

Um espectrofotômetro de baixo custo para laboratórios de ensino: aplicações no ensino da absorção eletrônica e emissão de fluorescência

(A low-cost spectrophotometer for teaching labs: applications in teaching of electronic absorption and fluorescence emission)

Everton Lüdke¹

Departamento de Física, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil

Recebido em 26/4/2009; Revisado em 11/11/2009; Aceito em 23/11/2009; Publicado em 14/5/2010

Neste artigo, apresento detalhes da construção de um ensaio espectrofotométrico em comprimentos de onda no visual e ultravioleta, a um custo muito baixo. O equipamento se destina ao uso de alunos de cursos da ciências da saúde em nível universitário durante atividades práticas de métodos de análise química analítica, físico-química ou biofísica. O aprendizado experimental de técnicas fundamentais espectrométricas e a comprovação quantitativa da lei de Lambert-Beer, que não pode ser feita integralmente com espectrofotômetros ultravioleta comerciais, é obtida facilmente com o aparato desenvolvido. Exemplos de experimentos em laboratório didático de biofísica são brevemente discutidos.

Palavras-chave: recurso experimental, ensino, lei de Lambert-Beer, biofísica, ciências da saúde.

In this paper, I present construction details of a spectrophotometric assay operating in visual and ultraviolet wavelengths at a very low cost. The equipment is intended to be used by first or second-year undergraduate students in health sciences during practical activities of methods in analytical chemistry, physical chemistry or biophysics. The experimental learning of fundamental spectrophotometric techniques and the quantitative determination of the Lambert-Beer law, which cannot be done with commercial UV spectrophotometers, is easily attained with the apparatus. Experimental examples in biophysics teaching labs are briefly discussed.

Keywords: experimental resources, teaching, Lambert-Beer law, biophysics, health sciences.

1. Introdução

Métodos experimentais de espectroscopia tal como apresentados por livros-texto padrão em físico-química [1] e química analítica [2,3] carecem de experimentos laboratoriais devido ao custo elevado tanto dos equipamentos, quanto das amostras-padrão que normalmente são usadas para demonstrações aos alunos. Esse fato implica em que tais assuntos são restritos a aulas teóricas onde o aluno deve imaginar a aplicação de tais técnicas sem adquirir experiência no manuseio dos equipamentos e nos métodos de análise de dados.

O objetivo desse artigo é propor um experimento simples para a determinação dos princípios fundamentais de espectroscopia por absorção de radiação em fase líquida, tal como empregados em cromatografia líquida (HPLC) ou espectrofotometria por absorção no ultravioleta, que são fundamentais em pesquisa em bioquímica e biofísica.

2. O aparato experimental

A Fig. 1 mostra o aparato experimental onde foram empregados um tubo de vidro de 10 mm de diâmetro e

20 cm de altura onde foi afixado o LED transmissor na parte inferior e um tubo móvel com 5mm de diâmetro onde foi afixado o fototransistor que é introduzido dentro do primeiro. O LED emissor de luz foi conectado à mesma fonte de +12 V que alimenta o circuito através de um resistor de 820Ω para evitar curto-circuito. Uma câmara escura de papelão foi construída para minimizar a luz ambiente sobre o aparato, o que poderia gerar medidas incorretas da intensidade da luz.

A fixação dos dispositivos optoeletrônicos aos tubos de vidro foi feita com cola de silicone para evitar vazamentos e infiltrações. colocada a solução. Suportes de tubos de ensaio foram usados para fixar os tubos após variar a distância x entre os sensores, usando intervalos de 5 mm. A distância da lente do fototransistor ao LED pode ser medida com uma régua de 15 cm de escala e os sensores foram afastados entre si. Para a troca de amostras, ambos os tubos são lavados com álcool comum e as lentes do fototransistor são cuidadosamente limpas a cada medida.

Os fios que conectam o fototransistor ao circuito surgem por dentro do tubo móvel que submerge o fototransistor na solução contida pelo tubo de 10 mm,

¹E-mail: eludke@smail.ufsm.br.

sendo posteriormente conectados aos pontos A e B do circuito da Fig. 1 para as medições. A leitura em volts

é feita por um multímetro analógico portátil SUNWA YX-360TR ou equivalente.

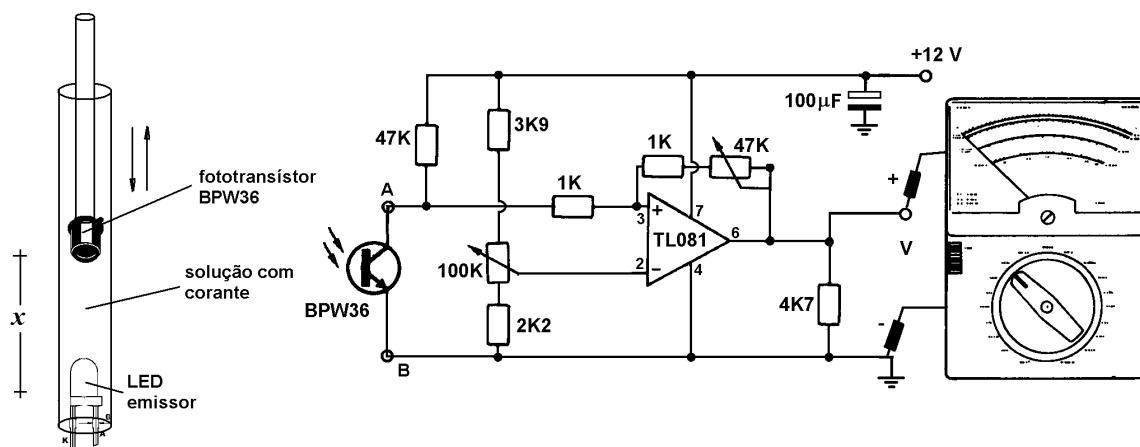


Figura 1 - À esquerda, a geometria dos tubos para medidas fotométricas em função da distância x , onde ambos os LEDs estão imersos na solução a ser medida. À direita, o circuito eletrônico do medidor de intensidade da luz para o espectrofotômetro de absorção.

Como fonte de fótons de alta energia, pode ser empregado um LED comercial UV (luz negra) de 10 mm de diâmetro que opera com uma tensão entre 3.0 e 3.8 V, consumindo uma corrente de 100 mA e produz um feixe de radiação ultravioleta UVA em um ângulo de abertura de 40 graus e com uma banda espectral e emissão relativamente estreita (10 nm) centrada em 400 nm e com uma potência luminosa de 2 Cd. Outros autores [4,5] empregaram com sucesso esse componente eletrônico comercial para ensaios em ensino de química em cursos de química em nível médio.

Como sensor de luz, foi empregado o fototransistor BPW36 ou equivalentes L14G1 ou TIL81 que podem ser empregados como sensores de luz para diversas aplicações em análise química [6]. A partir das especificações do fabricante para o BPW36, temos o fator de conversão para fotometria onde a tensão nos terminais do diodo (V_0) é diretamente proporcional à intensidade da luz que incide sobre a janela transparente. Como o fototransistor de silício é hermeticamente fechado, pode ser mergulhado na amostra sem danificá-lo.

Para medidas de absorção em comprimentos de onda no visual, para fins de determinação da lei de Lambert-Beer em outros comprimentos de onda, pode-se substituir o LED UV por LEDs de 5 mm de alto brilho entre 2 e 15 Cd disponíveis no mercado para efeitos automotivos nas cores azul (465 nm), amarelo (595 nm), verde-esmeralda (520 nm) ou vermelho (648 nm), bastando substituí-lo no circuito da Fig. 1.

Com o fototransistor em polarização reversa e com um resistor de 10 k Ω entre o anodo e o terra, temos a relação $I(lux) = 1330 V_0$. Para aumentar a precisão

de leitura na tensão, coloca-se um amplificador de variável entre 1 e 10 vezes para expandir a escala das medidas, usando um amplificador operacional TL081 em modo de amplificador D.C. A medida da sua tensão de saída em volts com um multímetro digital é diretamente proporcional à intensidade da luz captada pelo fototransistor e pode ser expressa em $mW\ cm^{-2}$ se necessário. Assim, a medida do multímetro indicará a intensidade do sinal de uma forma linear.

3. Descrição de atividade em sala de aula

Em salas de aula prática de biofísica, os alunos realizam a determinação do coeficiente de extinção molar para a absorção eletrônica de diversos corantes orgânicos industriais, com o objetivo de entender os princípios físicos envolvidos em técnicas de análise bioquímica por absorção eletrônica se LEDs de comprimento de onda no visual forem empregados.

A calibração da intensidade da radiação $I(x)$ captada por transmissão ou espalhamento Rayleigh ao longo da linha de visada em unidades de $\mu W\ cm^{-2}$ necessita de fotômetros precisos mas sem um ganho didático-pedagógico significativo. Assim, as medidas de valores relativos de atenuação da luz captada pelo detector expressa em dB é em função da concentração molar do corante ou da distância ao longo do eixo de profundidade óptica é um indicador mais apropriado dos efeitos sob estudo. Assim, se I_0 for a intensidade máxima da luz em $x = 0$, define-se a intensidade relativa em dB em função de x pela fórmula

$I_{dB} = 10 \log(I(x)/I_0)$. Quando medidas de absorção de um feixe luminoso monocromático de comprimento de onda λ ao longo da linha de visada são feitas, a quantidade I_{dB} é denominada atenuação intrínseca da amostra.

Os alunos anotam a voltagem medida pelo multímetro em função da posição e tomam I_0 quando $x = 1$ cm como referência inicial das distâncias e anotam os valores de $I(x)$ vs. x , fazendo o gráfico de I_{dB} vs. x , para obter ϵ_λ , onde λ é o comprimento de onda que define a cor do diodo.

Mantendo a distância fixa de 5 ou 10 cm, eles também podem verificar o efeito de mudança da concentração molar da solução na lei de Lambert-Beer.

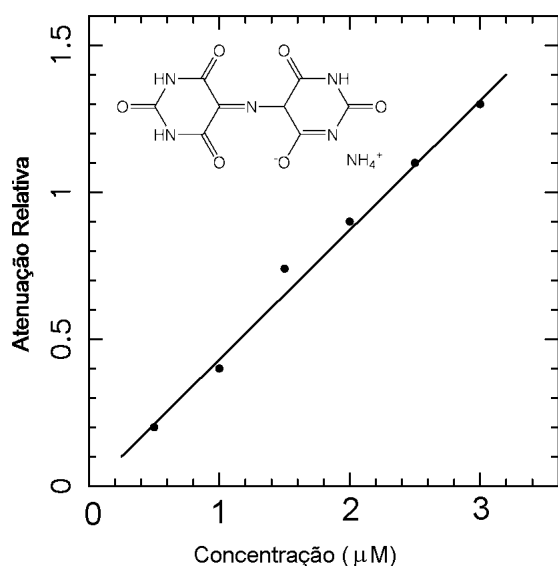


Figura 2 - Dados experimentais para a espectroscopia da Murexida em diferentes concentrações molares em $\lambda = 520$ nm empregando um LED emissor verde.

A murexida (purpurato de amônio) é um corante industrial muito usado em ensaios experimentais para avaliação da composição química de cádmio, cobalto, níquel, cobre, tório e metais "terras-raras". o gráfico I_{dB} vs. C (μM) fornece o coeficiente de extinção molar da amostra. Usando um LED automotivo verde, podemos confirmar o resultado experimental da lei de Lambert-Beer para a absorção óptica da murexida e os dados com ajuste de uma relação linear com o método de ajuste experimental pelos mínimos quadrados (Fig. 2). Usando a lei de Lambert-Beer $A = -0,1 I_{dB} = \epsilon_\lambda Cl$, pode-se determinar o coeficiente de extinção molar do corante murexida como sendo $\epsilon_{520 \text{ nm}} = 14600 \pm 600 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$, para concentrações molares C entre 0,5 e 2,5 μM e cubetas de $l = 10$ cm de comprimento, que concorda com medidas prévias para esse corante [4,7].

Com pequenas modificações, esse equipamento ainda pode ser usado para demonstração qualitativa

da emissão por fluorescência induzida pela excitação por radiação ultravioleta [1,8]. Para tanto, deve-se empregar um LED emissor ultravioleta e um filtro monocromático constituído por um disco de cor amarela, vermelha ou azul for posicionado na janela do fototransistor e uma solução de tinta fluorescente for feita colocando-se uma carga de caneta de marcar texto em 300 ml de álcool de limpeza e colocando o fototransistor detector de luz em incidência perpendicular à direção da luz do LED emissor.

4. Conclusões

No presente artigo, foi descrito um aparato experimental de muito baixo custo para possibilitar estudos qualitativos e quantitativos de diversos aspectos experimentais relacionados às técnicas de espectrofotometria, principalmente a comprovação experimental da lei de Lambert-Beer, que é difícil de ser medida diretamente com espectrofotômetros comerciais que operam em ultravioleta. A alta repetitividade e reprodutibilidade desse experimento justifica a sua adoção na prática de ensino de biofísica para ciências da saúde e interdisciplinares, onde as limitações de tempo e orçamento são agravantes na qualidade do ensino de física em ambientes interdisciplinares.

Outras possibilidades de abordagem consistem em investigar a sensibilidade espectral de pigmentos naturais como a clorofila, que pode ser obtido por extrato alcóolico de folhas verdes como da árvore da laranjeira ou carotenóides a partir de extrato de pimentões ou cascas de laranja, usando LEDs verdes e vermelhos, o que é um excelente projeto de ensino de biologia e física para o ensino médio para exemplificar diversas aplicações.

Referências

- [1] P.W. Atkins and J. De Paula, *Physical Chemistry* (Oxford University Press, Oxford, 2006), 8th ed., p. 431-508.
- [2] D.C. Harris, *Análise Química Quantitativa* (Editora LTC, Rio de Janeiro, 2008), 7ª ed., p. 467-498.
- [3] F.J. Holler, D.A. Skoog and S.R. Crouch, *Princípios de Análise Instrumental* (Artmed-Bookman, Porto Alegre, 2009), 6ª ed., p. 178-225.
- [4] A.L. Galo e M.F. Colombo, *Quim. Nova* **32**, 488 (2009).
- [5] P.H.S. Sartori e E.L.S. Loreto, *Quim. Nova na Esc.* **31**, 1 (2009).
- [6] W.A. De Oliveira, F.A.A. Matias and E. Moschim, *IEEE Trans. Instrum. Measur.* **45**, 326 (1996).
- [7] M. Ficher, W. Knoche, B.H. Robinson and J.H.M. Wedderburn, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I*, **75**, 119 (1979).
- [8] N.J. Turro, V. Ramamurthy and J.C. Scaiano, *Principles of Molecular Photochemistry: An Introduction* (University Science Books, New York, 2009).