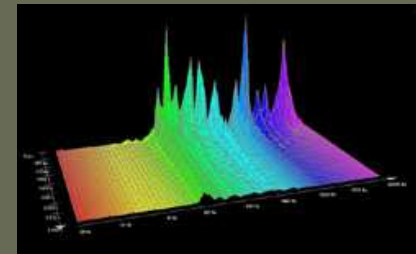


ESPECTROFOTOMETRIA

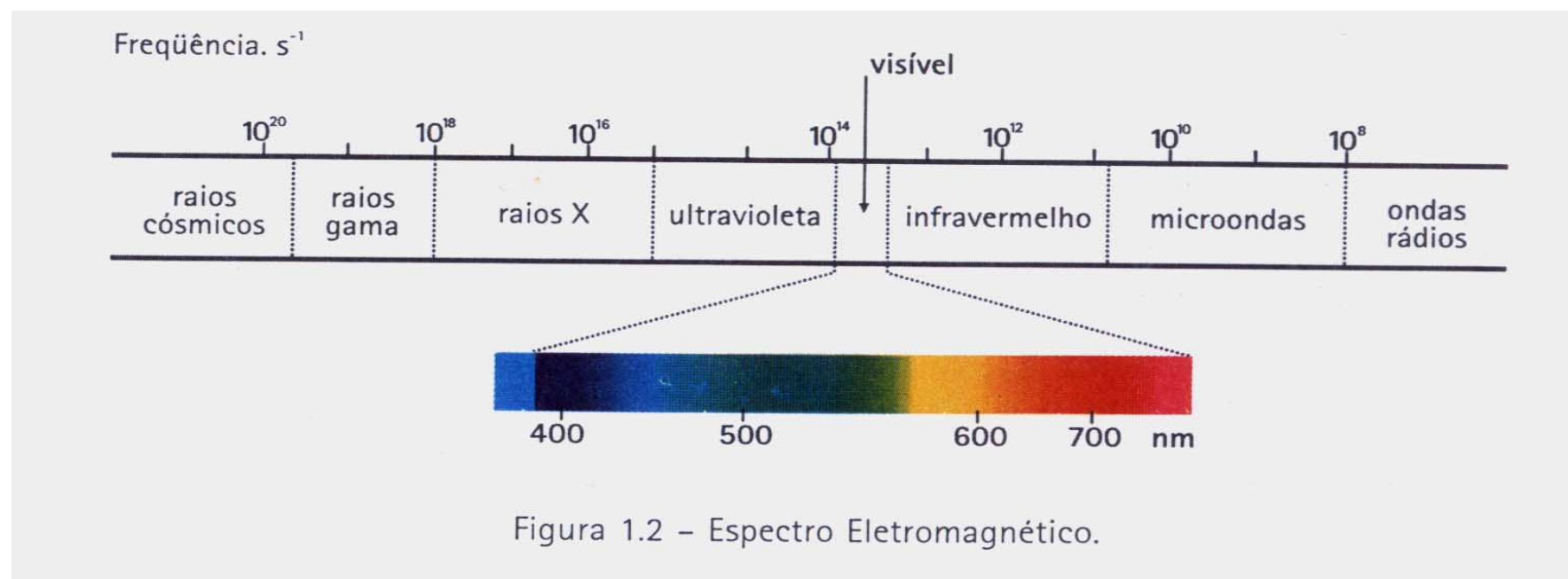


Espectrofotometria

- Método de análise baseado em medidas de absorção de radiação eletromagnética.
- Espectrofotometria Óptica
 - Comprimento de onda corresponde a luz visível ou ultra-violeta:
 - faixa entre aproximadamente 180 a 800 nm

Espectrofotometria

- A região do espectro do ultravioleta é na faixa de 200 a 400 nm e a da luz visível é entre 400 e 800 nm.



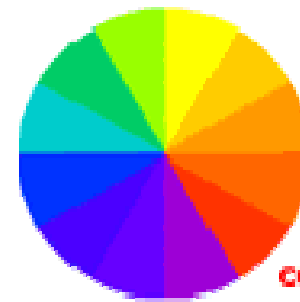
Espectrofotometria

Radiação absorvida

violeta
azul
azul-esverdeado
verde-azulado
verde
verde-amarelado
amarelo
laranja
vermelho

Cor complementar (transmitida)

verde-amarelado
amarelo
laranja
vermelho
púrpura
violeta
azul
azul-esverdeado
verde-azulado

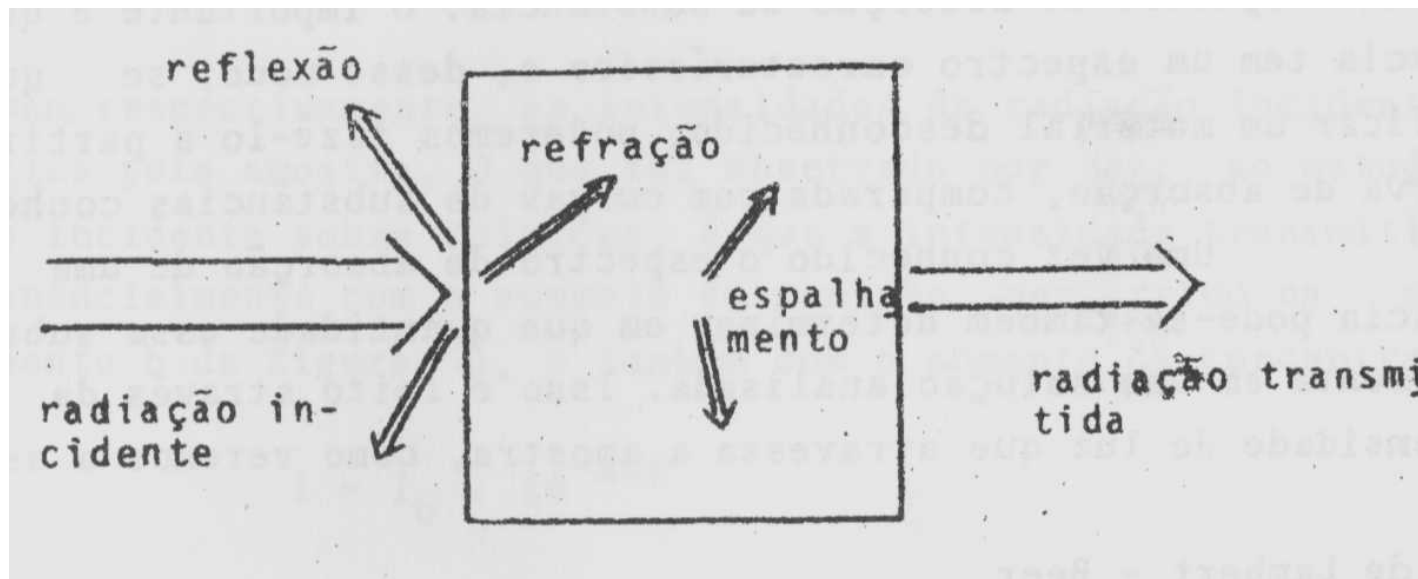


**Cores
complementares:**

Comprimento de onda	Cor absorvida	Cor observada
Abaixo de 380	Ultravioleta	
380 a 435	Violeta	Verde-amarelado
435 a 480	Azul	Amarelo
480 a 490	Azul-esverdeado	Alaranjado
490 a 500	Verde-azulado	Vermelho
500 a 560	Verde	Púrpura
560 a 580	Verde-amarelado	Violeta
580 a 595	Amarelo	Azul
595 a 650	Alaranjado	Azul-esverdeado
650 a 780	Vermelho	Verde-azulado
Acima de 780	Infravermelho	

Absorção de Radiação

- Vários fenômenos podem ocorrer com a radiação luminosa, como: reflexão, refração, espalhamento ou ser absorvida pelo material.



Transmitância

- Transmitância é a fração da luz incidente em um comprimento de onda específico, que passa por uma amostra de matéria.

$$T = I / I_0$$

Absorbância

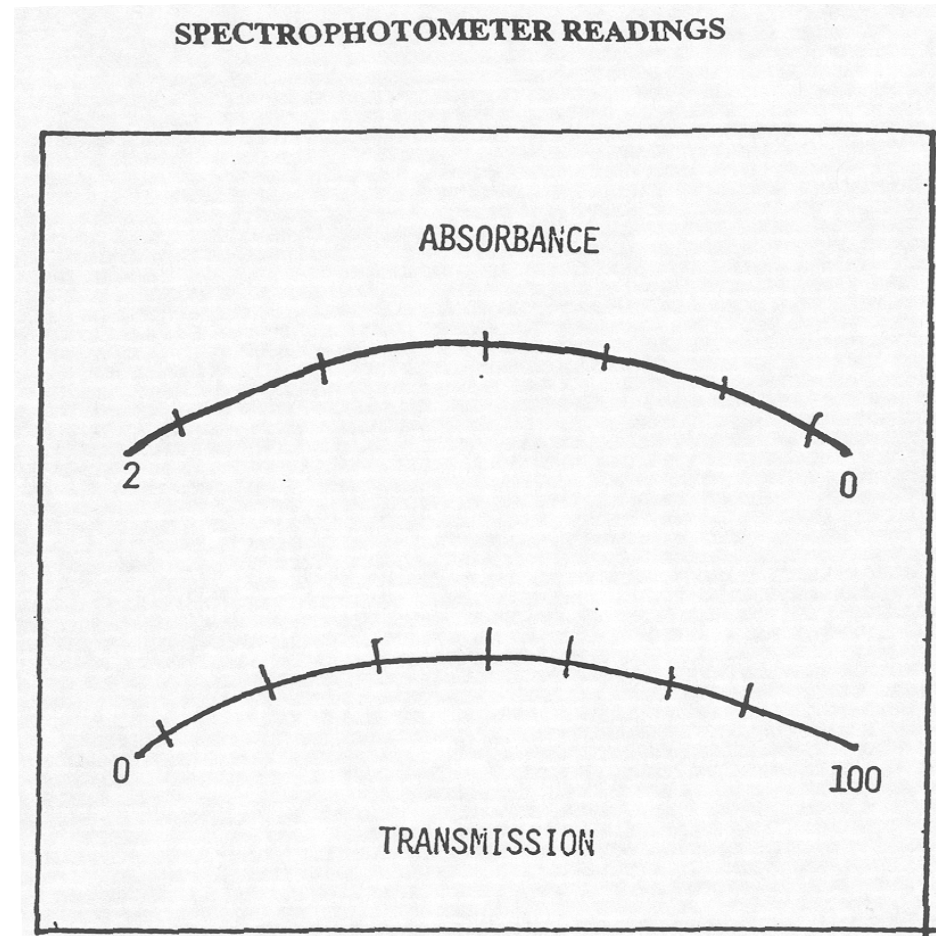
- É a capacidade do material em absorver radiações em frequência específica.

$$A = - \log_{10} T$$

Absorção de Radiação

- Os comprimentos de onda que uma certa substância absorverão são característicos da sua estrutura, diferindo de substância para substância.
 - DNA e RNA = 260nm
 - Proteínas = 280nm
 - Células bacterianas = 600nm

Absorbância X Transmitância



Lei de Lambert-Beer

- Através dessa lei, intensidades da radiação incidente e emergente podem ser relacionadas com as concentrações do material presente na solução.
- Efeitos de reflexão, refração e espalhamento não são considerados nessa lei.
- A radiação incidente deve ser monocromática

Lei de Lambert-Beer

- A *Lei de Beer-Lambert* que é a relação entre a intensidade da luz incidida na solução (I_0) e a intensidade da luz saindo da solução (I).

$$-\log (I/I_0) = A = \varepsilon c l$$

A = absorvância

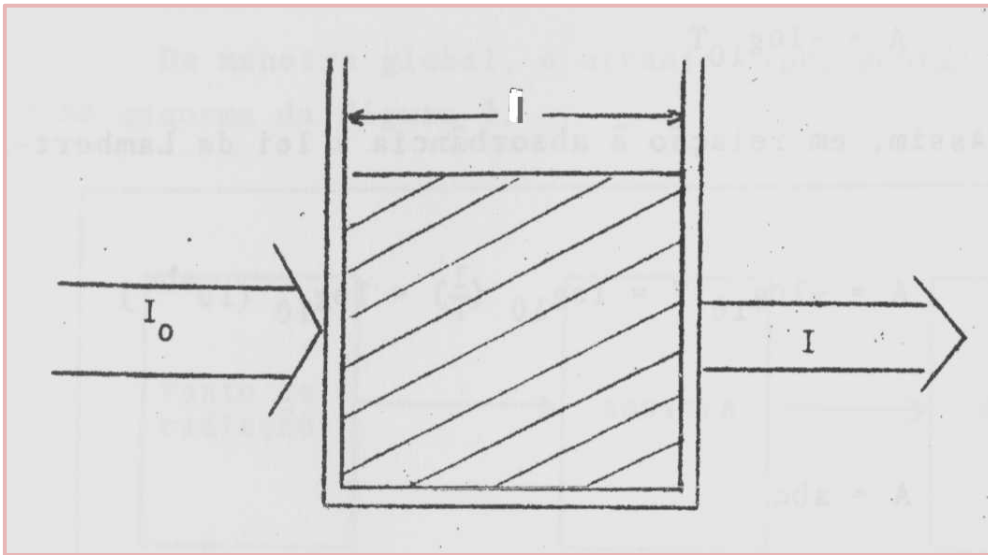
ε = absorvidade molecular ou coeficiente de extinção

c = concentração do material absorvedor

l = espessura da amostra através da qual a luz passa

Lei de Lambert-Beer

- I_0 = intensidade da radiação incidente
- I = intensidade transmitida pela amostra
- l = comprimento



$$I = I_0 10^{-\epsilon l c}$$

Lei de Lambert-Beer

- Transmitância:

$$T = I / I_0$$

- Na lei de Lambert-Beer

$$T = 10^{-\epsilon l c}$$

Lei de Lambert-Beer

- Absorbância

$$A = - \log_{10} T$$

- Na lei de Lambert-Beer

$$A = - \log_{10} T = \log_{10}(1/T) = \log_{10}(10^{-\epsilon lc})$$

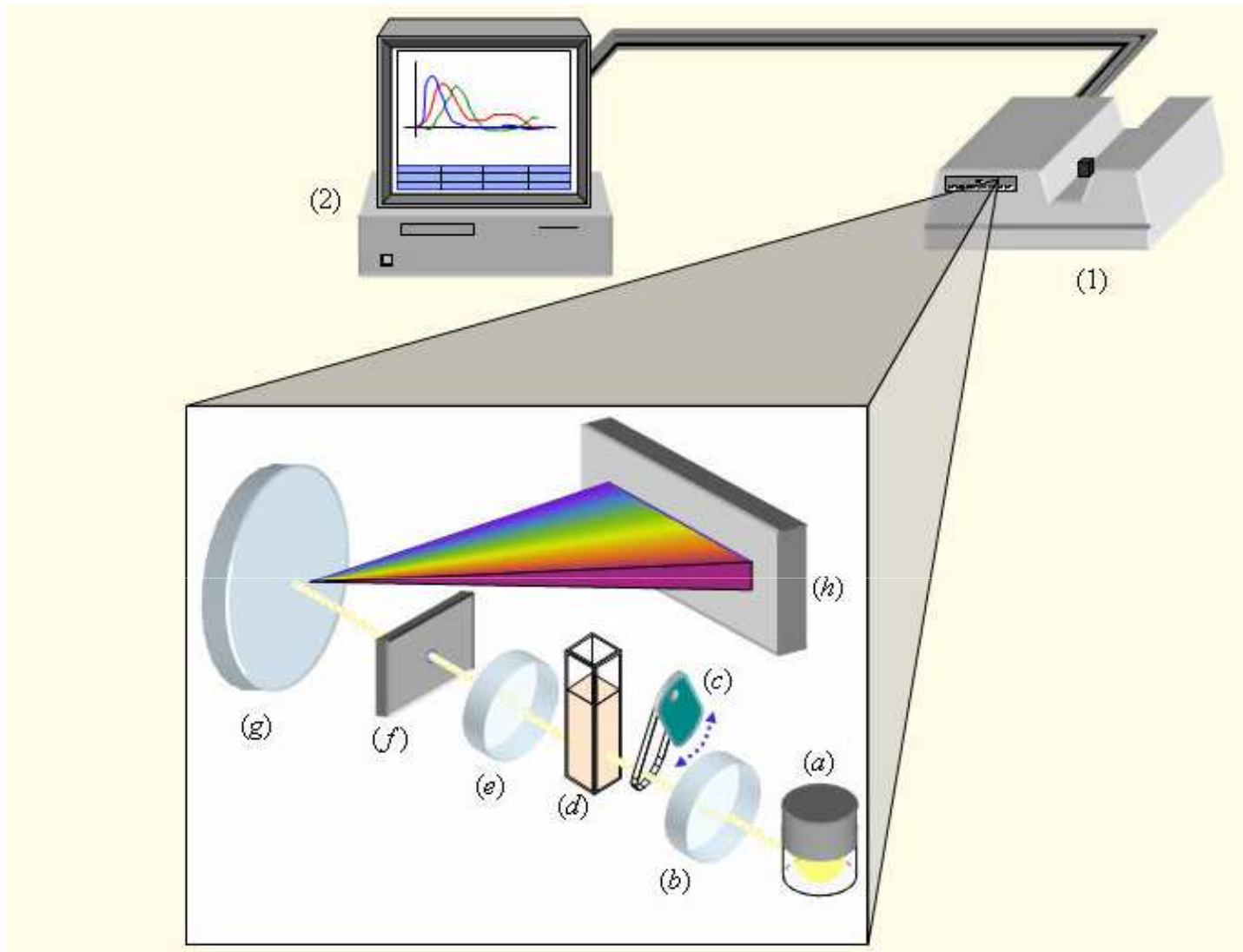
Espectrofotômetro

- É um instrumento que serve para medir a intensidade da luz em função de um comprimento de onda específico.





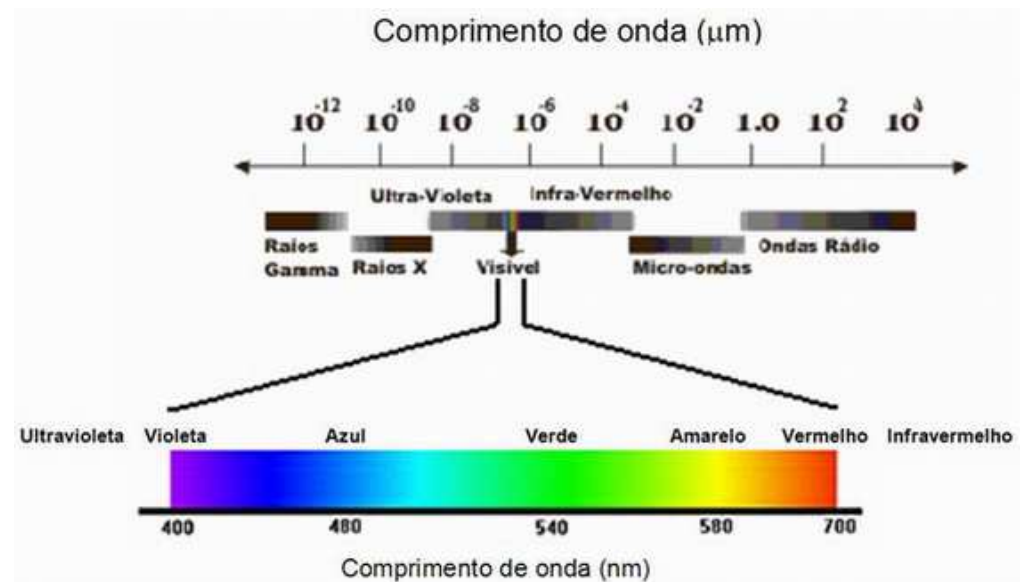
Diagrama de um espectrofotômetro



(a) lâmpada de deutério/tungstênio; (b) lente da fonte; (c) obturador; (d) amostra; (e) lente espectrográfica; (f) fenda; (g) rede de difração; (h) arranjo de detectores

Fontes Luminosas

- Luz UV
 - ▣ Lâmpada de gás hidrogênio
 - ▣ Mercúrio
- Luz Visível
 - ▣ Tungstênio



Cubetas

- Espectrofotometria de Luz Visível
 - Cubeta de Vidro ou Plástico
- Espectrofotometria de Luz Ultra- Violeta
 - Cubeta de Quartzo

