a}{s_a}$$

$$sensibilidade_da_calibração = a$$

- LIMITE DE DETECÇÃO (do método e do instrumento):

O limite de detecção (LD) é a menor concentração que pode ser distinguida com um certo nível de confiança. Toda técnica analítica tem um limite de detecção. Para os métodos que empregam uma curva analítica, o limite de detecção é definido como a concentração analítica que gera uma resposta com um fator de confiança k superior ao desvio padrão do branco (amostra com concentração de 1 a 5 vezes maior que o limite de detecção estimado), s.

$$LD = \frac{3s}{a}$$

Sinal < LD ⇒ Espécie não detectada ao limite de detecção da concentração x, porém há presença de sinal analítico não presente no branco.

- LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO OU DETERMINAÇÃO (do método e do instrumento):

O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração que pode ser determinada em confiabilidade de precisão e exatidão aceitáveis, para aquela condição analítica. Para o limite de quantificação considera-se que não se atingiu o limite da técnica/método ou equipamento. Para os métodos que empregam uma curva analítica, o limite de quantificação é definido como a concentração analítica que gera uma resposta com um fator de confiança igual a 10.

$$LQ = \frac{10s}{a}$$

Sinal < LQ ⇒ Espécie não quantificada ao limite de determinação ou quantificação da concentração x, porém há presença de sinal analítico não presente no branco.

O cálculo do desvio padrão do branco pode ser feito com base na variação das medidas do branco analítico, da linha de base ou de um padrão de concentração muito baixa da(s) espécie(s) analisada(s). A escolha depende da técnica e/ou instrumentação analítica, sendo função do parâmetro que está sendo medido.