

Introducción a la Espectroscopía de Absorción Molecular Ultravioleta, Visible e Infrarrojo Cercano

Ing. Carlos Brunatti
Lic. Ana María Martín

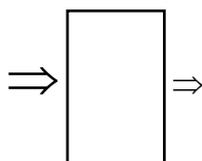
Introducción

Desde hace muchos años se ha usado el color como ayuda para reconocer las sustancias químicas; al reemplazar el ojo humano por otros detectores de radiación se puede estudiar la absorción de sustancias, no solamente en la zona del espectro visible, sino también en ultravioleta e infrarrojo.

Se denomina espectrofotometría a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, y a las mediciones a una determinada longitud de onda.

La teoría ondulatoria de la luz propone la idea de que un haz de luz es un flujo de cuantos de energía llamados fotones; la luz de una cierta longitud de onda está asociada con los fotones, cada uno de los cuales posee una cantidad definida de energía.

Transmitancia



La figura muestra un haz de radiación paralela antes y después de que ha pasado a través de una capa de solución que tiene un espesor de b cm y una concentración c de una especie absorbente.

Como consecuencia de interacciones entre los fotones y las partículas absorbentes, la potencia del haz es atenuada. La transmitancia T de la solución es entonces la fracción de la radiación incidente transmitida por la solución:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

La transmitancia se expresa a menudo como porcentaje:

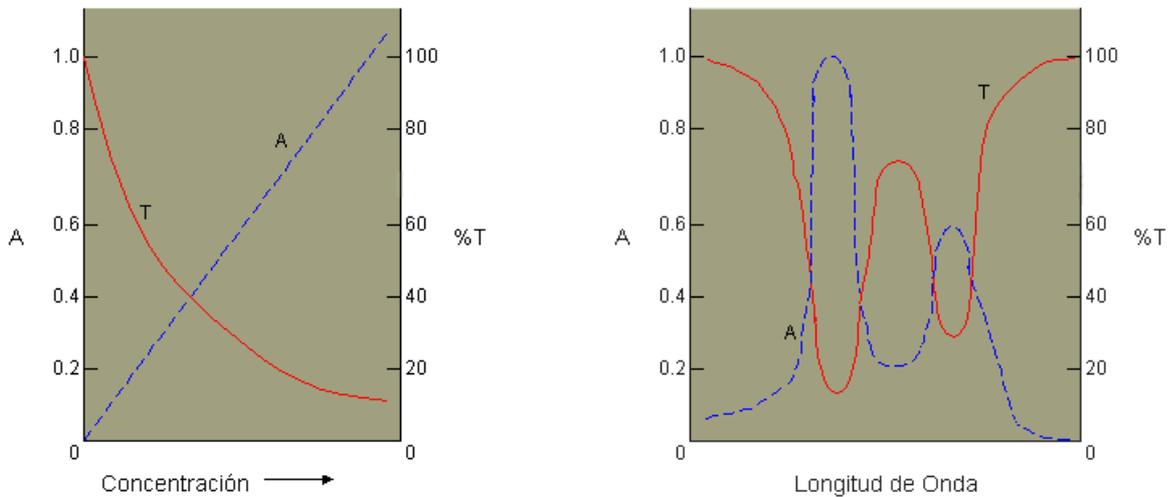
$$\%T = \frac{I}{I_0} \times 100$$

Absorbancia

La absorbancia A de una solución se define mediante la ecuación:

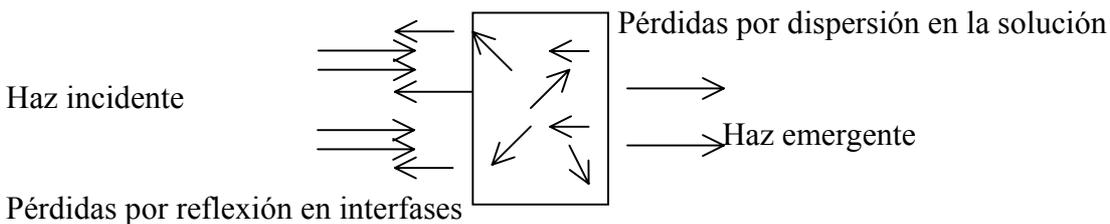
$$A = -\log T = \log \frac{I_0}{I}$$

La mayor parte de los trabajos analíticos se realizan con soluciones de manera que vamos a desarrollarla relación que existe entre la concentración de la solución y su capacidad de absorber radiación.



Medición de Transmitancia y Absorbancia

La transmitancia y la absorbancia se miden en un instrumento llamado espectrofotómetro, la solución del analito se debe contener en algún recipiente transparente, tubo o celda.



Como se ve en la representación, ocurre reflexión en las interfases: aire-pared, tanto como en la pared-solución. La atenuación del haz resultante es sustancial. Además, la atenuación de un haz puede ocurrir por dispersión de las moléculas grandes y a veces por absorción de las paredes del recipiente.

Para compensar estos efectos, la potencia del haz transmitido por la solución del analito es comparada comúnmente con la potencia del haz transmitido por una celda idéntica que contiene solamente solvente. Una absorbancia experimental que se aproxima mucho a la absorbancia verdadera se obtiene con la ecuación.

$$A = \log \frac{I_{\text{solvente}}}{I_{\text{solución}}}$$

Los espectrofotómetros, están a menudo, equipados con un dispositivo que tiene una escala lineal que se extiende de 0 a 100%. De manera de hacer tal instrumento de lectura directa en porcentaje de transmitancia, se efectúan dos ajustes preliminares, llamados 0%T y 100%T.

El ajuste del 0%T se lleva a cabo mediante un cierre mecánico del detector.

El ajuste de 100%T se hace con el cierre abierto y el solvente en el camino de la luz.

Normalmente el solvente está contenido en una celda que es casi idéntica a las que contienen las muestras.

Cuando la celda del solvente es reemplazada por la celda que contiene la muestra, la escala da la transmitancia porcentual.

Los instrumentos actuales poseen un sistema electrónico que realiza la operación matemática y da la respuesta directamente absorbancia. También hay que hacer una calibración previa con el solvente o blanco.

Aspectos Cuantitativos de las Mediciones de Absorción

Ley de Beer

Consideremos un bloque de materia absorbente (sólido, líquido o gas). Un haz de radiación monocromática paralelo con intensidad I_0 llega al bloque perpendicular a la superficie; luego pasa a través de la longitud b del material, que contiene n partículas absorbentes (átomos, iones o moléculas), la intensidad del haz disminuye a I como resultado de la absorción. Consideremos ahora una sección transversal del bloque que tiene un área S ($X \times Y$) y un espesor infinitesimal dx . Dentro de esta sección hay dn partículas absorbentes; asociada a cada partícula podemos imaginar una superficie en que ocurrirá la captura del fotón. Esto es, si un fotón alcanza una de esas áreas por casualidad, ocurrirá inmediatamente la absorción. El área total de esas superficies de captura dentro de la sección se designa ds ; la relación del área de captura al área total es ds/S .

En un promedio estadístico, esta relación representa la probabilidad para la captura de fotones dentro de la sección.

La intensidad del haz que entra en la sección, I_x es proporcional al número de fotones por cm^2 y por segundo, y dI_x representa la cantidad removida por segundo dentro de la sección, la fracción absorbida es entonces $-dI_x/I_x$ y esta relación también es la probabilidad promedio por captura. El término tiene signo negativo para indicar que la intensidad del haz disminuye.

$$-\frac{dI_x}{I_x} = \frac{ds}{S}$$

Recordemos que ds es la suma de las áreas de captura para cada partícula dentro de la sección; puede ser por eso proporcional al número de partículas $ds = \alpha \, dn$; siendo dn el número de partículas dentro de la sección y α una constante de proporcionalidad, que se puede llamar sección transversal de captura.

Considerando las ecuaciones e integrando de 0 a n

$$-\int_{I_0}^I \frac{dI_x}{I_x} = \int_0^n \frac{\alpha \cdot dn}{S}$$

Queda

$$-\ln \frac{I}{I_0} = \frac{\alpha \cdot n}{S}$$

Luego de convertir los logaritmos a base 10 e invirtiendo la fracción para cambiar de signo, se obtiene:

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{\alpha \cdot n}{2,303 \cdot S}$$

Siendo n el número total de partículas dentro del bloque.

La sección transversal S se puede expresar en términos del volumen del bloque en cm^3 y su longitud b en cm , entonces $S = V/b$

Sustituyendo en la ecuación anterior, da:

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{\alpha \cdot n \cdot b}{2,303 \cdot V}$$

Se nota que n/V tiene las unidades de concentración (esto es número de partículas por cm^3), se puede convertir a moles por litro.

El número de moles es

$$\frac{n \text{ partículas}}{6,02 \times 10^{23} \text{ partículas/mol}}$$

y c expresado en mol/l :

$$c = \frac{n}{6,02 \times 10^{23}} \text{ mol} \times \frac{1000 \text{ cm}^3/\text{l}}{V[\text{cm}^3]}$$

Combinando:

$$\log \frac{I_0}{I} = \frac{6,02 \times 10^{23} \cdot \alpha \cdot b \cdot c}{2,303 \cdot 1000}$$

Finalmente, las constantes de esta ecuación se pueden reunir en una única constante: ϵ

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon \cdot b \cdot c = A$$

Absortividad y Absortividad Molar

La absorbancia es directamente proporcional a la longitud del camino b a través de la solución y la concentración c de la especie absorbente. Estas relaciones se dan como:

$$A = a \cdot b \cdot c$$

Siendo a una constante de proporcionalidad llamada absortividad. La magnitud de a dependerá de las unidades empleadas para b y c . A menudo b es dada en términos de cm y c en gramos por litro, entonces la absortividad tiene unidades de $\text{l} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Cuando la concentración se expresa en moles por litro y la longitud de la celda en centímetros, la absortividad se llama absortividad molar, se designa como ϵ y tiene unidades de $\text{l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, entonces la absorbancia es:

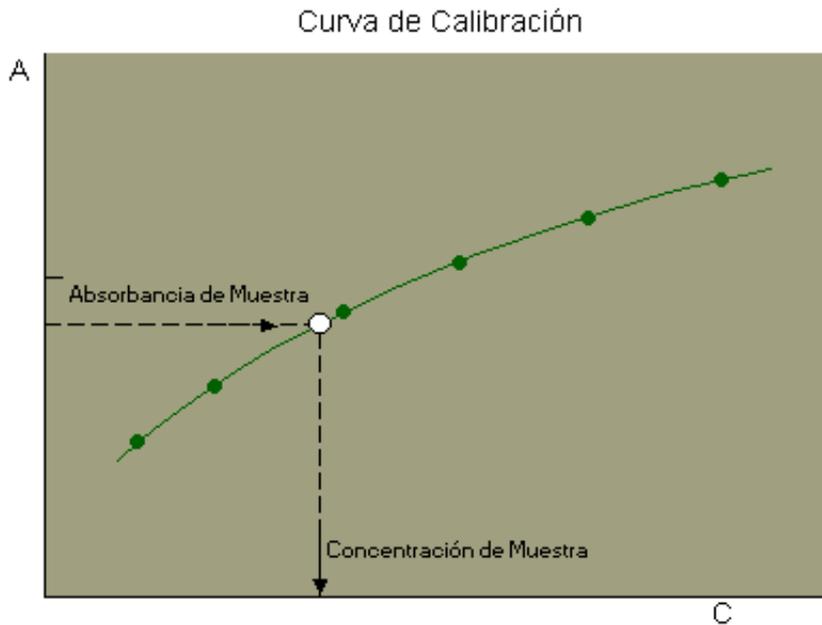
$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

Curva de Calibración

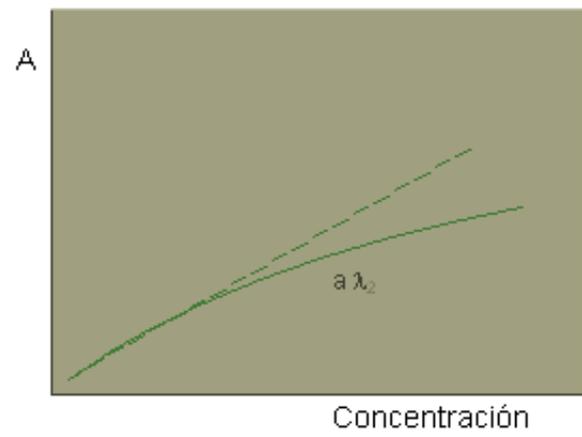
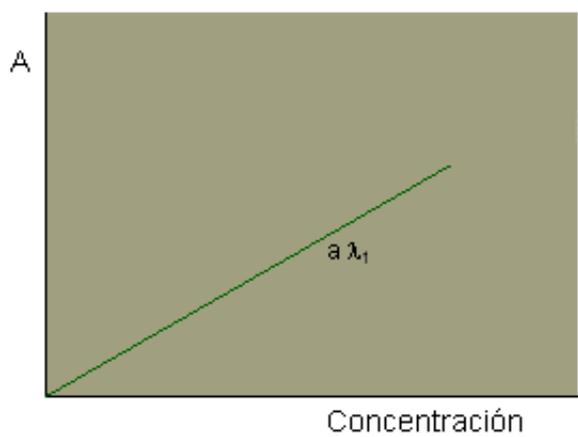
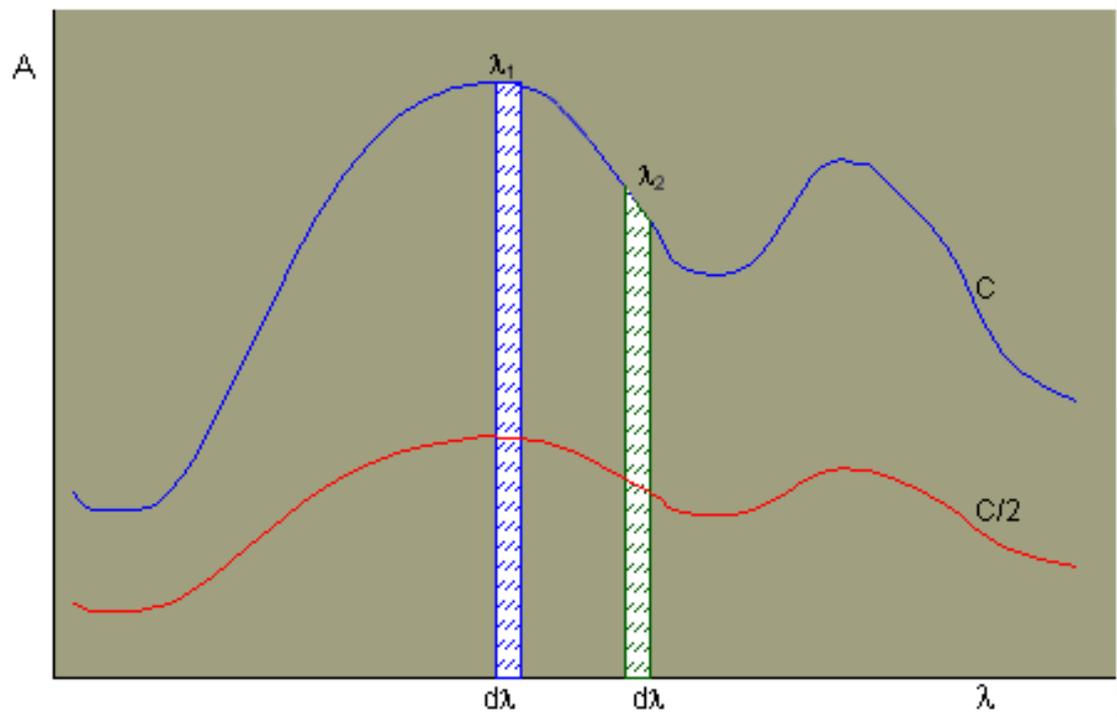
Denominamos espectro de una sustancia a la representación de absorbancia (A) en función de longitud de onda (λ), este gráfico presenta ondulaciones con máximos y mínimos.

Para hacer las determinaciones cuantitativas se elige, en general, la longitud de onda correspondiente a un máximo, pues el error de medición es mínimo y la sensibilidad máxima.

Para verificar el cumplimiento de la ley de Beer, se debe realizar la curva de calibración; absorbancia (A) en función de concentración (c), para lo cual se preparan soluciones de la sustancia de concentraciones conocidas y se mide la absorbancia a la longitud de onda elegida.



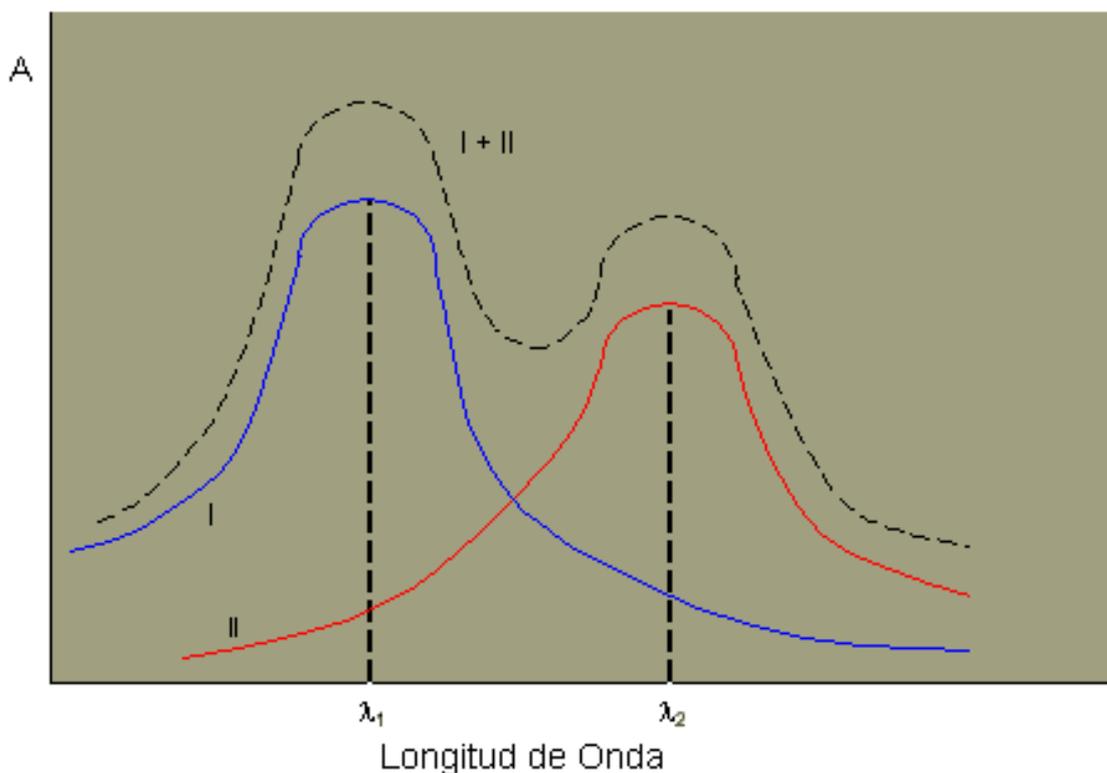
Si es válida la ley de Beer, para esa sustancia a esas concentraciones, la relación debe ser una recta, que pase por el origen de los ejes cartesianos; a menudo se observan desviaciones debidas a diversos factores.



Aplicaciones de la Ley de Beer a Mezclas

La ley de Beer también se aplica a una solución que contiene más de una clase de sustancia absorbente. Siempre que no haya interacción entre las varias especies, la absorbancia total para un sistema multicomponente está dada por:

$$A = A_1 + A_2 + A_3 + \dots + A_n = \epsilon_1 b c_1 + \epsilon_2 b c_2 + \epsilon_3 b c_3 + \dots + \epsilon_n b c_n$$



Indicando los subíndices 1,2, .. n, las especies absorbentes.

Limitaciones a la Aplicabilidad de la Ley de Beer

Se encuentran pocas excepciones a la generalización que la absorbancia está relacionada linealmente a la longitud del camino óptico.

En cambio, las desviaciones de la proporcionalidad directa entre la absorbancia medida y la concentración, para b constante, son más frecuentes.

Estas desviaciones son fundamentales y representan limitaciones reales de la ley.

Algunas ocurren como una consecuencia de la manera en que las mediciones de absorbancia se hacen, o como un resultado de cambios químicos asociados con cambios en la concentración.

Otras ocurren a veces como desviaciones instrumentales.

Limitaciones Propias de la Ley de Beer

La ley de Beer es exitosa en describir el comportamiento de absorción de soluciones diluidas solamente; a concentraciones altas (generalmente mayores que 0,01 M), la distancia promedio entre las especies responsables de la absorción está disminuida hasta el punto que cada una afecta la distribución de cargas de sus vecinas. Esta interacción, a su vez, puede alterar la habilidad de las

especies para absorber en una longitud de onda de radiación. Debido a que la extensión de la interacción depende de la concentración, la ocurrencia de este fenómeno provoca desviaciones de la relación lineal entre absorbancia y concentración.

Un efecto similar se encuentra a veces en soluciones que contienen altas concentraciones de otras especies, particularmente electrolitos. La proximidad de iones a la especie absorbente altera la absorptividad molar de la última por atracciones electrostáticas, este efecto se disminuye por dilución.

Se encuentran algunas excepciones entre ciertos iones o moléculas orgánicas grandes, que presentan interacciones significativas a concentraciones debajo de 0,01 M.

Desviaciones de la ley de Beer también surgen porque ϵ es dependiente del índice de refracción de la solución; entonces, si cambios de concentración provocan alteraciones en el índice de refracción de la solución, se observan desviaciones de la ley.

Desviaciones Químicas Aparentes

Surgen cuando un analito se disocia, se asocia, o reacciona con el solvente para producir un producto teniendo un espectro de absorción diferente del analito. Por ejemplo CrO_4^{2-} en función del pH va a absorber diferente.

Desviaciones Instrumentales Aparentes con Radiación Policromática

Se observa una adhesión estricta a la ley de Beer solamente cuando la radiación es monocromática verdadera; esta observación es otra información del carácter limitante de la ley. El uso de radiación que está restringida a una longitud de onda simple es raro porque los elementos que aíslan porciones de la salida de una fuente continua producen una banda más o menos simétrica de longitudes de onda alrededor de la deseada.

La derivación siguiente muestra el efecto de la radiación policromática de la ley de Beer.

Consideremos un haz que consiste de dos longitudes de onda λ' y λ'' . Suponiendo que la ley de Beer se aplica estrictamente para cada una de estas individuales, se puede escribir para λ'

$$A' = \log \frac{I'_0}{I'} = \epsilon' b c \quad \text{o} \quad \frac{I'_0}{I'} = 10^{\epsilon' b c} \quad \rightarrow \quad I' = I'_0 10^{-\epsilon' b c}$$

Igualmente para λ''

$$A'' = \log \frac{I''_0}{I''} = \epsilon'' b c \quad \text{o} \quad \frac{I''_0}{I''} = 10^{\epsilon'' b c} \quad \rightarrow \quad I'' = I''_0 10^{-\epsilon'' b c}$$

Cuando una medida de absorbancia se realiza con una radiación compuesta por ambas longitudes de onda, la intensidad del haz emergente de la solución viene dada por $(I' + I'')$ y la del haz procedente del solvente por $(I'_0 + I''_0)$. Por lo tanto, la absorbancia medida A_m de la muestra es:

$$A_m = \log \frac{(I'_0 + I''_0)}{(I' + I'')} = \log \frac{(I'_0 + I''_0)}{(I'_0 10^{-\epsilon' b c} + I''_0 10^{-\epsilon'' b c})} = \log (I'_0 + I''_0) - \log (I'_0 10^{-\epsilon' b c} + I''_0 10^{-\epsilon'' b c})$$

De manera que la absorbancia medida es un rango (error de medición instrumental).

Es conveniente hacer las mediciones en un máximo del espectro, para tener mayor sensibilidad y menor error.

Tipos Generales de Instrumentos Para Mediciones de Absorción Molecular

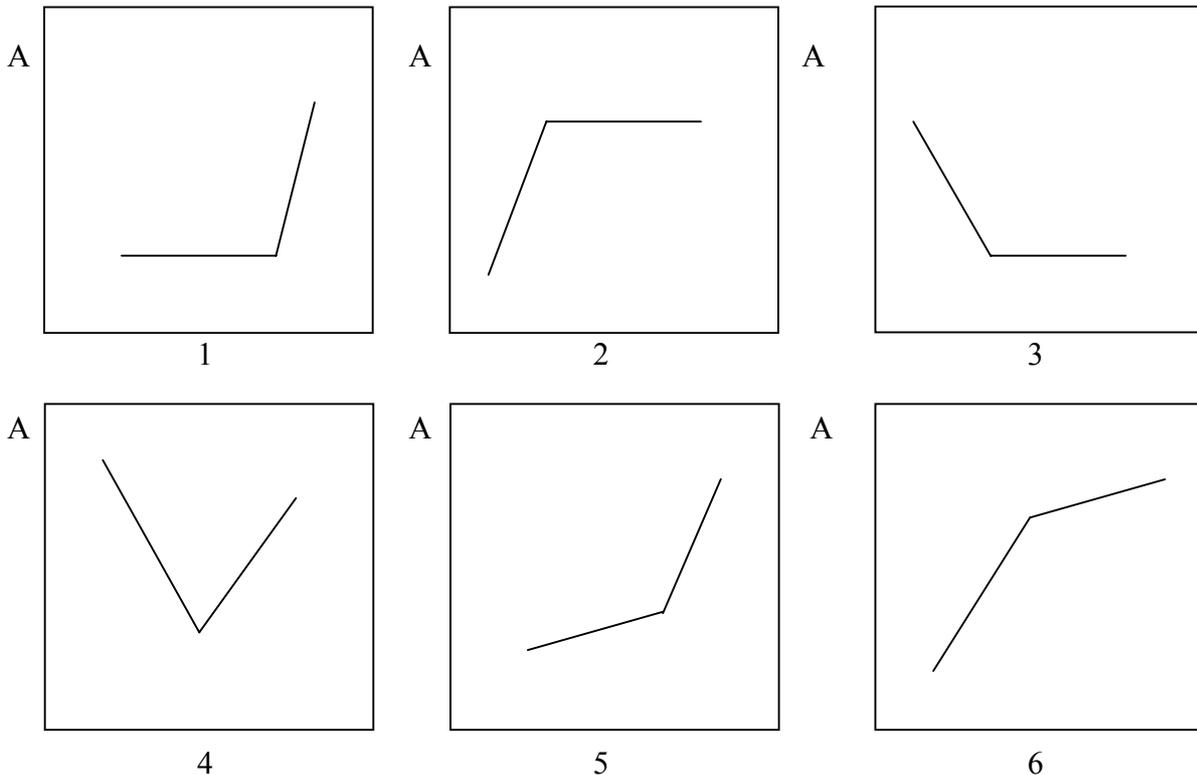
Ver en libros de texto de Análisis Instrumental esquemas de equipos de simple haz y de doble haz.

Titulaciones Fotométricas

Las mediciones fotométricas o espectrofotométricas se pueden emplear para localizar el punto de equivalencia de una titulación, siempre que el analito, el reactivo o el producto de la titulación absorban radiación. Alternativamente un indicador absorbente puede proveer el cambio necesario de absorbancia para la ubicación del punto final.

Curvas de Titulación

Una curva de titulación fotométrica es un gráfico de absorbancia, corregida por cambios de volumen, como una función del volumen del titulante. Si se eligen las condiciones adecuadamente, la curva consistirá de dos regiones de líneas rectas con pendientes diferentes, una que ocurre al comienzo de la titulación y la otra ubicada más allá de la región del punto de equivalencia; se toma el punto final como la intersección de las porciones lineales extrapoladas.



- 1: Analito no absorbe; reactivo titulante absorbe; producto no absorbe. $\epsilon_A = \epsilon_P = 0, \epsilon_T > 0$
2: Analito no absorbe; reactivo titulante no absorbe; producto absorbe. $\epsilon_A = \epsilon_T = 0, \epsilon_P > 0$
3: Analito absorbe; reactivo titulante no absorbe; producto no absorbe. $\epsilon_T = \epsilon_P = 0, \epsilon_A > 0$
4: Analito absorbe; reactivo titulante absorbe; producto no absorbe. $\epsilon_A > \epsilon_P > 0, \epsilon_T = 0$
5: Analito no absorbe; reactivo titulante absorbe; producto absorbe. $\epsilon_A = 0, \epsilon_T > \epsilon_P > 0$
6: Analito no absorbe; reactivo titulante absorbe; producto absorbe. $\epsilon_A = 0, \epsilon_P > \epsilon_T > 0$

Bibliografía

Química Analítica Cuantitativa, Day and Underwood.

Química Analítica, Skoog and West.

Análisis Instrumental, Douglas R. Skoog and Donald M. West.